

# TECHNIQUES DE NEUTRALISATION

## 1. Principe

Ce sont des réactions antigène-anticorps spécifiques permettant de mettre en évidence un anticorps en utilisant son pouvoir neutralisant sur un effet biologique visible d'un antigène. Ce sont donc des techniques qui permettent de réaliser un sérodiagnostic.

## 2. Étapes des techniques de neutralisation

### 2.1. Déroulement de la réaction immunologique

Mise en contact du liquide biologique à tester (en général le sérum dans lequel on recherche un anticorps) avec le réactif contenant l'antigène. Incubation pour permettre à une éventuelle réaction immunologique de se réaliser.

### 2.2. Révélation de la réaction immunologique

Ajout de la cible de l'antigène et incubation pour permettre à l'antigène d'exprimer sa propriété biologique. Observation ou non de l'effet biologique. L'absence d'effet biologique de l'antigène sur la cible montre qu'il a été suffisamment neutralisé et donc la présence significative d'anticorps dans l'échantillon. Ces méthodes sont soit :

- qualitative : présence ou absence de l'anticorps
- semi-quantitative : détermination d'un ordre de grandeur de la concentration en anticorps par encadrement de dilutions en cascade

### 2.3. Détermination du titre

La « concentration » en Ac est appelée Titre d'un sérum. Le **titre** est l'inverse de la dernière ou la première dilution pour laquelle il y a neutralisation totale de l'effet biologique.

Les techniques semi-quantitatives peuvent se réaliser :

- soit en réalisant des dilutions en cascade du sérum à doser, puis en les mettant en contact avec des quantités identiques d'antigènes

Dilutions du sérum à doser (Ac)	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Volume de réactif (Ag)	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Effet biologique visible	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Neutralisation	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non	Non

Le titre est de 8.

- Soit en mettant en contact une quantité fixe d'anticorps apportés par le sérum à doser avec des quantités décroissantes d'antigènes

Dilutions du réactif (Ag)	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Volume de sérum à tester (Ac)	V	V	V	V	V	V	V	V	V
Effet biologique visible	Oui	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non	Non
Neutralisation	Non	Non	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

Le titre est de 16.

### 3. Applications au laboratoire

- Neutralisation d'une activité enzymatique
- Neutralisation d'un effet toxique
- Neutralisation de l'hémagglutination virale (IHA pour Inhibition d'une HémAgglutination)
- Neutralisation de l'activité cytopathogène d'un virus

#### 3.1. Neutralisation d'une activité enzymatique

Exemple : sérodiagnostic des infections streptococciques.

##### 3.1.1. Infections à streptocoques

Les streptocoques, bactéries commensales des muqueuses de l'Homme et des animaux présentent plusieurs espèces dotées de pouvoir pathogène pour l'Homme. On peut citer en particulier l'espèce *Streptococcus pyogenes* du groupe A de Lancefield ( $\beta$ -hémolytique). Cette bactérie peut être responsable d'angines rouges, d'infections cutanées, de péritonites... Elle peut donner lieu dans certains cas à des complications graves : Rhumatismes Articulaires Aigus (R.A.A.), Glomérulo-Néphrite Aigüe (G.N.A.).

En cas de suspicion de ces complications, il faut savoir si le patient a été en contact récent avec *S. pyogenes*.

On cherche donc à détecter puis à doser les Ac présents dans le sérum du patient appelés ASLO (Anticorps anti-StreptoLysine O) et/ou ASD (Anticorps anti-StreptoDornase). Ces molécules sont des enzymes produites par la bactérie lors de l'infection qui sont immunogènes.

##### 3.1.2. Mise en évidence des ASLO : test qualitatif

Il existe une technique qualitative de détection sur lame par agglutination passive.

Des particules de latex sensibilisées avec de la streptolysine O (SLO) agglutinent en présence d'un sérum contenant des anti-streptolysines O (ASLO) à un taux supérieur ou égal à  $200 \text{ UI}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Ce n'est donc pas une méthode de neutralisation !!!

Le taux de  $200 \text{ UI}\cdot\text{mL}^{-1}$  est le seuil de positivité.

Lorsque le taux est supérieur à  $200 \text{ UI}\cdot\text{mL}^{-1}$ , il faut quantifier par une méthode semi-quantitative.

##### 3.1.3. Détermination du titre en ASLO : test semi-quantitatif

Ce test est basé sur le principe de neutralisation de l'activité enzymatique. Les ASLO sont des anticorps anti-streptolysines O. Ils sont titrés par une réaction de neutralisation de l'activité enzymatique de la SLO. La détermination du titre peut se réaliser par l'une ou l'autre des méthodes (paragraphe 2.3.).

### 3.2. Neutralisation de l'activité virale

Lors d'une infection virale, il y a production d'anticorps spécifiques dirigés contre les antigènes viraux. Ces anticorps forment avec les virus des immun-complexes.

Par rapport à la classification donnée précédemment, l'activité virale neutralisée peut être :

- soit son effet pathogène sur la cellule (Effet CytoPathogène ou ECP) ;
- soit l'agglutination des hématies pour certains virus (IHA).

#### 3.2.1. Neutralisation de l'Effet CytoPathogène (ECP)

Lorsqu'un virus infecte une cellule, il se multiplie à l'intérieur, ce qui conduit à des modifications cellulaires parfois visibles au microscope optique ou éventuellement à la destruction cellulaire. On parle d'Effet CytoPathogène (ECP).

**But** : détecter et éventuellement doser des Ac d'un sérum afin de savoir si le patient a été en contact avec le virus = sérodiagnostic

**Principe** : Mise en contact du sérum à tester avec un virus avant d'infecter des cellules permissives au virus.

Si on observe d'effet cytopathogène, cela signifie que le sérum du patient contient des anticorps qui ont neutralisé le virus.

Si on observe un effet cytopathogène, cela signifie que le virus a exercé son pouvoir pathogène sur les cellules et donc que le sérum du patient ne contient pas d'anticorps, le patient n'a pas infecté par ce virus.

Des témoins de spécificité sont réalisés avec virus sans sérum et sérum seul sans virus.

Rechercher la plus grande dilution du sérum pour laquelle l'ECP du virus n'est pas présent, l'inverse de dilution du sérum sera le titre en Ac.

**Technique** : réalisation de dilutions en cascade du sérum, mise en contact avec une quantité fixe de suspension virale (neutralisation ou pas) puis inoculation d'une culture cellulaire pour chaque dilution.

**Interprétation** : le titre correspond à la plus grande dilution qui ne donnera pas d'effet cytopathogène.

#### 3.2.2. Inhibition de l'HémAgglutination virale (IHA)

De nombreux virus ont à leur surface des structures qui se fixent sur les hématies (en général sur des structures glycosidiques). Ces structures virales sont appelées des hémagglutinines virales et elles sont immunogènes. Quand un organisme est infecté par un virus, l'organisme produit des anticorps neutralisants dirigés contre les antigènes viraux et, en particulier, contre les hémagglutinines virales.

On peut avoir recours à la recherche des anticorps anti-hémagglutinines par inhibition de l'hémagglutination : mise en contact du virus à typer possédant une hémagglutinine avec les anticorps spécifiques ; incubation puis ajout des hématies.

Si on n'observe pas d'hémagglutination, cela signifie que le sérum du patient contient des anticorps qui ont neutralisé le virus.

Si on observe une hémagglutination, cela signifie que le virus s'est fixé sur les hématies et donc que le sérum du patient ne contient pas d'anticorps, le patient n'a pas infecté par ce virus.

Exemples : *Myxovirus* (grippe) *Paramyxovirus* (rougeole), *Rubivirus* (rubéole), *Adenovirus* (pharyngite, conjonctivite...).