

## DOSAGE D'ANTICORPS PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

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 peuvent être réalisés par l'utilisation du test ELISA : si la quantité d'anticorps détectés dans le sérum est sous un certain seuil, on renouvellera la vaccination.

**On cherche à déterminer si un individu est immunisé contre un antigène.**

### Matériel :

- une barrette de 8 puits au fond desquels sont fixés des antigènes correspondant à ceux injectés ;
- 7 solutions d'anticorps Ac1 de concentrations différentes et connues ;
- eau distillée, papier filtre, cuvette ou évier à proximité, micropipettes (ou équivalent), gants, un feutre effaçable, un chronomètre ;
- sérum S de l'individu à tester ;
- solution d'anticorps conjugués Ac2 = complexe entre anticorps et enzyme ;
- solution de lavage ( tampon PBS tween) ;
- solution de substrat de l'enzyme peroxydase =  $H_2O_2$  (l'action de l'enzyme sur ce substrat se traduit par une coloration).

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 d'avoir des solutions d'anticorps à différentes concentrations connues.	<b>Adopter une démarche explicative</b>	3
2. <b>Mettre en œuvre</b> le protocole fourni en suivant les indications de la fiche technique. <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	9
3. <b>Schématiser</b> les molécules présentes en fin de test dans le puits H (résultat de l'individu testé) et celles présentes dans le puits A. Ces schémas s'inspireront des modèles de la fiche document et montreront les associations moléculaires.	<b>Traduire des informations par un schéma</b>	6
4. <b>Déduire</b> des résultats obtenus (ou indiqués sur le document de secours) et à l'aide de la fiche document - candidat, si l'individu est immunisé.	<b>Adopter une démarche explicative</b>	2

## DOSAGE D'ANTICORPS PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

### Principe du test de détection d'anticorps

Un sérum 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.

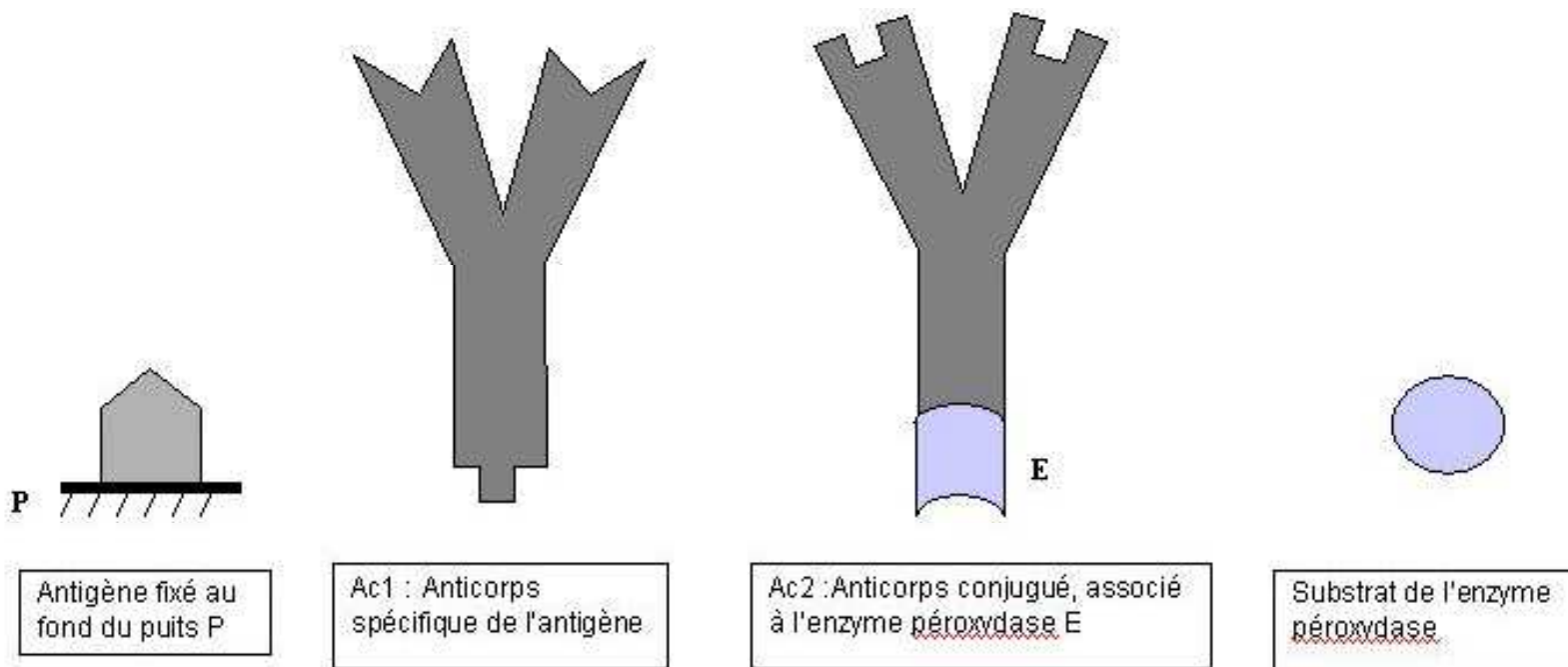
Cette enzyme catalyse une réaction colorée en présence d'un substrat incolore.

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 le cas envisagé, 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 modèles permettant la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire :



**DOSAGE D'ANTICORPS PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA****PROTOCOLE**

1- L'encoche de la barrette du puits permet de repérer le puits A ou bien vous pouvez le marquer.

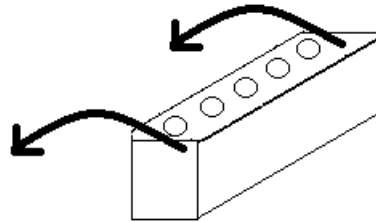
2- **Déposer** 4 gouttes ou 160  $\mu\text{L}$  :

- de C1 dans le puits A, C2 dans le puits B, etc., jusqu'à C7 dans le puits G.
- du sérum S de l'individu, de concentration inconnue, dans le puits H.

Attention, une seule solution par puits.

3- **Laisser incuber** 15 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. **Tamponner** ensuite les puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.



5- **Laver** les puits : **remplir** tous les puits avec la solution de lavage (tampon PBS tween) et **vider** immédiatement comme précédemment. **Répéter** 2 fois ce lavage.

6- **Mettre** dans les puits 4 gouttes ou 160  $\mu\text{L}$  de la solution d'anticorps conjugués (Ac2 sur lequel est fixée l'enzyme peroxydase).

7- **Laisser** incuber 15 minutes.

8- **Vider** les puits et les **laver** 2 fois comme à l'étape 4.

9- **Mettre** dans les puits 4 gouttes de substrat de l'enzyme peroxydase. Une coloration se développe. Ne pas attendre pour comparer les colorations car au bout de quelques minutes les différences s'estompent.