

EXERCICE 1

Une blessure infectée

Principe

Le test Elisa

Le test Elisa est un test immunologique destiné à détecter et/ou doser un antigène/ un anticorps dans un échantillon. Il se déroule en trois étapes principales.

► **Protocole :**

1. Les puits sont préparés et tapissés d'un antigène.
2. Le sérum de l'individu contenant ses anticorps est mis en contact avec les antigènes, puis les puits sont lavés afin d'éliminer ce qui n'a pas été fixé.
3. Un anticorps artificiel capable de se fixer sur un anticorps fixé est ensuite introduit. Cet anticorps artificiel est lié à une enzyme capable de modifier un substrat changeant alors de couleur. Le substrat est introduit, après lavage des puits qui aura éliminé les anticorps qui ne se seraient pas fixés sur le fond du puit.

3. Ensemencement des boîtes de Pétri avec les souches bactériennes (en condition stériles à proximité d'un bec bunsen) :
 - déposer 1mL de suspension bactérienne sur la gélose.
 - tourner la boîte de Pétri pour répartir le liquide à la surface de la gélose.
4. Dépôt des pastilles d'antibiotiques (en condition stériles à proximité d'un bec bunsen) :
 - déposer à la pince stérile un disque de chaque antibiotique de manière espacée.
5. Mise en culture :
 - mettre à pousser 48 h à l'étuve entre 25 et 35 °C. Conserver au froid ensuite pour lecture des résultats la semaine suivante.
6. Lecture des résultats (une semaine après) :
 - mesurer le diamètre du cercle situé autour du disque avec antibiotique correspondant à la zone d'inhibition de croissance des bactéries.
 - plus le diamètre est petit et plus la souche bactérienne est résistante à l'antibiotique.
 - plus le diamètre est grand et plus la souche est sensible.

► **Consignes de sécurité :**

Manipuler en conditions stériles et bien se laver les mains avant et après manipulation. Détruire les colonies bactériennes et décontaminer les ustensiles utilisés après usage (javel, eau oxygénée, UV, autoclave...).

Alternative : il est aussi possible d'utiliser des produits de substitution.