



LES ANTIGÈNES PARASITAIRES ET LES ANTIGÈNES FONGIQUES

1. Définitions :

Antigènes (Ag): sont des substances, molécules, ou particules plus complexes qui se lient spécifiquement in vivo ou in vitro aux anticorps (Ac) ou des cellules du système immunitaire générés contre eux lors de la réponse immunitaire.

Antigènes parasitaires : les parasites sont des eucaryotes, leurs Ag sont complexes et présentent de nombreuses fractions antigéniques formant la « mosaïque antigénique ».

Ils conditionnent la réalisation pratique des techniques sérologiques et la valeur des résultats. Pour cela, il faut identifier des Ag spécifiques qui répondent aux critères suivants:

- Non ubiquitaires dans le monde vivant,
- Hautement immunogènes,
- Suscitent une immunogénicité prioritaire.

Antigènes fongiques : les champignons sont des eucaryotes, ils possèdent une paroi polysaccharidique. Différents Ag sont exprimés au cours du développement de l'agent fongique:

- Champignons filamenteux: thalle ou filament, spores ou conidies.
- Champignons levuriformes : levures ou blastospores, pseudomycéliums ou vrai mycélium.

Communautés antigéniques: les fractions antigéniques constitutives d'un parasite/champignon n'ont pas la même valeur spécifique mais un très grand nombre d'entre elles sont retrouvées dans d'autres parasites/champignons du même genre ou embranchement ou dans d'autres micro-organismes.

Les communautés antigéniques chez les parasites du même genre sont très variables, elles peuvent être faible (*Entamoeba*) ou extrêmement marquées (*Schistosoma mansoni* et *S. haematobium*).

Les communautés antigéniques des parasites et d'autres micro-organismes comme *Trichinella spiralis* et certaines salmonelles ; *Aspergillus fumigatus* et bacille de Koch.

Les communautés antigéniques rendent la réalisation du sérodiagnostic possible quand l'obtention d'Ag spécifique est difficile mais son inconvénient major c'est les réactions croisées (résultats sérologiques non spécifiques).

2. DIFFÉRENTS TYPES D'ANTIGÈNES :

On peut classer les Ag selon leur origine, la partie du parasite/champignon utilisée ou selon leur spécificité.

2.1. En fonction de leur origine:

2.1.1. Ag homologues :

Ils sont extraits du parasite/champignon en cause, ex: Ag *Entamoeba histolytica histolytica* pour le diagnostic de l'améboose intestinale ou tissulaire.

2.1.2. Ag hétérologues:

Il provient des parasites/champignons appartenant à d'autres espèces ; ex: *Ascaris suum* pour le diagnostic sérologique des filarioses.

2.2. En fonction de la partie utilisée du parasite:

2.2.1. Ag somatiques :

Ils sont préparés à partir du parasite/champignon à l'un quelconque de ses stades évolutifs. Ils peuvent être figurés ou solubles.

2.2.1.1. Ag figuré:

Est constitué par le parasite entier (vivant ou tué) ou des fragments parasitaires.

2.2.1.2. Ag soluble:

Est un broyat du parasite/champignon « soniqué » (rendu soluble) ou traité par autre moyen physique ou chimique et/ou surnageant de milieu de culture.

2.2.2. Ag métaboliques ou exoantigènes (Ag excrétés-sécrétés):

Ils sont libérés par le parasite/champignon dans certaines formations comme le kyste hydatique ou ils peuvent être obtenus par filtration du surnageant de milieu de culture ou de survie in vitro, ex: enzymes sécrétées relarguées par l'*A. fumigatus*). Ils sont toujours des Ag solubles.

2.2.3. Ag recombinants

C'est un mélange des deux.

2.3. En fonction de leur spécificité:

2.3.1. Ag brut:

C'est un mélange d'Ag, obtenu directement à partir des parasites.

2.3.2. Ag spécifique:

Il est formé d'une seule entité, il est pur ou purifié.

- **Ag pur:** il possède plusieurs déterminants antigéniques.
- **Ag purifié :** il est composé de plusieurs espèces moléculaires.

3. SOURCES D'AG PARASITAIRE :

Les Ag parasites peuvent être obtenus à partir des culture in vitro (milieu de culture) ou in vivo (animal), à partir des abattoirs ou blocs opératoires...

3.1. Milieux de Culture :

– **Amoebose:**

- Milieu polyxénique (contient un nombre inconnu de micro-organismes): milieu diphasique de DOBELL et LAIDLAW.
- Milieu axénique (ne contient aucun micro-organismes): milieu de DIAMOND modifié TYIS33.

– **Leishmaniose et Trypanosomoses:**

- Milieu au sang: Milieu NNN (Novy McNeal, Nicolle), Milieu CCS (Cœur- Cerveau-Sang).

3.2. In Vivo :

– **Schistosomoses:**

Les Ag de *Schistosoma sp.* peuvent être obtenus par coupes à la congélation de foies de souris ou d'hamsters parasités.

En maintenant un cycle expérimental de *Schistosoma mansoni* au laboratoire on peut obtenir les différents stades du cycle biologique: œufs, miracidium, sporocystes, cercaires, adultes.

– **Toxoplasmose:**

On peut obtenir les Ag toxoplasmique par maintien des la souche des toxoplasmes (tachyzoïte) dans l'ascite de souris blanche.

3.3. Abattoirs :

– Fasciolose:

Les Douves adulte dans le foie des bovins peuvent constituer une source d'Ag de *Fasciola hepatica*.

– Hydatidose:

A partir du Kyste hydatique du mouton.

3.4. Bloc opératoire :

– Hydatidose:

Pièces opératoires du kyste hydatique constitue aussi une source d'Ag hydatique.

– Filarioses:

Les nodules sous cutanées (onchocercomes) obtenus par ablation chirurgicale peuvent constituer une source d'Ag des filaires adultes.

4. SOURCES D'AG FONGIQUE :

Plusieurs champignons sont disponibles en **milieux de culture** qui constitue un accès facile aux différents types antigènes:

- Ag polysaccharidiques de la paroi fongique.
- Activités enzymatiques : *chymotrypsine*, catalase d'*A. fumigatus*.
- Ag *Afmp1* galactomannoprotéine recombinante d'*A. fumigatus*.

5. PRÉPARATION D'EXTRAITS ANTIGÉNIQUES :

La préparation des Ag se réalise de préférence sur un matériel frais à défaut ce dernier peut être conservé et transporté.

5.1. Techniques de conservation:

Plusieurs procédés peuvent être utilisés :

- Congélation,
- Lyophilisation,
- Conservation dans la solution saturée de sulfate d'ammonium,
- Conservation dans le glycérol.

5.2. Désintégration:

Elle peut être physique ou chimique :

- Physique: par broyage, par pressage, traitement par les ultrasons ou par congélation-décongélation.
- Chimique: par des enzymes (β -amylase), par solvants lipides ou par détergents.

Pour les Protozoaires, on utilise les ultrasons, la congélation-décongélation ou milieu hypotonique et pour les Helminthes, on utilise le broyage.

5.3. Ag protéiniques:

5.3.1. Délipidation:

- Élimination des lipides pour abaisser la réactivité non spécifique.
- Traitement par des solvants des lipides: benzène, acétone, éthanol froid puis le diéthyl –éther anhydre.

5.3.2. Traitement enzymatique:

- Élimination du glycogène (peut entraîner des complications).

5.3.3. Dialyse:

- Élimination des petites molécules.

5.3.4. Purification ou fractionnement:

- Fractionnement chimique par chromatographie sur échangeurs d'ions et filtration en milieu gélifié.
- Identification et fractionnement immunologique par double diffusion et immuno-électrophorèse.

5.4. Ag glucidiques:

Plusieurs méthodes couramment utilisées:

- Chauffage,
- Précipitation par l'acide trichloracétique,
- Digestion pepsique,
- Extraction par le phénol,
- Extraction alcaline,
- Chromatographie d'affinité.

5.5. Ag lipoprotéiques:

On utilise des solvants organiques.

6. APPLICATION :

Les Ag parasitaires/fongiques sont utilisés dans les techniques sérologiques pour :

- Le sérodiagnostic indirect des parasitoses et mycoses.
- Le suivi post-thérapeutique.

- Les enquêtes épidémiologiques.

Selon le type d'Ag utilisé, on peut classer les techniques sérologiques en:

- Techniques sérologiques à Ag figurés.
- Techniques sérologiques à Ag solubles.

6.1. Techniques sérologiques à Antigènes figurés:

6.1.1. Techniques sérologiques à Antigènes figurés vivants:

- Dye test pour la toxoplasmose (test de lyse des toxoplasmes vivants).

6.1.2. Techniques sérologiques à Antigènes figurés tués:

- immunofluorescence indirecte (dépistage) :
 - Toxoplasmose, leishmaniose viscérale, amébose, paludisme, trypanosomoses.
 - Bilharzioses, hydatidose, trichinellose, anguillulose, filarioses.
- ISAGA (immunosorbent agglutination assay):

Utiliser pour la recherche des Ac IgM anti-toxoplasmique.

6.2. Techniques sérologiques à Antigènes solubles:

6.2.1. Technique de dépistage;

- ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay):
 - Toxoplasmose, amébose, paludisme, trypanosomoses, hydatidose, filarioses...
 - Candidoses et aspergilloses invasives, histoplasmoses...
- Hémagglutination indirecte:
 - Toxoplasmose, hydatidose, amébose, bilharzioses...
 - Candidoses et aspergilloses.
- Agglutination des particules de latex:
 - Toxoplasmose.

6.2.2. Technique de confirmation:

- Techniques d'immunoprécipitation (immunoélectrophorèse, électrosynérèse),
- Western blot.