

Reconnaissance d'un antigène par un anticorps par agglutination Sérodiagnostic de la Brucellose

Immunologie - Fiche technique - TP 4

Sources : doctissimo, notice du matériel utilisé (Jeulin)

A. Présentation de la maladie

La brucellose est une infection bactérienne commune à certains animaux et à l'homme : on parle d'anthropozoonose (c'est une maladie transmissible des animaux à l'Homme).

C'est une maladie très contagieuse est causée par une bactérie du genre *Brucella* (*B. melitensis*, *B. abortus bovis*, *B. abortus suis*). Elle est en fort développement dans les pays en voie de développement.

« L'homme se contamine au contact des animaux infectés (bovins, caprins, ovins) ou à l'occasion de l'ingestion d'aliments d'origine animale (lait, fromages). Le germe pénètre dans l'organisme par la peau ou par voie digestive » (*Doctissimo*).

La brucellose aiguë se traduit par de fortes fièvres, des douleurs musculaires, une très forte fatigue. Elle reste très souvent silencieuse et forme une maladie chronique mal identifiable.

L'infection par la bactérie *Brucella* provoque la formation d'anticorps anti-*Brucella* (agglutinines). La détection dans un sérum de ces anticorps (séropositivité) révèle l'infection à *Brucella*.

B. Principe de la méthode du Rose Bengale

On utilise une suspension de *Brucella abortus* inactivées par la chaleur et le phénol à 0,5% puis colorées par le Rose Bengale et conservant les antigènes

L'addition des anticorps spécifiques du sérum d'un individu ayant contracté la maladie à la suspension de *Brucella abortus* inactivées et colorées provoque leur agglutination. Cette agglutination est semblable à l'hémagglutination des globules rouges par l'anticorps correspondant (utilisé dans le test de détermination des groupes sanguins).

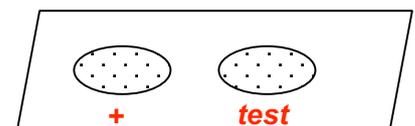
La mise en évidence se réalise sur lame biconcave ou sur un dispositif à de carte à agglutination. L'observation des amas colorés au Rose Bengale se fait rapidement à l'œil nu.

C. Protocole.

- On utilise une lame à 2 concavités (ou une carte test). Si on utilise une lame à deux concavités, numéroter au crayon gras rouge l'emplacement du témoin positif et du test.

Attention à ne pas mélanger les micropipettes durant la manipulation !

- Déposer avec une micropipette 30 µL de sérum témoin positif puis avec une autre micropipette 30 µL d'antigène. Mélanger quelques secondes avec un agitateur.
- Déposer avec une micropipette 30 µL de sérum à tester puis avec une autre micropipette 30 µL d'antigène. Mélanger quelques secondes avec un agitateur.



Si vous utilisez des lames porte-objet, ne pas recouvrir de lamelles couvre-objet.

Ne jamais laisser la micropipette au contact avec la suspension. Chasser les gouttes restantes pour éviter le séchage.

- Agiter lentement la lame ou la carte test durant 3 minutes par un mouvement de rotation.
- La formation d'agglutinats est visible à l'œil nu au bout dès la 4^e minute. Il faut mesurer précisément la durée. Au-delà de cette durée, des réactions d'agglutination non spécifiques peuvent avoir lieu.
- On peut confirmer la formation d'agglutinats par un examen des gouttes à la loupe (ou au microscope au faible grossissement, lorsqu'on utilise des lames biconcaves).
- Après utilisation, laisser tremper l'ensemble du matériel utilisé dans l'eau de javel contenue dans le petit cristalliseur.