



THEME 3B - Variation génétique et santé

TP5 - La vaccination

M. Dupond envisage de faire un voyage en Indonésie pendant les vacances de Pâques. Il consulte son médecin pour connaître les éventuels vaccins à réaliser. Le médecin se rend compte que M. Dupond a manqué son dernier **rappel de tétanos**. Il souhaite savoir si son patient est encore immunisé contre le tétanos ou si une vaccination doit être de nouveau réalisée. Après une vaccination, l'organisme réagit par la **production d'anticorps** dirigés contre l'antigène injecté. On considère que l'individu reste immunisé tant que son taux d'anticorps spécifiques de l'antigène injecté reste **supérieur au seuil de protection vaccinale**.



Problématique : Comment la vaccination permet-elle une protection des individus contre certains pathogènes ?

Matériel :

- Documents 1 à 5 et Manuel BELIN p326 à 335
- Matériel pour le test ELISA : barrette 8 puits, pipette P20 et embouts, pipette pasteur (rinçages)
- Echantillons d'anticorps Ac1 C1 à C6, C7 (témoin négatif) et X (patient à tester)
- Solutions : Lavage (PBS), solution d'anticorps 2 (révélation) et de révélation (TMB)

Aides :

- Fiche Protocole « Dosage d'anticorps & test ELISA »
- Fiche Annexe « Principe du test ELISA »
- Animation « elisa.exe »
- Vidéo « Comprendre la vaccination »



Activités et déroulement des activités

Activité 1 : Evaluation de l'immunisation de M. DUPOND contre le tétanos

- **Proposer une stratégie** permettant de vérifier si le patient est toujours immunisé contre le tétanos (*s'aider de la fiche Annexe et de l'animation « elisa.exe »*).
- **Réaliser la manipulation** proposée à partir de la fiche protocole
- **Schématiser** les molécules présentes en fin de test dans les puits A et H (sérum de l'individu). (*s'aider de la fiche Annexe et de l'animation « elisa.exe »*).
- **Conclure** sur le besoin ou non d'une nouvelle vaccination.

Activité 2 : Principes et intérêts d'une vaccination

- A partir des documents et de vos connaissances, **déterminez le principe général de la vaccination** et **expliquez la différence de réaction entre un système immunitaire « naïf » et immunisé**.
- A partir des documents p332-333, **indiquez les éventuelles difficultés de mise en œuvre d'un vaccin**.

Ranger votre matériel et fermer votre session informatique

Capacités et Critères de réussite

Recenser, extraire des informations
Quoi ? Comment ? Attendu ?

Réaliser une manipulation (Test ELISA)

Présenter les résultats à l'écrit
Techniquement correct, renseigné correctement, organisé pour répondre à la question
Rédiger un texte scientifique
On a vu que, Or on sait que, Donc

Recenser, extraire et organiser des informations
Identifier des mots clés, valeurs, données à comparer. Expliquer les éléments observés et déduire le comportement du système immunitaire et mettant en relation les connaissances.

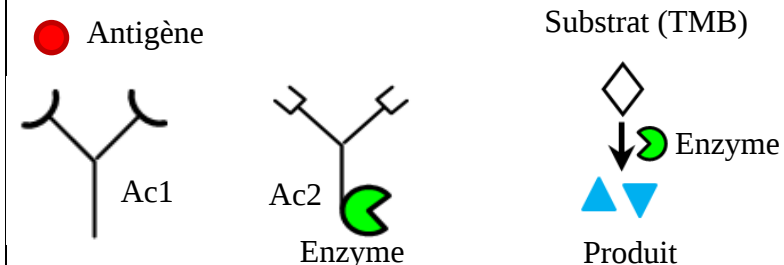
Gérer et organiser le poste de travail

Principe de la vaccination et du test ELISA

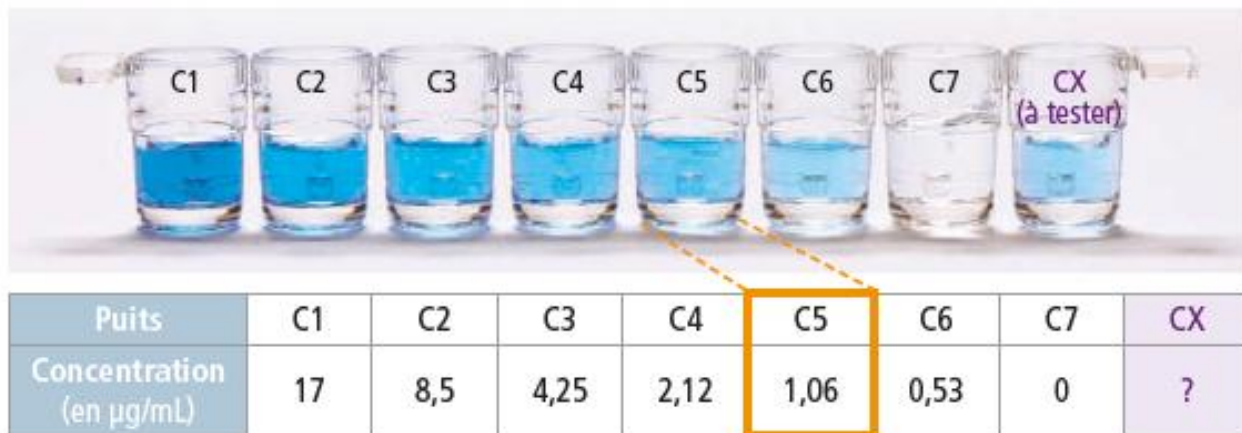
Principe du test ELISA et du dosage d'anticorps :

- On fixe des **antigènes (Ag)** au fond du puits (dans une résine).
 - On ajoute des **anticorps 1 (Ac1)** dirigés contre cet antigène afin qu'ils se fixent sur l'antigène.
 - Pour éviter que d'autres anticorps ne restent dans le puits, on réalise un **lavage**.
 - On ajoute ensuite des **anticorps 2 (Ac2)** dirigés contre le fragment constant de l'anticorps. Cet anticorps est fixé à une **enzyme (E)** appelée peroxydase.
 - Pour ne conserver que les Ac2 fixés sur les Ac1, on réalise un nouveau **rinçage**.
 - On ajoute enfin le **substrat (TMB)** et l'enzyme fixée sur l'Ac2 va le transformer en produit bleu.
- Ainsi, la coloration bleutée est proportionnelle à la quantité d'enzymes et donc d'anticorps 2 sur lesquelles elles sont fixées, qui elle-même est proportionnelle à celle de l'anticorps 1 de la solution à tester.

Schémas des molécules du test ELISA :

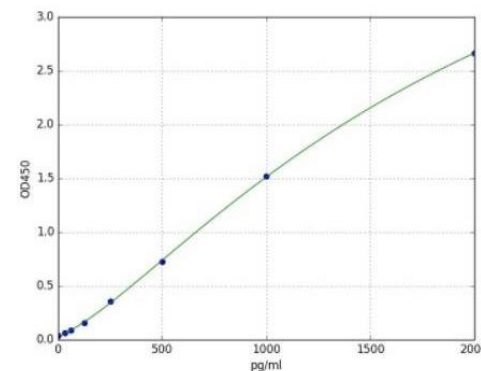


Principe d'une gamme d'étalonnage colorimétrique (gamme étalon) :



Source : Carnet de réussite – 1ère SPECIALITE SVT

- Le dosage d'anticorps 1 peut être fait par **comparaison des teintes colorées** (peu précis).
- Le dosage précis de l'anticorps 1 peut être fait précisément par **spectrophotométrie** et mesure de densité optique ou absorbance.



Principe de la vaccination :

- Une personne vaccinée (ou infectée par un micro-organisme) produit des anticorps (**séropositivité**).
- Les anticorps se fixent aux antigènes et nous **protègent contre les infections**.
- Sans aucune nouvelle stimulation (vaccin, infection), la **concentration en anticorps diminue**.
- Si un individu possède suffisamment d'anticorps, il sera protégé contre une infection.
- Si un individu ne possède pas suffisamment d'anticorps, il risque de tomber malade.

- Le **seuil de protection vaccinale** correspond à la concentration minimale présente dans le sérum d'un individu et permettant la protection contre un micro-organisme pathogène.
- Dans notre cas, il correspond à la solution C5 soit **1,06 µg/mL**.

Dosage d'anticorps par un test ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*)

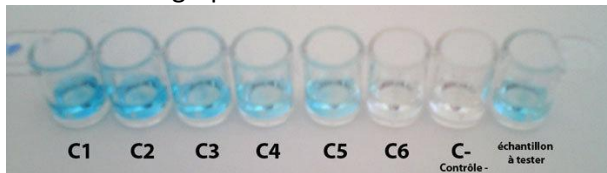
Matériel :

- Barrette ELISA avec 8 puits
- Pipette P200 et 11 cônes (C1 à C7, X, PBS, Ac2, TMB).
- Chronomètre (ou montre/smartphone)
- Solution d'anticorps 1 (Ac1) : C1 à C6
- Solution témoin sans anticorps : C7
- Solution de sérum du patient à tester : X
- Solution d'anticorps 2 couplé à l'enzyme (Ac2)
- Solution de lavage (rinçage) : PBS (Phosphate Buffer Saline)
- Solution de substrat : TMB

Remarques importantes :

- **Bien changer de cône entre chaque type de solution !**
- **Les niveaux de liquide doivent être identiques entre tous les puits (attention aux bulles lors du pipetage) !**
- **Lors du rinçage, il ne faut pas faire de mélange : on vide le contenu d'un geste franc mais il ne faut pas relever la barrette et la tamponner immédiatement sur du papier absorbant.**
- **Ne pas toucher le fond des puits avec le cône (risque de détacher la résine contenant l'antigène).**

Photographie d'une barrette ELISA



- 1- **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement et en respectant les consignes de sécurité.
- 2- **Repérer l'encoche** de la barrette du puits qui correspondra au **puits A**.
- 3- **Déposer 80 µL** des différentes **solutions d'anticorps 1 (Ac1)** dans chaque puits comme suit :

Puits A	Puits B	Puits C	Puits D	Puits E	Puits F	Puits G	Puits H
80 µL C1	80 µL C2	80 µL C3	80 µL C4	80 µL C5	80 µL C6	80 µL C7	80 µL X

ATTENTION : Une seule solution par puits !

- 4- **Laisser incuber** à température ambiante pendant **10 minutes**.
- 5- **Vider la barrette** au-dessus de l'évier, **en la renversant d'un geste franc** (voir démonstration professeur).

ATTENTION : NE PAS RELEVER LA BARRETTE (les liquides vont se mélanger)

- 6- **Tamponner** délicatement la barrette sur du papier filtre pour éliminer les excès de liquide.
- 7- **Remplir** chaque puits de 80 µL de solution de rinçage (PBS) puis vider immédiatement comme précédemment.
Répéter 2 fois ce lavage (3 fois au total).
- 8- **Dans chaque puits, déposer 80 µL** de solution d'anticorps de détection (Ac2), couplé à l'enzyme peroxydase.
- 9- **Laisser incuber** à température ambiante pendant **10 minutes**.
- 10- **Vider les puits et laver 2 fois** comme à l'étape 6.
- 11- **Révéler la concentration d'anticorps** en ajoutant **80 µL de TMB** (substrat de l'enzyme peroxydase).

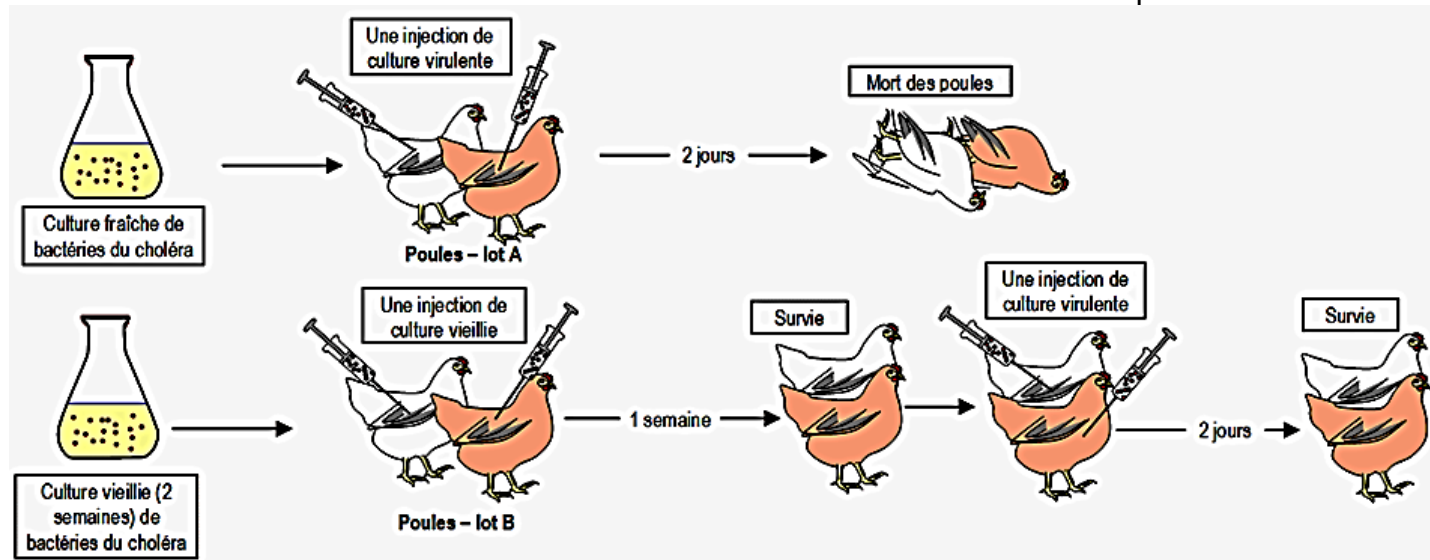
Remarques :

- Les niveaux de liquide doivent être équivalents dans chaque puits (même concentration de substrat).
- Dès l'ajout du substrat, une coloration bleutée se développe : **ne pas attendre pour lire le test** sinon, la coloration devient trop foncée et le résultat devient inexploitable.

Document 1 : Les expériences historique de Pasteur (septembre 1885)

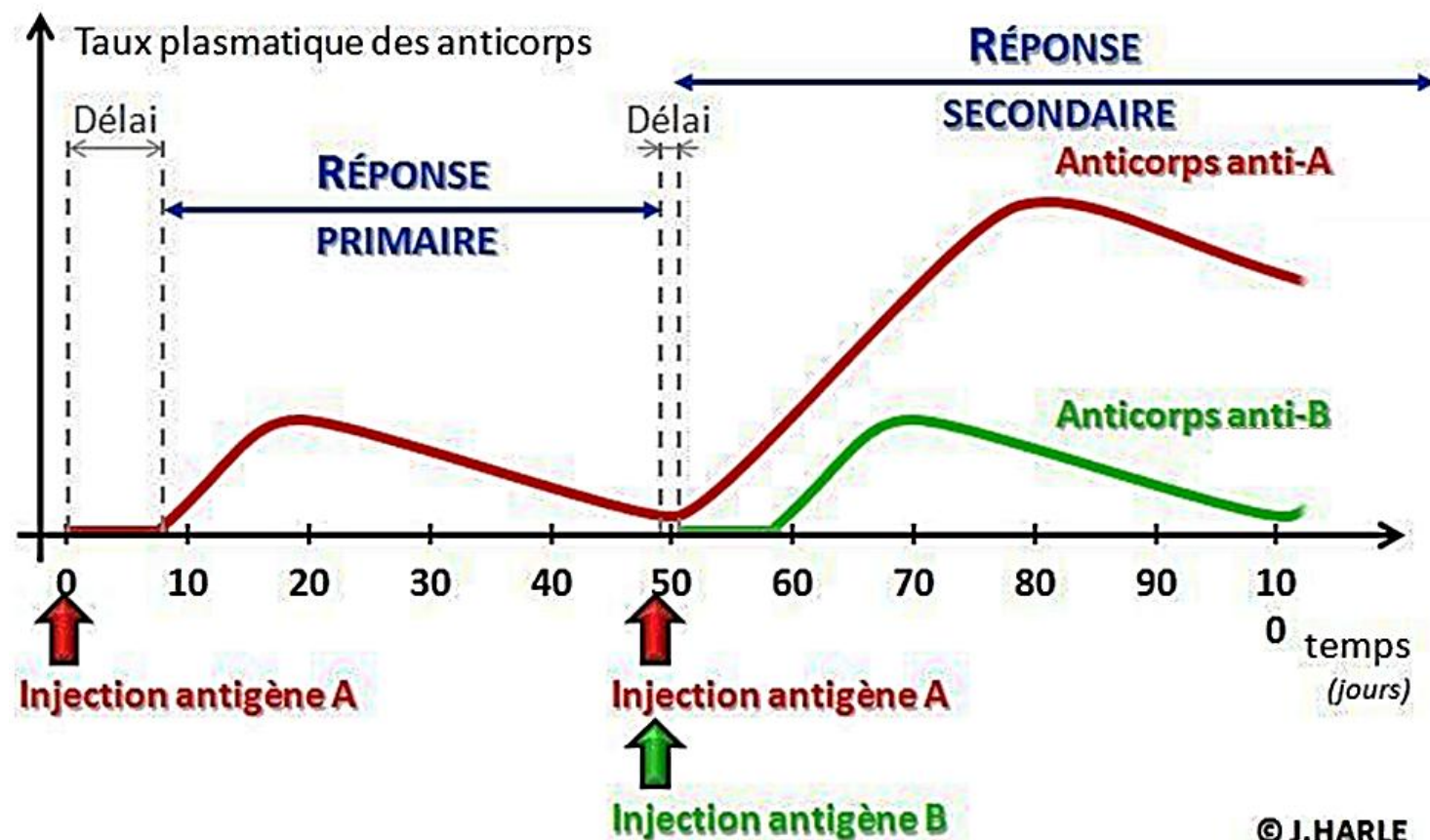
« Voici 20 poules qui n'ont jamais subi les atteintes de la maladie ; je les inocule avec le microbe très virulent. Le lendemain, elles sont toutes couchées, très boiteuses ; en 48h, les vingt poules ont péri. Voici d'autre part, vingt poules préalablement vaccinées au maximum (c'est-à-dire des poules ayant reçu trois ou quatre fois des injections de microbes très atténués) ; elles sont inoculées à la même heure que les précédentes, à la même place, par le même microbe, employé en même quantité. Le lendemain, elles sont toutes vives, alertes, mangent, gloussent ».

Extrait des « carnets d'expériences » de Pasteur

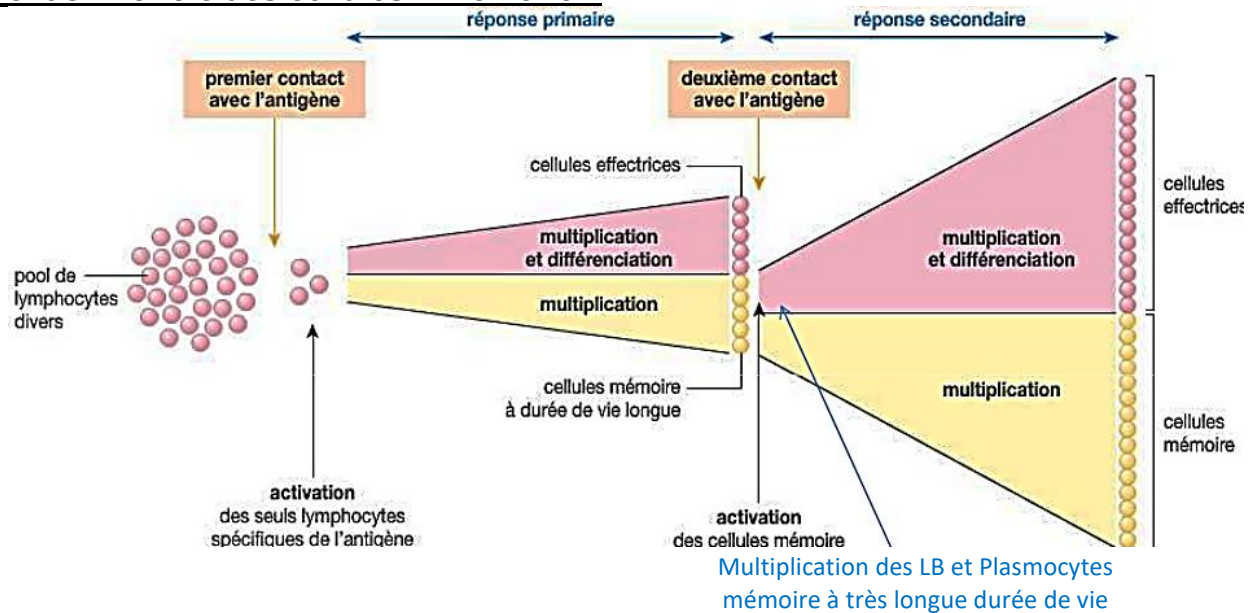


Document 2 : Graphique de la production d'anticorps suite à l'injection de divers antigènes

On suit la production d'anticorps chez un individu suite à l'injection d'un antigène A puis d'un antigène A et B ensemble.

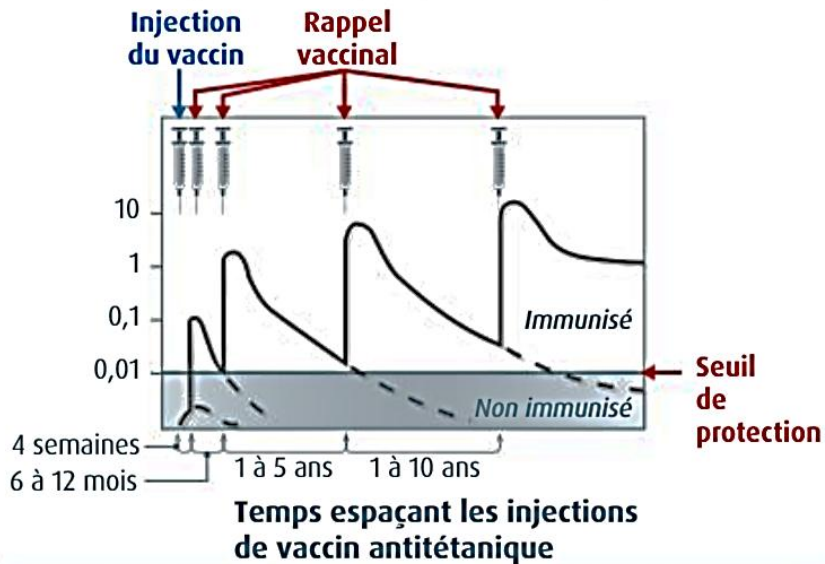


Document 3 : Le rôle des cellules « mémoire »

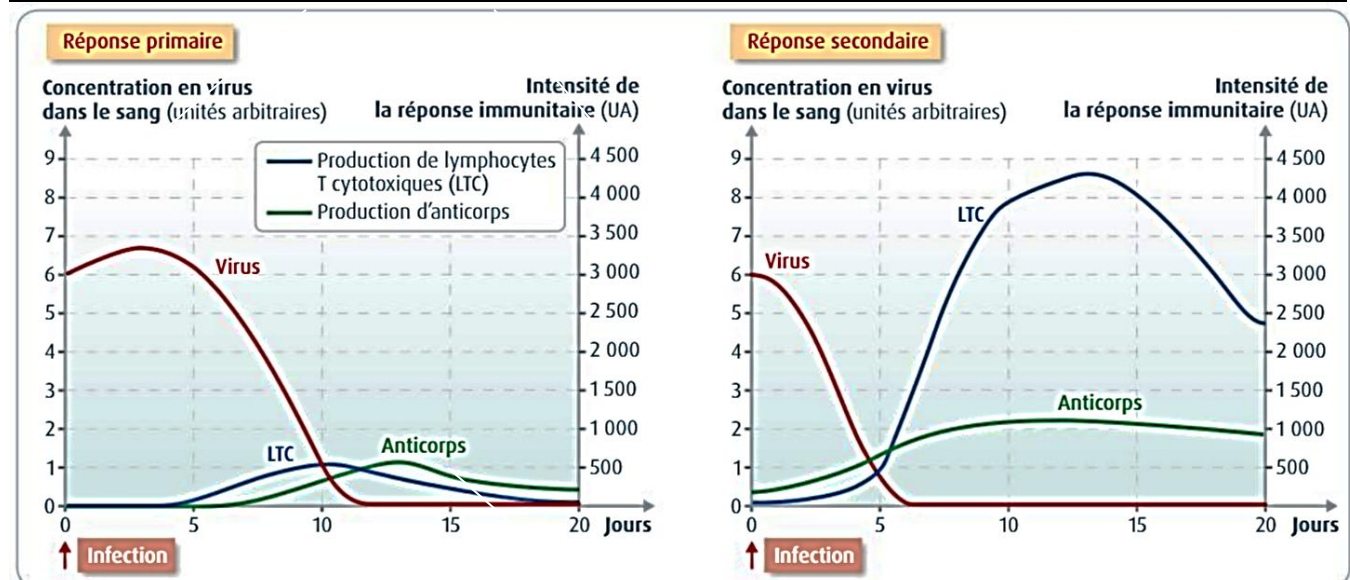


Document 4 : Graphique du taux d'anticorps chez un individu humain au cours de la vaccination contre le virus de le tétanos.

Taux d'anticorps antitétaniques (unité arbitraire)



Document 5 : Comparaison des réponses immunitaires contre la grippe chez des souris



Ressources supplémentaires :

- <https://www.reseau-canope.fr/corpus/embed/la-memoire-immunitaire-44.html>
- <https://www.youtube.com/watch?v=ufD8Ta8spno> (vaccin contre la grippe)
- <https://www.youtube.com/watch?v=-sc7rpeJYnU> (comprendre la vaccination)