

Etude biochimique et physiologique

Les tests biochimiques utilisent des milieux de croissance, des éléments nutritifs, des produits chimiques ou des conditions de croissance particulières afin d'obtenir une réponse biochimique observable et mesurable du micro-organisme, permettant ainsi son identification et sa caractérisation.

Ces tests comprennent: l'utilisation de sources de carbone et d'azote, différentes conditions de croissance (anaérobiose ou aérobiose; température optimale et gamme de température, pH optimal et gamme de pH), des conditions osmotiques préférentielles, la production de produits de fermentation, la production d'enzymes, la production de composés antimicrobiens, de même que la sensibilité aux inhibiteurs métaboliques et aux antibiotiques.

Parmi les tests reconnus, on retrouve les tests au rouge de phénol et carbohydrate , les tests de catalase et d'oxydase, les tests d'oxydation/fermentation, les tests au rouge de méthyle, les tests de Voges-Proskauer, la réduction des nitrates, l'hydrolyse de l'amidon, l'hydrolyse du tryptophane, la production de sulfure d'hydrogène, l'utilisation du citrate, les réactions du petit-lait tournesolé, etc. Plusieurs systèmes commerciaux miniaturisés et automatisés sont actuellement offerts et sont assortis de procédures de contrôle de la qualité bien définies qui permettent l'identification rapide des micro-organismes :

Galeries d'identification Système API : Elles utilisent le même principe que les techniques biochimiques conventionnelles l'identification des bactéries. Version miniaturisée et standardisée, elles ont l'avantage de standardiser les caractères biochimiques recherchés pour améliorer la reproductibilité interlaboratoire en éliminant le choix subjectif des tests « importants » pour la caractérisation, elles limitent la variabilité technique (utilisation de système de distribution possible).

► Système VITEK et le MicroScan Walk-Away 40 : Le profil métabolique est obtenu par l'étude de la cinétique des mesures pendant l'incubation. La détection des résistances bactériennes et l'interprétation des résultats de l'antibiogramme permettent de limiter les échecs thérapeutiques. En ce qui concerne le Vitek et le MicroScan Walk-Away 40, la suspension bactérienne est inoculée, respectivement, sur des cartes ou dans des plaques qui contiennent une variété de substrats biochimiques et d'antibiotiques conventionnels. La croissance bactérienne, dans les puits de ces supports, modifie le substrat biochimique. La lecture de la carte ou de la plaque permet alors d'établir un profil biochimique, qui peut être comparé à ceux d'organismes connus.



VITEK® 2 COMPACT



MicroScan WalkAway 40

Replianalyzer : Fournit également un profil biochimique. Cependant, le système utilise des boîtes d'Agar, plutôt que des plaques composées de micropuits. S'agissant du MicroLog, la suspension bactérienne est inoculée dans les micropuits d'une plaque qui contiennent un milieu tamponné, différentes sources de carbone et un indicateur coloré, le tétrazolium violet. Le colorant est réduit lorsque les différentes sources de carbone sont utilisées. Le profil biochimique résultant peut être comparé à ceux de micro-organismes connus. Quant au Microbial Identification System, les profils en acide gras, générés par des microorganismes inconnus, sont comparés à ceux obtenus pour des micro-organismes connus.

Système BioLog : En particulier, été évalué pour l'identification de *Bacillus anthracis*. Il s'avère que, dans la majorité des cas, ce système est capable de distinguer *Bacillus anthracis* des autres espèces du genre *Bacillus*. Toutefois, des tests complémentaires sont nécessaires afin de confirmer ces résultats. En effet, il arrive que des membres du « groupe *Bacillus cereus* » donnent de faux-positifs. Ces différents systèmes présentent des sensibilités variables selon l'espèce bactérienne que l'on doit détecter. Certains sont plus performants pour des bactéries d'intérêt médical, tandis que d'autres seront plus appropriés pour la détection de micro-organismes issus de l'environnement. En effet, ils dépendent fortement du nombre de profils existants dans la base de données. De plus, ils ne sont pas multiplex. En d'autres termes, la suspension bactérienne doit généralement être répartie entre les différents puits des plaques ou cartes, nécessitant souvent un pré-enrichissement par culture bactérienne.

Étude immunologique

Tests d'agglutination

Dans les tests d'agglutination de très petites particules (billes de latex, particules de gélatine, bactéries) sont couplées à un antigène ou à un anticorps réactif. Le complexe de particules résultant est mélangé avec le prélèvement ; si l'anticorps ou l'antigène cible est présent dans le prélèvement, il se lie aux particules (réticulation ou cross-linking), produisant une agglutination mesurable.

Si les résultats sont positifs, les prélèvements à analyser sont dilués en série. L'agglutination avec des solutions plus diluées indique des concentrations plus fortes de l'antigène ou de l'anticorps cible.

Fixation du complément

Ce test de fixation du complément mesure la consommation du complément lors de la formation des complexes antigène-anticorps dans le sérum ou le liquide céphalorachidien. Le test est utilisé pour le diagnostic de certaines infections virales et mycosiques, en particulier la coccidioïdomycose.

Cette technique peut mesurer les titres d'anticorps IgM et IgG ou peut être modifiée pour détecter certains antigènes.

Tests immunoenzymatiques

Les tests immuno-enzymatiques utilisent des anticorps liés à des enzymes pour la détection d'antigène et pour détecter et quantifier les anticorps (p.ex. Test dosage immunoenzymatique ; Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)).

La plupart des dosages immunoenzymatiques sont très sensibles et sont habituellement utilisés pour le dépistage. Les titres peuvent être déterminés au moyen de dilutions séquentielles des prélèvements, comme dans les techniques d'agglutination.

La sensibilité de ces techniques, bien qu'habituellement élevée, peut varier, parfois selon l'âge du patient, le sérotype microbien ou le stade clinique de la maladie.

Tests de précipitations

Les techniques de précipitation permettent le dosage d'antigènes ou d'anticorps dans un prélèvement par évaluation de l'arc de précipitation des complexes antigène-anticorps dans un gel (agarose) ou en solution. Il existe de nombreux types de techniques de précipitation (p. ex., double immunodiffusion d'Ouchterlony, contre immunoélectrophorèse), mais leur application est limitée.

Généralement, le prélèvement sanguin est incubé avec un réactif antigénique pour révéler les anticorps présents chez le patient, le plus souvent en cas de suspicion d'infection fongique ou de méningite purulente. Comme un résultat positif exige une grande quantité d'anticorps ou d'antigènes, la sensibilité est faible.

Western Blot

Le Western Blot permet de détecter des anticorps viraux ou autres dans des prélèvements. Le Western Blot possède une bonne sensibilité, bien que souvent inférieure à celle des tests de dépistage tels que l'ELISA et il est souvent très spécifique. On l'utilise ainsi habituellement pour confirmer un résultat positif obtenu lors d'un test de dépistage.

Les modifications techniques du Western blot sont :

Le "line immunoassay (LIA)"

Le test RIBA (technique des immunoblots recombinants), qui utilise des antigènes synthétiques ou recombinants.

Les tests immuno-chromatographiques qui peuvent analyser rapidement les échantillons à la recherche d'antigènes microbiens ou d'anticorps des patients, spécifiques.

Des trois, le dosage immunochromatographique est le plus facile et le plus couramment utilisé p. ex., pour détecter les microrganismes producteurs de toxine Shiga, l'antigène capsulaire de *Cryptococcus neoformans*, et le virus de la grippe.