

L'interaction antigène anticorps

Le test d'immunodiffusion ou test d'Ouchterlony : recherche d'un antigène

Le 20 juin 2012, les autorités de la région autonome du Xinjiang (nord-ouest de la Chine) ont dû faire face à une épidémie de grippe touchant près de 1600 poulets. Ce virus est caractérisé par la présence à sa surface d'une protéine : l'hémagglutinine. Le type de grippe dépend du type d'hémagglutinine (H1, H3, ou H5...) présent : grippe aviaire si H5, grippe A si H1 ou la dernière forme de grippe apparue en 2012 si H3. Avant de prendre la décision d'abattre les 5500 autres poulets de l'élevage, des tests rapides, basés sur le principe de l'immunodiffusion, ont dû être effectués pour déterminer le type de grippe affectant les poulets.

Dans ce TP, on cherche à savoir en quoi les tests d'immunodiffusion réalisés nous permettent de déterminer le type de souche grippale affectant les poulets chinois.

PARTIE A - Concevoir une stratégie pour résoudre une situation.

Toute molécule introduite dans un organisme et provoquant une réponse immunitaire est qualifiée d'antigène. Par exemple, on peut injecter de l'hémagglutinine de type 5 (H5), une protéine localisée au niveau de la membrane du virus de la grippe aviaire, à un poulet sain. Quelques jours après l'injection, le sérum (partie liquide du sang dépourvue de cellules) de poulet est récupéré et montre une augmentation notable de la concentration en anticorps (protéine produite par les lymphocytes B et participant à la réponse immunitaire adaptative).

Principe de la méthode d'Ouchterlony

C'est une méthode d'immunodiffusion sur gel : les solutions 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. Cette zone de contact reste invisible s'il n'y a pas de réaction entre les deux solutions. Quand il y a réaction entre les solutions, il se forme un arc de précipitation visible à l'oeil nu. Celui-ci est dû à l'interaction entre de nombreux anticorps et les antigènes spécifiques, entraînant la formation de complexes immuns.

Matériel à disposition :

Boîte de pétri avec un gel (à préparer), un emporte-pièce, une micropipette avec embouts ou un compte-gouttes pour chaque produit.

Solution 1 : sérum de poulet sain immunisé avec de l'hémagglutinine H1.

Solution 2 : sérum de poulet sain immunisé avec de l'hémagglutinine H5.

Solution 3 : sérum de poulet sain immunisé avec de l'hémagglutinine H3.

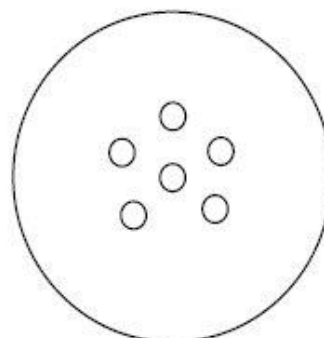
Solution 4 : sérum de poulet malade.

Solution 5 : eau distillée.

Remarque : il s'agit de produits de substitution.

En utilisant les informations ci-dessus, choisir la disposition des produits dans la boîte de Pétri et l'indiquer sur le schéma de la boîte de Pétri ci-dessous. Justifier ce choix.

Gabarit de perçage dans le gel d'agar



PARTIE B - Mettre en oeuvre un protocole de résolution.

Protocole :

I- Préparation d'un gel d'agar (=gélose) à couler dans une boîte de Pétri pour test d'Ouchterlony

1. Organiser votre plan de travail pour manipuler proprement en suivant les consignes de sécurité ;
2. Peser dans la coupelle 0,2 g d'Agar prélevé à l'aide de la spatule ;
3. Verser 14 mL d'eau distillée puis l'agar dans le bêcher et dissoudre soigneusement l'agar avec l'agitateur en verre ;
4. Chauffer le mélange en remuant avec l'agitateur en verre jusqu'à ce que le mélange devienne limpide et arrêter au tout début de l'ébullition ;
5. Retirer à l'aide de la pince en bois, attendre quelques secondes que le bêcher refroidisse afin de pouvoir saisir le flacon sans se brûler ;
6. Verser 5 ml d'agar chaud dans la boîte de Pétri ;
7. Égaliser le niveau et supprimer rapidement les bulles ;
8. Laisser la boîte refroidir sans mettre le couvercle ;
9. Rincer le matériel ;
10. Ne pas remuer les boîtes avant prise du gel d'Agar : environ 5 -10 min ;

II- Préparation du test

1. Utiliser le gabarit de perçage pour creuser à l'aide du tube emporte-pièce les puits nécessaires dans le gel d'agar ;
2. Éliminer les disques de gélose avec le cure-dent si nécessaire.

III- Réalisation des dépôts

1. Marquer sur la boîte de Pétri la disposition des produits à déposer dans les puits permettant de révéler la réaction de l'anticorps étudié avec les différents antigènes proposés. (Utiliser le même ordre que celui que vous avez proposé à la question A) ;
2. Remplir les différents puits avec 1 goutte : chaque produit devra être prélevé avec un compte goutte propre, puis être déposé dans les puits sans débordement ni bulle et sans endommager le gel d'agar ;
3. Fermer la boîte ;
4. Observer les résultats fournis.

Les réactifs déposés dans les puits diffusent de façon homogène dans toutes les directions autour du puits. Deux auréoles de diffusion peuvent donc rentrer en contact. Cette zone de contact reste invisible s'il n'y a pas de réaction entre les deux réactifs. Par contre, elle se traduit par un arc de précipitation visible à l'oeil nu lorsque les deux réactifs interagissent.

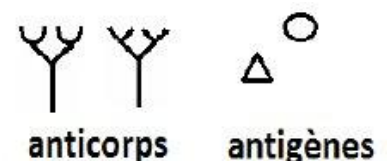
Schéma d'une observation possible



PARTIE C - Présenter les résultats pour les communiquer.

Indiquer sur le schéma complété en partie A le résultat du test. Réaliser un schéma d'interprétation à l'échelle moléculaire, en utilisant les symboles de votre choix parmi ceux proposés :

- Dans le cas de la formation de l'arc de précipitation.
- Dans le cas d'une absence d'arc.



PARTIE D - Exploiter les résultats obtenus.

Expliquer la propriété des anticorps mis en évidence par ce test et répondre au problème posé.