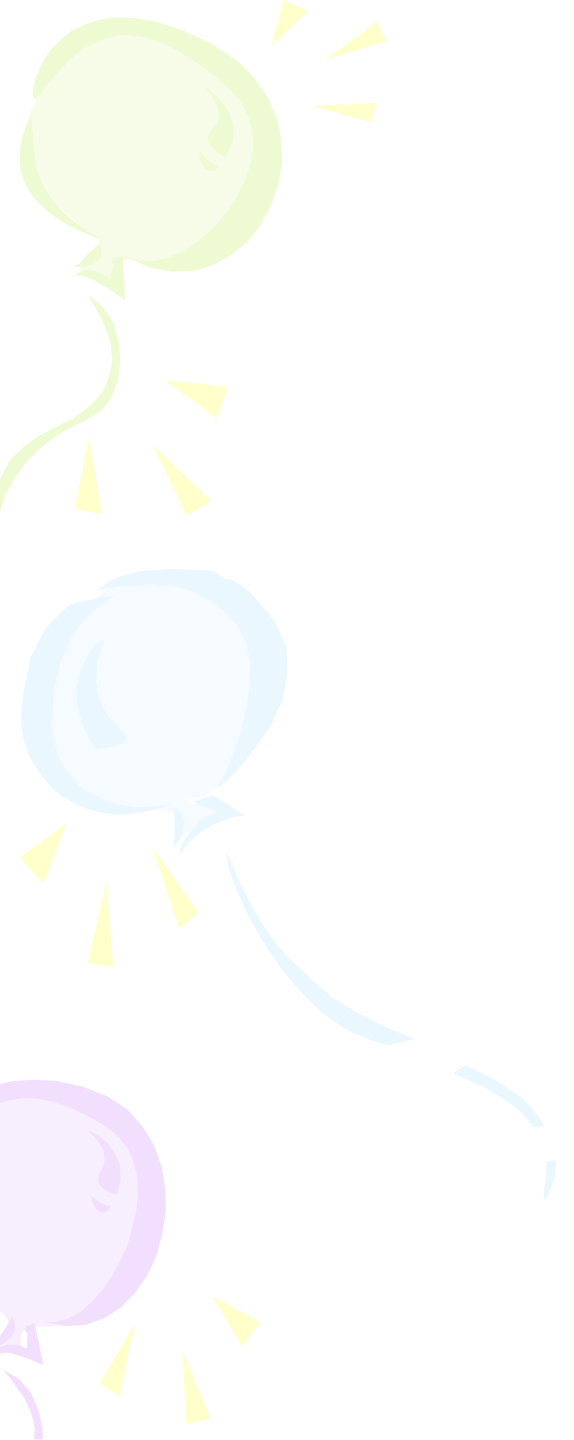


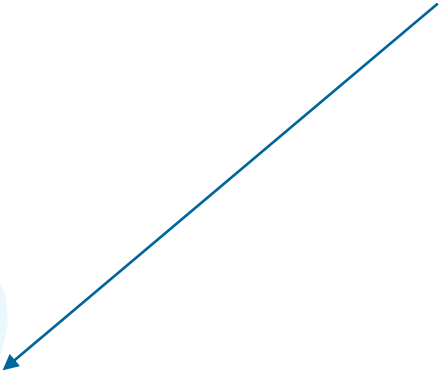


Techniques immunologiques

ELISA

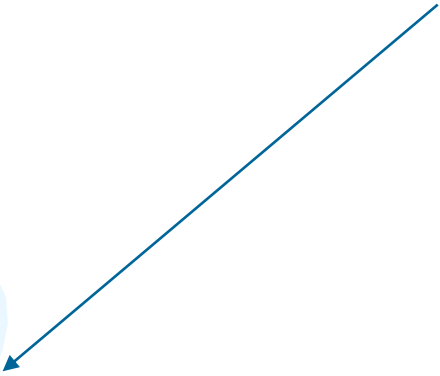


ELISA



Enzyme


ELISA



Enzyme

Linked

ELISA



Enzyme

Linked

ImmunoSorbent

ELISA

Three balloons (green, blue, and purple) with yellow streamers are positioned on the left side of the slide, partially overlapping the diagram.

Enzyme

Linked

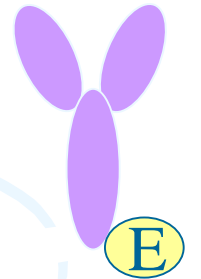
ImmunoSorbent Assay

ELISA

Enzyme

Linked

ImmunoSorbent Assay

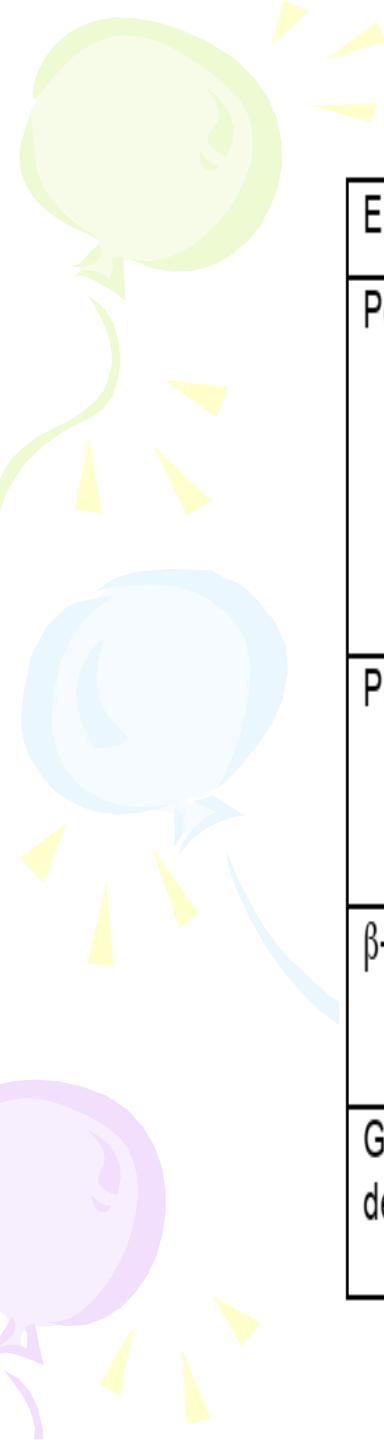


Anticorps



Antigène

Ce test repose donc sur l'utilisation d'une enzyme pour détecter les complexes immuns



Enzyme	Origine	Substrats	Lecture
Peroxydase	Raifort (radis noir)	<ul style="list-style-type: none"> - OPD (Ortho-phénylènediamine), mutagène - ABTS (2,2', azinodi(3-éthyl) benzothiazolinéi-6-sulfonique acide) - TMB (3,3' 5,5' -tétraméthylbenzidine) - Acide para-hydroxyphényl propionique - Luciférine 	} Spectrophotométrie Fluorimétrie Chimieluminescence
Phosphatase alcaline	E. coli Muqueuse du tube digestif du veau	<ul style="list-style-type: none"> - Para-nitrophénylphosphate - Phosphate de 4-méthylombelliférone 	Spectrophotométrie Fluorimétrie
β -galactosidase	E. coli	<ul style="list-style-type: none"> - Orthonitrophényl-β-D galactopyranoside (ONPG) - 4-méthylombelliféryl-βD-galactoside 	Spectrophotométrie Fluorimétrie
Glucose 6-phosphate déshydrogénase	Leuconostroc mesenteroïdes	<ul style="list-style-type: none"> - Luminol en présence de NAD - Glucose 6-phosphate en présence de NAD 	Chimieluninescence Spectrophotométrie

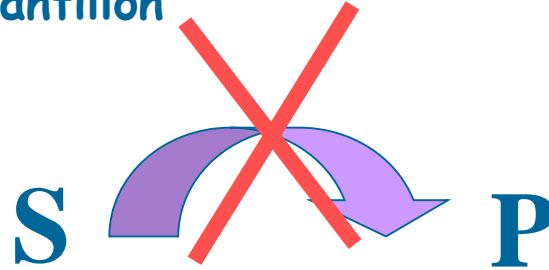
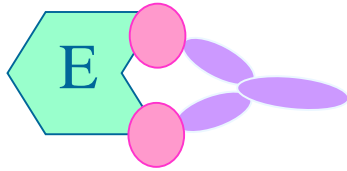


Les différents types d'ELISA (variantes)

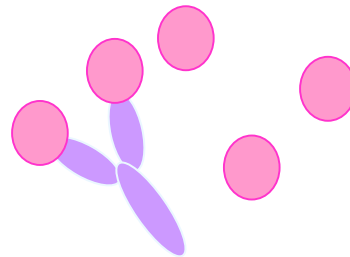
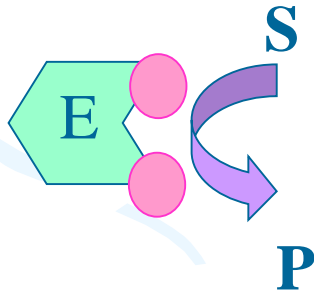
- Phase homogène
- Phase hétérogène
 - ELISA direct
 - ELISA indirect
 - ELISA Sandwich
 - ELISA par compétition

Les ELISA en phase homogène

Antigène absent de l'échantillon



Antigène présent dans l'échantillon

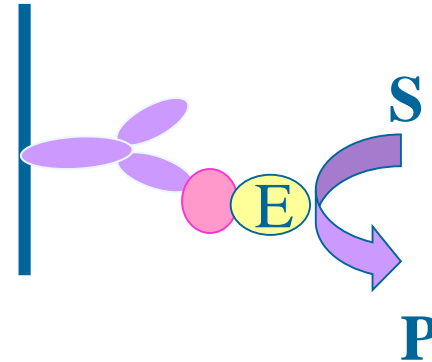
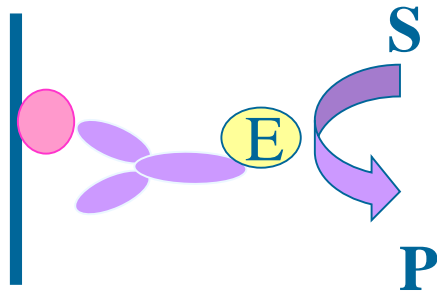


Les ELISA en phase hétérogène

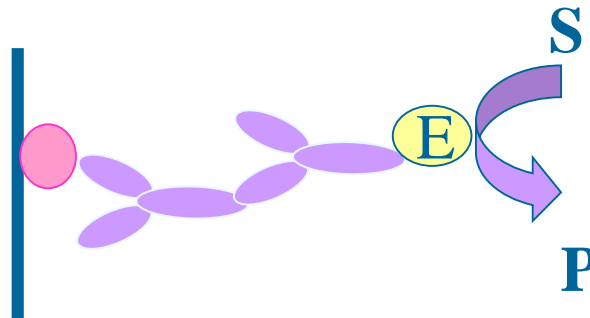
ELISA direct

Anticorps marqué

Antigène marqué



ELISA indirect

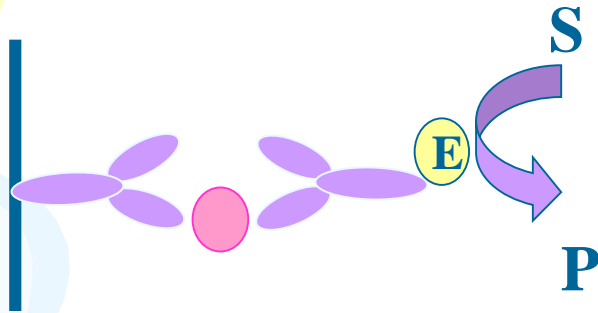


Recherche d'anticorps dans le plasma

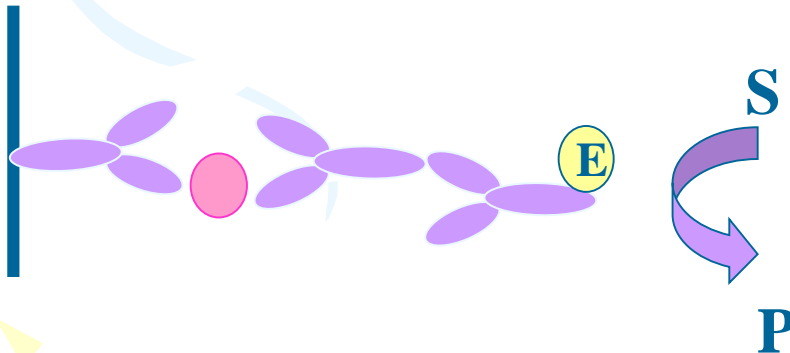
Les ELISA en phase hétérogène

ELISA sandwich

Sandwich (direct)



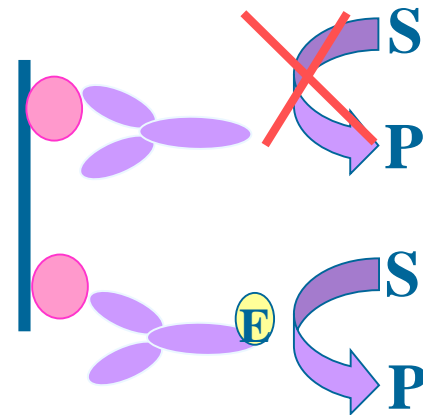
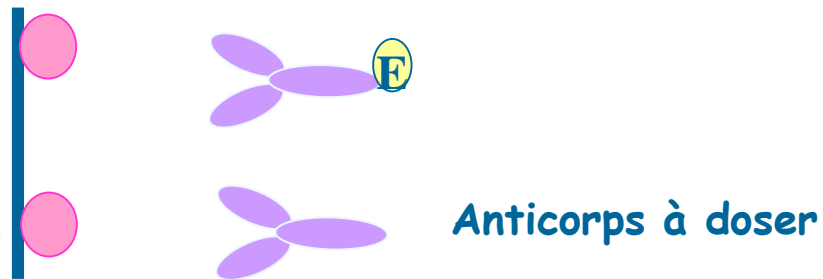
Double Sandwich (indirect)



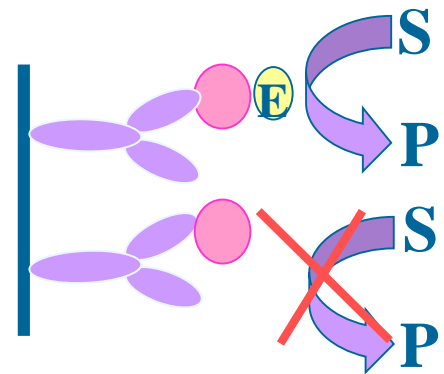
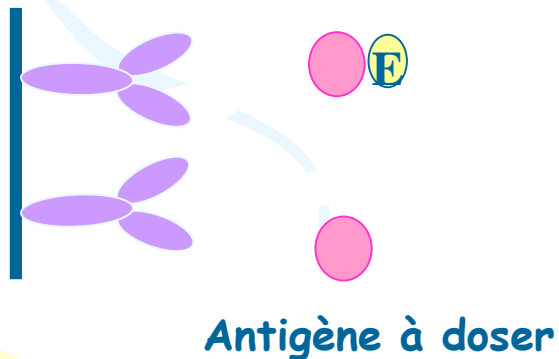
Les ELISA en phase hétérogène

ELISA par compétition

Compétition au niveau de l'anticorps



Compétition au niveau de l'antigène





Applications :

Les techniques ELISA sont très utilisées en :

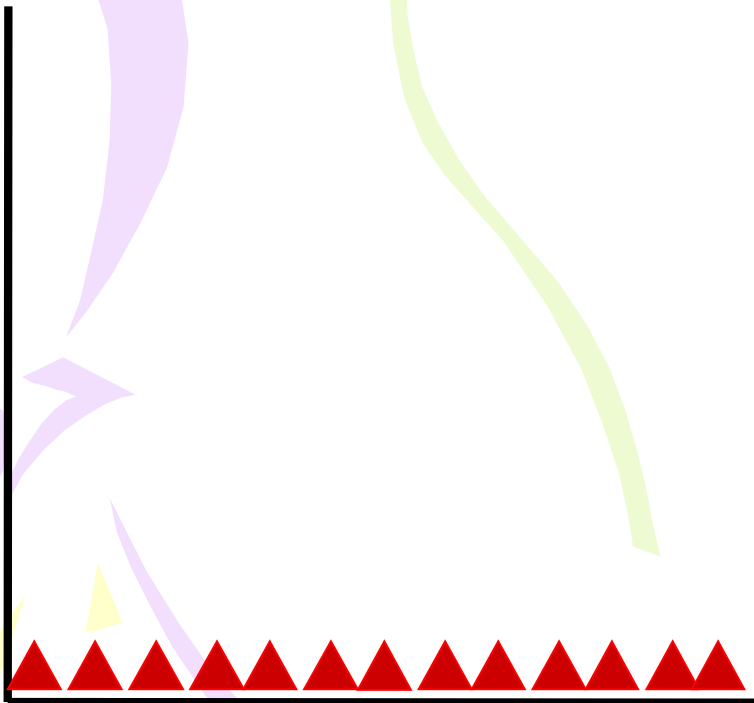
- recherche fondamentale et appliquée (reconnaissance des épitopes protéiques, des haptènes)
- analyse médicale, pour le dosage de nombreuses substances (Ag, Ac, hormones, marqueurs tumoraux, médicaments, cytokines, hormones) - HIV Ag, HIV Ac

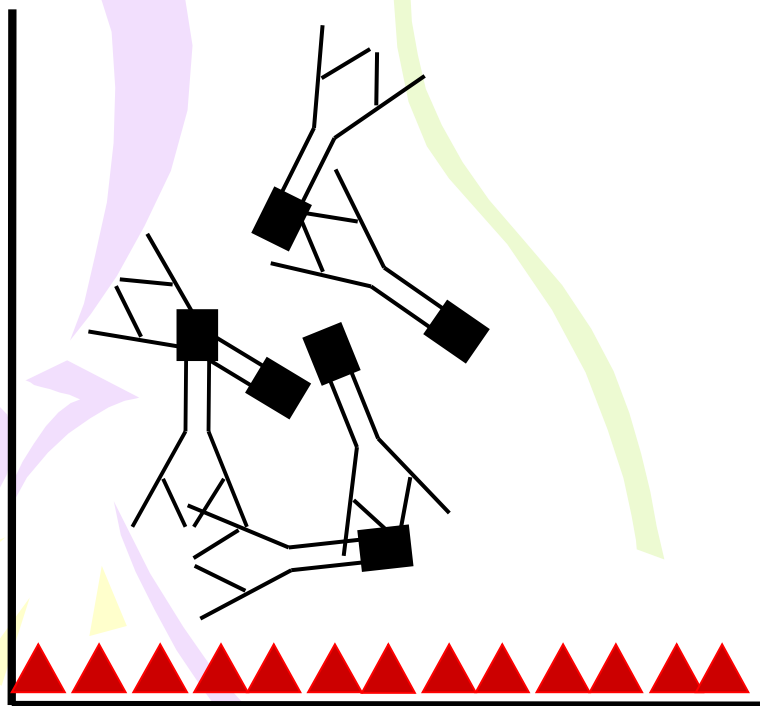


Exemple en détails:

Nous allons détecter la présence d'anticorps anti-BSA (Bovine sérum albumine) dans le sérum d'un lapin.

**La première étape : le
« cotting » consiste à
tapisser le fond des puits
avec la BSA (par effet
électrostatique)**

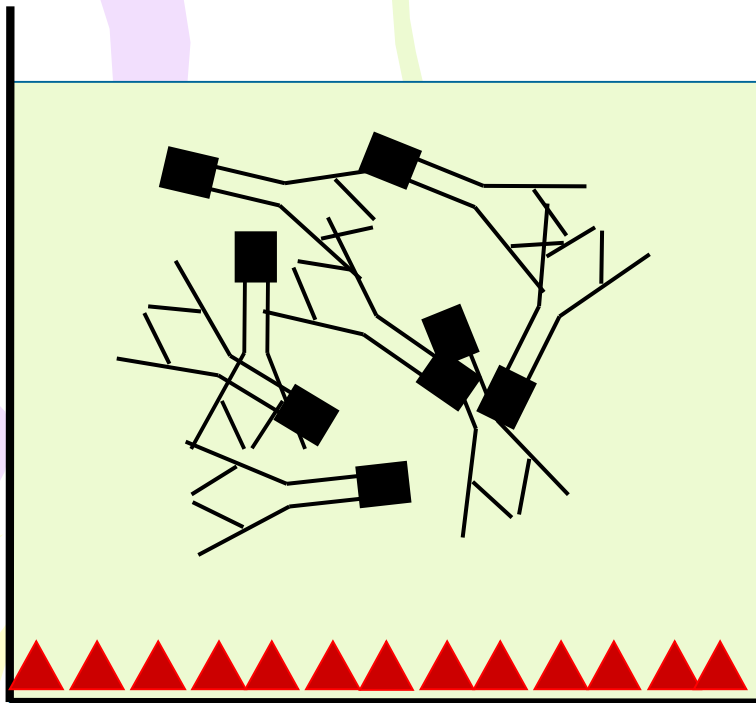




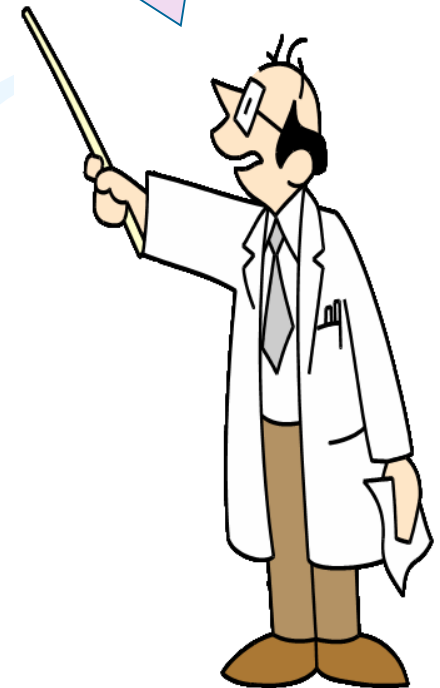
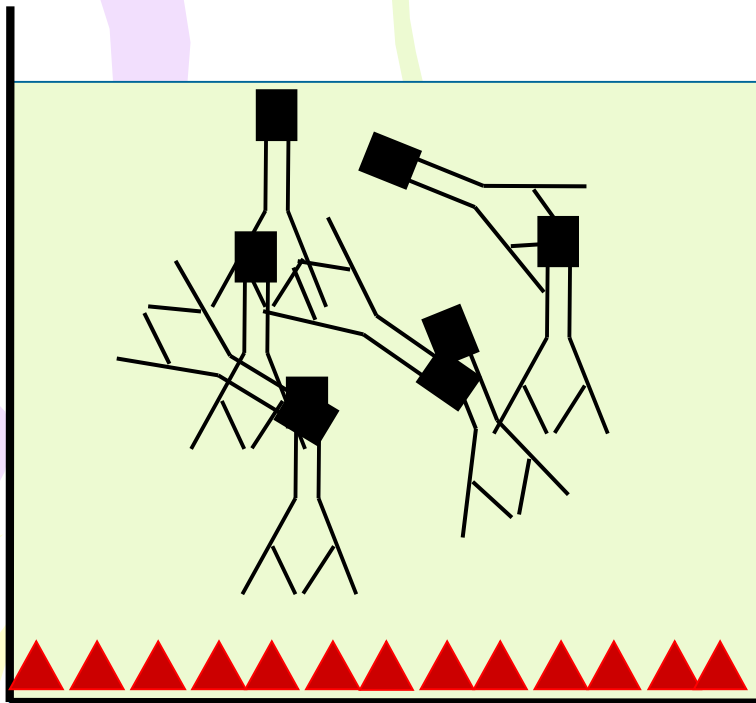
**La seconde
étape** consiste
à mettre le
sérum à tester
dans les puits
préalablement
saturé



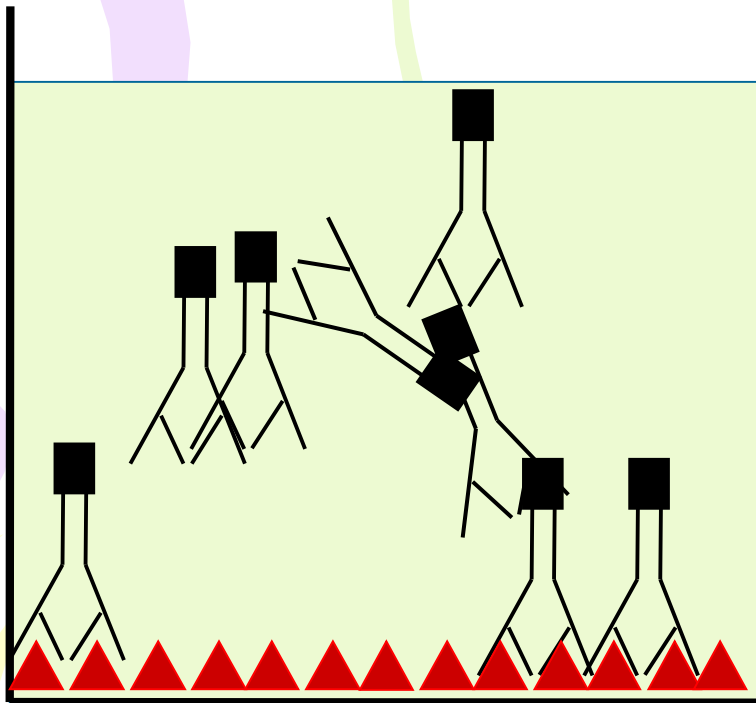
Si l'organisme est
«immunisé», sérum
possède des anticorps
anti-BSA



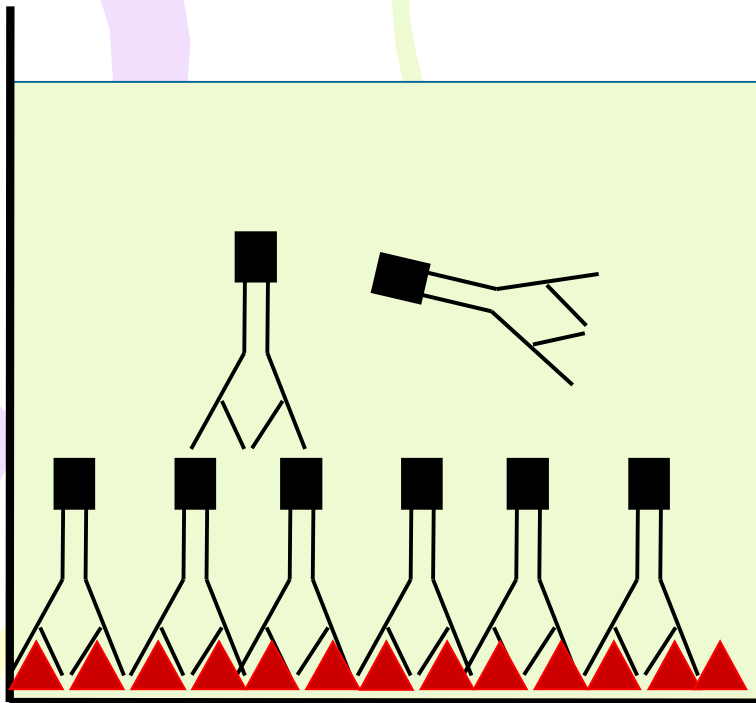
Si l'organisme est
«immunisé», sérum
possède des anticorps
anti-BSA



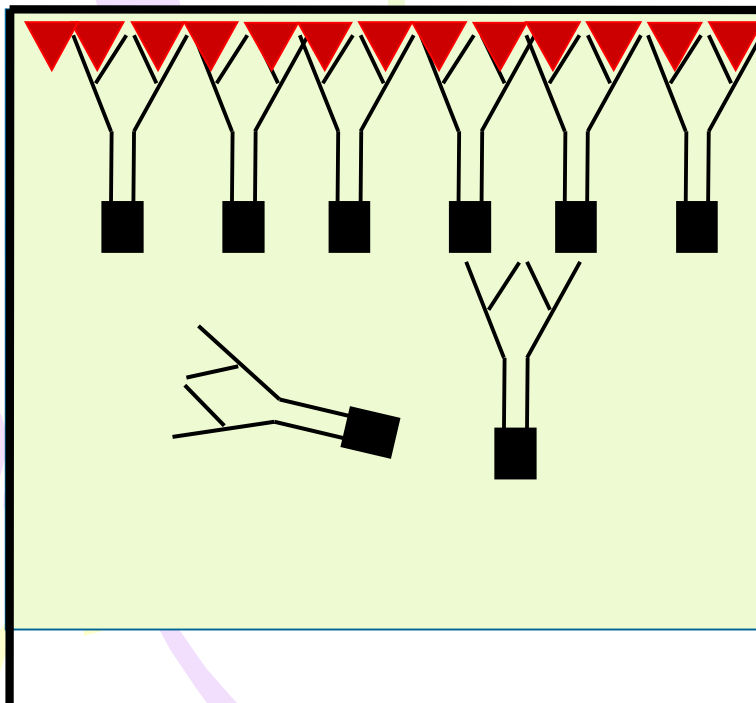
Ces anticorps anti-BSA viennent se fixer sur la BSA qui tapisse le fond du puits.



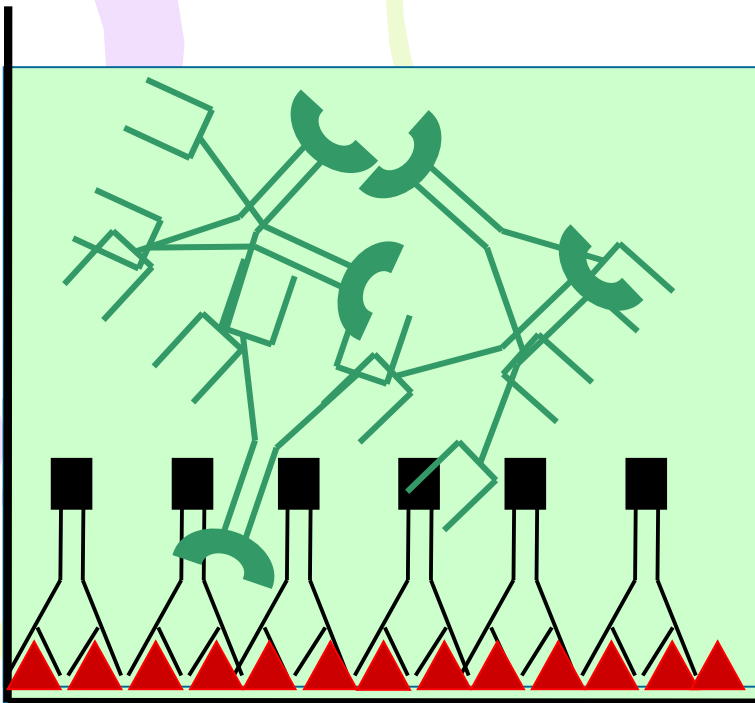
On vide ensuite le puits
d'un geste rapide.



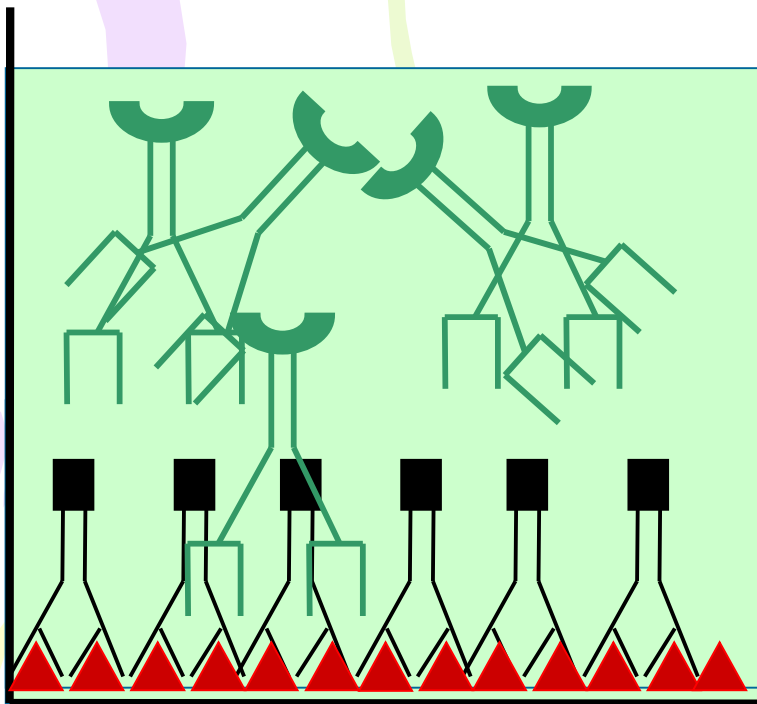
Puis le puits est lavé
avec une solution
tampon tween pour
enlever les quelques
anticorps non fixés.



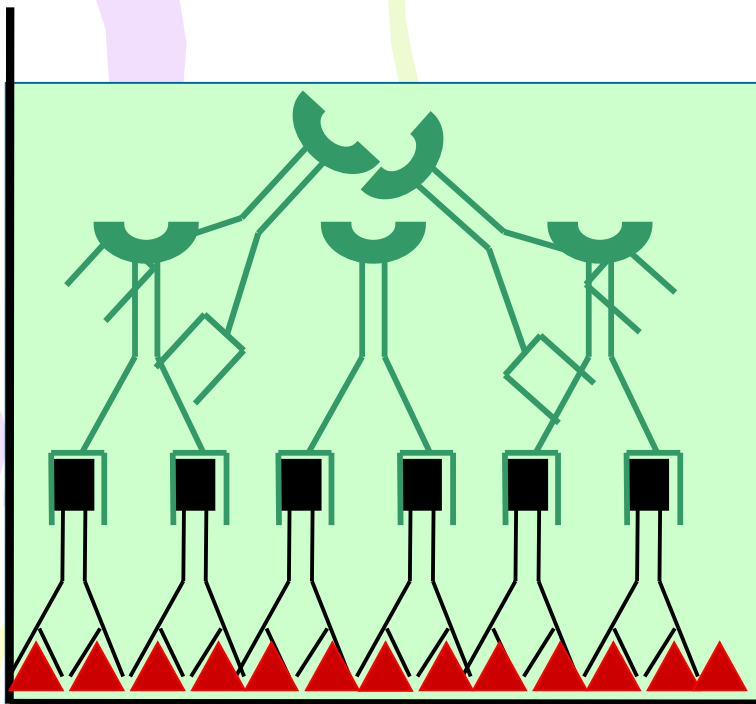
On met alors les
seconds anticorps
de détection qui se
fixent aux anticorps
anti-BSA.



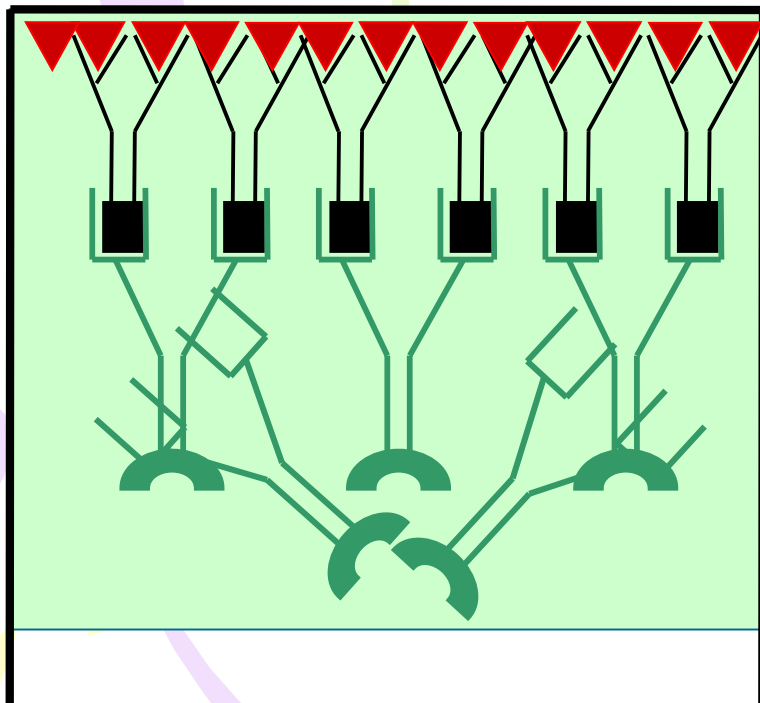
Ces anticorps de
détection se fixent
aux anticorps anti-
BSA.



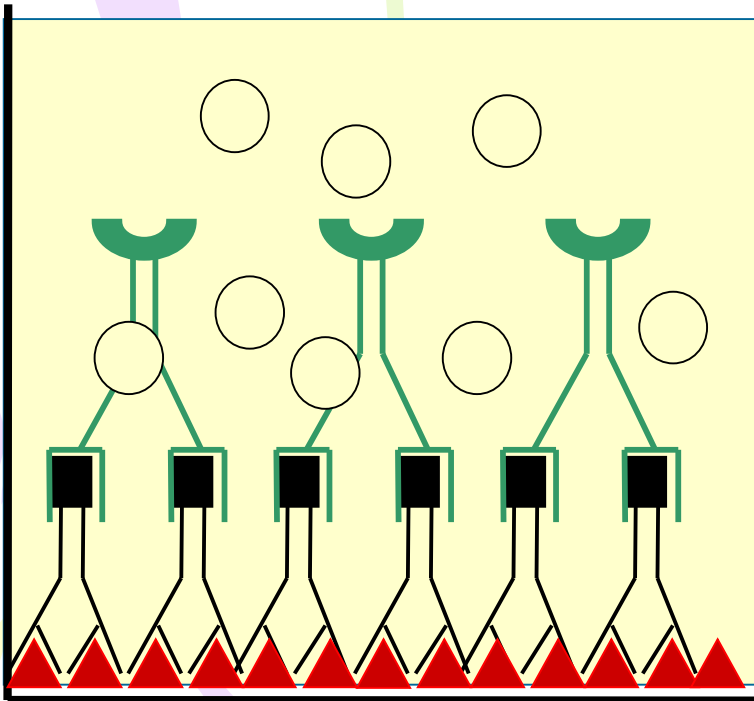
Le puits est vidé et
lavé deux fois avec le
tampon tween



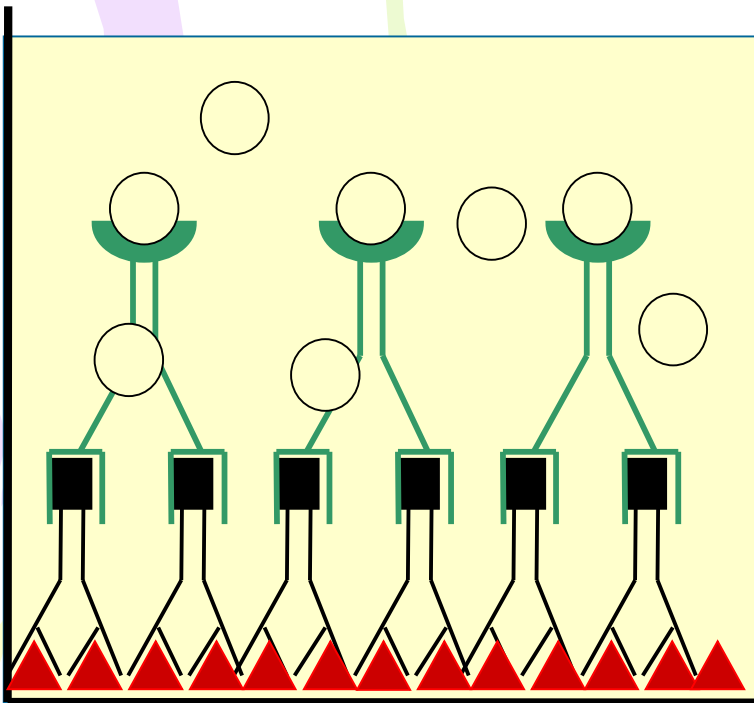
Le puits est vidé et
lavé deux fois avec le
tampon tween



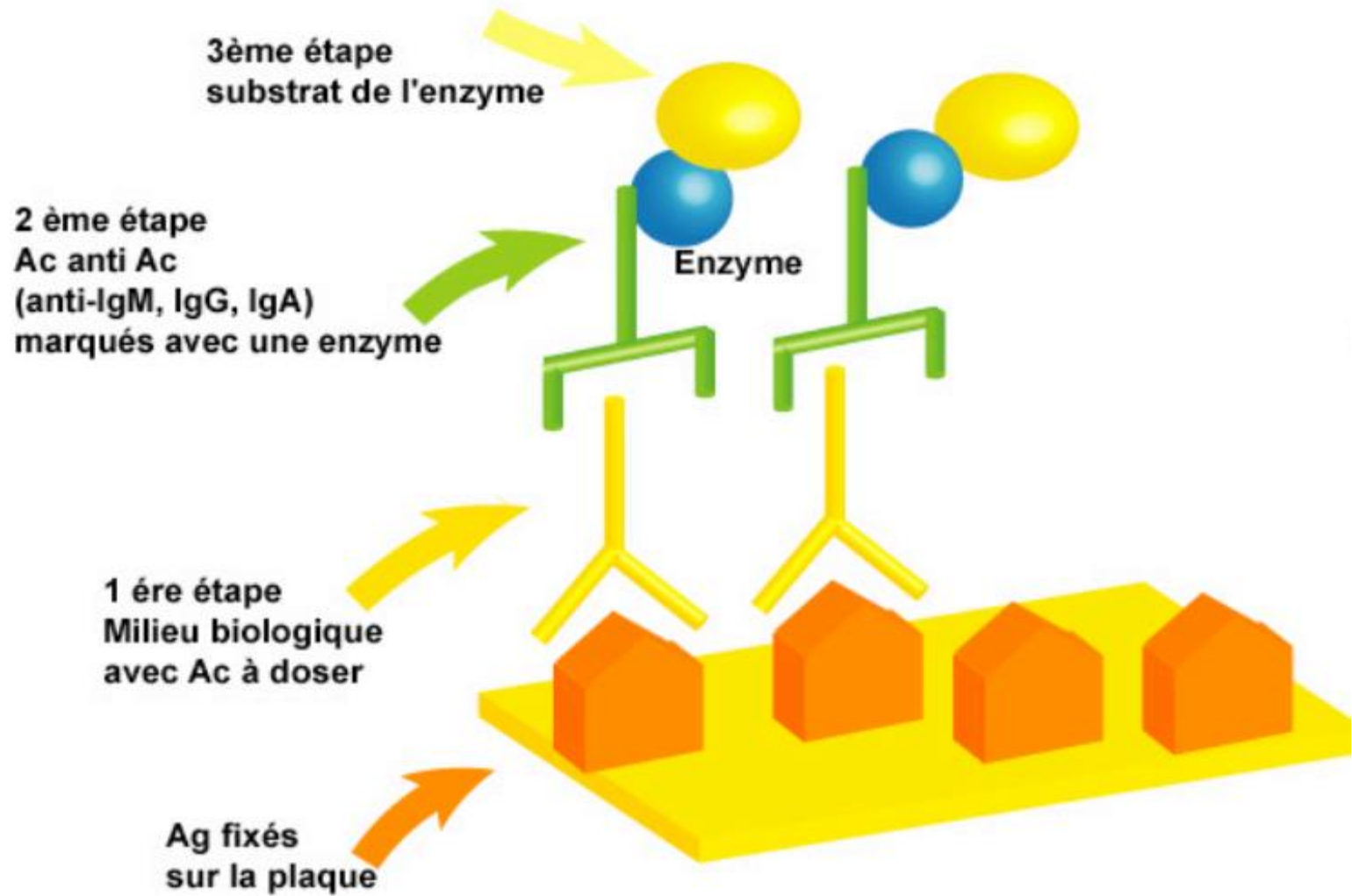
Le substrat se colore
en bleu en présence
de l'enzyme



La coloration bleue indique donc la présence d'anticorps anti BSA.
L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps anti-BSA ; cette méthode permet donc un dosage par colorimétrie

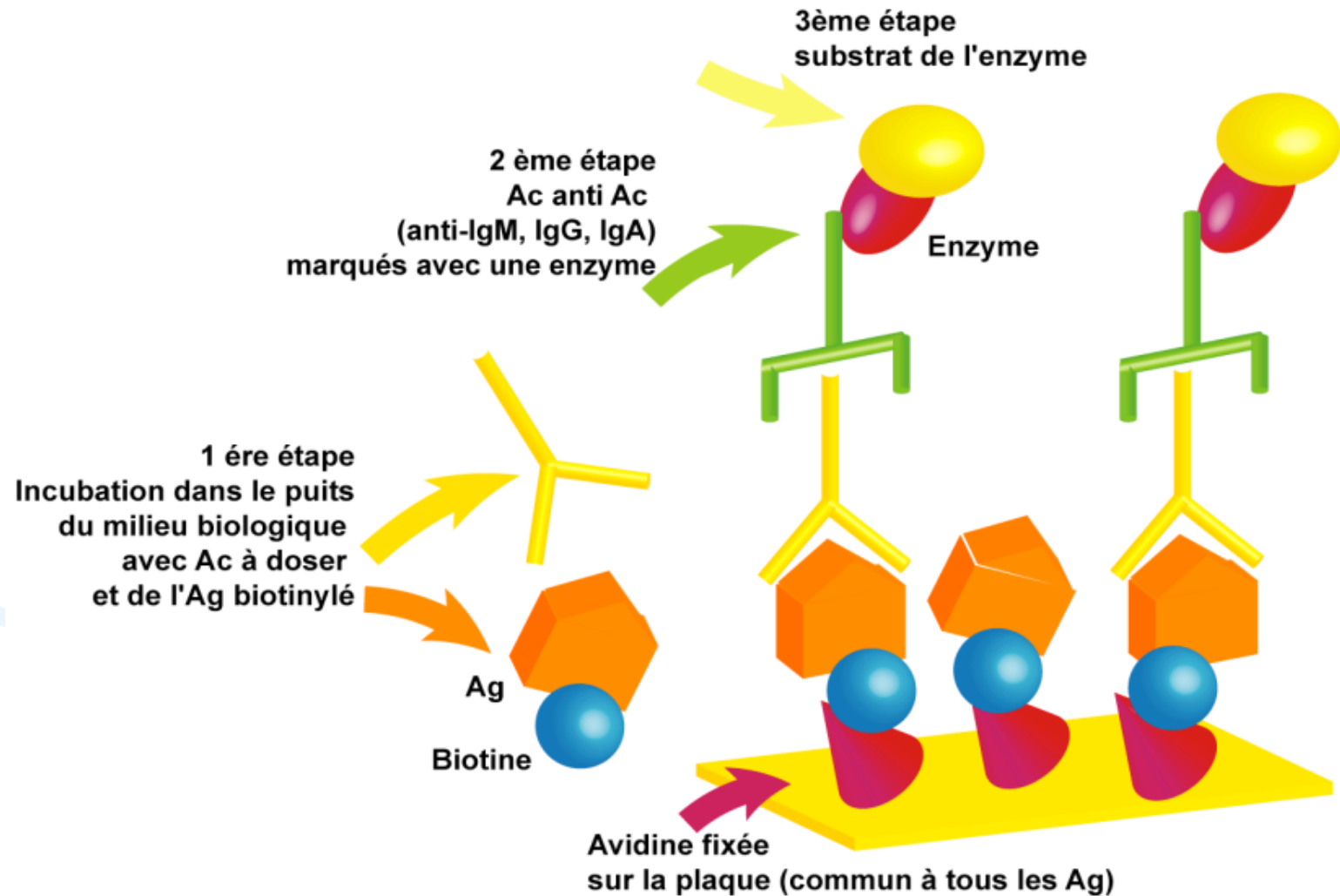


ELISA INDIRECT DETECTION D'Ac



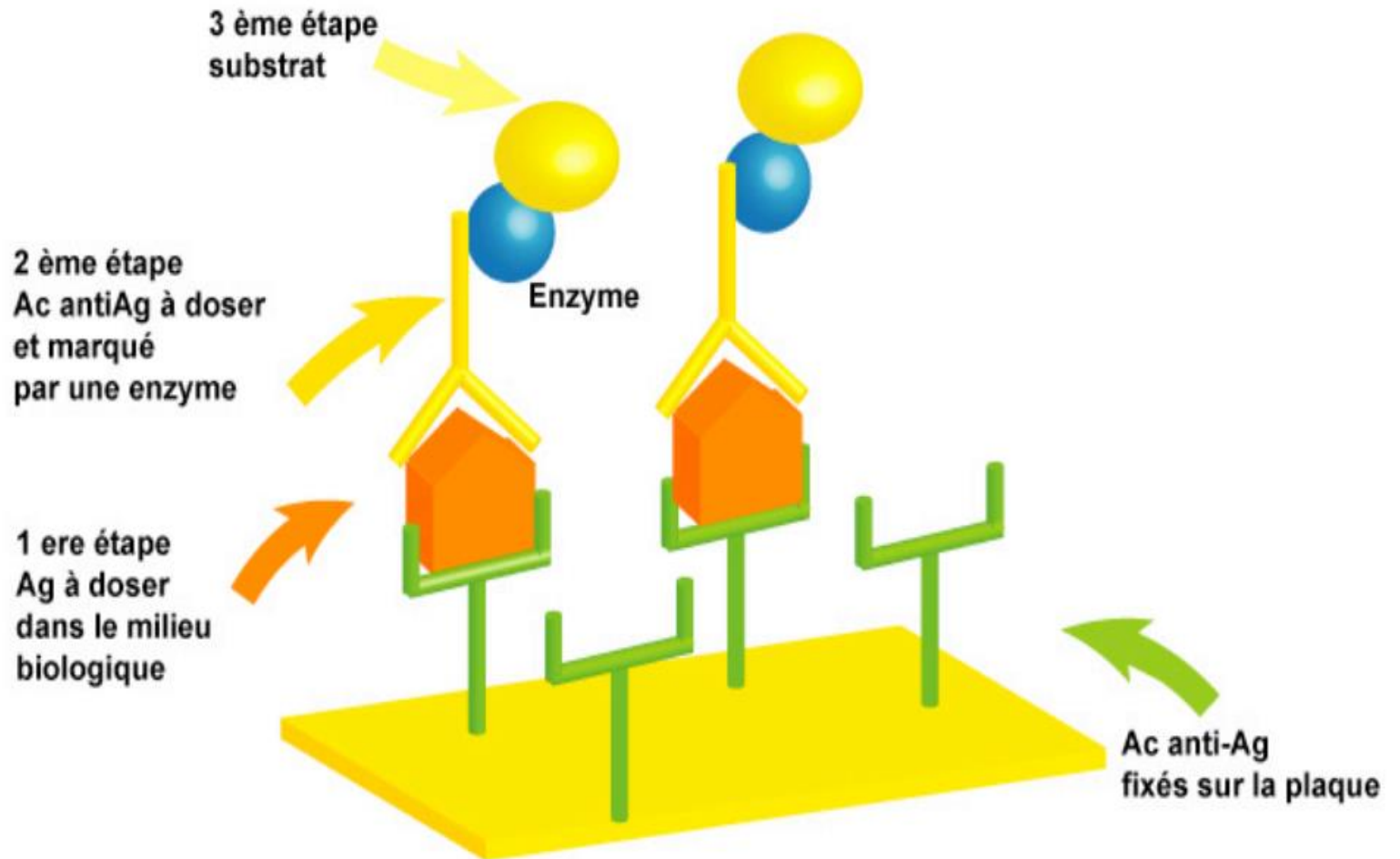
Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

ELISA indirect avec capture de l'Ag sous forme liquide par le système avidine-biotine



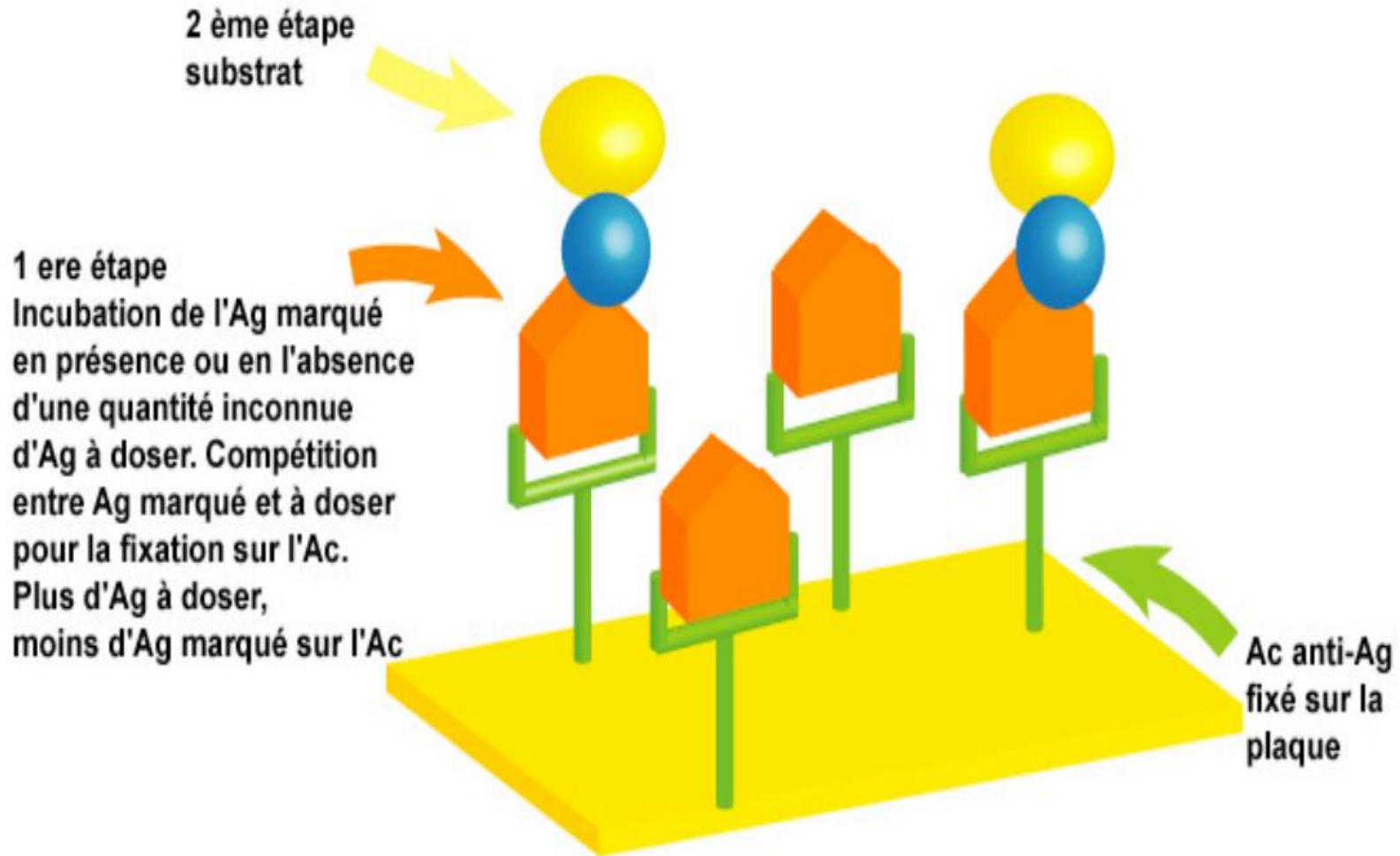
Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

TECHNIQUE SANDWICH DETECTION D'Ag



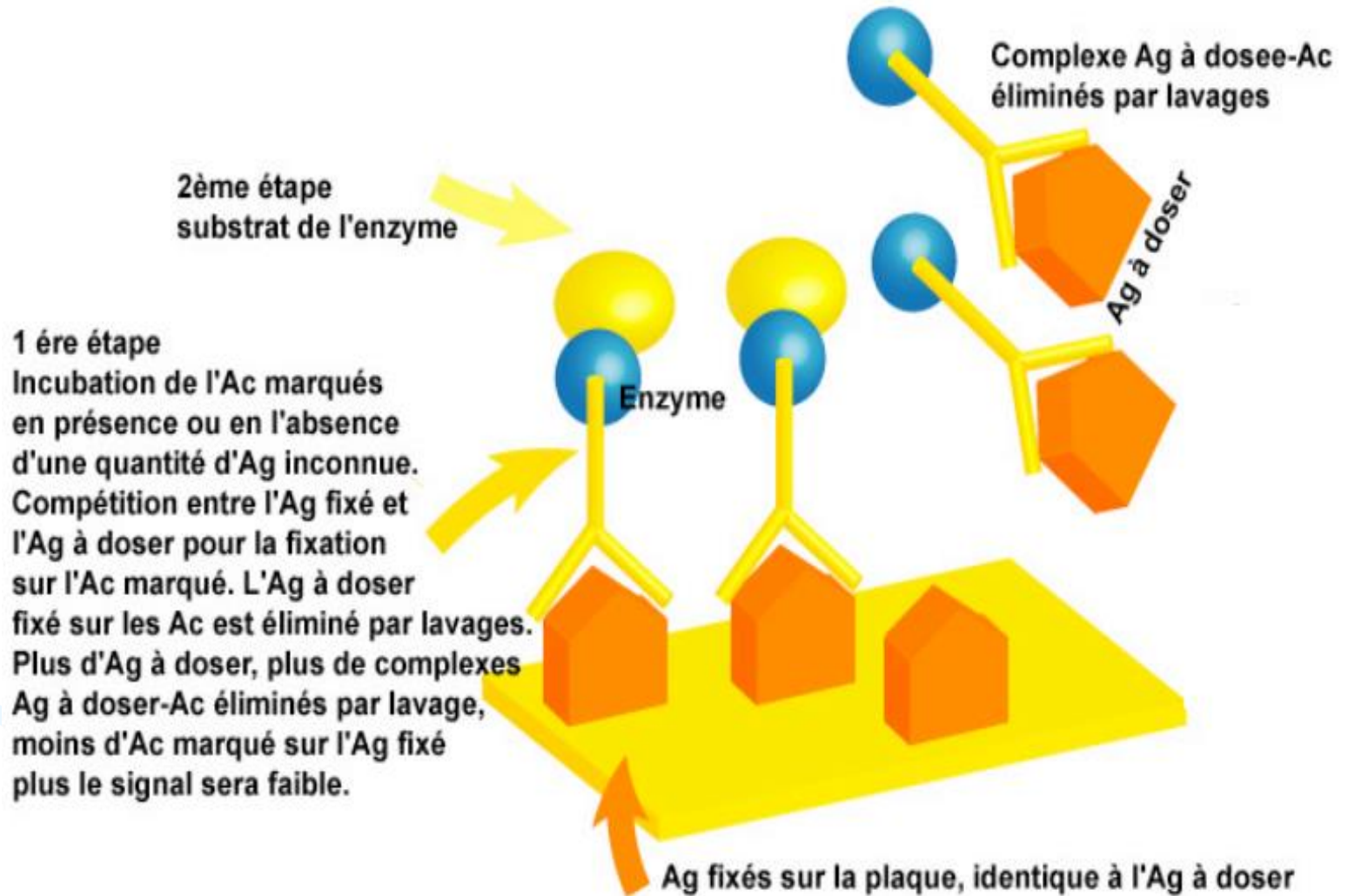
Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

ELISA par compétition. Utilisation d'un Ag conjugué à une enzyme



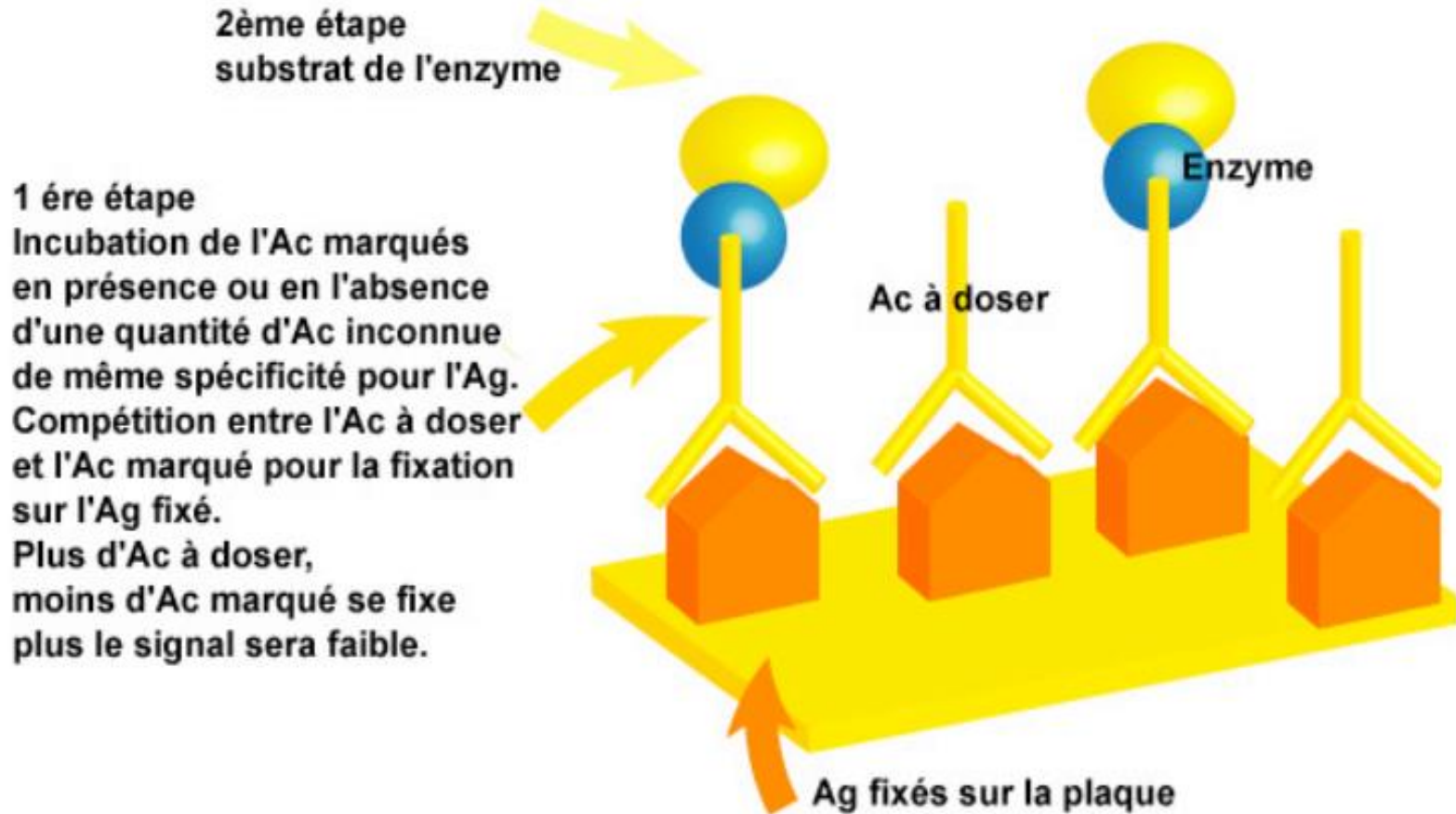
Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

Dosage d'Ag, ELISA compétition avec l'Ag immobilisé



Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

ELISA COMPETITION DETECTION D'Ac



Chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées

.....automatisation

