

DOSAGE D'ANTIGENES PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

Fiche sujet - candidat

On sait qu'un individu a été contaminé par un antigène Ag1. Des signes cliniques laissent à penser que des antigènes sont toujours présents dans son organisme donc que sa réponse immunitaire n'est pas suffisamment efficace.

On cherche à déterminer si une sérothérapie est nécessaire, c'est-à-dire s'il faut injecter à ce patient des anticorps (Ac1) spécifiques de Ag1 afin de renforcer sa réaction immunitaire.

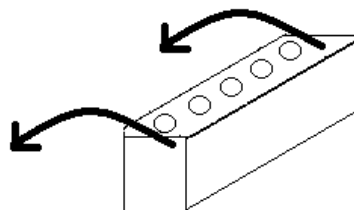
Matériel :

- une barrette de 8 puits au fond desquels sont fixés des anticorps Ac1 correspondant à ceux éventuellement injectés lors de la sérothérapie
- 7 solutions d'antigènes Ag1 de concentrations décroissantes, notées de C1 à C7 avec : C1 > C2 > C3 > C4 > C5 > C6 > C7
- gants, lunettes, papier filtre, cuvette ou évier à proximité, micropipettes et embouts jetables (ou équivalent), un feutre permanent, un chronomètre
- sérum S de l'individu à tester
- solution d'anticorps de détection Ac2 = complexe entre un deuxième anticorps spécifique d'Ag1 et une enzyme (E)
- solution de lavage et une pipette de prélèvement
- solution de substrat de l'enzyme E (l'action de l'enzyme sur ce substrat se traduit par une coloration)
- verre à pied avec javel pour mettre les embouts usagés

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
<p><u>Préparer les réponses aux questions 1 et 3 pendant les temps d'attente.</u></p> <p>1. A l'aide de la fiche document – candidat, présentant le principe du test ELISA, expliquer l'intérêt d'avoir des solutions d'antigène à différentes concentrations connues. (<i>Vous rédigerez votre réponse durant les temps d'attente du protocole</i>).</p> <p>2. Mettre en œuvre le protocole fourni en suivant les indications de la fiche protocole-candidat. Appeler l'examineur dès le début de votre manipulation Appeler ensuite l'examineur pour vérifier les résultats et obtenir éventuellement un document de secours</p> <p>3. Schématiser les associations moléculaires présentes en fin de test dans le puits H (résultat de l'individu testé) et dans le puits correspondant à la concentration C5. Pour cela, utiliser les schémas de la fiche document-candidat et d'autres à votre convenance, et adapter les représentations moléculaires à l'intensité de la coloration obtenue (<i>Utiliser les temps d'attente pour préparer votre réponse</i>).</p> <p>4. Utiliser les résultats obtenus (ou indiqués sur le document de secours) et la fiche document - candidat, pour déterminer si le patient a besoin d'une sérothérapie.</p> <p>5. Gérer le poste de travail ; le ranger en fin d'épreuve.</p>	<p>Comprendre la manipulation</p> <p>Réaliser une manipulation d'après un protocole respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation de la paillasse</p> <p>Traduire des informations par un schéma</p> <p>Appliquer une démarche explicative</p> <p>Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité</p>	<p>3</p> <p>9</p> <p>5</p> <p>2</p> <p>1</p>

PROTOCOLE

- 1- **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement et en respectant les consignes de sécurité.
- 2- Numéroté les puits de 1 à 7 et nommer H le 8^{ème} puits.
- 3- **Déposer** 2 gouttes ou 80 μL :
 - de C1 dans le puits 1, C2 dans le puits 2, etc., jusqu'à C7 dans le puits 7 ;
 - du sérum S de l'individu testé, de concentration inconnue, dans le puits H.Attention, une seule solution par puits. Les niveaux des liquides doivent être, au final, équivalents.
- 4- **Laisser incubé** 10 min à température ambiante.
- 5- **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** ensuite les puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.



- 6- **Laver** les puits : **remplir** tous les puits avec la solution de lavage et vider immédiatement comme précédemment. **Répéter** 2 fois ce lavage.
- 7- **Mettre** dans les puits 2 gouttes ou 80 μL de la solution d'anticorps de détection Ac2 sur lequel est fixé l'enzyme E. Les niveaux doivent être, au final, équivalents.
- 8- **Laisser** incubé 10 minutes.
- 9- **Vider** les puits et les **laver** 2 fois comme à l'étape 6.
- 10- **Mettre** dans les puits 2 gouttes de substrat de l'enzyme E. Les niveaux doivent être, au final, équivalents. Une coloration se développe en une dizaine de minutes environ. Comparer alors les colorations.

Principe du test de détection d'antigènes

Le sérum d'un individu contaminé contient des antigènes Ag1.

Si ces antigènes sont effectivement présents dans le sérum, ils se complexent à l'anticorps Ac1 fixé au fond du puits.

Les anticorps Ac2 sont également spécifiques des antigènes Ag1 ; dans le protocole du test ELISA, ils sont fixés à une enzyme : E.

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

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'antigènes à doser : plus la concentration d'antigènes est élevée, plus la coloration est intense. Les solutions d'Ag proposées : C1 à C7 sont de concentrations décroissantes.

Une réaction immunitaire efficace ramène la concentration du sérum en antigènes Ag1 en dessous du seuil C5 ($<C5$). Le patient est alors considéré comme hors de danger.

Planche de représentations guidant la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire :

