

II. ELIEDA (*Enzyme Linked ImmunoElectroDiffusion Assay*)

PRINCIPE GENERAL

- ❖ Dans le but de sensibiliser la méthode d'immuno-électrodifusion (IED) et de définir la classe des immunoglobulines impliquées dans la réaction antigène — anticorps , l'IED a été complétée en la couplant à une technique enzymatique.
- ❖ Les immunocomplexes précipités sont traités par des anticorps conjugués à une enzyme spécifique des immunoglobulines de chaque classe.
- Cela réalise la technique **E.L.I.E.D.A.**

PRINCIPE GENERAL

La technique est effectuée selon une technique en **Sandwich** en 3 étapes :

- **Immuno-électrodifusion (IED)** qui assure la formation rapide de complexes immuno-précipitant.
- **Les complexes immuns** ainsi formés sont traités par des Ac anti-immunoglobuline humaine marquées à la peroxydase. ceux-ci se fixent sur les immunoglobulines correspondantes retenues au contact de l'Ag
- **Révélation:** Les complexes antigène-anticorps formés sont révélés par une réaction enzymatique.

Applications:

La technique est appliquée dans le diagnostic :

- ❖ Bilharzioses : pour déterminer la présence d'IgM, qui est spécifique de la présence d'œufs vivants $\Rightarrow$ Bilharziose évolutive
- ❖ Hydatidose : Pour la Détermination de la classe d'immunoglobuline IgM (kystes fissurés), IgA (Kyste pulmonaire) et pour le suivi thérapeutique
- ❖ Aspergillose : pour le suivi évolutif de l'affection

Avantages

- La sensibilité et la spécificité de la méthode sont remarquables
- Permet le suivi du caractère évolutif de l'affection.

Inconvénients

Contraintes d'ordre technique

I. ELIFA (*Enzyme Linked ImmunoFiltration Assay*)

PRINCIPE

Effectuer en 3 étapes :

- **1^{ère} étape** : électrosynérèse avec des antigènes solubles
- **2^{ème} étape** : immunofiltration
- **3^{ème} étape** : révélation par addition du substrat chromogène, qui permet de visualiser les bandes de précipitation.

Application

- **Toxoplasmose** congénitale et néonatale

LES TECHNIQUES D'IMMUNO-EMPREINTE

Pr MANSOURI R.

Technique d'Immuno-empreinte ou Western Blot

PRINCIPE

- Les extraits protéiques Agéniques sont dénaturés et séparés selon leur PM par **électrophorèse** sur gel de poly-acrylamide en présence de SDS (SDS-PAGE)
- Les protéines ainsi séparées en fonction de leur masse moléculaire sont alors transférées sur une membrane de nitrocellulose permettant d'avoir une réplique fidèle des protéines transférées.
- Les protéines transférées sont incubées avec les sérums
=> interaction entre chaque fraction Agénique et les Ac
- les couples antigène-anticorps sont révélés par l'ajout d'anti-immunoglobuline marquée à une enzyme.
- La révélation du ligand immunoenzymatique se fait par

Pr MANSOURI R.

Technique d'Immuno-empreinte ou Western Blot

PRINCIPE

- La révélation du ligand immunoenzymatique se fait par l'addition du substrat spécifique de l'enzyme.

- **Detection**

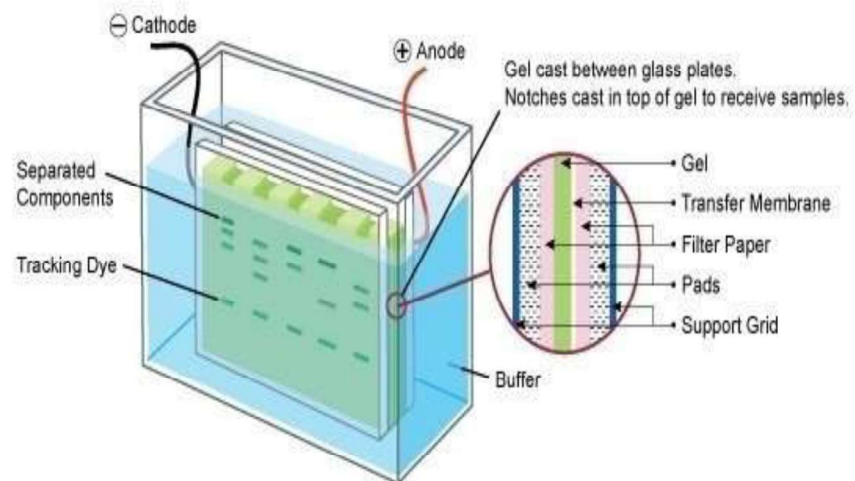
le plus souvent-par colorimétrie-⇒ bandes colorée

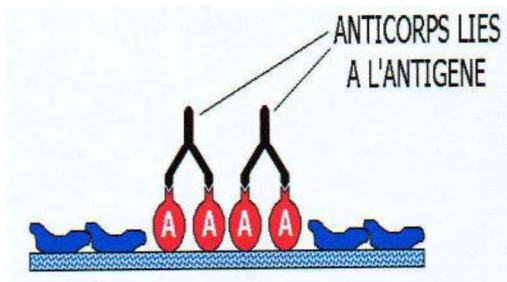
Ou

- par chimiluminescence (sensible++)
- Par autoradiographie
- par fluorescence

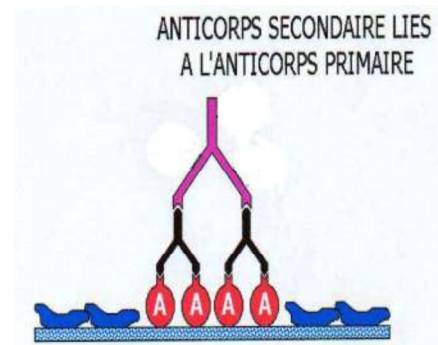


Western Blot Setup

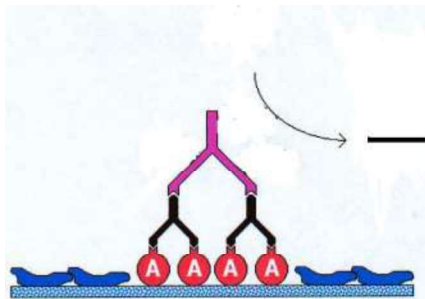




1. Fixation de l'Ac primaire



2. Fixation de l'anti-immunoglobuline



3. Révélation par action du substrat sur la phosphatase alcaline et apparition de bandes colorées visibles à l'œil

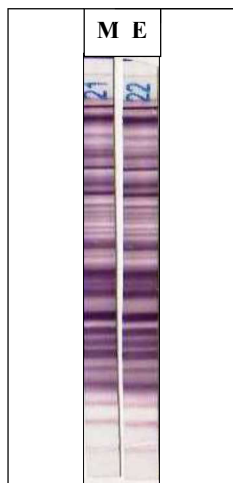
Applications

1. Toxoplasmose

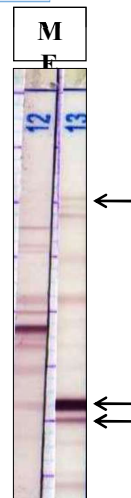
- Cette technique comparative d'un grand apport au diagnostic de la **toxoplasmose**:
 - **Toxoplasmose Congénitale** : elle permet de comparer le sérum mère /enfant, elle est aussi appliquée à la détection de l'ensemble des classes d'anticorps (IgG, IgM, IgA)
 - **Toxoplasmose Oculaire** ⇒ comparer sérum/HE
 - **Toxoplasmose Cérébrale** ⇒ comparer sérum/LCR

Applications

Toxoplasmose Congénitale



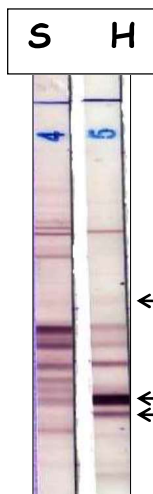
Le même profil sérologie M/E =>
passage passif des Ac



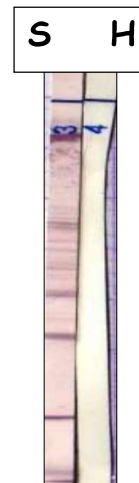
Des bandes distinctes chez le N.Né
absentes chez la mère => une
production fœtale => TC+++

Applications

Toxoplasmose Oculaire



Des bandes distinctes dans l'HA
absentes ds le sérum => une
production *in situ* => T. Ocu.+++



Absence de bandes ds l'HA =>
pas de production locale

Applications

2. Leishmanioses

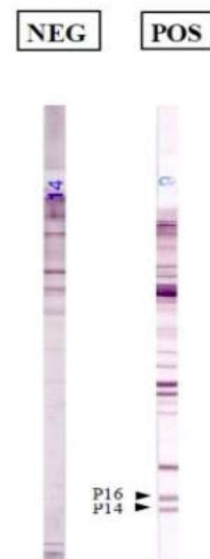
✓ **LV:** ID et enfant +++

- Permet la mise en évidence de bandes spécifique

- 14-16 Kda, 30-46 Kda et 90 Kda

- ❖ la présence de la bande de 14 et /ou 16 kDa à elle(s) seule(s) suffit pour confirmer le diagnostic

- Mise en évidence d'autres bandes spécifiques associées à un mauvais pronostic chez les immunodéprimés : 51 Kda



Applications

3. Hydatidose

- Les bandes 7, 26-28 Kda

4. Toxocarose

- 24, 28, 30 ET 35 Kda

5. Trichinellose

- 43, 44 et 64 Kda

Avantages - Inconvénients

Technique

- spécifique
- sensible
- rapide
- reproductible
- permettant la détection spécifique et distincte des Ac dirigés contre les différentes fractions Agéniques préalablement séparées par électrophorèse.
- Permet la comparaison des profils sérologiques (Toxo.)
- Permet la révélation de certains bandes spécifiques chez les ID (Leish.)

Technique

- Coûteuse
- Délicate à manipuler

Conclusion

- *Les techniques sero-immunologiques immunoenzymatiques*
- *sont actuellement caractérisées par leurs*
 - *Sensibilité*
 - *Spécificité*
 - *Rapidité*

*Ces techniques immunoenzymatiques
Améliorent indéniablement le diagnostic de plusieurs
Parasitoses et Mycoses*