

DOSAGE D'ANTICORPS PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

Fiche sujet - candidat

Après une vaccination, l'organisme réagit par la production d'anticorps dirigés contre l'antigène injecté. Une mémoire immunitaire se met en place et lors d'un second contact avec l'antigène, la réaction sera beaucoup plus rapide et plus importante. Des dosages d'anticorps dans le sérum peuvent être réalisés par l'utilisation du test ELISA : en-dessous d'un certain seuil, on décidera de renouveler la vaccination.

On cherche à déterminer si un individu doit être ou non, de nouveau vacciné.

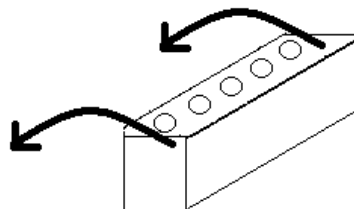
Matériel :

- une barrette de 8 puits au fond desquels sont fixés des antigènes correspondant à ceux injectés lors de la vaccination
- 7 solutions d'anticorps Ac1 de concentrations différentes appelées C1, C2, C3, C4, C5, C6 et 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 anticorps et enzyme
- solution de lavage et une pipette de prélèvement
- solution de substrat de l'enzyme peroxydase = H_2O_2 (l'action de l'enzyme sur ce substrat se traduit par une coloration)
- verre à pied avec javel pour mettre les pipettes usagées

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
<i>Préparer les réponses aux questions 1 et 3 pendant les temps d'attente.</i>		
1. A l'aide de la fiche document – candidat, présentant le principe du test ELISA, expliquer l'intérêt d'avoir des solutions d'anticorps à différentes concentrations connues. <i>(Vous rédigerez votre réponse durant les temps d'attente du protocole).</i>	Comprendre la manipulation	3
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	Réaliser une manipulation d'après un protocole respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation de la paillasse	9
3. Schématiser les associations moléculaires présentes en fin de test dans le puits H (résultat de l'individu testé) et dans le puits 1. 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>	Traduire des informations par un schéma	5
4. Utiliser les résultats obtenus (ou indiqués sur le document de secours) et la fiche document - candidat, pour déterminer si l'individu doit être ou non, de nouveau vacciné.	Appliquer une démarche explicative	2
5. Gérer le poste de travail ; le ranger en fin d'épreuve.	Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité	1

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 incuber** 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** 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 fixée l'enzyme peroxydase. Les niveaux doivent être, au final, équivalents ;
- 8- **Laisser** incuber 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 peroxydase. Les niveaux doivent être, au final, équivalents. Une coloration se développe. Ne pas attendre pour comparer les colorations car au bout de quelques minutes les différences s'estompent.

Principe du test de détection d'anticorps

Le sérum d'un individu contaminé contient des anticorps Ac1 spécifiques de l'antigène.

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

Les anticorps Ac2 sont spécifiques des 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.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps à doser : plus la concentration d'anticorps est élevée, plus la coloration est intense.

Le **seuil** en dessous duquel l'individu est considéré comme non immunisé est, dans notre exemple, une concentration de **1,06 $\mu\text{g d'Ac.mL}^{-1}$** .

Concentration en $\mu\text{g d'Ac.mL}^{-1}$	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
	17,00	8,50	4,25	2,12	1,06	0,53	0,26

Planche de représentation permettant la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire :

