

# Immunologie

Réf :  
117 104

Français – p 1

Version : 8105

**Kit test immunodétection principe ELISA  
(24 tests)**

## 1 Introduction

Prêt à l'emploi, pas de préparation ni matériel spécifique  
Une simple dilution à l'eau déminéralisée des réactifs et c'est prêt.

### Terminale S

Concevoir et réaliser une expérience permettant de caractériser la spécificité des molécules intervenant dans l'immunité adaptative.

### Terminale STL

Les anticorps peuvent être utilisés *in vitro* pour des applications en diagnostic.



## 2 Composition du kit

- 24  $\frac{1}{2}$  barrettes microtitration précoatées BSA
- **Tube 1** : Anticorps primaire – **Ac1** = Sérum de lapin anti-BSA (400 $\mu$ L)
- **Tube 2** -Sérum de lapin (Témoin négatif – T-)
- **Tube 3** - Anticorps secondaire – **Ac2** = Anti-IgG de lapin couplé peroxydase
- TMB (Tetramethyl benzidine) prêt à l'emploi - Ampoule sécable blanche (6 mL) avec compte-goutte intégré
- PBS tween concentré  
Ampoule sécable translucide contenant Tween et PBS à diluer dans 90 mL d'eau
- 2 microtubes X et Y

## 3 Matériel complémentaire

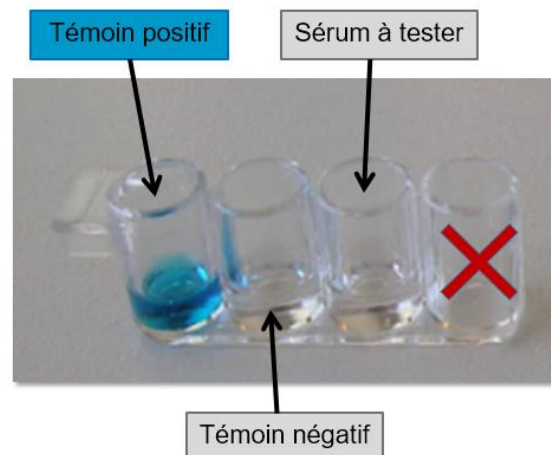
- 1 pipette graduée de 10mL par TP
- 1 micropipette 0- 200 $\mu$ L par groupe (Pour les réactifs)
- 1 pipette graduée par groupe (Pour les rinçages)

Ce kit permet de réaliser une expérience afin de mettre en évidence la présence ou non d'un anticorps recherché. Ce test ELISA fonctionne comme un test de dépistage **qualitatif** :

- Si l'anticorps est détecté alors c'est bleu
- Si l'anticorps est absent alors il n'y a pas de coloration

*Une manipulation pour l'élève en moins de 45 minutes.*

On utilise uniquement 3 puits sur 4 – Cependant les 4 puits sont précoatés avec de la BSA ce qui rend la  $\frac{1}{2}$  barrette utilisable dans les 2 sens.



#### Pour une préparation rapide et simplifiée :

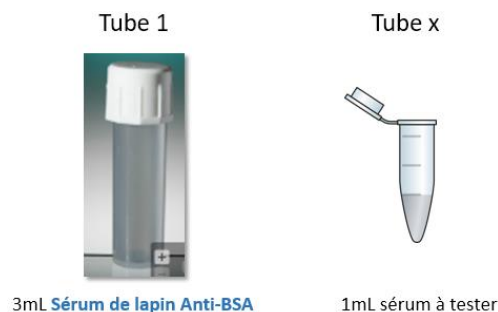
Tube 1 ,2 et 3 : rajouter 3,6 mL d'eau déminéralisée directement dans le tube à hémolyse.

## 4 Avant le TP

### Préparation du sérum de lapin anti-BSA (Ac1)

**Tube 1** (Avec 1mL le professeur peut faire jusqu'à 12 tests positifs - Au maximum 1,5mL peuvent être prélevés pour l'individu X, soit 18 tests positifs)

- Rajouter 3,6mL d'eau pour atteindre un volume final de 4mL dans le tube à hémolyse
- Prélever ensuite 1mL du tube 1 que vous venez de diluer pour le mettre dans le tube x
- Le tube 1 contient le Sérum de lapin avec anticorps anti-BSA (3mL)
- Le tube x correspond au sérum à tester de l'individu x (1mL)



### Préparation Sérum lapin non immunisé (Témoin négatif – T-) :

**Tube 2 :**

- Rajouter 3,6mL d'eau pour atteindre un volume final de 4mL dans le tube à hémolyse
- Prélever ensuite 1mL du tube 2 que vous venez de diluer pour le mettre dans le tube y
- Le tube 2 contient le Sérum de lapin sans anticorps anti-BSA (Témoin négatif – T) (3mL)
- Le tube y correspond au sérum à tester de l'individu y (1mL)

Tube 2



3mL Sérum de lapin – T-

Tube y



1mL sérum à tester

**Préparation Anti-IgG de lapin couplé à la peroxydase (Ac2)**

**Tube 3 :**

- Rajouter 3,6mL d'eau pour atteindre un volume final de 4mL dans le tube à hémolyse  
**Ac2** (Anticorps secondaire)

Tube 3



3mL **Anti-IgG de lapin couplé peroxydase**

**PBS Tween**

- Ouvrir l'ampoule (translucide)
- Verser le contenu dans un bécher
- Compléter avec 90mL d'eau

**TMB** (2-3 gouttes par puits pour la révélation)

Le TMB est livré dans une ampoule sécable opaque muni d'un compte-goutte.

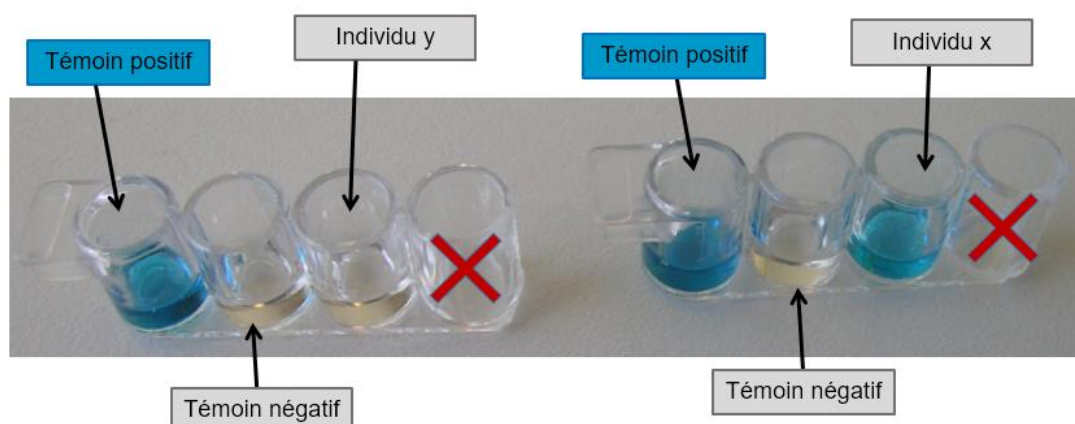


**Déroulement du test :**

	1 Test			24 tests
	Produit	Quantité	Action	
<b>Témoin positif</b>	<b>Ac1</b> (Sérum anti-BSA)	80µL	Puits ❶	24 x 0,080 = 1,92mL
<b>Témoin négatif</b>	T- (Sérum de Lapin)	80µL	Puits ❷	24 x 0,080 = 1,92mL
<b>Sérum à tester</b>	Tube x ou Tube Y (choix)	80µL	Puits ❸	12 x 0,080 = 0,96mL (x) et/ou 12 x 0,080 = 0,96mL (y)
Vider les puits ❶ et ❷ et ❸				
<b>1<sup>er</sup> Rinçage</b>	PBS Tween	120µL	Puits ❶ ❷ et ❸	24 x 2 x 0,120 x 2 = 17,28mL
Rincer 2 fois successivement				
<b>Anti IgG de lapin couplé peroxydase</b>	<b>Ac2</b> (Anti IgG)	50µL	Puits ❶ ❷ et ❸	24 x 3 x 0,05 = 3,60mL
<b>2<sup>ème</sup> Rinçage</b>	PBS Tween	120µL	Puits ❶ ❷ et ❸	24 x 2 x 0,120 x 3 = 25,92mL
Rincer 3 fois successivement				
<b>Révélation</b>	TMB	80µL (2-3 gouttes)	Puits ❶ ❷ et ❸	24 x 3 x 0,080 = 5,76mL
Maximum d'intensité entre 30 secondes et 1minute environ				

L'éjection des solutions contenues dans les puits s'effectue par un retournement et un secousse sèche, en veillant à ce que les liquides ne transvasent pas d'un puits à l'autre.

**Résultats obtenus :**



Important : l'intensité de la coloration est atteinte très rapidement entre 30 secondes et 1minute environ, la lecture du résultat est quasi instantanée.

Le seuil de détection par le TMB est très bas, ainsi il faut veiller à bien éliminer les résidus d'anticorps secondaire lors des derniers rinçages. Lorsque le puits du témoin négatif apparaît avec une coloration bleutée ceci est le signe de rinçages et de vidage pas assez efficaces.

## 5 En résumé

Grâce au test ELISA, on peut détecter visuellement dans un liquide la présence d'anticorps spécifiques d'antigènes.

Les applications courantes sont le diagnostic médical du VIH ou encore de la maladie de Lyme.

La spécificité de la réaction anticorps - antigène du test ELISA trouve de nombreuses applications en dehors du diagnostic médical pour la détection de molécules diverses tels que les tests de grossesse, le contrôle des eaux, les tests de drogues.... Cependant le principe diverge légèrement car dans ces configurations, c'est l'antigène que l'on souhaite détecter. La plaque support est donc recouverte de l'anticorps spécifique, l'antigène sera piégé puis révélé ensuite par la réaction chromogène.

## 6 Pour aller plus loin

Ce test simple permet de mettre en évidence la présence ou non d'un anticorps, c'est une approche qualitative. La technique ELISA permet aussi une approche quantitative permettant de doser l'anticorps recherché en réalisant au préalable un gradient de concentrations connues de cet anticorps (*kit référence 115 037*).

## 7 Service après-vente

Pour tous réglages, contacter le **Support Technique** au **0 825 563 563**.

**JEULIN – Support technique**  
468 rue Jacques Monod  
CS 21900  
27019 EVREUX CEDEX France

**0 825 563 563\***

*\* 0,15 € TTC/min. à partir un téléphone fixe*





## Assistance technique en direct

Une équipe d'experts  
à votre disposition  
du lundi au vendredi  
de 8h30 à 17h30

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge  
immédiatement votre appel  
pour vous apporter une réponse  
adaptée à votre domaine  
d'expérimentation :  
Sciences de la Vie et de la Terre,  
Physique, Chimie, Technologie.

### Service gratuit\*

**0 825 563 563** choix n°3\*\*

\* Hors coût d'appel. 0,15 € TTC/min à partir d'un poste fixe.  
\*\* Numéro valable uniquement pour la France  
métropolitaine et la Corse. Pour les DOM-TOM et les EFE,  
composez le +33 2 32 29 40 50.

Aide en ligne  
**FAQ.jeulin.fr**



## Direct connection for technical support

A team of experts  
at your disposal  
from Monday to Friday  
(opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request  
immediatly to provide you  
with the right answers regarding  
your activity field : Biology, Physics,  
Chemistry, Technology.

### Free service\*

**+33 2 32 29 40 50\*\***

\* Call cost not included.  
\*\* Only for call from foreign countries.



468, rue Jacques-Monod, CS 21900, 27019 Evreux cedex, France  
Métropole • Tél : 02 32 29 40 00 - Fax : 02 32 29 43 99 - [www.jeulin.fr](http://www.jeulin.fr) - [support@jeulin.fr](mailto:support@jeulin.fr)  
International • Tél : +33 2 32 29 40 23 - Fax : +33 2 32 29 43 24 - [www.jeulin.com](http://www.jeulin.com) - [export@jeulin.fr](mailto:export@jeulin.fr)  
SAS au capital de 1 000 000 € - TVA intracommunautaire FR47 344 652 490 - Siren 344 652 490 RCS Evreux