

Mise en situation et recherche à mener

Les résultats d'analyse sanguine de Mr.Lafleur ont montré que le nombre de **lymphocytes** était supérieur à la normale. D'autre part, le médecin avait remarqué un gonflement des ganglions lymphatiques de l'aisselle droite. Comme Mr.Lafleur s'est piqué avec une épine de rosier, son médecin suspecte une infection par *Clostridium tetani*, une bactérie produisant une neurotoxine, la tétanospasmine, ciblant le système nerveux central et responsable du tétanos. Craignant une infection par cette toxine tétanique, son médecin veut vérifier si Mr. Lafleur a produit des anticorps anti-tétanique. Un premier test sera réalisé (test d'immunodiffusion).

On cherche à savoir si Mr.Lafleur a produit des AC anti-tétanospasmine.

TP n°2 : Le test d'immunodiffusion ou test d'Ouchterlony

Ressources

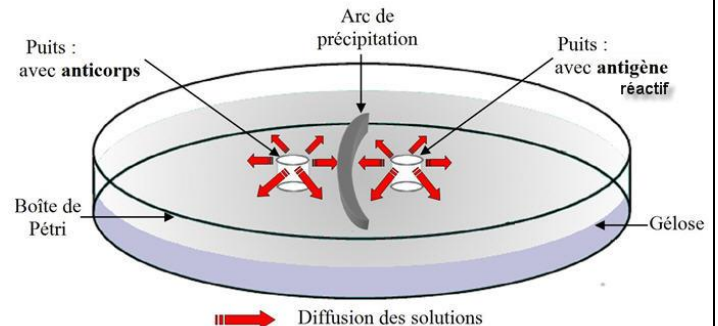
Recherche de la spécificité de la réaction

antigène/anticorps

PRINCIPE DE LA METHODE D'OUCHTERLONY

C'est l'immunodiffusion : les réactifs sont déposés dans des puits afin de diffuser dans la gélose de façon homogène dans toutes les directions autour du puits. Deux auréoles de diffusion peuvent ainsi entrer en contact lorsqu'elles ont suffisamment grandi. 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'œil nu lorsque les deux réactifs interagissent. Cet arc de précipitation traduit la réalisation d'un **complexe immunitaire** entre l'antigène et son anticorps spécifique.

Un complexe immunitaire se forme s'il y a eu une reconnaissance spécifique entre un anticorps et un antigène.



Remarque : un antigène est une molécule qui déclenche une réaction immunitaire. Ici, la toxine tétanique a des propriétés antigéniques. Un anticorps est une protéine produite par des lymphocytes : cette production se fait si l'organisme a détecté un antigène.

Etape 1 Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (à l'oral)

Etape 2 Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel :

- **Préparer un gel d'Agar** à couler dans deux boîtes de pétri (une boîte pour s'exercer et une boîte pour réaliser le test). Pour cela :
 - ✓ **Peser** dans le bêcher 0,3 g d'agar prélevé avec la spatule.
 - ✓ **Rajouter** dans le bêcher 20 ml d'eau avec l'éprouvette et **dissoudre** l'agar avec la spatule.
 - ✓ **Chauffer** le mélange sur la plaque chauffante en remuant avec la spatule pour qu'il soit limpide et **arrêter de chauffer** aux premiers frémissements visibles sur l'ensemble de la solution.
 - ✓ **Retirer** le bêcher avec le gant adapté et **poser** le sur la grille.
- Chaque élève coule sa propre boîte pour s'entraîner**
- ✓ **Répartir** rapidement le gel d'agar chaud et fluide de façon équitable dans les 2 boîtes de Pétri (Chaque boîte doit être remplie au 2/3 environ)
- ✓ **Egaliser** le niveau et **supprimer** les bulles.
- ✓ **Ne plus remuer** les boîtes pendant 5 minutes à 10 minutes. **Laisser refroidir** sans le couvercle.
- Laver vite le matériel utilisé pour ne pas que la solution d'agar se solidifie dans le fond du bêcher.**
- **Creuser** les différents puits dans de gel d'agar coulé dans ces 2 boîtes de pétri à l'emporte-pièce (paille) en suivant le gabarit proposé. **Éliminer** les disques de gélose en les retirant avec une aiguille.
- **Utiliser la boîte la mieux préparée pour la suite du protocole.**
 - **Marquer au verso de la boîte de pétri**, la disposition des produits à déposer dans les puits
 - **Attention : Les symboles des produits utilisés doivent être lisibles à l'endroit à travers la boîte !!!**
 - **Remplir chaque puits de la solution appropriée** (voir tableau pour la correspondance avec les couleurs) avec la micropipette (20 µL) sans débordement ni bulles et sans endommager le gel d'agar.
 - Attention : Vous devez utiliser un embout différent en respectant les vignettes de couleur !!!**
 - **Laisser diffuser au moins 10 minutes (pendant ce temps préparer votre compte-rendu).**

Matériel disponible :

• **Sérum contenant des antigènes de tétanospamine** : (S) → **Tube avec pastille noire**

• **Les différents sérums testés:**

Sérum d'un témoin négatif : → Tube avec pastille rouge

Sérum de Mr. Lafleur : → Tube avec pastille rose

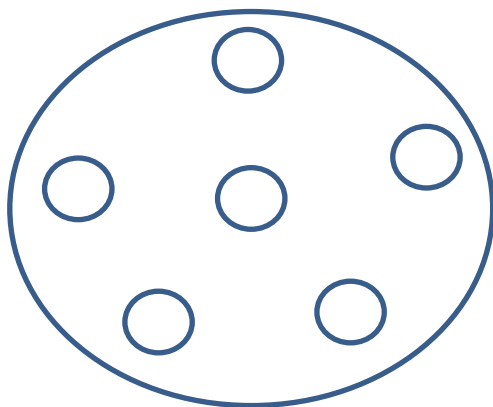
Sérum d'un témoin positif : → Tube avec pastille bleue

Sérum inconnu → Tube avec pastille jaune

➤ Sérum inconnu → Tube avec pastille verte

Etape 3 Présenter les résultats pour les communiquer

1°) Communiquez vos résultats par un schéma



Puits central:

Puits 1:

Puits 2:

Puits 3:

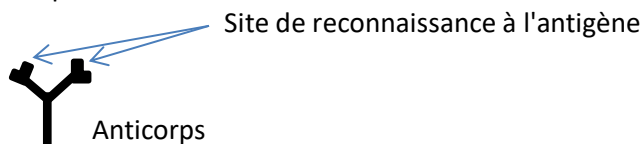
Puits 4:

Puits 5:

Arc de précipitation



2°) Expliquez à l'échelle moléculaire la réaction qui a eu lieu permettant d'expliquer la présence d'un arc de précipitation



Etape 4 Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

