

VI. ANALOGIE ENTRE CYTOMETRIE ET MICROSCOPIE A FLUORESCENCE

L'association de l'immunofluorescence et de la cytométrie en flux (CMF) est devenue un élément essentiel dans l'étude des systèmes biologiques, surtout dans la discrimination entre cellules d'une population hétérogène.

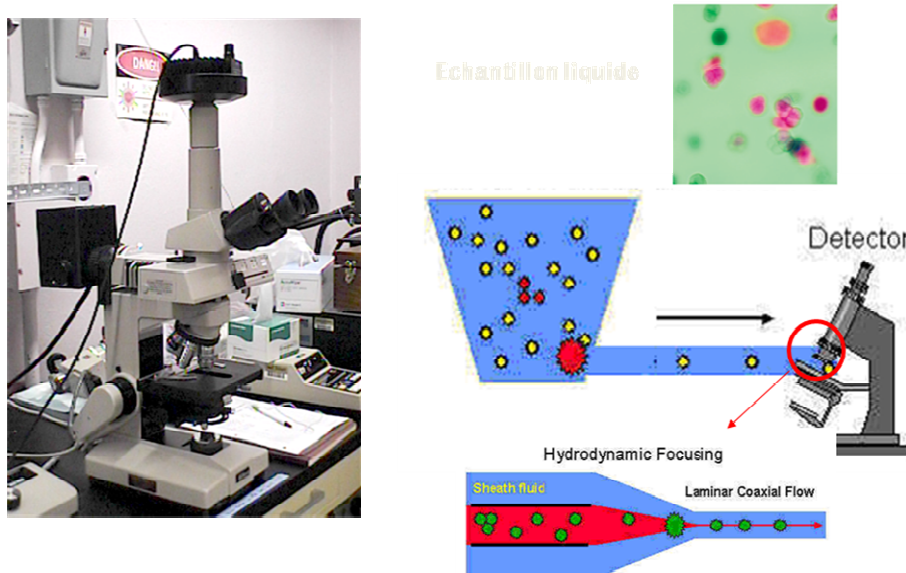


Figure 29 : Analogie entre cytométrie et microscopie à fluorescence.

VII. LA MICROSCOPIE A FLUORESCENCE

VII.1. Définition

La microscopie à fluorescence est une technique de microscopie optique qui tire profit du phénomène de fluorescence pour observer divers composés. La microscopie à fluorescence repose sur la formation d'une image par détection de cette lumière émise.

En microscopie à fluorescence, on peut donc visualiser directement des substances fluorescentes. Pour des substances, des cellules, des molécules non fluorescentes, il est nécessaire de les marquer par des substances appelées fluorochromes (tableau I), comme par exemple le DAPI (Di Amidino Phényle Indole) qui marque l'ADN et fluoresce en bleu. La technique du microscope en fluorescence est donc la même qu'un microscope optique, sauf que la lumière utilisée n'est pas blanche, mais possède une gamme définie de longueur d'onde.

VII.2. Principe de la microscopie à fluorescence

Le principe de base du microscope à fluorescence est d'envoyer une lumière excitatrice (lumière ultraviolette UV) de longueur d'onde précise sur la préparation à observer. Après passage à travers un filtre excitateur, cette lumière est envoyée sur l'échantillon (fluorescent ou rendu fluorescent) qui émet alors de la fluorescence à des longueurs d'onde supérieures aux longueurs d'onde d'excitation tant qu'il est illuminé. Un filtre sélecteur laisse passer seulement la lumière fluorescente émise et arrête la lumière UV réfléchie par l'échantillon (figure 30).

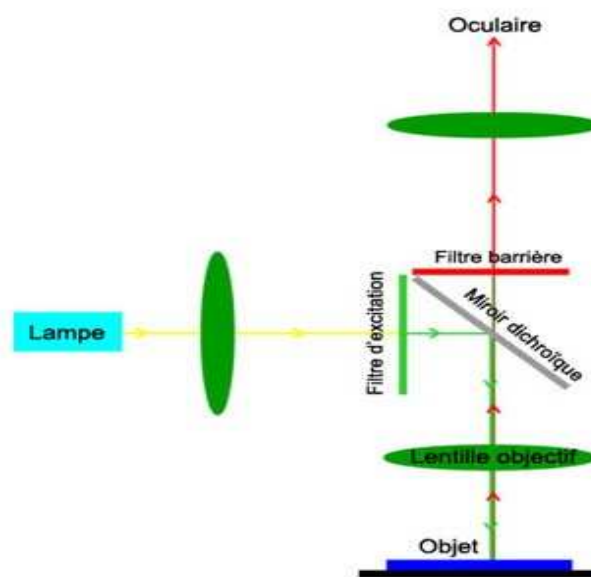


Figure 30: Schéma de fonctionnement d'un microscope à fluorescence.

VII.3. QUELQUES APPLICATIONS

A. Diagnostique des pathologie en Hématologie

- Polynucléose
 - a) infection bactérienne (rechercher principalement chez l'enfant une angine, une infection urinaire et surtout une pneumopathie)
 - b) pathologie inflammatoire.
- Hyperlymphocytose : infection virale le plus souvent

- Neutropénie: infections bactériennes et mycotiques
- Lymphopénie
- a) déficit immunitaire congénital ou acquis.
- b) certaines infections bactériennes ou virales.
- c) chimiothérapie.
- d) pathologies auto-immunes.

B. En Parasitologie

- Dépistage du Paludisme : Mise en évidence de *Plasmodium* dans le sang total humain

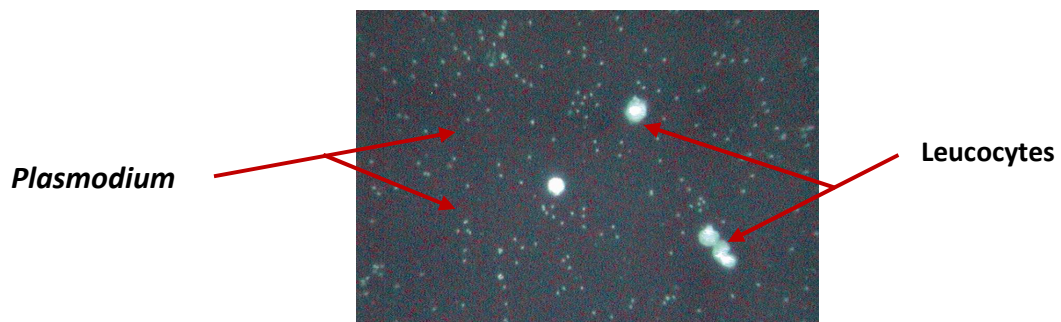


Figure 31 : Photographie des Leucocytes et plasmodies sur CyScope® (Partec GmbH, Görlitz, Germany).

- Détection des microfilaires

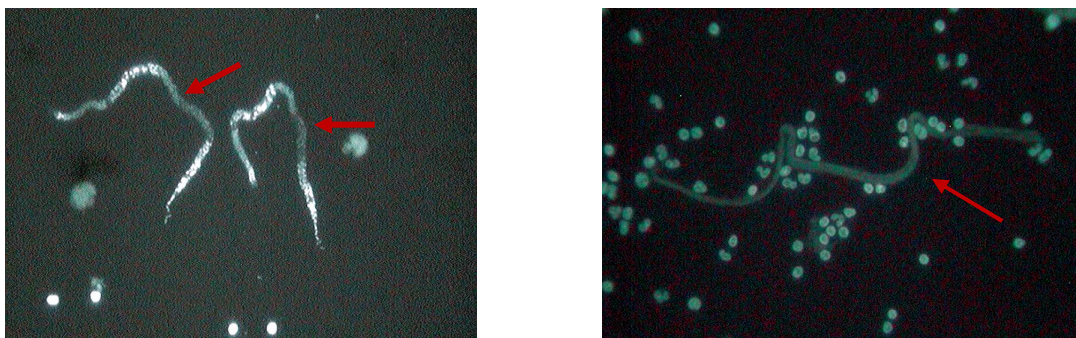
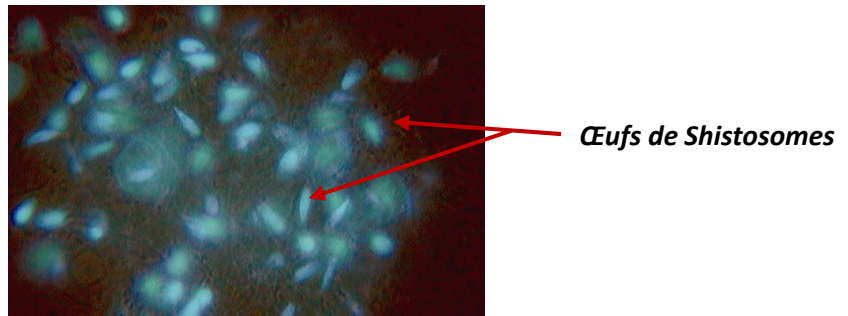


Figure 32 : Photographie des filaires (*Loa loa*) sur CyScope® .

C. En Urologie

- Détection des œufs de Shistosomes



D. En Coprologie

Figure 33 : Photographie des œufs de Shistosomes sur CyScope® .



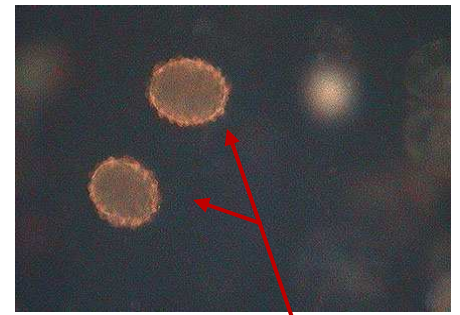
- Détection des parasites intestinaux



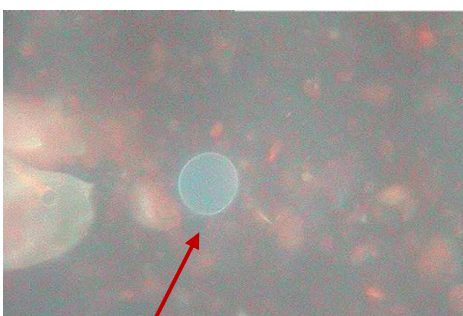
Œuf de *Schistosoma mansoni*



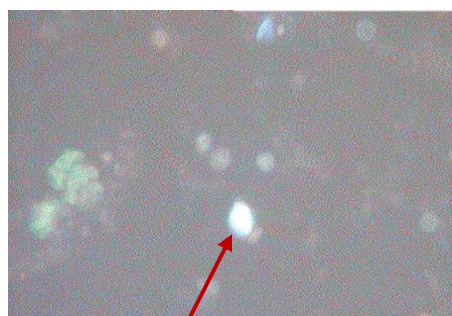
Œuf de *Trichuris trichuira*



Œuf d'*Ascaris lumbricoides*



Kyste d'*Entamoeba coli*



Kyste de *Giardia intestinalis*



Œuf d'*Ankylostome*

Figure 34 : Photographie des œufs et kystes de Shistosomes de parasites intestinaux sur CyScope® .

E. En Bactériologie

➤ Détection des mycobactéries

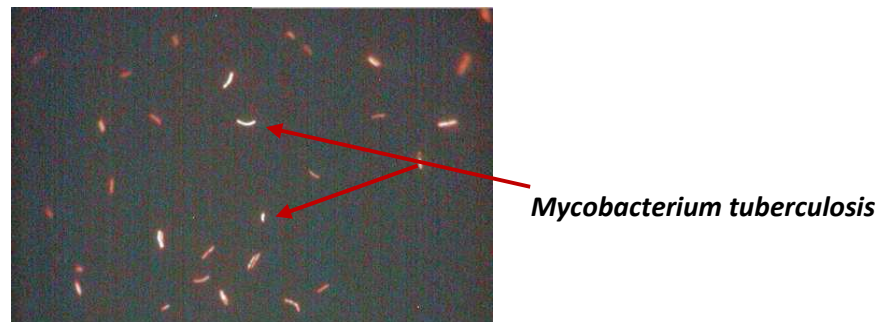
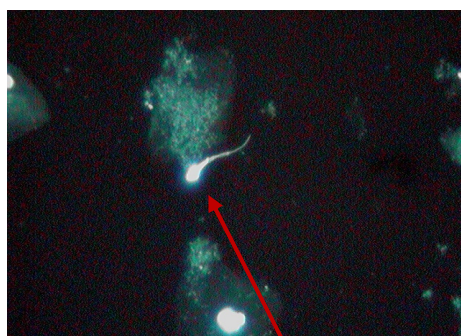
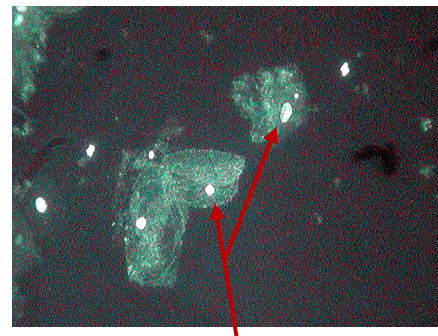


Figure 35 : Photographie des BAAR (bacilles acido-alcoolorésistants sur CyScope®).

➤ Autres



Spermatozoïde



Cellules épithéliales

Figure 36 : Spermatozoïde et cellules épithéliales sur CyScope®.