

I2. La spécificité antigène-anticorps : le test d'Ouchterlony.

Un anticorps est une protéine du sérum* induite par un contact avec un antigène. Un anticorps est capable de reconnaître un antigène (antigène = molécule qui peut être reconnue par le système immunitaire).

On veut démontrer le degré de spécificité des anticorps (ici des AC anti-BSA) vis-à-vis de différents antigènes.

Pour cela, on formule 3 hypothèses :

- **H1.** L'AC anti-BSA est capable de reconnaître toutes les molécules d'albumine (= peu spécifique).
- **H2.** L'AC anti-BSA ne reconnaît que les albumines bovines (= moyennement spécifique).
- **H3.** L'AC anti-BSA ne reconnaît que l'albumine de sérum de bœuf (= très spécifique).

On teste ces trois hypothèses par la méthode d'immunodiffusion, ou test d'Ouchterlony.

* sérum = liquide sanguin sans les cellules sanguines et les protéines de la coagulation

Pour répondre à la problématique, on vous demande de :

- **réaliser** un tableau des conséquences vérifiables de chaque hypothèse concernant les résultats possibles des réactions entre le sérum S et les différents antigènes (**présence d'un arc ou non**) ;
- **justifier** l'emplacement des produits dans la boîte (**appeler** pour vérification) ;
- **effectuer** le protocole demandé ;
- **utiliser** vos résultats pour valider la bonne hypothèse.

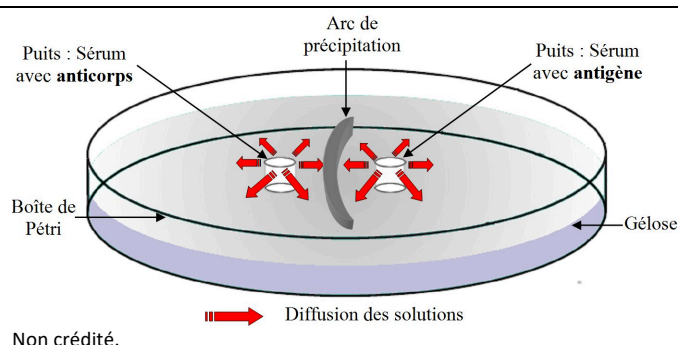
On demande d'illustrer vos résultats par un mode de communication pertinent.

Ressources complémentaires

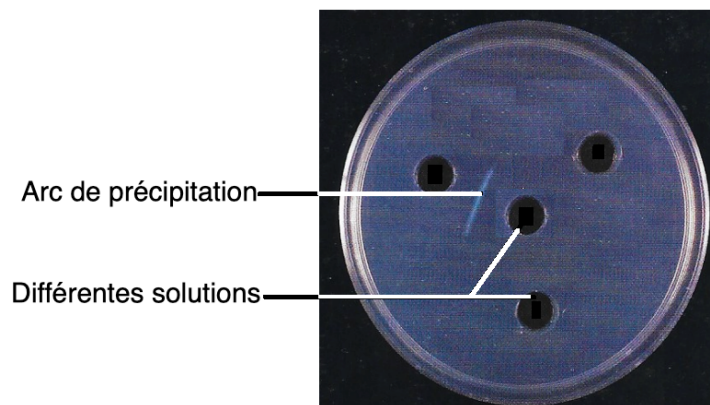
Document 1. Principe du test d'Ouchterlony (ou immunodiffusion).

La méthode repose sur l'immunodiffusion. Des solutions sont déposées dans des puits et diffusent de façon homogène dans toutes les directions autour des puits. Deux auréoles de diffusion de deux puits différents entrent donc en contact lorsqu'elles ont suffisamment progressé.

- La zone de contact reste **invisible** s'il n'y a pas de réaction (= pas de reconnaissance) entre les deux solutions.
- Elle se traduit par un **arc de précipitation visible** à l'œil nu lorsque les deux solutions **réagissent**.



Document 2. Exemple de résultat. D'après SVT TS Belin 2012



Document 3. Protocole à suivre.

Matériel à votre disposition :

- 1 boîte de Pétri contenant de l'agar coulé, 2 boîtes de Pétri vides, agar, balance de précision, spatule, 2 béciers, pipette de 10 mL et propipette, bec électrique, pince en bois, emporte-pièce, cure-dent, pipette compte-gouttes (ou micropipette), marqueur, feuille de papier noir (aide pour la lecture des résultats),
- sérum de lapin contenant des anticorps anti BSA (= Albumine de Sérum de Bœuf) = S (rouge). Ces AC ont été synthétisés, car le lapin a été mis en contact préalablement avec la BSA.
- différents antigènes à tester :

* albumine de sérum de chèvre = H (rose)

* albumine de lait de vache = L (jaune)

* albumine de sérum de bœuf = B (blanc)

* albumine de sérum de cheval = C (vert)

* eau distillée = E (bleu)

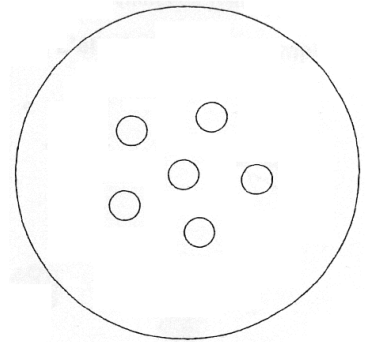
Protocoles : les manipulations doivent se faire sur un plan de travail propre et bien débarrassé.

* Réalisation du gel d'Agar (à 2 %) des boîtes de Pétri vides :

- **Peser** dans un papier **0,2g** d'Agar prélevé à l'aide de la spatule (penser à la tarer la balance avant).
- **Verser** 10 mL d'eau distillée puis l'agar dans le Bécher et **dissoudre** soigneusement l'agar avec la spatule.
- **Chauffer** le mélange en remuant à la spatule jusqu'à ce que le mélange devienne limpide et arrêter au tout début de l'ébullition.
- **Retirer** à l'aide de la pince en bois et **attendre** quelques secondes pour manipuler le bécher sans se brûler.
- **Pipeter** 5 mL de gel d'Agar **chaud et fluide** et le **verser** dans une boîte de Pétri.
- **Egaliser** le niveau et **supprimer** rapidement **les bulles**.
- Ne pas **remuer** les boîtes pendant dix minutes au moins (prise de l'Agar).

* Creusement des puits et répartition des produits :

- **Creuser** les puits avec l'emporte-pièce selon le modèle ci-contre. En cas de problème, quelques boîtes supplémentaires sont à votre disposition. **Éviter** surtout **les fissures** et les **bords non nets**. Pour cela, entraînez-vous d'abord sur vos propres boîtes.
- **Éliminer** éventuellement les disques de gélose avec un cure-dent.
- **Réfléchir** à l'emplacement des différents produits (sérum et anticorps) puis m'appeler pour validation. **Marquer** ensuite sur la boîte de Pétri leur disposition, permettant de révéler la réaction de l'anticorps étudié avec les différents antigènes proposés (marquage sous la boîte ou sur la tranche, surtout pas sur le couvercle !).



* Réalisation des dépôts des produits dans les puits :

- **Réaliser** les dépôts des substances proposées dans les puits de la boîte fournie. Pour cela, la solution est prélevée dans le tube avec une pipette propre et doit être déposée dans le puits **sans débordement ni bulles**, et sans endommager le gel d'agar (les puits doivent être bien remplis).
- On attend une vingtaine de minutes pour voir les résultats (version de substitution).