

*Diagnostic biologique d'une  
infection bactérienne*

*uc32023/2024*

*2emeannée chirdent.*

*Allag h.*

# PLAN

Objectif

I. Introduction

II. Démarche diagnostique

1. Diagnostic direct:
2. Diagnostic indirect

III. Conclusion

Bibliographie.

# Objectif

---

Connaitre les étapes du diagnostic bactériologique d'une infection

# introduction

- Le diagnostic bactériologique est **un ensemble d'étapes** permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne.
- Ces étapes sont **variées** et caractérisent **soit le diagnostic direct soit le diagnostic indirect.**
- Rôle primordial du laboratoire de bactériologie dans le diagnostic d'une infection bactérienne.

# introduction

## ➤ Plusieurs méthodes:

❖ **Diagnostic direct**: mise en évidence de la bactérie responsable du tableau clinique,

❖ **Diagnostic indirect**: mise en évidence des marqueurs biologiques (Anticorps humoraux ou cellulaires) témoins de la multiplication bactérienne dans l'organisme

# Démarche diagnostique

## Diagnostic Direct =

Détection du germe ou de ses composants

Détecter le  
germe

Détecter  
les Ag

Biologie  
moléculaire

Microscopie  
Culture,  
Identification,  
Antibiogramme

PCR...

## Diagnostic Indirect =

Réponse immunitaire

- recherche des anticorps
- Tests cutanées

Diagnostic direct

# Prélèvement (1)

La qualité du prélèvement conditionne le résultat:

- 1. Types de prélèvements*
- 2. Moment du prélèvements*
- 3. Comment faire les prélèvements*
- 4. Conservation et transport.*



# Prélèvement (2)

## 1 Respect des conditions de stérilité

Ne pas introduire des germes étrangers au prélèvement.

## 2 Choix du moment:

Avant tout traitement antibiotique

Pics de température

Evolution de la maladie

## 3 Conservation et transport:

Nature du prélèvement Nature  
du germe suspecté

# Prélèvement (3)

## Fiche de renseignement +++++

- Informations utiles sur le malade: âge, sexe....
- Tableau clinique: début, symptômes majeurs, type d'évolution.
- Informations spécifiques pouvant orienter le bactériologiste vers une recherche de germes particuliers

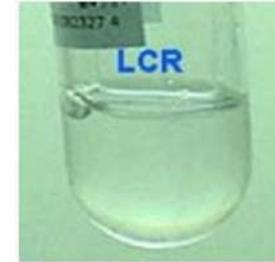
# Enregistrement au laboratoire

- Sur registre du laboratoire:
  - Numéro
  - Date de réception au laboratoire
  - Nom, prénom, âge et sexe
  - Adresse ou service hospitalier, nom du médecin
  - Nature du prélèvement

# Diagnostic direct (1)

**Examen macroscopique:** aspect du prélèvement

L'infection bactérienne peut s'accompagner d'une **modification visuelle ou macroscopique**

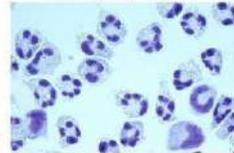


Méningite à liquide clair



Méningite purulente

Liquide céphalo-rachidien



Polynucléaires neutrophiles

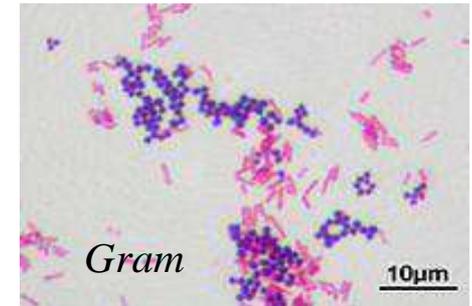
## Examens microscopiques:

➤ Examen sans coloration :

État frais (entre lame et lamelle (X 40)).

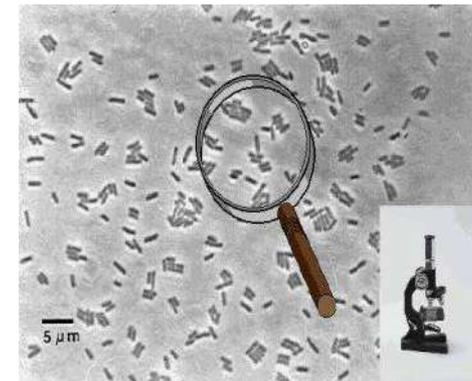
Apprécier:

- la morphologie des **bactéries**,
- leurs groupements,
- leur abondance
- leur mobilité



Gram

10μm

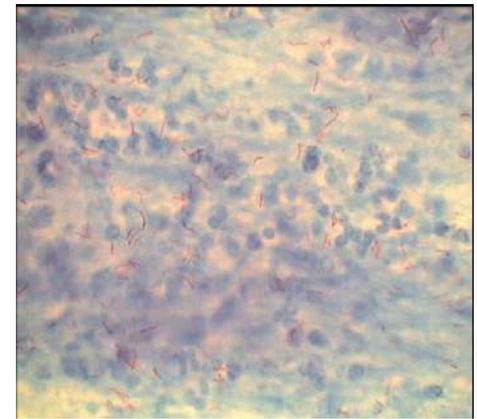
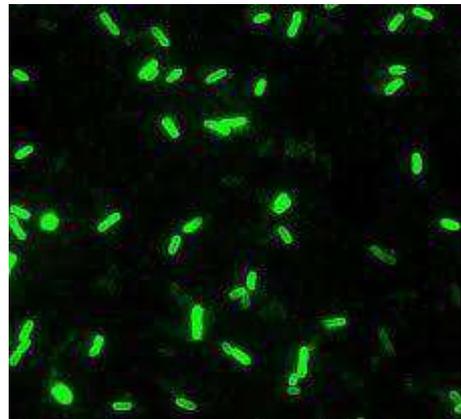
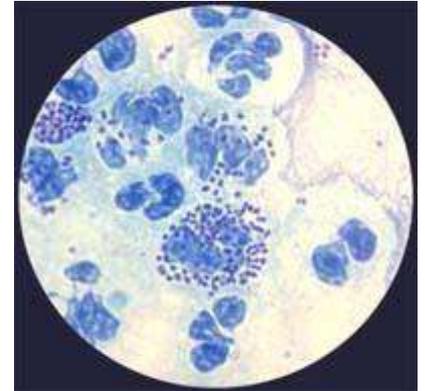
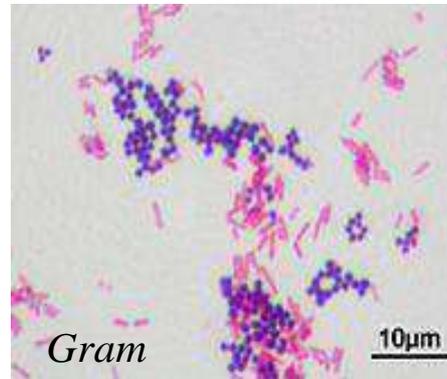


5 μm

# Diagnostic direct (1)

## Examens microscopiques:

- Examen après coloration Gram, BM, coloration spécifique (ZN...).
- Autres techniques immunologiques: immunofluorescence directe et indirecte



Coloration ZN

## Éléments constants

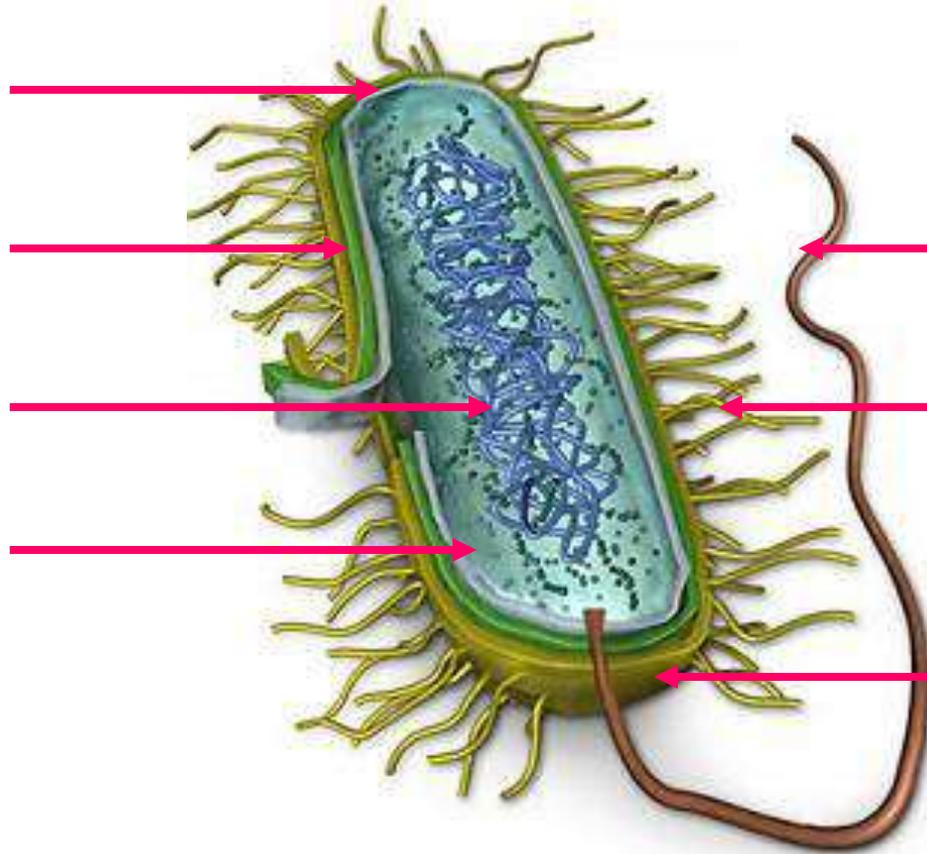
## Éléments facultatifs

Membrane  
cytoplasmique

Paroi  
bactérienne

Chromosome

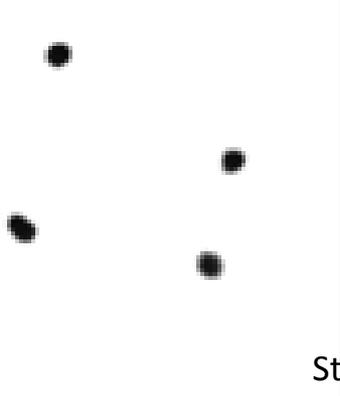
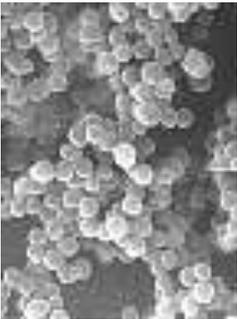
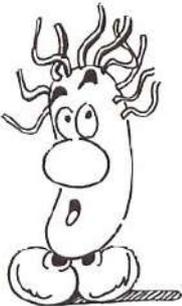
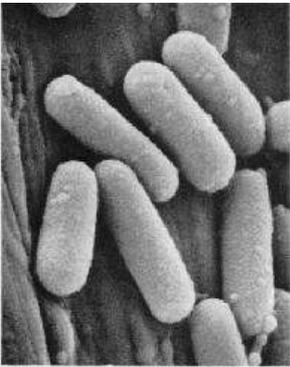
Cytoplasme

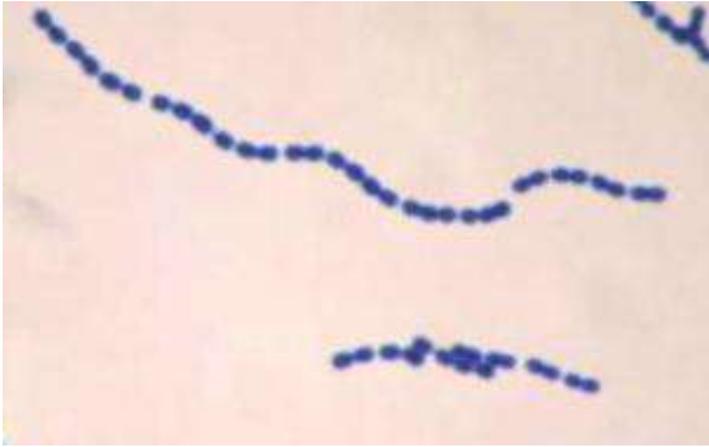


flagelle

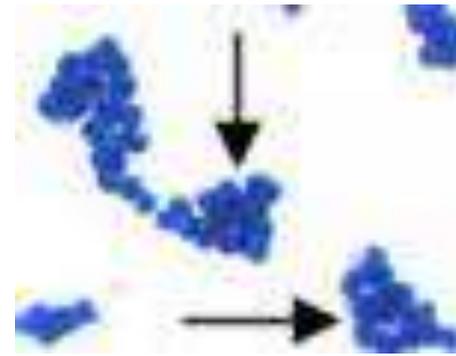
Pilis sexuels

Capsule  
pneumocoques

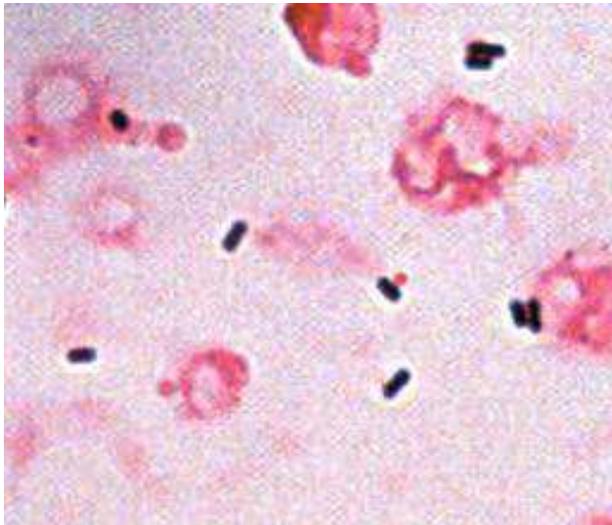
forme	Types de bactéries	Aspects et groupements		
		isolés	Chaînettes	Amas
<p>Sphérique (ronde)</p> 	Coques *		 <p>Streptocoques</p>	 <p>staphylocoques</p>
<p>Cylindrique (bâtonnet)</p> 	Bacilles *			
		<p><i>Salmonella, colibacille, Clostridium, Listeria, Bacillus</i></p>		



streptocoques



staphylocoques

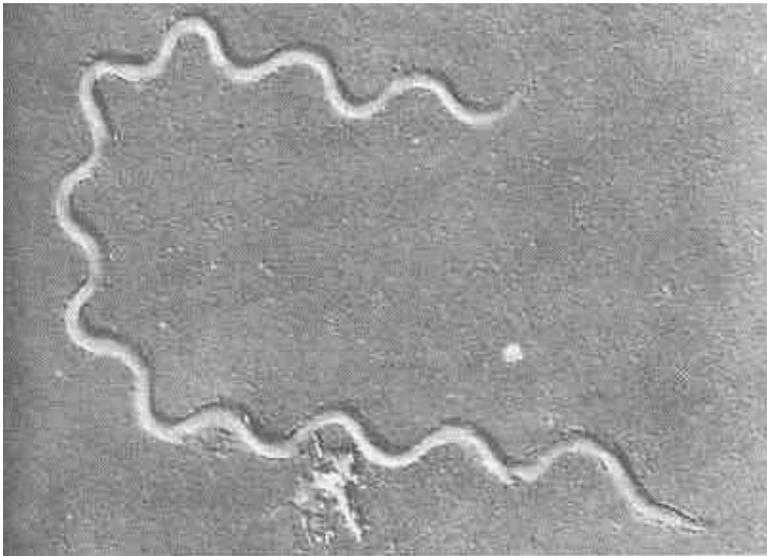


Listeria

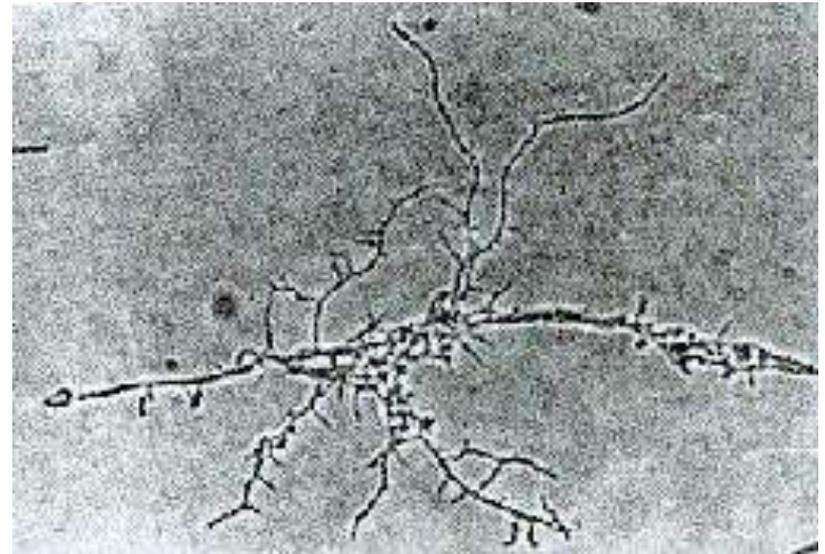


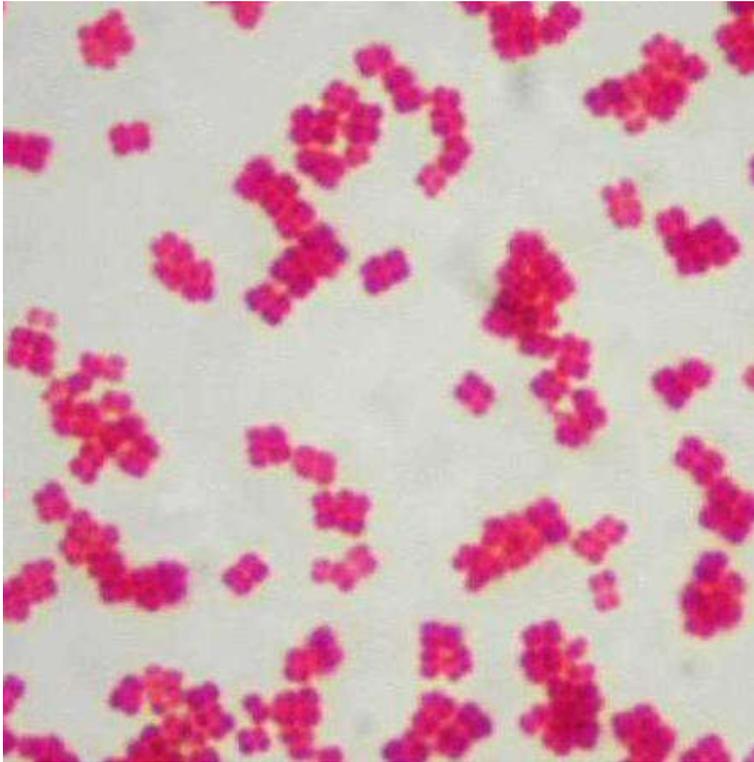
Bacillus

Forme spiralée :  
Spirochète

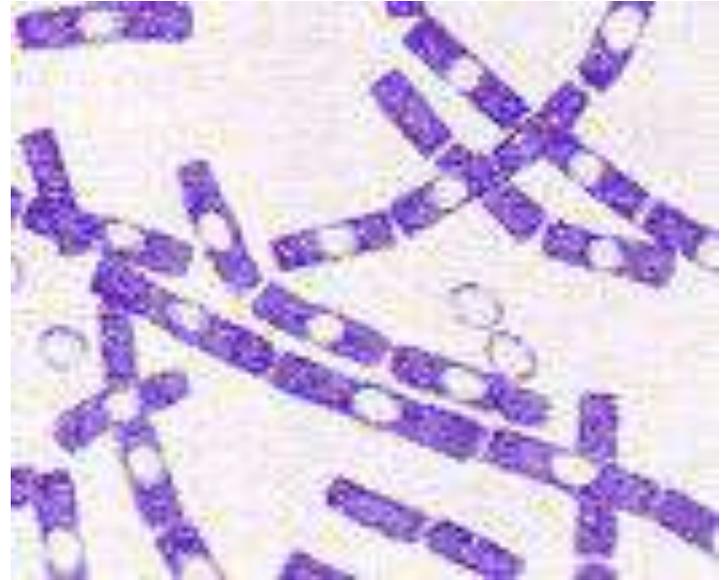


Forme filamenteuse :  
Streptomyces

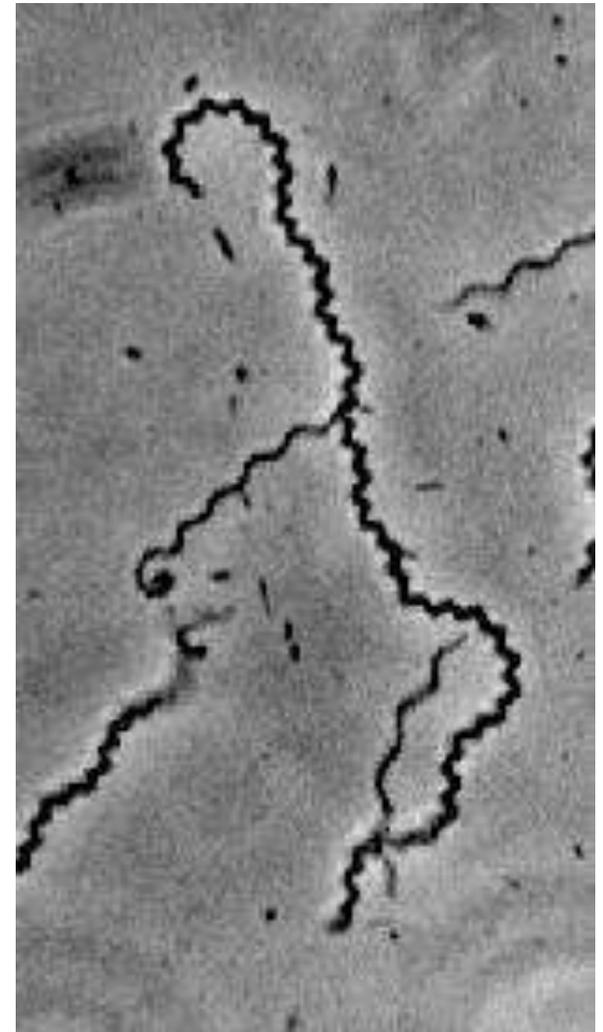
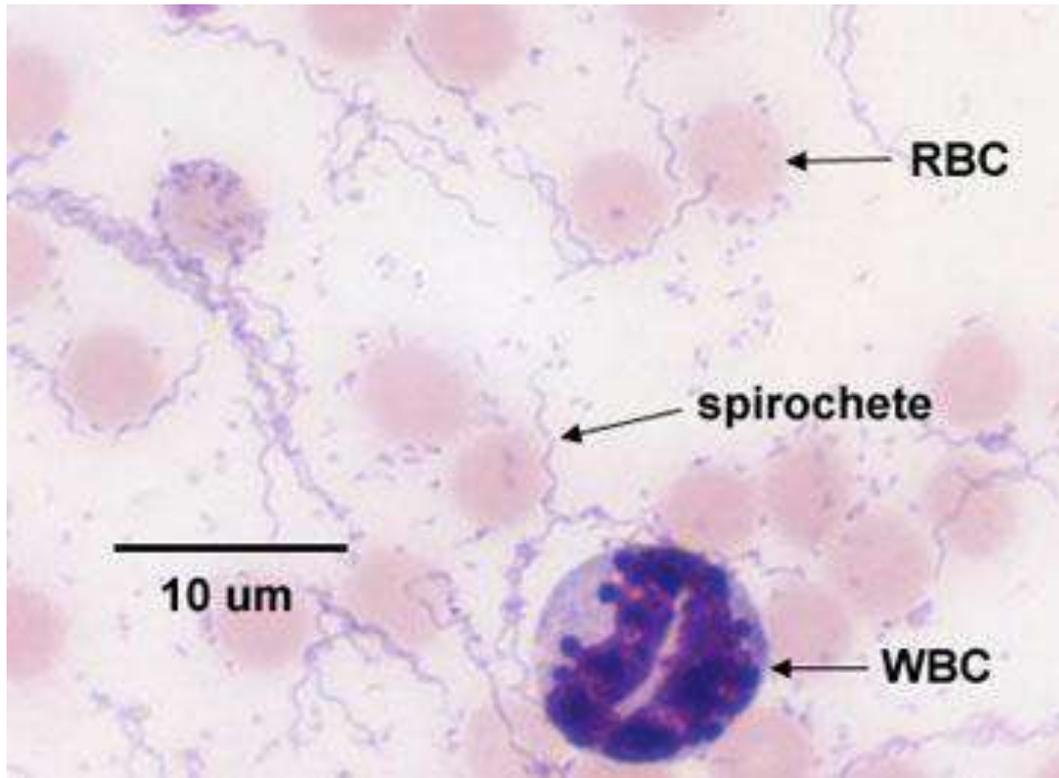




micrococcus



Bacilles sporulés

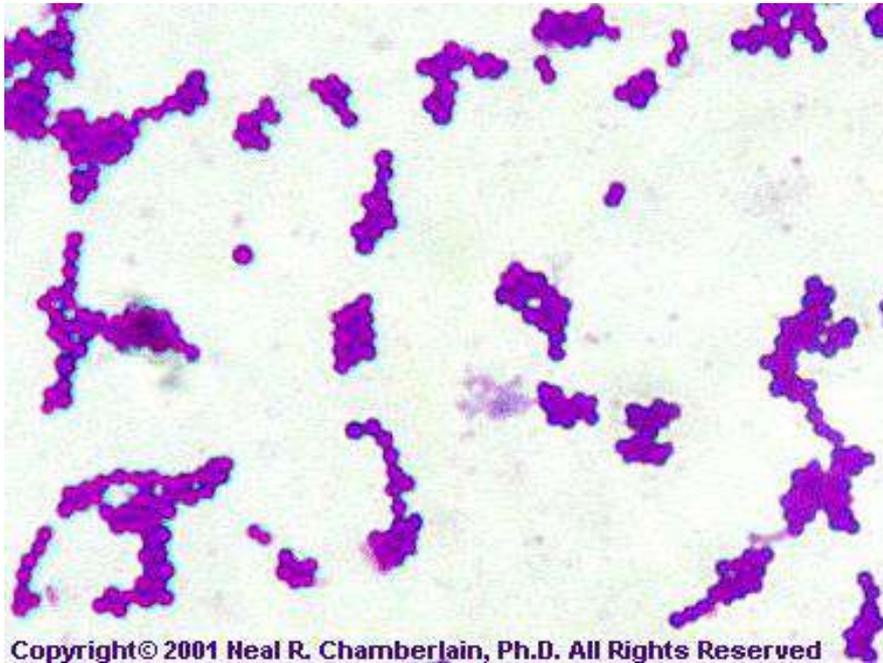


RESPONSABLE DE LA MALADIE DE LYME  
maladie des forestiers véhiculée par les TIQUES

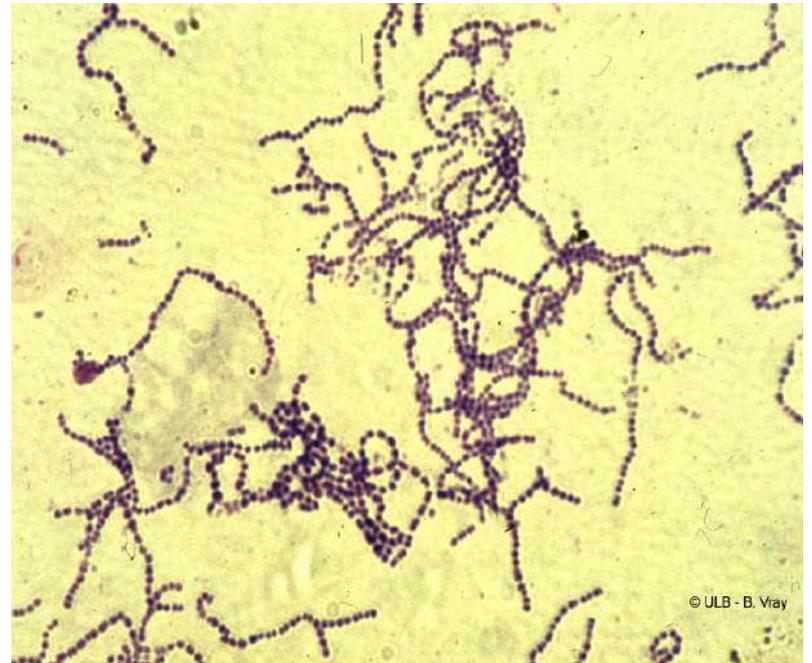
# COLORATION DE GRAM

## Cocci à Gram positif

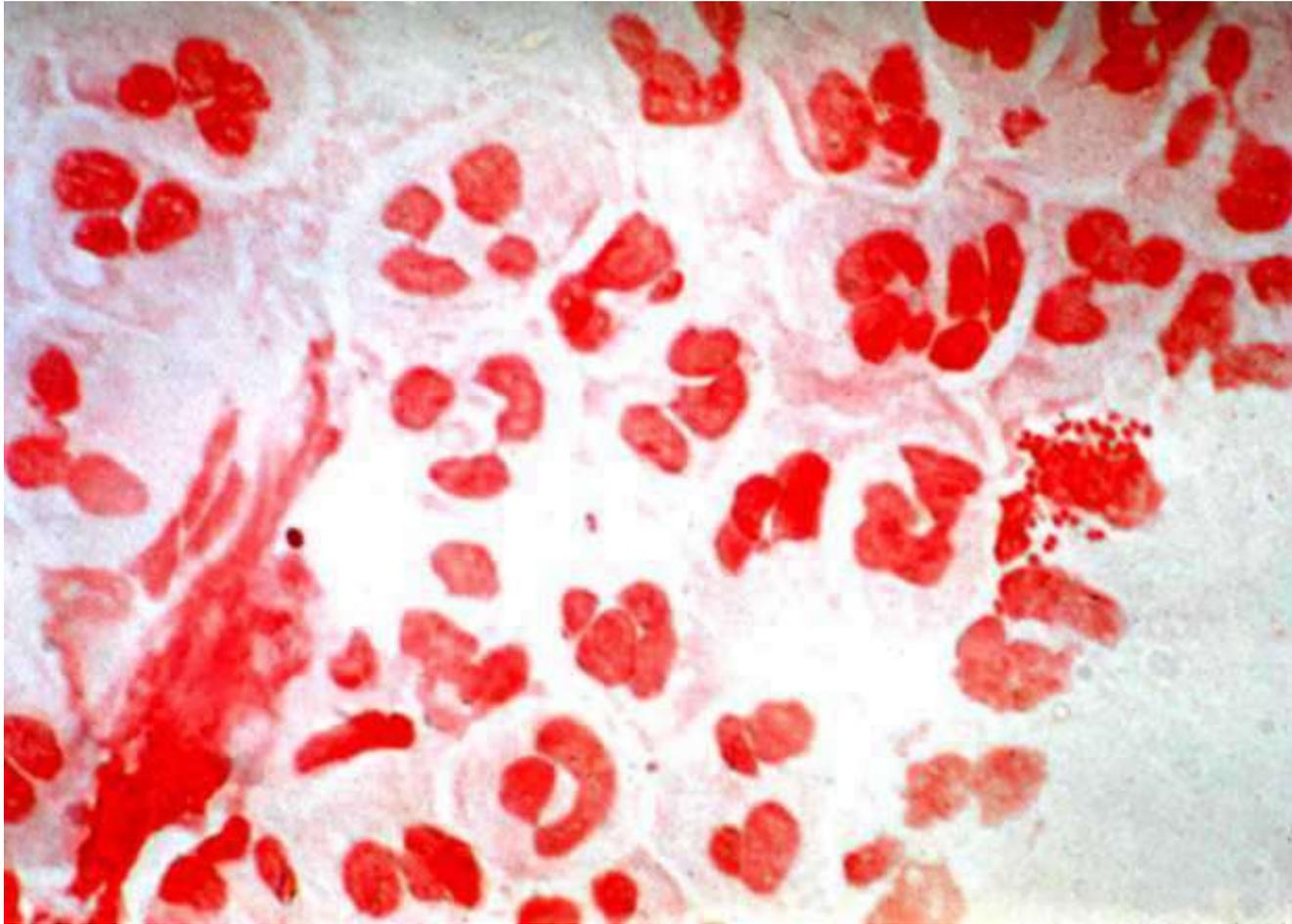
### Staphylocoques



### Streptocoques



# Cocci à Gram



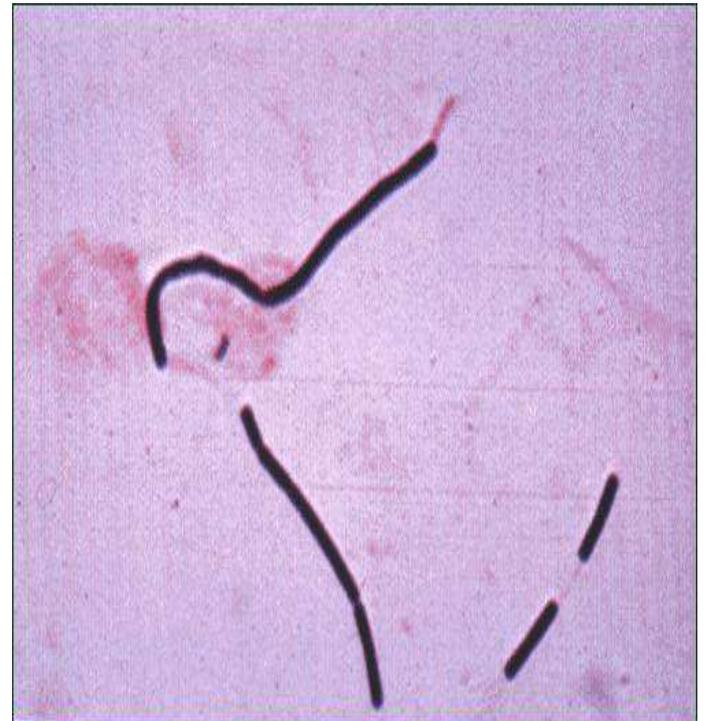
# COLORATION DE GRAM

## Bacilles à Gram positif

**Clostridium perfringens**



**Clostridium botulinum**



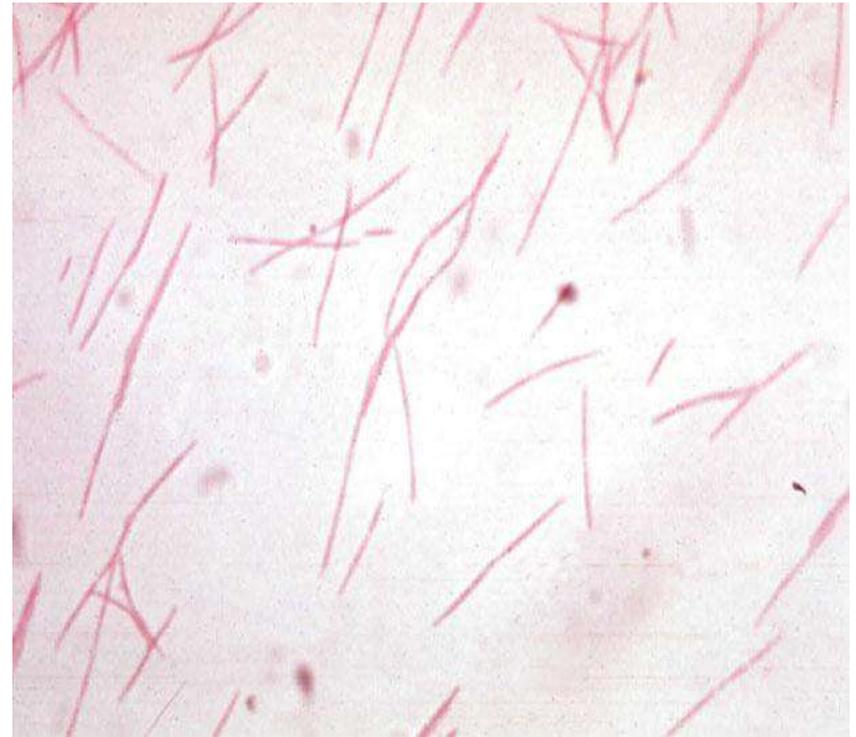
# COLORATION DE GRAM

## Bacilles à Gram négatif

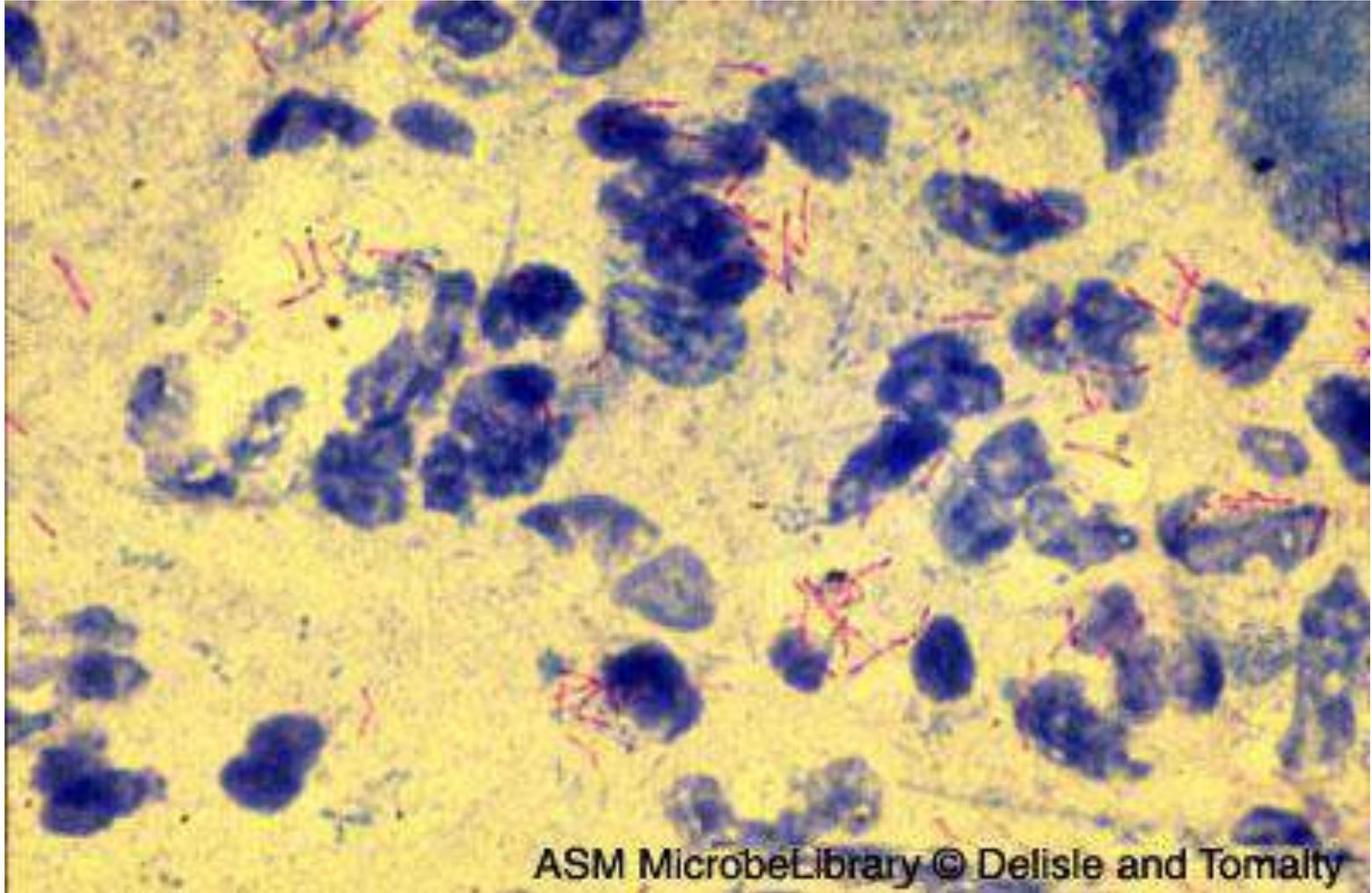
**Pseudomonas aeruginosa**



**Fusobacterium**

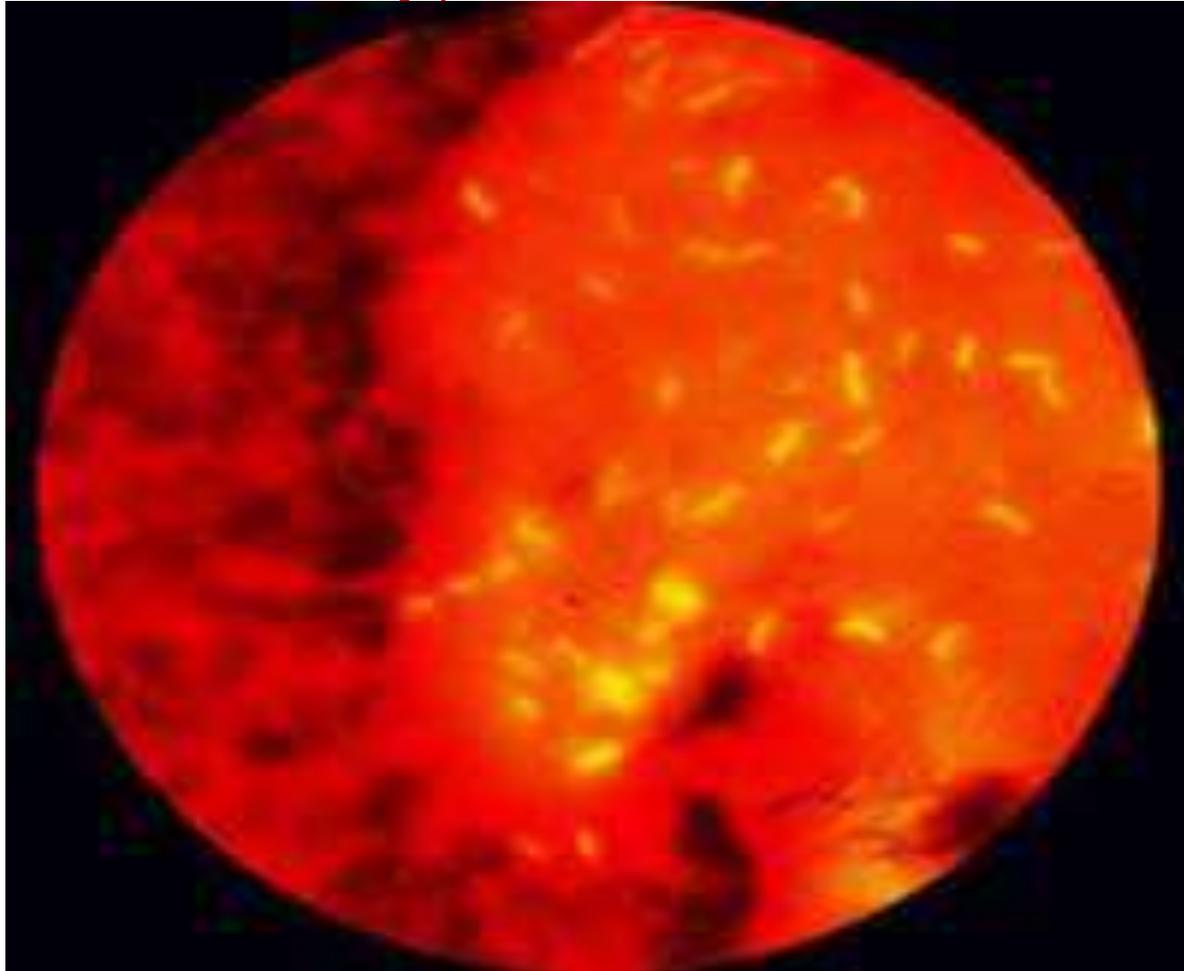


# Colorati on de

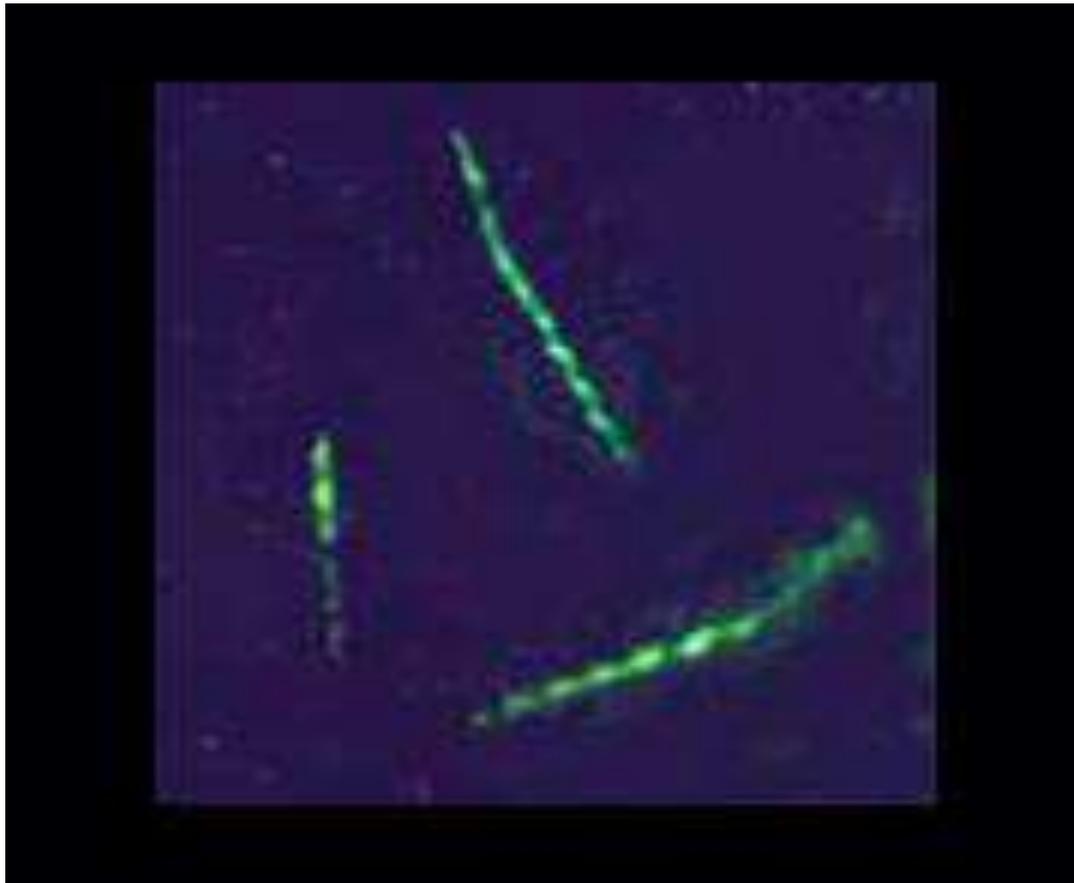


ASM MicrobeLibrary © Delisle and Tomalty

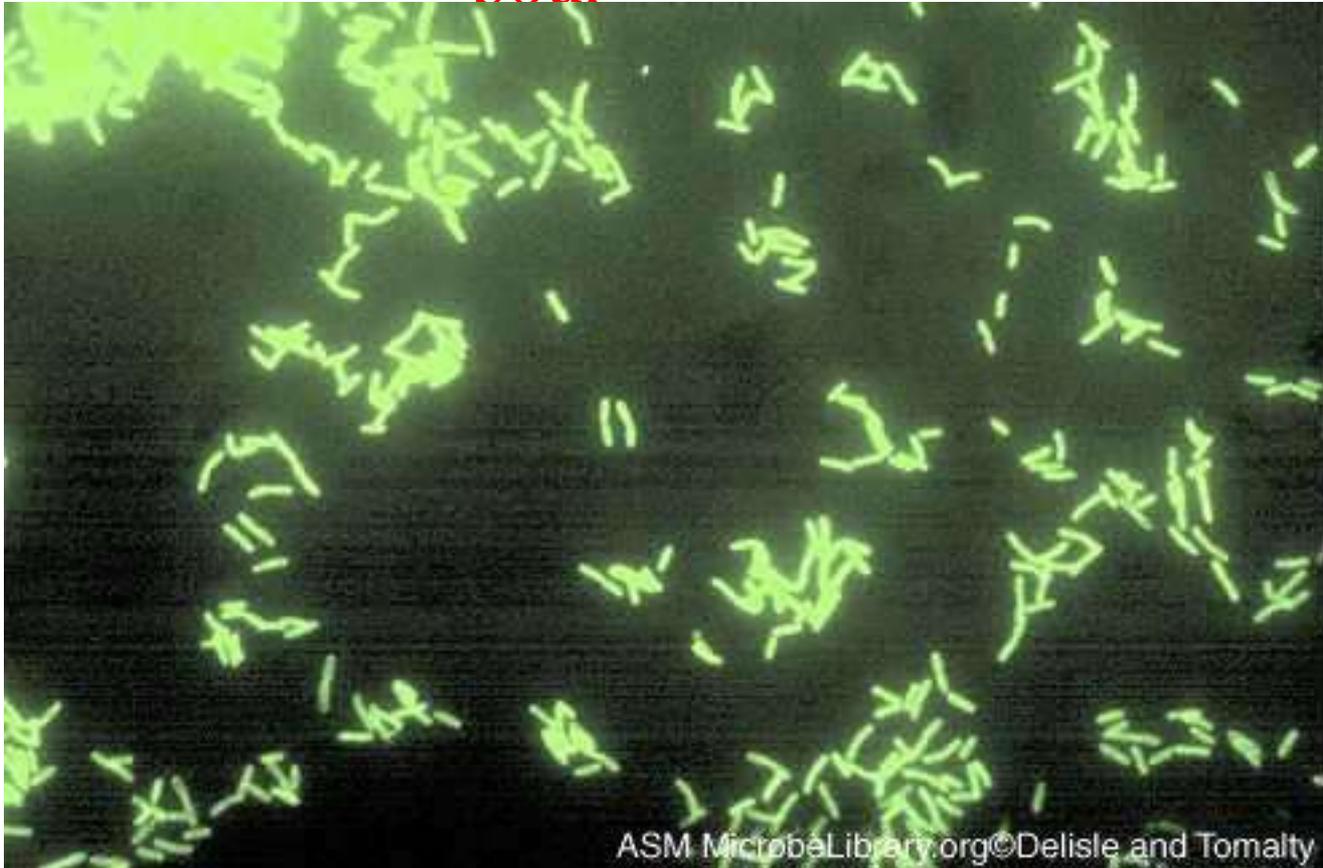
# Colorati on à 12



Examen au fond noir  
**Treponema pallidum**



Technique  
d'immunofluorescence  
pour



# Diagnostic direct (2)

## Intérêt de l'examen direct:

- La pureté de la population bactérienne,
- La morphologie du germe,
- La richesse bactérienne,
- La présence de cellules polynucléaires ou lymphocytaires
- Orientent les recherches ultérieures pour le choix des milieux à ensemercer, les tests à lancer rapidement et
- Donner un diagnostic de forte présomption au clinicien qui peut commencer le bon traitement immédiat

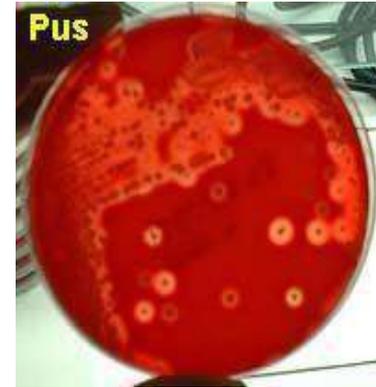
# Diagnostic direct (3)

## Isolement de la bactérie responsable

La mise en culture doit être appropriée à la bactérie suspectée

Isolement sur milieux de culture:

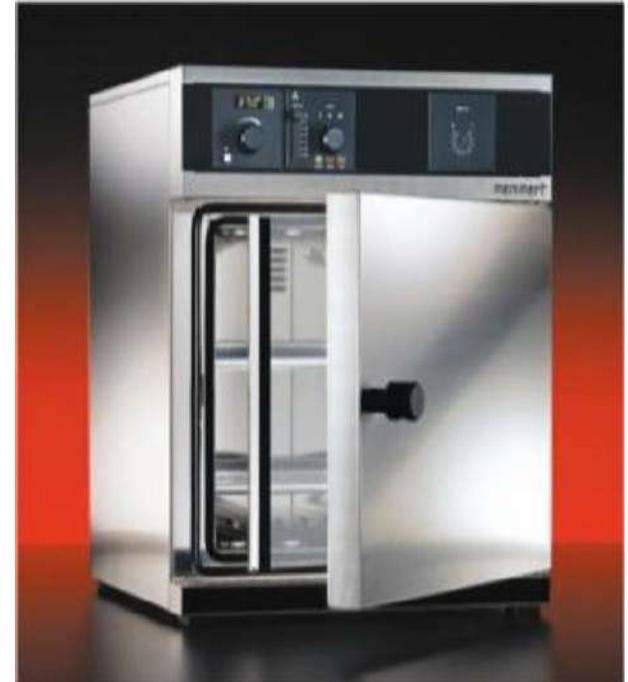
- Milieux nutritifs simples
- Milieux nutritifs enrichis
- Milieux sélectifs,
- milieux chromogènes



# Diagnostic direct (4)

## Conditions d'incubation :

- Température ( 37, 30 ou 42° )
- Tension d'oxygène
- Durée d'incubation  
( 18h, 24h, 48h, jours ou semaines)



# Diagnostic direct (5)

## Identification de la bactérie

L'identification est basée sur l'étude des :

- Caractères microscopique ( EF et colorations)
- Caractères cultureux ( morphologie, durée, conditions physiologiques)
- Tests d'orientation rapide: catalase, oxydase.
- Biochimiques: galeries biochimique manuelles ou pouvant être lues par des automates (Vitek, Walkaway...).
- Tests d'agglutination.

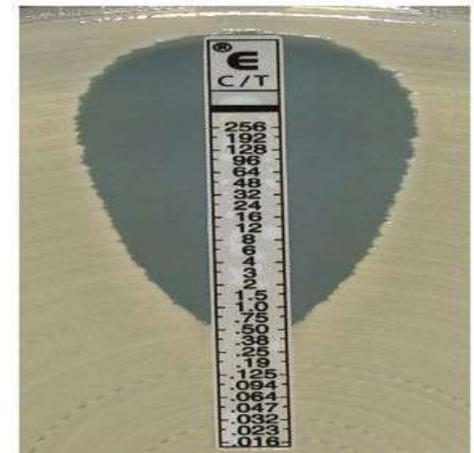
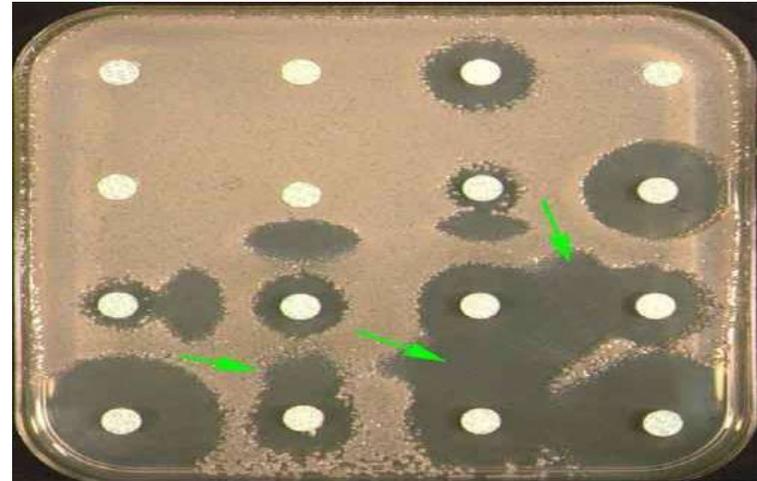


Galreie API

# Diagnostic direct (6)

## Etude de la sensibilité du germe aux antibiotiques

- Antibiogramme sur milieu solide.
- CMI.
- E test.
- système automatisé.



# Diagnostic direct (7)

## Lecture et interprétation des résultats:

- Type de prélèvement ( mono ou poly microbien)
- Malade et l'histoire clinique
- Contexte épidémiologique

## Le diagnostic de certitude: bactériologie

Une diarrhée aigüe = Typhoïde si isolement de *S. typhi*

Pneumopathie = Tuberculose si isolement de *M.tuberculosis*

Méningite cérébro-spinale si isolement de *N. meningitidis*

# Diagnostic direct (8)

## Diagnostic rapide par recherche d'antigènes

- ❖ Test de diagnostic rapide (qlq min à qlq heures)
- ❖ Permet un diagnostic biologique de certitude ou quasi-certitude.
- ❖ Intérêt particuliers dans les infections graves (méningites, sepsis sévères..).
  
- 2 types d'antigènes recherchés:
  1. Ag solubles
  2. Ag extractibles

# Diagnostic direct (9)

## Diagnostic rapide par recherche d'antigènes

Plusieurs techniques utilisées:

- Agglutination.
- ELISA
- Immuno-capture...

# Diagnostic direct (10)

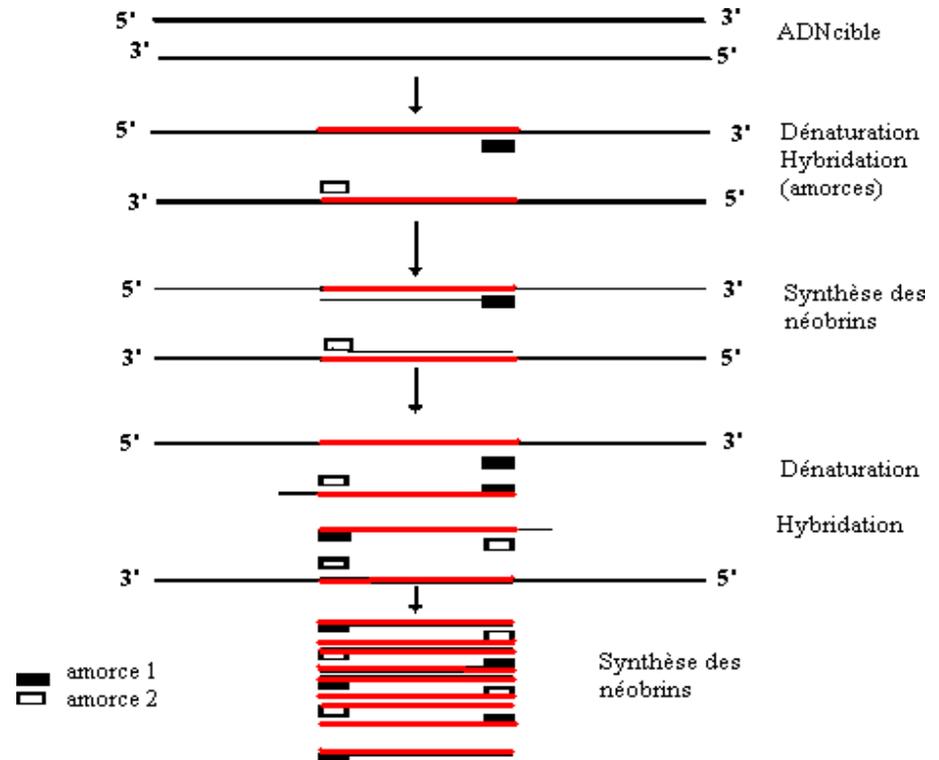
## Biologie moléculaire

Mise en évidence de marqueurs moléculaires

1 Extraction ADN.

2 Amplification.

3 Analyse du produit d'amplification



# Diagnostic direct (11)

## Biologie moléculaire

Domaines d'application:

- A. Détection bactérienne
- B. Identification bactérienne
- C. Typage moléculaire
  - 1- Étude des profils.
  - 2-Méthodes de séquençage
- D. Détection de la résistance

```
SHV_28_database
Kpneumoniae_2_SHV_28
Kpneumoniae_4_SHV_28
Kpneumoniae_25_SHV_28
Kpneumoniae_24_SHV_28
Prim.cons.

      10      20      30      40      50      60
      |      |      |      |      |      |
----MRFIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
----MRFIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
----MRFIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
GCIVVMRFIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
----MRFIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
*****
GCIVVMRFIRLCIISLLATLPLAVHASPPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
```

# Diagnostic indirect (1)

## Les sérodiagnostics

**Recherche des anticorps circulants synthétisés en réponse à la multiplication bactérienne:**

- Réaction d'agglutination
- Réaction de précipitation
- Réaction de fixation du complément
- Réaction de neutralisation
- Techniques immuno-enzymatiques type EIA ou ELISA

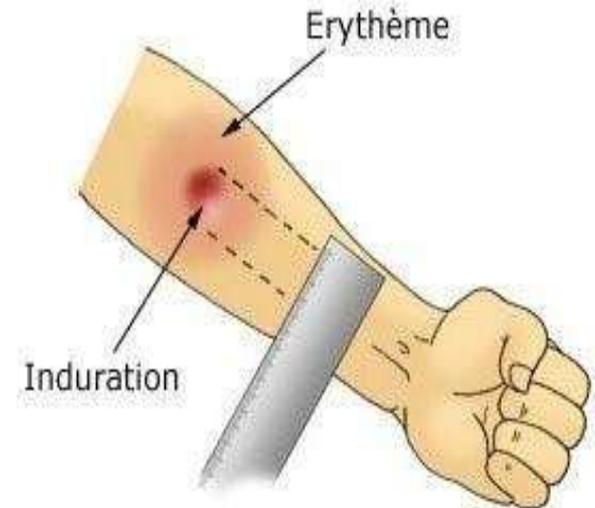
**Interprétation en fonction du contexte clinique: résultats donnés comme arguments de présomption**

- 2 sérums : précoce et tardif
- montrer la montée du titre des AC entre les deux tests

# Diagnostic indirect (2)

## Recherche de l'Hypersensibilité de type retardée

- Injection d'extrait antigénique par voie ID
- Immunité de support cellulaire
- Réaction retardée de 24 à 48 heures
- Apparition d'un nodule au point d'inoculation
- Lecture à la 72ème heure



# Conclusion

- Qualité du prélèvement
- Qualité de l'analyse bactériologique
- Détection des « traces » laissées par la multiplication bactériennes si besoin
- Interprétation et la validation des résultats
- Rapidité de l'envoi des résultats

**Coopération entre clinicien et bactériologiste +++++**

# Références bibliographiques

- 1 APPORTS ET LIMITES DES SEROLOGIES BACTERIENNES EN PATHOLOGIE INFECTIEUSE;2012.
- 2 REMIC 2010,04 EDITION.
- 3 BACTERIOLOGIE MEDICALE , 2011 .
- 4 WEBOGRAPHIE