

## Une séquence de T.P. en immunologie

### Titration d'antigènes (antistreptolysines)

Le streptocoque  $\beta$  hémolytique sécrète la streptolysine O qui, dans l'organisme, provoque la lyse des hématies. La streptolysine (Ag) déclenche une réponse immunitaire qui aboutit à la fabrication d'antistreptolysine (Ac).

Le but de ce T.P. est de

- 1) montrer l'action de l'antigène sur les hématies (lyse) ;
- 2) mettre en évidence la formation du complexe Ag-Ac ;
- 3) montrer l'intérêt de la neutralisation de l'Ag par formation du complexe Ag-Ac.

#### MATÉRIEL

- étuve ;
- centrifugeuse ;
- portoir avec tubes à essais ;
- nombreuses pipettes ;
- ordinateur, imprimante, interface ;
- logiciel « phénomènes lents » ;
- colorimètre.

#### Produits :

(On peut se les procurer à l'adresse suivante : Laboratoire Biomérieux 69280 Marcy-l'Etoile).

- streptolysine « O » titrée, lyophilisée, macrométhode, réf. : 7228 2, prix : 102,11.
- sérum étalon antistreptolysine « O » humain, réf. : 7227 1, prix : 70,27.
- hématies de lapin, réf. : 7229 1, prix 39,38.
- tampon ASO ph 6,5 à 6,7, réf. : 7231 1, prix : 42,10.

#### RÉALISATION

##### Préparation des trois solutions

*Avant le T.P.*

- Préparer la solution d'hématies de lapin : à l'aide d'une pipette, prélever 1 ml d'hématies et diluer avec 9 ml de Ringer.
- Préparer la solution d'antistreptolysine (Anticorps) : introduire dans le flacon 1 ml d'eau distillée, prélever alors 0,1 ml de cette solution et l'étendre avec 4,9 ml de tampon ASO.

*Au moment du T.P.*

- Préparer la solution de streptolysine O (Antigène) : diluer le contenu du flacon avec 12,5 ml d'eau distillée (à utiliser dans les 15 minutes).

### Action des antigènes sur les hématies

● Dans un tube pouvant aller dans la centrifugeuse, introduire 0,5 ml de la solution d'hématies avec 0,5 ml de la solution d'antigène préparée précédemment. Laisser incuber 45 min à 37°C. Centrifuger 2 min (*fig. 1*).

● Après centrifugation ; on remarque dans le fond du tube un petit culot blanc qui correspond aux membranes des hématies, et un surnageant rouge renfermant l'hémoglobine. *Les hématies ont donc été lysées* par la streptolysine O.

### Formation des complexe Ag-Ac

On utilise, pour la visualisation du complexe Ag-Ac, un colorimètre relié à l'interface d'un ordinateur.

On place, dans le petit tube transparent du colorimètre, la solution préparée d'antigène (0,5ml). On lance la mesure. A l'écran s'inscrit une droite (*fig. 2*).

A l'aide d'une pipette on introduit 1 ml de la solution d'anticorps. On remarque alors sur l'écran un décalage dans les courbes ce qui traduit le fait que la quantité de lumière qui traverse alors la préparation est moins important, preuve de la formation des complexes Ag-Ac.

### Neutralisation de l'antigène

Mélanger alors, dans un tube pour centrifugation, la solution précédente avec 0,5 ml d'hématies. Laisser incuber 45 mn à 37°C. Centrifuger 2 min (*fig. 3*).

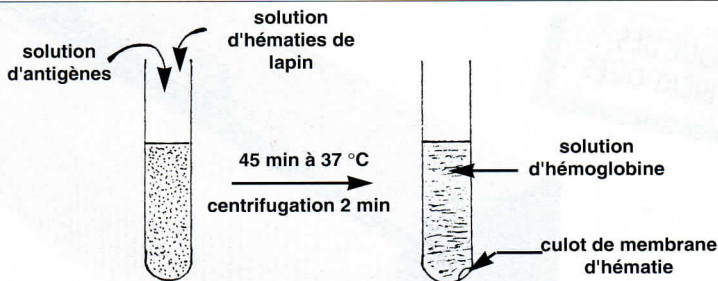
Les complexes Ac-Ag sont inactifs au niveau des globules rouges ; on observe, déjà avant la centrifugation, la sédimentation des hématies. Après centrifugation on constate dans le fond du tube un culot rouge formé par les hématies et un surnageant incolore : les hématies sont restées intactes, il n'y a pas eu lyse.

## INTÉRÊT

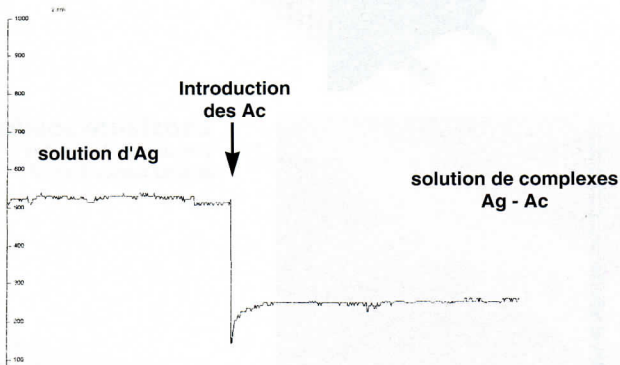
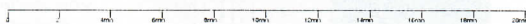
Ce T.P. correspond à un chapitre du programme de T.D. sur l'immunologie et pour lequel on disposait de peu de manipulations. Nous avons apprécié dans ce T.P. :

- sa facilité de manipulation,
- une interprétation qui peut être visuelle,
- sa rapidité d'exécution.

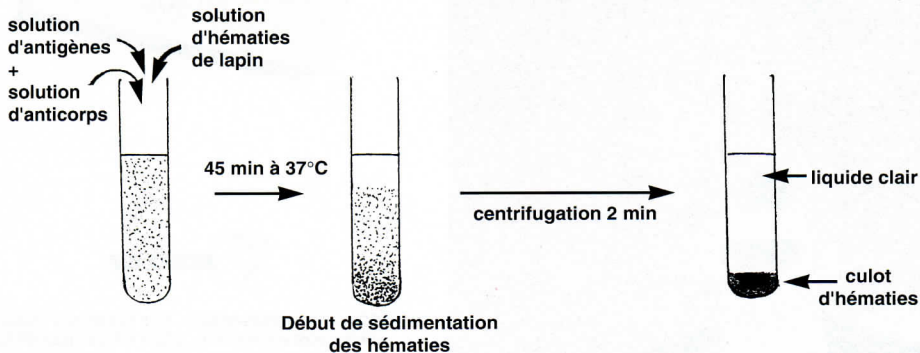
# Titration d'antigènes (antistreptolysines) suite



1. – Action des antigènes sur les hématies : lyse.



2. – Courbe obtenue avec le colorimètre : formation du complexe Ag-Ac.



3. – Neutralisation de l'Ag : les hématies ne sont pas lysées.