

2004-2005

**Filière SVI
Semestre 4 (S4)**

Module de Biologie Humaine M 16.1
Élément d'Immunologie - Hématologie

TD d'Immunologie - 3-

**Techniques Immunologiques
appliquées au diagnostic**

Pr. Saaïd AMZAZI

Le Champ de la discipline

Maladies infectieuses: sérologie (anticorps)...Inflammation.... Sepsis

Auto-immunité

Déficits immunitaires

primitifs (B, T, phagocyte, complément)

Acquis (malnutrition, virus, iatrogènes)

Cas particulier du SIDA

Transplantation d'organes et greffes de tissus

Prolifération de cellules immunocompétentes et **Cancers**

Hypersensibilités et allergies

Méthodologies au Laboratoire d'Immunologie

Moléculaire: (sérum, urine, LCR, salive...)

Biologie moléculaire: PCR, Southern, Northern

Cellulaire: (T, B, Monocytes, PMN...)

Tissulaire: Immuno-histologie Immuno-fluorescence, Immuno-histochemie

Moléculaire: Immunochimie

Protéines

Identification et quantification de protéines normales et anormales dans les fluides biologiques

Electrophorèse, Immuno-électrophorèse,

Ig (classes, sous-classes)

Réactivité à des allergènes spécifiques

Détection, quantification et réponses immunitaires vis à vis d'antigènes (infectieux, tumoraux...)

Moléculaire: Immunité innée

Inflammation et protéines de la phase aiguë

VS (vitesse de sédimentation)

CRP (protéine C réactive)

Haptoglobine, Orosomucoïde...

Cytokines, Interleukines

Immunologie cellulaire

Immunophénotypage :

sang, moelle, lavages broncho alvéolaires, sécrétions, épanchements,

Applications : HIV (CD4 Val.absolues, CD8/CD38),
Transplantés (CD3,4,8, NK..), déficits immunitaires, allergie,
auto-immunité

Ploïdie (cycle cellulaire)

Tests fonctionnels

T: mitogènes, PMN phagocytose, chimiotactisme

Typage tissulaire (HLA)

biologie moléculaire

Immunologie tissulaire

Analyse dépôts de complexes immuns tissulaires

Lupus Erythémateux Disséminé ,

Identification des cellules immunocompétentes

T/B/ Macrophages, CPA...

localisation

fonction (cytotoxicité..)

état d'activation (Classe II, CD40...)

Recherche de médiateurs

Anticorps (plasmocytes)

Cytokines

DEFICITS IMMUNITAIRES

Immunité spécifique:

Lymphocytes B, Lymphocytes T

Dosage d'immunoglobulines, d'anticorps spécifiques

Cellules immunocompétentes:

immunophénotypage,

études fonctionnelles

Immunité non spécifique:

Complément, Polynucléaires

Dosage, phénotype, fonctions

Immunité systémique et muqueuse

TRANSPLANTATION

Transplantation d'organes (rein, cœur, foie, pancréas...)

Greffes de cellules hématopoïétiques et/ou immunocompétentes

Autogreffe de moelle osseuse

Allogreffe de moelle osseuse

CANCERS

Syndromes lymphoprolifératifs, Myélome

Caractérisation immunophénotypique

Identification des **immunoglobulines monoclonales** dans le sang et les urines : Electrophorèse, Immunoélectrophorèse, immunofixation

Leucémies aiguës et chroniques

Caractérisation immunophénotypique

Classification, pronostic et maladie résiduelle

Cancers épithéliaux

Réponse immunitaire ?

Thérapeutiques: cytokines... vaccins peptidiques, vaccins dendritiques

HYPERSENSIBILITES ET ALLERGIES

Allergènes et environnement
Clinique: fréquence croissante
Diagnostic biologique:
IgE, cellules T, médiateurs

SIDA

Le système immunitaire est la cible du virus: **CD4, récepteurs des chemokines**

Les **organes lymphoïdes secondaires** sont des réservoirs de virus

Le diagnostic est immunologique: **anticorps, western blot**

Le suivi biologique repose sur

- la **numération des cellules CD4** du sang périphérique
- l'évaluation de la charge virale

Technique ELISA

Voir Animation sur le site suivant:

www.biomultimedia.net

Allez à
[Ressources multimédia pour
la biologie](#)

Cliquez
[Immunologie](#)

Cliquez
[ELISA](#)

Western Blot : Électrophorèse sur gel de Polyacrylamide en condition dénaturante + Transfert

Définition et Principe :

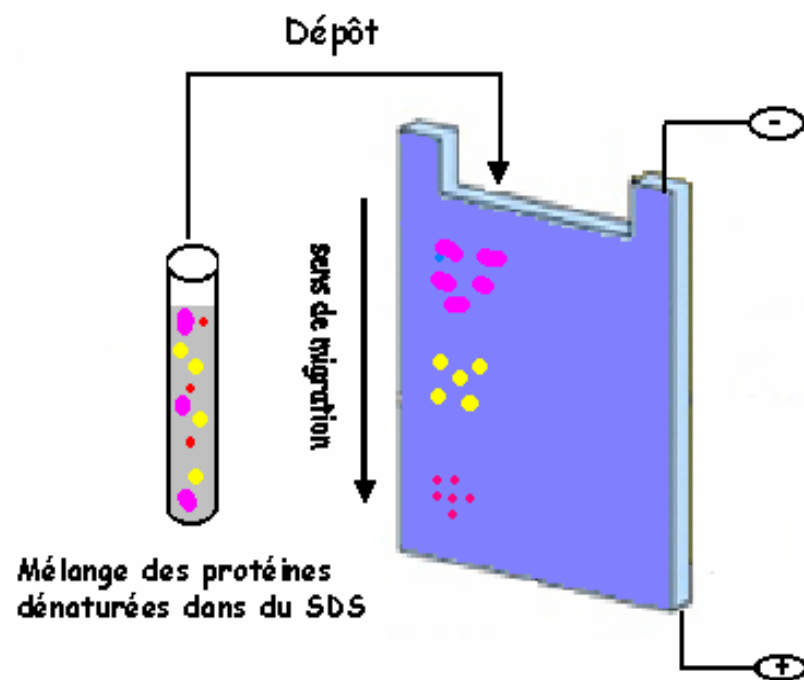
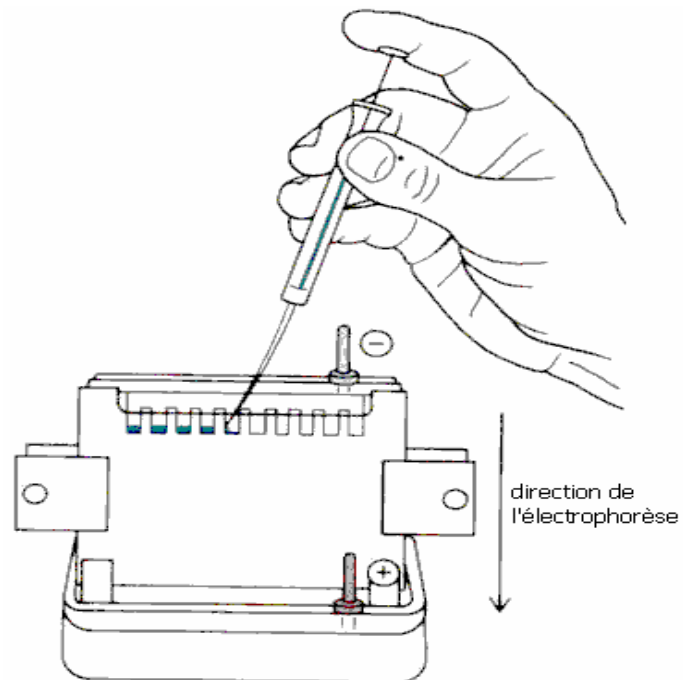
- Le Western Blot est une méthode qualitative permettant de détecter des anticorps dans des milieux complexes (sérum).
- Elle comporte 3 étapes:
 - * Séparation du mélange des protéines
 - * Transfert des protéines
 - * Révélation immunologique

Protocole :

Étape I

Séparation du mélange des protéines

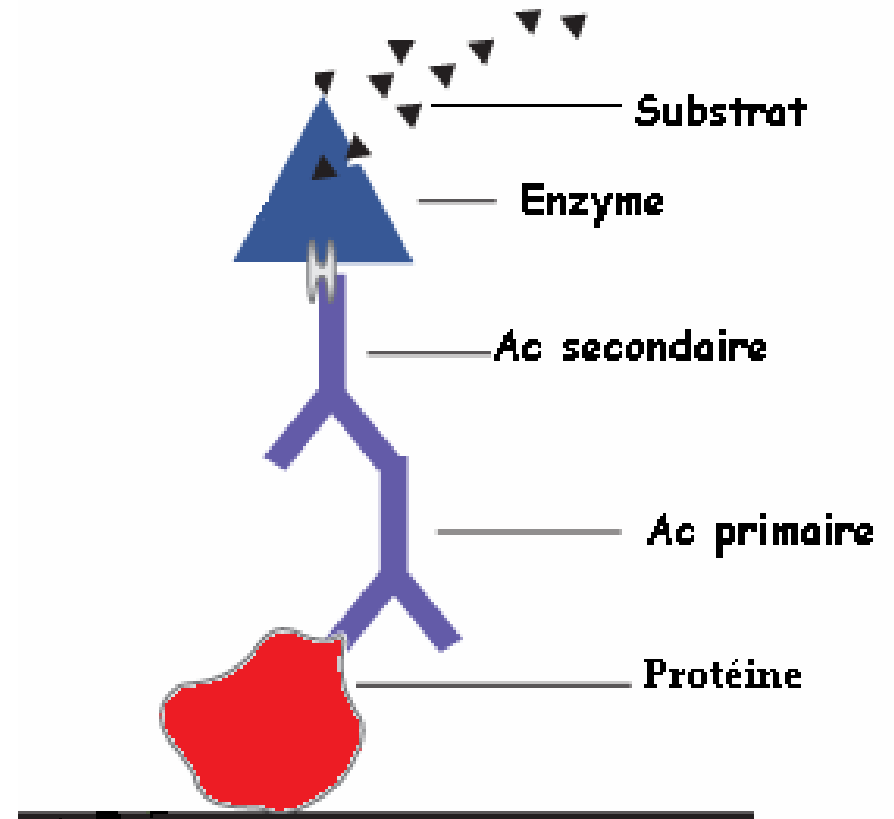
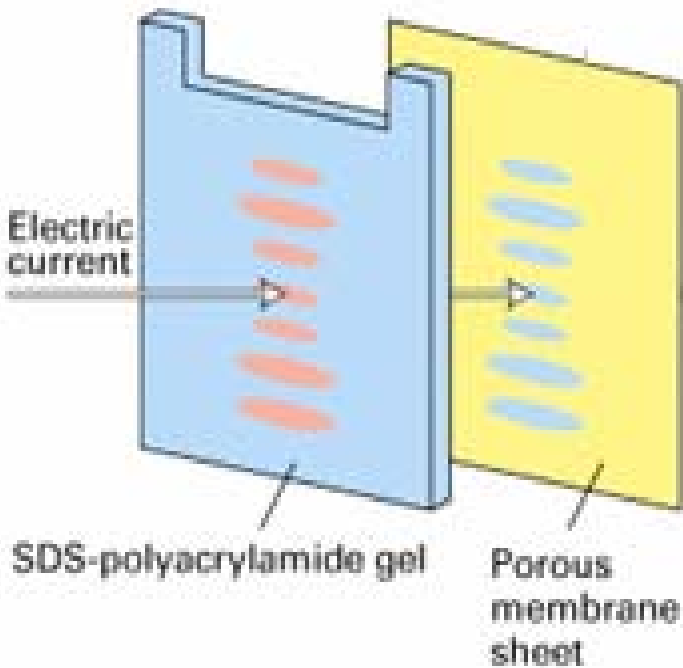
- En fonction de leur poids moléculaire sous l'action d'un champ électrique
- Cette séparation consiste en une migration sur un gel de polyacrylamide



Étape II

Transfert des protéines sur membrane de nitrocellulose

ELECTROTRANSFER



Étape III

Résultats



Applications

- Confirmation d'un premier test VIH positif en ELISA
- Identification de certaines protéines cellulaires si l'on dispose d'anticorps spécifiques
- Nombreuses utilisations en recherches fondamentales et médicales

Technique PCR

Voir Animation sur le site suivant:

www.biomultimedia.net

Cliquez
PCR