

## Correction TP Elisa 23

### LE TEST ELISA

L'organisme réagit à l'introduction d'un élément étranger par la production d'anticorps. Le test Elisa permet de **détecter** et de **doser** la **présence d'anticorps anti-VIH** dans le sérum (sang sans les cellules sanguines) d'un individu grâce à des **anticorps spécifiques** de ces molécules.

Il s'agit d'une **réaction immuno-enzymatique** qui fait apparaître une coloration si le sérum testé contient des **anticorps anti-VIH** (voir document 2) : on dit alors que **le sujet est séropositif**.

Dans la pratique, on utilise des plaques à concavités au fond desquelles sont fixés des antigènes viraux qui sont :

- soit des protéines virales obtenues par lyse des deux types de virus VIH-1 et VIH-2
- soit des protéines recombinantes ou des peptides de synthèse.



Un sérum de patient contaminé contient des **anticorps spécifiques dirigés contre une protéine du VIH (anticorps anti-VIH = Ac1)**.

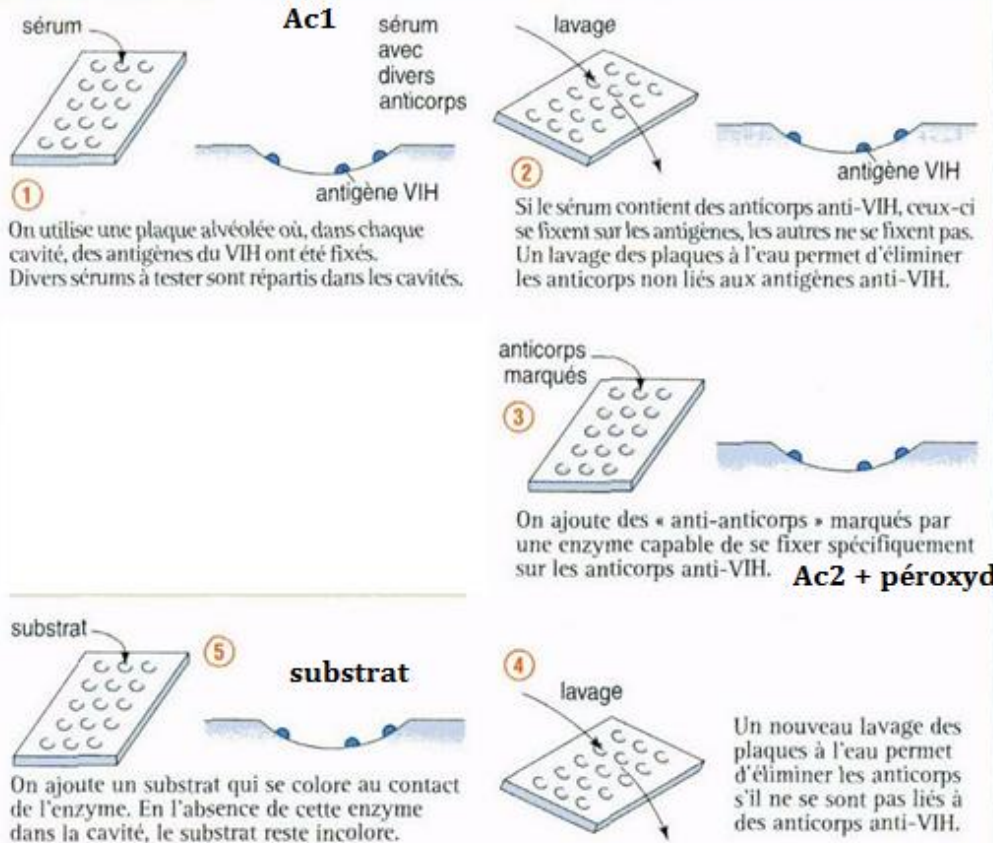
Si ces anticorps sont effectivement présents dans le sérum, ils reconnaissent et se fixent sur l'antigène préalablement fixé au fond du puits.

Pour révéler les Ac1, on utilise des **anti-anticorps = Ac2** spécifiques des anticorps Ac1 ; dans le protocole du test ELISA, ils sont fixés à une enzyme E : la **peroxydase**. Cette enzyme catalyse une **réaction colorée** en présence d'un substrat incolore qui devient coloré en présence de l'enzyme. Ainsi, **plus il y aura d'anticorps Ac2 dans le puits, plus la solution sera colorée**.

Le test ELISA consiste à repérer la présence dans le sang d'anticorps anti-VIH grâce à d'autres anticorps spécifiques des anticorps anti-VIH. Ces anti-anticorps sont « marqués », c'est-à-dire associés à une enzyme susceptible de donner une réaction colorée en présence d'un substrat précis.



Sérum patient 1      Sérum patient 2



**Doc. 2** Des anti-anticorps marqués par une enzyme pour détecter les anticorps anti-VIH.

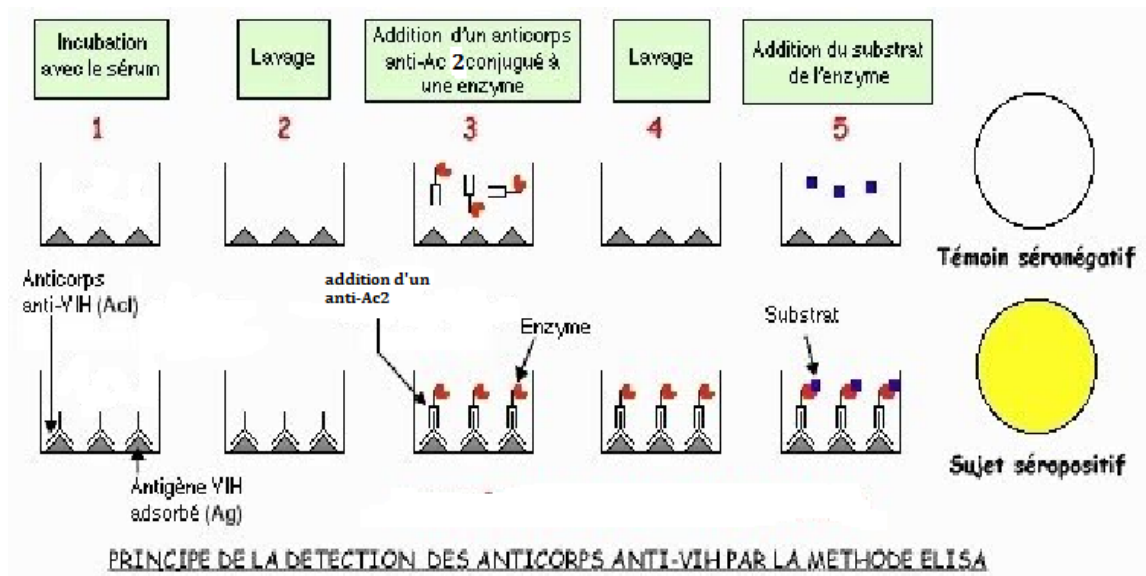
1/Ce que je fais : Je mesure la concentration en Anticorps de cet individu afin de savoir s'il en possède encore suffisamment ou s'il doit refaire une injection de rappel.

Comment je fais : Je fais le test Elisa. Je détermine ainsi la concentration en anticorps présent dans le sérum testé que je compare avec la valeur seuil en dessous de laquelle l'individu ne serait plus immunisé.

Ce que j'attends : Si la couleur obtenue lors du test pour l'individu testé est au dessus de la valeur seuil indiquée par la gamme étalon, alors l'individu est encore immunisé, ce qui témoigne d'une forte concentration en Ac alors l'individu n'aura pas besoin de se faire vacciner par une injection de rappel.

2/La gamme étalon permet de comparer la couleur obtenue pour l'individu à des couleurs de concentrations connues et d'ainsi déterminer la concentration en anticorps de l'individu testé.

3/Les temps d'incubation permettent aux anticorps de se fixer sur les antigènes et ensuite sur les anticorps ; et les temps de lavage permet d'enlever les anticorps non liés.



Remarque : Ce schéma est un exemple pour le VIH , Lors du Tp vous aviez le choix de représenter ou non des anticorps pour l'individu immunisé mais en quantité très faible.

6/**Ce que je vois** : Pour l'individu S1 on observe une coloration correspondant à la concentration C6

Pour l'individu S2 on observe une coloration correspondant à la concentration C2.

**Ce que je sais** : Puisque le seuil au-delà duquel un individu est considéré comme immunisé est celui de la concentration C5, **j'en conclus que** l'individu S1 avec C6 supérieure à C5 est encore immunisé et ne doit pas se faire revacciner.

Par contre l'individu S2 de Concentration C2 inférieure à C5 n'est par conséquent plus immunisé et doit se refaire vacciner.