Diagnostic d’une infection bactérienne

Le diagnostic bactériologique d’une infection permet de confirmer ou d’infirmer son étiologie bactérienne. Il peut être soit :

Direct : **mise en évidence du ou des germes** causant l’infection (culture, identification du ou des germes par des techniques bactériologiques ou de biologie moléculaire, recherche des antigènes solubles par des techniques immunologiques à partir du prélèvement,…) et **tests de sensibilité aux antibiotiques** (antibiogramme, CMI…)

Indirect : Présence d’anticorps spécifiques dans le sérum du patient (sérologie).

Les étapes les plus importantes et les plus déterminantes pour le diagnostic bactériologique d’une infection sont les conditions de prélèvement et l’acheminement du produit biologique vers le laboratoire. Leur réalisation, avec le plus grand soin, et le respect de certaines règles élémentaires constituent le moyen sur et unique sans lesquels le résultat final du diagnostic bactériologique n’a aucune valeur.

Les différents types de prélèvements

Les prélèvements sont différents selon le type d’infection suspectée.

Prélèvements dits « monomicrobiens »

Il peut s’agir soit :

D’un produit biologique normalement stérile :

- Sang (en cas de septicémie, plusieurs flacons d'hémoculture sont nécessaires),
- LCR (en cas de méningites),
- Urines (en cas d'infections urinaires)

Dans ces cas, un seul type de germe est, en général, isolé.

Remarque : Le diagnostic d'une infection urinaire repose sur une numération de germes et la cytologie des urines

Le diagnostic d'une méningite peut être orienté par la cytologie et la biochimie du LCR

D'un produit biologique issu d'une cavité néoformée ou préformée:

- Pus d'abcès fermé
- Empyème (amas de pus dans une cavité naturelle)
- Liquide de séreuse

Dans ces cas, un seul germe est responsable ou une association de germes peut être responsable de l'infection (infection mixte).

Prélèvements dits « polymicrobiens »

Il peut s'agir soit :

1. D'un produit biologique possédant déjà une flore normale.

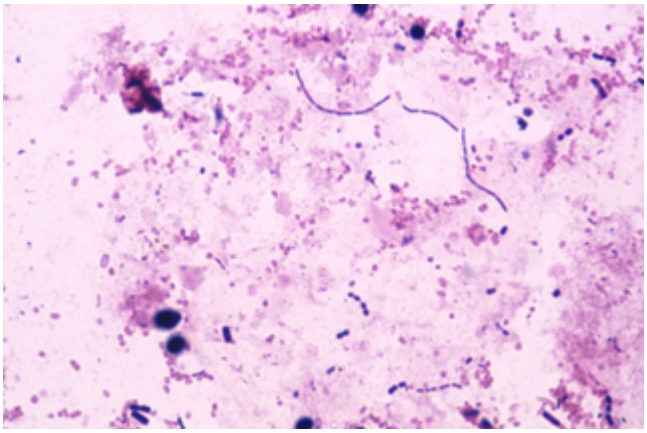

Figure. Flore fécale normale.

- Selles
- Pharyngé
- Gynécologique
- Urétraux
- Expectoration

Dans ces cas, seuls certains types de germes sont recherchés parce que responsables de l'infection.

D'un produit biologique néoformé du à l'action associée de différents types de germes (infections mixtes)

- Pus d'abcès ouvert, primitivement (traumatisme)
- Pus d'abcès ouvert, secondairement (par digestion des t issus jusqu'à la peau, par exemple)

Dans ce cas, tous les germes isolés doivent être identifiés, parce que probablement responsables de l'infection.

Remarque : L'étiologie bactérienne d'une infection peut varier selon que le patient soit hospitalisé (infections nosocomiales) ou non (infections communautaires)

Exemples : Une infection pulmonaire chez un patient hospitalisé pourrait être due à des germes « pathogènes opportunistes », par contre chez un patient externe, les germes recherchés seront *Streptococcus* pneumoniae ou *Haemophilus infuenzae* ou *Staphylococcus aureus*.

La suspicion de germes particuliers, dans certains produits biologiques, doit être signalée par le clinicien pour être recherchés.

Exemples : Mycobacterium *tuberculosis* (agent de la *tuberculose*), n'est recherché dans les urines que si le clinicien suspecte une tuberculose des voies urinaires.

Neisseria gonorrhoae n'est recherché dans un prélèvement

pharyngé que si le clinicien le signale.

Listeria monocytogenes n'est recherché dans un prélèvement exo cervicale que si le clinicien le signale.

Selon l'état particulier du patient, certains germes doivent être pris en considération dans certains prélèvements.

Les conditions de prélèvement

- **La stérilité, L'asepsie doit être rigoureuse.**

Toute contamination d'un prélèvement par des germes cutanés ou ambiants peut compromettre la culture de la bactérie recherchée ou gêner l'interprétation des résultats.

D'autre part, un manque d'asepsie peut être à l'origine de surinfection du patient et également de contamination du préleveur.

L'antisepsie cutanée doit être parfaite: l'antiseptique de choix est à base de **teinture d'iode**, mais l'alcool iodé, la Bétadine ou à défaut l'alcool à 70°c peut être utilisé. La peau de la zone à prélever, ainsi que les doigts du préleveur doivent recevoir deux applications de l'antiseptique, séparées de deux à trois minutes.

Les récipients et instruments servant au prélèvement doivent être stériles : Les récipients sont constitués de pots ou de flacons stériles, en verre ou en matière plastique à usage unique. Les tubes en verre stérile doivent fermer hermétiquement pour éviter toute contamination ultérieure.

Les instruments sont constitués de seringues stériles en verre ou en matière plastique à usage unique, d'écouvillons stériles, de sondes stériles.

- **Moment et lieu du prélèvement**

Le prélèvement doit être réalisé avant toute antibiothérapie.

Dans le cas contraire, il est souhaitable de faire une fenêtre thérapeutique de 48heures à 03 jours.

Afin d'augmenter, dans certains cas, les chances d'isolement du germe pathogène, **il faut connaitre son évolution et sa localisation dans l'organisme, à des moments précis de la maladie** et choisir, en conséquence, l'endroit et le moment adéquats pour la réalisation du prélèvement.

Exemples :

Lors d'une suspicion de fièvre typhoïde, le diagnostic bactériologique direct est fait dans les deux premières semaines de la maladie, en prélevant les selles (coproculture) et le sang (hémocultures). Par contre, le diagnostic indirect (sérologie) ne se fait qu'après la deuxième semaine du début de l'infection, lors de l'apparition de la réponse immunitaire, donc, de l'apparition des anticorps spécifiques.

Dans le cas d'une suspicion de septicémie, les prélèvements de sang (hémocultures) doivent être répétés, (six à huit hémocultures réparties en 48 heures sont une moyenne raisonnable pour mettre en évidence le germe causal). Les prélèvements de sang doivent être effectués au moment des pics thermiques ou, mieux encore, au moment des frissons, lorsque la fièvre est discontinue ; et à n'importe quel moment lorsque la fièvre est continue (cas de la fièvre typhoïde).

Dans les cas de méningites, il est préférable de prélever le Liquide Céphalorachidien (LCR) et le sang (hémocultures).

Conservation des prélèvements

Tout produit biologique, pour analyse bactériologique, doit être acheminé rapidement vers le laboratoire dès la réalisation du prélèvement.

Pour une analyse cytobactériologique des urines, il est impératif que le prélèvement soit réalisé au laboratoire, car

le diagnostic d'une infection urinaire repose sur la numération des germes.

Pour les autres prélèvements, il arrive que, pour diverses raisons, l'acheminement vers le laboratoire soit retardé. Dans ce cas, en fonction de la nature du produit biologique et du germe recherché, certaines précautions sont à respecter.

Placer les prélèvements dans des milieux de transport : Ces milieux permettent la survie des germes en empêchant leur multiplication, ainsi, les proportions des différentes espèces présentes dans le produit biologique restent inchangées.

Exemples : Milieux de transport des selles pour la recherche des germes entéropathogènes ou milieux de transport pour les prélèvements pharyngés en vue de la recherche de *Corynebacterium diphteriae* …

Garder le prélèvement à une température adéquate : Selon le type de prélèvement et le germe recherché, des températures différentes de conservation seront utilisées :

1. **Les basses températures :** Les prélèvements dits « poly microbiens » sont gardés à +4°c afin d'empêcher la multiplication des germes de la flore normale au dépens des germes pathogènes. Dans certains cas,(recherche de *Listeria monocytogenes*), une conservation du produit à +4°c permet l'enrichissement du germe recherché au dépens des germes saprophytes.
2. **Conservation à 37°c (T° de l'étuve) :** Les prélèvements dits « mono microbiens », à l'exception des urines, peuvent être conservés à 37°c, d'une part, parceque certains germes recherchés craignent les basses températures (ex : *Neisseria meningitidis*) ; d'autre part, pour permettre la multiplication du seul germe contenu dans le produit pathologique pauci bacillaire (ex : les hémocultures sont placées, au fur et à mesure

de leur réalisation, à l’étuve à 37°c, puis acheminées vers le laboratoire).

Précautions à prendre pour l’envoi d’un prélèvement

Certains prélèvements sont parfois envoyés d’une ville à l’autre, ou même, d’un pays à l’autre, aussi, certaines précautions d’envoi du produits biologique sont à respecter afin :

1. D’assurer une bonne conservation du prélèvement et la survie du germe pendant le transport. Ex : un LCR est ensemencé dans un tube de gélose inclinée au sang cuit, en s’assurant que la température du tube est aux alentours de 30 à 37°c
2. D’éviter les risques de contamination du personnel manipulant le colis lors de son transport, et du personnel du laboratoire qui l’aura reçu.

Il faut, donc :

- Un moyen de transport rapide
- Des récipients fermant hermétiquement
- Un emballage parfait, évitant la cassure des récipients, leur contamination et celle du biologiste qui fera l’analyse bactériologique.

Pour ces raisons, le prélèvement est placé dans une boite métallique contenant du coton, pour éviter les chocs du récipient contre les parois de la boite, puis placé dans une boite en bois ; le colis est alors bien empaqueté et doit porter l’inscription suivante : « Pour analyse bactériologique »

Fiche de renseignement

Tous les prélèvements doivent porter une étiquette sur laquelle sont mentionnés :

- Les nom et prénoms du patient
- La nature et le lieu du prélèvement
- L'origine du prélèvement
- La date du prélèvement

Tous les prélèvements doivent être accompagnés d'une fiche de renseignement dument remplie comportant :

- Les nom et prénoms du patient
- L'âge
- Le sexe
- La nature et le lieu du prélèvement
- La date du prélèvement et l'origine du patient (hospitalisé ou externe)
- La date du début de la maladie
- Un résumé des signes cliniques et parfois le germe suspecté
- Les maladies sous jacentes
- La nature et la durée du traitement reçu
- La nature et les résultats des autres examens biologiques effectués.

Le diagnostic bactériologique (direct)

Au laboratoire, le produit biologique reçu représente le patient à suivre, aussi, à tout moment, le bactériologiste doit rendre compte des résultats obtenus au clinicien traitant (surtout dans les cas graves).

Le diagnostic bactériologique est, en général, constitué de deux parties.

- La première partie permet d'avoir un **diagnostic présomptif** et se base sur les résultats obtenus avec les **examens macroscopiques** du prélèvement (trouble des urines ou du LCR, odeur du pus, hématurie, consistance des selles…), **microscopiques** (morphologie, caractères tinctoriaux du germe, cytologie du prélèvement d'urine ou LCR…) et les **caractères culturaux du germe** (milieux d'isolement, morphologie de la colonie bactérienne, milieux d'enrichissement, atmosphère de culture du germe, temps de croissance ou d'incubation du germe…). A ce stade, le bactériologiste peut déjà orienter ses recherches et aviser le clinicien.
- La deuxième partie, appelée **diagnostic de certitude**, est la plus déterminante et parfois la plus délicate car elle nécessite une interprétation du résultat. Elle est constituée par :
- **La purification du germe isolé et son identification (**biochimique, antigénique, mise en évidence des toxines élaborées par des méthodes immunologiques ou des gènes codant les toxines par des méthodes de biologie moléculaire…)
- **Les tests de sensibilité aux antibiotiques** (antibiogramme, CMI, recherche de bétalactamases, ou autres mécanismes de résistance aux antibiotiques…)
- **L'interprétation du diagnostic** qui doit tenir compte de toutes les données (diagnostic clinique, nature et lieu du prélèvement, patient hospitalisé ou externe, état particulier du patient, manière dont le prélèvement a été réalisé, acheminé, conservé…).

Le bactériologiste doit, également :

. S'assurer que les antibiotiques actifs sur le germe peuvent être prescrits au patient (selon le lieu de l'infection, l'état général du patient…).

. Conserver la souche bactérienne pour des études ultérieures (pouvoir bactéricide, association

d’antibiotiques…) dans les cas graves, et toutes les souches présentant une hyper virulence ou des résistances particulières ou nouvelles.

. Etablir de bonne relation avec le clinicien pour le bien être du patient, avant tout (suivi de l’évolution du patient), et pour vérifier la qualité de son diagnostic et /ou les compétences de son laboratoire.

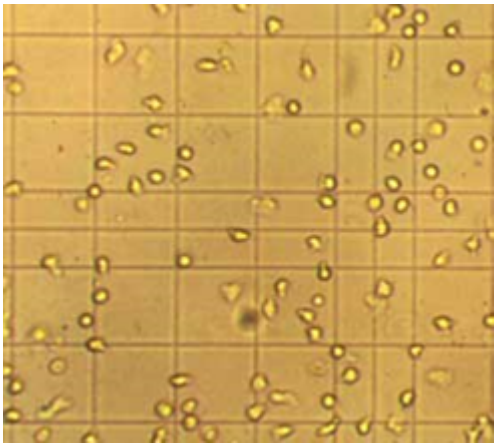

Figure 2. Cytologie sur cellule de Malassez

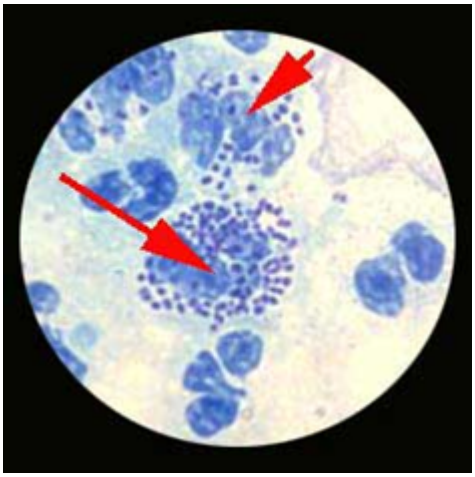

Figure 3. Coloration au bleu de méthylène