

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
Département de Biochimie

TRAVAUX PRATIQUES

IMMUNOPATHOLOGIE BCH4047
(Année Académique 2024/2025)

Pr DJUIDJE/ Pr PECHANGOU/Dr FOUPOUAPOUOGNIGNI

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE 2024-2025

Objectif

L'objectif de ces travaux pratiques est de permettre aux étudiants, acquérir les techniques de diagnostic immunologique et direct des pathologies infectieuses d'origine virale, bactérienne et parasitaire.

Contenu

Les travaux pratiques se dérouleront en deux séances :

1. Les techniques immunologiques
2. Le dépistage rapide indirect des infections parasitaires

SEANCE N°2 : Les Tests de Dépistage Rapide d'une infection parasitaire

Avant-propos

Le concept de ces tests diagnostiques a été développé pour la prise rapide de décisions par la réduction du temps d'attente des résultats. Ce sont des tests de technologie simple et d'emploi facile avec lecture visuelle des résultats. La lecture et l'interprétation des résultats se réalisent en moins de 30 minutes.

En médecine, ils trouvent particulièrement toute leur utilité dans les cabinets médicaux, les services d'urgence, les unités de soins intensifs, les salles d'opération. En santé publique et communautaire, leur contribution peut être remarquable dans les structures périphériques de santé, les centres de dépistage anonyme et volontaire, les structures de prévention ou les structures associatives, voire au domicile du patient.

Ne nécessitant pas d'équipement de laboratoire spécifique (centrifugeuse, laveurs, lecteurs...), ces tests sont utilisables par des personnes non médicales ou par le patient lui-même .

La technique

Les tests de dépistage rapide (TDR) encore appelés tests rapides d'orientation diagnostic (TROD), sont fabriqués sous la forme de carte, bandelettes ou cassettes, sont basés sur plusieurs techniques dont les plus couramment rencontrés sont des tests de type immunochromatographique (lateral-flow tests) et immunofiltration (flow-through tests), permettant la mise en évidence d'antigènes ou d'anticorps spécifiques.

La salive, le sang total, le sérum ou le plasma peuvent être utilisés comme matrice biologique.

LES TESTS DE DEPISTAGE DU PLASMODIUM

LES DIFFÉRENTS TESTS:

Plusieurs tests sont actuellement disponibles, et reposent sur un système de détection semblable, comparable aux «savonnettes » utilisées pour les tests de détection rapide du VIH ou pour les tests de grossesse. Il s'agit de trousses

de détection prêtes à l'emploi qui permettent en quelques minutes et sans matériel particulier de mettre en évidence la présence de Plasmodium. Les tests disponibles reposent sur différents principes:

- les tests qui vont rechercher la glycoprotéine HRP2 (Histidin Rich Protein 2) spécifique de *Plasmodium falciparum*;
- les tests qui détectent une enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) commune à toutes les espèces plasmodiales ;
- les tests qui détectent une enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) spécifique de *Plasmodium vivax*;
- les tests qui détectent une enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) spécifique de *Plasmodium falciparum*.

Deux tests détectent uniquement l'antigène HRP2 : PALUTOP® (All Diag - France) , KAT-QUICK MALARIA® (AES Laboratoire - France).

Un test détecte l'antigène HRP2 et une aldolase commune aux 4 espèces plasmodiales (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*) : NOW® Malaria (Fumouze - France).

Un test détecte une enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) commune à toutes les espèces plasmodiales et enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) spécifique de *Plasmodium falciparum* : OPTIMAL- IT® (Diamed - Suisse).

Deux tests détectent l'antigène HRP2, une enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) spécifique de *Plasmodium vivax* et une enzyme isomère de la lactate deshydrogénase (LDH) commune à toutes les espèces plasmodiales: PALUTOP+4® (All Diag - France), CORE MALARIA ® (Core diagnostics- UK).

LES PRINCIPES DES DIFFÉRENTS TESTS

Détection de la glycoprotéine HRP2

Cette protéine soluble a été la première à être utilisée pour l'utilisation des tests de diagnostic rapide. Il s'agit de l'Histidin Rich Protein 2, glycoprotéine spécifique de *Plasmodium falciparum* exposée à la surface du globule rouge parasité et en même temps activement sécrétée par les formes asexuées et les jeunes gamétocytes au cours du cycle érythrocytaire avec un pic au moment de la rupture des schizontes. Il existe une circulation prolongée d'HRP2 détectable une quinzaine de jours après la disparition des parasites du sang circulant. Cette clairance plus longue de l'HRP2 permet un diagnostic rétrospectif de la présence de *P. falciparum* mais ne permettra pas de juger de l'efficacité d'un traitement antipaludique.

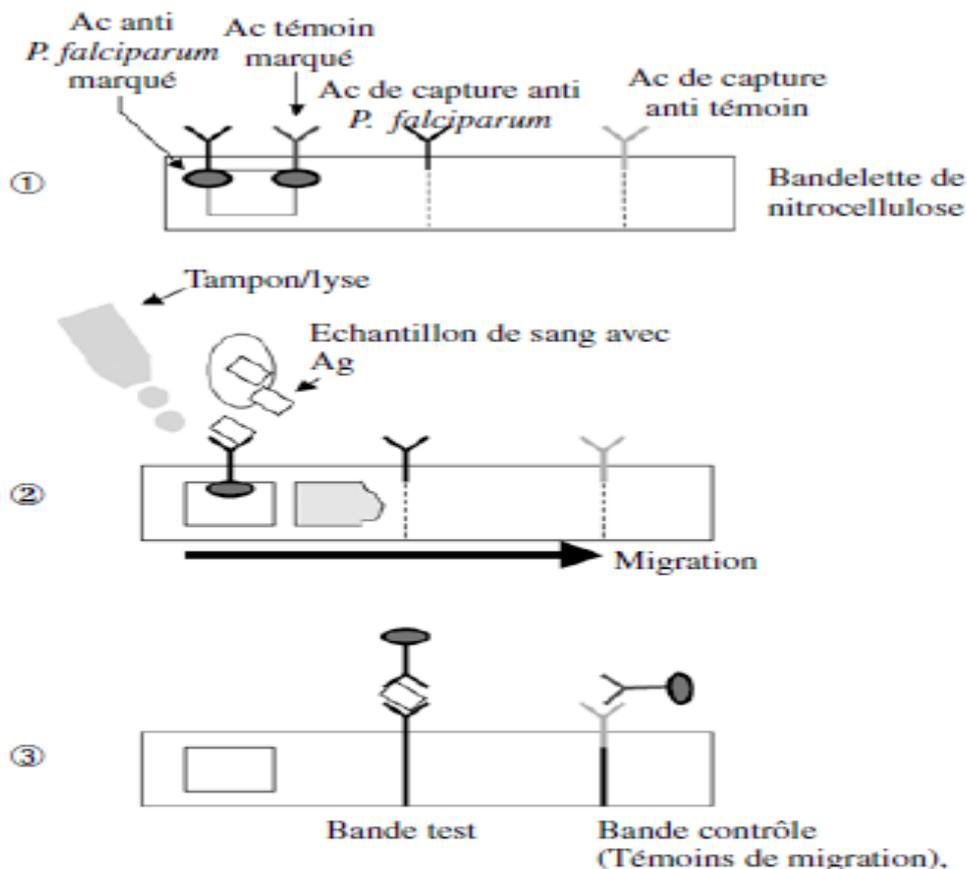
Détection de l'enzyme LDH

On distingue plusieurs isomères des LDH selon l'espèce plasmodiale considérée. Les LDH sont des enzymes qui sont impliquées dans le cycle du glucose, elles sont produites par tous les

stades érythrocytaires des parasites, asexués et sexués, elles ne persistent pas dans le sang après la disparition des parasites contrairement à l'HRP2.

Principe d'un test de détection antigénique

La fructose- 1,6- diphosphate aldolase est produite en grande quantité chez *Plasmodium sp.* On la met en évidence dans la membrane parasitaire et dans le cytoplasme du globule rouge hôte. De nombreuses études ont évalué les performances des tests de diagnostic rapide pour la détection de *Plasmodium falciparum*. Sans rentrer dans l'étude des performances des différents tests, il ressort clairement des différentes évaluations que la détection des espèces autres que *P. falciparum* est globalement moins performante, phénomène plus marqué encore pour *P. ovale*.



Légende :

- ① Présentation de la bandelette réactive.
- ② Dépôt de l'échantillon sanguin, de la solution de tampon/lyse puis migration.
- ③ Capture du complexe conjugué-or colloïdal/antigène par l'anticorps de capture fixé et capture de l'anticorps témoin par un anticorps anti-témoin immobilisé.