

Diagnostic bactériologique

les prélèvements et les méthodes de diagnostic

➤ Analyses biologiques: Produits pathologiques ?

Un ensemble d'étapes successives, allant du prélèvement de l'échantillon biologique (sang, urine, selle, LCR,.....) jusqu'à la remise des résultats.



Objectifs :

- ☐ Isoler et identifier les micro-organismes pathogènes.
- ☐ mesurer leur **sensibilité(s)** aux antibiotiques habituellement actifs sur cette ou ces bactérie(s). « Antibiogramme »
- ☐ Identifier : suivi épidémiologique

L'analyse biologique comprend 3 phases (pré-analytique, analytique et post-analytique).

Phase	Définition
pré analytique	série d'étapes commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, comprenant la demande d'analyse, la préparation du patient, le prélèvement du spécimen, l'acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire et finissant au début de la procédure analytique.
analytique	comprend tous les événements qui peuvent se produire pendant l'analyse à proprement parlée.
post analytique	concerne tous les événements qui peuvent se produire après l'analyse (remise des résultats,.....).

Démarche de l'examen bactériologique :

-Le diagnostic bactériologique est un ensemble de moyens permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne.

2 MOYENS :

1.Diagnostic direct : mise en culture, identification.

2.Diagnostic indirect: mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection par la présence d'anticorps spécifiques.

➤ **Examen macroscopique :** trouble; odeur; consistance, Hématurie



➤ **Examen microscopique :** Etat frais, coloration (simple, différentielle, spécifique)

➤ **Culture.**

➤ **Identification.**

➤ **Antibiogramme**

Les éléments récoltés de l'**examen macroscopique et surtout microscopique** fournissent souvent des arguments diagnostiques de très forte présomption qui vont permettre la mise en route d'une thérapeutique adaptée.

La culture ou l'isolement de l'agent causal sera, cependant, essentielle. Elle permettra l'identification ultérieure mais aussi de préciser sa sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme).

➤ **Méthodes moléculaires :**

- il existe depuis quelques années, des méthodes pour identifier une bactérie dans un produit pathologique ou d'une culture.
- Le principe en est simple puisqu'il consiste à amplifier un gène entier ou non avec des amorces spécifiques qui peut être ultérieurement révélé, ou par hybridation ou encore séquencé et comparé avec ceux déposés dans des banques (EMBL, NCBI par exemple)

SPECIFITE,RAPIDITE,SENSIBILITE

1. DIAGNOSTIC DIRECT : Ceci n'est pas toujours possible soit :

- ☐ L'agent a disparu avant ou peu après l'apparition des symptômes (ex : Rhumatisme articulaire aigu , brucellose) ou a la suite d'un traitement antibiotique trop hâtif.
- ☐ La bactérie de culture impossible, ex : agent de la syphilis (tréponème)
- ☐ La bactérie est de culture très lente ou nécessite des milieux de culture spéciaux. Isolement fait par des laboratoires spécialisés (ex : agent de pneumopathie atypiques : chlamydiae, mycoplasmes).

On a donc recours à d'autres moyens de diagnostic direct: recherche d'Ag bactérien ou mise en évidence de séquences d'ADN spécifiques de bactéries.

2. DIAGNOSTIC INDIRECT :

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.

RETENIR : Le diagnostic direct est le seul diagnostic de **certitude**, car il permet la mise en évidence de la bactérie elle-même, donc finalement sa culture ou isolement qui permettra l'identification ultérieure mais aussi de préciser sa sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).

➤ **Les prélèvements (1^{ère} étape du diagnostic)**

Les prélèvements permettant de mettre en évidence une bactérie responsable d'une infection dépendent du **site anatomique atteint, mais peuvent correspondre à des liquides biologiques dans lesquels la bactérie ou des antigènes bactériens peuvent être détectés.**

Les échantillons biologiques sont prélevés dans des flacons stériles puis transmis au laboratoire le plus rapidement possible.

➤ **Produits pathologiques**

Monomicrobiens:

Les monomicrobiens sont des produits biologiques, qui est **stérile** à l'état normal. Par exemple: Le LCR, le sang, les liquides pleuraux, les liquides d'arthrite, les liquides Péricardes.

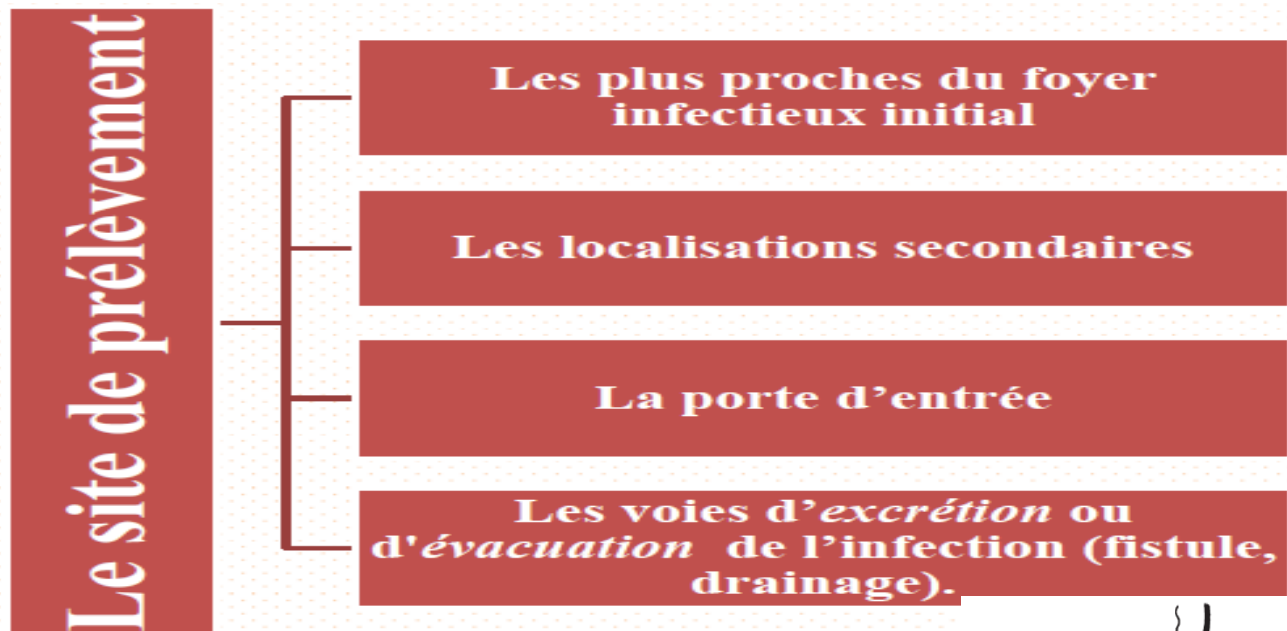
-En général, on isole qu'une seule bactérie responsable de l'infection

Polymicrobiens :

Les polymicrobiens sont issus de cavités naturelles qui sont normalement **septiques**. Ce sont des produits riches en germes. Par exemple: Selles, Sécrétions buccales, vaginales, rhinopharyngées.

-Il y a de difficulté dans l'interprétation des résultats

➤ **Les sites de prélèvement**



A. sites normalement stériles (LCR, liquide articulaire, sang, biopsies, etc.)

-contamination est très peu probable si la désinfection a été correctement exécutée.

-L'interprétation est relativement aisée.

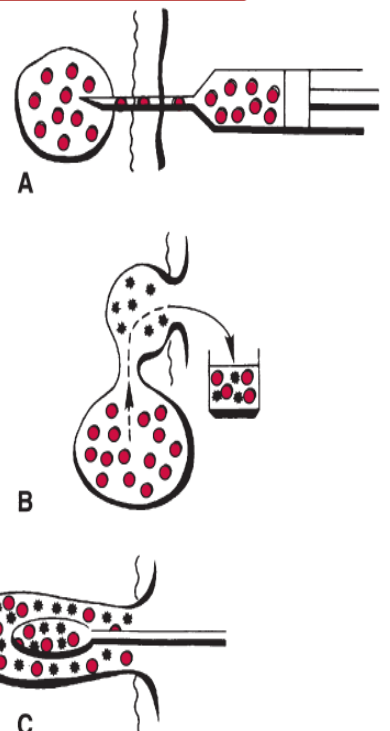
B. site anatomique normalement stérile mais la **contamination** par une flore **endogène** est pratiquement obligatoire.

les prélèvements pulmonaires profonds comme les brossages distaux, même s'ils sont protégés)

C. Enfin, lorsque la bactérie responsable de l'infection est **associée** à une flore **endogène**. (c'est le cas dans les infections digestives, les infections cutanées, les angines, etc.),

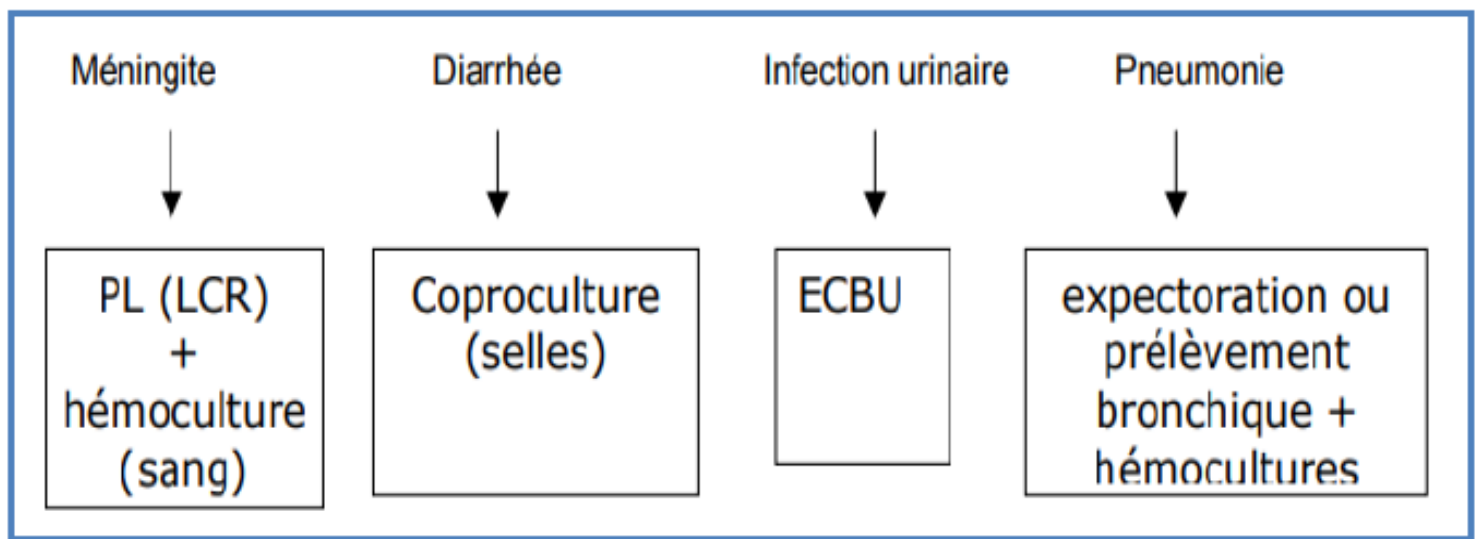
-interférer avec l'isolement de la bactérie,

-l'utilisation de milieux **sélectifs**.



➤ *Les méthodes de prélèvement*

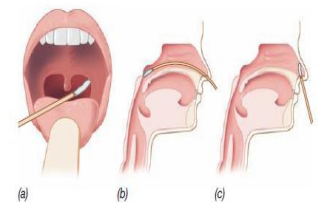
Dépendant des micro-organismes capable d'infecter différents organes ou tissus. Elles dépendent également du type de lésion et de l'enjeu du diagnostic étiologique.



Ecouvillonnage

Faible volume
d'échantillon recueilli,
Risque de dessiccation
et de contamination

Usage limité aux
prélèvements des
téguments ou des
muqueuses

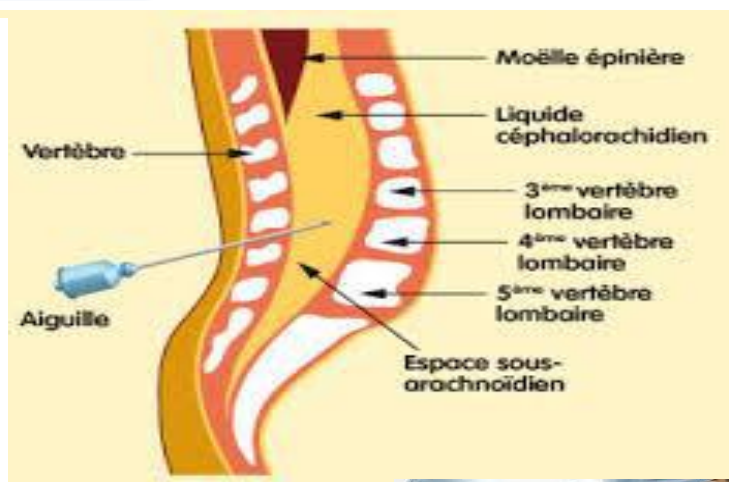


ponction

Suppurations d'une
séreuse, d'un organe creux
ou d'une cavité abcédée

cathétérisme

chirurgie



➤ Contamination des prélèvements :

- ☐ Bactéries de l'environnement (saprophyte)
- ☐ Bactéries commensales (microbiote)

-Ceci concerne en particulier les infections dont le site est respiratoire, ORL, oculaire, intestinal, génito-urinaire, cutané ou sous cutané.

-Les procédés de décontamination de surface comportent soit le simple rinçage avec de sérum physiologique stérile ou l'utilisation sur la peau une solution antiseptique.

➤ Conservation des échantillons :

-Pour éviter la dessiccation des échantillons de faible volume, notamment sur écouvillon, ceux-ci peuvent être placés dans des tubes contenant des milieux de transport.

-La conservation à +4°C inhibent la multiplication bactérienne.

Cependant les shigelles sont très sensibles au froid et nécessitent un ensemencement immédiat.

