

Après une vaccination, l'organisme réagit par la production d'anticorps dirigés contre l'antigène injecté. Une mémoire immunitaire se met en place, par la présence de cellules mémoires spécifiques de l'antigène injecté et, lors d'un second contact avec l'antigène, la réaction sera beaucoup plus rapide et plus importante.

Afin de déterminer si Léo et Apolline doivent de nouveau être vaccinés contre le tétanos par une injection de rappel, on réalise le test ELISA qui permet de **détecter** et de **doser** la présence d'anticorps dans leur sérum.

Activités et déroulement des activités	Capacités et critères d'évaluation
<p>1- Avec l'aide du document ressource, proposez une stratégie de résolution permettant de savoir si un individu est encore immunisé contre un antigène donné.</p> <p>2- Mettez en œuvre le protocole de détection et de dosage d'anticorps permettant de déterminer la teneur en anticorps Ac1 dans le sang afin de déterminer si Léo et Apolline doivent être de nouveau vaccinés ou non.</p> <p>Réaliser la question 2 au fur et à mesure et répondre aux questions 3 et 4 pendant les temps d'attente</p> <p>3- Justifiez les temps d'incubation des étapes 3 et 7 du protocole et les étapes de lavage.</p> <p>4- En vous aidant de la planche de schémas ci-dessous, complétez les schémas distribués représentant les différents stades de la manipulation.</p> <p style="text-align: center;">Appeler l'examineur pour vérifier les résultats</p> <p>5- présenter sous la forme de votre choix les résultats obtenus.</p> <p>6- Exploitez les résultats pour déterminer si Léo et Apolline doivent de nouveau être vaccinés.</p>	<p style="text-align: center;">Résoudre un problème</p> <p>Réaliser une manipulation d'après un protocole respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation et rangement de la paillasse</p> <p style="text-align: center;">Adopter une démarche explicative</p> <p style="text-align: center;">Traduire des informations par un schéma</p> <p style="text-align: center;">Adopter une démarche explicative</p>

DOCUMENT RESSOURCE : 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** dans le sérum (sang sans les cellules sanguines) d'un individu grâce à des **anticorps spécifiques** de ces molécules.

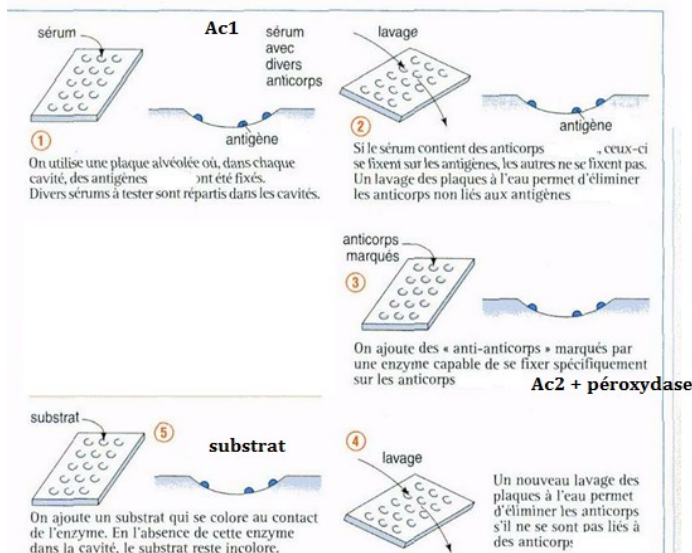
Il s'agit d'une **réaction immuno-enzymatique** qui fait apparaître une coloration si le sérum testé contient des **anticorps**: on dit alors que **le sujet est séropositif**.

Un sérum de patient contient ou non des **anticorps spécifiques d'un antigène**.

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**.

Il existe une **valeur seuil fixée (et donc une couleur spécifique)** à partir de laquelle on admet qu'il y a assez d'anticorps dans le sérum de l'individu et donc qu'il est immunisé efficacement.



Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Principe :

La technique ELISA (**Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay**) est une technique immuni-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène (Ag) – anticorps (Ac1 anti-Ag) grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat (réactif d'Ellman) d'une enzyme (E) préalablement fixée à un deuxième anticorps anti-Ag (Ac2).

Matériel disponible :

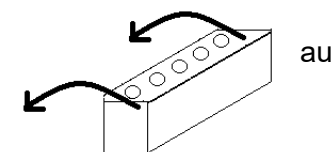
- sérums de Léo (S1) et Apolline (S2)
- 1 solutions d'anticorps antitétaniques de concentrations seuils*
- une solution d'eau comme témoin négatif
- une barrette de 4 puits au fond desquels sont fixés des antigènes *caractéristiques du tétanos*.
- solution d'un deuxième anticorps Ac2 "anti-Ac1" de "détection" de la présence d'anticorps Ac1 fixés : cet anticorps est, associé à une enzyme peroxydase
- solution de substrat (H_2O_2) de l'enzyme peroxydase qui détecte cette dernière par l'apparition d'une coloration
- solution de lavage (PBS-tween) et une pipette de prélèvement
- gants, lunettes, papier filtre, cuvette ou évier à proximité, micropipettes et embouts jetables (ou équivalent), un feutre permanent, un chronomètre
- récipient pour mettre les embouts usagé

Le **seuil** en dessous duquel l'individu est considéré comme non immunisé est ici une concentration de **1,06 μg d'Ac.mL⁻¹**.

- 1- **Numéroter** les puits de 1 à 4
- 2- **Déposer** 2 gouttes ou 80 μL :
 - de S1 dans le puits 1
 - de seuil dans le puit 2
 - du S2 dans le puit 3
 - d'eau dans le puit 4

Attention, une seule solution par puits. Ne pas déborder sur les puits voisins. Pour faire ce dépôt, vous changerez de pipette pour faire chaque puits. Les niveaux des liquides doivent être, au final, équivalents.

- 3- **Laisser incuber** 10 min à température ambiante,
- 4- **Vider** la barrette en la renversant horizontalement (voir schéma ci-contre) et d'un geste rapide et précis dessus de l'évier (ou de la cuvette) de manière à éviter le mélange des produits. Avant de la remettre à l'endroit, **tamponner** la surface des puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.
- 5- **Remplir** tous les puits avec la solution de lavage, sans débordement, et vider immédiatement comme précédemment. **Répéter** 2 fois ce lavage.
- 6- **Mettre** dans les puits 2 gouttes ou 80 μL de la solution d'anticorps de détection Ac2 sur lequel est déjà fixée l'enzyme peroxydase. Les niveaux doivent être, au final, équivalents.



Appelez le professeur pour vérification des niveaux

- 7- **Laisser** agir 10 minutes
- 8- **Vider** les puits et les **laver** 2 fois comme au point 5.
- 9- **Mettre** dans les puits 2 gouttes de substrat de l'enzyme peroxydase. Les niveaux doivent être équivalents au final.

Une coloration se développe. **Ne pas attendre pour comparer les colorations** car au bout de quelques minutes les différences s'estompent.

Appeler l'examineur pour vérifier les résultats.

