

**RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-BSA (ALBUMINE DE SERUM DE BŒUF) PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA**

Fiche sujet - candidat

L'organisme réagit à l'introduction d'un élément étranger par la production d'anticorps. Le test ELISA peut être utilisé pour détecter la présence d'un tel anticorps dans le sérum de l'individu.

**On cherche à déterminer si un lapin a été mis en contact avec un antigène BSA.**

**Matériel :**

- une barrette de 3 puits au fond desquels sont fixés des antigènes BSA (albumine de sérum de bœuf)
- sérum d'un lapin mis en contact avec la BSA
- sérum du lapin à tester
- solution d'anticorps de détection Ac2 = complexe entre anticorps et enzyme
- solution de lavage et pipette de prélèvement ; eau distillée
- solution de substrat de l'enzyme peroxydase (l'action de l'enzyme sur ce substrat se traduit par une coloration)
- papier filtre, cuvette ou évier à proximité, micropipettes et embouts jetables(ou équivalent), gants, lunettes, un feutre permanent, un chronomètre.

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1. <b>Expliquer</b> , à l'aide du principe du test ELISA présenté dans la fiche document-candidat, l'intérêt des trois solutions testées dans le protocole ( <u>vous rédigerez votre réponse durant les temps d'attente</u> du protocole).	<b>Comprendre la manipulation</b>	3
2. <b>Mettre en œuvre</b> le protocole fourni en suivant les indications de la fiche protocole-candidat.  <b>Appeler l'examineur pour présenter votre manipulation</b> <u>Préparer la question 3 pendant les temps d'attente.</u> <b>Appeler ensuite l'examineur pour vérifier les résultats et obtenir éventuellement un document de secours</b>	<b>Réaliser une manipulation d'après un protocole</b> respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation et rangement de la paillasse	8
3. <b>Construire</b> un tableau présentant le résultat de la manipulation dans chaque puits, et son interprétation à l'échelle moléculaire sous forme de schémas en utilisant le symbole fourni dans la fiche document-candidat et ceux à votre convenance.	<b>Présenter des données sous forme d'un tableau</b>	3
4. <b>Déduire</b> des résultats obtenus (ou indiqués sur le document de secours) si le lapin à tester a été mis en contact avec la BSA.	<b>Traduire des informations par un schéma</b>	3
5. <b>Gérer</b> le poste de travail ; le <b>ranger</b> en fin d'épreuve.	<b>Appliquer une démarche explicative</b>	2
	<b>Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité</b>	1

**RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-BSA (ALBUMINE DE SERUM DE BŒUF) PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA**

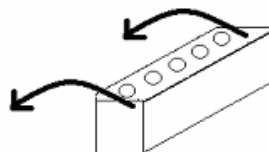
Fiche protocole – candidat

**Protocole d'utilisation du matériel**

- 1- **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement et en respectant les consignes de sécurité.
- 2- **Repérer les puits et déposer** dans chacun d'eux, une goutte ou 20  $\mu$ L d'une des solutions suivantes (une solution différente par puits) :
  - sérum d'un lapin mis en contact avec la BSA,
  - eau distillée,
  - sérum du lapin à tester.Les niveaux des liquides doivent être, au final, équivalents.

- 3- **Laisser incuber** 10 min à température ambiante.

- 4- **Vider** la barrette en la renversant d'un geste rapide au-dessus de l'évier de manière à éviter le mélange des produits. Avant de la remettre à l'endroit, **tamponner** les puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.



- 5- **Laver** les puits délicatement : **remplir** tous les puits (à l'ordre) avec la solution de lavage et vider immédiatement comme précédemment. **Renouveler** encore deux fois ce lavage (trois lavages en tout).
- 6- **Mettre** dans les puits 1 goutte ou 20  $\mu$ L de la solution d'anticorps de détection (Ac2). Les niveaux des liquides doivent être, au final, équivalents.
- 7- **Laisser** incuber 5 minutes.
- 8- **Vider** les puits et les **laver** 3 fois comme aux étapes 4 et 5.
- 9- **Mettre** dans les puits 1 goutte ou 20  $\mu$ L de substrat de l'enzyme peroxydase. Les niveaux des liquides doivent être, au final, équivalents. Une coloration éventuelle se développe. Ne pas attendre pour comparer les colorations car au bout de quelques minutes les différences s'estompent.

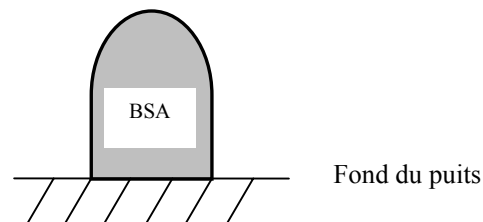
**RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-BSA (ALBUMINE DE SERUM DE BŒUF) PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA**

Fiche document – candidat

**Principe du test de détection d'anticorps**

L'antigène BSA est fixé au fond des puits.

Un exemple de schéma de l'antigène fixé au fond des puits



Un sérum de lapin mis en contact avec l'antigène contient des anticorps Ac1 spécifiques de cet antigène.

Si ces anticorps sont effectivement présents dans le sérum, ils reconnaissent l'antigène fixé au fond du puits.

Les anticorps Ac2 reconnaissent les anticorps Ac1 ; dans le protocole du test ELISA, ils sont fixés à une enzyme : la peroxydase.

Cette enzyme catalyse une réaction colorée en présence d'un substrat incolore.