

Partie A : Appropriation du contexte, proposition d'une stratégie et activité pratique

Contexte :

La **tremblante du mouton** est une maladie neurodégénérative contagieuse causée par un **prion** (protéine anormale appelée PrP^{sc}). Elle affecte le système nerveux central des ovins. Le diagnostic clinique est difficile car les symptômes (troubles moteurs, comportementaux...) sont **non spécifiques** et similaires à d'autres maladies.

Les autorités sanitaires imposent des **mesures strictes** (abattage, isolement) dès qu'un cas est confirmé. Il est donc essentiel de disposer d'un **test de détection fiable** pour confirmer ou non la présence du prion dans le troupeau.

Dans ce TP, on utilise un **test ELISA** (méthode immuno-enzymatique) pour rechercher la présence du prion dans des échantillons provenant d'un élevage suspect.

Problématique :

Peut-on confirmer la présence du prion responsable de la tremblante chez un mouton d'un élevage suspect, grâce à un test ELISA ?

Stratégie expérimentale :

On va réaliser un **test ELISA "sandwich"**, basé sur la fixation du prion à des anticorps spécifiques, suivie d'une révélation colorée indiquant sa présence.

On testera plusieurs échantillons provenant de l'élevage, dont un issu du **cerveau du mouton mort suspect**.

La présence de prion sera révélée par un **changement de couleur**, proportionnel à la quantité de protéine prion présente dans l'échantillon.

Protocole expérimental détaillé

Matériel :

- Solution contenant des extraits de cerveau du mouton suspect
- Solutions issues d'autres moutons de l'élevage
- Barrettes de puits (ELISA) avec anticorps fixés au fond (anti-prion PrP^{sc})
- Anticorps de détection (anti-PrP^{sc} couplés à une enzyme)
- Solution de lavage
- Solution de révélation (substrat enzymatique)

- Pipettes, embouts stériles
 - Chronomètre
 - Feutre permanent
 - Récipient pour eau de Javel (décontamination du matériel)
-

Étapes de la manipulation :

1. Marquage des puits :

- Marquer chaque puits avec un **code** correspondant à l'échantillon testé (ex : C pour cerveau, M1 à M4 pour les autres moutons).

2. Dépôt des échantillons :

- Déposer **quelques gouttes de chaque solution** dans les puits correspondants (en évitant les bulles).
- Laisser **incuber quelques minutes** pour permettre la fixation du prion aux anticorps fixés au fond.

3. Lavage :

- Vider les puits puis rincer délicatement avec la **solution de lavage** pour éliminer les protéines non fixées.

4. Ajout de l'anticorps de détection :

- Ajouter l'**anticorps couplé à une enzyme** (anti-PrP^{sc}) dans chaque puits.
- Incuber à nouveau.

5. Second lavage :

- Éliminer les anticorps non fixés en lavant à nouveau.

6. Révélation :

- Ajouter la **solution de révélation** (substrat de l'enzyme).
 - Si le prion est présent, la réaction enzymatique produit une **coloration visible**.
 - Attendre quelques minutes puis observer les résultats.
-

Résultats attendus :

- Les puits contenant du **prion PrP^{sc}** vont changer de **couleur (jaune/orange)** → résultat **positif**.
- Les puits où le prion est absent resteront **incolores ou très peu colorés** → résultat **négatif**.

Exemple de tableau :

Échantillon	Résultat observé	Interprétation
Cerveau du mouton	Jaune vif	Présence du prion
Mouton 1	Jaune clair	Présence possible
Mouton 2	Incolore	Absence de prion
Mouton 3	Jaune vif	Présence confirmée
Mouton 4	Incolore	Absence de prion

Partie B : Présentation et interprétation des résultats ; conclusion

Présentation et traitement :

On constate que plusieurs échantillons, dont celui issu du **cerveau du mouton mort**, montrent une **forte coloration**, signe de la présence de prions. D'autres échantillons issus du même troupeau peuvent aussi être positifs, indiquant une possible **contamination du cheptel**.

Interprétation :

- La **présence du prion** est confirmée dans l'échantillon du mouton mort.
 - Certains autres moutons du troupeau montrent également une **séropositivité**, ce qui **suggère une transmission** au sein de l'élevage.
 - Le test ELISA permet donc un **diagnostic rapide, fiable et spécifique** de la tremblante.
-

Conclusion :

Oui, il est **justifié d'imposer des mesures sanitaires** dans cet élevage.

La présence de la protéine prion PrP^{sc} est **confirmée par le test ELISA**, ce qui prouve que la tremblante affecte au moins un animal et probablement d'autres.

Cela permet aux autorités vétérinaires d'intervenir rapidement pour **limiter la propagation** de la maladie.