

## Microbiologie Médicale

### Cour 4 :

# Examen cyto bactériologique Méthodes de diagnostic Bactériologiques

2020/2021

Par Dr. ADDI

## 1. Définition Examen cyto bactériologique :

Un examen ou analyse bactériologique permet de rechercher et d'identifier les **bactéries** en cause dans une **infection**.

Plusieurs analyses sont possibles :

- examen bactériologique des **urines** ou ECBU
- examen bactériologique des **selles** (voir coproculture)
- examen bactériologique des **sécrétions bronchiques ou des crachats**
- examen bactériologique des **prélèvements de gorge**
- examen bactériologique des **plaies cutanées**
- examen bactériologique du **liquide céphalo-rachidien** (voir ponction lombaire)
- examen bactériologique du **sang**.

## 2. Pourquoi réaliser un Examen Cyto bactériologique :

Pour diagnostiquer correctement et précisément une infection.

Ce type d'examen n'est pas prescrit systématiquement en cas d'infection.

Le plus souvent, face à une infection d'origine bactérienne, le médecin

prescrit des antibiotiques selon son diagnostic, ce qui suffit dans la majorité des cas.

Cependant, plusieurs situations peuvent nécessiter la réalisation d'un prélèvement et l'analyse bactériologique précise :

- infection chez une personne immunodéprimée
- infection ne guérissant pas avec les antibiotiques (et donc probablement résistante aux premiers antibiotiques administrés)
- infection nosocomiale (survenant en milieu hospitalier)
- infection potentiellement grave
- intoxication alimentaire collective
- doute sur la nature bactérienne de l'infection (par exemple en cas d'angine ou pharyngite)

### **3. Que peut-on attendre d'un prélèvement :**

Le prélèvement dépend évidemment du site de l'infection.

Il peut s'effectuer par simple **frottis**, à l'aide d'un coton-tige spécial, ou après prélèvement d'un échantillon d'urine, de crachats, de sang, etc.

Le prélèvement est ensuite analysé au laboratoire et « mis en culture ». Cela signifie qu'on l'étale (ensemence) sur un milieu nutritif qui permet la croissance des bactéries.

Au bout de quelques jours, les bactéries présentes sont comptées et analysées (par différentes techniques). Cela permet d'identifier l'espèce pathogène en cause.

Un **antibiogramme** peut également être réalisé : il consiste à placer le germe au contact de différents antibiotiques afin de voir à quelles molécules il est résistant et à quelles substances il est sensible. Cela permet de mieux cibler le traitement.



## 4.2. Organisation d'un laboratoire :

Le personnel (organigramme) doit être qualifié.

Le circuit des prélèvements et des résultats doit être bien organisé.

L'Installation du matériel doit être correcte.

La Maintenance et surveillance des appareils doit être respectée (températures des réfrigérateurs, congélateurs, étuves, calibration des automates,...)

Les Réactifs utilisés doivent être conformes (agréés, gestion des stocks, des dates de péremption des lots utilisés, conditions de stockage...)

L'Informatique (confidentialité, sauvegarde des données, diffusion des résultats, ...)

L'Archivage des résultats et Gestion des déchets doivent être correctes et conformes.

## 4.3. Principaux Examens effectués au laboratoire :

### A) Hémoculture :

- ✓ L'Ensemencement direct, du sang se fait dans les conditions d'asepsie.
- ✓ Il se fait sur des Flacons aérobies et anaérobies, contenant un milieu de culture adapté à toutes les bactéries,
- ✓ Les flacons contiennent du **SPS** : un anticoagulant
- ✓ Culture possible de toutes les bactéries sauf mycobactéries (milieux spéciaux)
- ✓ L'Incubation au laboratoire se fait dans des automates à 35°C sous agitation,
- ✓ L'Analyse se fait en continu (lecture tous les 1/4 d'heure).

## **B) ECBU :**

C'est l'examen cyto bactériologique des urines, il se fait par :

- ✓ Analyse cytologique : leucocytes et hématies /ml, cristaux, cellules pavimenteuses
- ✓ Analyse bactériologique : ensemencement d'un seul milieu de culture +/- milieu enrichi

La Culture est quantitative et son seuil de significativité est de :  
10<sup>3</sup> UFC/ml,

Les Résultats sont rendus en 48h.

## **C) Les coprocultures :**

C'est l'examen des selles, l'échantillon doit être rapidement acheminé au laboratoire et dans des conditions de température de 4°C.

- ✓ On fait des Recherches ciblées pour : *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia* et *Klebsiella*.
- ✓ Des Recherches particulières pour : *Staphylococcus aureus*, *Clostridium*, Bactéries multi-résistantes (entérocoques), *E. coli* et *Vibrio cholerae*.

Le Délai de rendu des résultats est de : 72h au minimum, 5 jours pour les Cultures difficiles.

## **II. Méthodes de Diagnostic bactériologique :**

Le diagnostic bactériologique est un ensemble de moyens permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne. Ces moyens de diagnostic sont variés et se caractérisent soit par le diagnostic direct ou indirect.

### **DIAGNOSTIC DIRECT :**

C'est la mise en évidence de la bactérie elle-même, donc par sa culture ou isolement qui permettra l'identification ultérieure ainsi que de préciser sa sensibilité aux antibiotiques (par antibiogramme).

### **DIAGNOSTIC INDIRECT :**

C'est la mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection par la présence d'anticorps spécifiques, le plus souvent sériques ou plus rarement par une réponse d'hypersensibilité, dite allergique.

### **II.1. Diagnostic directe :**

Il est connu sous le nom de "examen cyto-bactériologique".

Il existe l'examen cyto-bactériologique des urines (ECBU), d'une expectoration (ECBC), et autres....., Son objectif est de mettre en évidence la bactérie responsable de l'infection.

#### **II.1. 1. Les étapes du diagnostic direct :**

##### **➤ Examen macroscopique**

Toute infection bactérienne s'accompagne, de signes biologiques liés à l'inflammation avec l'éventuelle présence de leucocytes, notamment de polynucléaires. Ces éléments peuvent entraîner au delà d'un seuil, une modification visuelle, **exemples** : trouble des urines, odeur dans le liquide pleural (pulmonaire), selles diarrhéiques.

Vous trouverez des exemples illustrés en photos ci après.



Photos des changements observables à l'œil nu, et témoignant de la présence de germes

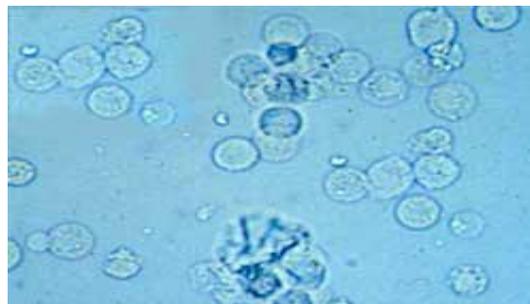
### ➤ Examen microscopique

Il se fait au microscope optique, à l'état frais ou après coloration.

**a/ A l'état frais** : ( au Grossissement X 400, en général):

Une préparation est obtenue avec le dépôt d'une goutte entre lame et lamelle, puis on observe au microscope la présence éventuelle de bactéries (coque, diplocoque, chaînette, coccobacille, bacille...), et éventuellement leur type de mobilité.

Ci après une observation microscopique en exemple.



Observation microscopique de cocci, à l'état frais

### **b/Coloration simple:**

Le frottis doit être fin, il est traité par un seul colorant basique (bleu de méthylène). Cette technique est simple et rapide et peu courante, à l'exception de l'examen de pus urétral pour la recherche de gonocoque: diplocoques en grain de café intracellulaires.

### **c/Coloration différentielle "Coloration de GRAM" :**

Elle sélectionne les bactéries selon la nature de leur paroi. Ainsi, la coloration de Gram permet de distinguer les bactéries colorées en violet (Gram+) de celles en rose (Gram-).

Les "Gram+" se caractérisent par une paroi riche en peptidoglycanes, et les bactéries "Gram-" se caractérisent par une paroi très pauvre en peptidoglycanes (presque absents).

Ci après une illustration d'une observation microscopique après e coloration de Gram.

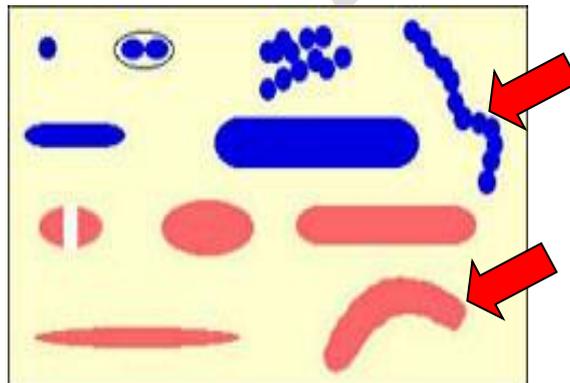


Illustration des bactéries après coloration de Gram