

Séminaire régional de formation pour les points focaux nationaux OMSA pour les laboratoires vétérinaires (cycle III)

29 - 31 juillet 2025, Dakar, Sénégal

Innovations dans le Diagnostic de Laboratoire Vétérinaire: Tendances Actuelles et Technologies Emergentes

SC Bodjo, E. Couacy-Hymann, K Tounkara





- ☐ Surveillance des Maladies Animales
- ☐ Biotechnologie et Diagnostic des maladies animales
- ☐ Innovations dans le diagnostic vétérinaire de Laboratoire
 - Tests Sérologiques
 - Tests moléculaires
- ☐ Conclusion



- ❑ La surveillance des maladies animales est fondamentale pour prévenir leur propagation et limiter leur impact sur la production et le commerce.
- ❑ Le diagnostic de laboratoire permet de détecter et d'identifier les agents pathogènes en cause

Les tests de diagnostic précis et rapides sont donc essentiels.





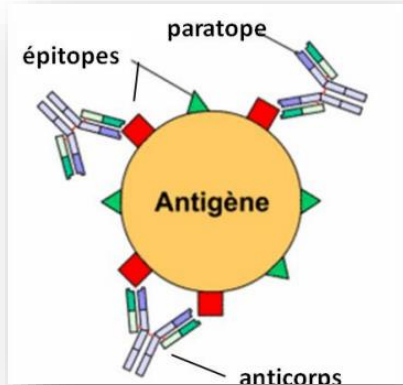
- La biotechnologie a permis le développement d'outils de diagnostic tels que les tests moléculaires et les tests sérologiques hautement sensibles et spécifiques.



- Les innovations biotechnologiques en diagnostic contribuent à renforcer la surveillance des maladies.
 - Rapidité de répondre aux foyers épidémiques pour la mise en œuvre des mesures de contrôle
 - Protection du statut sanitaire indemne et les échanges commerciaux.



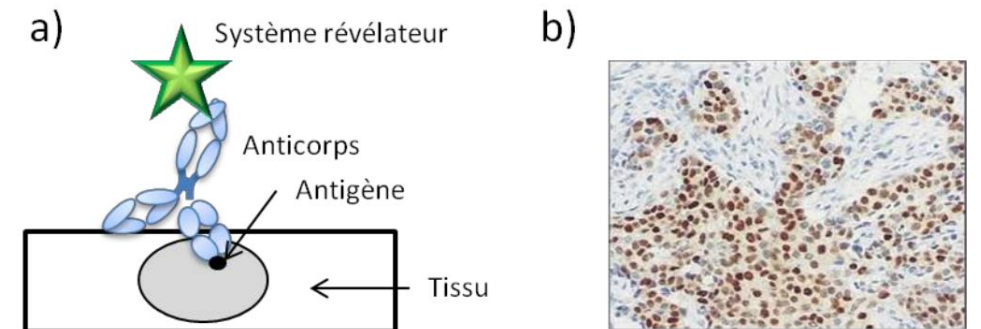
- **Détection d'anticorps ou d'antigènes** dans le sang ou tissus des animaux (*indiquant une exposition ou une infection par un agent pathogène*)



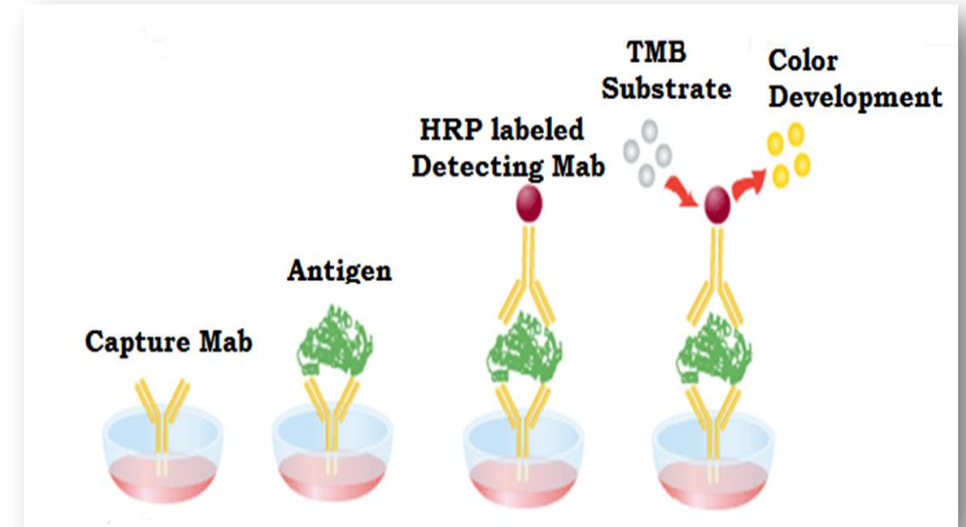
Ces tests exploitent la capacité des anticorps (paratope) à se lier aux l'antigène (épitopes) avec une spécificité et affinité élevées

- **L'immunomarquage par immunohistochimie**

- Préparation de l'échantillon (tissu, cellule, organe subcellulaire...) contenant l'antigène sur support
- Un anticorps dirigé contre l'antigène recherché
- Le système révélateur qui permet de visualiser l'immunoréaction



- **Tests immuno-enzymatiques (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) pour la détection des Anticorps ou Antigènes**
 - **ELISA indirects (iELISA)** utilisés pour la détection d'anticorps dans le sérum
 - **ELISA de capture d'antigène (Ag-ELISA)**
 - Utilisés pour détecter la présence d'antigènes spécifiques d'un pathogène dans un échantillon.
 - Exemples: BVDV, Mignon et al., 1991; RPV et PPRV, Libeau et al., 1994.



▪ ELISA de Blocage (bELISA)

- ✓ Un antigène est fixé sur une surface solide et les anticorps présents dans l'échantillon test sont ajoutés.
- ✓ Si l'échantillon contient des anticorps, ceux-ci vont se lier à l'antigène fixé, ce qui réduit le signal de détection lorsque le conjugué (mAb lié à une enzyme) est ajouté.

▪ ELISA de Competition (cELISA)

- ✓ Le cELISA fonctionne sur un principe similaire que le bELISA mais met en compétition un anticorps connu (mAb) et les anticorps du sérum test sur l'antigène fixé sur une surface solide.
- ✓ Dans cette technique, le niveau de des anticorps dans l'échantillon est déterminé en mesurant la quantité de signal de détection qui se produit avec un mAb (marqué ou détecté par un conjugué) pour se lier à l'Ag fixé sur une surface solide.

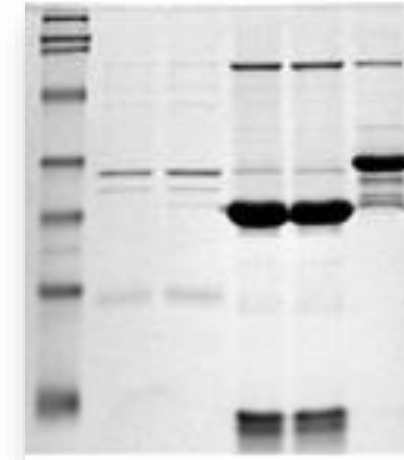


bELISA/cELISA: Plus la concentration de l'analyte (Ac) dans l'échantillon est élevée, moins le signal de détection (colorimétrique) sera élevé.



- **Immunoblottisation (Western blot):** Détection des protéines (*méthode de dépistage de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et de la tremblante du mouton*)

- Séparation des protéines par électrophorèse (SDS-PAGE).
- Transfert sur une membrane pour détection immunologique spécifique



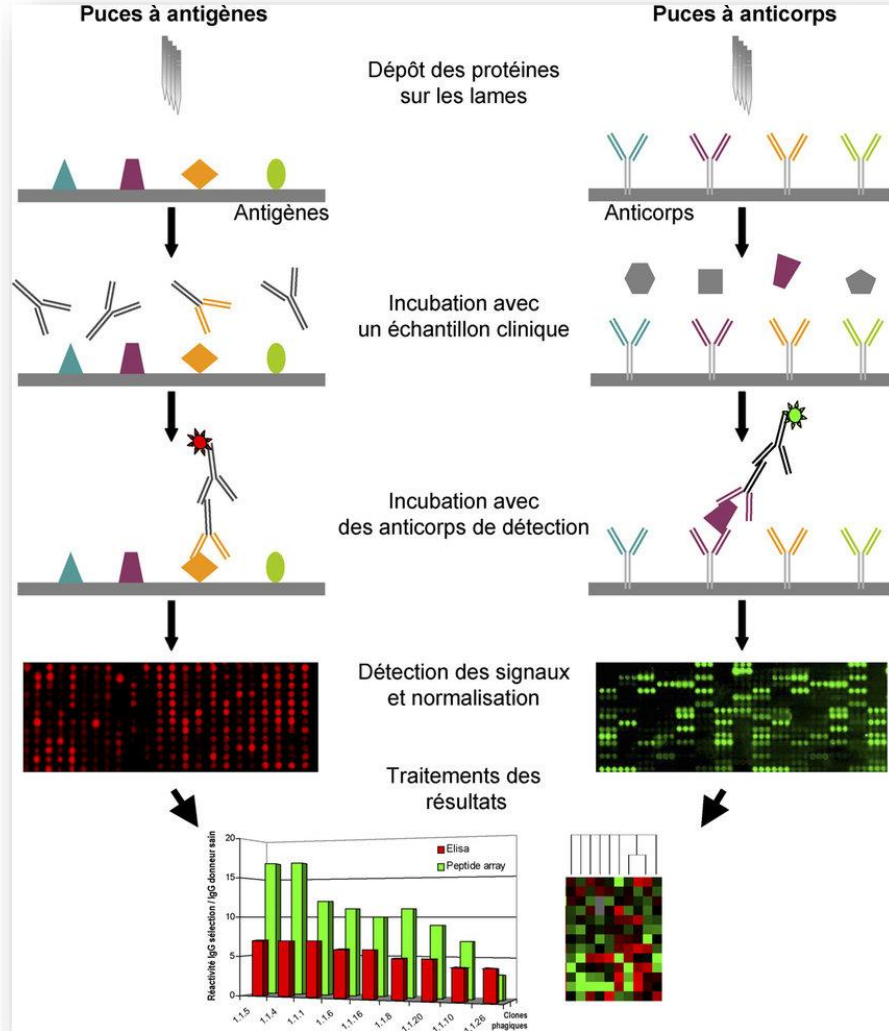
- **Immunochromatographie** (*lateral flow assay, LFA*): Test de terrain de diagnostics rapide des antigènes ou anticorps.

Baron et al., 2014. Development and testing of a field diagnostic assay for Peste des Petits Ruminants Virus. Transbound. Emerg. Dis., 61, 390–396.



- **Tests immuno-enzymatiques de nouvelle génération (ELISA améliorés)**
 - **ELISA multiplex** : détecte simultanément plusieurs agents pathogènes dans un seul échantillon.
 - **Nano-ELISA** : des nanoparticules, souvent d'or, sont utilisées pour améliorer la sensibilité (pour amplifier le signal de l'ELISA) et la rapidité.
 - **Microarrays (puces)**:
 - Permettent la détection parallèle de nombreux anticorps ou antigènes.
 - Utilisées pour le dépistage de maladies multifactorielles ou en surveillance syndromique
 - Machine Luminex





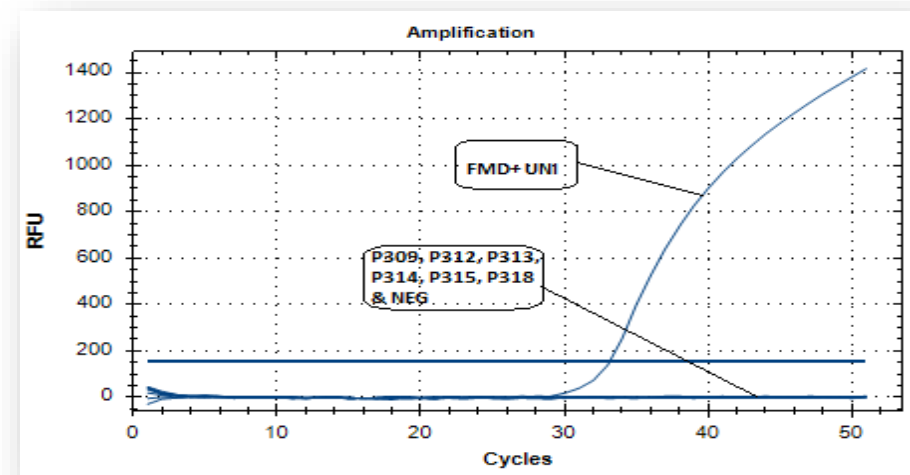
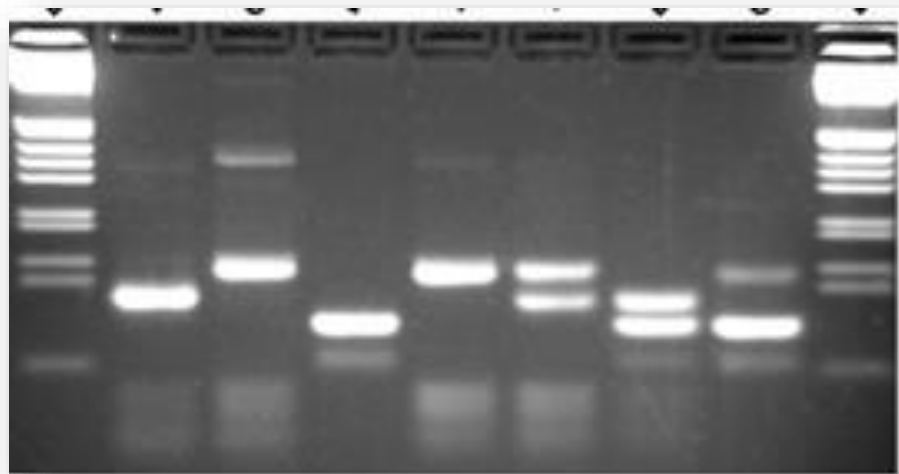
- **Puces à antigènes:** La détection des Anticorps réagissant avec les molécules spottées est réalisée par des anticorps anti-IgG, anti-IgM ou anti-IgE marquées (**en rouge**).
- **Puces à anticorps:** la détection des protéines-cibles, captées par des anticorps primaires, est réalisée par des anticorps secondaires marquées (**en vert**).
- Détection par fluorescence est la plus couramment utilisée
- Resultats présenté comme un ensemble de positions (x,y) distinctes d'un plan et chacune caractérisée par un jeu de conditions expérimentales.



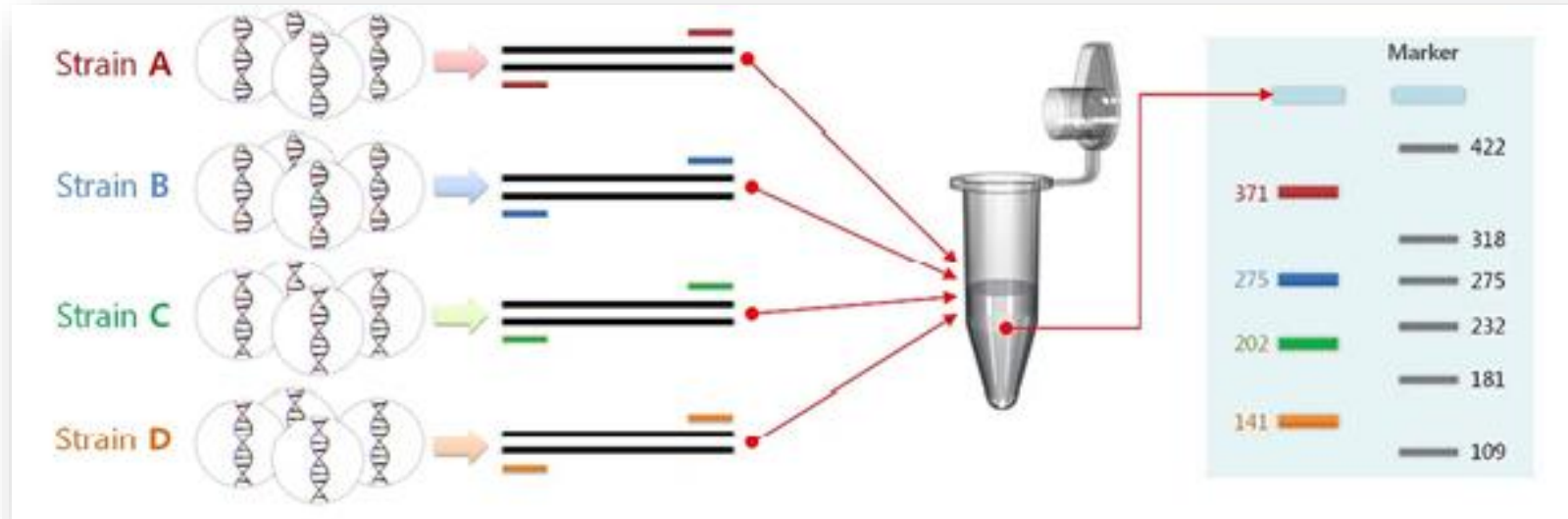
- **Virus rapporteur ("Reporter virus" en anglais):** virus modifié avec un gène marqueur (code pour une protéine détectable: Fluorescence), permettant ainsi de suivre l'activité virale ou l'infection dans des cellules.
- Ces approches innovantes qui réduisent le risque biologique et augmentent la sensibilité des tests de neutralisation des virus (VNT), ont été développées pour une série d'agents pathogènes viraux:
 - *Le virus de la rage (Wright et al., 2008),*
 - *Virus de la grippe A (Carnell et al., 2015),*
 - *Les virus de la PPR, de la peste bovine et de la maladie de Carré (Logan et al., 2016a ; 2016b),*
 - *Le virus de la fièvre de la vallée du Rift (Schreur et al., 2017).*
- Ces technologies permettent de quantifier rapidement les anticorps neutralisants, sans attendre l'apparition des effets cytopathiques.



- **Les technologies basées sur la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) de l'ADN ou l'ARN:** Révolution effective du diagnostic des maladies infectieuses, très sensibles, spécifiques, rapides et robustes.
- **PCR Conventionnel:** Les produits d'amplification sont séparés en fonction de leur taille sur un gel d'agarose et visualisés à l'aide d'un colorant ou d'un agent intercalant.
- **PCR en temps réel (qPCR)** Des marqueurs fluorescents (colorants ou sondes) permettent de suivre l'amplification de l'ADN pendant la réaction de PCR.
 - Quantification de l'ADN cible dans l'échantillon.

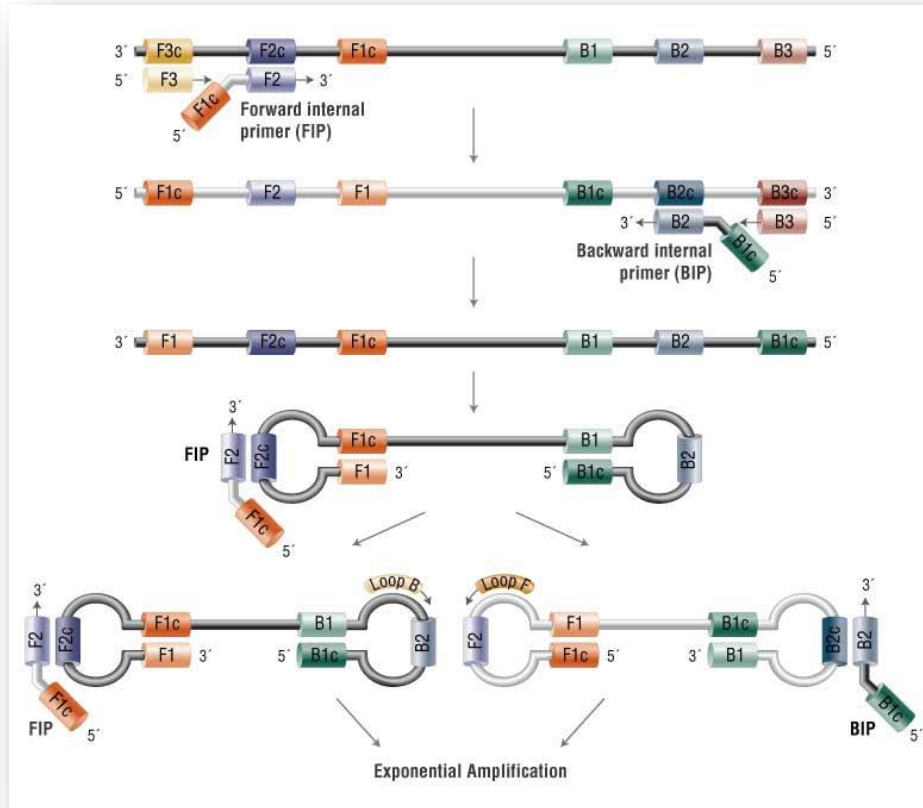


Multiplex real-time PCR



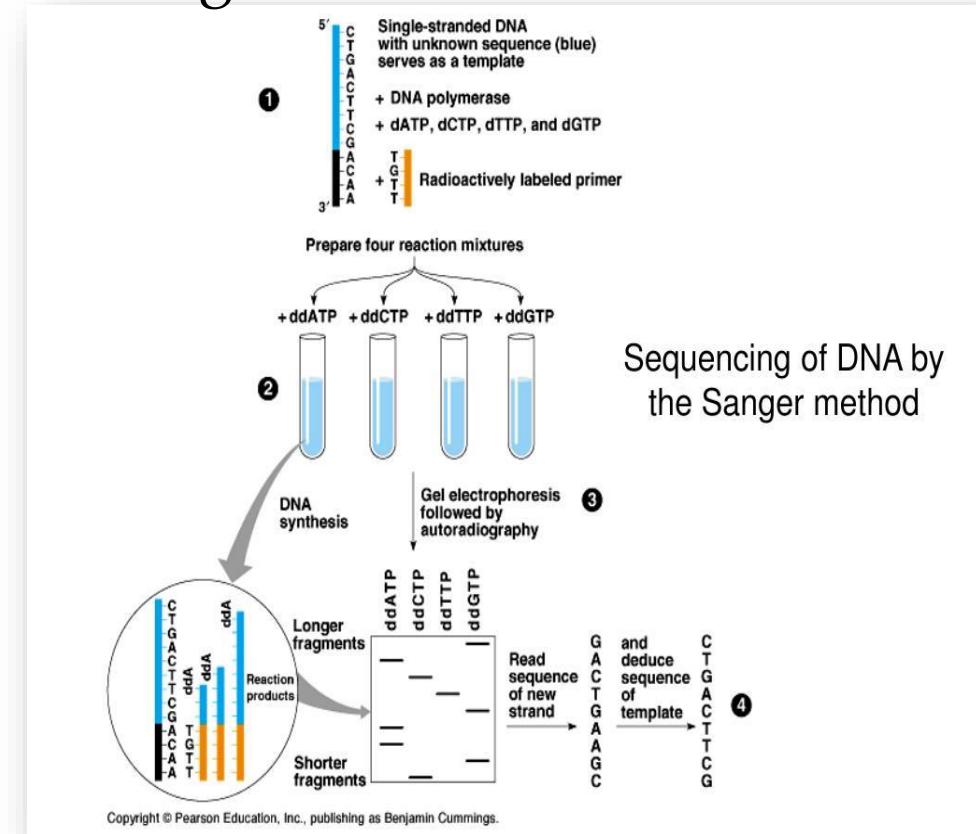
- Amplification & quantification simultanées de plusieurs cibles d'ADN ou d'ARN dans une seule réaction, en utilisant des sondes ou des colorants fluorescents avec des spectres d'émission distincts.
- Plusieurs jeux d'amorces dans une seule réaction pour amplifier simultanément plusieurs séquences cibles.
- Très efficace et permet de réaliser des économies de temps et d'argent tout en permettant une analyse complète de l'expression génétique, la détection de pathogènes et d'autres applications.

- L'amplification isotherme à médiation par boucle (LAMP) en tant qu'alternative simple et rentable à la PCR standard.



- Utilise des amorces formant une boucle d'ADN par synthèse d'ADN auto-amorcée et une ADN polymérase avec une activité de déplacement de brin.
- Le résultat du processus d'amplification est la production de boucles aux extrémités des brins complémentaires, qui s'étendent continuellement
- Avantage:
 - Pas d'usage de machine PCR (thermocycle)
 - Usage sur le terrain: Le processus d'amplification présente une turbidité dans le mélange réactionnel.
 - Moins coûteux.

- Le séquençage du génome est devenu de plus en plus important pour la détection et la caractérisation de l'acide nucléique d'un pathogène dans les échantillons biologiques depuis 1977 par Frederick Sanger.
- **La méthode de Sanger**
 - Technique classique utilisée pour déterminer la séquence des bases **d'un fragment d'ADN**.
 - Elle repose sur l'arrêt de la synthèse du brin complémentaire grâce à l'utilisation de nucléotides spécifiques, les didésoxyribonucléotides (ddNTPs)

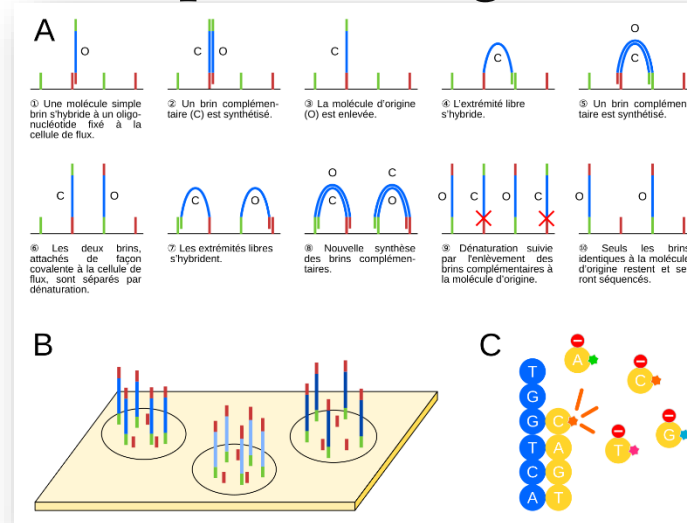




- Technologie de séquençage simultané de **millions de fragments d'ADN**, ce qui était impossible avec les méthodes de séquençage plus anciennes comme celle de Sanger:
- Application: Séquençage de génome entier, découverte de pathogènes, métagénomique, Diagnostic et Epidémiologie moléculaire.



*Machine Minion
pour Lab mobile



(A) Représentation schématique du processus d'amplification en pont (bridge amplification) des clusters sur la cellule de flux (flow cell, trait noir).

(B) Différentes molécules d'ADN sont amplifiées puis séquencées en même temps sur une même cellule de flux

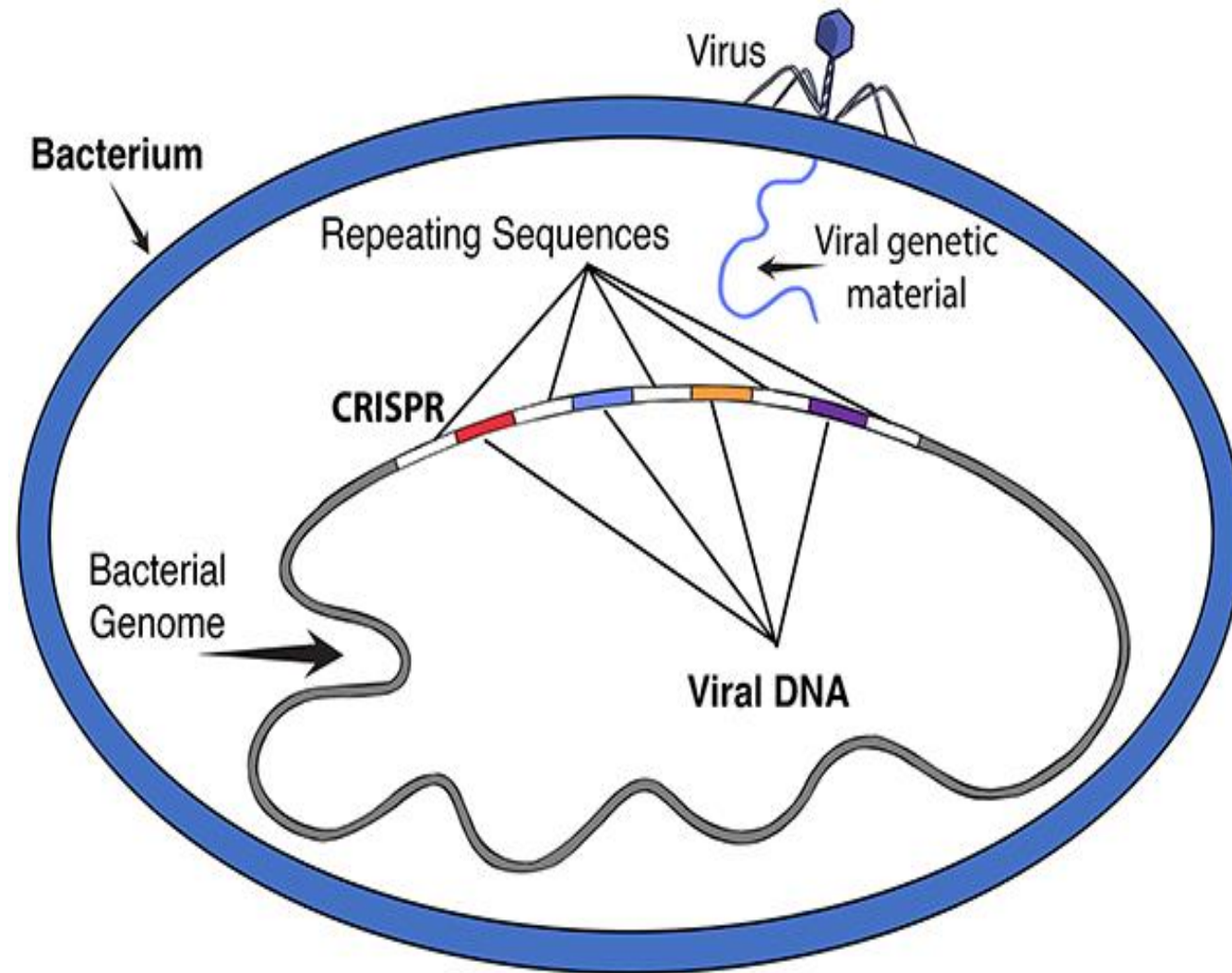


- Les technologies de séquençage PacBio Haute Fidélité (HiFi) ont transformé la recherche génomique,
- Séquençage par consensus circulaire atteignant une **précision de 99,9 % pour les lectures longues (jusqu'à 25 kb) d'une seule molécule.**
- Les lectures longues et précises peuvent couvrir de **grandes sections répétitives d'un génome** qui confondent souvent les assembleurs qui utilisent des lectures plus courtes.



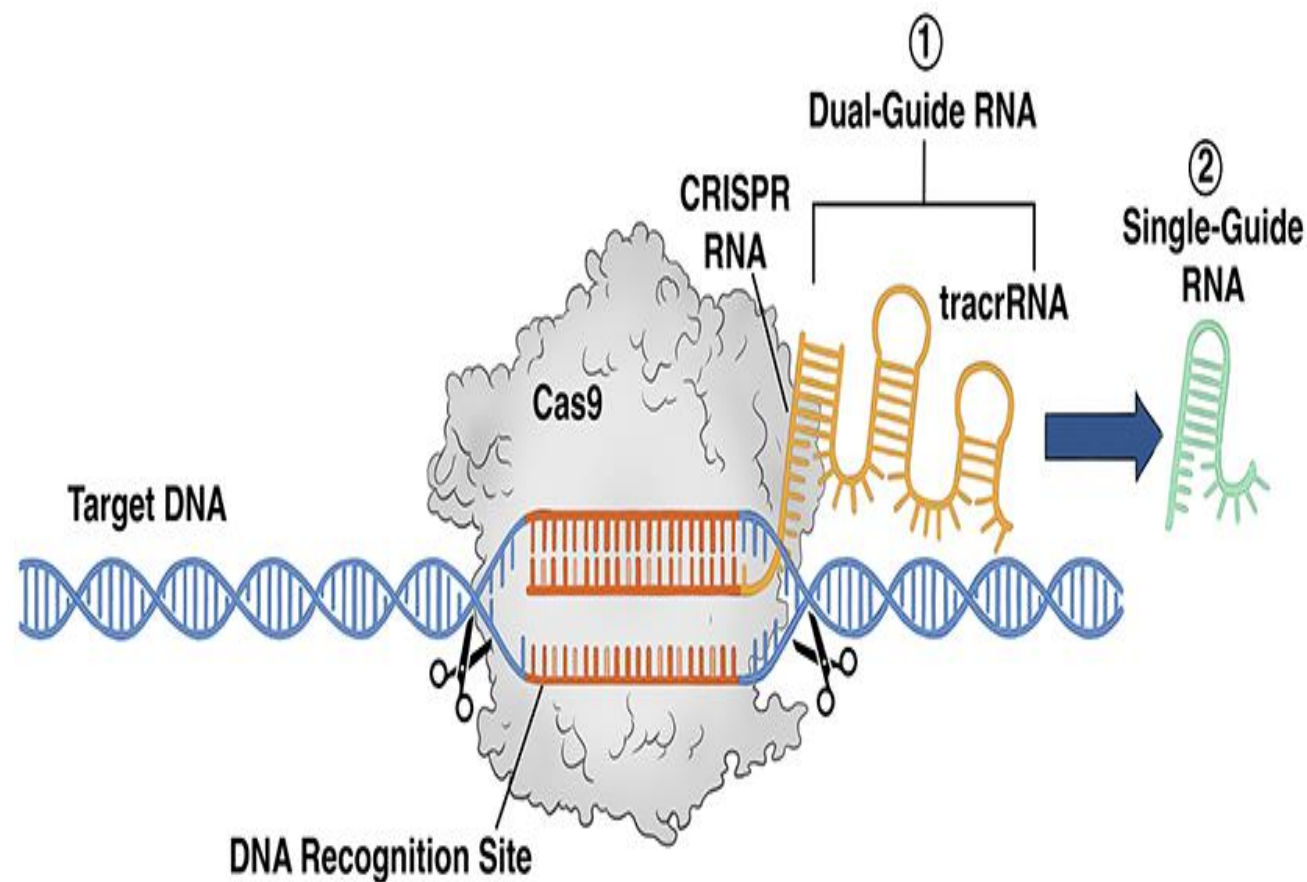


CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)



CRISPR in a bacterial cell.
When viruses infect a bacterial cell, the bacterium keeps a copy of the viral DNA in a site in its genome called CRISPR. The viral DNA pieces are separated by repeating pieces of equally spaced bacterial DNA. This CRISPR segment in the bacterial genome acts as a memory system, allowing the bacterium to quickly recognize and respond to future infections by similar viruses





**A Powerful Technology
for Gene Editing**

CRISPR-Cas9 system.

- (1) Our original CRISPR-Cas9 cleaving system contained a protein called Cas9 carrying two pieces of RNA—crRNA and tracrRNA. This dual-guide RNA system could recognize and cleave a specific part of a target DNA.
- (2) We then engineered and simplified the two RNA pieces of the dual-guide RNA into a single piece of RNA called single-guide RNA. This transformed the CRISPR-Cas9 system into one that could recognize and cleave any piece of any DNA scientists are interested in.



CRISPR-Cas9: Un outil technologique d'édition de gènes puissant

CRISPR – Cas est un Système à l'intérieur de la bactérie qui utilise CRISPR RNA et CAS (CRISPR protéine associée) pour détecter et détruire le DNA viral

- Les technologies d'édition de gènes basées sur CRISPR ont des applications
- dans de nombreux domaines, notamment la médecine, l'agriculture et le changement climatique.
- Technologie applicable au diagnostic des maladies infectieuses, au développement de vaccins.





Point-of-Care Test –Test au point d'intervention

- Les tests au point d'intervention (Penside test) sont en développement pour un usage plus facile et rapide sur le terrain
- L'OMSA a développé une trame pour la validation de ces tests afin d'assurer leur qualité et leur fiabilité.



Rôle de l'IA dans le diagnostic des maladies infectieuses

1. Détection précoce des maladies

- L'IA peut analyser rapidement de grandes quantités de données (symptômes, antécédents médicaux, imagerie, tests de laboratoire).
- Exemples :
 - Analyse d'images radiographiques pour détecter une pneumonie virale comme le COVID-19.
 - Algorithmes de dépistage rapide du paludisme ou de la tuberculose à partir de lames microscopiques numérisées.

2. Aide au diagnostic en laboratoire

- L'IA accélère l'interprétation des résultats de tests :
 - Identification de pathogènes à partir de données de séquençage ADN/ARN (métagénomique).
 - Analyse automatisée de cultures bactériennes ou virales.
 - Prédiction de la résistance aux antibiotiques (ex. : antibiogrammes assistés par IA).



3. Surveillance et prédiction épidémiologique

- Suivi en temps réel des épidémies via les données de santé, réseaux sociaux, mouvements de population.
- Prévion des flambées de maladies infectieuses (grippe, dengue, COVID-19, RFV) en se basant sur les conditions météorologiques, la population du vecteur, la population animale susceptible, etc.

4. Télédiagnostic et soins à distance

- IA intégrée à des plateformes de téléconsultation pour orienter les patients vers un diagnostic initial.
- Utilisation dans des régions à faibles ressources, avec des outils portables appuyés par IA (ex. : analyse d'une photo de gorge pour suspecter une angine bactérienne).





Avantages de l'IA

- **Rapidité** du diagnostic.
- **Réduction des erreurs humaines.**
- **Accessibilité** dans les zones rurales ou sous-médicalisées.
- **Aide à la décision** pour les médecins, Vétérinaires.

Limites et défis

- **Qualité des données** : biais, incomplétude, représentativité.
- **Éthique et confidentialité** : protection des données de santé.
- **Interprétabilité** : les modèles « boîte noire » sont parfois difficiles à expliquer.
- **Formation** des professionnels de santé à l'usage de ces technologies.





Exemples concrets

- **COVID-19** : Outils d'analyse d'images pulmonaires, triage de patients aux urgences par IA.
- **Paludisme** : Diagnostic via des applications mobiles combinées à des microscopes automatisés.
- **Tuberculose** : Utilisation de l'IA pour interpréter les radios pulmonaires (projets soutenus par l'OMS).
- **Grippe** : Prédiction de l'évolution saisonnière via des algorithmes analysant des tendances sur le Web et les réseaux sociaux.





Collecte d'échantillons biologiques

- Collecte d'échantillons non invasifs tels que : urine, faeces, salive, fruits pour la détection et l'identification de certains agents pathogènes.
- Ceci nécessite le développement de tests avec une sensibilité et spécificité élevées
- Applicable surtout à la faune sauvage.
- Utilisation de **papier filtre** pour la collecte d'échantillons tels que le sang total.
- Innovation technologique permet d'atteindre cet objectif d'améliorer le diagnostic des maladies animales.





Thank you