

SVT	Thème 3C : Comportement et stress : vers une vision intégrée de l'organisme	Term Spé SVT
TP	Chapitre 1 : Stress aiguë, l'adaptabilité de l'organisme	ESTHER

TP 14 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing – Le dosage du cortisol

« Le **syndrome de Cushing** regroupe l'ensemble des manifestations cliniques induites par une exposition chronique à un excès endogène de glucocorticoïdes (comme le cortisol). Il comporte de nombreux symptômes non spécifiques comme l'obésité, l'hypertension artérielle, les troubles de la glycorégulation, les troubles de l'humeur. Non traité, il induit une surmortalité et une morbidité significative, notamment cardiovasculaire. Son diagnostic et son traitement restent délicats. »

(Source : Protocole National de Diagnostic et de Soins – Syndrome de Cushing / www.has-sante.fr/)

Mise en situation et recherche à mener

M. Z présente une fatigue nerveuse, des troubles du sommeil mais aussi un visage gonflé et des accumulations de graisse au niveau du cou et du haut du dos. Son médecin suppose alors qu'il est atteint du syndrome de Cushing.

On cherche à déterminer, par un test ELISA, si M. Z est atteint du syndrome de Cushing.

Ressources

Ressource 1 - Deux méthodes de diagnostic du syndrome de Cushing : (Source : www.has-sante.fr/)

Les examens conseillés en première intention, en ambulatoire si le patient est compliant, sont l'un et/ou l'autre des examens suivants :

- 2 à 3 mesures de la cortisolurie des 24 heures avec créatininurie.
- 2 à 3 mesures du cortisol salivaire nocturne (classiquement à 24 heures)

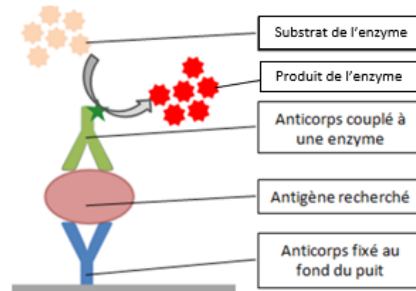
Ressource 2 - Valeurs normales de concentration en cortisol dans le sérum ou la salive :

Concentration en cortisol, le matin (en $\mu\text{g.dL}^{-1}$)	Dans le sérum	Dans la salive
	5,00 - 25,00	0,20 - 1,41

Ressource 3 - Principe du test ELISA lors de la recherche d'un antigène :

On utilise des puits tapissés avec des anticorps dirigés contre un antigène recherché. La solution à tester est ensuite déposée dans un puits et si l'antigène recherché est présent, il va se fixer aux anticorps présents au fond du puits. On rajoute alors dans le puits une solution d'anticorps spécifiques de l'antigène recherché couplés à une enzyme. Les puits sont alors rincés. Ainsi, les anticorps non fixés sont éliminés. Lorsqu'on rajoute dans le puits le substrat de l'enzyme, il se forme un produit coloré.

Par conséquent, plus la quantité d'antigène recherché est importante, plus la quantité de produit coloré obtenue après ajout du substrat est importante, plus la couleur du puits est intense.



Matériel – liste non exhaustive

- Tube(s) de salive de patients dont Mr Z ;
- Barrettes de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti-cortisol ;
- Solution AC2 d'anticorps de détection anti-cortisol, couplés à une enzyme ;
- Solution S de substrat de l'enzyme ;
- Solutions de cortisol de différentes concentrations connues
- Fiche technique « Dosage d'antigènes par l'utilisation du test ELISA », ...

Consignes (type ECE)

- Proposer une stratégie** de résolution réaliste, à partir des ressources, du matériel et du protocole d'utilisation proposés. **Préciser le matériel** dont vous aurez besoin pour mettre en œuvre votre stratégie. **Mettre en œuvre votre protocole (+ fiche d'aide)** pour obtenir des résultats exploitables.
- Sous la forme de votre choix, présenter et traiter les données brutes** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème. **Exploiter** les résultats pour résoudre la situation problème.

SVT	Thème 3C : Comportement et stress : vers une vision intégrée de l'organisme	Term Spé SVT
TP	Chapitre 1 : Stress aiguë, l'adaptabilité de l'organisme	ESTHER

TP 14 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing – Le dosage de la cortisol

Matériel et protocole d'utilisation du matériel

Matériel :

- Tube(s) de salive du patient ;
- Barrettes de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti-cortisol ;
- Solution AC2 d'anticorps de détection anti-cortisol, couplés à une enzyme ;
- Solution S de substrat de l'enzyme ;
- Solution de lavage L ;
- Micropipette avec embouts ;
- Solutions de cortisol de différentes concentrations connues
 - C3 : $0,20 \text{ mg.dL}^{-1}$
 - C2 : $1,41 \text{ mg.dL}^{-1}$
 - C1 : $2,5 \text{ mg.dL}^{-1}$;
- Matériel laboratoire classique
- Fiche technique « Dosage d'antigènes par l'utilisation du test ELISA ».

Afin de déterminer si M. Z est atteint du syndrome de Cushing :

Réalisez un test ELISA.

Sécurité : Les produits utilisés sont des produits de substitution permettant de modéliser les mécanismes mis en jeu. Parmi les produits utilisés, certaines solutions sont corrosives.

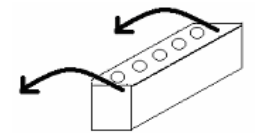


Précautions de la manipulation :

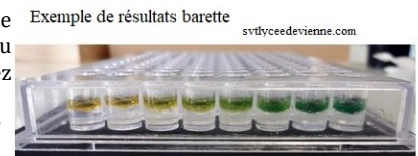


Protocole

- Repérer les puits et déposer** 20 μL (ou une goutte) des différentes solutions à tester (une par puits). **Laisser incuber** 3 min à température ambiante
- Vider** la barrette en la renversant d'un geste rapide au-dessus de l'évier de manière à éviter le mélange des produits.
- Laver** les puits : remplir 20 μL de la solution de lavage L puis vider cette solution de rinçage. **Tamponner** ensuite les puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.
- Ajouter** 20 μL de solution d'anticorps de détection AC2. **Laisser incuber** 3 min à température ambiante.
- Vider** la barrette en la renversant d'un geste rapide au-dessus de l'évier de manière à éviter le mélange des produits.
- Laver** les puits : **remplir** tous les puits avec la 20 μL de solution de lavage L (eau distillée), en évitant les débordements, et vider immédiatement comme précédemment.
- Mettre** dans les puits 20 μL de la solution S de substrat.



8- **Lisez** les résultats en vous appuyant sur le document support et les informations du document ressource. Attention, adaptez votre lecture au contenu de vos puits.
Le jaune marque une absence de cortisol, le vert une présence et le violet une abondance forte.



D'après svtlycee.devienn.com