

Université d'Alger Benyoucef Benkhedda  
Faculté des sciences médicales  
Département de médecine

# Réactions de précipitation

Module d'immunologie  
3ème année Médecine

Présenté par: Dr TAGUEMOUNT S

[si.taguemount@gmail.com](mailto:si.taguemount@gmail.com)



Modifier avec WPS Office

# **PLAN:**

## **I. Introduction**

## **II. Généralités sur la réaction antigène-Anticorps.**

1. Bases moléculaires de la réaction Antigène-Anticorps
2. Caractéristiques de la réaction Antigène-Anticorps

## **III. Réactions d'immuno-précipitation.**

1. Définition
2. Courbe de précipitation
3. Les techniques d'immuno-précipitation

3.1. Méthodes en milieu liquide

3.2. Méthodes en milieu gélifié



# I. Introduction:

On regroupe sous le terme de **méthodes immunochimiques** toutes les méthodes basées sur la mise en évidence du complexe qui se forme lors de la réaction Ag avec son Ac spécifique.

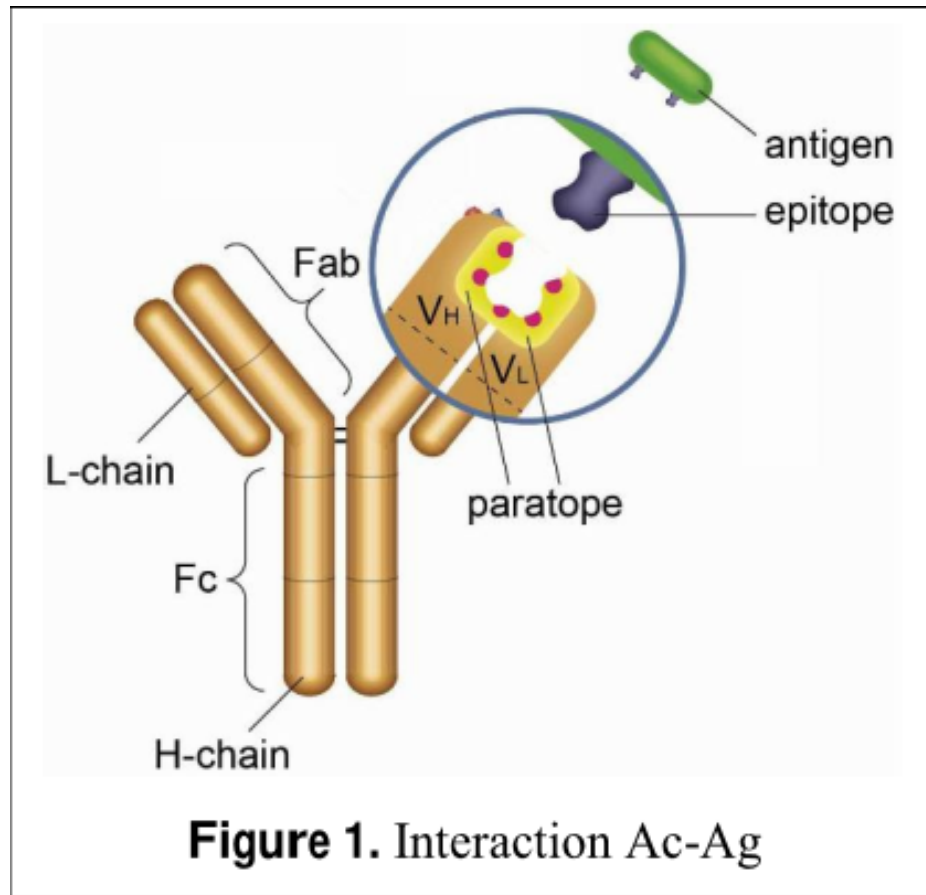
Ces techniques sont utilisées pour détecter (**analyse qualitative**) et quantifier (**analyse quantitative**), soit les antigènes, soit les anticorps.

Leurs applications sont nombreuses et ont été étendues à nombreuses autres disciplines.



## II. Généralités sur la réaction antigène-Anticorps:

### 1. Bases moléculaires de la réaction Antigène-Anticorps

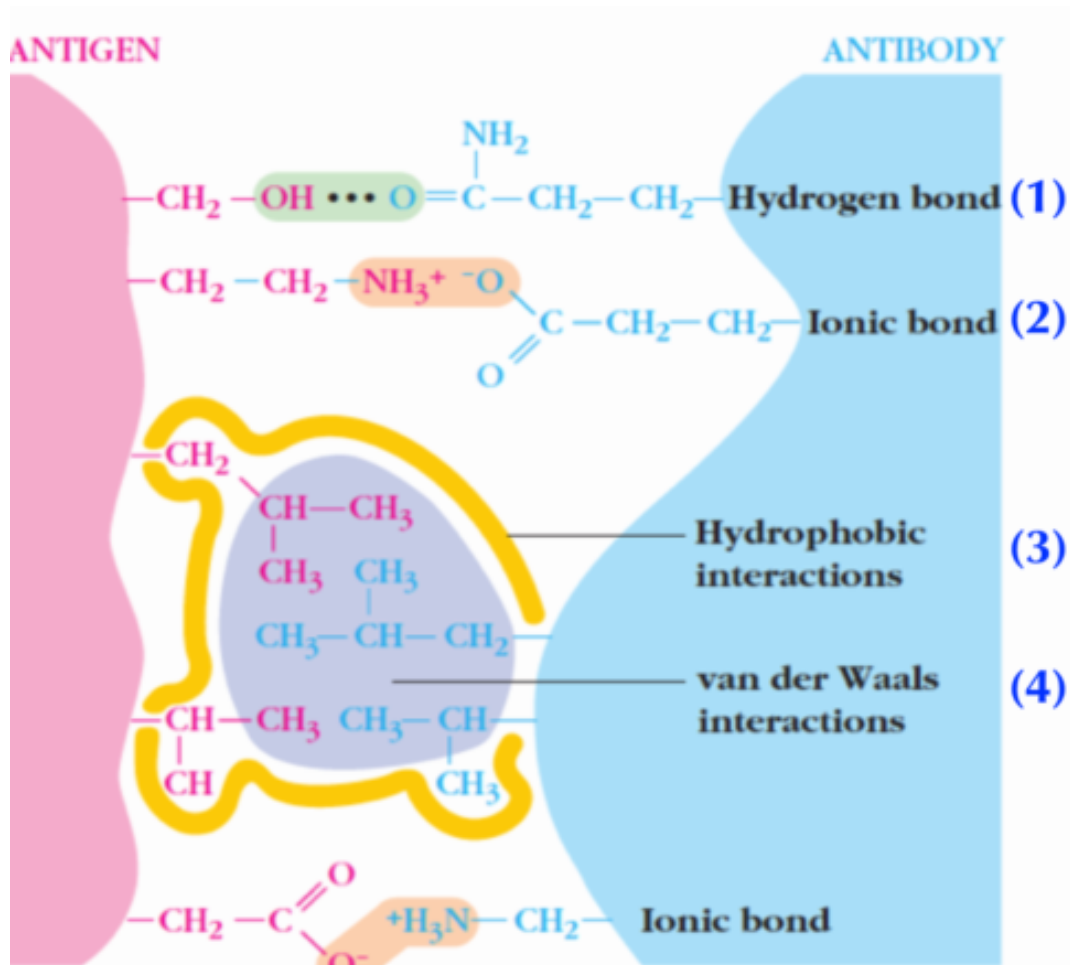


- complémentarité stérique
- interactions non covalentes
- réversibles

Les épitopes et paratopes engagent des **interactions non covalentes, et réversibles**, de type liaisons de van der Waals, liaisons hydrophiles/hydrophobes, liaisons électrostatiques et liaisons hydrogène.

# II. Généralités sur la réaction antigène-Anticorps:

## 1. Bases moléculaires de la réaction Antigène-Anticorps



liaisons hydrogène

liaisons électrostatiques

liaisons hydrophiles/hydrophobes

liaisons de van der Waals,

Ces interactions dépendent de:

- PH

- Concentration saline

- Température



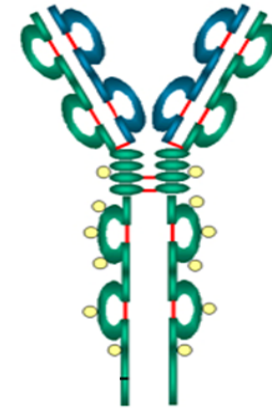
## II. Généralités sur la réaction antigène-Anticorps:

### 1. Bases moléculaires de la réaction Antigène-Anticorps



**Ag**

- ▶ Antigénicité
- ▶ Immunogénicité



**Ac**

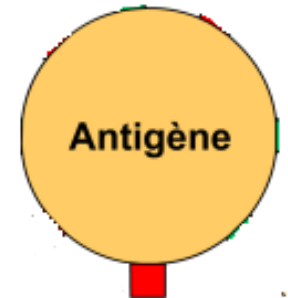
- ▶ molécule protéique
- ▶ spécifique de l'Ag

## II. Généralités sur la réaction antigène-Anticorps:

### 1- Antigène univalent et uni-déterminé:

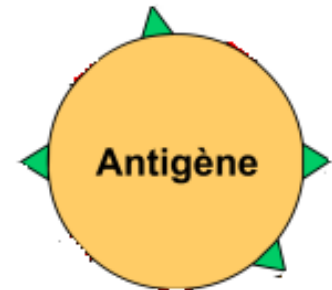
possède un seul épitope à la surface qui est capable de se lier à un anticorps.

Les haptènes sont univalent et uni-déterminé.



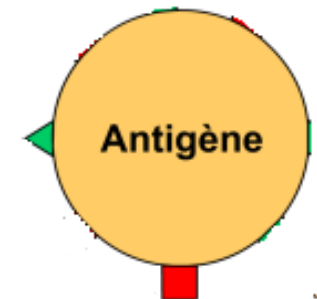
### 2- Antigène multivalent et uni-déterminé :

possède au moins deux épitopes du même type sur une molécule d'antigène.



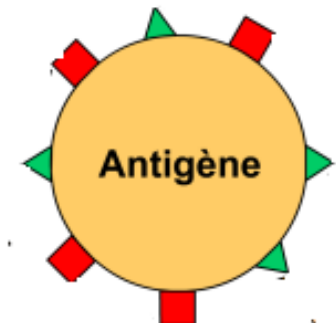
### 3- Antigène univalent et multi-déterminé :

présente plusieurs épitopes de différents types, mais seulement un de chaque type sur une molécule d'antigène.



### 4- Antigène multivalent et multi-déterminé :

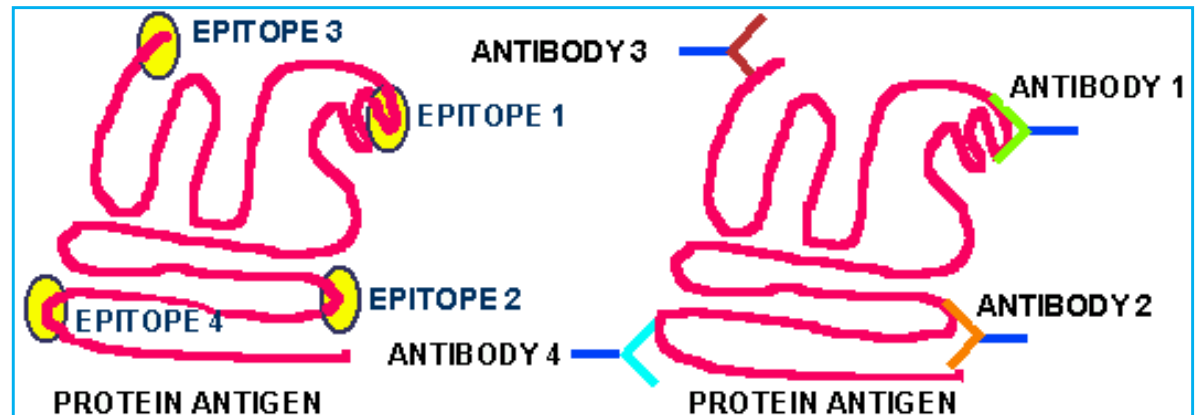
présente plusieurs épitopes de différents types et plus d'un épitope de chaque type par molécule d'antigène



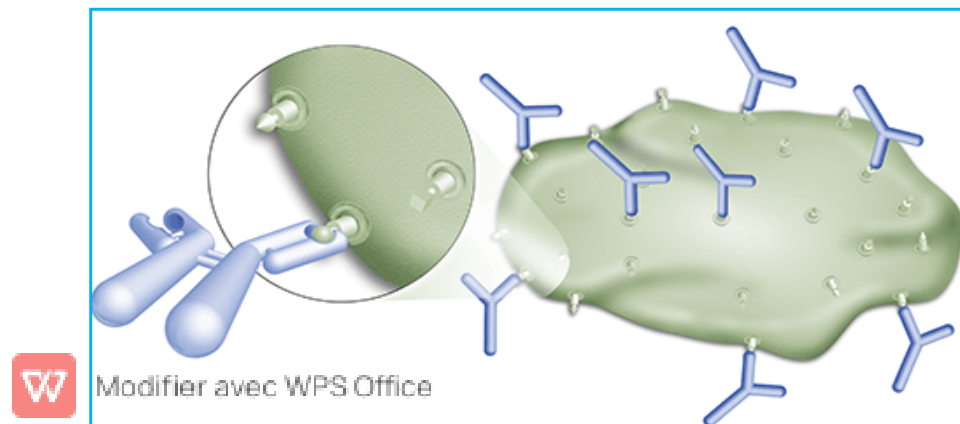
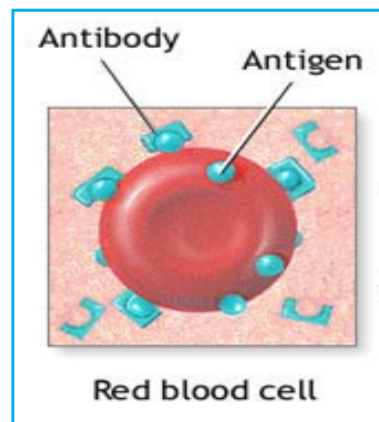
# II. Généralités sur la réaction antigène-Anticorps:

## 2. Caractéristiques de la réaction Antigène-Anticorps:

Si l'antigène est *moléculaire ou soluble*; les complexes Ag/Ac forment un précipité.



Si l'antigène est *particulaire ou cellulaire* (bactéries, hématies, billes de latex ...); les complexes immuns forment un agglutinat.





# **III. TECHNIQUES D'IMMUNOPRÉCIPITATION**



# III. Techniques d'immuno-précipitation:

## 1.Précipitation en milieu liquide:

- a. Test de l'anneau ( *ring test*)
- b. Néphélémétrie
- c. Turbidimétrie

## 2. Précipitation en milieu gélifié

- a. Immunodiffusion double:  
Ouchterlony
- b. Immunodiffusion radiale :Mancini
- c. Électro-immunodiffusion de  
Laurell
- d. Electrosynerèse
- e. Immunoélectrophorèse
- f. Immunofixation
- g. Immunsélection



# III. Techniques d'immuno-précipitation:

## 1. Définition:

Le phénomène de **précipitation** se produit lorsqu'on met en contact un antigène soluble avec l'anticorps correspondant.

Cette réaction se fait soit en **milieu liquide** soit en **milieu gélifié**



# III. Techniques d'immuno-précipitation:

Réactions **d'immuno- précipitation** se déroulent en trois étapes :

1. Liaison de l'Ac au déterminant antigéniques
2. Formation d'un réseau par réarrangement des sites de liaison
3. Agrégation des réseaux et formation de précipité visible à l'oeil nu.

## Caractéristiques de l'immuno-précipitation:

Ag: **soluble**

Ac: **Ac polyclonaux**

réseaux tridimensionnel (zone d'équivalence)

lecture : - œil nu

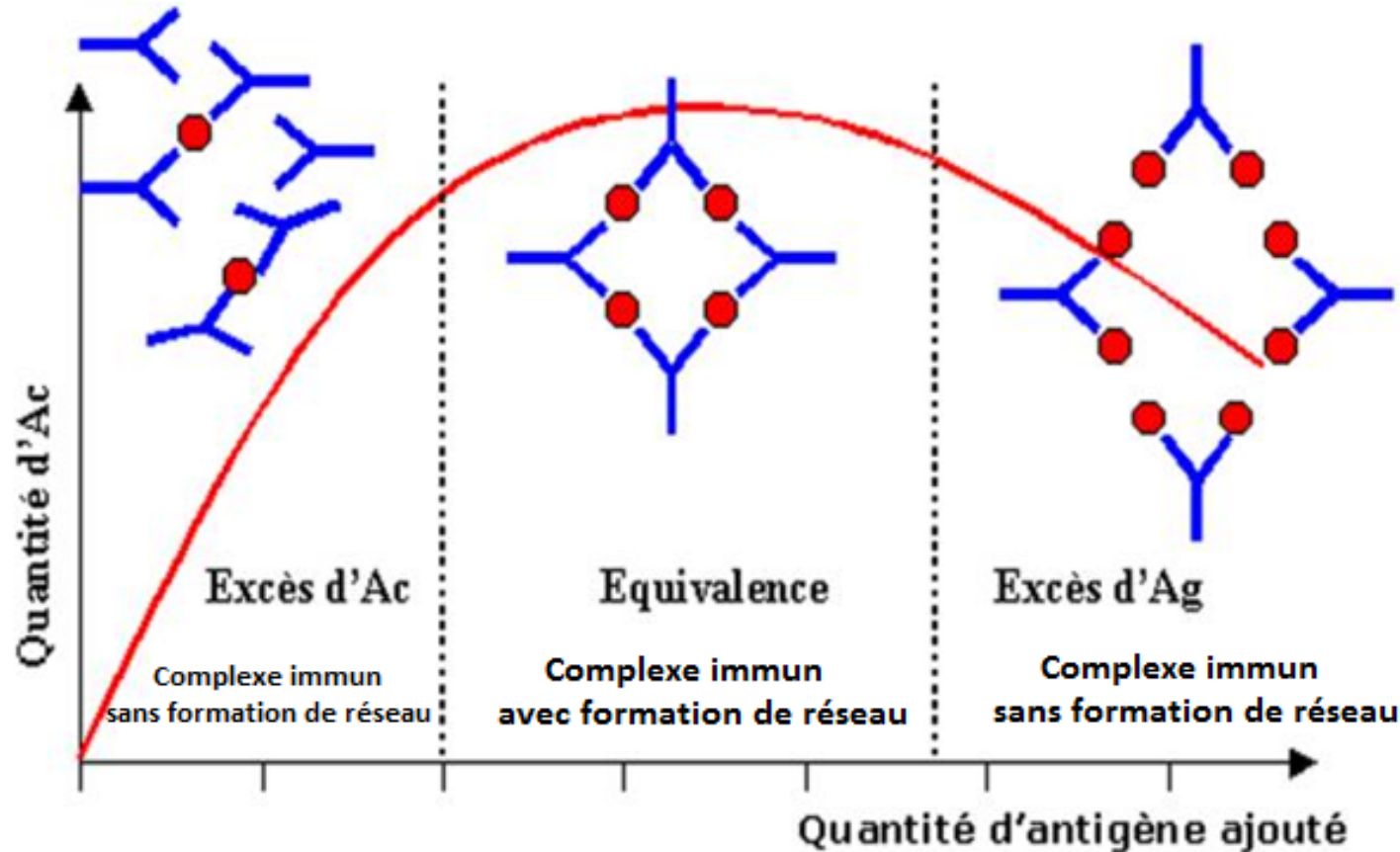
- turbidimétrie, néphélémétrie



# III. Techniques d'immuno-précipitation:

## 2. Courbe de précipitation :

méthode de Heidelberger et Kendall  
(1929)



La **zone d'équivalence** est le point où la courbe atteint son maximum.

Il correspond à la formation d'un réseau Ag-Ac



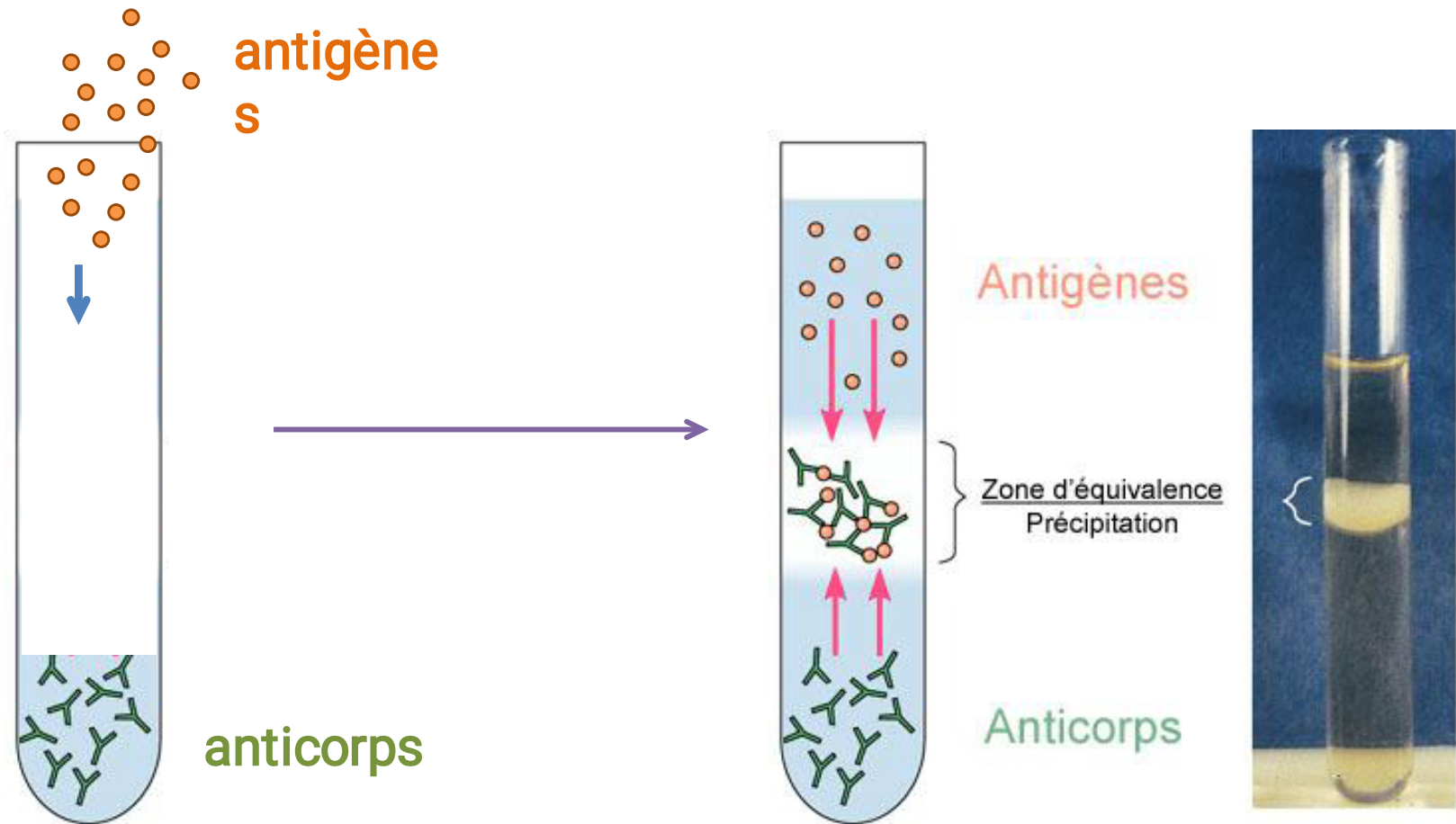
# III. Techniques d'immuno-précipitation:

## 1.Précipitation en milieu liquide:



# 1. En milieu liquide:

## 1. Test de l'anneau ( ring test )



**Applications:** suivre l'évolution d'animaux producteurs d'immunsérums en cours d'immunisation



# 1. En milieu liquide:

## 2. Technique de néphélémétrie et de turbidimétrie

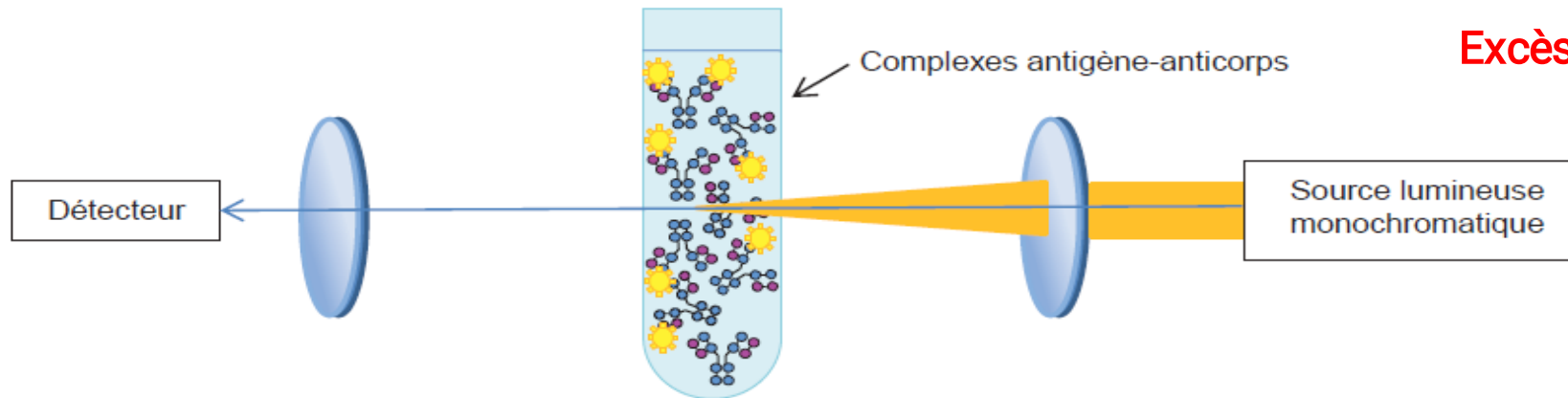
- Un rayon laser traverse le tube contenant d'éventuels précipités Ac/Ag.
- La diffraction de la lumière par les précipités Ac/Ag (nephelos = nuage) est mesurée à la sortie.
- Plus il y a de précipité, plus il y aura de signal sur le photomultiplicateur (appareil qui mesure la diffraction).
- Mesure rapide et automatisée et permet un dosage quantitatif.





# 1. En milieu liquide:

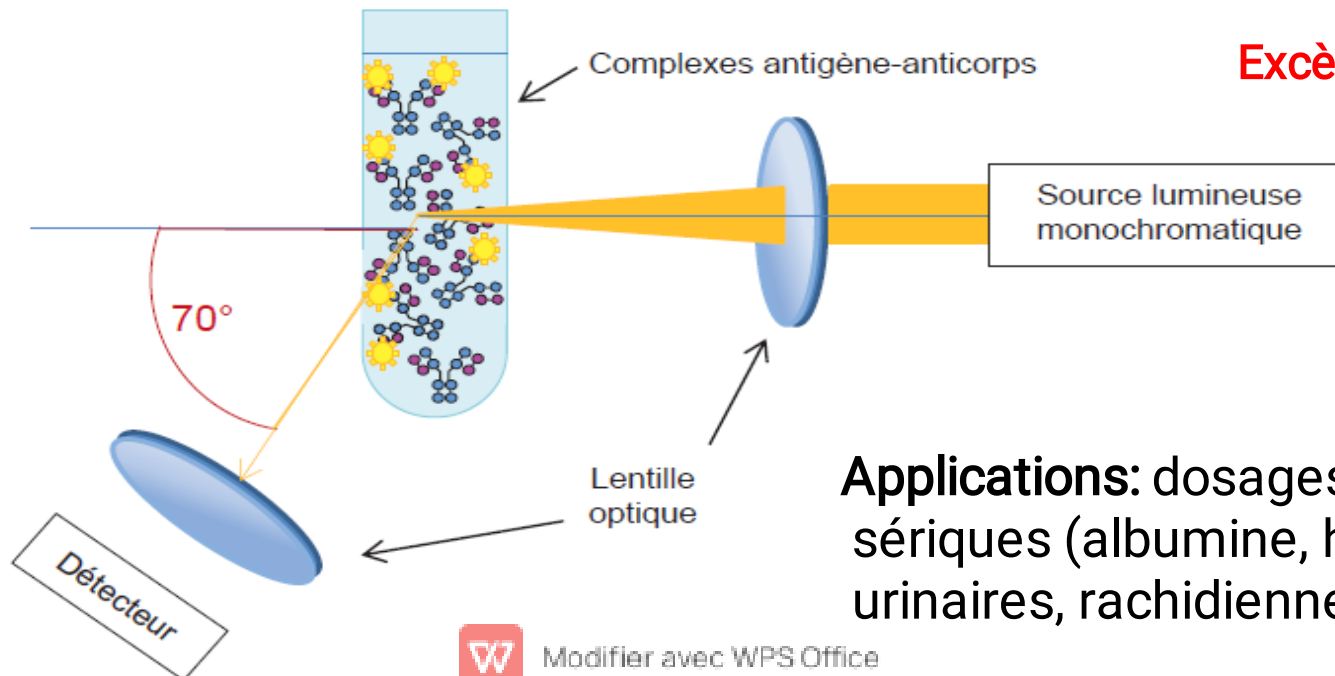
**Turbidimétrie** : la mesure de lumière transmise produit un signal décroissant avec la concentration d'antigènes.



Automates++

Excès d'anticorps++

**Néphélométrie** : la mesure de la dispersion de la lumière produit un signal croissant avec la concentration d'antigènes.



Excès d'anticorps++

**Applications:** dosages des protéines sériques (albumine, haptoglobine, Ig... urinaires, rachidiennes...



# III. TECHNIQUES D'IMMUNOPRÉCIPITATION

## 2.Précipitation en milieu gélifié:



## 2. En milieu gélifié:

- ▶ Diffusion des réactants dans un milieu gélifié ➡ gradient de concentration
- ▶ A la zone d'équivalence ➡ Formation d'un précipité



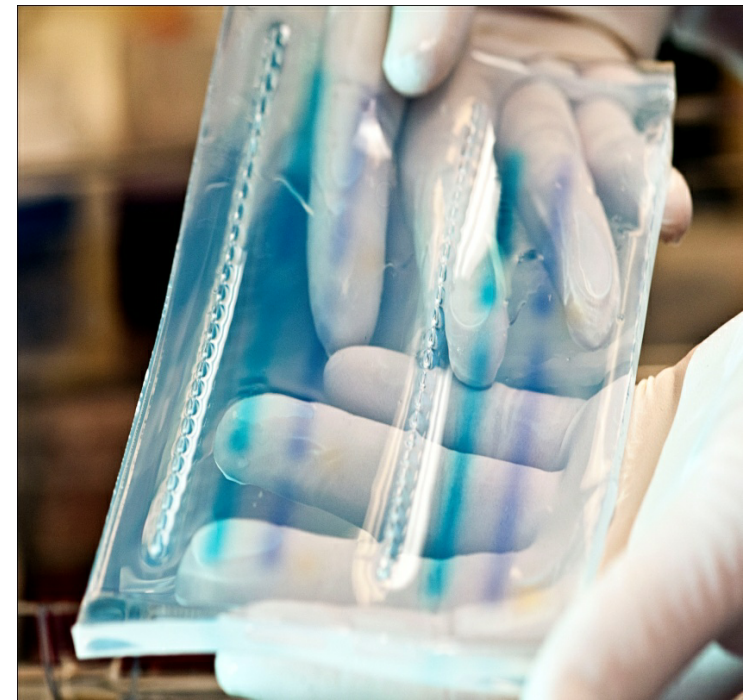
## 2. En milieu gélifié:

### Nature des gels:

extraits d'algues marines: agar-agar (gélose) et ses dérivés purifiés (agarose)

### Caractéristiques des gels:

1. Inertes chimiquement.
2. Visqueux à 50°C ce qui permet d'inclure l'Ag et l'Ac sans qu'ils soient dénaturés.
3. Solides à 37°C.
4. Transparents, permettant l'observation des précipités.

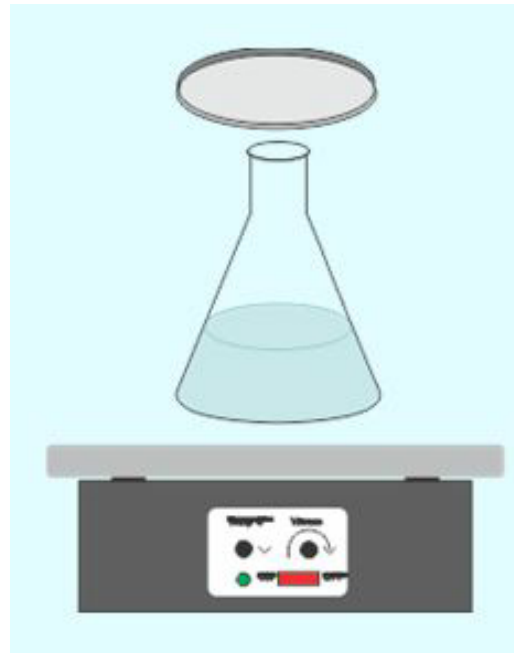


## 2. En milieu gélifié:

### Gel d'agarose- préparation:

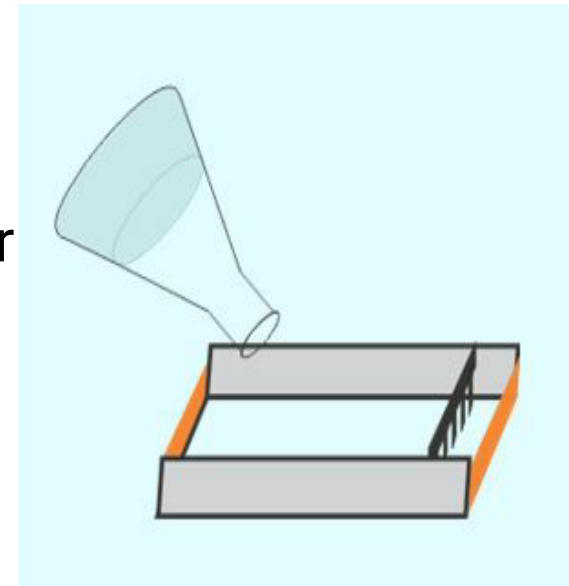


Dissoudre l'agarose  
dans un tampon



- Couvrir
- Agiter
- Bouillir

refroidir



- Verser
- Eviter les  
bulles d'air



## 2. En milieu gélifié:

### 1. Méthodes qualitatives:

- a. Méthode d'Ouchterlony = Immunodiffusion double
- b. Électrosynérèse
- c. Immuno-électrophorèse (IEP)
- d. Immunofixation
- e. Immunosélection

### 2. Méthodes quantitatives:

- a. Immunodiffusion radiale= Mancini
- b. Immunoélectroquantification= Laurell



# 1. Méthodes qualitatives:

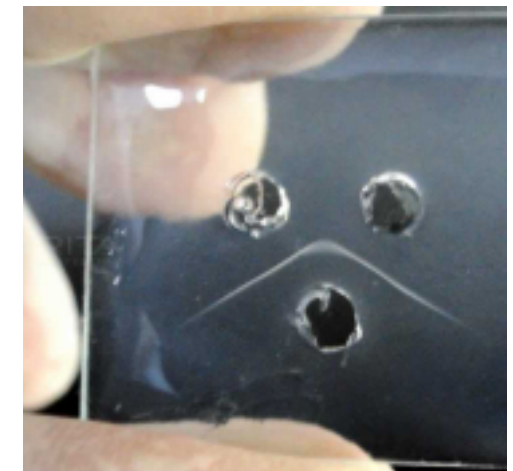
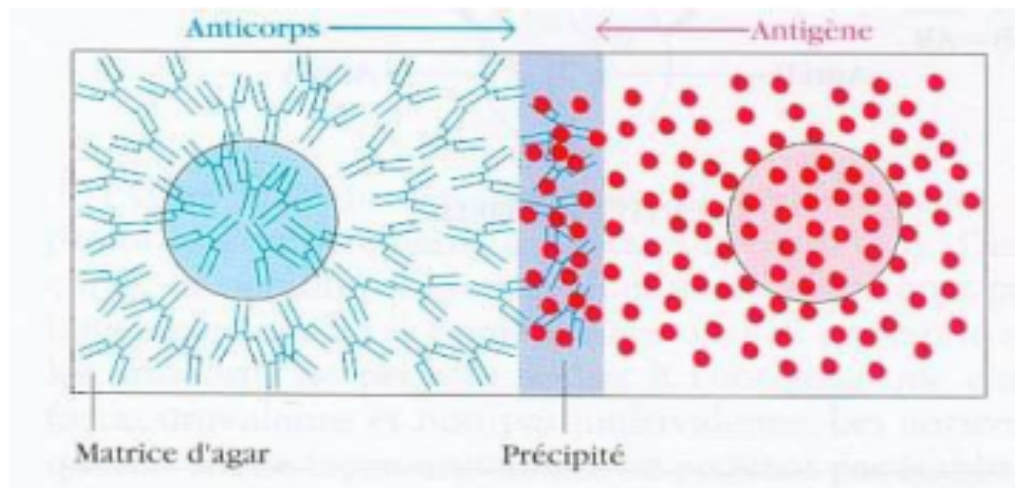
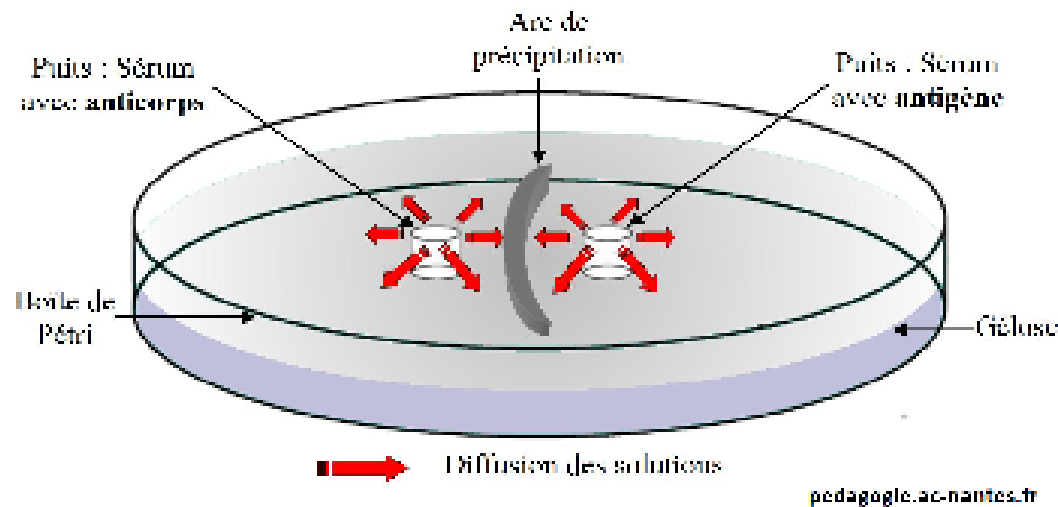
- a. Méthode d'Ouchterlony = Immunodiffusion double
- b. Électrosynérèse
- c. Immuno-électrophorèse (IEP)
- d. Immunofixation
- e. Immunosélection



# 1. Méthodes qualitatives:

## a. Technique D'OUCHTERLONY:

Diffusion spontanée  
Technique qualitative



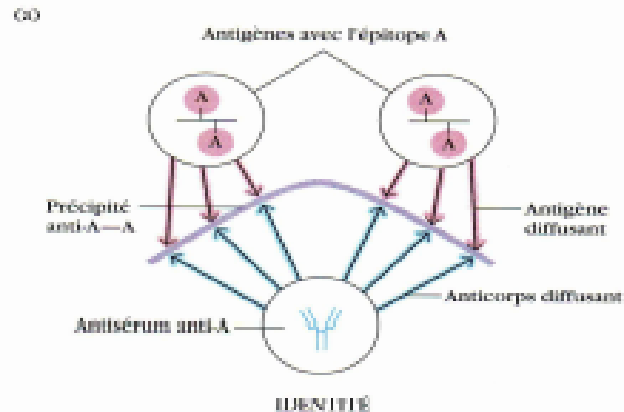
**Applications :** déterminer la pureté d'une solution antigénique ; préciser les spécificités d'un immunsérum...

Exemple d'application : recherche de la protéine de Bence Jonse

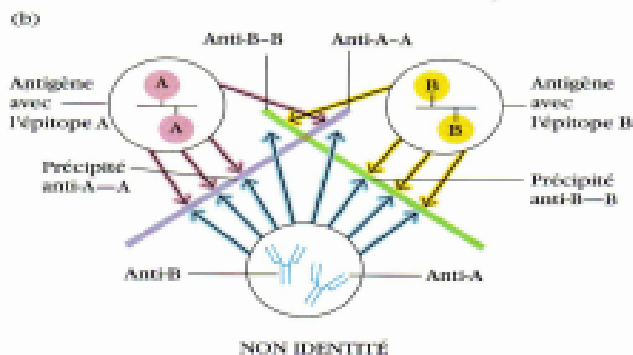
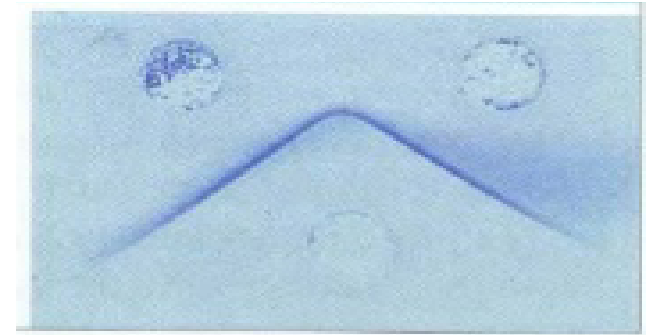


# 1. Méthodes qualitatives:

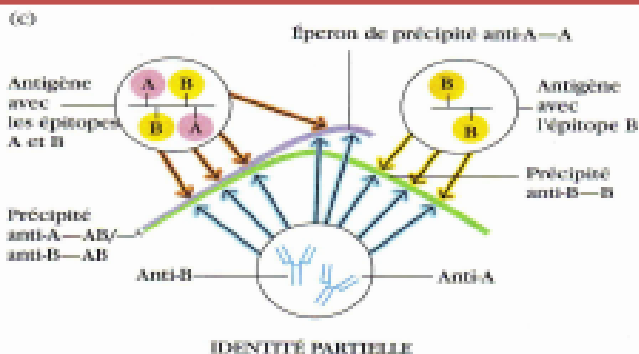
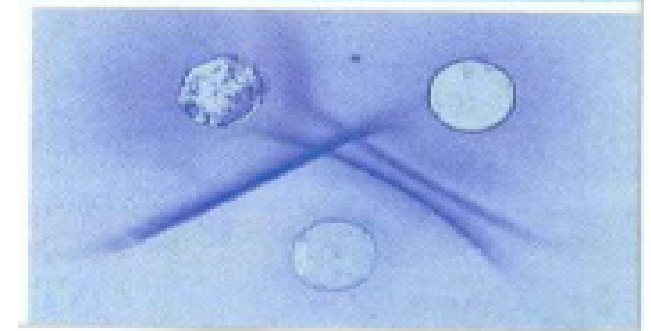
## a. Technique D'OUCHTERLONY:



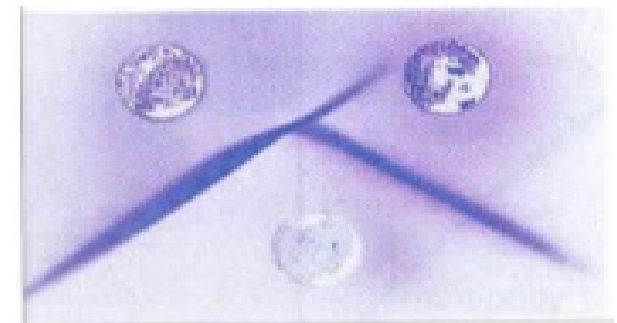
**Identité totale**  
Ag1 et Ag2 présentent  
une identité  
immunochimique totale



**Absence d'identité**  
Ag1 et Ag2 ne présentent  
aucune identité  
immunochimique



**Identité partielle**  
Ag1 et Ag2 présentent une  
identité immunochimique  
Partielle



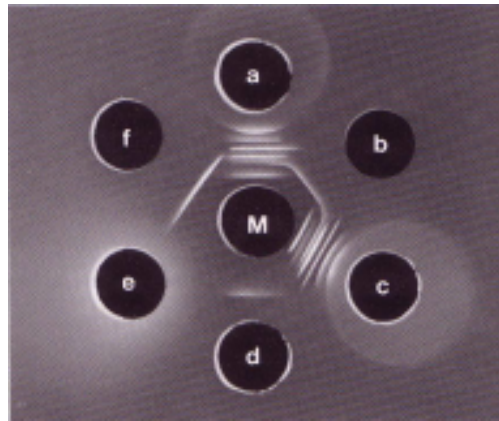
# 1. Méthodes qualitatives:

## a. Technique D'OUCHTERLONY:

Si les solutions d'Ag ou d'Ac sont **complexes**



**Plusieurs arcs** de précipitation



- But:**
- Analyse **qualitative** des solution d'Ag ou d'Ac
  - Étude des relations entre différents Ag



# 1. Méthodes qualitatives:

## b. Contre-immunoélectrophorèse ou Electrosynérèse

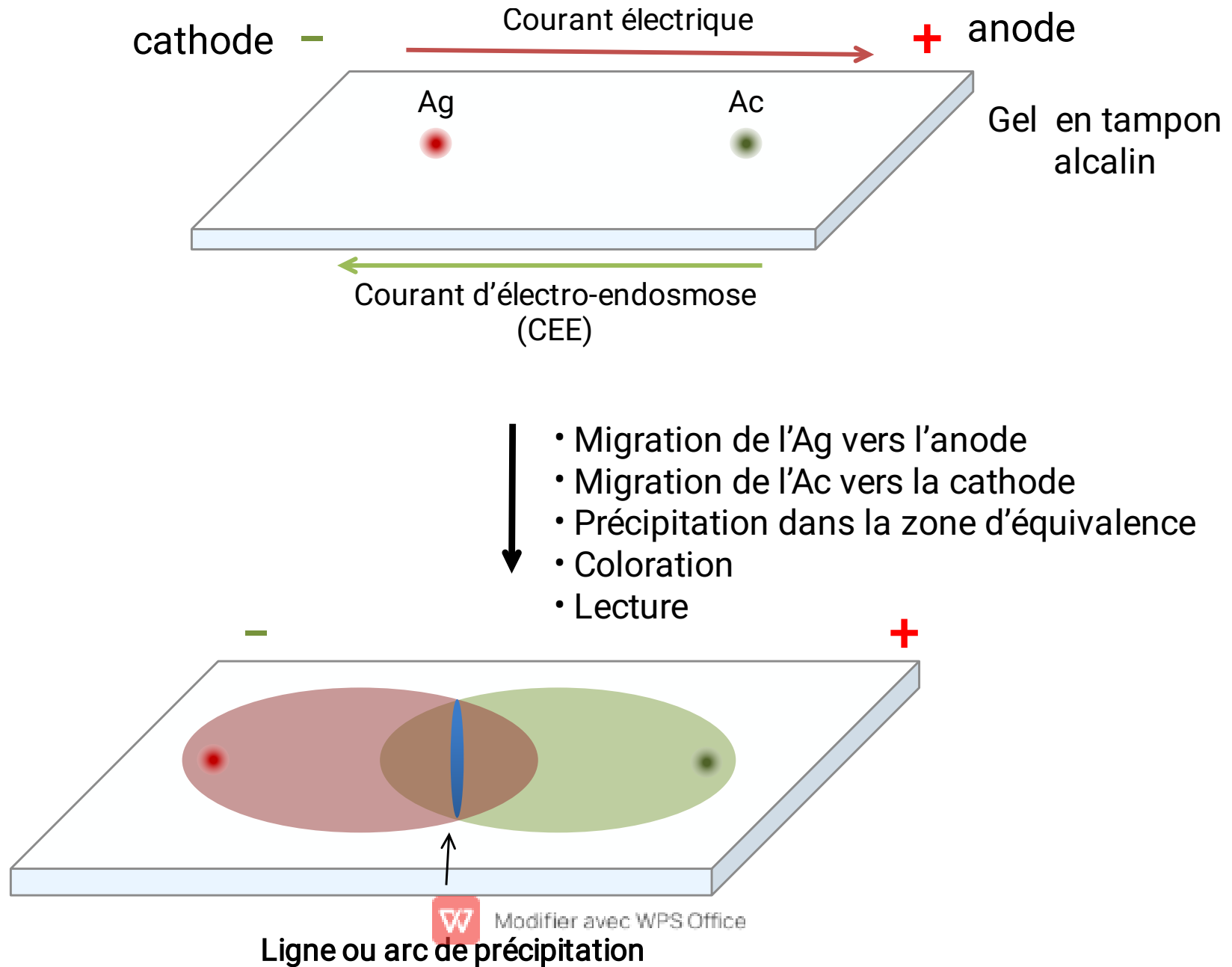
Diffusion accélérée  
Technique qualitative

- Principe: technique **qualitative** d'immunoprécipitation en gel **vierge** ou la diffusion de l'Ag et de l'Ac est **accélérée** par un courant électrique (CE).
- Support: gel d'agarose à fort **courant d'électro-endosmose** (EEE).
  - La réaction Ag-Ac conduit à la formation d'une ligne de précipitation à la zone d'équivalence.



# 1. Méthodes qualitatives:

## b. Contre-immunoélectrophorèse ou Electrosynérèse

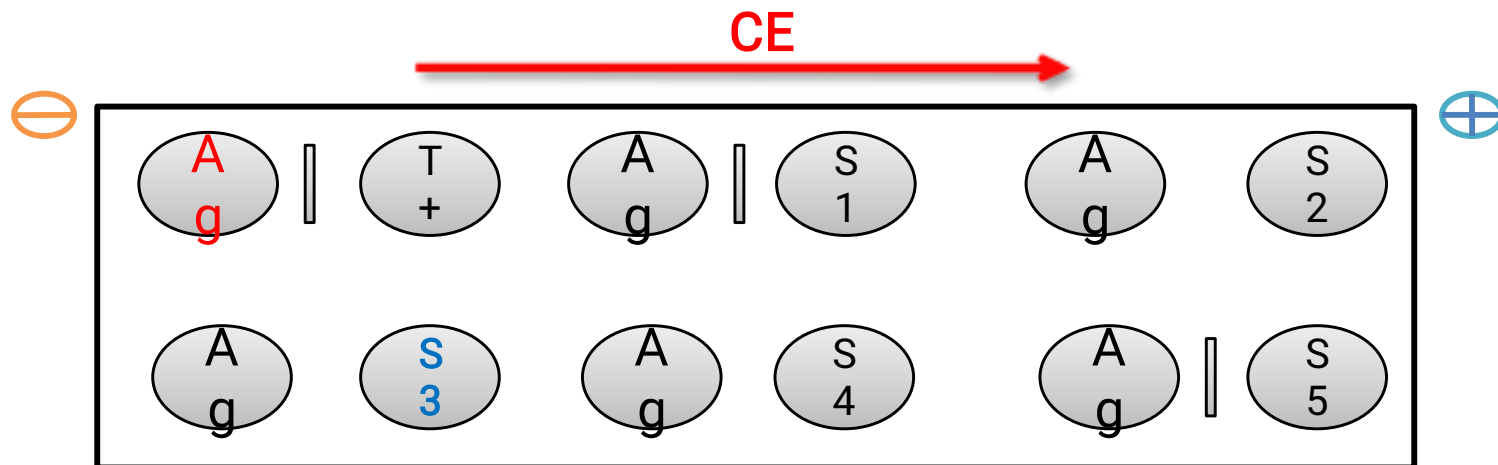


# 1. Méthodes qualitatives:

## b. Contre-immunoélectrophorèse ou Electrosynérèse

### Applications:

- Recherche d'auto anticorps anti- antigènes nucléaires solubles (SSA, SSB, Sm, RNP...)
- Détection de l'Ag HBs ou de l'Ac anti-HBS



T+: témoin positif

Ag : mélange d'antigènes nucléaires solubles.

S1, S2....: sérums des malades

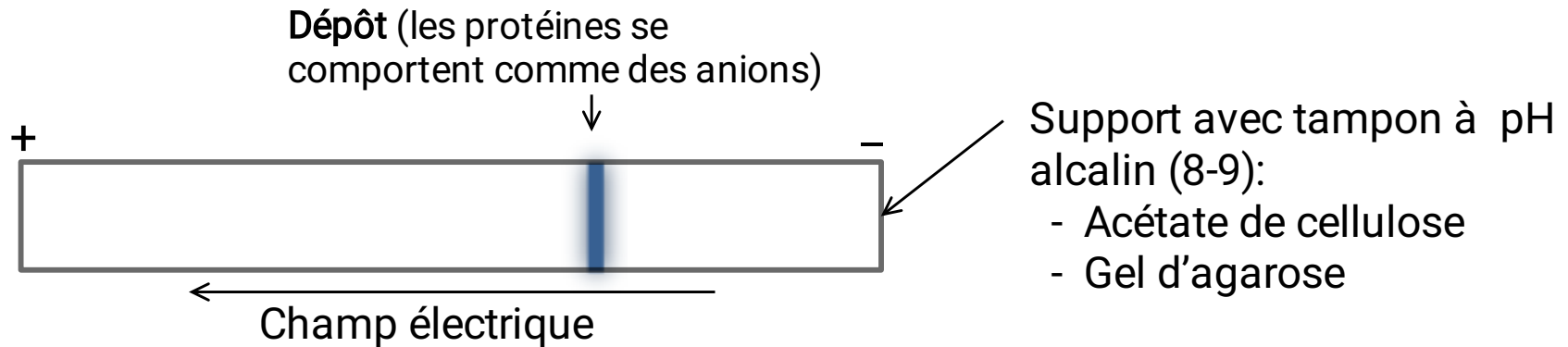


# 1. Méthodes qualitatives:

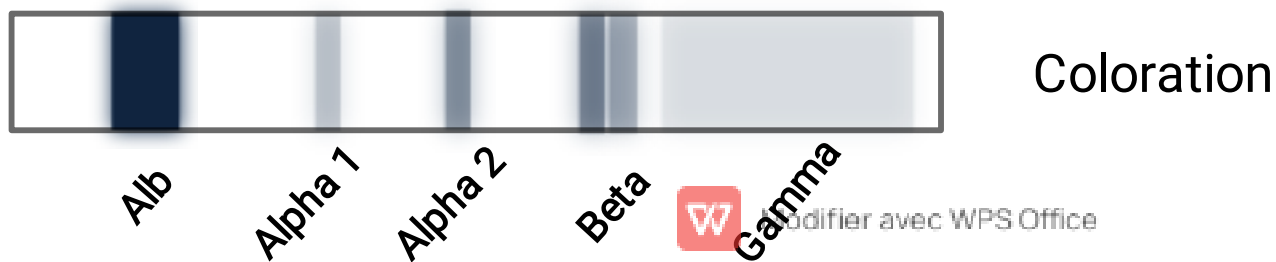
## c. Immunoélectrophorèse:

Diffusion accélérée  
Technique qualitative

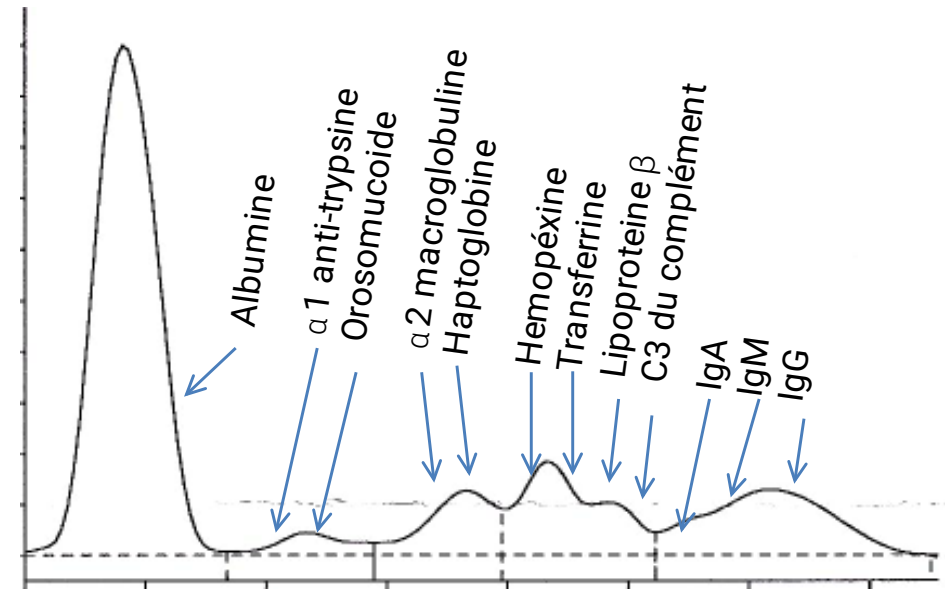
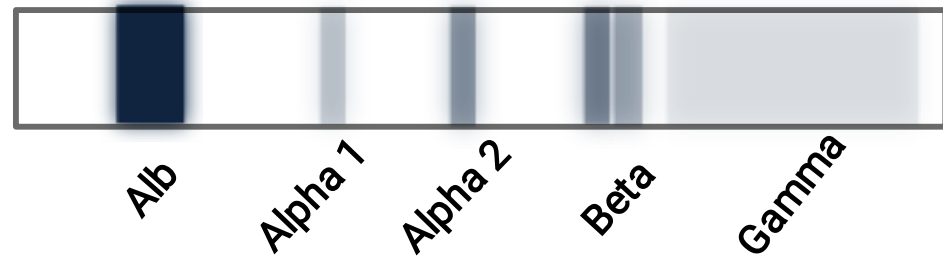
## Electrophorèse des protéines



Electrophorèse :  
Migration des protéines  
selon leur charge et taille

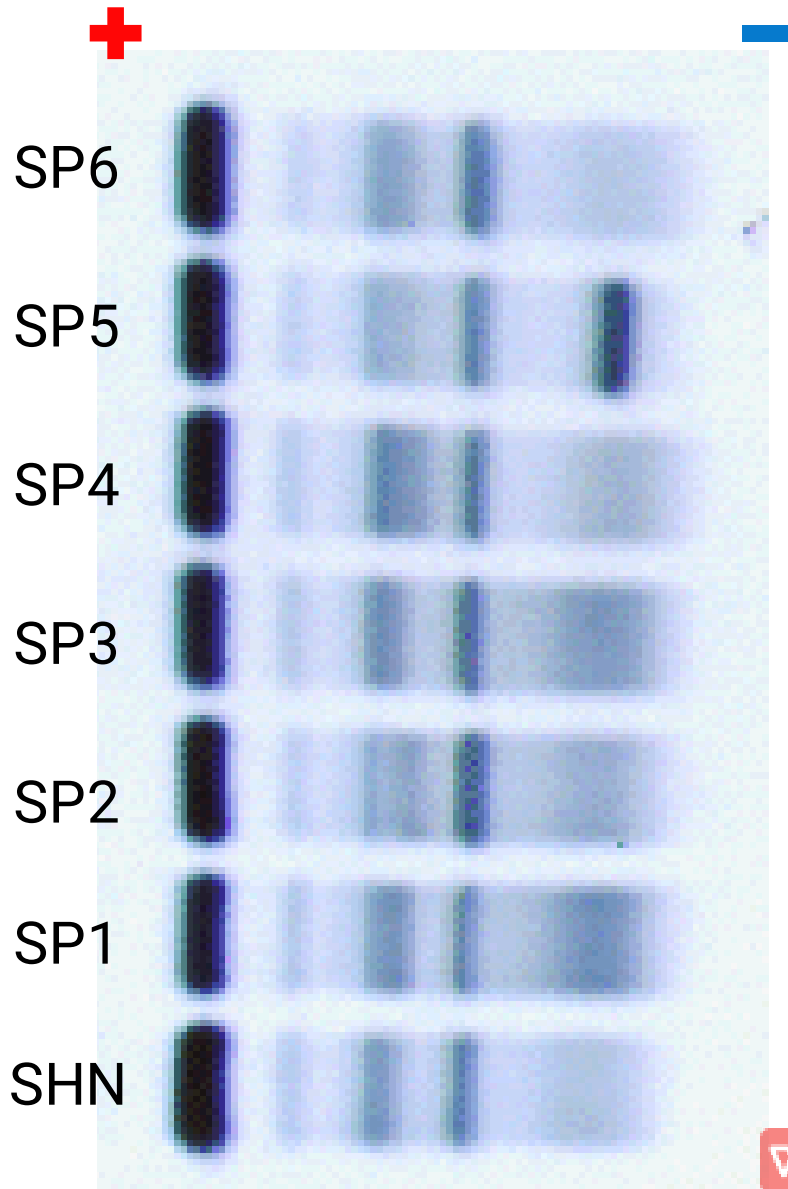


# Electrophorèse des protéines



Tracé électrophorétique après lecture densitométrique des fractions protéiques sériques

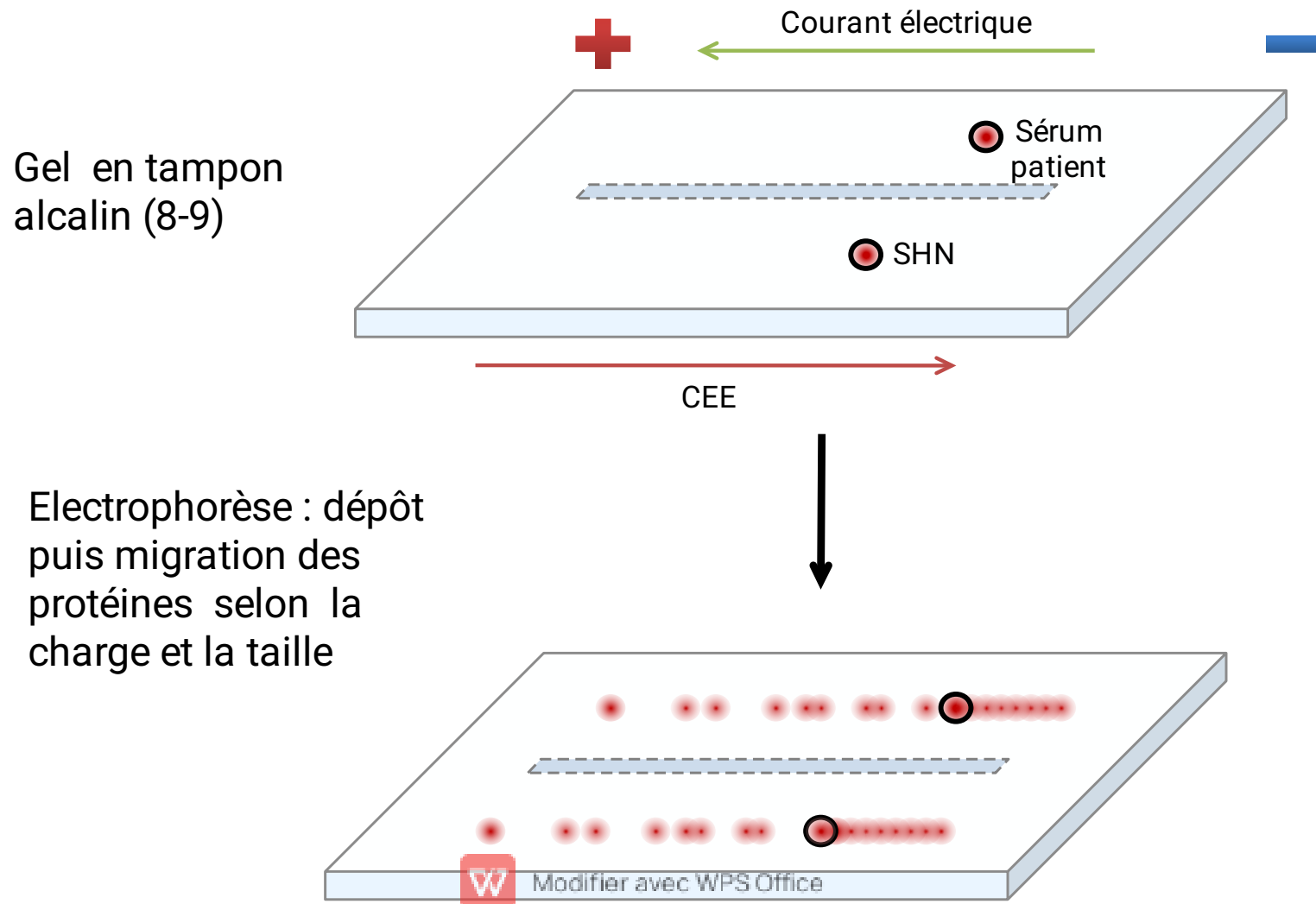
• Albumine	58±5%	32-50 g/l
• α1 globulines	3±1,5%	1-4 g/l
• α2 globulines	9±3%	6-10 g/l
• β globulines	14±3%	6-13 g/l
• γ globulines	16±4%	7-15 g/l



# 1. Méthodes qualitatives:

## c. Immunoélectrophorèse

### 1<sup>ère</sup> étape : séparation électrophorétique





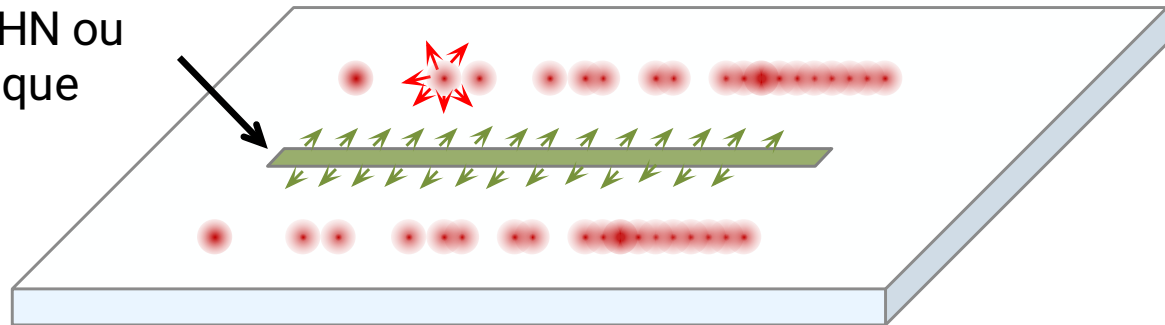
# 1. Méthodes qualitatives:

## c. Immunoélectrophorèse

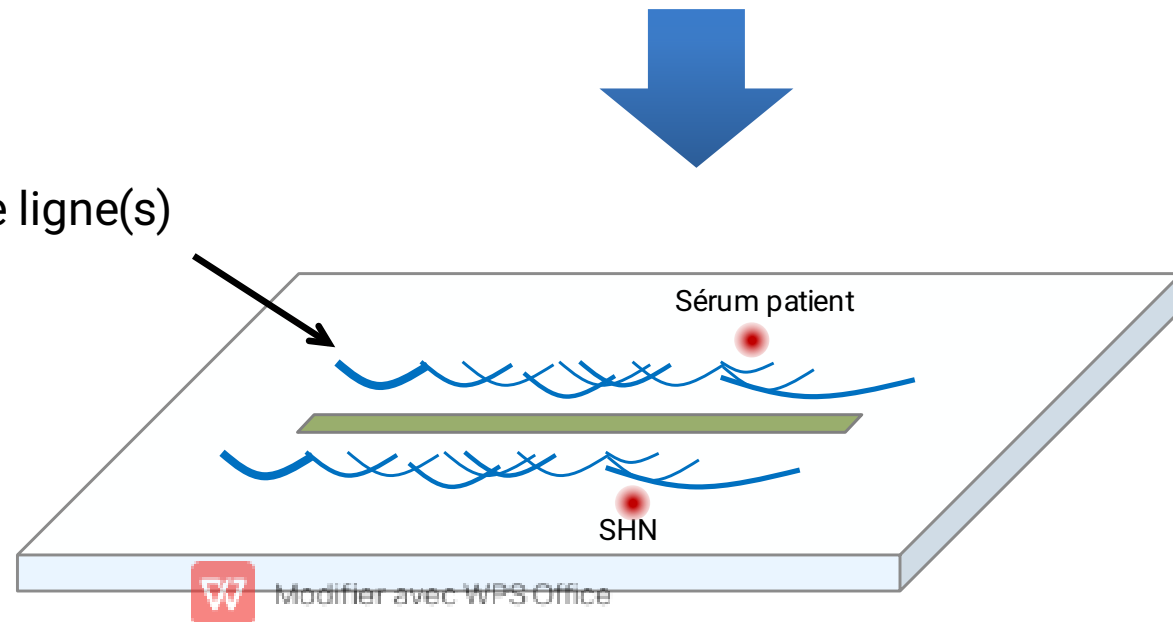
### 2ème étape : Immunodiffusion et précipitation des fractions protéiques

1. Ajout d'un anti-SHN ou d'un IS monospécifique

2. Diffusion

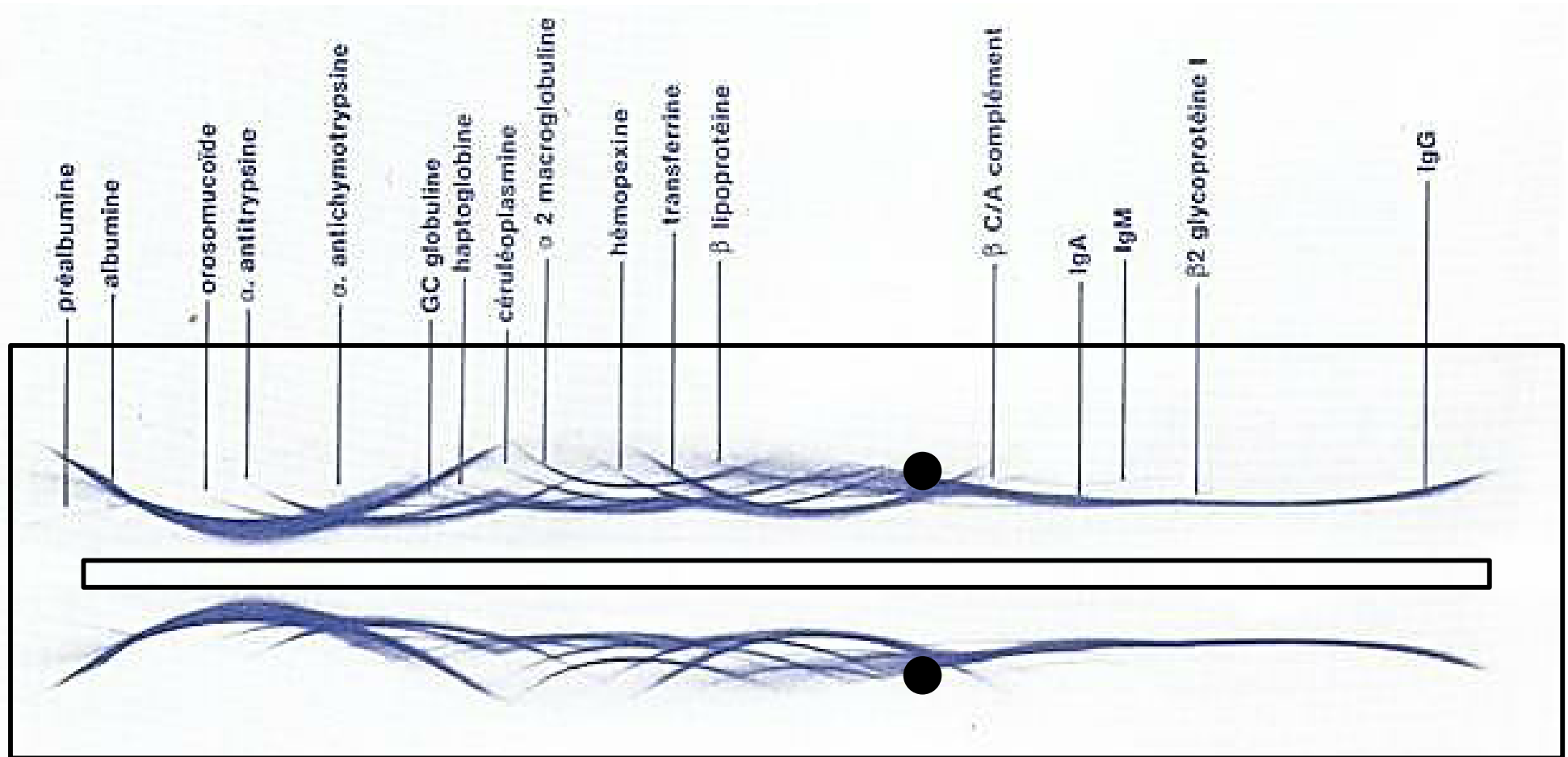


3. Formation de ligne(s) de précipitation



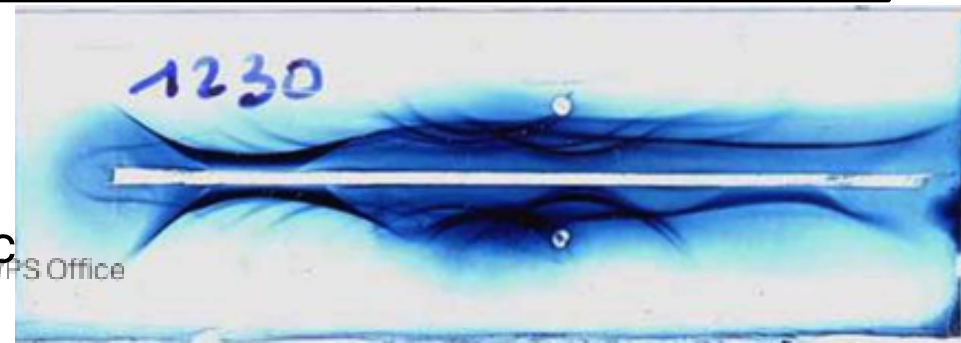
# 1. Méthodes qualitatives:

## c. Immunoélectrophorèse



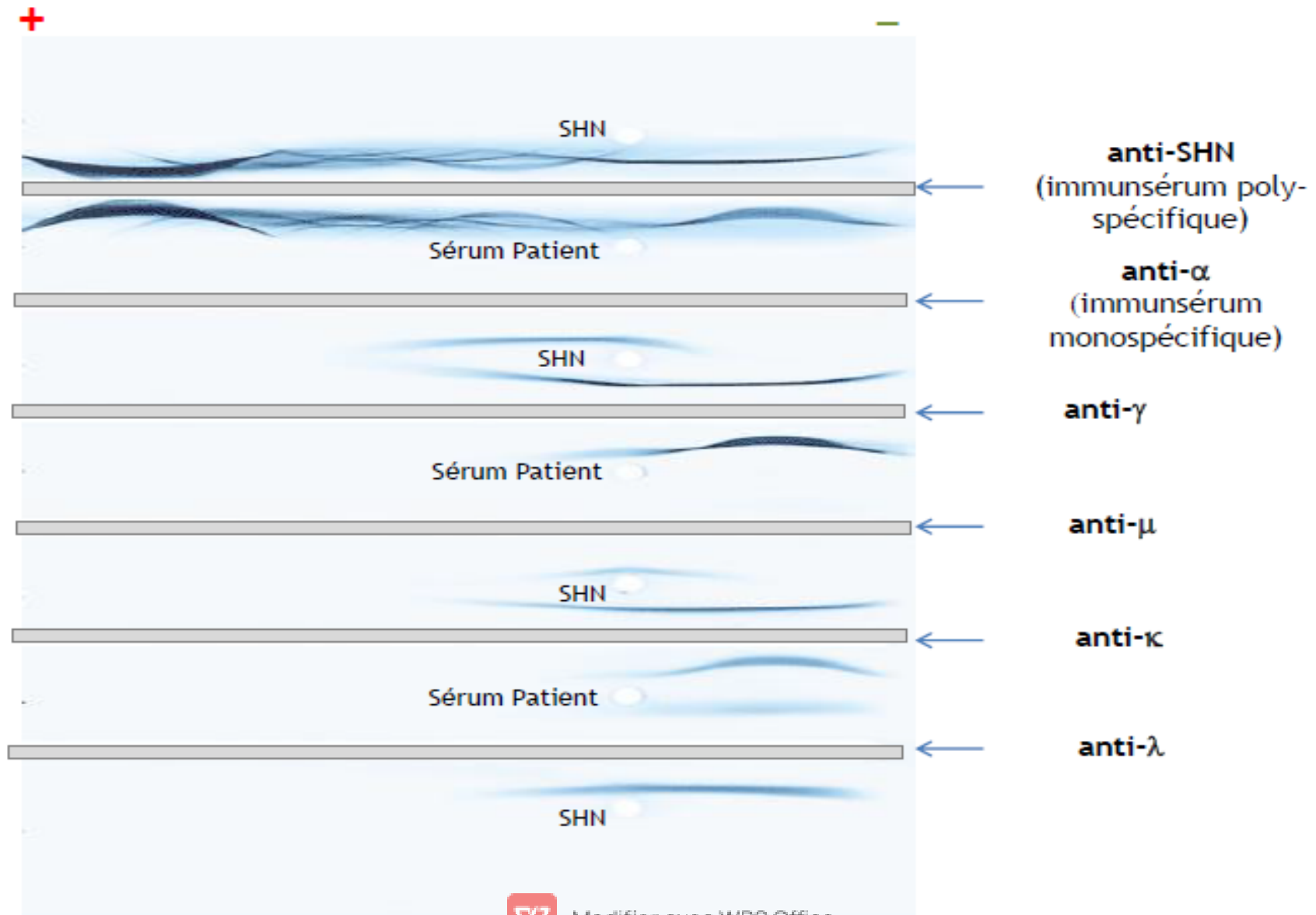
## Applications:

Etude semi-quantitative des concentrations  
Identification et typage d'un composant monoc



# 1. Méthodes qualitatives:

## c. Immunoélectrophorèse



# 1. Méthodes qualitatives:

## d. Immunofixation:

- Principe: technique immunochimique qualitative en deux temps:

1. séparation électrophorétique.
2. Immunoprécipitation par des immun-sérums monospécifiques

- Application:

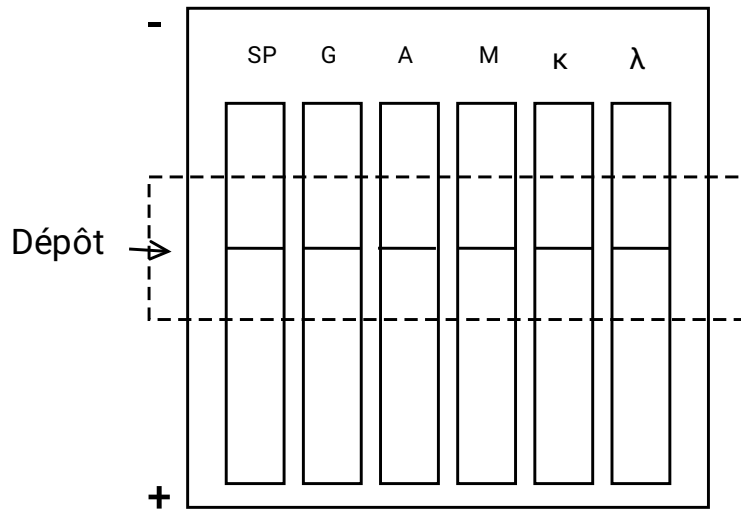
mettre en évidence la nature et de préciser le typage d'une immunoglobuline monoclonale (myélome...) décelés à l'électrophorèse des protéines sériques/urinaires.

Méthode plus sensible et plus rapide que l'immunoélectrophorèse

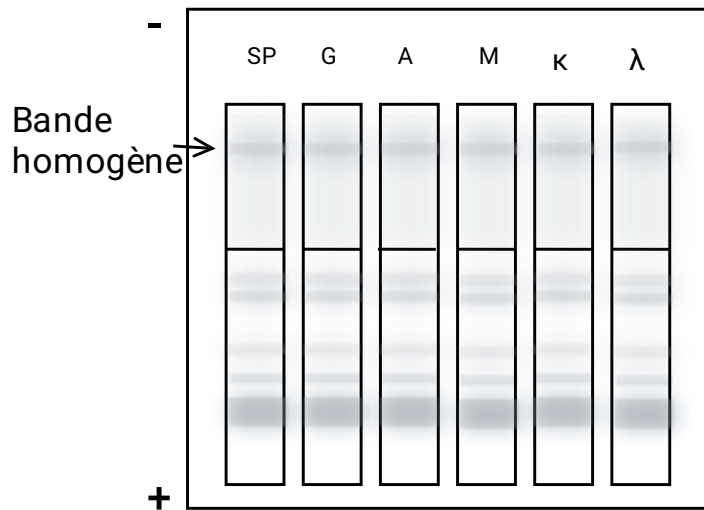


# 1. Méthodes qualitatives:

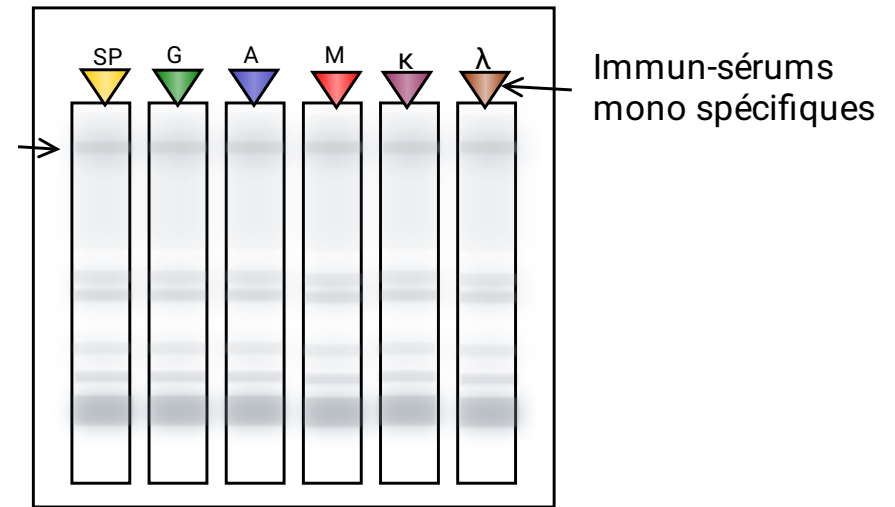
## 1<sup>er</sup> Temps



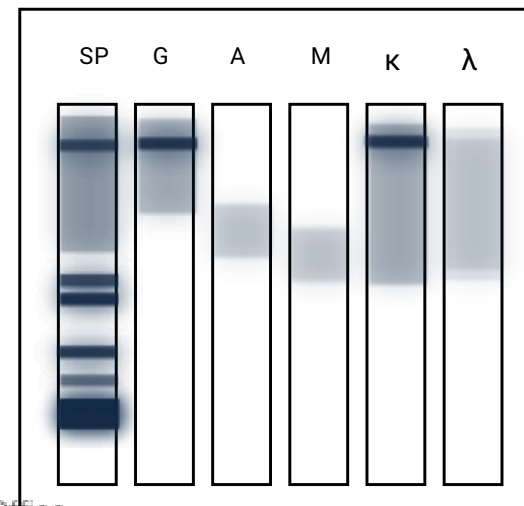
Electrophorèse



## 2<sup>ème</sup> Temps



Immunofixation  
(précipitation, lavages et  
coloration)



# 1. Méthodes qualitatives:

## e. Immunoselection:

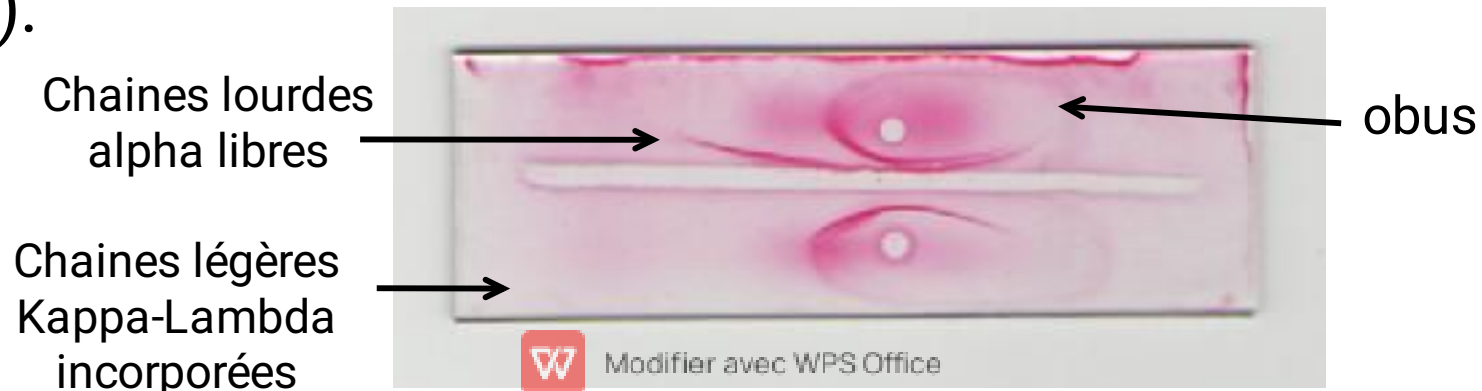
Diffusion accélérée  
Technique qualitative

- Principe:

Permet la détection de chaînes lourdes libres présentes en faible quantité dans des liquides biologiques.

Le gel est incorporé d'anti-chaînes légères Kappa et Lambda en quantité optimale, ces Ac précipiteront les Ig entières sous forme de « rockets » ou obus

Les chaînes lourdes libres vont migrer et pourront être identifiées dans un second temps par immunodiffusion en utilisant un immun sérum spécifique (anti- chaine lourdes).



# 1. Méthodes qualitatives:

## e. Immunoselection:

### Application:

Recherche de la maladie des chaines lourdes alpha le plus souvent, rarement gamma ou mu.



## 2. Méthodes quantitatives:

- a. Immunodiffusion radiale= Mancini
- b. Immunoélectroquantification= Laurell





## 2. En milieu gélifié:

### a. Immunodiffusion radiale: technique de Mancini:

**Principe:** technique d'immunoprécipitation **quantitative** qui consiste en la diffusion **passive** et **radiale** de la protéine à doser au sein d'un **gel incorporé** d'Immun sérum spécifique de cette protéine et formation de **cercle** de précipitation aux zones d'équivalence. Le diamètre du cercle est proportionnel à la concentration de la protéine. L'utilisation d'étalons de concentrations connues permet d'établir une courbe d'étalonnage.

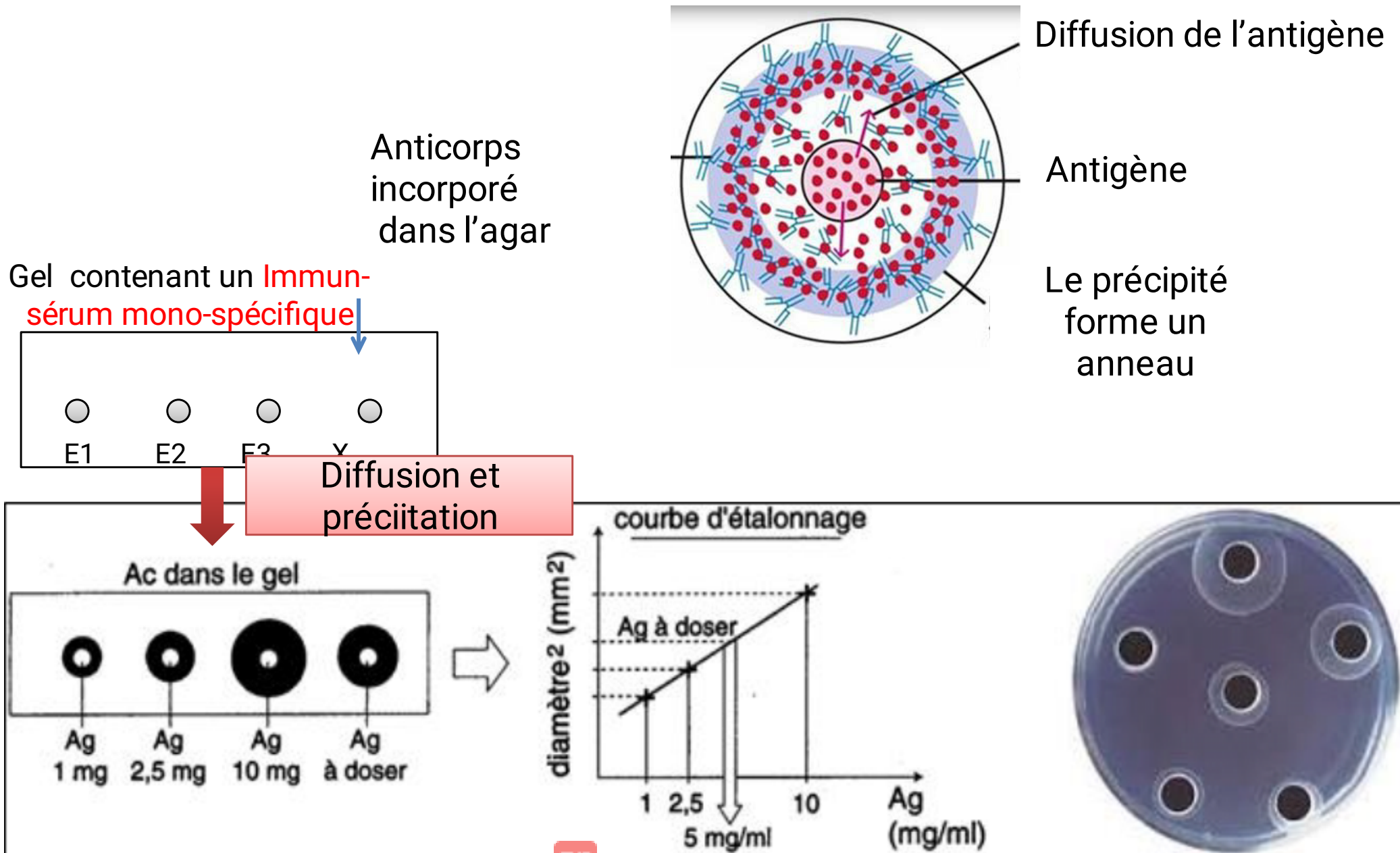
**Application:** Le dosage des protéines

***Inconvénient:*** technique lente (18 heures pour que le précipité se forme)

***Sensibilité:*** 50mg/l



# Immunodiffusion radiale: technique de Mancini



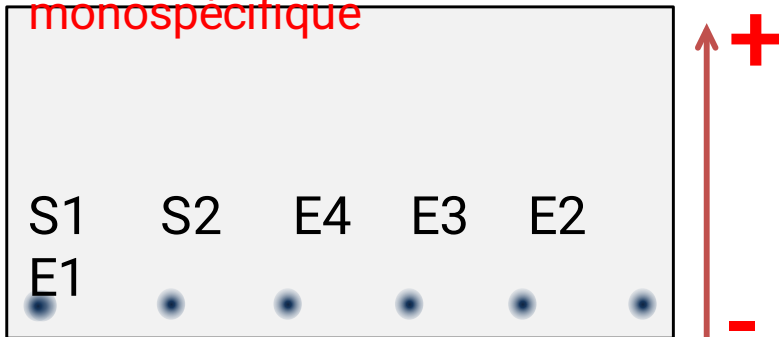
## 2. En milieu gélifié:

### b. Électroimmunoquantification (LAURELL):

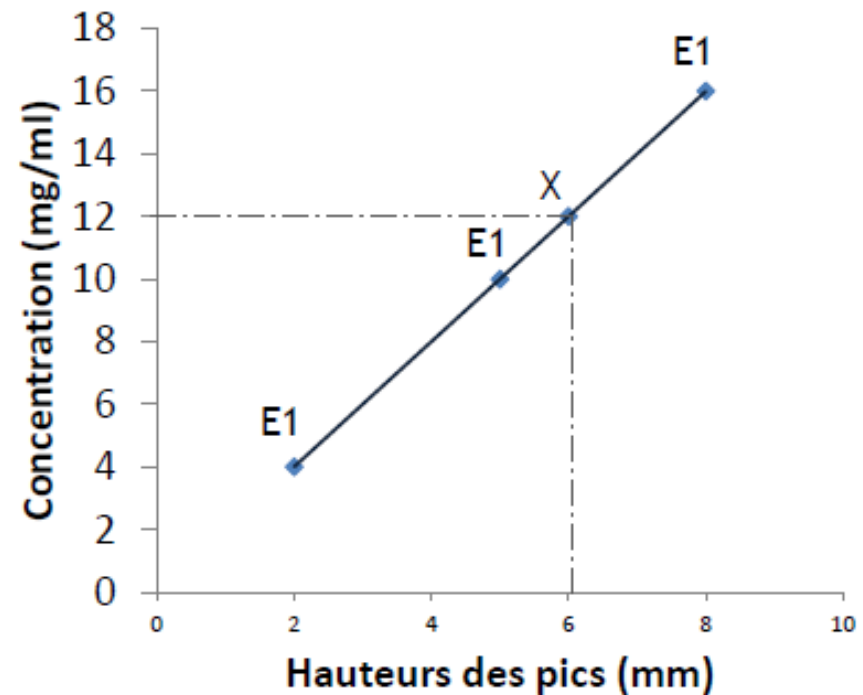
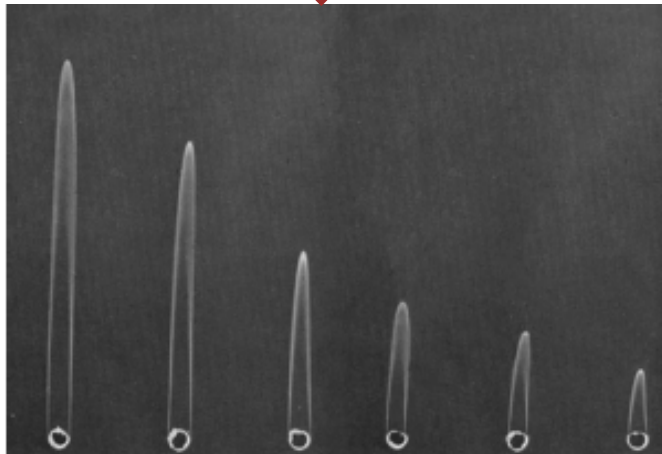
Gel contenant  
un **Immun-  
sérum**

Décrite initialement par Laurell en 1966

**monospécifique**



Diffusion et  
précipitation



Apparition d'obus, pics ou « roquets »



Modifier avec WPS Office

résultat quantitatif est obtenu en 4 heures.

# Techniques d'immuno-précipitation

		gel vierge	gel incorporé
En milieu gélifié	Non pulsées	<input checked="" type="checkbox"/> Ouchterlony (Immuno-diffusion double)	<input checked="" type="checkbox"/> Mancini (Immuno-diffusion radiale)
	Pulsées	<input checked="" type="checkbox"/> Electro-synérèse <input checked="" type="checkbox"/> Immunoélectrophorèse <input checked="" type="checkbox"/> Immuno-fixation	<input checked="" type="checkbox"/> Laurell (Technique des rockettes)  <input checked="" type="checkbox"/> Immuno-sélection



# Techniques d'immuno-précipitation

## Qualitatives

## Quantitatives

En milieu liquide

☑ Ring test (Test à l'anneau)

☑ Néphélométrie  
☑ Turbidimétrie

Non  
pulsées

☑ Ouchterlony  
(Immuno-diffusion double)

☑ Mancini  
(Immuno-diffusion radiale)

En milieu gélifié

Pulsées

☑ Electro-synérèse

☑ Immunoélectrophorèse

☑ Immuno-fixation

☑ Laurell  
(Technique des rockettes)

