

La République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieure et recherche scientifique
Centre Universitaire de Mila.
Faculté des Sciences de la Technologie
Département des sciences de la nature et de la vie

Correction TD 06 Immunologie

Exo 1

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.

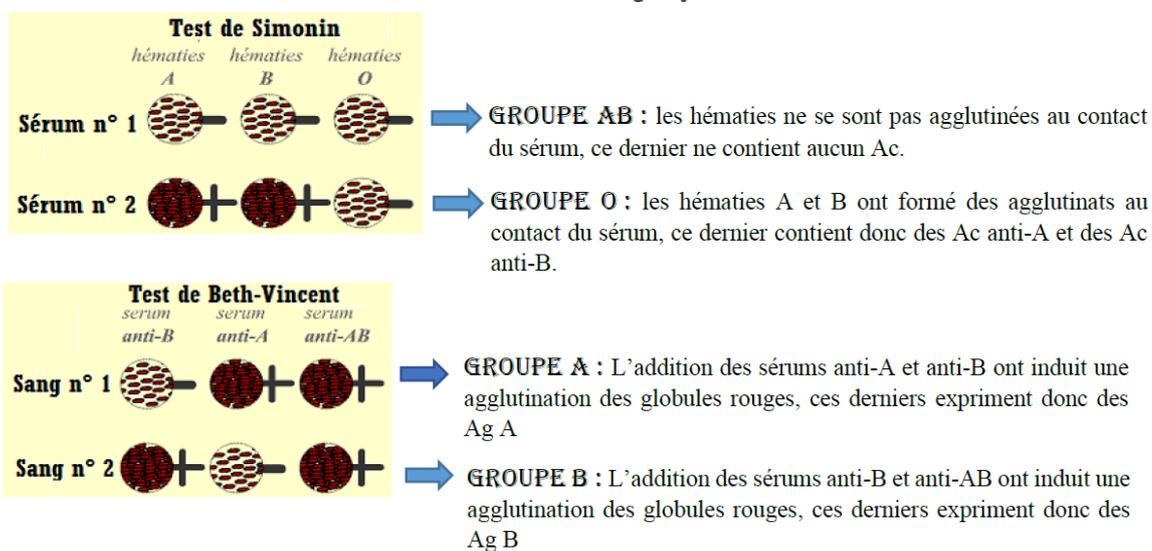
➤ L'épreuve plasmatique (Simonin-Michon) permet de réaliser l'étude complémentaire, c'est-à-dire la détermination des anticorps naturels circulants présents dans le sérum d'un individu.

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.

Déduction des groupes sanguins des échantillons traités :



EXO 2 :

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 VIH, 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)

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.

- **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.

- 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

- 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
-