

Le dosage d'anticorps: exemple du tétanos

Mise en situation et recherche à mener

Le tétanos est une maladie souvent mortelle, due à une toxine produite par une bactérie vivant dans le sol et capable de pénétrer dans l'organisme au niveau d'une plaie.

Les anticorps produits lors de la vaccination, spécifiques à l'antigène, protègent l'organisme en provoquant la formation de complexes immuns qui seront éliminés. On s'intéresse à un homme qui se présente aux urgences car il vient de se blesser à la main en jardinant. La plaie est profonde et souillée de terre. Le médecin qui le prend en charge envisage un risque de tétanos. Le patient ayant été vacciné dans son enfance mais n'ayant pas eu de rappel depuis plus de 15 ans, le médecin souhaite savoir si son taux d'anticorps est au dessus du seuil de protection.

Ressources

- Document 1: principe du test Elisa
- Document 2: gamme d'étalonnage

- Barrette de 8 puits pour test Elisa au fond desquels sont fixés des toxines tétaniques (antigènes)
- 7 solutions de concentrations connues croissantes d'anticorps Ac1 anti-tétanos
- Solution de sérum du patient
- Solution d'anticorps Ac2 anti-Ac1, associés à une enzyme peroxydase
- Solution de substrat (H_2O_2) de l'enzyme peroxydase qui détecte cette dernière par l'apparition d'une coloration bleue
- Matériel de laboratoire

Etape 1: concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale 10 minutes)

Proposer une stratégie d'investigation permettant de vérifier si le patient est encore protégé contre le tétanos.

Document 1: principe du test Elisa

Un individu ayant été en contact avec un antigène possède dans son sérum des anticorps dirigés contre cet antigène.

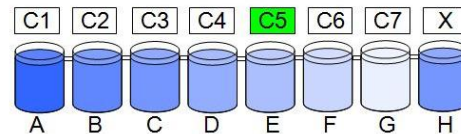
La technique Elisa (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique dans laquelle le dosage de l'anticorps est couplé à une réaction de coloration catalysée par une enzyme.

L'antigène purifié est fixé au fond des puits de la barrette. Si un anticorps spécifique à cet antigène est introduit, il se fixe de façon irréversible à l'antigène. On introduit alors un anticorps secondaire anti-anticorps, couplé à une enzyme. Cette dernière catalyse une réaction transformant un substrat en produit coloré. L'intensité de la coloration dépend alors de la concentration en anticorps anti-antigènes.

Document 2: gamme d'étalonnage du test Elisa

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

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



exemple de résultats barrette Sordalab

Etape 2: Mettre en oeuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

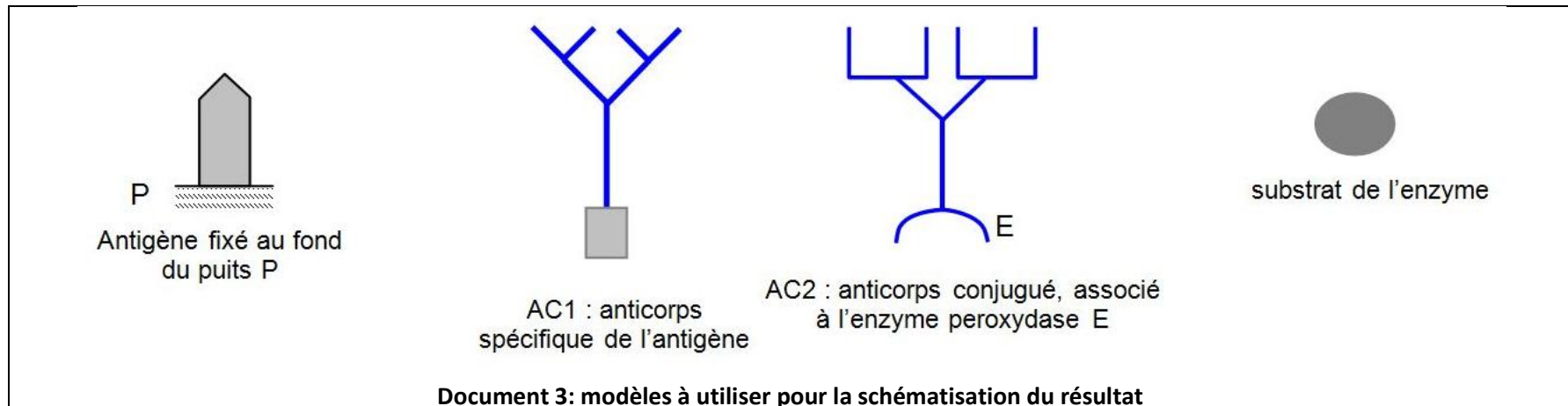
- Mettre en oeuvre le protocole fourni au verso.

Etape 3: Présenter les résultats pour les communiquer

Sous la forme de votre choix, **traiter** les **données obtenues** pour les **communiquer**.

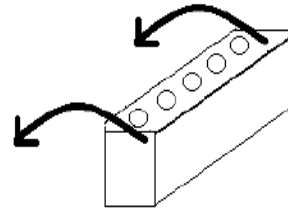
Etape 4: Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

- **Exploiter** les résultats obtenus pour préciser si le patient est encore protégé contre le tétanos.
- Réaliser un schéma d'interprétation des phénomènes se produisant en cas de test positif, en utilisant les modèles proposés dans le document 3



Protocole de réalisation du test Elisa

- Préparer la gamme d'étalonnage du test en déposant dans chaque puits, numérotés de C1 à C7, 80 µl de solution d'anticorps Ac1 anti-tétanos
- Déposer dans le puits C8 80 µl de sérum du patient
- **Attendre 10 minutes**
- Vider le contenu de la barrette en la retournant **d'un seul mouvement** au-dessus de l'évier, conformément au schéma, de manière à éviter le mélange des produits



- Tamponner rapidement la barrette sur du papier filtre propre pour éliminer le liquide restant et éviter toute contamination entre puits
- Remplir les puits aux trois-quarts avec la solution de lavage PBS-Tween
- Vider la solution de lavage comme précédemment et tamponner rapidement la barrette sur du papier filtre propre pour éliminer le liquide restant. Attention à ne pas tamponner deux fois la barrette au même endroit !
- Renouveler les étapes de lavage deux fois.
- Déposer 80 µl d'anticorps Ac2 anti-Ac1 dans chaque puits
- **Attendre 10 minutes**
- Vider les puits et les rincer deux fois au PBS-Tween en respectant le protocole précédent.
- Déposer 80 µl du substrat TMB de l'enzyme dans chaque puits.
- Lire les résultats entre 30 et 60 secondes, car les couleurs disparaissent ensuite.