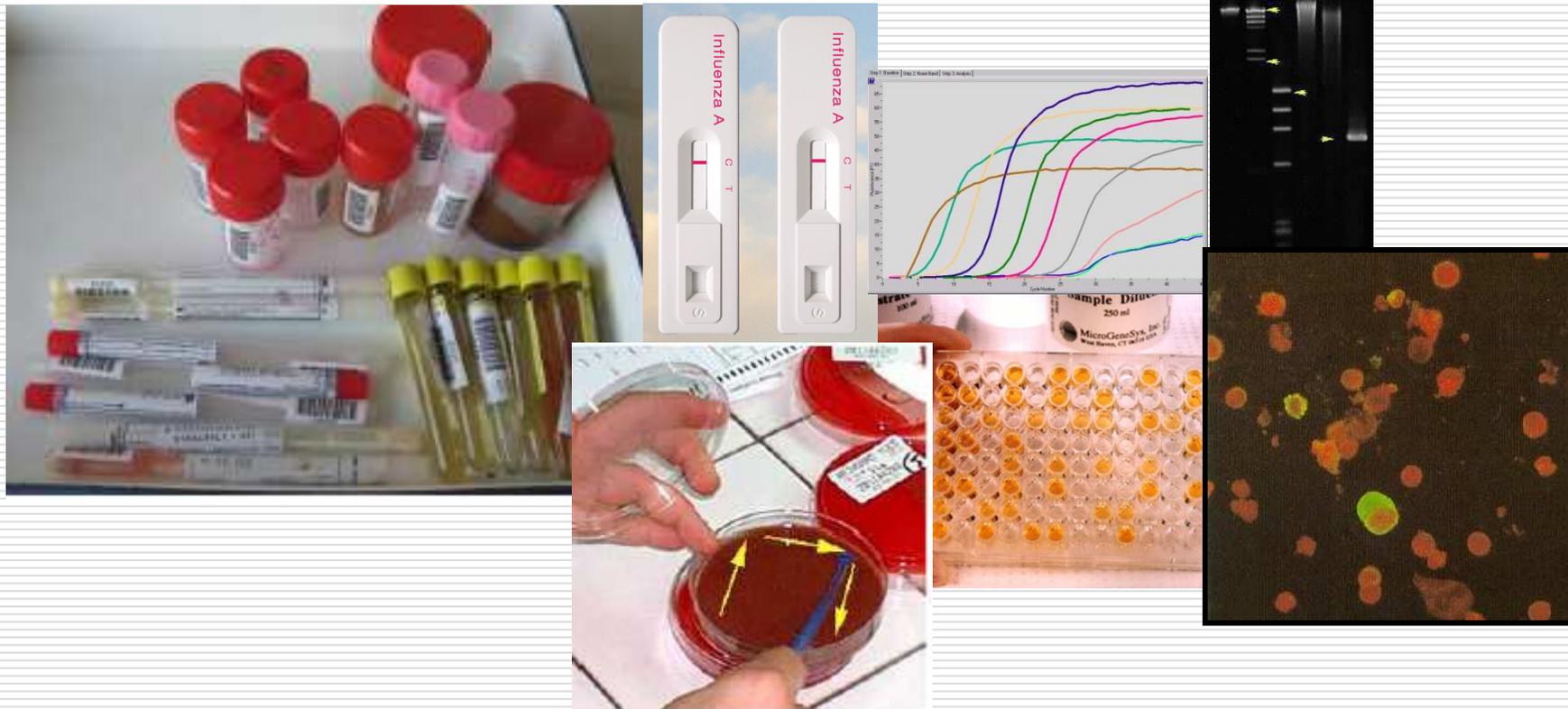


Diagnostic Biologique en Microbiologie



Pourquoi avoir recours au diagnostic biologique?

- Etiologie
 - Dépistage
 - Evaluation pronostique, suivi thérapeutique...
 - Optimisation thérapeutique
 - Epidémiologie....
-

Diagnostic direct VS Diagnostic indirect

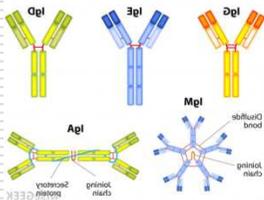
■ Diagnostic direct

- Mise en évidence de l'agent infectieux (ou un de ses composants...)



■ Diagnostic indirect

- Mise en évidence de la réaction immunitaire de l'hôte à l'infection = sérologie (sérodiagnostic)



Diagnostic direct: Intérêts

- Infection aigue = pose le Dg + étiologique
 - Possibilité étudier comportement vs anti-infectieux
 - Possibilité de dénombrement, quantification
 - VS flore endogène
 - VS latence
 - Infections chroniques et/ou latentes
 - Cf sérologie non contributive
-

Diagnostic direct: Cibles

- L'agent pathogène lui-même
 - Examen direct, coloration, microscopie...
 - Culture

 - Ses structures
 - Ses protéines = détection antigénique
 - Son génome = Biologie moléculaire
-

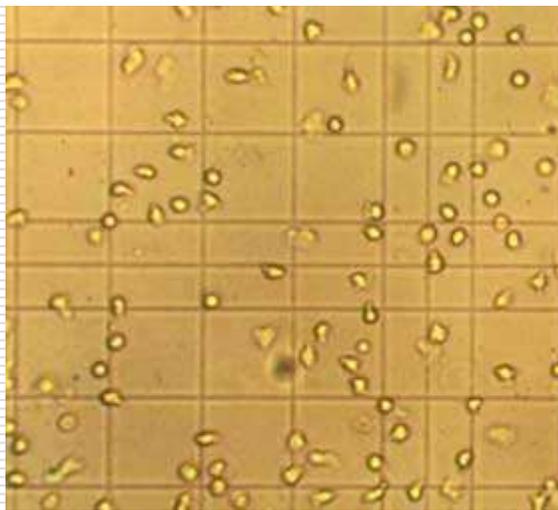
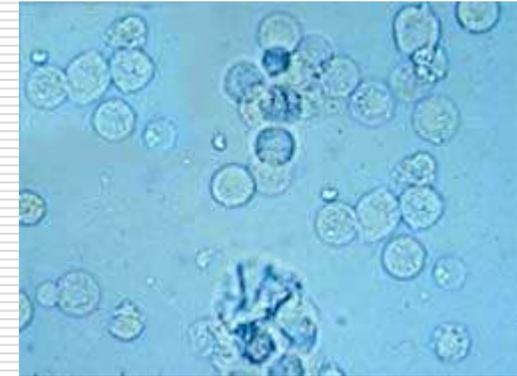
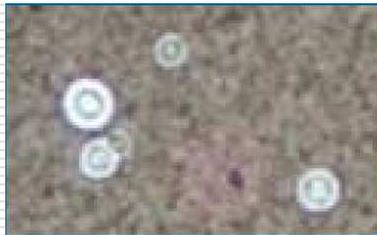
Diagnostic direct: Prélèvements

- Type de prélèvement
- Moment du prélèvement
- Technique de prélèvement
- Transport du prélèvement

NB: Classe de confinement...

Diagnostic direct: Techniques

■ Examen direct (état frais)



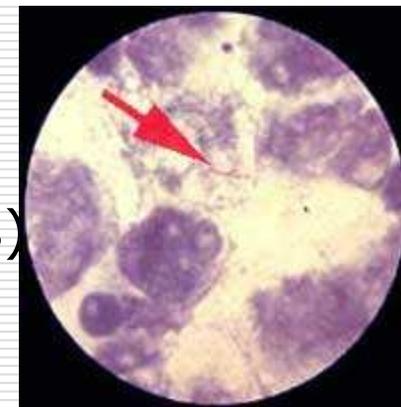
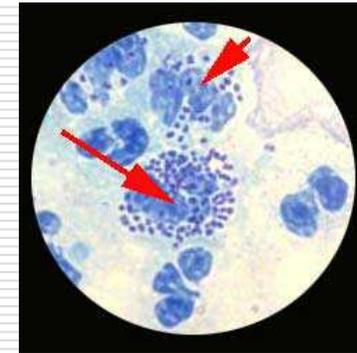
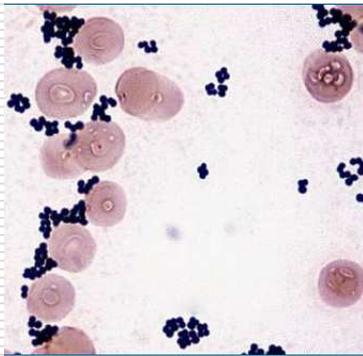
Permet également de faire examen Cytologique
Dénombrement Hématies, Leucocytes...

Ex: Examen Cyto-Bactériologique des Urines ECBU
GR < 10000/mL
GB < 10000/mL

Diagnostic direct: Techniques

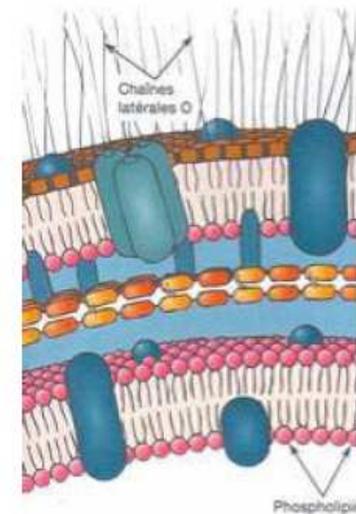
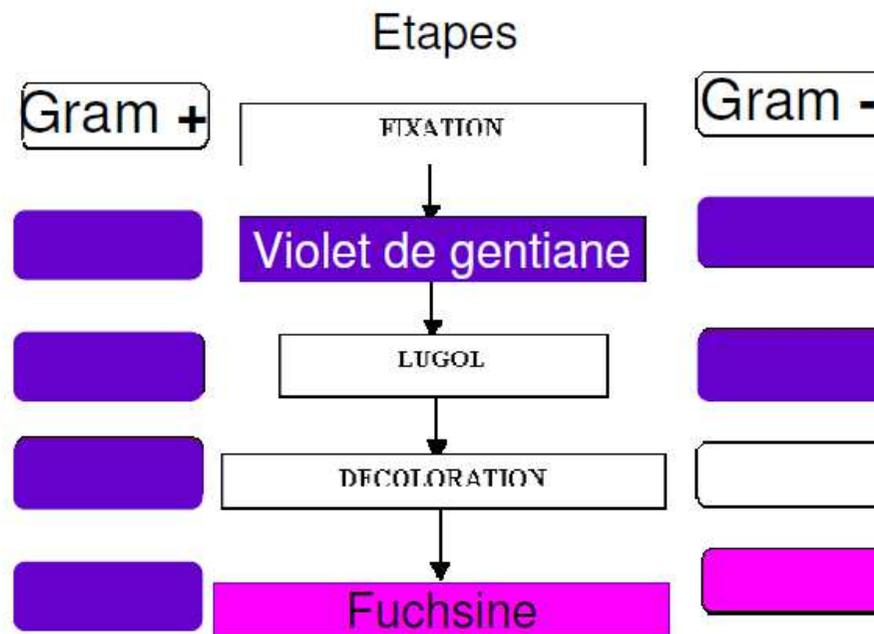
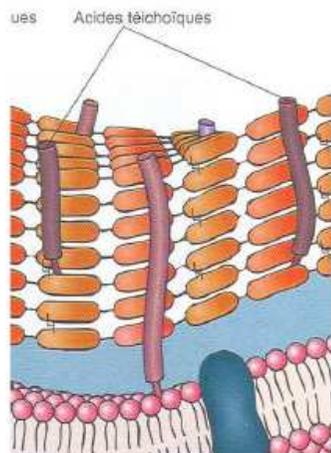
- Examen direct (coloration)

- GRAM

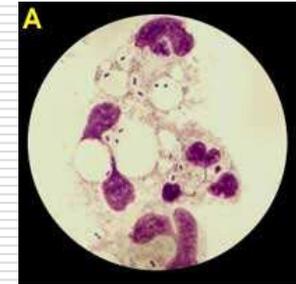


- Ziehl-Neelsen (BAAR Mycobactéries)
 - Auramine (BAAR)
 - Encre de Chine (Cryptocoque)

Diagnostic direct: Techniques



Diagnostic direct: Techniques

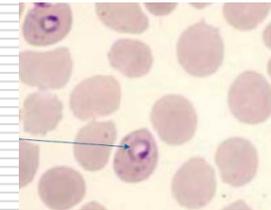


- Examen direct (coloration)

- MGG (May-Grünwald Giemsa)

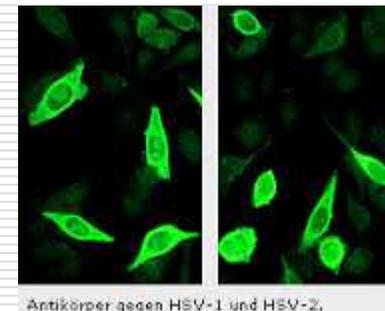
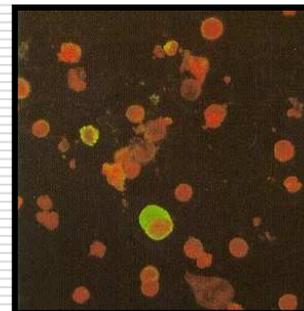
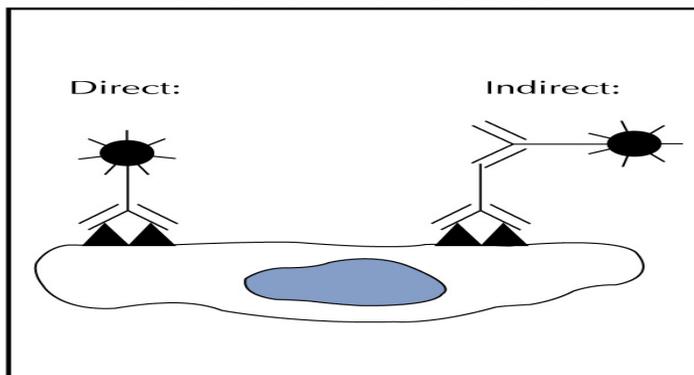
Ex frottis pour Dg paludisme

Aspect histologique (cf coloration cellulaire...)



- Immunofluorescence

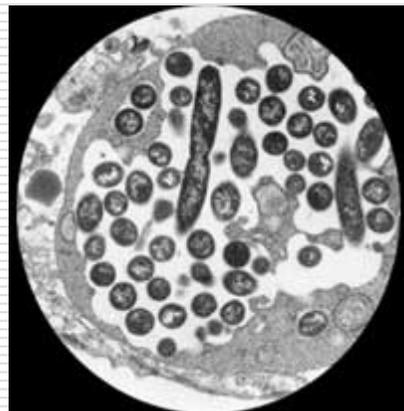
(b) Immunofluorescence



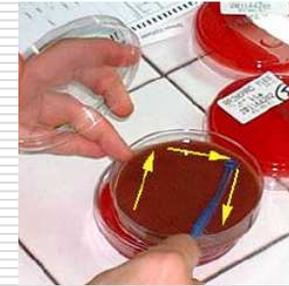
Antikörper gegen HSV-1 und HSV-2.

Diagnostic direct: Techniques

- Microscopie
 - Optique
 - Fluorescence
 - Electronique



Diagnostic direct: Techniques



■ Culture

□ Milieu de culture

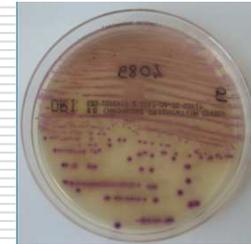
- Milieu solide (boîtes de Pétri), bouillon, milieu sélectif, milieu enrichi, milieu d'identification....etc...

□ Cultures cellulaires

- Virus, bactéries intracellulaires...

□ Modèle animaux

Diagnostic direct: Techniques

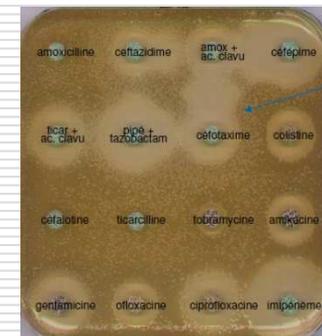


■ Culture (avantages)

- Identification directe sur culture
- Support pour identification et étude de la sensibilité aux anti-infectieux (ex antibiogramme)



- Dénombrement possible



- Peu couteux, assez rapide si pathogène cultivée bien....
- Renseigne sur viabilité et « infectiosité »

Diagnostic direct: Techniques

- Culture (inconvénients)

- Certains agents sont non cultivables ou de croissances très lentes
 - Certains agents sont potentiellement dangereux pour utilisateur (agents de classe 3 et 4)
-

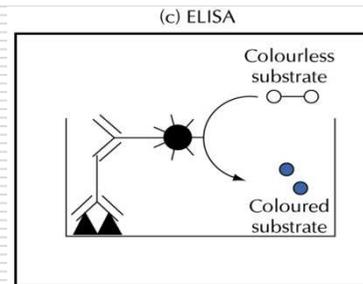
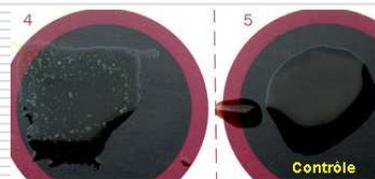
Diagnostic direct: Techniques

- Détection antigènes

- Protéines de structures, Enzymes, LPS, toxines....

- Techniques très nombreuses

- ELISA, Hémagglutination ou Agglutination latex, IF, immunochromatographie



- TDR, TROD...



Diagnostic direct: Techniques

- Détection génomique

- Techniques: dominées par l'amplification génique (PCR et ses nombreuses variantes...)

- Intérêt

- Sensibilité +++

- Pathogènes non cultivables

- Possibilité de quantification (PCR temps réel)

- Exemple Charge virale,,,

- Génotypage: épidémiologie, étude de la résistance...

Diagnostic direct: Techniques

■ Détection génomique

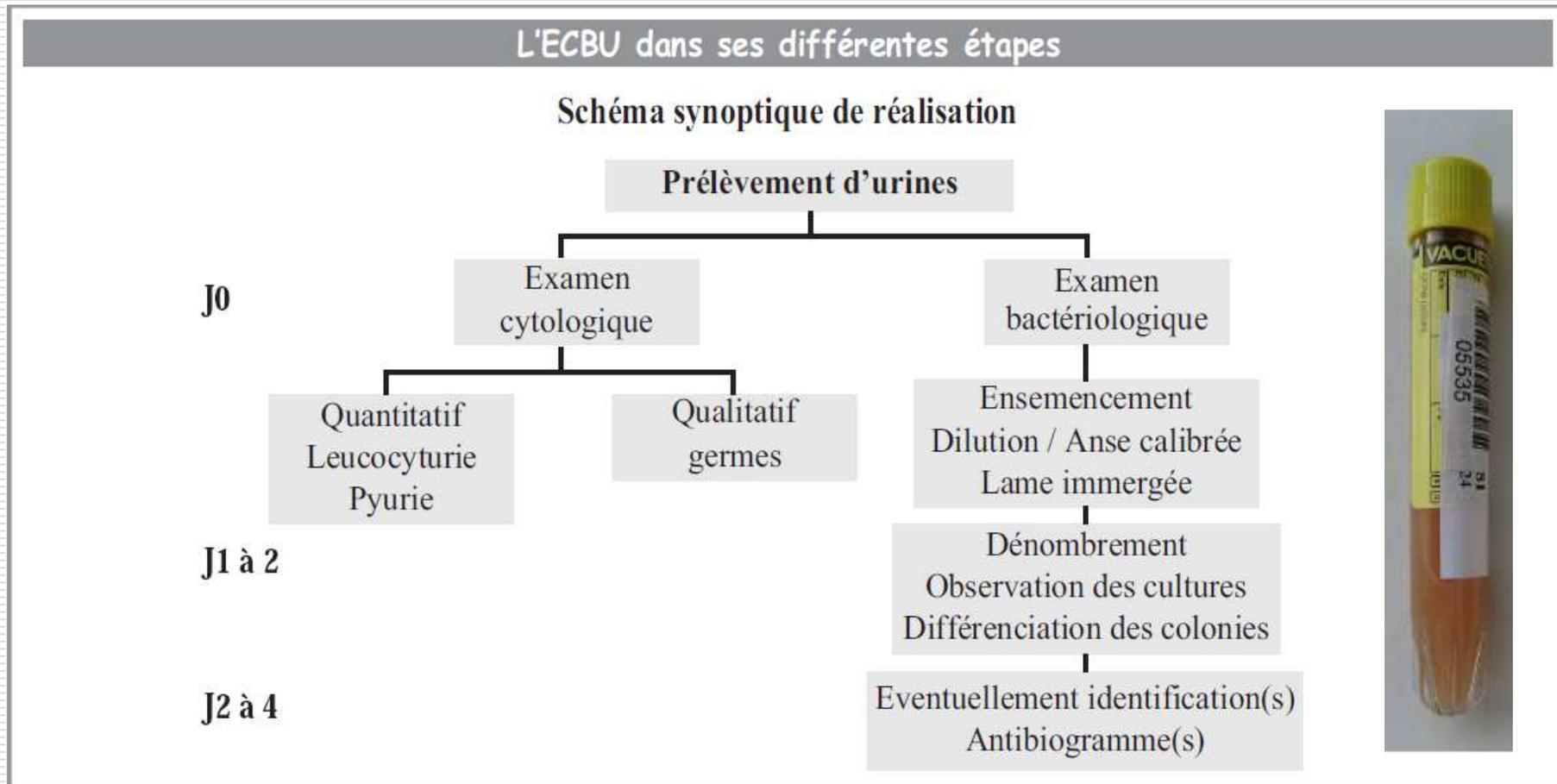
□ Limite

- Développement (amorces, sondes)
- Coût
- Contraintes: extraction, contamination....
- (Sensibilité)

□ Gold standard de nbrx diagnostics

- Encéphalites virales, primo-infection arbovirus...
 - Suivi thérapeutique VIH, VHC
 - Suivi patients ID pour réactivations virales...
 - ,,,etc,,,
-

Diagnostic direct: Exemple infection urinaire ECBU



Diagnostic direct: Exemple méningite

■ Aspect macroscopique

- Eau de roche, trouble, hématiche, xanthochromique, purulent



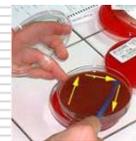
■ Examen direct

- Leucorachie... (méningite purulente vs méningite à liquide clair)
- GRAM...

■ Biochimie

- Glycorachie, protéinorachie, chlorurorachie...

■ Culture et/ou PCR



Etiologie bactériennes vs virales....

Diagnostic indirect:

- Recherche d'anticorps produits par l'organisme en réponse à l'infection
 - Recours lorsque l'isolement du pathogène est impossible
 - Epidémiologie/Dépistage
 - Etude de séroprévalence
 - Evaluation d'un statut immunologique ou vaccinal
 - Greffe
 - Maternité
-

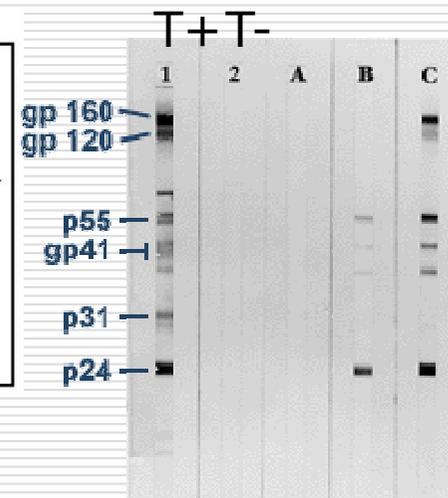
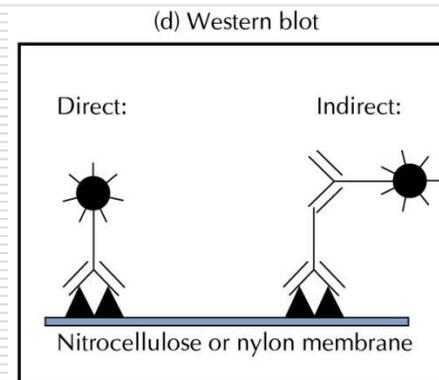
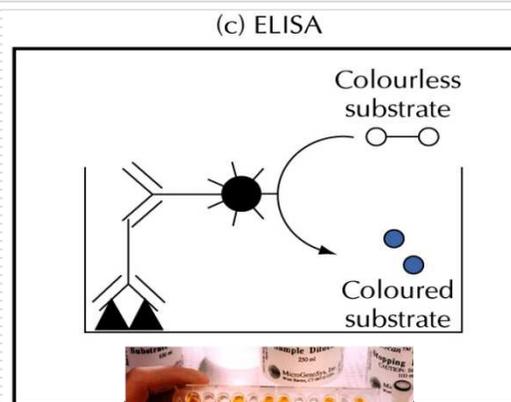
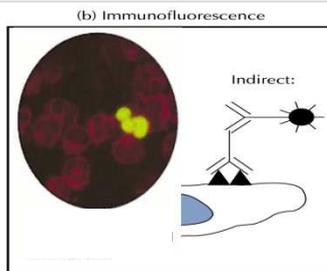
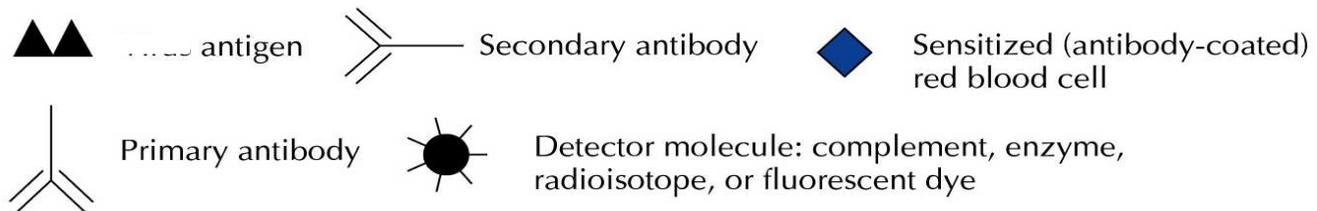
Diagnostic indirect: Techniques

- ❑ RFC = Réaction de Fixation du complément
 - ❑ IHA = Inhibition de l'Hémagglutination
 - ❑ Agglutination passive (Latex, Bille, hématies....)
 - ❑ IFI= ImmunoFluorescence indirecte
 - ❑ RIA = Radio Immuno Assay
 - ❑ ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay
 - ❑ Immunocapture
 - ❑ Immunoblot: WB, RIBA
 - Western Blot, Recombinant Immuno Blot Assay
-

Diagnostic indirect: Techniques

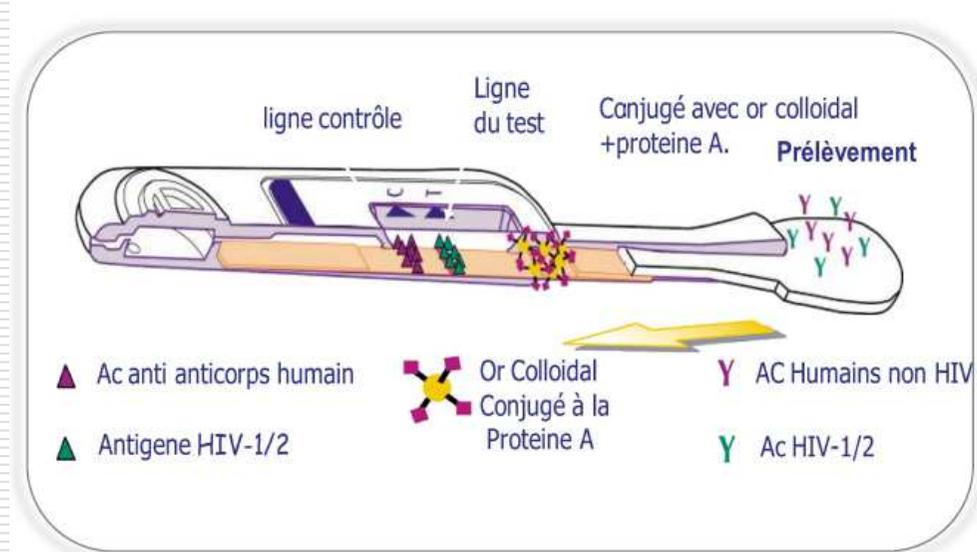
□ Pour l'essentiel des « immunoassays »

□ Outils

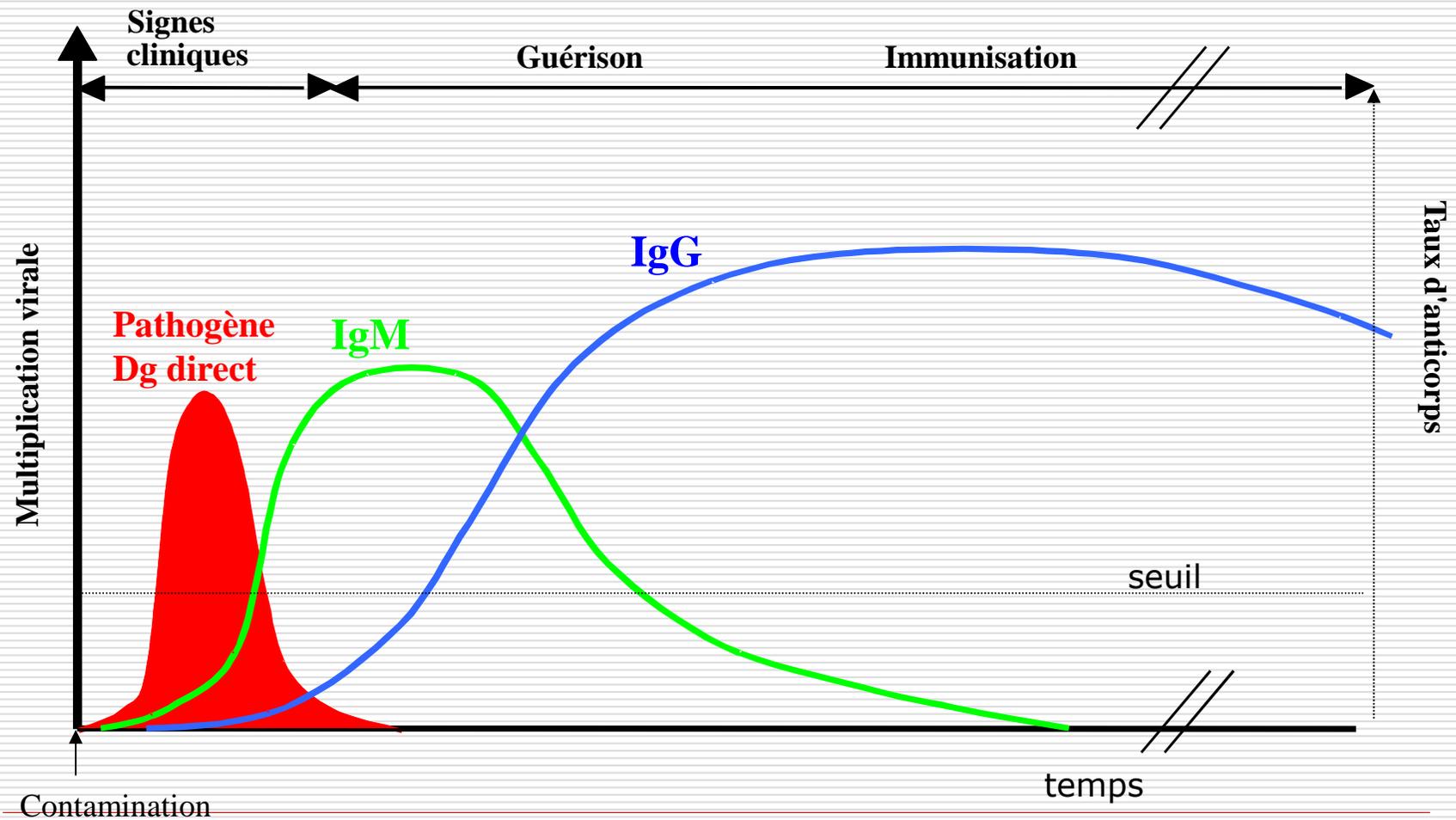


Diagnostic indirect: Exemple

□ TROD



Diagnostic indirect:



Diagnostic indirect:

- IgM précoces, fugaces, pentavalentes, de haut PM, ne passent pas les barrières (LCR, placenta)

 - IgG plus tardives, persistantes, passent les barrières (LCR, placenta), maturation avec le temps (avidité ↑)
-

Diagnostic indirect:

■ Performances

	Sujet malade	Sujet non malade
Test positif	VP	FP
Test négatif	FN	VN

$$\text{Sensibilité} = \text{VP} / \text{VP} + \text{FN}$$

$$\text{Spécificité} = \text{VN} / \text{FP} + \text{VN}$$

$$\text{VPP} = \text{VP} / \text{VP} + \text{FP}$$

$$\text{VPN} = \text{VN} / \text{VN} + \text{FN}$$
