

TP 4 : Les tests immunologiques utilisés dans la détection du SARS-COV2 La méthode ELISA et le test TROD

Situation initiale : Les anticorps sont spécifiques à un antigène donné.

Questions : Comment utiliser cette propriété pour élaborer des tests de dépistage de la COVID19 ?

I – La méthode ELISA

1 – Le principe

Le test ELISA est un test immunologique classiquement utilisé pour la détection et le dosage protéique. C'est également une des deux techniques utilisées lors du test de dépistage du SARS-COV2 (dans les tests sérologiques).



Doc1 : Les barrettes du test ELISA, contiennent généralement 8 cupules

Au cours de ce TP, nous allons comprendre comment fonctionne ce test.

- La première étape est nommée « coating ». Durant cette étape l'antigène (fragment du virus : par exemple partie de la protéine S du SARS-COV2) est fixé au fond des cupules.

- La deuxième étape correspond à la fixation de l'anticorps à mettre en évidence, on incube dans les cupules 2 gouttes (80µL) de la solution à tester durant 15 minutes. Puis les cupules sont lavées avec un tampon pour enlever les quelques anticorps non fixés.

- Lors de la troisième étape, l'anticorps de détection (ou conjugué) se fixe à l'anticorps anti- SARS-COV2. Il est couplé à une enzyme : la peroxydase. Deux gouttes (80µL) de solution d'anticorps de détection sont incubées dans les cupules durant 15 minutes. Puis les cupules sont lavées avec un tampon pour enlever les quelques anticorps non fixés.

- La dernière étape est la détection des anticorps fixés. On incube dans les cupules une solution révélatrice contenant un substrat de la peroxydase : le TMB (Tetra-Méthyl-Benzidine) qui se colore en bleu en présence de l'enzyme.

2 – Protocole

Note : Nous prenons ici, 2 barrettes de 4 cupules (seules 3 cupules de chaque barrette seront utilisées)

- Avec une pipette, nous déposons dans les :

- Puits 1 : deux gouttes de solution d'anticorps anti- SARS-COV2
- Puits 2 : deux gouttes d'eau distillée
- Puits 3 : deux gouttes du sérum de l'individu X ou Y à tester

- Après 15 minutes d'incubation, nous lavons chaque puits avec un tampon PBS

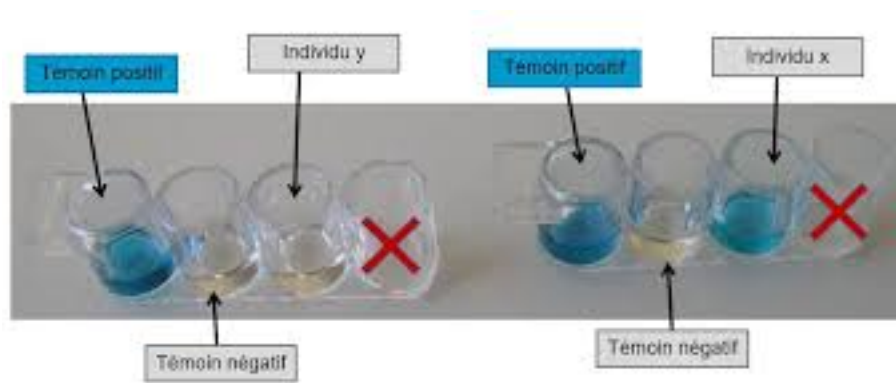
- Puis nous ajoutons dans chaque puits 2 gouttes de solution d'anticorps de détection.

- Après 15 minutes d'incubation, nous lavons chaque puits avec un tampon PBS.

- Puis nous déposons dans chaque puits deux gouttes de TMB

Note : toutes ces étapes se font automatiquement, grâce à une machine, en laboratoire.

3 – Résultats



4 – Interprétation

Avec le matériel que vous trouvez chez vous, effectuer une maquette qui représente les éléments présents dans la cupule de l'individu X ainsi que leur agencement les uns par rapports aux autres. Vous devez être capable d'expliquer et de comprendre ce que vous avez construit !

Justifiez pourquoi vous pouvez dire que l'individu Y n'a pas contracter la COVID19.

III – Le test TROD

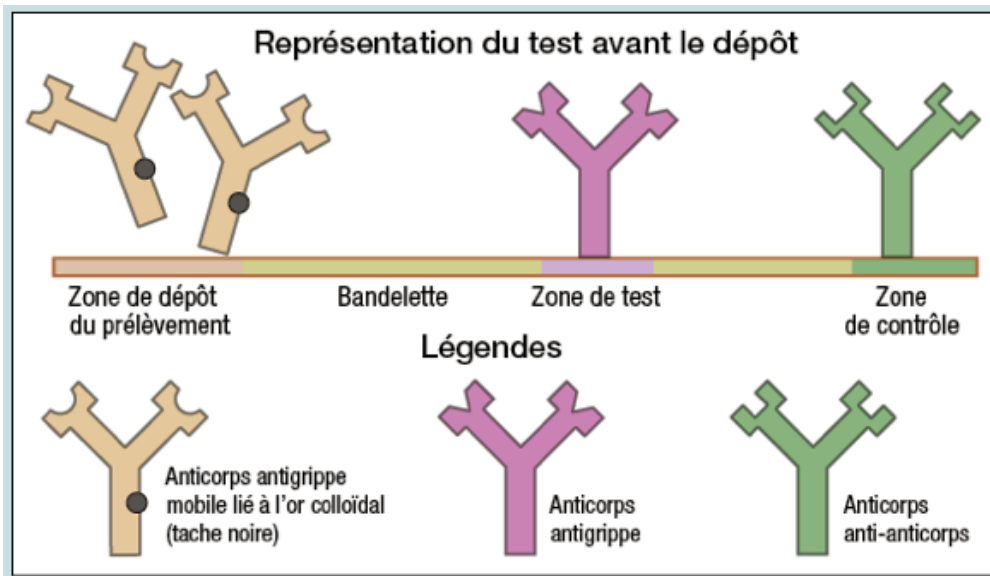
Note : Nous prendrons ici l'exemple du test TROD du dépistage de la grippe (sur les documents proposés), car à l'heure de l'élaboration de ce TP (le 15 avril 2020), ce test n'est pas encore commercialisé pour dépister la COVID19.

1- Principe

Ce test permet de détecter l'antigène viral de la COVID19 dans des prélèvements effectués au niveau de la gorges ou du nez. L'échantillon prélevé est déposé à l'une des extrémités d'une bandelette.

Celle-ci présente :

- Au niveau de la zone de dépôt des anticorps antigrippe mobiles, liés à de l'or colloïdal ;
- Au niveau de la zone test, des anticorps anti-SARS-COV2 fixés sur la bandelette ;
- Au niveau de la zone de contrôle, des anticorps anti-anticorps fixés.

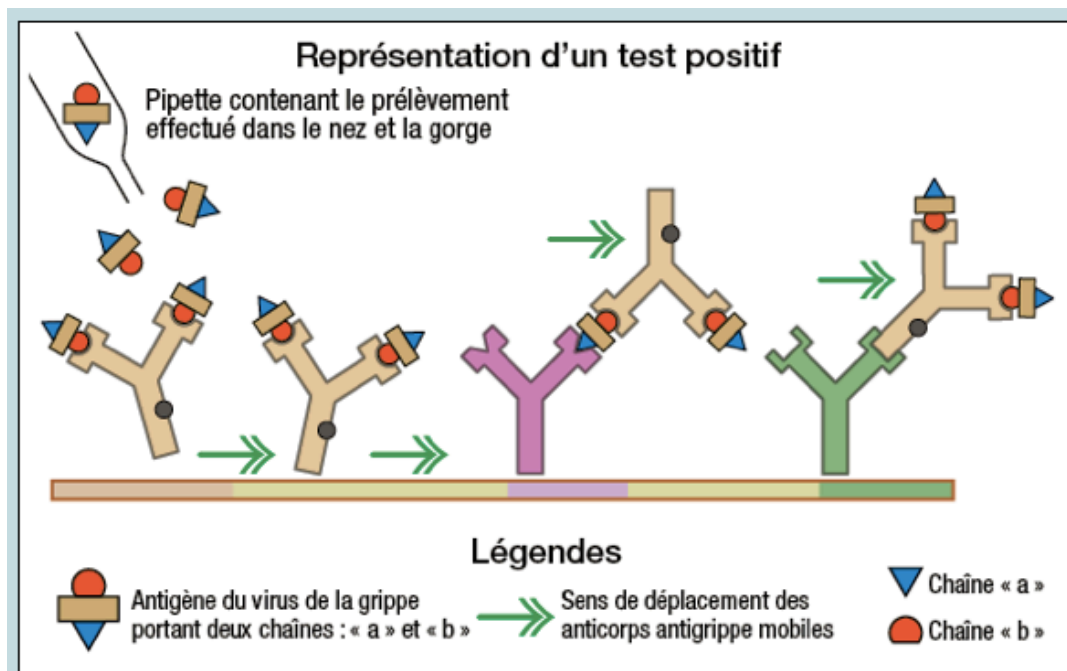


Document 1 : bandelette avant dépôt et légendes

L'échantillon prélevé est déposé au niveau de la zone de dépôt. L'ajout d'une solution tampon permet ensuite la migration, le long de la bandelette, des anticorps anti-SARS-COV2 mobiles liés à l'or colloïdal, éventuellement associés à l'antigène viral.

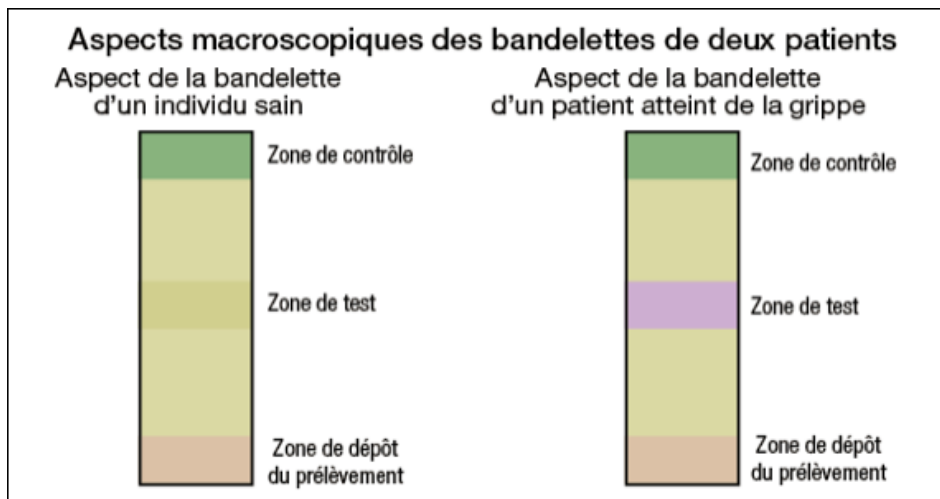
Quel que soit le résultat du test, de nombreux anticorps anti-SARS-COV2 mobiles atteignent la zone de contrôle.

La fixation des anticorps liés à l'or colloïdal est rendue visible par l'apparition d'une ligne colorée sur la bandelette.



Document 2 : Schématisation d'un test positif

2 - Résultats



Document 3 : aspect des bandelettes chez les deux individus testés

3 – Interprétation

- Expliquez l'apparition des lignes colorées au niveau de la zone de test (pour l'individu atteint) et au niveau de la zone de contrôle.
- Quelle est la différence avec le test ELISA étudié précédemment ?