

# Principes de base des analyses de laboratoire

Dr Louise Poirier  
Hôpital Maisonneuve-Rosemont  
Université de Montréal  
21 octobre 2006

## Le laboratoire de microbiologie

Gram  
Ensemencement

Parasitologie

Bactériologie

Biologie  
moléculaire

Sérologie  
Virologie

Mycobactériologie



Cette présentation a été effectuée le 23 octobre 2006, au cours du Symposium "L'utilisation des analyses de laboratoire en santé publique" dans le cadre des Journées annuelles de santé publique (JASP) 2006. L'ensemble des présentations est disponible sur le site Web des JASP, à l'adresse <http://www.inspq.qc.ca/jasp>.

## Principes de base des analyses de laboratoire

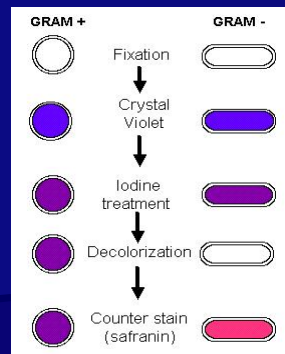
- Bactériologie
- Mycobactériologie
- Biologie moléculaire
- Épreuves sérologiques
- Parasitologie

### Gram:

Coloration découverte en 1884.  
Utilisé très fréquemment en microbiologie.  
Résultat en +/- 20 minutes.



Hans Christian Gram  
Bactériologiste danois  
1853-1928



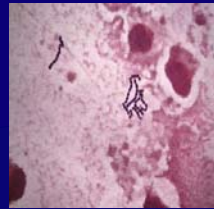
## Gram:

Peut apporter des renseignements utiles :

Méningite bactérienne



Infections invasives à Streptocoque du groupe A



## Gram

Avantage:

- non spécifique: toutes les bactéries présentes en quantité suffisante sont vues.

Désavantage:

- oriente mais est rarement diagnostique.  
- faible sensibilité par rapport à la culture.

Gram des sécrétions pulmonaires d'un patient décédé d'une pneumonie nécrosante.



## Bactériologie

Plusieurs pathogènes bactériens nécessitent un milieu de transport pour être détectés de façon optimale.

Le délai maximal entre le prélèvement et le traitement de l'échantillon doit être respecté.

Les protocoles de laboratoire sont conçus pour détecter les pathogènes usuels.

Il peut exister des divergences entre les laboratoires.

Exemple: Recherche de pathogènes dans les selles à HMR

Organismes recherchés sur toutes les selles:

*Shigella sp.*

*Salmonella sp.*

*Yersinia sp.*

*E. coli O157*

Sur les selles non formées seulement:

*Campylobacter sp.*

Sur demande seulement:

*Vibrio sp.*

## Recherche de *C. difficile*

Pas de culture → recherche de toxine.

Sur demande seulement.

Fait seulement sur les selles non formées.

## Exemple: sécrétions urétrales



Sécrétions urétrales dans le milieu de transport pour  
TAAN *C. trachomatis* (et *N. gonorrhoeae*)

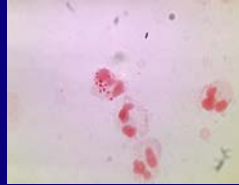


Écouvillon dans un milieu avec charbon pour la culture de  
*N. gonorrhoeae*



( Écouvillon dans un milieu sans charbon pour la coloration  
de Gram pour *N. gonorrhoeae* )

## Gram



## Culture pour *N. gonorrhoeae*



Gélose chocolat



Épreuves de sensibilité

## Mycobactériologie

### Ziehl ou Auramine (les mycobactéries ne se colorent pas au Gram)

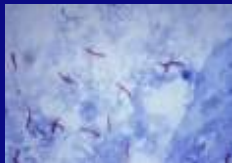
Colore la paroi de toutes les mycobactéries

Ziehl

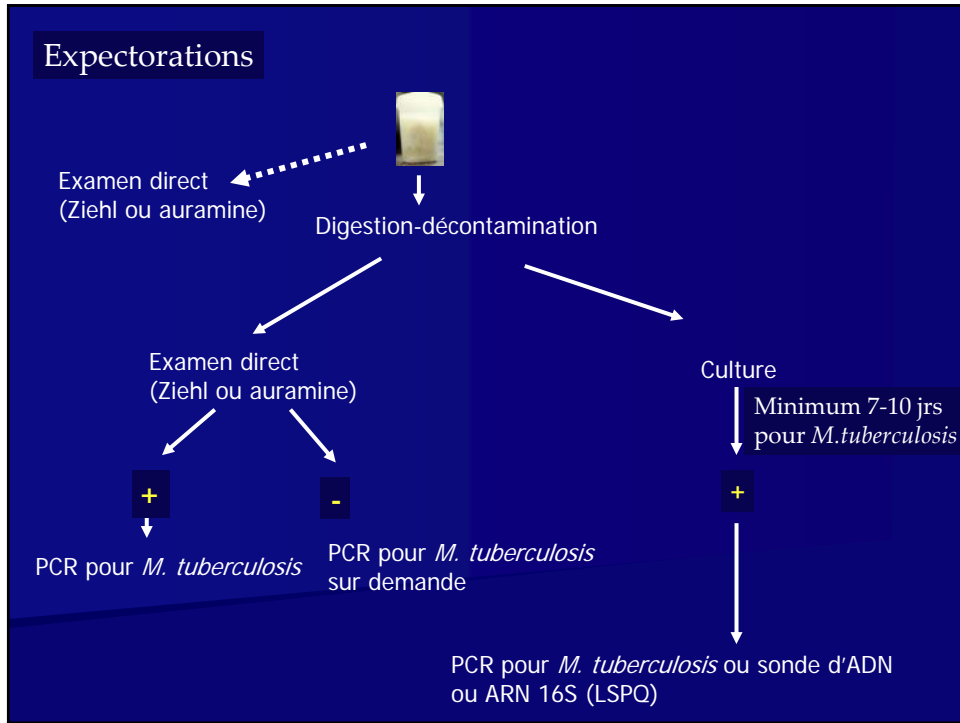
Auramine

Coloration à la safranine

Fluorescence



Détection plus facile (plus faible grossissement)  
Moins spécifique si non expérimenté



## Biologie moléculaire



## Techniques d'amplification des acides nucléiques (TAAN)

Utiles pour les pathogènes difficilement cultivables ou dont la croissance est lente.

Utiles pour les pathogènes qui survivent mal aux conditions externes.

Plus rapide que la culture, mais l'obtention du résultat dépend de la fréquence de l'analyse.

PCR ou « Polymerase chain reaction » (amplification génique par la polymérase)

Code génétique: ADN



PCR

ACGGC ATCTGTCTCACTAGATCGCAT  
TGCCGTAGACAGAGTGA TCTAGCGTA

*M. tuberculosis*

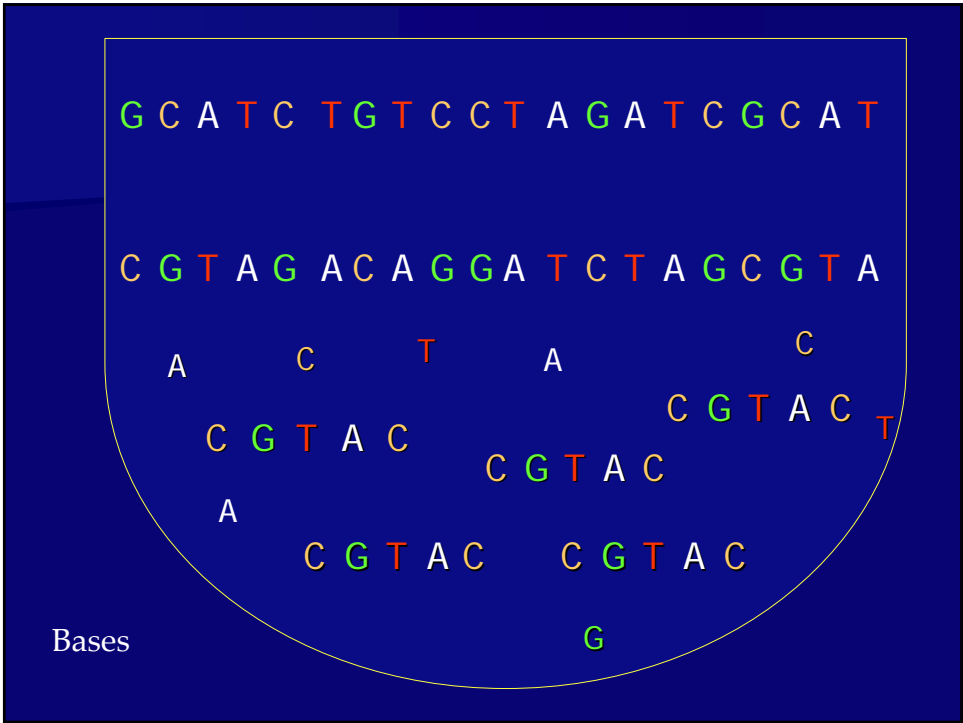
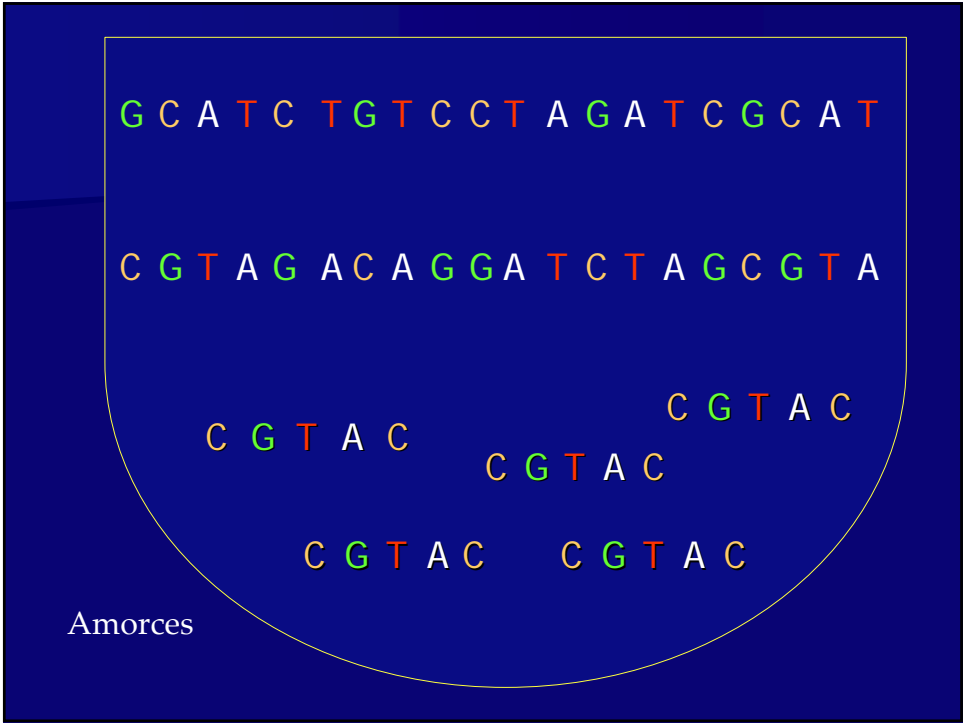
CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCC

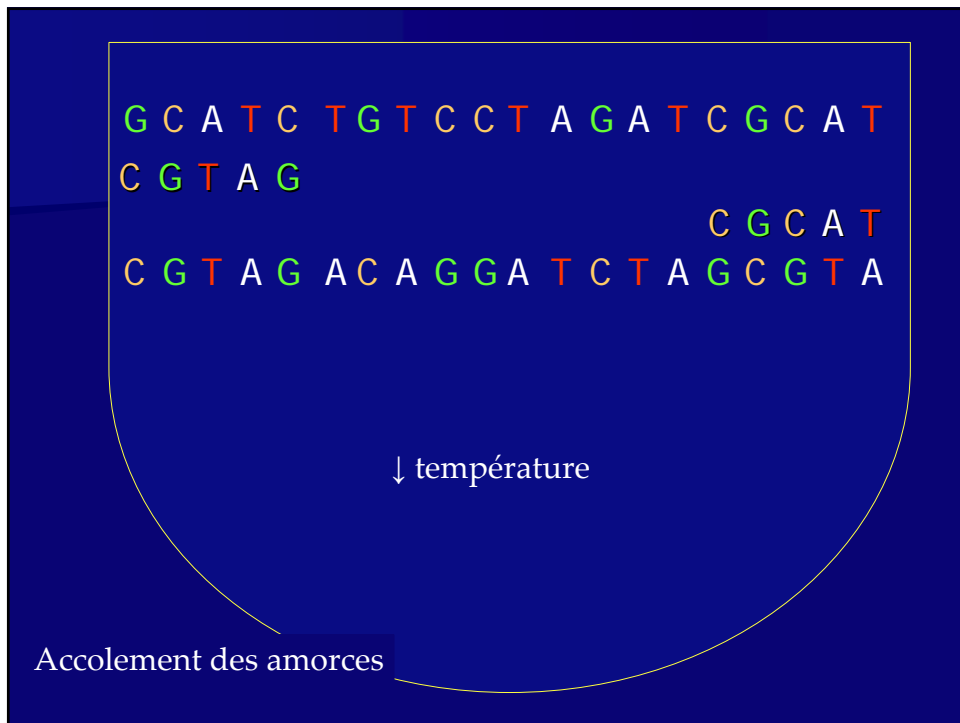
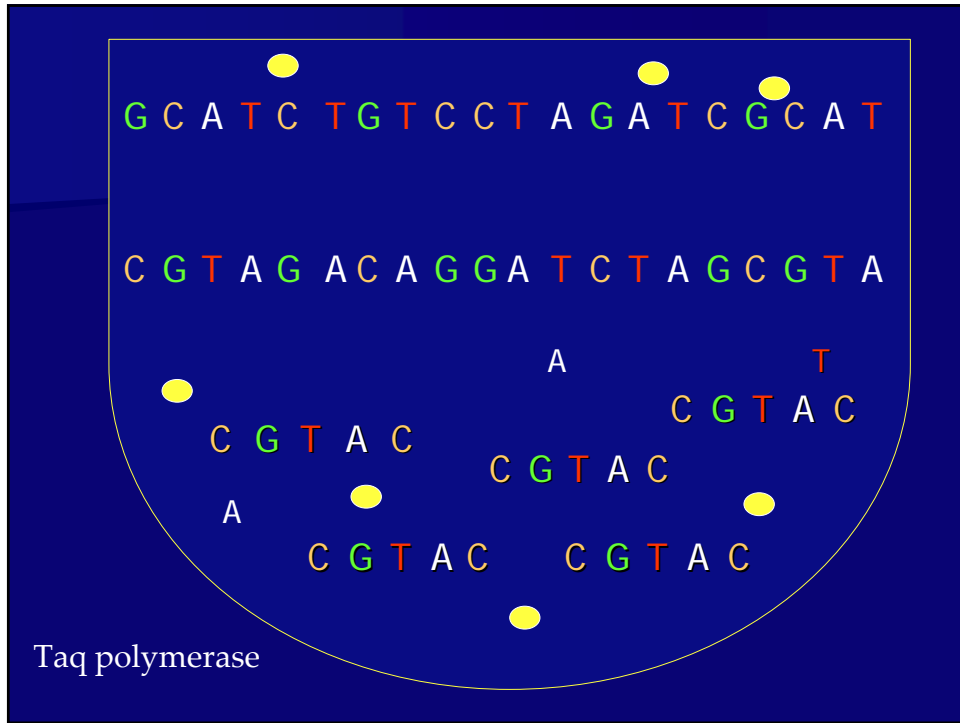
C A T C T G T C C T A G A T C G C  
G T A G A C A G G A T C T A G C G

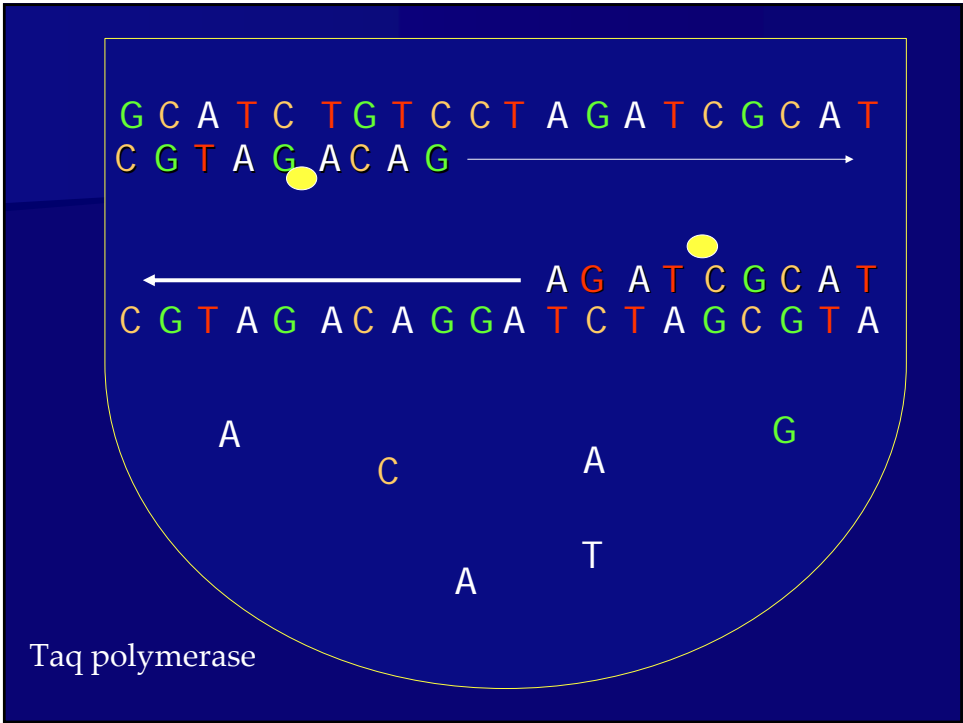
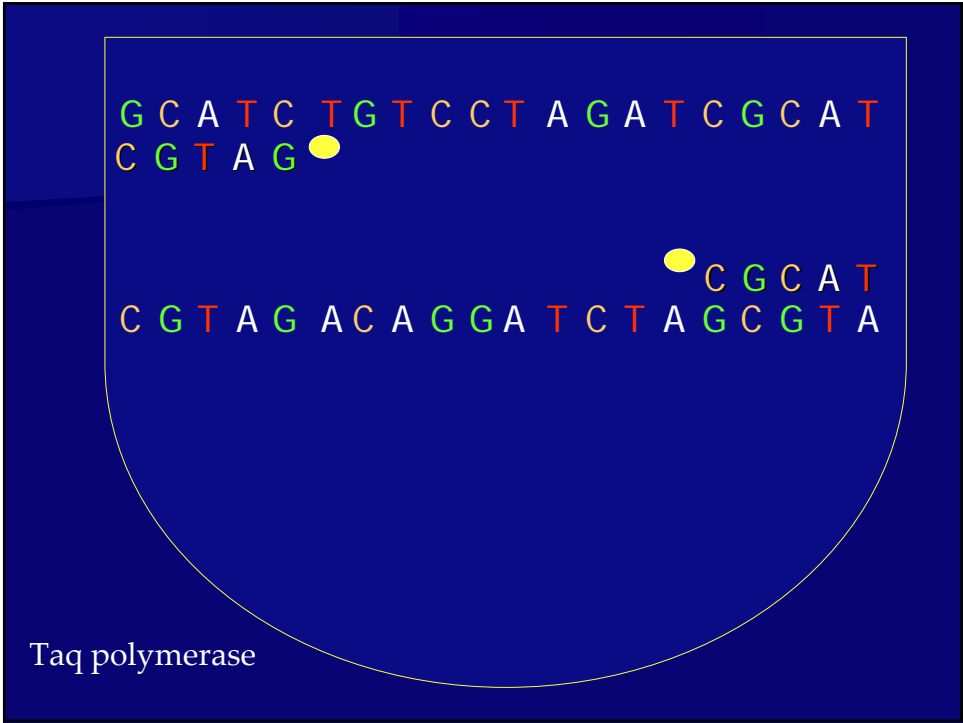
↑ température

C A T C T G T C C T A G A T C G C

G T A G A C A G G A T C T A G C G







CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCG

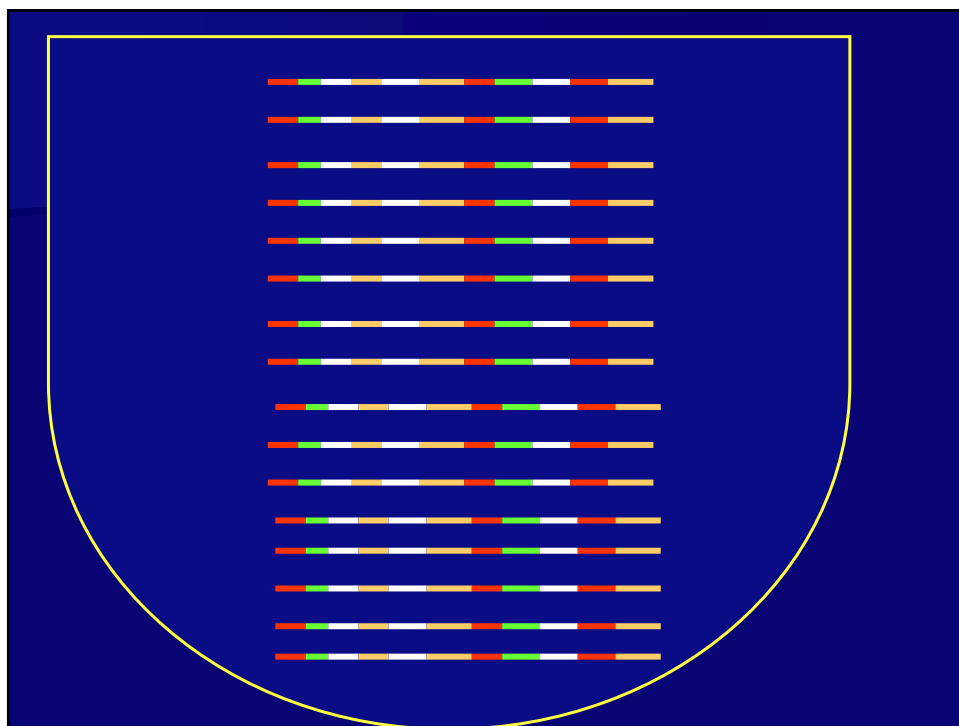
CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCG

CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCG

CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCG

CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCG

CATCTGTCCTAGATCGC  
GTAGACAGGATCTAGCG



*M. tuberculosis*

	Respiratoire Ex. direct +	Respiratoire Ex. direct -
Sensibilité	> 95%	+/- 75 %
Spécificité	> 95%	> 95%



*N. gonorrhoeae*:

La spécificité de la PCR (Amplicor™– Roche) est sous-optimale, ce qui affecte les résultats dans une population de faible prévalence (faux positifs) et oblige à un test de confirmation.

La technique n'est pas approuvée pour les spécimens ano-rectaux et pharyngés.

La sensibilité des TAAN par rapport aux méthodes « conventionnelles » varie selon les pathogènes.

<i>Chlamydia trachomatis</i>	PCR > autres méthodes
<i>Bordetella pertussis</i> (coqueluche)	PCR > culture
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	PCR < culture
SARM	PCR = Culture ?

## Épreuves sérologiques

Épreuves sérologiques:

Détection d'anticorps

Indications

1. Diagnostic d'une maladie aigue

Utiles pour les microorganismes pour lesquelles la détection est impossible ou très complexe.

2. Statut immunitaire

Épreuves sérologiques:

Détection d'anticorps

EIA (Enzyme Immuno Assay)

Recherche d'IgM contre l'hépatite A

1.  fixé au fond d'un puits



2. + sérum du patient



3. + anticorps anti IgM couplé à un marqueur colorimétrique





Intensité de la couleur = densité optique (D.O.) = chiffre

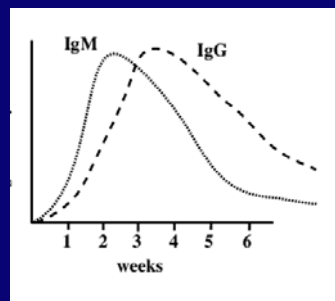
Seuil de positivité pré-déterminé pour chaque analyse.

## Détection d'anticorps

### Cinétique

IgM apparaissent en 3 à 5 jours et persistent 4 - 6 mois

IgG apparaissent quelques jours plus tard et sont détectables à vie.



## Détection d'anticorps

Ceci doit être modulé en fonction du microorganisme en cause et de la technique utilisée.

Exemples:

Toxoplasmose: IgM peuvent persister jusqu'à 1 an

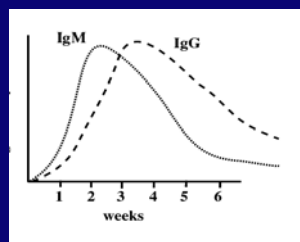
Anti HBs peuvent diminuer sous le seuil de détection après plusieurs années.

## Détection d'anticorps

L'apparition des anticorps en fonction des symptômes est variable.

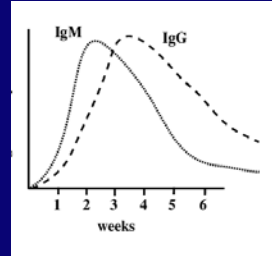
Exemple:

Parvovirus B19



Éruption

Rubéole



Éruption

Pour diagnostiquer une maladie aigue:

- Détection des IgM
- Séconversion:

CMV	11 janvier IgG négatif	→	6 février IgG positif
-----	---------------------------	---	--------------------------

Exemples de pathogènes pour lesquelles la détection des IgM sont disponibles:

Hépatite A  
Hépatite B  
Oreillons  
Rougeole  
Rubéole  
Parvovirus B19  
Cytomégalovirus  
EBV  
Toxoplasmose  
Virus du Nil occidental

## Détection d'anticorps

### Pour diagnostiquer une maladie aigue:

Parfois la mesure des anticorps totaux sur un seul sérum est suffisant.

Exemple:

Lymphogranulome vénérien (LGV)

Causé par des sérotypes différents ( vs urétrite et cervicite) de *Chlamydia trachomatis*.

Mesure des anticorps ne différencie pas entre les sérotypes causant un LGV et les autres sérotypes de *C. trachomatis*.

Cependant taux d'anticorps plus élevé dans le cas d'un LGV (maladie invasive)

## Détection d'anticorps

- Toujours préciser sur la requête le pathogène recherché et l'objectif de l'analyse: infection aigue vs statut immunitaire.

Ex.: Demande de sérologie d'hépatite A sans autre précision.

- La détection du pathogène est en général préférable à la détection d'anticorps.

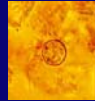
Ex. Influenza

## Parasites intestinaux à déclaration obligatoire

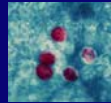
*Giardia lamblia*



*Cyclospora cayetanensis*



*Cryptosporidium parvum*



*Cryptosporidium parvum*: nécessite une coloration spéciale.  
(Kinyoun)

Lorsqu'un pathogène précis est recherché, l'indiquer sur la requête, avec le contexte clinique et/ou épidémiologique.

