

Immunofluorescence



Coût

~10 €*
*si plusieurs échantillons. Plus cher si analyse d'un seul échantillon

Délai

3 jours*
* délai de réponse du laboratoire : 5 à 16 jours ouvrés

Fiabilité

2*
*établie selon une échelle relative en fonction des autres techniques

AVANTAGES

- Test facile à réaliser
- Sensibilité et combinaison de la spécificité sérologique avec la morphologie bactérienne

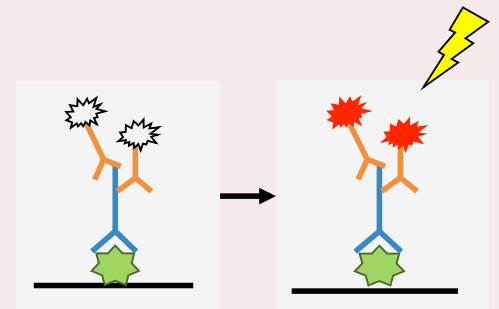
INCONVÉNIENTS

- Temps de prélèvement parfois long
- Risque de photoblanchiment **
- Possibilité de faux positifs ou de faux négatifs

PRINCIPE

Reconnaissance d'une protéine produite par le bioagresseur (■), appelée antigène (■), par une protéine produite en laboratoire appelée anticorps (■) qui est spécifique à l'agent recherché. Pour la révélation, une protéine fluorescente est liée à un second type d'anticorps (■). La protéine fluorescente émet de la lumière (■) lorsqu'elle est exposée à une certaine longueur d'onde (■). La lecture s'effectue à l'aide d'un microscope à fluorescence.

Si l'agent n'est pas présent, il n'y a pas émission de couleur, car les anticorps ne se sont pas fixés.



Présence du bioagresseur

Protocole de prélèvement des échantillons contaminés

- Prélever les organes suspectés malades et les stocker dans des sachets non comprimés
- Annoter soigneusement les sacs individuellement
- Conserver au frais et envoyer le plus vite possible (dans les 24h suivant le prélèvement)
- Préférer un envoi en début de semaine, par transporteur rapide, pour éviter le stockage durant le weekend

Contactez un laboratoire proposant ce service pour déterminer le type d'échantillon (nombre, nature...), le meilleur moment de prélèvement et les informations complémentaires à envoyer (état de la parcelle, itinéraires techniques...)



Pour information

Cette méthode est fréquemment utilisée dans le cadre de tests pour la certification des semences et plants, la réalisation de plans de surveillance ou la confirmation en cas de symptômes douteux.

C'est une méthode de laboratoire qui nécessite un matériel spécifique. Tous les laboratoires ne proposent pas cette technique et il n'existe, actuellement, pas de kits pour le terrain.

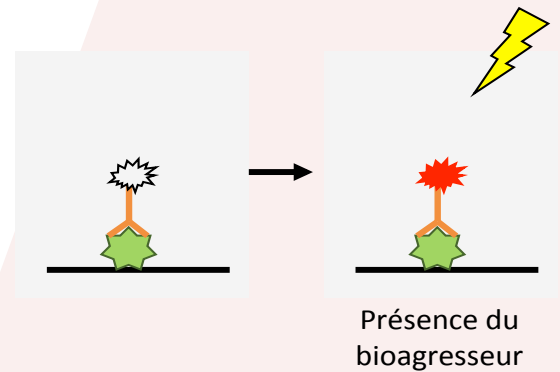
** Perte de fluorescence des protéines : baisse de l'intensité lumineuse

Immunofluorescence

Immunofluorescence directe

Dans cette technique, la protéine fluorescente, appelée fluorochrome n'est pas couplée à un anticorps secondaire, mais sur l'anticorps primaire. Ce dernier est spécifique (anticorps monoclonal) au bioagresseur.

Cette technique présente néanmoins un désavantage conséquent. En effet, il existe peu de sites de fixation sur le bioagresseur, donc peu d'anticorps peuvent se lier. Cela a pour conséquence de générer une faible intensité lumineuse.

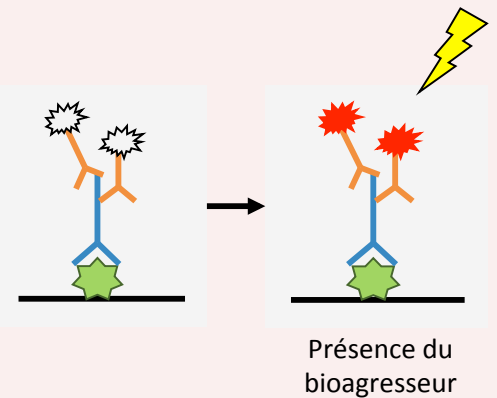


Immunofluorescence indirecte

Pour pallier aux problèmes d'intensité lumineuse, l'immunofluorescence indirecte est préférée.

Dans cette technique, un anticorps primaire monoclonal se fixe sur le bioagresseur. Ensuite, un anticorps secondaire polyclonal qui possède une forte affinité pour l'anticorps primaire est ajouté. Les anticorps primaires présentent différents sites de fixation. Plusieurs anticorps secondaires peuvent donc s'y lier, ce qui décuple ainsi l'intensité lumineuse.

C'est aussi une technique moins onéreuse que l'immunofluorescence directe. Les anticorps primaires, directement marqués par un fluorochrome, sont limités sur le marché et très chers.



Inconvénients*

Cette technique est rapide, fiable et plutôt abordable en termes de coûts. Cependant, certains inconvénients existent.

- Faux positif ou faux négatif : le résultat obtenu n'est pas conforme à la réalité. Pour limiter les faux positifs, un témoin négatif est effectué avant analyse. Pour ce faire, les anticorps secondaires sont mis en présence du bioagresseur. Après lavage, il ne doit pas y avoir de fluorescence émise. En effet, les anticorps secondaires n'étant pas spécifiques au bioagresseur, ils ne peuvent s'y fixer. Néanmoins, les analyses sont généralement doublées, pour limiter les problèmes de faux résultats. L'obtention de deux résultats permet une comparaison.
- Photo-blanchiment : les molécules fluorescentes utilisées peuvent arrêter d'émettre de la fluorescence et ainsi fausser les résultats. L'utilisation de matériel à haute résolution et haute sensibilité atténue ce phénomène.
- Après les 12h d'incubation, un lavage est nécessaire afin éliminer toutes les molécules non fixées.

*Connaître ces inconvénients permet de les éviter

Compléments

Cette technique est très proche de la technique Elisa. Il s'agit de deux techniques de sérologies basées sur la reconnaissance antigène-anticorps, le bioagresseur jouant le rôle d'antigène. La seule différence entre elles est la révélation et la lecture des résultats : le test Elisa utilise une méthode de colorimétrie tandis que l'immunofluorescence utilise une méthode de fluorescence.