Activité 3 : Détection d'anticorps spécifiques

Mise en situation et recherche à mener

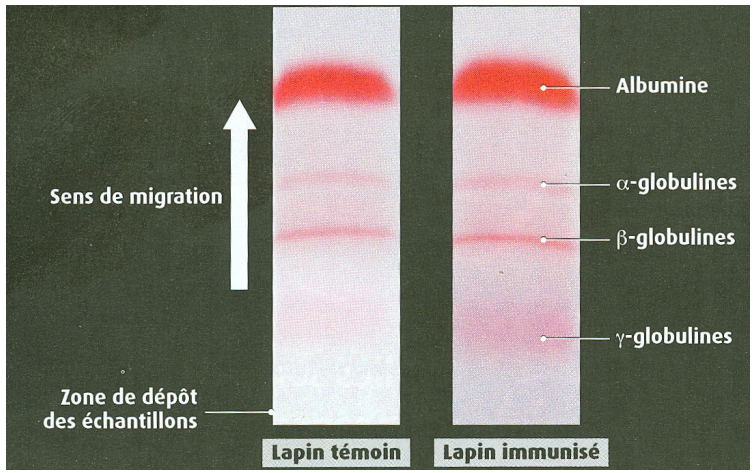
« Une Canadienne de retour de voyage en Chine est morte au tout début de l'année de la grippe aviaire de type H5N1, premier cas mortel en Amérique du Nord, a annoncé mercredi la ministre de la Santé, Rona Ambrose. » Extrait du site de 20 Minutes – 08 Janvier 2014

M Clouéolit, de retour de Chine le 20 janvier, présente depuis quelques jours de forts symptômes grippaux. Inquiet par l'article ci-dessus qu'il a lu dans 20 minutes, il demande à son médecin de faire les analyses nécessaires pour déterminer s'il est contaminé par la souche virale grippale H5N1. Son médecin traitant demande la réalisation d'une électrophorèse du sérum de M. Clouéolit dont les résultats montrent la présence d'anticorps, mais cette donnée est insuffisante pour affirmer que le patient a été contaminé par la souche virale grippale H5N1.

Vous êtes le médecin spécialiste des maladies grippales vers lequel M. Clouéolit a été adressé pour de plus amples recherches et vous **cherchez à déterminer si M. Clouéolit a été infecté par la souche virale grippale H5N1.**

Ressources

Ressource 1



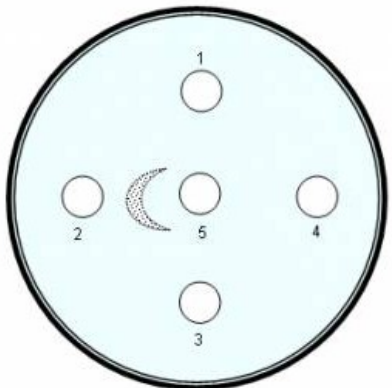
On cherche à mettre en évidence une modification de la composition moléculaire sanguine suite à l'injection **d'une molécule étrangère** qu'on qualifie **d'antigène** (ici de l'albumine de bœuf).
On analyse pour cela par électrophorèse le sang d'un lapin n'ayant pas subi cette injection (lapin témoin) puis le sang d'un lapin auquel on a injecté cette albumine de bœuf (lapin immunisé). Pour cela, on étudie les protéines de la partie liquide du sang dépourvue de cellules : le **sérum**.
Les résultats de l'électrophorèse du sérum de lapin témoin et de lapin immunisé sont présentés au tableau.

essource 2

Pour mieux comprendre le lien existant entre antigènes et anticorps, le sérum du lapin dit immunisé est alors testé selon la **méthode d'Ouchterlony** face à des albumines contenues dans différents sérums. Cette méthode est une méthode d'immunodiffusion sur gel : les solutions déposées dans des puits creusés dans un 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'œil nu.

Puits 1: albumine de chèvre
Puits 2: albumine de bœuf
Puits 3: hémoglobine de bœuf
Puits 4: ovalbumine
Puits 5: sérum de lapin immunisé contre l'albumine de bœuf

résultats d'un test Ouchterlony (24 h après les dépôts)



Étape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)

Proposer une stratégie de résolution réaliste permettant de déterminer si M. Clouéolit a été infecté par la souche virale grippale H5N1, après avoir expliqué pourquoi le test demandé par le médecin traitant ne suffit pas

Activité 3 : Détection d'anticorps spécifiques

Étape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables
Mettre en œuvre le protocole ci-après de détection d'anticorps (Ouchterlony) afin de déterminer contre quelle souche virale grippale les anticorps de M. Clouéolit sont dirigés
Étape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer
Sous la forme de votre choix présenter les données brutes et les traiter pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.
Étape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème
Exploiter les résultats pour déterminer si M. Clouéolit a été infecté par la souche virale grippale H5N1.

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel	
- une petite boîte de Pétri avec gélose ; - un tube emporte-pièce et un cure-dent pour creuser les puits dans la gélose - un gabarit de perçage ci-contre; - un tube du sérum de Mr Clouéolit (= S) - des tubes de différentes solutions contenant des antigènes viraux différents : Ø tube A_5 : antigènes du virus grippal A-H5N1 Ø tube A_1 : antigènes du virus grippal A-H1N1 Ø tube B : antigènes d'un virus grippal B Ø tube C : antigène d'un virus grippal C - un compte-goutte pour chaque produit ; petite feuille de papier noir pour l'observation des résultats.	- Utiliser le gabarit de perçage ci-après, pour réaliser à l'aide du tube emporte pièce et éventuellement d'un cure-dent, les puits nécessaires dans le gel d'agar. - Identifier au préalable sur le gabarit de perçage ci-dessous les solutions qui vont être déposées dans chaque puits - Déposer 2 gouttes de chaque solution dans les puits de la boite puis la refermer. - Attendre 15 à 20 min