

IMMUNOLOGIE

DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE

Diagnostic immunologique d'une infection à Streptococcus pyogenes, le rhumatisme articulaire aigu (RAA). Méthode qualitative, ASO latex
INTRODUCTION

Le médecin de Mme X a reçu les résultats d'analyse que vous avez réalisée. Il s'agit bien d'une infection à Streptocoque, du groupe A. L'identification de ce groupe de bactérie, associée aux symptômes de Mme X ne laisse plus de doute au médecin, il s'agit de Streptococcus pyogenes.

Le médecin décide alors de faire une recherche de la présence d'anticorps antistreptolysine O dans le sérum de Madame X.

Car lors de cette infection, le patient produit en grande quantité des anticorps dirigés contre des molécules sécrétées par l'agent infectieux comme la streptolysine O (ou SLO). La streptolysine O est une enzyme capable de détruire les hématies, c'est-à-dire provoquer la lyse cellulaire. La production massive d'anticorps antistreptolysine (ou ASLO) correspond à une réponse immunitaire inadaptée entraînant une maladie inflammatoire générale, qui s'exprime notamment au niveau des articulations. Le diagnostic immunologique du RAA repose sur la recherche des anticorps antistreptolysine O.

Très satisfait de la rapidité avec laquelle vous avez réalisé la première analyse, le médecin de Mme X vous confie la recherche de la présence d'anticorps anti-streptolysine.

OBJECTIFS DU TP

		NA	EA	A
Objectifs	- Réaliser une recherche d'anticorps par une technique immunologique.			
	- Identifier le rôle des témoins.			

QUESTIONS PRELIMINAIRES

1. Qu'est-ce qu'une streptolysine ? Quand se retrouve-t-elle dans l'organisme humain ?
2. Qu'est-ce qu'une antistreptolysine ?
3. Quels éléments figurés du sang les synthétisent ?
4. A l'aide de la fiche technique, expliquer le rôle des témoins.
5. Réaliser un schéma de la réaction qui a lieu avec les billes de latex recouvertes d'antigènes streptolysine O et des anticorps ASLO.
6. Effectuer une analyse des risques encourus par cette activité expérimentale et préciser les mesures de prévention à appliquer.

Réactif de diagnostic *in vitro*, à usage professionnel uniquement



SIGNIFICATION CLINIQUE ^(1,2)

Les streptocoques du groupe A, responsables de la majorité des infections à streptocoques, sont à l'origine de pharyngites aiguës et d'infections de peau (impétigo, érysipèle) et peuvent conduire à des complications post-streptococciques qui surviennent à distance de l'infection telles que le rhumatisme articulaire aigu et la glomérulonéphrite aiguë.

Les streptocoques produisent diverses toxines dont les principaux anticorps antienzymes streptococciques sont : l'anti-streptolysine O (ASO), l'anti-streptodornase (ASD), l'anti-streptohyaluronidase (ASH) et l'anti-streptokinase (ASK).

La mesure du taux d'anticorps antistreptolysine O est utilisé pour le diagnostic sérologique des manifestations post-streptococciques.

METHODE

Qualitative ou semi-quantitative.

Réaction d'agglutination directe sur particules de latex.

PRINCIPE

L'ASO latex est un test permettant la détection et la titration semi-quantitative des anticorps anti-streptolysine O présents dans le sérum humain.

Le réactif est constitué d'une suspension de particules de latex recouvertes avec de la streptolysine-O purifiée et stabilisée. Au contact de sérums de patients contenant un taux élevé d'anti-streptolysine O, les particules de latex agglutinent dans les 2 minutes.

COMPOSITION DES REACTIFS ET MATERIEL FOURNI

Réactif R	2 x 2,5 mL
Suspension de particules de latex polystyrène (approximativement 1,5%) sensibilisées avec de la streptolysine O.	
Contrôle positif	2 x 0,5 mL
Sérum contenant des anticorps anti-streptolysine O.	
Contrôle négatif	2 x 0,5 mL
Sérum ne contenant pas d'anticorps anti-streptolysine O.	
Bâtonnets plastique	100
Plaque de réaction en verre	1

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Micropipettes
- Solution saline (0,9% NaCl)

PRECAUTIONS

- Les réactifs et les contrôles contiennent de l'azide de sodium (< 0,1%). L'azide de sodium peut réagir avec le cuivre ou le plomb et former des azides métalliques explosifs. La réglementation en vigueur concernant l'élimination des déchets dangereux doit être respectée ; en cas de rejet dans les canalisations, rincer abondamment avec de l'eau.
- Les contrôles contiennent des éléments d'origine humaine. Respecter les précautions d'usage et les bonnes pratiques de laboratoire. Les matériaux d'origine humaine doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Les matériaux utilisés ont été préparés uniquement à partir de sang de donneurs trouvés négatifs pour l'antigène de surface du virus de l'Hépatite B (AgHBs), pour les anticorps anti-HCV (Hépatite C) et pour les anticorps anti-VIH1/VIH2. Il est toutefois recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage.
- Eviter l'exposition à des températures élevées et à la lumière directe du soleil.
- Utiliser du matériel de laboratoire propre ou à usage unique afin d'éviter toute contamination.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

1. Déposer 20 μ L de sérum à tester et de témoins positif et négatif dans les cercles de la plaque de réaction.
2. Agiter et déposer 20 μ L de la suspension de latex ASO à côté de chaque goutte d'échantillon et de témoins.
3. Mélanger les deux gouttes à l'aide d'un bâtonnet sur toute la zone circulaire. Utiliser un bâtonnet différent pour chaque échantillon.
4. Imprimer de lentes rotations pendant 2 minutes tout en observant la formation d'une agglutination.
5. Observer sous lumière vive.

Note : Une lecture au delà des 2 minutes peut conduire à un résultat erroné.

RESULTAT ET INTERPRETATION

Réaction positive: Une agglutination visible des particules s'est produite au bout de 2 minutes. Le taux d'ASO est supérieur à la limite de détection.

Réaction négative: Aucune agglutination n'est visible au bout de 2 minutes (suspension homogène lisse). Le taux d'ASO est inférieur à la limite de détection.

Le sérum de contrôle négatif ne doit pas présenter d'agglutination après 2 minutes.

Le sérum de contrôle positif doit présenter une agglutination après 2 minutes.

RESULTATS

1. Représenter sous forme d'un schéma les résultats obtenus pour les témoins et l'échantillon de Madame X.
2. Conclure sur la présence d'anticorps antistreptolysine O dans le sérum de Madame X.