

Suite du cours diagnostic Bactériologique

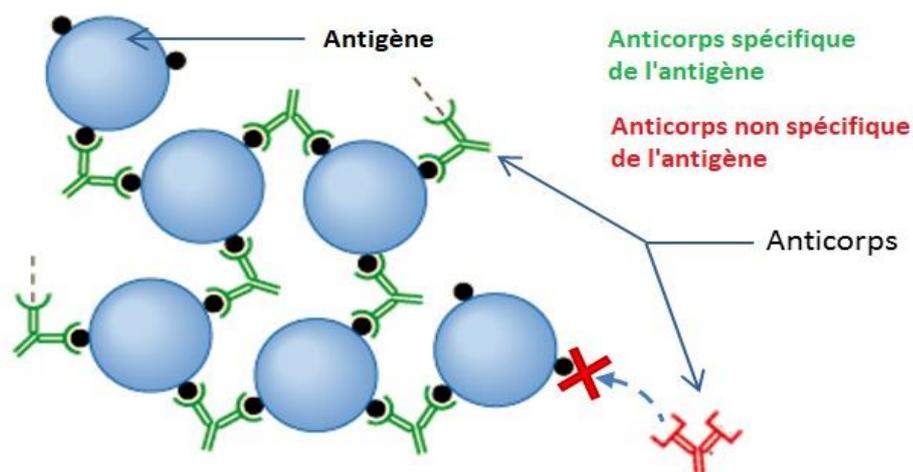
II.2. Diagnostic indirecte

Ce diagnostic se base sur la détection des anticorps. Et nous distinguons :
Les méthodes qualitatives et les méthodes quantitatives.

A/ Les Méthodes qualitatives :

Le principe consiste à fixer un anticorps spécifique sur l'antigène d'intérêt (**voir figure ci après**) puis à révéler la présence de cet anticorps, soit avec un second anticorps « anti-anticorps » accroché sur des microparticules ou sur lequel est fixée une enzyme (**exemple : peroxydase**).

On utilise ces méthodes en cytologie ainsi qu'en biochimie.



La formation du complexe immunitaire à partir des anticorps sériques spécifiques de l'antigène

B/Méthodes quantitatives :

On distingue deux grands types d'immuno-dosages utilisant un marqueur, selon que le réactif ;

Explication :

L'antigène à doser se lie à l'anticorps fixé. Il est ensuite révélé par un anticorps marqué. Puis on mesure la fraction liée.

Parmi ces méthodes, nous retrouvons :

➤ Méthodes immunométriques

La totalité de l'antigène à doser se lie à l'anticorps fixé. Il est ensuite révélé par un anticorps marqué.

On mesure la fraction liée, qui augmente avec la concentration en antigène à doser (linéairement pour de faibles concentrations).

Ci après un schéma explicatif.

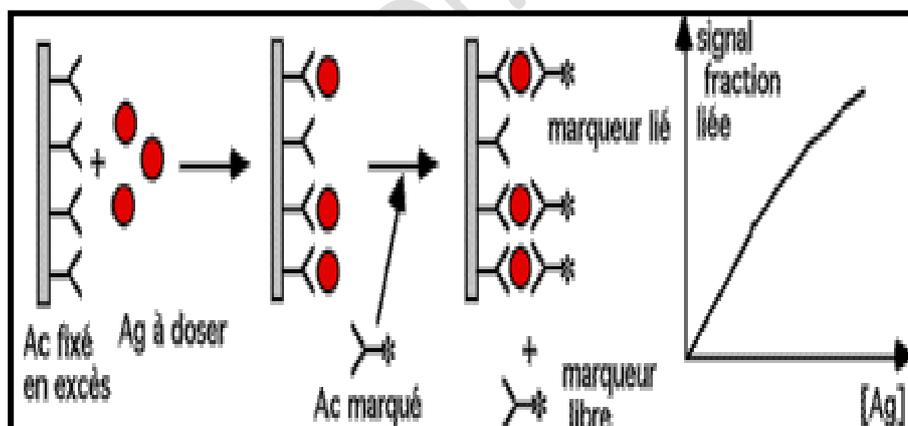


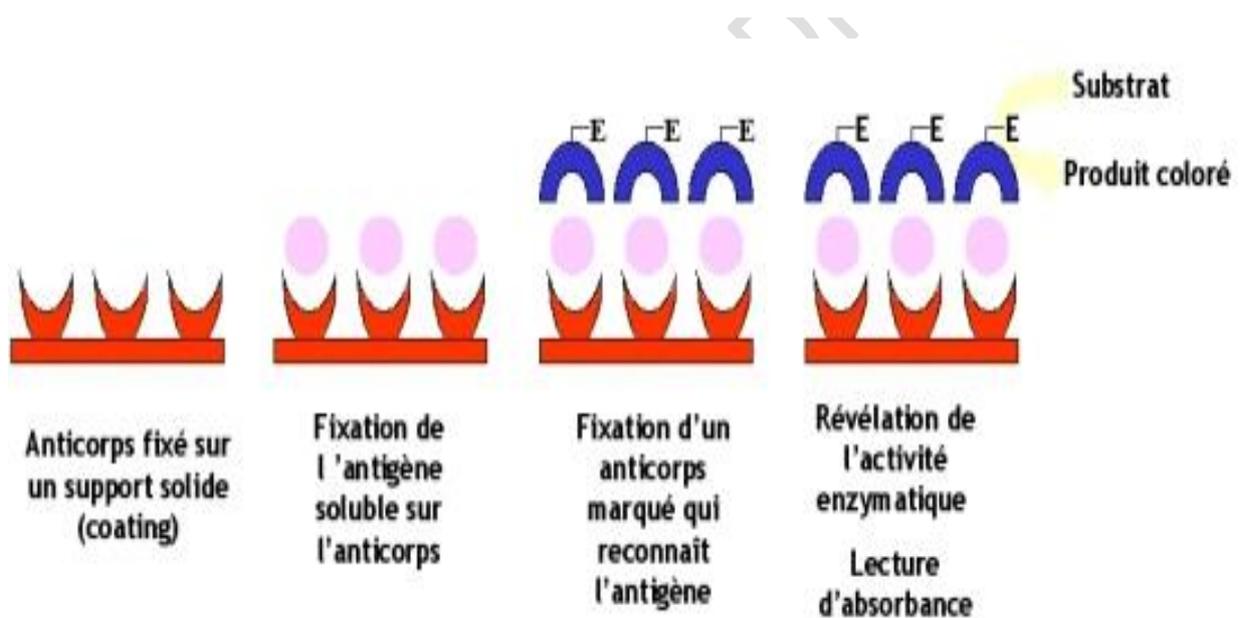
Schéma Explicatif : Méthodes immunométriques

➤ Détection d'antigènes :

Au cours des infections, certaines protéines du pathogène sont libérées dans le sang, ce sont les «**antigènes solubles**». Ils sont présents dans le sang.

Pour détecter ces antigènes, on utilise l'application de «**ELISA** ». Dans cette application : un anticorps antiviral est fixé sur un support solide (voir schéma). Le principe général du test ELISA reste le même.

NB : Il existe de nombreux tests automatisés ou des tests unitaires utilisant cette application d'ELISA.



Principe de l'ELISA pour rechercher des antigènes.

II.3. Détection d'acides nucléiques :

Il est possible de détecter **l'ADN** ou **l'ARN** d'un pathogène par hybridation. Le principe de base de cette technique est tout simplement celui de la complémentarité des doubles brins.

Si on soumet les acides nucléiques à une température élevée (94°C), les brins se dissocient. Lors du refroidissement, On rajoute des sondes complémentaires, les sondes s'apparenteront alors au brin cible. Ces sondes sont généralement marquées à l'aide de marqueurs radioactifs, facilement identifiable.

C'est la « **PCR** » : réaction de polymérisation en chaîne « **Polymerase Chain Reaction** ». Cette méthode permet **de cibler des fragments d'ADN précis** et de les détecter. Elle se fait à l'aide d'amorces spécifiques et d'un appareil appelé : **Thermocycleur**.

Pour résumer : La « PCR » est une identification par ADN, ainsi, un gène de la bactérie recherchée sera ciblé et répliqué. C'est une méthode très fiable.