

Mise en situation et recherche à mener

La réponse immunitaire adaptative, met en jeu les **lymphocytes**.

l'intrusion d'un antigène dans le milieu intérieur, déclenche la production **d'anticorps solubles** –ou immunoglobulines - **spécifiques de cet antigène**.

On cherche à identifier, parmi 4 personnes, un individu ayant été en contact avec la méningite et en particulier la Méningite à **méningocoques, une bactérie pathogène**.

L'individu ayant été en contact avec le méningocoque a produit des anticorps susceptibles de réagir face aux antigènes de cette bactérie. La spécificité d'un anticorps étant liée à sa capacité de liaison avec l'antigène, le test d'immunodiffusion, ou test d'Ouchterlony, permet la mise en évidence de cette liaison antigène-anticorps et donc de repérer l'individu **séropositif au méningocoque**.

On mettra en évidence une réaction contre l'élément pathogène, dans le cas d'une réaction immunitaire à médiation humorale (réaction antigène anticorps), et on déterminera les modalités de l'élimination de cet antigène.

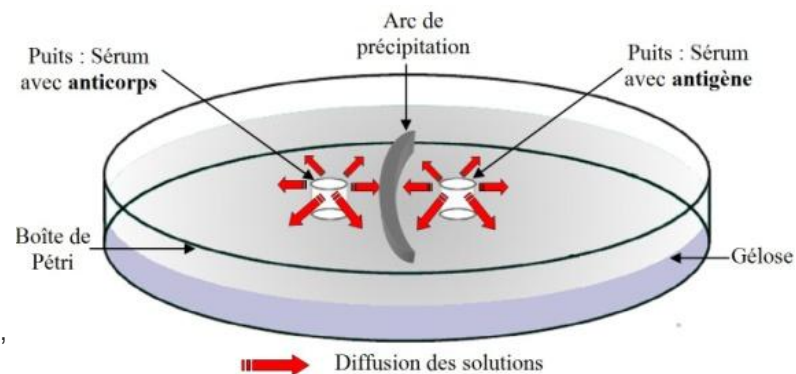
Ressources

Doc.1 -Le test d'Ouchterlony

C'est une méthode d'immunodiffusion sur gel (diffusion dans les pores d'un gel) qui permet de repérer un individu séropositif à antigène (Ag): un pathogène (au méningocoque dans l'exemple choisi) ou une toxine.

Les solutions (solution contenant l'antigène et les sérums testés) déposées dans les puits creusés dans le gel, diffusent de façon homogène dans toutes les directions autour du puits. Deux auréoles de diffusion peuvent donc entrer en contact lorsqu'elles ont suffisamment progressé. Quand il y a réaction entre deux solutions, il se forme un arc de précipitation visible à l'œil nu. Celui-ci est dû à l'interaction entre de nombreux anticorps et les antigènes **spécifiques**. La spécificité d'un anticorps étant liée à sa capacité de liaison avec l'antigène, le test d'immunodiffusion, permet la mise en évidence de cette liaison antigène-anticorps (Ac/Ag).

Lorsque la zone de contact reste **invisible**, il n'y a pas de réaction entre les deux solutions (les anticorps éventuellement présents dans le sérum ne sont pas spécifiques de l'antigène).



Documents 2à 4-fiches document

Matériel

- Une plaque chauffante et une balance électronique, un bécher,
- une éprouvette graduée -
- Une coupelle, une pince en bois, un flacon d'Agar, eau distillée, une spatule, du papier absorbant, lunettes
- Une boîte de Pétri, un tube emporte-pièce et un marqueur
- Une micropipette avec embouts pour chaque produit.
- Le sérum de 4 personnes à tester
- L'antigène (bactérie de la méningite). **Attention, on utilise des produits de substitution**

Etape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation-problème

1-A l'aide des ressources, **proposer une démarche** permettant de répondre à la problématique (avec résultats attendus)

Etapes 2, 3, 4 : mettre en œuvre le protocole proposé, présenter les résultats pour les communiquer, répondre à la problématique

2-Mettre en œuvre le protocole proposé pour mettre en évidence une réaction immunitaire contre un agent pathogène : le méningocoque.

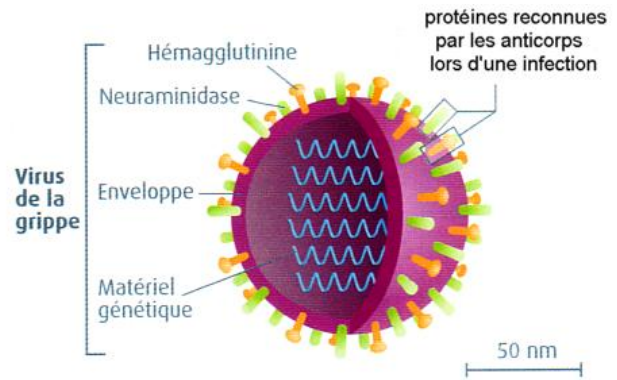
3-Traiter les données obtenues pour les communiquer : Interpréter les résultats du test (positif et négatif) **au niveau moléculaire**, à l'aide de **deux schémas soigneusement titrés et légendés**.

4- A l'aide des résultats et des différentes ressources, **formuler une réponse précise** à la problématique (texte, schémas, dessins, ...)

Doc.2 : Les cibles des anticorps produits lors d'une infection (virus, bactéries etc.) (Belin 2012).

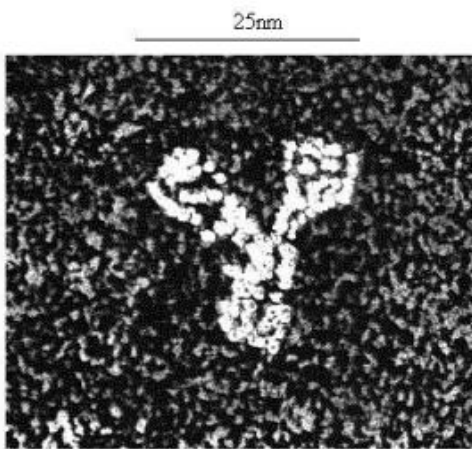
Une grande partie des anticorps produits lors d'une infection par un virus (bactérie etc.) se fixe sur les protéines de l'enveloppe virale (bactérienne). Dans le cas du virus de la grippe ci-contre, l'hémagglutinine est une protéine reconnue comme étrangère.

Les molécules de l'élément pathogène, qui déclenchent une réponse immunitaire adaptative sont qualifiées d'antigène (on parle plus précisément de déterminant antigénique ou d'épitope pour désigner la partie de la molécule reconnue)



Doc.3: La formation des complexes immuns (clichés au MET). (Belin 2012).

Fig 1 : Cliché en MET montrant une immunoglobuline et ses domaines globulaires



une molécule d'anticorps :
 L'immunoglobuline a la forme d'un Y et c'est par les extrémités des « bras » du Y qu'elle se fixe sur l'antigène (Documents d'immunologie APBG).

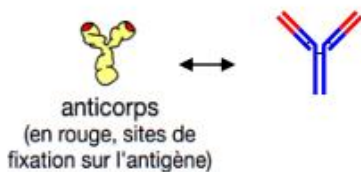
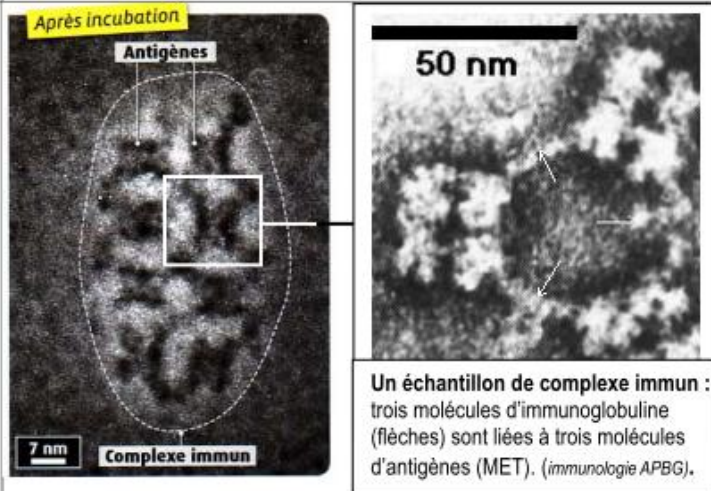
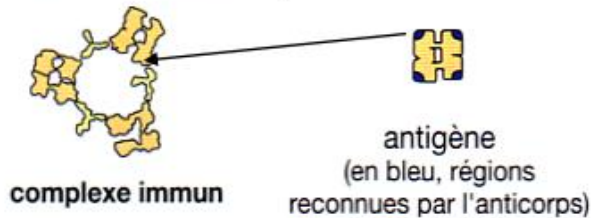


Fig2 : Cliché en MET montrant des molécules d'immunoglobuline liées à des molécules d'antigène.



Un échantillon de complexe immunitaire : trois molécules d'immunoglobuline (flèches) sont liées à trois molécules d'antigènes (MET). (immunologie APBG).



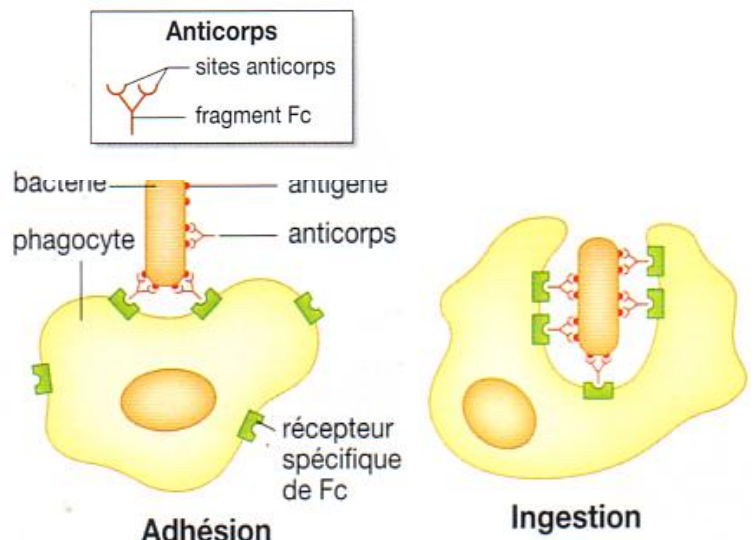
On observe que l'anticorps agglutine les molécules d'antigène. La structure ainsi formée est qualifiée de complexe immunitaire.

Document 4-L'élimination du pathogène

Les anticorps ont pour fonction essentielle de **neutraliser** les antigènes dont ils sont spécifiques, c'est-à-dire de les rendre biologiquement inactifs. L'élimination définitive des antigènes fait intervenir d'autres mécanismes comme la phagocytose, un mécanisme de l'immunité innée. Dans le cas de cellules étrangères comme les bactéries, les anticorps se fixent sur la paroi bactérienne des antigènes, grâce à leur sites anticorps, situés aux extrémités des bras du Y : ils forment ainsi un complexe immunitaire.

De ce fait la région constante du Y (base du Y) est exposée à la périphérie du complexe immunitaire.

Or la membrane des phagocytes possède des récepteurs capables de fixer cette région constante. L'adhérence entre le phagocyte et le pathogène est donc facilitée (schéma). La phagocytose assure donc l'élimination des complexes immunitaires.



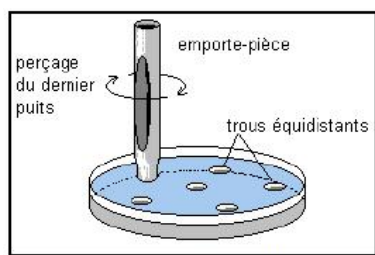
PROTOCOLE

Préparation du test d'Ouchterlony

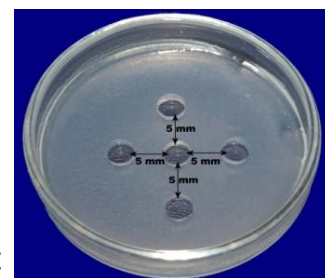
1-préparer la gélose et couler dans les boîtes:

- ▶ **Peser** dans la coupelle **0,4g d'agar** prélevés à l'aide de la spatule.
- ▶ **Verser 14 ml** d'eau distillée puis l'agar dans le bécher et **dissoudre** soigneusement l'agar avec la spatule (environ 2 mn)
- ▶ A l'aide du matériel (plaques chauffantes, bécher, pince bois etc.) **chauffer le mélange** jusqu'à ce qu'il soit limpide soit **à peu près au début de l'ébullition (tourner lentement le bécher avec la pince bois ou utiliser une plaque avec turbulent).**
- ▶ **Retirer** le bécher et **attendre quelques secondes** pour pouvoir le saisir sans se brûler.
- ▶ **Verser environ 3 à 5mm** de gel d'agar chaud et fluide dans une boîte de Pétri **en égalisant le niveau.**
- ▶ **Supprimer** rapidement les bulles éventuelles, **sans remuer les boîtes avant prise du gel d'agar, environ 3/5 min.**

2- Creuser les puits dans la gélose :



Après refroidissement ; percer des trous régulièrement espacés à l'aide d'un emporte pièce et d'une mire (gabarit de perçage) pour répartir les puits régulièrement. Attention à ne pas fendre la gélose. Ejecter la gélose restée éventuellement dans l'emporte pièce à l'aide d'un cure dent.



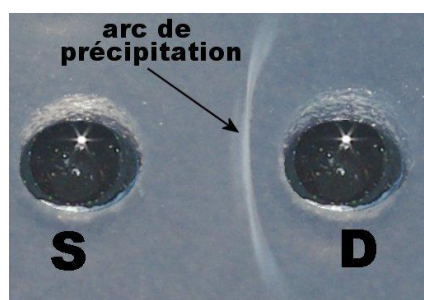
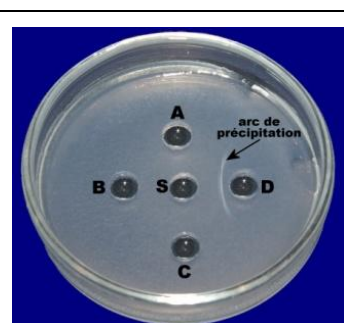
Remarque réaliser un puits central et répartir 4 puits tout autour. Les puits sont équidistants d'environ 5mm (gabarit)

3- déposer les produits

Après marquage de chaque puits sous la boîte:

- ▶ A l'aide de la micropipette, **déposer 15µl** d'un réactif dans chaque puits, en utilisant un **nouvel embout pour chaque produit**, faire de même pour les autres réactifs. (Le sérum contenant l'antigène au centre, les sérums à tester autour)
- ▶ La surface de dépôt doit être **plane** et il ne faut **pas faire de bulles**.

4- Lire et interpréter les résultats (observation au minimum 1 heure après les dépôts)



On observe la présence d'un arc de précipitation entre deux puits contenant l'anticorps d'une part, l'antigène correspondant d'autre part.

Exemple de résultats :

L'arc de précipitation apparaît entre les puits S et D. Le sérum D contient des anticorps ayant réagit avec les antigènes du méningocoque. La personne recherchée est donc l'individu auquel appartient le sérum D.