

I2. Le test ELISA



L'EFS (Établissement français du sang) cherche à savoir si le sang d'un donneur peut être utilisé pour une transfusion. Pour éviter une éventuelle contagion, on recherche entre autres si cet individu a été récemment en contact avec le virus de l'hépatite B. Pour cela, on cherche à identifier les anticorps spécifiques que l'organisme aurait pu produire en réponse à une infection, en réalisant un test ELISA.

Montrer si l'EFS peut utiliser le sang du donneur

Pour répondre à la problématique :

- **réaliser** le protocole proposé ;
- en **présenter** les résultats sous la forme d'un tableau représentant les associations moléculaires pour **expliquer** les différents résultats obtenus dans les trois puits, en utilisant les modèles fournis ;
- **exploiter** vos résultats pour conclure.

Ressources complémentaires

Document 1 : principe du test ELISA

Le test ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) est un test immunologique destiné à détecter et/ou doser les anticorps dans un liquide biologique. Dans cette technique de dosage, les puits d'une microplaque sont tapissés avec une molécule spécifique du virus de l'hépatite B. Les solutions à tester sont ensuite déposées dans les puits de la microplaque et si les anticorps recherchés sont présents, ils vont se lier aux molécules spécifiques du virus. Un premier lavage est réalisé pour éliminer les éventuels AC non liés aux molécules spécifiques du virus de HB. Un deuxième anticorps, l'anticorps traceur, capable de se lier à l'anticorps recherché, est alors ajouté dans les puits. Un deuxième lavage permet d'éliminer les anticorps traceurs non fixés. L'anticorps traceur est couplé à une enzyme. On ajoute enfin une molécule incolore qui conduit à la formation d'un produit coloré si l'enzyme est présente.

Document 2 : le protocole à suivre

Dans le protocole, le sang à tester est remplacé par un sérum de lapin et la molécule spécifique du virus de l'hépatite B par la BSA. On ne manipule évidemment pas du sang contenant le virus de l'hépatite B.

Matériel :

- une barrette de 8 puits au fond desquels sont fixés des antigènes BSA (remplaçant les AG du virus),
- trois sérums : 1 (non contaminé pas BSA), 2 (contaminé par BSA), 3 (sérum à tester),
- de l'eau distillée,
- une solution d'AC traceurs = complexe entre un anticorps anti-anticorps de lapin associé à l'enzyme peroxydase,
- une solution de lavage,
- une solution de substrat de l'enzyme peroxydase : H_2O_2 . **L'action de l'enzyme sur ce substrat se traduit par une coloration bleue,**
- une micropipette (avec cônes), des gants, des lunettes de protection, un feutre effaçable.

A. **Déposer** dans trois puits 100 μL de sérum à tester (1, 2 et 3), en repérant les puits (marquage au stylo).

B. **Laisser** incuber 10 min à température ambiante.

C. **Vider** la barrette en la renversant d'un geste énergique au-dessus de l'évier. Avant de la remettre à l'endroit, **tamponner** les puits sur du papier filtre pour éliminer les restes de produits et éviter la contamination.

D. **Laver** les trois puits délicatement : pour cela, **remplir** tous les puits au $\frac{3}{4}$ (ne pas déborder) avec la solution de lavage et **vider** immédiatement puis **tamponner** comme précédemment. **Répéter** ensuite 2 fois le processus (= 3 lavages au total).

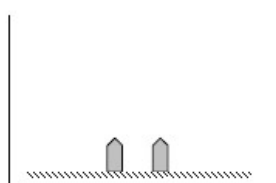
E. **Mettre** dans les trois puits 100 μL de la solution d'anticorps traceur anti-anticorps sur lesquels sont fixés les enzymes.

F. **Laisser** incuber 10 min à température ambiante.

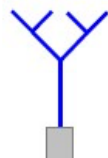
G. **Vider** les puits et les **laver / tamponner** 3 fois comme à l'étape D.

H. **Mettre** dans les trois puits 100 μL de substrat de l'enzyme peroxydase. **Attendre** qu'une coloration se développe (ne pas **attendre** trop longtemps pour **comparer** les colorations car au bout de quelques min les différences s'estompent).

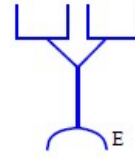
Document 3 : les conventions pour le schéma



Molécules spécifiques du virus de l'hépatite B fixées au fond du puits d'une microplaque.



Anticorps spécifique de la molécule spécifique du virus de l'hépatite B



Anticorps traceur, associé à l'enzyme E



Molécule incolore



Produit coloré