

Le sérotypage des bacilles à Gram Négatif

TD 4^{ème} année Pharmacie

Année Universitaire 2019-2020

Par : Dr Bouali Achraf

Pr Benammar Sonia

But

Différencier les souches bactériennes en fonction de leur composition antigénique (sérotypage ou sérovar) grâce à une technique sérologique (qui utilise des anticorps).

Principe

- La recherche est basée sur la mise en évidence d'une réaction spécifique entre un anticorps présent dans un sérum test et un antigène porté par le microorganisme étudié.
- Cette réaction est visualisée par une agglutination qui est le résultat macroscopique de la réaction antigène-anticorps.

Anticorps anti O 1
présent dans
le sérum test

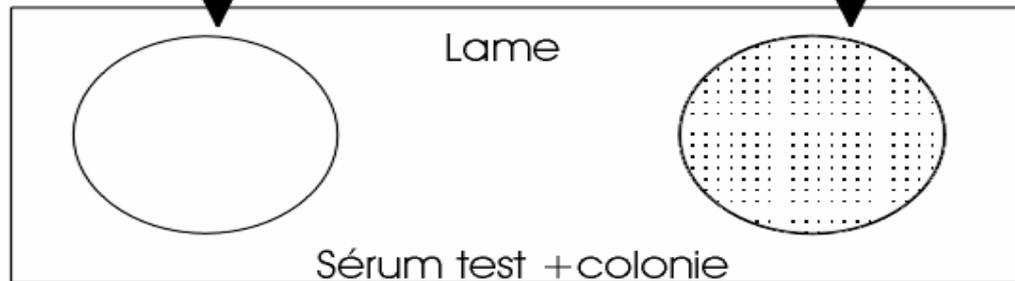
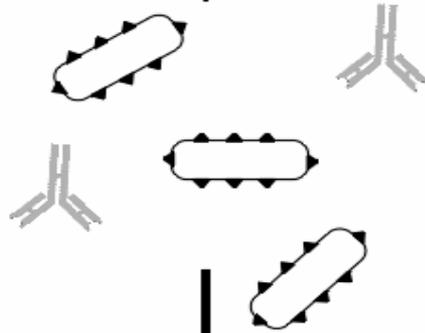


+

Bactérie issu
d'une colonie sur GNO



Pas de reconnaissance
Ag/Ac --> pas d'agglutination



Pas d'agglutination

Agglutination

Anticorps anti O 2
présent dans
le sérum test

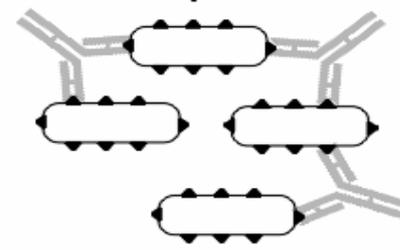


+

Bactérie issu
d'une colonie sur GNC



Reconnaissance
Ag/Ac --> agglutination



La bactérie porte l'antigène O 2

Les antigènes chez les bactéries à Gram -

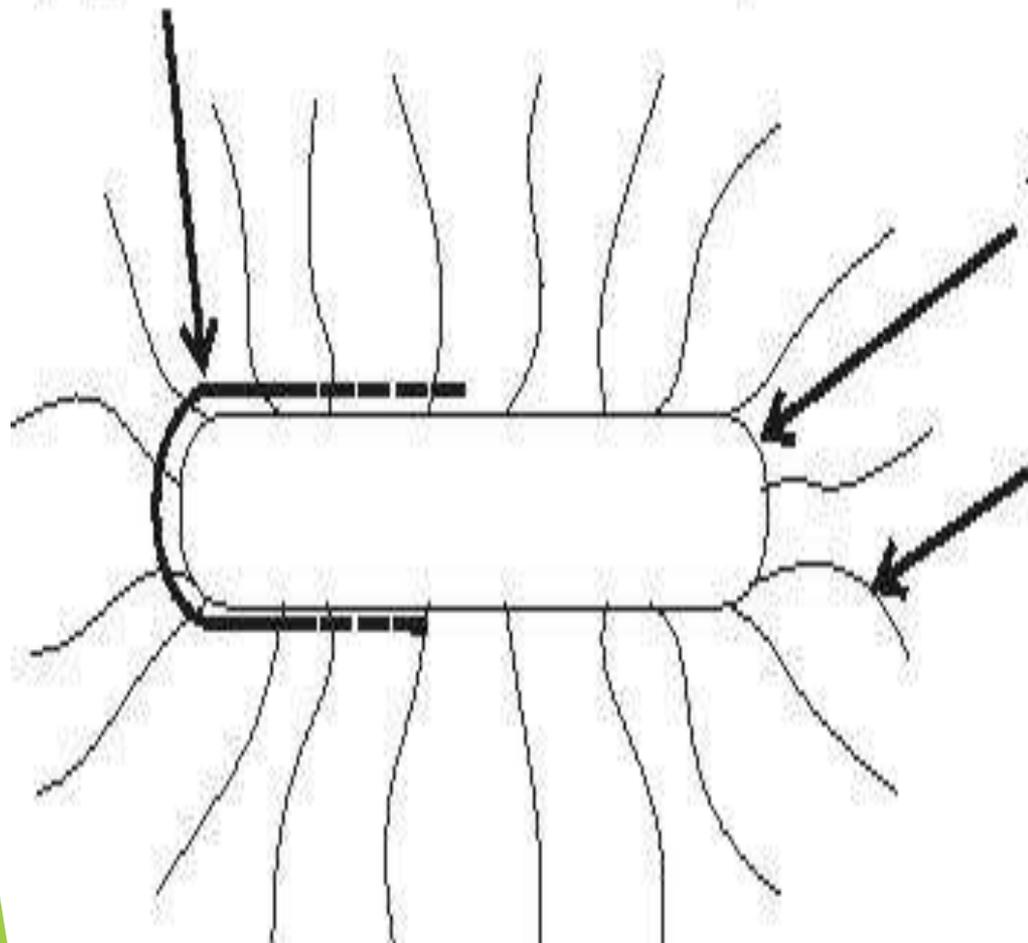
Pour les Entérobactéries :

- ▶ Ag somatique (de paroi) → Ag O (LPS)
- ▶ Ag de flagelle : Ag H
- ▶ Ag de capsule : Ag K appelé Vi chez Salmonella.

Sérotypage de Salmonella (Voir cours)

- Salmonella Typhi, Paratyphi C et Dublin expriment lorsqu'elles infectent un organisme une micro-capsule portant l'antigène Vi qui masque l'antigène O et empêche le sérotypage.
- La bactérie arrête de synthétiser cette micro- capsule après quelques repiquages au laboratoire..

Antigène de capsule K,
(Ag K ou Vi chez *Salmonella*)



Antigène pariétal O (Ag O)

Antigène de flagelle H (Ag H)

Test d'auto agglutination sur lame (eau + colonie)

Non

Test positif : le sérotypage est impossible, il faut réaliser un nouveau isolement

Test avec mélanges anti O : OMA, OMB et OMC

Si OMA +

Si OMB +

Groupe A, B, D, E ou L

Groupe C, F, G ou H

Tester anti O :

- groupe B : anti O 4,5
- groupe D : anti O 9
- groupe E : anti O 3,10,15
- groupe A : anti O 1, 2

Tester anti O :

le plus courant est le
groupe C :
anti O 6, 7, 8

OMA et OMB négatifs

Tester le sérum anti Vi

Négatif :

Vérifier qu'il s'agit
bien d'une Salmonelle
et recommencer le
sérotypage

Positif :

Détruire
l'antigène Vi par
chauffage 10' à
100°C et
recommencer le
sérotypage.

Tester les sérum anti H correspondants au groupe. On détermine ainsi le nom du sérovar. Attention le nom de genre et de sérovar portent une majuscule.

Exemple pour sérotypage de *Salmonella Enteritidis* :

Test d'autoagglutination

○ négatif

OMA

● positif

OMB

○ négatif

anti O 4, 5

○ négatif

anti O 9

● positif

Tests anti H du groupe D

anti H : a

○ négatif

anti H : d

○ négatif

anti H : g, m

● positif

Identification : *Salmonella Enteritidis*

Sérotypage d' *Escherichia coli* :

- ▶ Pour la recherche d' *E.coli* entéropathogènes (ECEP au nombre de 12 sérotypes).
- ▶ Sérotypage basé exclusivement sur l'étude de l'antigène O.

Test d'auto agglutination sur lame

Non

Test positif : le sérotypage est impossible, il faut réaliser un nouveau isolement



Test sérum nonavalent

Positif

Tester sérums trivalent 1,2 et 3 puis sérums monovalents et conclure : souche E.coli entéro-pathogène de sérotype ...

Négatif

Tester le sérum trivalent 4, si le résultat est négatif conclure E.coli non entéro-pathogène.