

TP 20 : principes et intérêts de la vaccination

Activité 1 : évaluation de l'immunisation

Mise en situation et recherche à mener	
<p>Après une vaccination, l'organisme réagit par la production d'anticorps dirigés contre l'antigène injecté. Une mémoire immunitaire se met en place, par la présence d'anticorps spécifiques de l'antigène injecté et, lors d'un second contact avec l'antigène, la réaction sera beaucoup plus rapide et plus importante.</p> <p>On cherche à déterminer si un individu doit être de nouveau vacciné ou non en testant la présence suffisante d'anticorps Ac1 de son sérum.</p>	
Ressources	
<p>Document : les propriétés des anticorps</p> <p>Les anticorps sont des molécules dont les propriétés sont les suivantes : Ce sont des protéines qui sont chargées électriquement dès lors qu'elles sont placées dans une solution tampon à un pH défini Ce sont des molécules solubles qui se fixent spécifiquement à un antigène. Cette reconnaissance entraîne la formation d'un complexe immun (Ag-Ac) insoluble</p>	<p>Toutes molécules nécessaires</p> <p><u>Matériel envisageable :</u></p> <ul style="list-style-type: none">– de laboratoire (verrerie, instruments ...)– d'observation (microscope, loupe binoculaire...)– de mesure et d'expérimentation (balance, chaîne ExAO...)– informatique et d'acquisition numérique
Etape 1 : <u>Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème</u> (durée maximale : 10 minutes)	
<p>Proposer une démarche d'investigation permettant de déterminer si un individu doit être de nouveau vacciné ou non.</p> <p>Appeler l'examineur pour vérifier votre proposition et obtenir la suite du sujet.</p> <p>Votre proposition peut s'appuyer sur un document écrit (utiliser les feuilles de brouillon mises à votre disposition) <u>et/ou</u> être faite à l'oral.</p>	

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

Mettre en œuvre le protocole de détection de la présence des anticorps (test de détection moléculaire ELISA) permettant de déterminer la teneur en anticorps Ac1 de son sang afin de déterminer si un individu doit être de nouveau vacciné ou non.

Au point 4 du protocole, **demander les résultats** afin de commencer la présentation des résultats de l'étape 3 mais veiller à **poursuivre le protocole en entier**.

Appeler l'examineur pour vérifier les résultats et éventuellement obtenir une aide.

Ces représentations utiliseront les schémas de la fiche document.

Etape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

Schématiser les molécules présentes en fin de test dans les puits A et H (sérum de l'individu)
Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur pour vérification de votre production.

Etape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Conclure sur le besoin ou non d'une nouvelle vaccination.

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Principe :

La technique ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) est une technique immuni-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène (Ag) – anticorps (Ac1 anti-Ag) grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat (réactif d'Ellman) d'une enzyme (E) préalablement fixée à un deuxième anticorps anti-Ag (Ac2).

Matériel disponible :

- sérum S de l'individu à tester
- 7 solutions d'anticorps Ac1 de concentrations différentes appelées C1, C2, C3, C4, C5, C6 et C7
- une barrette de 8 puits au fond desquels sont fixés des antigènes correspondant à ceux injectés lors de la vaccination permettant de "capturer" les anticorps Ac1
- solution d'un deuxième anticorps Ac2 "anti-Ac1" de "détection" de la présence d'anticorps Ac1 fixés : cet anticorps est, associé à une enzyme peroxydase
- solution de substrat (H₂O₂) de l'enzyme peroxydase qui détecte cette dernière par l'apparition d'une coloration
- solution de lavage et une pipette de prélèvement
- gants, lunettes, papier filtre, cuvette ou évier à proximité, micropipettes et embouts jetables (ou équivalent), un feutre permanent, un chronomètre
- récipient avec javel pour mettre les embouts usagés

Le **seuil** en dessous duquel l'individu est considéré comme non

Concentration en $\mu\text{g d'Ac.mL}^{-1}$	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
	17,00	8,50	4,25	2,12	1,06	0,53	0,26

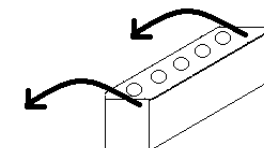
immunisé est ici une concentration de **1,06 $\mu\text{g d'Ac.mL}^{-1}$** .

- 1- **Numéroter** les puits de 1 à 7 et **nommer S** le 8^{ème} puits.
- 2- **Déposer** 2 gouttes ou 80 μL :
 - de C1 dans le puits1, C2 dans le puits 2, etc., jusqu'à C7 dans le puits 7 ;
 - du sérum S de l'individu testé, de concentration inconnue, dans le puits S ;

Attention, une seule solution par puits. Les niveaux des liquides doivent être, au final, équivalents.

- 3- **Laisser incuber** 10 min à température ambiante et **Appeler l'examineur pendant ce temps d'attente afin d'obtenir à l'avance les résultats.**

- 4- **Vider** la barrette en la renversant horizontalement (voir schéma ci-contre) et d'un geste rapide au-dessus de l'évier (ou de la cuvette) de manière à éviter le mélange des produits. Avant de la remettre à l'endroit, **tamponner** la surface des puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.



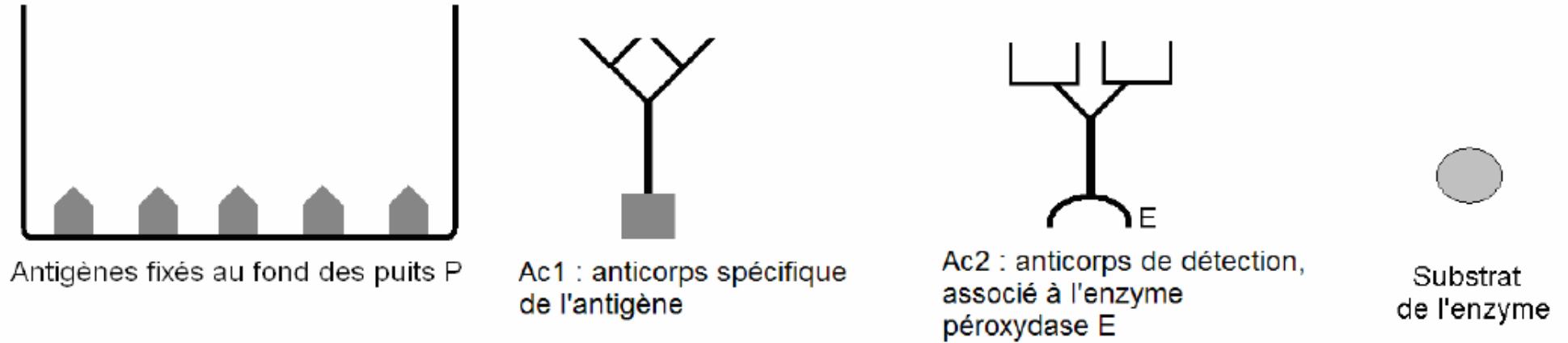
- 5- **Remplir** tous les puits avec la solution de lavage, sans débordement, et vider immédiatement comme précédemment. **Répéter** 2 fois ce lavage.
- 6- **Mettre** dans les puits 2 gouttes ou 80 μL de la solution d'anticorps de détection Ac2 sur lequel est déjà fixée l'enzyme peroxydase. Les niveaux doivent être, au final, équivalents.
- 7- **Laisser agir** 10 minutes

Appeler l'examineur pendant ce temps d'attente.

- 8- **Vider** les puits et les **laver** 2 fois comme au point 6.
- 9- **Mettre** dans les puits 2 gouttes de substrat de l'enzyme peroxydase. Les niveaux doivent être équivalents au final. Une coloration se développe. **Ne pas attendre pour comparer les colorations** car au bout de quelques minutes les différences s'estompent.

Appeler l'examineur pour vérifier les résultats.

Planche de représentation permettant la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire :

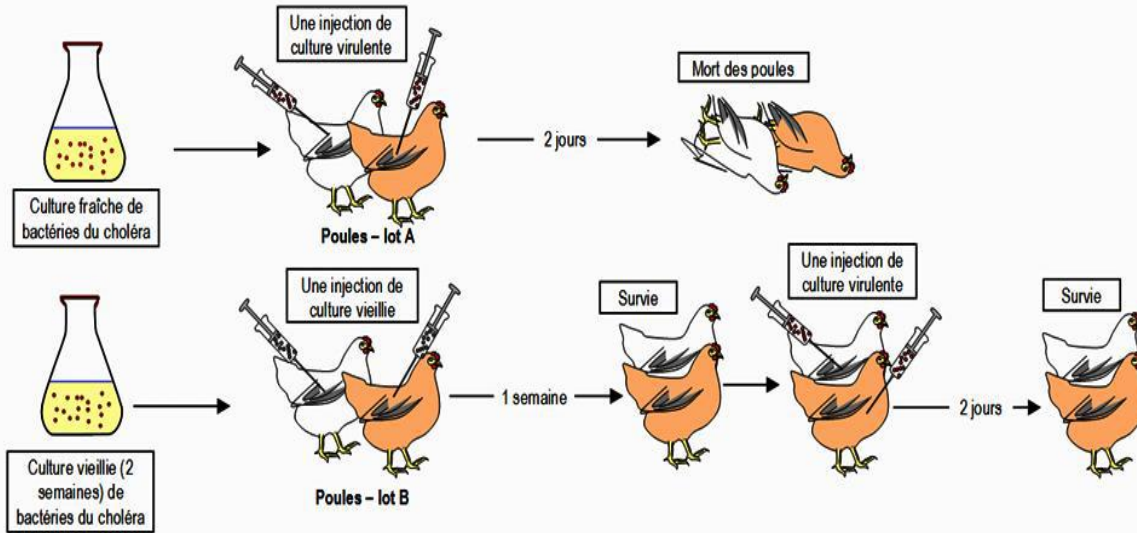


Activité 2 : principes et intérêts d'une vaccination

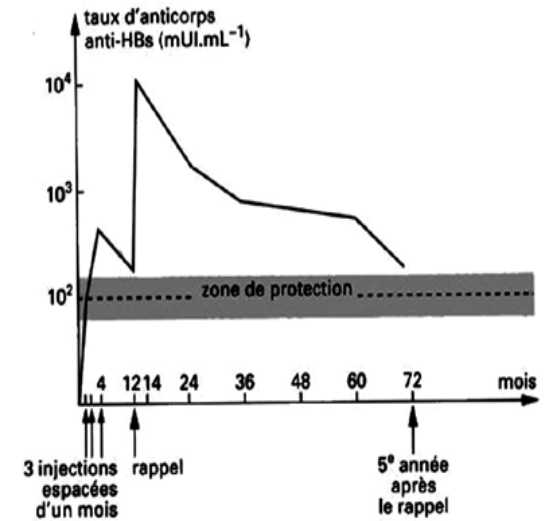
- **Déterminer** à partir de l'étude des documents judicieusement choisis, le principe de la vaccination
- **Déterminer** les intérêts d'une vaccination
- **Expliquer** la difficulté de mise en oeuvre d'un vaccin efficace

Document 1 : travaux de Pasteur sur les poules et le choléra

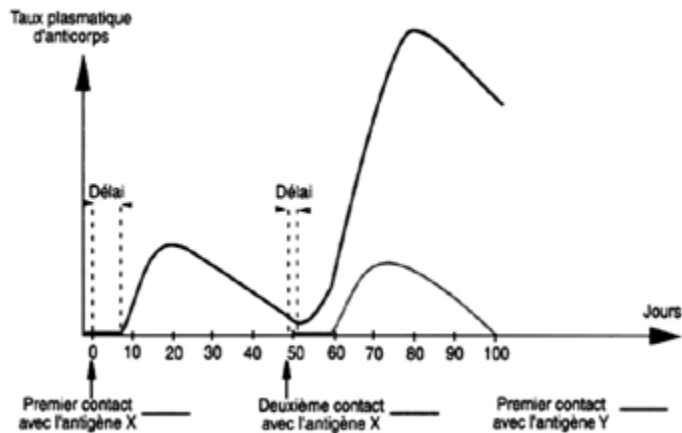
"Voici vingt poules qui n'ont jamais subi les atteintes de la maladie ; je les inocule avec le microbe très virulent. Le lendemain elles sont toutes couchées, très boiteuses ; en 48 heures les vingt poules ont péri. Voici d'autre part, vingt poules préalablement vaccinées au maximum (c'est-à-dire des poules ayant reçu trois ou quatre fois des injections de microbes très atténués), elles sont inocuées à la même heure que les précédentes, à la même place, par le même microbe, employé en même quantité. Le lendemain, toutes sont vives, alertes, mangent, gloussent".
 Extrait des "carnets d'expériences" de Pasteur (septembre 1885)



Document 3 Evolution du taux d'anticorps d'un individu suite à sa vaccination contre le virus de l'hépatite B



Document 2 Evolution des taux des anticorps spécifiques produits par un individu suite à deux injections successives du même antigène X et à l'injection d'un antigène Y



Document 4 : rôle des cellules immunitaires mémoire

