

Technique immunologique par des enzymes marqueurs

L'immunoanalyse fait partie des outils analytiques les plus performants à la disposition du biologiste. Elle permet la détection et la quantification des molécules d'intérêt biologique (hormones, marqueurs tumoraux ou métaboliques, médicaments,...) dans le diagnostic et le suivi des maladies.

Les tests immunologiques emploient des marqueurs très variés afin de permettre la détection des antigènes et des anticorps, ces marqueurs sont liés ou conjugués à l'antigène ou à l'anticorps ciblé.

Parmi ces marqueurs on retrouve : les enzymes, les isotopes radioactifs, marqueurs d'ADN, les marqueurs fluorescents.

1. Les enzymes ELISA: Les enzymes sont l'un des marqueurs les plus couramment utilisés dans les tests immunologiques. Ces tests immunologiques qui utilisent des enzymes sont appelés ELISA (enzyme-Linked Immunosorbent Assay) sont des dosages immuno-enzymatiques (souvent appelés EIA, pour enzyme immunoassays).

L'utilisation d'anticorps pour le diagnostic des maladies infectieuses représente une méthode spécifique et rapide. La technique ELISA est une technique immuno-enzymatique qui permet de visualiser, à partir d'un échantillon biologique, les réactions entre un antigène – corps considéré comme étranger par l'organisme vivant et un anticorps à l'aide d'une réaction colorée produite par un marqueur enzymatique généralement la peroxydase de raifort (HRP), la phosphatase alcaline (AP) ou la glucose oxydase préalablement fixé à l'anticorps. La réaction colorée permet de confirmer l'identification de la bactérie isolée ou la présence du virus recherché et l'intensité de la couleur donne une indication de la quantité d'antigènes ou d'anticorps dans l'échantillon donné.

2. Les différents types de tests ELISA

Il existe différents types de test ELISA :

-ELISA direct : est généralement utilisé pour analyser une réponse immunitaire à un antigène, par exemple pour la coloration immunohistochimique de cellules ou de tissus. Cette méthode ELISA nécessite un antigène déposé sur une plaque à puits multiples. Pour la détection, on utilise un anticorps directement conjugué à une enzyme. Le déroulement de cette méthode est relativement simple.

-ELISA indirect : la plus utilisée, pour améliorer la sensibilité de la détection de l'antigène, l'anticorps qui reconnaît l'antigène recherché peut ne pas être couplé à une enzyme mais être reconnu spécifiquement par un second anticorps qui sera, lui, couplé à une enzyme. L'enzyme agit comme amplificateur : quand bien même peu d'anticorps conjugués à l'enzyme seraient attachés, l'enzyme catalyserait la formation de nombreux signaux, ce qui rend ce test très sensible

-ELISA « en sandwich » : un anticorps dit de capture est utilisé pour enrober les puits, qui se lie ensuite à l'antigène de l'échantillon. L'antigène est ensuite détecté en

configuration ELISA directe ou indirecte. Cette méthode est souvent utilisée pour analyser des échantillons complexes.

3. Applications :

1. Dosage de protéines à faible concentration : dosages spécifiques de certaines protéines plasmatiques : IgE, ferritine, hormones protéiques : hCG, marqueurs tumoraux : alpha-foetoprotéine. Les techniques en phase homogène permettent le dosage de molécules de petite taille (haptènes) : hormones stéroïdes, hormones thyroïdiennes, médicaments...

2. Recherche et dosage d'anticorps pour le diagnostic de maladies infectieuses (sérologie) : en parasitologie (toxoplasmose) et en virologie (Covid 19, virus de l'hépatite B, virus du SIDA)

Le test ELISA est notamment utilisé pour diagnostiquer de nombreuses maladies infectieuses :

-Les maladies sexuellement transmissibles (MST) notamment l'hépatite, la syphilis, la chlamydia et le VIH. Recommandé par les autorités sanitaires, c'est le principal test de dépistage du sida : il met en évidence la présence d'anticorps anti-VIH et de l'antigène p24 six semaines après la contamination.

-Les maladies régionales ou endémiques : la fièvre jaune, la maladie à virus Marburg (MVM), la dengue, la maladie de Lyme, le Chikungunya, la fièvre de la vallée du Rift, Ebola, la fièvre de Lassa, etc.

-La Covid-19 : à réaliser plus de 2 à 3 semaines après le début des symptômes, le test ELISA permet d'identifier, en moins d'une heure, la présence des anticorps anti-SARS-CoV-2.

-Les pathogènes viraux à l'origine d'infections prénatales : la toxoplasmose, la rubéole, le cytomegalovirus, l'herpès simplex par exemple.