

CHAPITRE I : INTRODUCTION A L'ANALYSE MOLECULAIRE EN MICROBIOLOGIE

I- RAPPELS

Atouts du diagnostic moléculaire en microbiologie

- ✓ Diagnostic de bactéries non-cultivables, de cultures lentes ou difficiles
- ✓ Réalisation du diagnostic via une plateforme innovante permettant une grande traçabilité, exactitude, reproductibilité et rapidité dans le rendu des résultats
- ✓ Identification rapide de la bactérie responsable d'une infection pouvant avoir un impact sur le pronostic vital d'un patient.
- ✓ Tests permettant aux cliniciens de choisir le traitement approprié.
- ✓ Recherche des profils de résistance aux traitements
- ✓ Recherche des facteurs de virulence
- ✓ Traçage et identification de la source et de l'origine d'une infection
- ✓ Epidémiologie moléculaire...etc.

Exemples d'applications

- Bactériologie: méningite bactérienne, pneumonie, infections sexuellement transmissibles, endocardites, zoonoses, tuberculose.... etc
- Virologie: encéphalites, virus systémiques chez les immun-supprimés, hépatites virales..etc.
- Parasites: malaria, toxoplasmose, leishmaniaetc.

Les outils

- Les différents types de PCRs
- Le séquençage d'ADN
- La PFGE
- MLST
- Spolypotyping
- MIRU-VNTR... etc.

II- LES DIFFERENTS TYPES DE PCR

1- CHOIX DES AMORCES POUR UNE PCR :

Les séquences nucléotidiques des amorces doivent être spécifiques des séquences complémentaires de l'ADN simple-brin auxquelles elles vont s'apparier. La complémentarité parfaite n'étant par ailleurs pas obligatoire. De plus la spécificité de la séquence est importante dans la mesure où celle-ci ne doit pas pouvoir s'apparier à une autre séquence de l'ADN que l'on souhaite répliquer.

Les séquences des amorces doivent être choisies de sorte à minimiser les possibilités d'appariement entre elles. De même chaque amorce est choisie pour ne pas pouvoir former une structure secondaire.

Le procédé même de la PCR reposant, entre autres, sur des équilibres thermodynamiques, les amorces doivent avoir des températures de fusion le plus proche possible, autrement dit le rapport entre les bases AT et GC des deux amorces ne doit pas être trop différent.

- 2- PCR imple
- 3- PCR multiplexe
- 4- PCR quantitative
- 5- Nested PCR
- 6- Long-range PCR
- 7- HT-PCR
- 8- rtPCR

Des supports supplémentaires de ce cours sont ajoutés
Les explications en détails seront données en présentiel.