

## **DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE EN BACTÉRIOLOGIE**

### ***Introduction***

Le diagnostic étiologique d'une infection exige idéalement la mise en évidence de l'agent causal mais dans certains cas, la preuve diagnostique est apportée par la sérologie, c'est-à-dire en révélant dans le sang du patient, les anticorps spécifiques de la bactérie impliquée.

### ***Objectifs :***

Le plus souvent: établir le diagnostic étiologique d'une infection

- Pour les bactéries intracellulaires: Chlamydia, Borrelia, ...
- Pour les bactéries difficiles à cultiver: Leptospires, Brucella ...

Plus rarement :

- ❖ Le diagnostic des complications immunologiques de l'infection : ex RAA
- ❖ La guérison d'une infection en suivant la décroissance des anticorps (syphtis, brucellose)
- ❖ La réalisation des enquêtes séro-épidémiologiques ou apprécier l'efficacité d'une vaccination (tétanos, diphtérie)

### ***Techniques utilisées :***

- ✚ Basées sur le principe de la spécificité de la réaction Ag-Ac, elles utilisent des Ag bactériens sous différentes formes
- ✚ Les Ac sont habituellement détectés dans le sérum, plus rarement dans d'autres liquides biologiques
- ✚ Les sérologies sont effectuées sur 2 prélèvements réalisés à 2 ou 3 semaines d'intervalle pour objectiver une séroconversion ou une élévation significative ( $\times 4$ ) du titre des Ac.
- ✚ Le résultat peut être qualitatif ,ou quantitatif grâce à la détermination du titre d'Ac
- ✚ Différentes techniques existent et diffèrent par : le mode opératoire, sensibilité, spécificité, reproductibilité...

#### ➤ **Fixation du complément : abandonné**

Le système du complément est un ensemble de protéines sériques dont l'activation se fait lors de la formation d'immuncomplexes antigènes-anticorps.

Ce test permet la détection dans les sérums des anticorps spécifiquement dirigés contre un agent infectieux. En effet, si le sérum testé contient les anticorps recherchés, le complément préalablement ajouté, se fixe à l'immuncomplexe ainsi formé.

La mise en évidence de cette fixation est faite par l'ajout d'un second complexe, le complexe hématies-anticorps anti-hématies : en cas de fixation du complément, aucune lyse n'est observée. A l'inverse, la lyse des hématies indiquera la disponibilité du complément et donc l'absence d'anticorps spécifiques.

➤ **Agglutination passive :**

Elle consiste à utiliser des particules (latex, gélatine, hématies) sensibilisées par l'antigène et dont l'interaction avec l'AC du sérum à tester se traduit par une **agglutination macroscopique**.

La méthode est rapide et simple

➤ **Immunofluorescence indirecte : IFI**

- ✓ L'antigène bactérien (connu) est fixé sur une lame
- ✓ Dépôt du sérum du malade
- ✓ Après un temps d'incubation et de lavages, on ajoute l'anti-immunoglobuline marquée par un fluorochrome → incubation et lavages
- ✓ Lecture au microscope à fluorescence
- ✓ Application: bactéries à multiplication intra-cellulaire (Chlamydia) ou à croissance difficile (ex: Legionelle)
- ✓ Techniques très sensibles. Mais la spécificité change (lecture subjective), et absence d'automatisation

➤ **Immunoenzymatiques : ELISA**

- L'antigène bactérien est fixé au fond des puits d'une microplaque
- Dépôt du sérum
- Incubation et lavages
- Ajout du conjugué (anti-immunoglobuline couplée à une enzyme)
- Incubation et lavages
- Ajout du substrat de l'enzyme
- Si présence d'Ac : le substrat sera hydrolysé en donnant un composé coloré

Avantages :

- ✓ Techniques sensibles et spécifiques,
- ✓ Automatisables
- ✓ Reproductibilité
- ✓ Lecture objective

***Interprétation des sérologies :***

✚ DIFFICILE

- ✓ Problèmes de réactions croisées
- ✓ Cinétique des Ac

✚ Éléments sérologiques en faveur d'une infection :

- ❖ **Séroconversion** = apparition d'Ac spécifiques
- ❖ **Élévation significative** (x4) du titre des AC dans le 2<sup>ème</sup> sérum

## Avantages et inconvénients :

Le grand avantage des diagnostics sérologiques c'est qu'ils peuvent être réalisés aisément à partir de sang → utilisés en 1<sup>ère</sup> intention pour orienter le diagnostic

Inconvénients :

- ✓ Complexité d'interprétation
- ✓ L'absence de diagnostic sérologique pour certaines infections
- ✓ Le manque de standardisation et la qualité variable des troupes du commerce

## Applications

### ✚ Sérodiagnostic de la Brucellose :

- **EAT:** épreuve à l'Ag tamponné ou Rose bengale: (qualitatif)

L'antigène est coloré au rose bengale. Mise en évidence des IgG

La technique consiste à mélanger une goutte du réactif avec une goutte de sérum sur plaque, agiter pendant quelques minutes et voir l'apparition d'une agglutination macroscopique.

### ➤ **Sérodiagnostic de Wright: (quantitatif)**

- ✓ Technique d'agglutination en tube ou microplaque, détectant et titrant les Ac anti-Brucella (IgG et IgM)
- ✓ Dilutions croissantes du sérum
- ✓ Lecture après 24 h d'incubation à 37 °C
- ✓ Le titre du sérum correspond à la plus haute dilution présentant un surnageant clair.
- ✓ Seuil de positivité: 1/80 ce qui correspond à 120 UI /ml

### ➤ **IFI et ELISA**

Hémoculture	B.aigüe	B.focalisée	B.chronique
SDW (IgM)	+++	+/-	-
FC (IgG)	++ (après 12-15 J)	++	+/-
IFI (IgG)	++ (12-15 J)	++	+/-
EAT (IgG)	+(après 10-15 J)	++	+/-

### ✚ Sérodiagnostic de la syphilis

- Réaction à antigène cardiolipidique
- Réaction à antigène tréponémique

## 1- Réaction à antigène cardiolipide

- ✓ **BW** : réaction de fixation du complément (réaction de Bordet Wassermann ou BW), qui est aujourd'hui abandonnée
- ✓ **V.D.R.L.** : (Venereal Diseases Research Laboratory), qui est la seule qui soit encore pratiquée actuellement. Elle est rapide et facile à faire. Elle a une sensibilité satisfaisante.

## 2-Réaction à antigène tréponémique

Elles sont plus spécifiques et plus sensibles que les réactions à l'antigène cardiolipidique.

- ✓ le **T.P.H.A** (treponema pallidum hemagglutination assay) est une réaction d'hémagglutination passive utilisant comme antigène des hématies animales sur lesquelles on a fixé un ultra-sonat de tréponèmes.
- ✓ le **F.T.A.-Abs** test (fluorescent treponemal antibody absorbed) est un test d'immunofluorescence indirecte qui a l'avantage de permettre la mise en évidence d'anticorps de classe IgM.
- ✓ **ELISA**
- ✓ le test d'immobilisation des tréponèmes ou test de **Nelson** est encore qualifié de test de référence mais il est très rarement effectué car il nécessite des tréponèmes vivants.

La loi exige que les laboratoires fassent obligatoirement:

- ✓ Une réaction à Ag cardiolipidique.
- ✓ Une réaction à Ag tréponémique.

✿ VDRL – et TPHA - :

Pas de syphilis ou contamination récente (FTA et recherche d'IgM ou refaire après 10 à 15 j)

✿ VDRL + et TPHA +

Syphilis récente ou ancienne (évolution des AC et la clinique permettent de situer le stade)

en cas de doute :

- IgM + et TPI -      Stade I aïre.
- IgM + et TPI +      Stade II aïre.
- IgM – et TPI +      Syphilis latente.

✿ VDRL – et TPHA +

Infection récente traitée ou ancienne traitée ou non. Rarement faux positif en TPHA.

✿ VDRL + et TPHA -

Fausse réaction en VDRL (confirmer par la négativité de FTA et TPI)

✚ **ASLO : anticorps anti-streptolysine O**

- ✓ Technique utilisée: inhibition de l'hémolyse
- ✓ La strptolysine O est une enzyme qui lyse les hématies fraîches
- ✓ Les Ac présents dans le sérum des patients qui ont été en contact avec le streptocoque B-hémolytique du groupe A inhibe cette propriété

- ✓ En pratique courante: agglutination de particules de latex sensibilisées
- ✓ Seuil supérieur ou égal à 200 UI/ml

### ✚ **Sérodiagnostic des fièvres typhoidiques et paratyphoidiques :**

**Sérodiagnostic de Widal et Felix:** Au cours de la fièvre typhoïde, il ya apparition d'anticorps dirigés contre les antigènes O, les antigènes H et les antigènes Vi.

On effectue une réaction d'agglutination en tubes ; on dispose de suspensions antigéniques (Commercialisées) contenant les facteurs antigéniques O et H correspondants à *S. typhi* (TO et TH) *S. paratyphi A* (AO et AH) et *S. paratyphi B* (BO et BH).

**Tant à être abandonné, réactions croisées, souvent retrospectif → PRIVILEGIER LE DIAGNOSTIC DIRECT**

### ✚ **Sérodiagnostic de la Leptospirose :**

- ✓ **MAT:** test de microagglutination ou Martin et Petit: Mise en présence du sérum à tester avec une culture de Leptospires, évaluation au microscope à fond noir du degré d'agglutination des cultures
- ✓ **ELISA**

### ✚ **Autres :**

- ✓ *Coxiella burnetii*
- ✓ *Chlamydia* et *Mycoplasmes*
- ✓ *Legionella*
- ✓ *Rickettsies*
- ✓ *Borrelia* .....

Par techniques ELISA ou IFI