

## CORRIGÉ -TYPE DU TD N° 2 D'IMMUNOLOGIE

### Rép. Exo. 1

#### 1- Définition d'un groupe sanguin :

Un groupe sanguin est une classification de sang reposant sur la présence ou l'absence de substances antigéniques héritées à la surface des globules rouges (hématies). Ces antigènes peuvent être des protéines, des glucides, des glycoprotéines ou des glycolipides, selon le système de groupe sanguin.

À ce jour, plus de trente systèmes et près de trois cents quarante antigènes de groupes sont identifiés chez l'homme. Les systèmes de groupes sanguins les plus importants en pratique sont : le système ABO, le système Rhésus et le système Kell.

#### 2- Définition de l'hémagglutination :

❖ Les globules rouges expriment à leur surface des structures antigéniques spécifiques aux groupes sanguins. La fixation d'anticorps spécifiques à ces antigènes aboutit à la formation d'un agrégat d'hématies appelé agglutinat.

❖ Ce type de réaction appelé hémagglutination est principalement utilisé en laboratoire afin d'établir des sérodiagnostics et de déterminer les groupes sanguins. Cette méthode est très utilisée étant donné sa rapidité, sa bonne sensibilité et son faible coût.

#### 3- Pour déterminer le groupage sanguin ABO, deux épreuves peuvent être utilisées : l'épreuve globulaire (Beth-Vincent) et l'épreuve plasmatique (Simonin-Michon).

- L'épreuve globulaire (Beth-Vincent) permet de déterminer le phénotype antigénique d'un individu, c'est-à-dire les antigènes portés par ses globules rouges.
- L'épreuve plasmatique (Simonin-Michon) permet de réaliser l'étude complémentaire, c'est-à-dire la détermination des anticorps naturels circulants présents dans le sérum d'un individu.

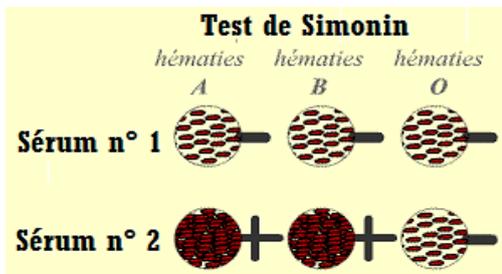
#### 4- Réalisation des deux tests :

❖ **Épreuve de Beth-Vincent.** Le sang de l'individu, contenant ses globules rouges, est mis en présence de sérums tests, possédant chacun un type d'anticorps précis, dirigé contre un antigène du système ABO. Il s'agit donc d'un test d'agglutination des globules rouges avec des sérums tests.

❖ **Épreuve de Simonin-Michon.** Le sérum de l'individu, contenant ses anticorps circulants, est mis en présence de globules rouges tests, appartenant chacun à un groupe antigénique précis du système ABO. Il s'agit donc d'un test d'agglutination du sérum avec des globules rouges tests.

#### 5- Déduction des groupes sanguins des échantillons traités :

Test de Beth-Vincent				
	serum anti-B	serum anti-A	serum anti-AB	
Sang n° 1				➔ GROUPE A : L'addition des sérums anti-A et anti-B ont induit une agglutination des globules rouges, ces derniers expriment donc des Ag A
Sang n° 2				➔ GROUPE B : L'addition des sérums anti-B et anti-AB ont induit une agglutination des globules rouges, ces derniers expriment donc des Ag B



→ **GROUPE AB** : les hématies ne se sont pas agglutinées au contact du sérum, ce dernier ne contient aucun Ac.

→ **GROUPE O** : les hématies A et B ont formé des agglutinats au contact du sérum, ce dernier contient donc des Ac anti-A et des Ac anti-B.

**Rép. Exo. 2**

<b>Q1</b>	<b>Q2</b>	<b>Q3</b>
B, C, D	A, B, C	D

<b>Q4</b>	<b>Q5</b>	<b>Q6</b>
C	A, D	A, B, D

**Rép. Exo. 3**

A- La technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (en anglais Enzyme-Linked Immuno Assay) ou ELISA, est principalement utilisée en immunologie afin de détecter et/ou doser la présence de protéines, d'anticorps ou d'antigènes, dans un échantillon. Elle est notamment utilisée pour le dépistage du HIV, et permet de déterminer la concentration sérique d'anticorps dirigés contre le virus. Le test utilisé dans ce cas est dit : ELISA indirect.

**Test ELISA indirect :**

Le principe de l'ELISA indirect consiste à détecter la présence d'un anticorps spécifique dans un échantillon. Pour cela nous avons besoin :

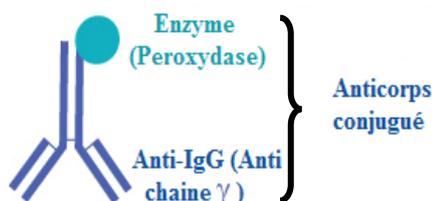
- D'un antigène connu spécifique à l'anticorps recherché (protéines gp41 ou p24 pour VIH-1 et gp36 pour VIH-2)



- D'un échantillon à analyser (Sérum susceptible de contenir des Acs anti-VIH)



- D'un anticorps secondaire anti IgG couplé à une peroxydase (Horseradish peroxydase). Cet anticorps va reconnaître spécifiquement les anticorps IgG



- Du substrat spécifique à l'enzyme, ici du TMB.

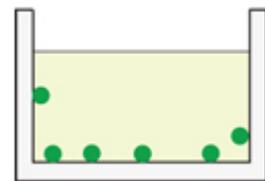


Les réactifs utilisés sont délivrés sous forme de Kit :

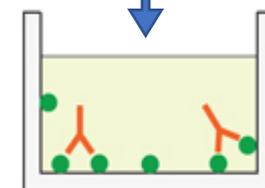


## B- Réalisation du test : Il comporte quatre étapes principales :

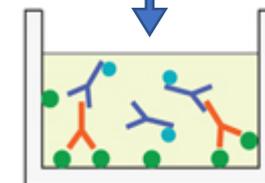
• **Fixation de l'antigène** : L'antigène connu, spécifique à l'anticorps recherché, est incubé sur une plaque de microtitration. L'antigène va se fixer de manière électrostatique au fond des puits. Ils sont ensuite lavés pour enlever les antigènes non fixés.



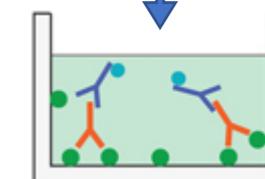
Lavage



Lavage



Lavage

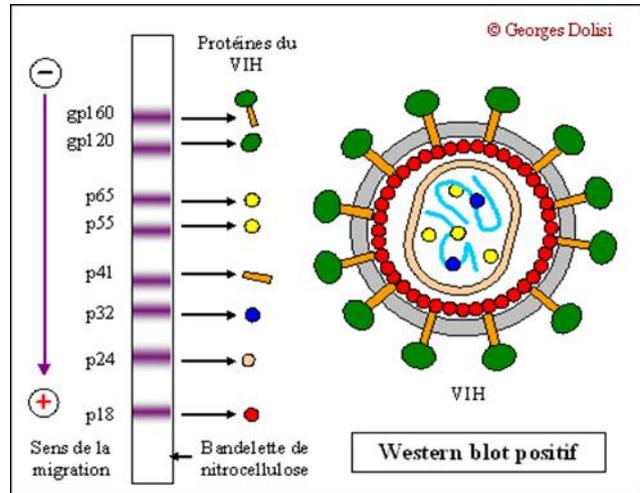


• **Fixation de l'anticorps à doser** : On incube notre échantillon à doser (sérum contenant l'anticorps), ainsi que nos standards (solution contenant des concentrations connues d'anticorps). Les anticorps spécifiques vont se fixer aux antigènes. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps non fixés.

• **Fixation de l'anticorps de détection** : On incube ensuite un anticorps secondaire couplé à une peroxydase. C'est un anti IgG qui va donc reconnaître l'anticorps primaire. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps secondaires non fixés.

• **Révélation** : On incube un substrat spécifique à l'enzyme qui, si la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché), va être transformé et induire une coloration bleue. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés.

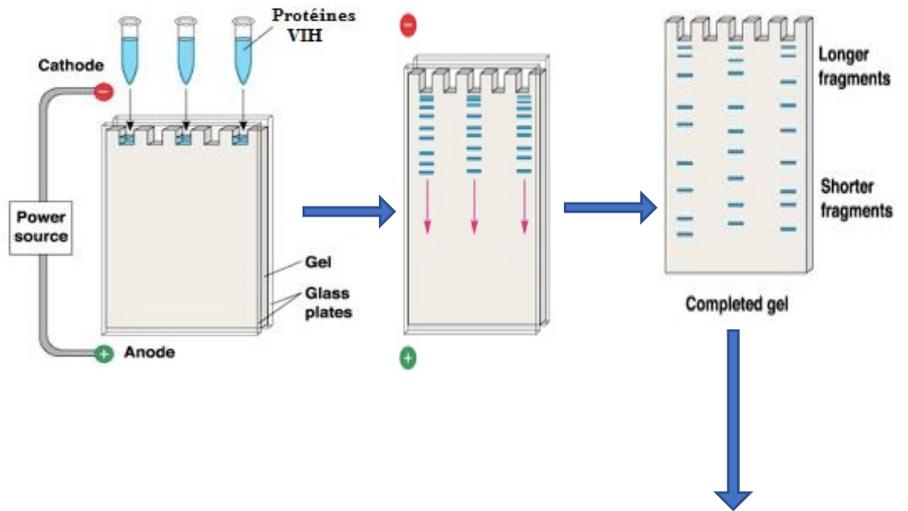
C- Dans le cas où le test ELISA est positif, la séropositivité au VIH reste incertaine. Pour la confirmer, un autre test est réalisé en utilisant une autre technique plus performante permettant de détecter dans le sérum du patient les différents anticorps dirigés contre les protéines du VIH : la technique combine le pouvoir de séparation de l'électrophorèse et la grande sensibilité de l'immuno-détection. Cette technique est appelée « **Immuno-empreinte ou Western-blot** ».



Les principales étapes de réalisation du test sont :

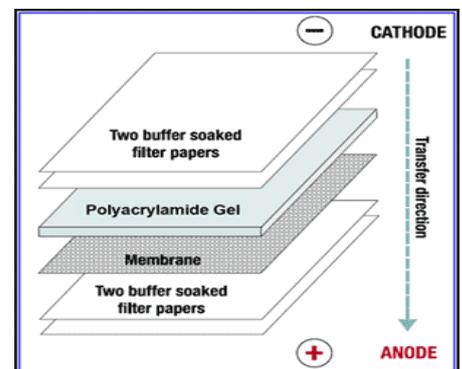
**Première étape :**

Séparation des protéines du VIH par électrophorèse SDS-PAGE. Séparation des protéines selon le poids moléculaire



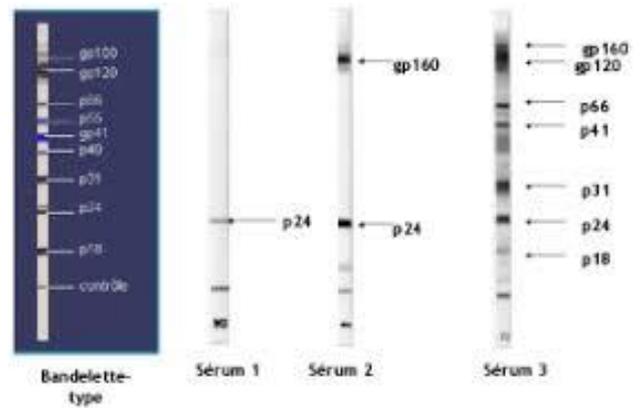
**Deuxième étape :**

Transfert des protéines du gel vers une membrane de nitrocellulose ou de PolyVinylidène Fluoride (PVDF) mise en contact avec le gel selon leur même disposition sur le gel (application d'un courant électrique).  
Ce transfert rend les protéines accessibles à la détection par les anticorps.  
Ces membranes sont découpées ensuite en bandelettes pour être utilisées.



**Troisième étape :**

Application des sérums à tester sur les bandes protéiniques. S'il contient des anticorps spécifiques aux protéines du VIH, ils se fixent sur ces protéines. Les complexes immuns formés sont révélés par une anti-globuline marquée par une enzyme après addition de son substrat.



Un test est considéré comme positif s'il révèle la présence dans le sérum de :

- Soit 3 anticorps : 2 dirigés contre les protéines de l'enveloppe gp41, gp120 ou gp160 et 1 contre une protéine de core (p55, p40, p24 ou p17) ou une protéine enzymatique (p66, p51 ou p31).
- Soit 2 anticorps : l'un dirigé contre la protéine membranaire gp 160 et l'autre contre la protéine de core p24