

Test Elisa (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)



Coût

~10-15 €*

*par pathogène

Délai

3 jours*

*délai de réponse
du laboratoire : 8 à 15 jours ouvrés

Fiabilité

3*

*établie selon une échelle relative
en fonction des autres techniques

AVANTAGES

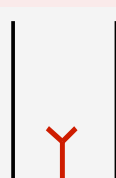
- Adaptation aux tests en grande série
- Facilité d'utilisation
- Polyvalence

INCONVÉNIENTS

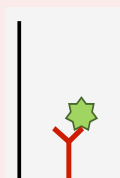
- Sensibilité relative
- Temps de prélèvement parfois long
- Pas de conseil de traitements fourni selon les laboratoires
- Résultat rarement quantitatif (nom de la maladie)

PRINCIPE

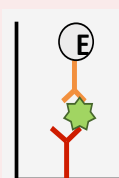
Reconnaissance d'une protéine du bioagresseur ou produite par le bioagresseur (■), appelée antigène (■), par une protéine produite en laboratoire appelée anticorps (■), qui est spécifique à l'agent recherché. Pour la révélation, une enzyme liée à un second type d'anticorps (■) et un substrat sont ajoutés. L'enzyme dégrade le substrat (■), qui se colore alors en jaune. Si le bioagresseur n'est pas présent, il n'y a pas de coloration.



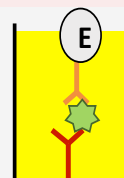
Fixation de l'anticorps n°1



Fixation du virus sur l'anticorps



Reconnaissance du virus par l'anticorps n°2



Coloration du substrat

Protocole de prélèvement des échantillons contaminés

- Prélever les organes suspectés malades et les stocker dans des sachets non comprimés
- Annoter soigneusement les sacs individuellement
- Conserver au frais et envoyer le plus vite possible (dans les 24h suivant le prélèvement)
- Préférer un envoi en début de semaine, par transporteur rapide, pour éviter le stockage durant le weekend

Contactez un laboratoire proposant ce service pour déterminer le type d'échantillon (nombre, nature...), le meilleur moment de prélèvement et les informations complémentaires à envoyer (état de la parcelle, itinéraires techniques...)

Pour information

Cette méthode est fréquemment utilisée dans le cadre de tests pour la certification des semences et plants, la réalisation de plans de surveillance ou la confirmation en cas de symptômes douteux.

Il s'agit d'une méthode de laboratoire, mais sur la base de ce test Elisa, des kits de détection sont commercialisés afin de réaliser des détections directement au champ. Le protocole d'échantillonnage est similaire et une fois les prélèvements réalisés, il suffit de suivre les indications préconisées par le manuel d'utilisation.

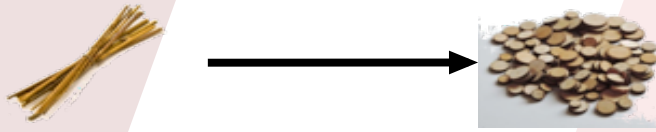
Test principalement utilisé pour virus, plus rarement sur bactéries et champignons (nécessite des sérums spéciaux).



Test Elisa (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

Préparation des échantillons

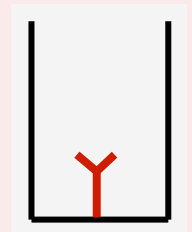
1. Réception des échantillons végétaux (bois, feuilles, racines)
2. Découpe des échantillons : coupe fine et de petite taille pour faciliter l'extraction du bioagresseur



3. Mise en sachet et conservation des échantillons ainsi découpés avant analyse (4°C, taux d'hygrométrie contrôlé)
4. Ajout du tampon de broyage dans les sachets et broyage des échantillons

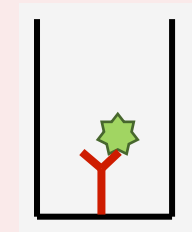
Préparation de la plaque d'analyse

1. Ajout du premier anticorps, monoclonal, dit « coating » dans les puits de la plaque d'analyse. Cet anticorps est spécifique au bioagresseur recherché
2. Incubation pendant 2h à 37 °C - les anticorps « coating » se fixent au fond des puits
3. Lavage pour éliminer les anticorps non fixés



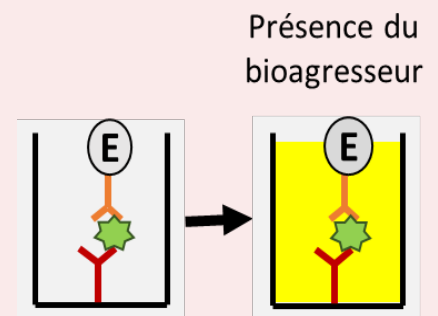
Fixation du bioagresseur

1. Ajout des broyats d'échantillons dans les puits
2. Si le bioagresseur est présent dans le broyat, il va être fixé par l'anticorps « coating »
3. Incubation pendant 12h suivi d'un lavage pour éliminer toutes les molécules non fixées



Révélation du bioagresseur

1. Ajout du deuxième anticorps, polyclonal, dit de « détection », lié à une enzyme. Cet anticorps n'est pas spécifique au bioagresseur recherché. Il se fixe sur tous les types de bioagresseurs
2. Incubation de 2h puis lavage
3. Ajout de l'agent révélateur, dit substrat
4. Incubation pendant 2h : si le bioagresseur est présent, le puits se colore en jaune
5. Pour un résultat quantitatif (dépend de la spécificité du sérum), une mesure d'intensité de la coloration est réalisée



Compléments

Cette méthode, dite DAS-Elisa signifie Double-Sandwich. Elle permet de révéler la présence de bioagresseurs à des seuils de détection faible. Pour des seuils de détection élevés, de l'ordre du ng/mL, la méthode dite TAS-Elisa est utilisée (Triple Sandwich). Le deuxième anticorps n'est pas lié à l'enzyme de révélation. Un troisième anticorps (■), spécifique au deuxième anticorps est ajouté. C'est sur ce dernier qu'est fixée l'enzyme de révélation.

