

Diagnostic biologique d'une infection bactérienne

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

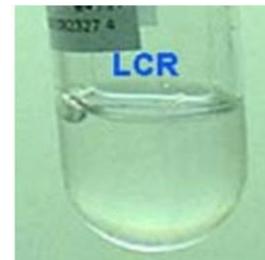
Enregistrement au laboratoire

- 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**

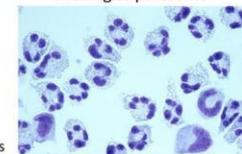


Méningite à liquide clair



Méningite purulente

Liquide céphalo-rachidien



Polynucléaires neutrophiles

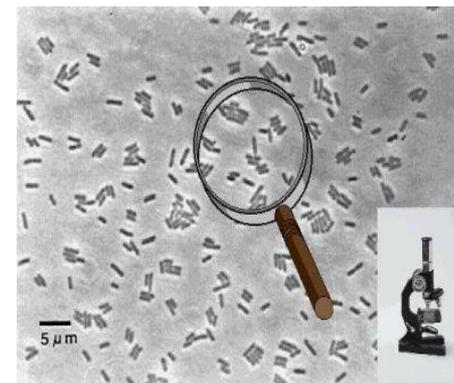
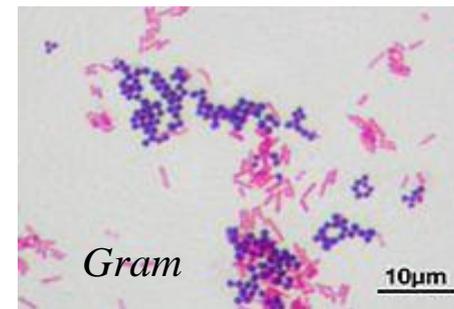
Examens microscopiques:

➤ Examen sans coloration :

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

Apprécier:

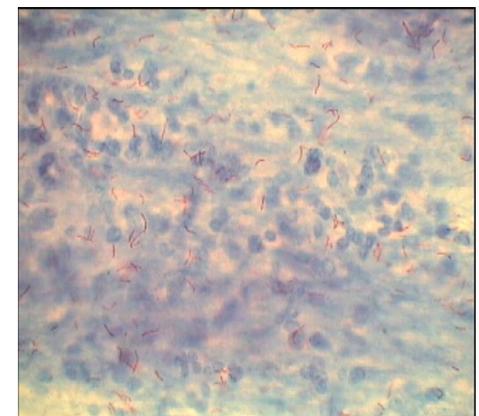
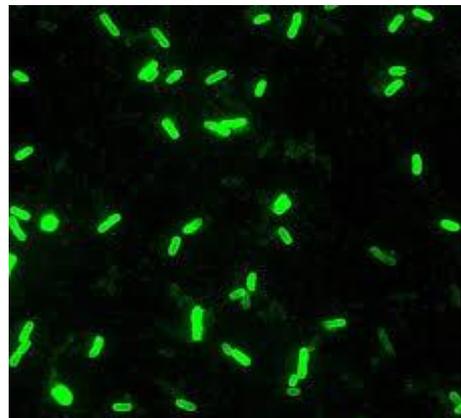
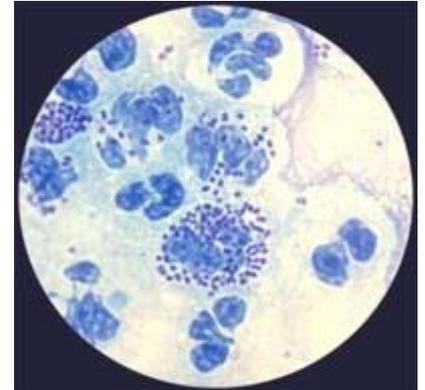
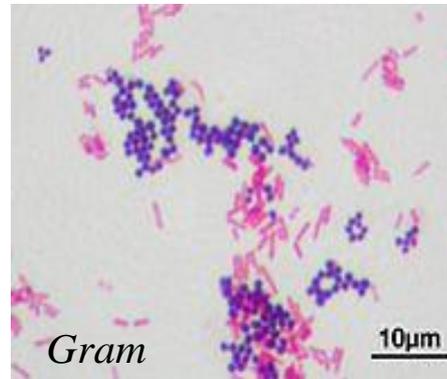
- la morphologie des **bactéries**,
- leurs groupements,
- leur abondance
- leur mobilité



Diagnostic direct (1)

Examens microscopiques:

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



Coloration ZN

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

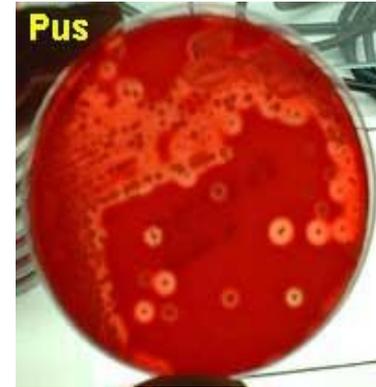
Diagnostic direct (3)

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.

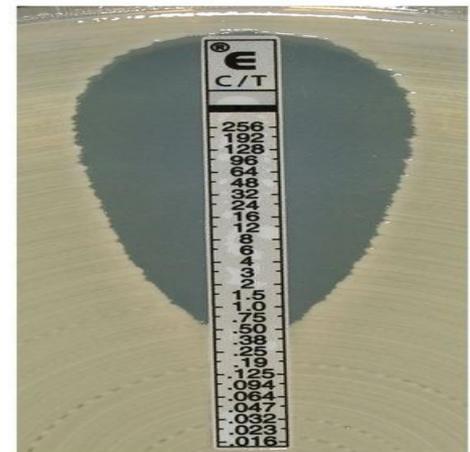
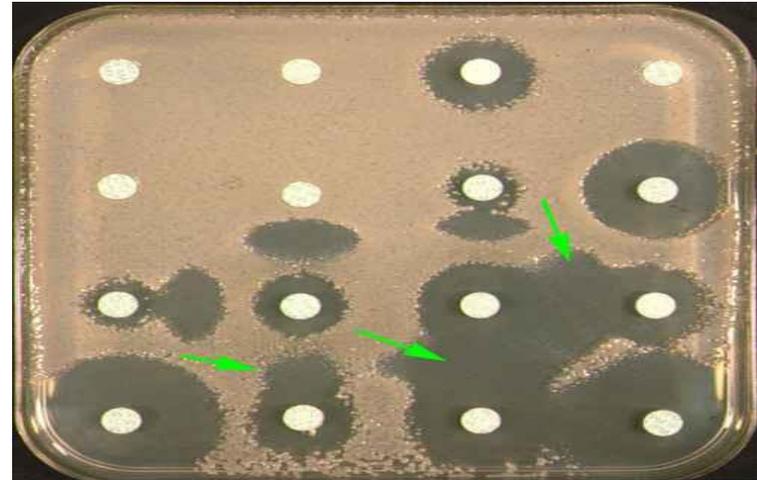


Galreie API

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)

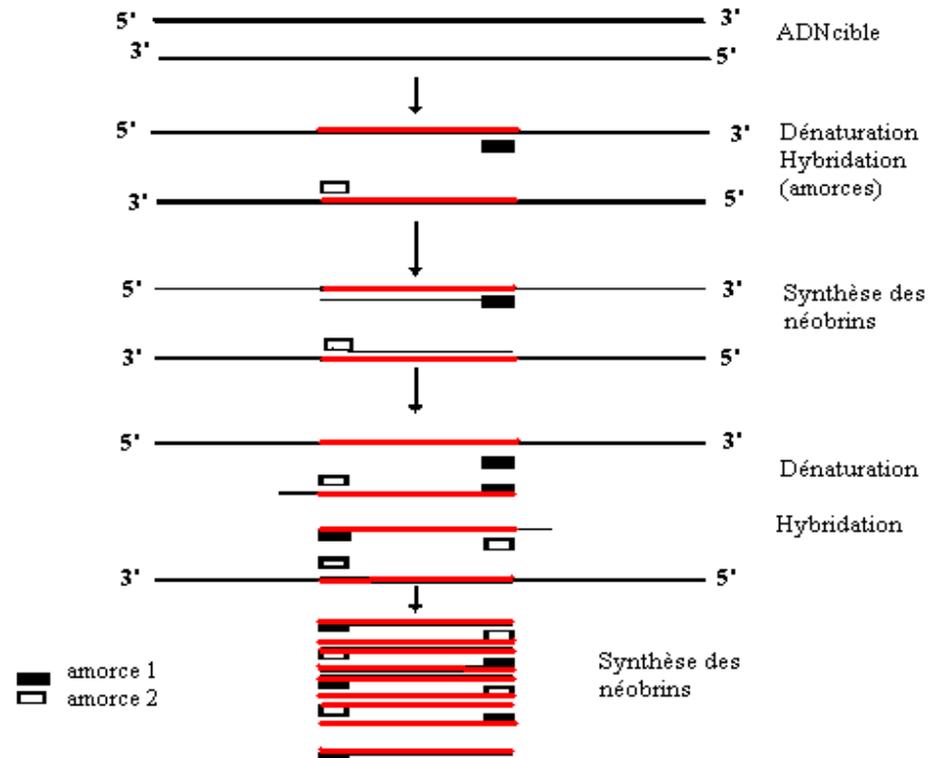
Biologie moléculaire

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

```
          10      20      30      40      50      60
          |      |      |      |      |      |
SHV_28_database  ----MRFIRLCIISLLATPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_2_SHV_28  ----MRFIRLCIISLLATPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_4_SHV_28  ----MRFIRLCIISLLATPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_25_SHV_28 GCIVVMRFIRLCIISLLATPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
Kpneumoniae_24_SHV_28 ----MRFIRLCIISLLATPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
                      *****
Prim.cons.        GCIVVMRFIRLCIISLLATPLAVHASPPQPLEQIKLSESQLSGRVGMIEMDLASGRTLTA
```

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

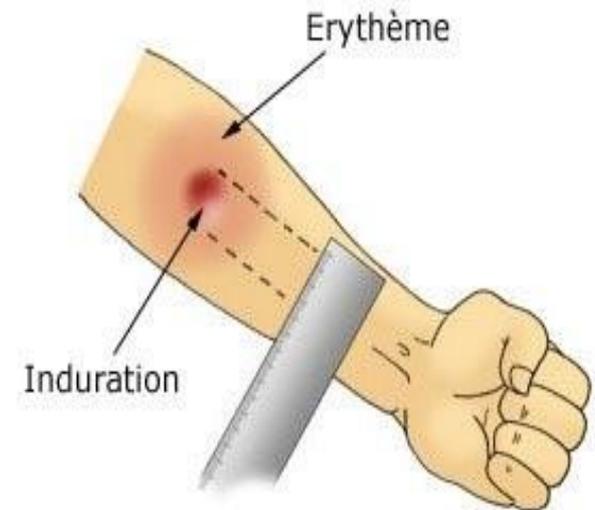
Interprétation en fonction du contexte clinique: résultats donnés comme arguments de présomption

- 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