

**Mise en situation et recherche à mener**

Chaque année vers le mois de mars, l'OMS (organisation mondiale de la santé) recommande les trois variétés de virus de la grippe à utiliser pour le vaccin de l'hiver suivant. Il existe en effet une grande diversité de virus de la grippe qui accumulent des mutations pouvant modifier leurs antigènes et c'est ce qui explique l'efficacité parfois faible des vaccins.

Pendant l'hiver 2015-2016, deux frères se sont fait vacciner et l'un des deux a quand même attrapé la grippe.

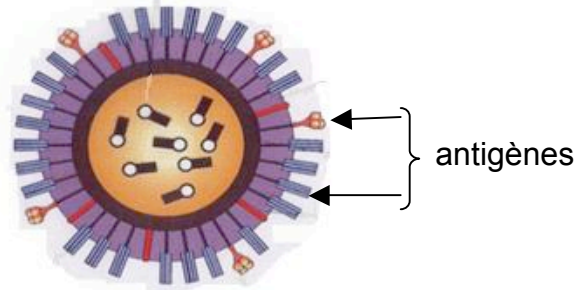
**On cherche à déterminer, par un test d'immunodiffusion et par le traitement de séquences, si cette faible efficacité du vaccin est due à l'apparition d'un nouveau virus présentant des mutations ayant modifié les antigènes à sa surface.**

**Ressources**

Composition du vaccin pour l'hiver 2015/2016 :

- fragments de virus de la souche A/California
- fragments de virus de la souche A/Switzerland
- fragments de virus de la souche B/Yamagata

Suite à la vaccination, comme suite à une maladie, on retrouve dans le sang d'un individu des anticorps spécifiques des antigènes des virus avec lesquels il a été mis en contact.

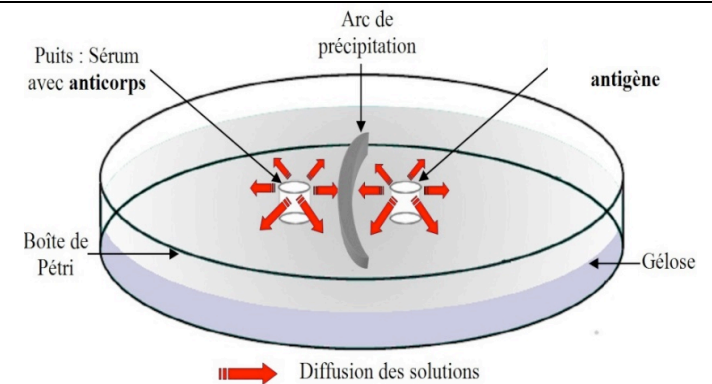


Virus de la grippe

**Principe de l'immunodiffusion d'Ouchterlony**

Cette méthode consiste à utiliser la diffusion de molécules solubles, antigènes et anticorps, dans un gel d'agar : les solutions déposées dans les puits creusés dans le gel diffusent de façon homogène dans toutes les directions autour du puits. Les auréoles de diffusion vont donc entrer en contact lorsqu'elles auront suffisamment progressé.

Lorsque l'antigène et son anticorps spécifique se trouvent ainsi en contact, ils forment un complexe immun Ag-Ac qui se caractérise par un **arc de précipitation**, visible à l'œil nu.



**Matériel et protocole d'utilisation du matériel**

**Etape A : Proposer une stratégie et mettre en œuvre un protocole pour résoudre une situation problème  
(durée recommandée : 40 minutes)**

**Matériel :**

- séquences ADN de gènes de virus.
- antigènes de virus.
- sérums <sup>(1)</sup>.
- logiciel de traitement de séquences et sa fiche technique.
- fiche technique de réalisation d'une immuno-diffusion d'Ouchterlony

(1) : sérum = partie liquide du sang dont on a ôté les cellules.

- petite boîte de Pétri gélosée
- gabarits de perçage, emporte-pièce
- cure-dent ou aiguille montée ou poire d'aspiration
- feuille de papier noir
- série de compte-gouttes propres ou micropipettes calibrées sur 20 µL
  - marqueur.

**Afin de déterminer si cette faible efficacité du vaccin est due à l'apparition d'un nouveau virus présentant de nouveaux antigènes à sa surface par mutation :**

- **Traiter** des séquences d'ADN viral.
- **Réaliser** un test d'immunodiffusion.

*Durée de la diffusion 10 à 20 minutes.*

**Sécurité (logo et signification)**



**Précautions de la manipulation**



**Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible)**



3A-le maintien de l'intégrité de l'organisme  
**VARIABILITE DU VIRUS GRIPPAL**

**La faible efficacité du vaccin est-elle due à l'apparition d'un nouveau virus présentant des mutations ayant modifié les antigènes à sa surface ?**

**Si la faible efficacité du vaccin est due à l'apparition d'un nouveau virus présentant des mutations ayant modifié les antigènes à sa surface, on observera dans la gélose que l'arc de précipitation n'apparaît pas entre l'anticorps et le sérum de virus muté ni avec le témoin mais qu'il apparaisse entre l'anticorps et les virus A,B et C**

**Afin de répondre : 1° Réalisation d'un test d'Ouchterlony**

**On appelle :**

**A : Virus souche A/California**

**B : Virus souche A/Switzerland**

**C : Virus souche B/Yamagata**

**M : Sérum du sang des deux frères**

**V : Virus de 2016**

**E : Témoin (H<sub>2</sub>O)**

**Sous la boîte de Pétri, écrire avec un marqueur « A,B,C,T et V » en cercle autour de « M », puis réaliser six puits dans la gélose avec l'emporte pièce au dessus de ses lettres. Ensuite, à l'aide de la micropipette, prélever et verser les solutions contenant les différentes souches des virus, le sérum du sang des deux frères, la solution contenant le virus de 2016 ainsi que l'eau dans les puits fait précédemment à cet effet. On fera attention lors de la création des puits de ne pas fendre la gélose et de changer l'embout de la pipette à chaque prélèvement de substance différentes**

**On attend que la boîte de pétri agisse, et pendant ce temps on ouvre ANAGENE.**

**On effectue une comparaison « avec discontinuité » entre A, B, C, et V. Si la séquence nucléotidique de V est différente de celle de A,B et C, cela voudra dire que les virus A, B et C contenu dans le vaccin ne sont plus efficaces contre le virus de 2016, car celui-ci aura subi une mutation.**

**On regarde la boîte de pétri dans un intervalle de 10 à 20 minutes. Si aucun arc de cercle ne s'est formé entre M et V, tandis qu'il y a formation d'un arc de précipitation entre M,A,B et C, cela confirmera que le virus V a bien subi une mutation car les anticorps des virus du vaccin et les antigènes ne se sont pas accrochés, comme il est censé le faire si le vaccin est efficace.**

3A-le maintien de l'intégrité de l'organisme  
**VARIABILITE DU VIRUS GRIPPAL**

**Etape B : Communiquer et exploiter les résultats pour répondre au problème (durée recommandée : 20 min)**

**SCHEMA DU RESULTAT DU TEST**

**CONCLUSION VARIABLE EN FONCTION DES RESULTATS**