

IMMUNOLOGIE

GROUPAGE ABO

Technique d'analyse immunologique : contrôle qualité d'un sérum test anti-AgA utilisé pour le groupage sanguin ABO avant sa commercialisation.

INTRODUCTION

L'immunothérapie érythrocytaire étudie les propriétés antigéniques des hématies comme les groupes sanguins.

Les caractéristiques d'un lot de sérum test anti-Ag A, utilisé pour le groupage sanguin ABO doivent être testées, afin d'autoriser ou non sa mise sur le marché. Pour cela, un échantillon choisi au hasard est prélevé sur la chaîne de production de l'usine qui produit le sérum test. D'après la circulaire de la Direction Générale de la Santé 284/84, les caractéristiques et les normes des réactifs utilisés en immunohématologie érythrocytaire sont les suivantes :

- le réactif doit reconnaître exclusivement les échantillons des globules rouges porteurs de l'antigène correspondant et en doit agir avec aucun autre antigène distinct de ce dernier. Ceci qualifie sa spécificité.
- le réactif doit être puissant. La puissance est appréciée par trois critères : le titre, l'avidité et l'intensité.

Responsable recherche et développement au sein de l'usine de production du sérum test, vous êtes chargé de vérifier les caractéristiques du sérum test avant sa commercialisation.

OBJECTIFS DU TP

		NA	EA	A
Objectifs	- Mise en œuvre d'un contrôle qualité d'un sérum test.			
	- Identifier le rôle des témoins.			
	- Etablir un logigramme.			

QUESTIONS PRELIMINAIRES

1. Représenter, par un schéma légendé, l'immunocomplexe démontrant la spécificité du sérum test anti-Ag A.
2. Proposer un schéma légendé d'une hématie du groupe B, montrant que le sérum test anti-Ag A ne peut pas former d'immunocomplexes avec les Ag B qu'elle porte.
3. En analysant la procédure opératoire :
 - préciser l'intérêt du témoin réalisé avec les hématies tests B ;
 - présenter sous forme d'un logigramme la procédure opératoire 2 qui correspond à la détermination du titre en anticorps du sérum test anti-Ag A à contrôler.
 - lister le matériel à utiliser pour réaliser cette procédure.
 - effectuer une analyse des risques encourus par cette activité expérimentale et préciser les mesures de prévention à appliquer.
 - représenter le pictogramme à apposer sur certains réactifs en décrivant le risque encouru.

1. Vérification de la spécificité, de l'avidité et de l'intensité du sérum test anti-Ag A à contrôler

Sur une plaque de groupage, déposer :

- une goutte d'hématies tests A en suspension à 10 % en eau physiologique ;
- une goutte de sérum test anti-Ag A à contrôler.

Mélanger avec un agitateur et déclencher le chronomètre une fois le mélange réalisé, l'arrêter au moment de l'apparition des agglutinats, noter la durée ; celle-ci correspond à l'avidité.

Observer l'agglutination, apprécier son intensité et la qualifier à l'aide du document 1.

Sur la même plaque, réaliser un témoin avec les hématies test B.

1 | Caractéristiques d'un sérum test anti-Ag A utilisable pour le groupage ABO

- La **spécificité** : le sérum test anti-Ag A ne doit reconnaître que les hématies du groupe A porteurs de l'Ag A.
- La **puissance** : le sérum test anti-Ag A doit répondre aux trois résultats attendus suivants :

Titre	64
Avidité	8 s
Intensité	+++

- Le **titre** du sérum test est recherché à partir d'une gamme de dilutions au $\frac{1}{2}$, réalisée en eau physiologique. Le titre correspond à l'inverse de la plus forte dilution donnant encore une agglutination bien visible à l'œil nu.
- L'**avidité** du sérum test est donnée par le temps d'apparition de l'agglutination.
- L'**intensité** est appréciée, au bout de 3 min après mélange, par un système de « + » et de « - » selon le tableau suivant :

Forte agglutination	Assez forte agglutination	Agglutination moyenne	Faible agglutination	Pas d'agglutination
+++	++	+	+/-	-

2. Détermination du titre en anticorps du sérum test anti-Ag A à contrôler

Dans 10 tubes à hémolyse, réaliser une gamme de dilutions en série au $\frac{1}{2}$, en eau physiologique, du sérum test à contrôler, de la dilution initiale $\frac{1}{2}$ à la dilution finale 1/1024. Le volume final après dilution dans chaque tube est de 50 µL (éliminer 50 µL du de la dernière dilution).

Dans chacun des tubes, ajouter 50 µL d'hématies tests A fournies à 5% en eau physiologique.

Agiter délicatement puis centrifuger pendant 1 min à 2000 tours par minutes.

Après une légère agitation pour décoller le culot, lire à l'œil nu sur fond blanc, la présence ou non d'agglutinats.

Tubes n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Eau physiologique (μL)										
Sérum test anti-Ag A (μL)										
Volume à redistribuer (μL)										
Dilution initiale du sérum (avant ajout des GR)										
Globules rouges à 5% (μL)										
Dilution finale du sérum (après ajout des GR)										

RESULTATS

1. Présenter les résultats obtenus au cours des deux procédures opératoires.
2. Comparer ces résultats avec ceux exigés par la circulaire présentée (document 1).
3. Conclure sur la qualité du lot de sérum anti-Ag A contrôlé à commercialiser.