

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila
Institut : Sciences de la nature et de la vie
Département : Sciences biologiques et agricoles



Polycopié de cours

Microbiologie médicale

Destiné aux étudiants de Master 1 : Microbiologie appliquée

Préparé par : Dr. AYAD Wissem

Année universitaire : 2024-2025

Préface

Le contenu de ce polycopié constitue un support pédagogique important, qui permettra aux étudiants inscrits en première année Master, option : Microbiologie appliquée, de revisiter des notions importantes dans la biologie des microorganismes pathogènes. Il constitue également un important moyen pour l'acquisition de nouvelles connaissances et l'approfondissement de celles déjà acquises durant leur cursus précédent. Toutes ces connaissances permettraient aux futurs diplômés d'aborder plusieurs domaines professionnels et de recherche académique, notamment dans le domaine de l'industrie pharmaceutique, l'analyse médicale et vétérinaire ainsi que dans les domaines de recherches scientifiques en relations avec les débouchés précédentes. Les étudiants acquerront aussi des principes fondamentaux sur la pathogénicité et la virulence, ainsi que sur les différentes espèces bactériennes impliquées dans les pathologies infectieuses.

Le cours de "**Microbiologie médicale**" est divisé en trois grands chapitres. Le premier englobe les principales bactéries pathogènes pour l'homme. Le second chapitre présente les différentes méthodes de diagnostic des produits pathologiques. Enfin, un dernier chapitre qui résume les notions de l'épidémiologie.

Prérequis

L'étudiant doit avoir les notions suivantes :

- Les notions de base de microbiologie générale;
- Les notions de base d'immunologie et physiologie.
- Ainsi une notion globale sur les agents pathogènes.

Objectifs du cours

Il a pour objectif de faire acquérir aux étudiants les connaissances théoriques et pratiques indispensables en microbiologie médicale. L'apprenant sera capable de :

- Connaître les différentes espèces bactériennes impliquées dans les pathologies infectieuses;
- Comprendre des différentes méthodes diagnostic bactériologique;
- Apprendre les axes d'épidémiologie.

Cet ouvrage a été rédigé selon le canevas du ministère de l'enseignement supérieur algérien et destiné à toute personne intéressée par l'étude du monde des microorganismes.

Dr. AYAD Wissem

Spécialité : Microbiologie appliquée.

Email : w.ayad@centre-univ-mila.dz

Table des matières

Préface

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction à la microbiologie médicale1

Chapitre I: Principales bactéries pathogènes pour l'homme.....4

I.1. Classification des principales bactéries d'intérêt médicale4

I.2. Les principales bactéries pathogènes pour l'homme9

I.2.1. Cocci à Gram positif.....9

I.2.1.1. Les Staphylocoques.....9

I.2.1.2. Les Streptocoques12

I.2.1.3. Les Pneumocoques.....15

I.2.1.4. Les Entérocoques16

I.2.2. Cocci à Gram négatif : *Neisseria*18

I.2.2.1. *Neisseria meningitidis*18

I.2.2.2. *Neisseria gonorrhoeae*.....20

I.2.3. Bacilles à Gram positif sporulés : *Clostridium*22

I.2.3.1. *Clostridium tetani*22

I.2.3.2. *Clostridium perfringens*24

I.2.4. Bacilles à Gram positif non sporulés.....25

I.2.4.1. *Corynebacterium diphtheriae*.....25

I.2.5. Les bacilles à gram négatif : Les entérobactéries.....27

I.2.5.1. *Escherichia coli*29

I.2.5.2. *Salmonella*32

I.2.5.4. *Yersinia*34

I.2.5.5. Autres entérobactéries commensales35

I.2.6. Les Mycobactéries.....	36
I.2.6.1. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	37
I.2.6.2. Mycobactéries atypiques	39
Chapitre II : Méthodes de diagnostic des produits pathologiques.	40
II.1. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)	40
II.1.1. Examen macroscopique.....	41
II.1.2. Examen microscopique	41
II.1.2.1. Examen cytologique (qualitatif et quantitatif)	42
II.1.2.2. Examen bactériologique.....	43
II.1.3. Mise en culture.....	44
II.1.4. Numération bactérienne	46
II.1.5. Interprétation des résultats	47
II.2. Examen bactériologique des selles (La coproculture).....	48
II.2.1. Examen direct	49
II.2.1.1. Examen macroscopique	49
II.2.1.2. Examen microscopique	49
II.2.2. Milieux utilisés et ensemencement	51
II.2.3. Méthode.....	51
II.2.3. Interprétation des résultats.....	52
II.3. Examen bactériologique du sang (Hémoculture)	53
II.3.1. Prélèvement et milieux d'hémoculture	54
II.3.2. Incubation et suivi des flacons d'hémoculture	55
II.3.3. Traitement des flacons positifs	57
II.3.4. Interprétation des résultats.....	60
II.4. Examen bactériologique des sécrétions broncho pulmonaires	61
II.4.1. Examen macroscopique	63
II.4.2. Examen microscopique	64

II.4.3. Mise en culture.....	69
II.4.4. Interprétation des résultats.....	71
II.5. Examen cytot bactériologique et biochimique du liquide céphalo- rachidien (LCR)	72
II.5.1. Examen macroscopique du LCR	73
II.5.2. Examen microscopique	73
II.5.2.1. Examen cytologique (qualitatif et quantitatif)	73
II.5.2.2. Examen bactériologique.....	76
II.5.3. Examen biochimique.....	77
II.5.4. Mise en culture.....	77
II.5.5. Lecture et interprétation	79
Chapitre III : Épidémiologie.....	80
III.1. Historique	80
III.2. Définition.....	80
III.3. Vocabulaire en épidémiologie.....	81
III.4. Les objectifs de l'épidémiologie.....	82
III.5. Branches de l'épidémiologie	83
III.5.1. Épidémiologie descriptive	83
III.5.1.1. La méthode.....	83
III.5.1.2. Les principaux paramètres démographiques utilisés en épidémiologie descriptive	86
III.5.2. Épidémiologie analytique.....	87
III.5.2.1. La méthode.....	87
III.5.3. Épidémiologie évaluative	88
III.6. Les différents types d'études épidémiologiques	88
III.6.1. Les études non expérimentales (observationnelles).....	88
III.6.1.1. Les études descriptives	88
III.6.1.2. Les études de cohortes de type « exposés / non-exposés ».....	91

III.6.1.3. Les études cas-témoins	94
III.6.2. Les études expérimentales	98
Les références bibliographiques	101

Liste des figures

Figure 1: Morphologie microscopique des bactéries.	4
Figure 2: Structure de la paroi bactérienne des bactéries Gram positif et Gram négatif.....	8
Figure 3: Les Staphylocoques.	10
Figure 4: Les Streptocoques.....	13
Figure 5: Les pneumocoques.	15
Figure 6: Les Entérocoques.	17
Figure 7: <i>Neisseria meningitidis</i>	19
Figure 8: <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	20
Figure 9: <i>Clostridium tetani</i>	23
Figure 10: <i>Clostridium perfringens</i>	24
Figure 11: <i>Corynebacterium diphteriae</i>	26
Figure 12: Morphologie et colonies de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	38
Figure 13: Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU.	41
Figure 14: Méthode de comptage sur cellule de Malassez.	42
Figure 15: Étapes de la coloration de Gram.....	44
Figure 16: Ensemencement des urines par méthode de l'anse calibrée.	46
Figure 17: Abaque de dénombrement.	47
Figure 18: Flore équilibrée : majorité de bactéries à Gram négatif.	50
Figure 19: La démarche diagnostique de la coproculture.....	52
Figure 20: a) Milieu Salmonelle-Shigelle b) Les germes <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sur milieu Hektoen.....	53
Figure 21: Les flacons d'hémocultures retrouvés sur le marché.....	54
Figure 22: Représentation synoptique de l'étude bactériologique des différents prélèvements bronchiques.	63
Figure 23: Différents aspects macroscopiques de crachat.....	64
Figure 24: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> après la coloration de Ziehl-Neelsen.	67
Figure 25: <i>Mycobacterium tuberculosis</i> après coloration à l'auramine.	68
Figure 26: Observation après coloration MGG.....	76

Figure 27: Numération de germes dans le LCR après ensemencement au râteau (méningite à <i>E.coli</i> 10 ⁵ UFC/ml).....	78
Figure 28: Incidence de la Covid-19 dans six pays entre le premier mars 2020 et le 20 avril 2022.	90
Figure 29: Principe d'une étude de cohorte.....	92
Figure 30: Principe d'une étude cas-témoin.....	95

Liste des tableaux

Tableau 1: Quelques maladies infectieuses selon l'agent infectieux.	3
Tableau 2: Classification des bactéries.	5
Tableau 3: Espèces responsables d'infections urinaires (proportion en %).	48
Tableau 4: Différents aspects du bouillon d'hémoculture en cas de positivité.	57
Tableau 5: Milieux utilisés pour les repiquages d'hémocultures.	59
Tableau 6: Répartition des principales espèces bactériennes isolées d'hémocultures d'après diverses études.	61
Tableau 7: Confirmation de la qualité du prélèvement.	65
Tableau 8: Milieux et conditions de culture.	70
Tableau 9: Protocoles pour un dénombrement des germes et seuils définissant la pathogénicité selon les modalités du prélèvement.	72
Tableau 10: Protocoles pour un dénombrement des germes et seuils définissant la pathogénicité selon les modalités du prélèvement. livre bacterio	74
Tableau 11: Tableau de lecture des résultats du LCR.	79
Tableau 12: Prévalence des statuts des participants de constances vis-à-vis du tabac et de la cigarette électronique (France, 2014).	89
Tableau 13: Résultats d'une étude de cohorte portant sur l'effet de l'exposition au tabac.	93
Tableau 14: Résultats d'une étude cas-témoin portant sur la survenue d'un cancer de la bouche en fonction de l'exposition au tabac et à l'alcool (Italie et Suisse, 1992-1997)	97

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

BAAR : Bacilles acido-alcoolo-résistants.

BCYE : Milieu Buffered Charcoal Yeast Extract.

BGN : Bactéries à Gram négatif.

BGP : Bactéries à Gram positif.

CLED : Cystine Lactose Electrolyt Deficient.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

Covid-19 : Coronavirus disease of 2019.

DNase : désoxyribonucléase.

E.coli : *Escherichia coli*.

ECBU : Examen Cyto-Bactériologique des Urines.

EHEC : *E.coli* entéro-hémorragique.

HACCEK : *Haemophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella corrodens* et *Kingella kingae*.

LCR : Liquide céphalo- rachidien.

M.S.T : maladies sexuellement transmissibles.

MGG : coloration au May-Grünwald-Giemsa.

µL : Microlitre.

mL : Millilitre.

NaCl : Chlorure de sodium.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PLP : Les protéines liant les pénicillines.

R.A.A : Rhumatisme Articulaire Aigu.

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise.

SPS : Sodium polyanéthole sulfonate.

T A N : Taux d'accroissement naturel.

TCBS : Milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose.

TEE : Taux d'évènements dans le groupe expérimental.

TET : Taux d'évènements dans le groupe témoin.

UFC : Unité Formant Colonie.

USA : United States.

Introduction à la microbiologie médicale

La microbiologie médicale est un domaine très vaste et varié. C'est une discipline qui englobe l'étude des maladies infectieuses sur le plan virulence, épidémiologie, relations entre l'hôte et le pathogène ainsi que la flore normale. Elle englobe tous les agents pathogènes, allant des virus et des protéines du Prion, passant des bactéries pathogènes communes de l'homme et les champignons responsables des mycoses, jusqu'aux parasites macroscopiques comme les protozoaires eucaryotes et les arthropodes. Les postulats de Robert Koch ont été d'un appui considérable pour comprendre la pathogénicité de ces agents et ouvrir ainsi un nouveau chapitre.

La microbiologie médicale est basée sur l'étude des micro-organismes responsables d'infections chez l'homme. Dans les spécialités de la microbiologie, on retrouve :

- La bactériologie qui étudie les bactéries (micro-organisme unicellulaire appartenant à un règne autonome, observation au microscope optique) ;
- La virologie qui étudie les virus ;
- La mycologie qui étudie les levures et les champignons ;
- La parasitologie qui étudie les parasites par exemple : *Tænia* ou le pou (ectoparasite).

Les maladies transmissibles sont la cause la plus commune de décès dans les pays en développement et leur diagnostic et leur traitement posent des problèmes importants aux services de santé de ces régions. L'Organisation mondiale de la Santé est depuis longtemps activement mêlée à la mise au point et à la promotion de techniques normalisées pour les analyses de laboratoire concernant ces maladies, une première tentative de normalisation de l'étude de la sensibilité des bactéries pathogènes ayant été faite en 1950.

D'après l'analyse de la situation sanitaire figurant dans le huitième programme général de travail de l'OMS, les maladies transmissibles continuent à représenter une proportion excessivement élevée des budgets de la santé des pays en développement. Il y a encore des risques d'épidémies et de pandémies d'origine virale ou bactérienne et ce, d'autant plus que la surveillance épidémiologique et les mesures de prévention sont insuffisantes. Pour prévenir et combattre les principales maladies bactériennes, il est nécessaire de mettre au point des outils simples de surveillance épidémiologique et de contrôle des maladies, ainsi que des techniques diagnostiques simples et fiables.

Ainsi, pour être à la hauteur de la situation, les services de laboratoire de santé doivent reposer sur un réseau de laboratoires effectuant le travail de diagnostic microbiologique pour les centres de santé, les médecins hospitaliers et les épidémiologistes.

- Les agents infectieux

Les agents infectieux de l'homme couvrent un large spectre de formes et complexités. Ils recouvrent : les bactéries, les virus, certains champignons et certains parasites. La rencontre d'un de ces agents infectieux avec une personne réceptive peut causer l'apparition d'une maladie infectieuse. Les signes de la maladie infectieuse, sa gravité, son traitement varient selon le microbe en cause et l'état de santé du récepteur.

➤ Les bactéries

Les bactéries sont des cellules vivantes. Certaines sont utiles à l'organisme (comme celles du tube digestif, par exemple, qui aident à la digestion), d'autres sont pathogènes (comme le bacille de Koch, responsable de la tuberculose). Lorsqu'une bactérie agresse l'organisme, les défenses naturelles luttent contre l'infection. Parfois, le recours à des antibiotiques est nécessaire. Ceux-ci empêchent les bactéries de se multiplier. Certaines affections (le cancer, le sida), certains traitements (la chimiothérapie, les corticoïdes...) diminuent les capacités de défense de l'organisme et favorisent les infections.

➤ Les virus

Les virus sont des microbes beaucoup plus petits que les bactéries. Ils ne peuvent survivre qu'à l'intérieur d'une cellule vivante. Ils peuvent être agressifs, mais la plupart du temps, le corps s'en débarrasse tout seul. Certains sont toutefois plus agressifs et plus dangereux. Des médicaments spécifiques permettent de lutter efficacement contre certains virus (par exemple, contre l'herpès). Les antibiotiques sont, par contre, inefficaces.

➤ Les champignons

Les maladies dues aux champignons sont appelées mycoses. En général, les champignons infectent la peau et les muqueuses (buccales, génitales). Leur apparition est favorisée par la diminution des défenses de notre peau (par exemple en cas d'eczéma, de peau irritée et moite), mais également lors de la prise d'antibiotiques ou lors de certaines maladies, comme le diabète.

Dans quelques cas plus rares de maladie affaiblissante, les champignons peuvent envahir d'autres parties du corps (les poumons par exemple).

➤ Les parasites

Les parasites sont des micro-organismes plus ou moins agressifs. Ils envahissent le corps en tout ou en partie. D'autres, comme le ver solitaire, les oxyures, sont des parasites moins agressifs qui se logent uniquement dans le tube digestif.

Ce tableau 1 présente quelques maladies infectieuses causées par différents agents infectieux :

Tableau 1: Quelques maladies infectieuses selon l'agent infectieux (Pilly, 2016).

Maladies causées par des BACTERIES	Maladies causées par des VIRUS	Maladies causées par des CHAMPIGNONS	Maladies causées par des PARASITES
La coqueluche	Les hépatites	Le pied d'athlète	La gale
La diphtérie	Les mollusca	Les teignes	La pédiculose
Le tétanos	La poliomyélite		L'infection par le ver solitaire
La fièvre typhoïde	Certaines gastro-entérites		L'oxyurose
Certaines gastro-entérites	La rougeole		Certaines gastro-entérites
L'impétigo	Certaines méningites		
Certaines méningites	La rubéole		
La tuberculose	Le sida		
Les infections à Streptocoques bêta Hémolytiques du groupe A (y compris la scarlatine)	La varicelle		
La maladie de Lyme	La 5ème maladie		
	Les verrues		
	Le zona		
	La mononucléose		
	Les oreillons		

Chapitre I: Principales bactéries pathogènes pour l'homme.

I.1. Classification des principales bactéries d'intérêt médicale

Les bactéries peuvent être classées et donc identifiées en fonction de plusieurs paramètres (Tab.2):

- Morphologie microscopique : coque, bacille, isolés, groupés en deux, en chaînette, en amas ... (**Fig. 1**).
- Morphologie macroscopique : taille – forme – couleur des colonies sur culture.
- Résultat de la coloration de gram : Gram positif – Gram négatif.
- Température de croissance.
- Besoins respiratoires : aérobie – anaérobie strict – aéro-anaérobie facultatif - micro aérophile.
- Mobilité.
- Présence de spores.
- Besoins nutritionnels : nécessité de substances particulières.

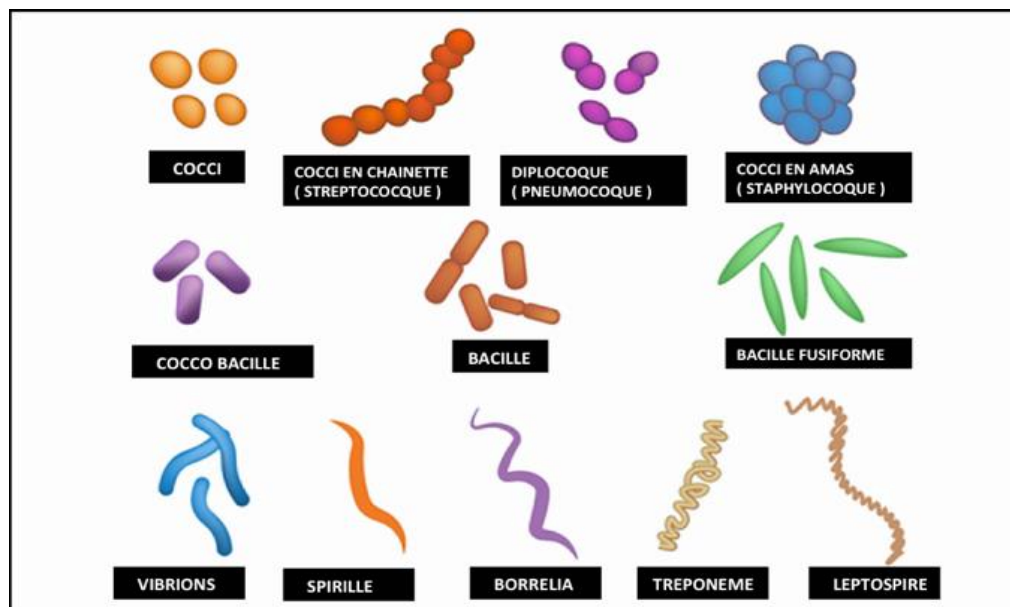


Figure 1: Morphologie microscopique des bactéries (Prescott *et al.*, 2003).

Tableau 2: Classification des bactéries (Prescott *et al.*, 2003).

Coques à Gram Positif		
Morphologie	Genre	Espèces
En amas	<i>Staphylococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylocoque à coagulase négative</i>
En chaînette	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptocoque bêta hémolytique : Groupe A pyogenes, Groupe B agalactiae, Autres groupes : C, G, F</i> <i>Streptocoques alpha hémolytiques : mutans, oralis, sanguis, salivarius, complexe milleri (anginosus, constellatis, intermedius)</i>
En diplocoque	<i>Streptococcus</i>	<i>pneumoniae</i>
En courtes chaînette	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> <i>faecium</i>
Coques à Gram Négatif		
Morphologie	Genre	Espèces
En diplocoque	<i>Neisseria</i>	<i>meningitidis</i> <i>gonorrhoeae</i>
Bacille à Gram Négatif		
Morphologie	Famille	Genre et Espèces
Bacille à Coloration bipolaire	<i>Enterobactériaceae</i>	<i>Escherichia coli (colibacille)</i> <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Enterobacter Proteus</i> <i>Serratia Providencia</i> <i>Morganella</i> <i>Salmonella (typhimurium)</i> <i>Shigella (sonnei) Yersinia (enterocolitica)</i>

Cocco bacilles		<i>Brucella melitensis</i> <i>Haemophilus (influenzae)</i> <i>Moraxella (catarrhalis)</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Bordetella pertussis</i> <i>Legionella pneumoniae</i> <i>Kingella</i>
Bacilles aérobies stricts	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bacille pyocyannique) Autres (<i>Burkholderia</i> – <i>Stenotrophomonas</i> ..) <i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i>
Vibrions	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio cholerae</i> Autres Vibrions <i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>

Bacille à Gram Positif		
Morphologie	Genre	Espèces
Petits	<i>Listéria</i>	<i>monocytogenes</i>
	<i>Erysipelothryx</i>	<i>rhusiopathiae</i> : bacille du rouget du porc
	<i>Corynebacterium</i>	<i>diphtheriae</i> : bacille de Loeffler Autres : <i>coryneformes</i>
Grands	<i>Bacillus</i>	<i>Anthraxis</i> : bacille du charbon Autres
	<i>Nocardia</i>	

Mycoplasmes		
Morphologie	Genre	Espèces
Sans paroi	<i>Mycoplasme</i>	<i>pneumonie</i> <i>hominis</i> Autres
	<i>Ureaplasma</i>	<i>urealyticum</i>

Mycobactéries		
Morphologie	Genre	Espèces
Bacilles alcool-acido-résistants	<i>Mycobacterium</i>	<i>Tuberculosis</i> : bacille de Koch (BK), bovis «atypiques» BCG <i>Lepae</i> : bacille de Hansen
Bactéries Anaérobies strictes		
Morphologie	Genre	Espèces
Coques à Gram positif	<i>Peptostreptococcus</i>	
Coques à Gram négatif	<i>Veillonella</i>	
Bacilles à Gram positif	<i>Clostridium</i> <i>Actinomyces</i> <i>Peptococcus</i> <i>Propionibacterim</i>	<i>tetani</i> , <i>perfringens</i> , <i>botulinum</i> , <i>difficile</i> <i>acnes</i>
Bacilles à Gram négatif	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Eubacterium</i>	

➤ Rappels sur la structure bactérienne

La structure de la paroi bactérienne dépend l'appartenance des bactéries au groupe des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Les deux groupes possèdent en commun un constituant essentiel, spécifique au monde bactérien, le peptidoglycane. Ce constituant confère à la bactérie sa forme et sa rigidité qui lui permet de résister à la pression osmotique intra- cytoplasmique (Fig. 2).

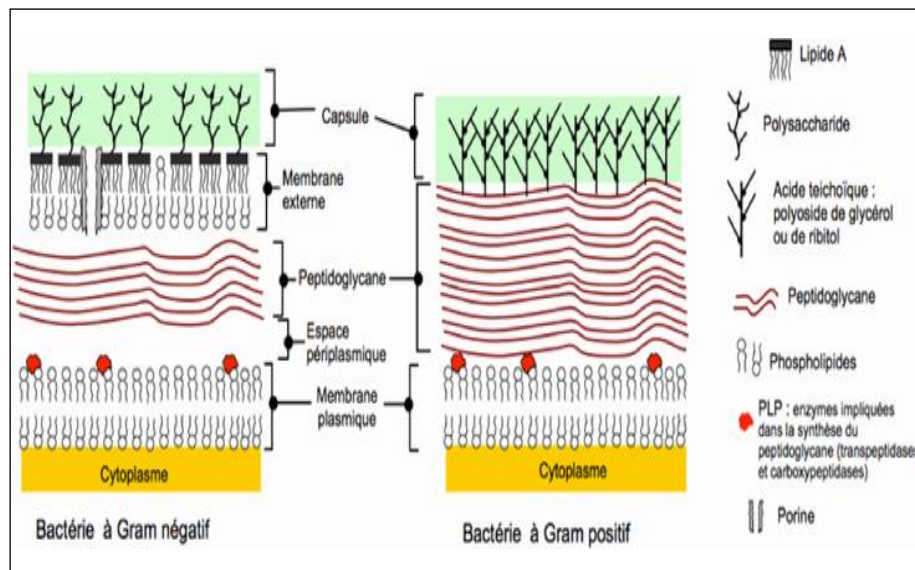


Figure 2: Structure de la paroi bactérienne des bactéries Gram positif et Gram négatif.

-Bactéries à Gram positif (BGP) : le peptidoglycane est la partie la plus externe de la bactérie. Il est plus épais que chez les bactéries à Gram négatif et entoure la membrane cytoplasmique de la bactérie.

-Bactéries à Gram négatif (BGN) : la paroi bactérienne contient un élément supplémentaire, la membrane externe, laquelle entoure le peptidoglycane qui est plus fin que chez les bactéries à Gram positif. La membrane externe est un élément très important dans la physiologie des BGN constituant une structure de résistance aux facteurs de défense de l'hôte. Son feuillet interne est essentiellement phospholipidique et son feuillet externe est majoritairement formé de Lipopolysaccharides (ou endotoxines) et sont responsables du choc endotoxinique des infections à Gram négatif. L'espace situé entre les deux membranes est appelé l'espace péri plasmique, il contient donc le peptidoglycane mais aussi de nombreuses enzymes parmi lesquelles les bêta-lactamases.

Les protéines liant les pénicillines (PLP) : sont des protéines ancrés dans la membrane cytoplasmique et émergent dans l'espace péri-plasmique, elles sont toutes porteuses d'activités enzymatiques notamment la synthèse du peptidoglycane.

I.2. Les principales bactéries pathogènes pour l'homme

I.2.1. Cocci à Gram positif

I.2.1.1. Les Staphylocoques

Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif très résistants dans le milieu extérieur. Le genre *Staphylococcus* comporte deux espèces :

- *Staphylococcus aureus* (le staphylocoque à coagulase positive) qui possède un potentiel de pathogénicité important, impliqué dans les infections communautaires et nosocomiales.
- Staphylocoques à coagulase négative : pathogènes opportunistes impliqués dans les infections nosocomiales.

➤ Historique

Les Staphylocoques sont observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle. Ils doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques.

➤ Habitat

L'homme est le principal réservoir, qu'il soit malade ou porteur sain hébergeant des staphylocoques au niveau des fosses nasales, de l'intestin, de la peau ou de ses annexes glandulaires (aisselle, périnée). Les staphylocoques contaminent également les surfaces, l'air et l'eau. La transmission est avant tout interhumaine directe et manu portée.

➤ Caractères bactériologiques

Ce sont des Cocci à Gram positif, regroupés en amas (grappe de raisin), en tétrade ou en diplocoques (**Fig. 3**). Sont immobiles, dépourvus de spores, présentent une capsule polysaccharidique.

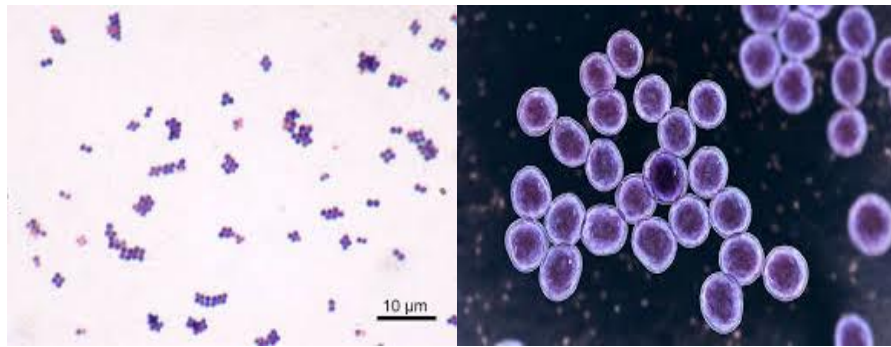


Figure 3: Les Staphylocoques.

Les staphylocoques sont des germes peu exigeants et peuvent être isolés en bouillon ou sur des milieux solides simples tels que géloses ordinaires ou gélose au sang ou géloses sélectives (chapman). Ils sont aéro-anaérobie facultatifs, fermentent le glucose et le glycérol et possédant la catalase.

➤ **Pouvoir pathogène**

Ce sont des Germes pyogènes par excellence, *S.aureus* est le microbe de la suppuration. Certaines souches agissent aussi par libération d'une ou de plusieurs toxines (intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique, impetigo).

La fréquence et la gravité des infections à staphylocoques sont liées à trois principaux facteurs:

- le caractère ubiquitaire du germe,
- l'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc.,
- et la fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier.

Les différentes formes des infections staphylococciques sont :

- **Formes cutanées** : atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncle, anthrax), atteinte péri-onguéale (onyxis, perionyxis, atteinte du tissu sous-cutané (panaris, phlegmons). Certaines formes superficielles (impetigo) peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliatine.
- **Formes muqueuses** : otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites.

•Formes généralisées :

1. **Septicémie** succédant à un foyer initial cutanéomuqueux : diffusion par atteinte des veines (séquence : phlébite, caillot, embol septique en rapport respectivement avec action de la coagulase, de la fibrinolyse et de l'hyaluronidase). On l'observe principalement chez les sujets ayant des défenses immunitaires affaiblies, traumatisés, sujets soumis à une intervention chirurgicale grave, sujets en unité de soins intensifs, diabétiques, etc..., sujets âgés, nourrissons. Les septicémies à staphylocoques, qui sont de pronostic redoutable (20 à 30% de mortalité), se compliquent souvent de localisations viscérales, même lorsqu'elles sont peu symptomatiques : pleuropulmonaires (abcès bulleux), ostéo-articulaires (ostéomyélites), uro-génitales (phlegmon périnéphrétique), cérébrales (abcès du cerveau), cardiaques (endocardite aiguë).
2. **Formes intestinales** : soit intoxication alimentaire par absorption de toxine préformée dans des aliments contaminés par un staphylocoque producteur d'entérotoxines, soit entérococolite aiguë pseudo-membraneuse à staphylocoque, consécutive à une antibiothérapie polyvalente massive et prolongée ayant sélectionné une souche entérotoxique.
3. **Syndrome de choc toxique** décrit pour la première fois en 1978 (TODD). Il associe une hypotension artérielle importante avec état de choc, de la fièvre ($> 39^{\circ}\text{C}$), une érythrodermie diffuse, une desquamation des paumes et des plantes une à deux semaines après le début de la maladie et une atteinte pluriviscérale (digestive, musculaire, muqueuse, rénale, hépatique, neurologique, hématologique). Fait important, les hémocultures sont négatives tandis que les prélèvements locaux permettent de cultiver *S.aureus*. La majorité des cas publiés sont associés à l'usage de tampons vaginaux périodiques particuliers, retirés maintenant du marché. Les signes cliniques sont liés à la production d'une exotoxine protéique (Toxic Shock Syndrome Toxin 1 ou TSST-1). D'autres toxines (entérotoxine B ou C) seraient impliquées dans le syndrome de choc toxique. Des syndromes similaires peuvent s'observer au cours d'infections par d'autres bactéries (exemple : *Streptococcus A*) .

I.2.1.2. Les Streptocoques

Les bactéries des genres *Streptococcus* sont des cocci à Gram positif, catalase négative, à métabolisme anaérobie. Le genre *streptococcus* rassemble les streptocoques sensu stricto et le pneumocoque.

➤ Historique

En 1879, PASTEUR décrit dans le pus d'un abcès chaud des micro-organismes en chapelet de grains. ROSENBACH leur donne, en 1884, le nom de streptocoques.

En 1924, DICK démontre que la scarlatine est due au streptocoque.

En 1928, LANCEFIELD propose la classification antigénique qui porte son nom et qui remplace les classifications précédentes basées uniquement sur les propriétés hémolytiques. Avec la méthode de LANCEFIELD on peut classer les streptocoques en sérogroupes de A à T. Certains streptocoques qui ne possèdent pas d'antigène permettant de les classer selon la méthode de LANCEFIELD sont dits « non groupables ».

En 1936, l'avènement des sulfamides entraîne une baisse de la mortalité par fièvre puerpérale, complication post partum souvent causée par les streptocoques.

➤ Habitat

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre *Enterococcus*). D'autres encore sont des commensaux des animaux ou des saprophytes.

➤ Caractères bactériologiques

Les streptocoques sont des cocci de taille et de forme irrégulières, à Gram positif, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, acapsulés, asporulés (**Fig. 4**).

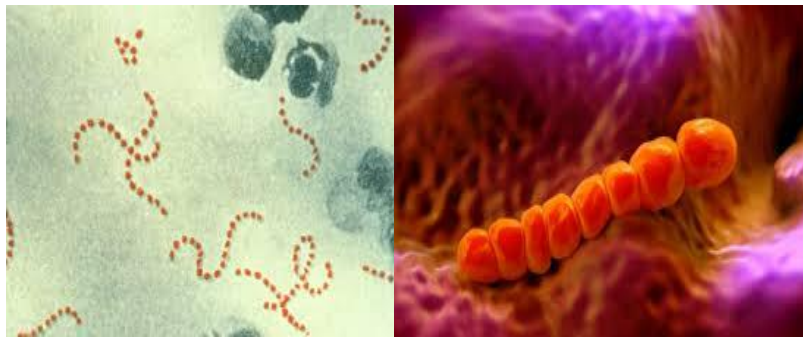


Figure 4: Les Streptocoques.

Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais. Sur gélose au sang, ils donnent de petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse bêta) pour les streptocoques des groupes A, C, G, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse alpha) ou pas d'hémolyse du tout.

➤ **Pouvoir pathogène**

Les streptocoques sont, après les staphylocoques, les bactéries pyogènes n°2. Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de LANCEFIELD, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les streptocoques.

- **Maladies provoquées par les streptocoques des groupes A, C, G.**

Les streptocoques des groupes A, C, G qui sont bêta-hémolytiques, ont un pouvoir pathogène similaire. Ils sont responsables des affections suivantes :

-L'angine rouge ou érythémato-pultacée (de pultis = bouillie, en latin), est l'affection streptococcique la plus fréquente : elle s'accompagne classiquement de fièvre à 39-40°C, de dysphagie par inflammation amygdalienne et périamygdalienne, d'une adénopathie satellite, de céphalées et d'asthénie.

-D'autres infections aiguës : cutanées, muqueuses ou septicémiques. Les unes sont locales, comme l'impétigo (enfant : lésions au niveau du visage et des mains), l'érysipèle (placard rouge surélevé, limité par un bourrelet + signes généraux), ou encore sur les infections des plaies et brûlures.

-**Les bactériémies** sont souvent secondaires à une infection locale. C'est le cas de la fièvre puerpérale qui fait suite à une infection génitale du post-partum. Il faut citer aussi les endocardites aiguës, les méningites.

-**La scarlatine** associe une angine et la diffusion à partir du foyer angineux d'une toxine érythrogène sécrétée par le streptocoque. La réaction de DICK consiste à tester la sensibilité du sujet à l'inoculation intradermique d'une faible dose de toxine érythrogène.

Les sujets chez lesquels l'injection de toxine ne provoque pas une réaction érythémateuse sont immunisés contre la scarlatine. Pour l'histoire, la réaction de SCHULTZE et CHARLTON, ou réaction d'extinction, était une épreuve diagnostique qui consistait à injecter par voie intradermique au niveau d'une plaque d'érythème scarlatiniforme un peu de sérum de convalescent de scarlatine. Si l'érythème s'éteignait au point d'injection, c'est qu'il s'agissait d'une scarlatine.

-**Des syndromes de choc toxique** avec défaillance viscérale multiple, identique à celui observé parfois avec *S.aureus*, d'où son nom de TSLS (*Toxic shock like syndrom*).

-**Des affections auto-immunes**, conséquences d'infections à streptocoque A. C'est le cas du rhumatisme articulaire aigu (R.A.A.), de la néphrite post-streptococcique, de la chorée de SYDENHAM (contractions musculaires, involontaires, persistant pendant le repos, gestes amples et rapides et incoordination des mouvements volontaires).

- **Maladies provoquées par les autres streptocoques**

- a. Il peut s'agir d'**infections aiguës** :

- **Génitales**, provoquées par les streptocoques du groupe B,
- **Néonatales sévères** : septicémies, méningite dû au streptocoque du groupe B.
- **de localisation diverse** (abcès du cerveau, cholécystites, etc).

- b. Il peut s'agir d'**infections subaiguës**

Dont la plus classique et la plus grave est l'endocardite lente d'OSLER. Celle-ci est due à la greffe, sur un endocarde préalablement lésé (anomalie congénitale, séquelle de cardite rhumatismale, etc...), d'un streptocoque non groupable comme *S.sanguis* ou *S.mitis* fréquemment isolé de la plaque dentaire et du sillon gingival, d'un streptocoque du groupe D (*S.bovis*), d'origine intestinale (notamment en cas de cancer colique), ou d'un entérocoque.

I.2.1.3. Les Pneumocoques

Streptococcus pneumoniae est communément appelé les pneumocoques, ayant les propriétés métaboliques des bactéries du genre *Streptococcus*. C'est la cause majeure de pneumonie, de méningite, d'otite et de sinusite.

➤ Habitat

Le pneumocoque est un hôte normal (commensal) de l'arbre respiratoire supérieur de l'homme. Il colonise le rhino-pharynx de 5 à 10 % des adultes et 20 à 50 % des enfants avec des variations saisonnières.

La transmission est strictement interhumaine non épidémique mais le plus souvent la maladie pneumococcique est à point de départ endogène.

➤ Caractères bactériologiques

Ce sont des diplocoques lancéolés en flamme de bougie, gram positif, capsulés, non sporulés, immobiles (**Fig. 5**). Principalement anaérobies tolérant l'oxygène. Ils sont des bactéries exigeantes qui nécessitent pour leur croissance des géloses nutritives enrichis au sang frais et des géloses sélectives. Les colonies sont alpha hémolytiques, parfois muqueuses.

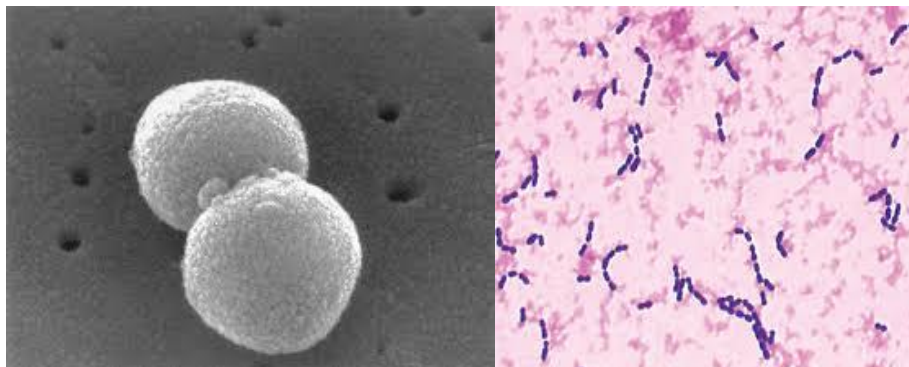


Figure 5: Les pneumocoques.

Comme tous les streptocoques, le pneumocoque est un germe à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérant. Il n'a pas de catalase. Il est sensible à l'optochine et lysé par les sels biliaires.

Le pneumocoque est caractérisé par la présence d'une capsule de nature polysaccharidique dont il existe 84 types immunologiques.

➤ **Pouvoir pathogène**

A l'occasion d'une baisse de l'immunité générale ou locale, provoquée par des anomalies du tractus respiratoire, des intoxications (alcool), des troubles circulatoires, la malnutrition, la splénectomie, etc..., le pneumocoque peut se multiplier activement dans l'arbre respiratoire. Il va provoquer :

-Des affections loco-régionales : bronchites, trachéobronchites, sinusites, otites, conjonctivites, pneumonies franches lobaires aiguës (accompagnées dans 15 à 25 % des cas de bactériémie), pleurésies. Les pneumonies à pneumocoque représentent 60 à 80 % de toutes les pneumonies bactériennes.

-Des affections à distance : péricardites, méningites, péritonites, arthrites. Un caractère important des infections à pneumocoque est à retenir : la fréquence des réactions fibrineuses génératrices de cloisonnements (par exemple pleuraux ou méningés) qui, eux-mêmes, aggravent le pronostic.

I.2.1.4. Les Entérocoques

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif, disposés en diplocoques, commensaux du tube digestif. Ils sont responsables d'infections urinaires et d'endocardites. Les plus fréquemment isolés sont : *Enterococcus faecalis* (80-90%) et à un moindre degré *Enterococcus faecium* (5-10%).

➤ **Habitat**

Sont des bactéries ubiquitaires. Principalement flore digestive de l'homme et des animaux. Elles Colonisent la peau par contamination de voisinage, notamment de la région périnéale et du vagin. Se rencontre également dans l'environnement : eaux usées, eau douce, sol, et contamine les aliments.

➤ **Caractères bactériologiques**

Coques ovoïdes à gram positif, en courte chaînette, rarement capsulés, non sporulés et immobiles (**Fig. 6**).

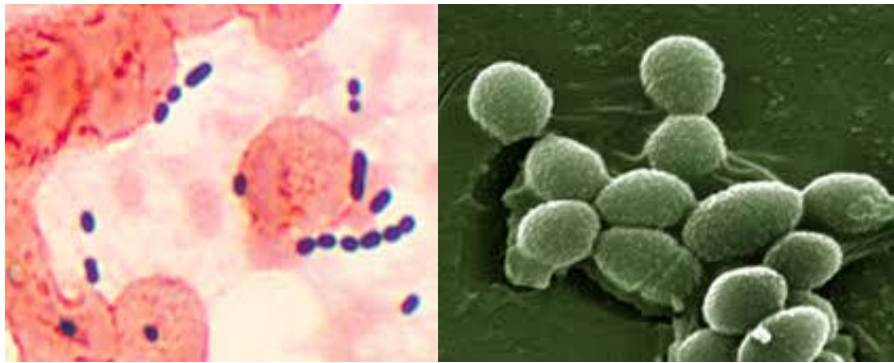


Figure 6: Les Entérocoques.

Ces bactéries sont aéro-anaérobies facultatives, cultivent sur géloses nutritives et géloses sélectives. C'est une bactérie résistante qui pousse dans des conditions hostiles (NaCl 6,5%, bile), et hydrolyse l'esculine. Les colonies sont non hémolytiques (quelques souches sont bêta-hémolytiques).

Ils sont bien moins sensibles aux antibiotiques que les autres streptocoques et en 1986 les premières souches d'entérocoques résistant aux glycopeptides (vancomycine, téicoplanine) ont été isolés.

➤ **Pouvoir pathogène**

-Infections urinaires : La localisation infectieuse la plus fréquente, le plus souvent dans un contexte à risque de complication, liés aux soins (après explorations urologiques), sur cathéters, récidivantes ou chez un patient ayant reçu des antibiothérapies favorisant la prolifération des entérocoques au dépens des entérobactéries.

-Endocardites : évoluant sur un mode subaigüe, sur valve native ou sur prothèse, et survenant après explorations digestives ou urologiques.

-Infections abdomino-pelviennes : caractère poly-microbien fréquent des surinfections à entérocoques.

-Infections de la peau et des parties molles.

-Infections néonatales

-**Les bactériémies** : sont associés à un taux de mortalité élevé et qui est plus lié au terrain sous-jacent qu'au pouvoir pathogène de la bactérie.

I.2.2. Cocci à Gram négatif : *Neisseria*

Les bactéries du genre *Neisseria* se caractérisent par un aspect morphologique particulier de diplocoques à face aplatie, se présentant sous la forme de grains de café, aérobies stricts, oxydase positive.

Deux espèces sont pathogènes pour l'homme :

Neisseria meningitidis, agent régulièrement identifié lors de cas de méningite cérébro-spinale.

Neisseria gonorrhoeae, agent de la gonococcie, de la blennorragie ou encore de la gonorrhée.

I.2.2.1. *Neisseria meningitidis*

Le méningocoque, *Neisseria meningitidis*, est l'agent de la méningite cérébro-spinale.

➤ Habitat

Bactérie strictement humaine qui ne survit pas dans l'environnement. La seule niche connue est le nasopharynx de l'homme qu'elle colonise chez environ 5 à 15 % d'une population donnée. De nombreux sujets sont porteurs sains et jouent un rôle capital dans l'épidémiologie de la maladie.

➤ Caractères bactériologiques

Ce sont des coques à Gram négatif, immobiles, en diplocoques à face aplatie ou en tétrades (**Fig. 7**), aérobies strictes (mais nécessité d'un enrichissement en CO₂). Ils sont capables d'utiliser le glucose et le maltose (à la différence du gonocoque), et possèdent une alpha-glutamyl-transférase, à la différence de *N.gonorrhoeae* qui n'en possède pas.

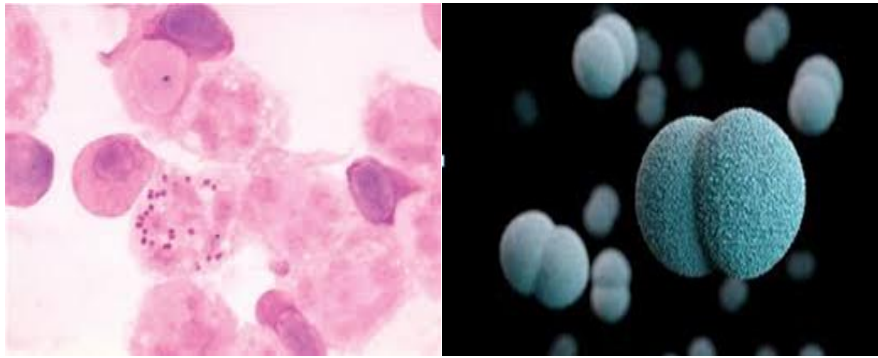


Figure 7: *Neisseria meningitidis*.

Ce sont des bactéries fragiles et sensibles aux variations de température, d'où la nécessité de milieux de culture riches tels que la gélose au sang cuit ou chocolat supplémentée ou non.

La capsule a un rôle essentiel dans la virulence de la bactérie en permettant la résistance à la phagocytose et à l'activité bactéricide du sérum. Toutes les souches virulentes sont capsulées.

Les polysaccharides capsulaires permettent de classer par agglutination les méningocoques en groupes sérologiques : Au moins 12 sérogroupes différents (A, B, C, X, Y, Z, 29 E, W135...) sont identifiés. Les infections sont dues aux groupes A, B, C et plus récemment W135.

➤ Pouvoir pathogène

-**La méningite** est la complication la plus fréquente de la méningococcémie. Elle apparaît brutalement et entraîne des céphalées, des vomissements et une raideur de la nuque, et non traitée, évolue vers le coma en quelques heures. La complication maligne de la méningococcémie est la septicémie fulminante avec purpura, coagulation intravasculaire disséminée et collapsus circulatoire (syndrome de WATERHOUSE-FRIDERICHSEN). Exceptionnellement, *N.meningitidis* peut être retrouvé au niveau des organes génitaux.

Chez certains sujets, notamment les sujets jeunes vivant en collectivité, le méningocoque se multiplie et provoque une rhino-pharyngite contagieuse, épidémique ou sporadique. Celle-ci survient surtout en période hivernale et printanière.

I.2.2.2. *Neisseria gonorrhoeae*

Neisseria gonorrhoeae est une bactérie très proche de *N. meningitidis* et doit être considéré comme un «sous-type» de *N. meningitidis* qui s'est adapté à une niche différente puisque son site de prédilection est l'appareil urogénital. Il n'y a pas de technique de typage pratiquée en routine. Une différence majeure est l'absence de capsule polysaccharidique chez *N. gonorrhoeae*.

➤ Habitat

Comme pour *N. meningitidis*, le seul hôte connu pour *N. gonorrhoeae* est l'homme, et la bactérie ne survit pas dans l'environnement. La niche est cependant différente puisqu'il s'agit de l'appareil urogénital.

➤ Caractères bactériologiques

Ce sont des cocci en diplocoques, faces aplaties, à Gram négatif et immobiles (**Fig. 8**). Bactéries aérobies strictes (mais nécessité d'un enrichissement en CO₂).

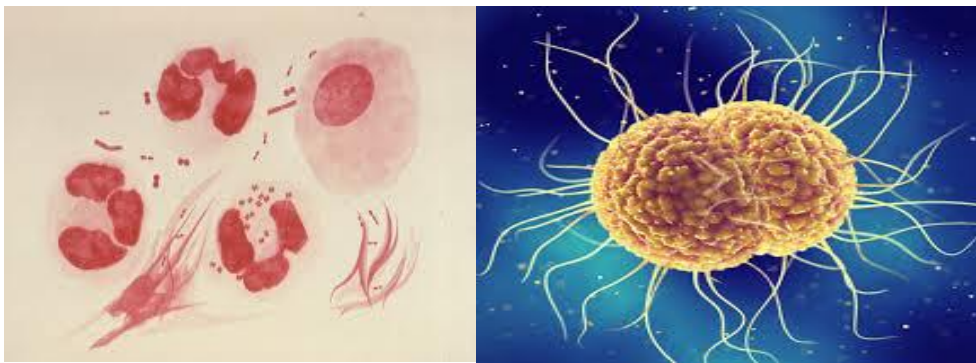


Figure 8: *Neisseria gonorrhoeae*.

Ce sont des bactéries fragiles très sensibles aux variations de température et qui poussent lentement en 3 à 4 jours sur des milieux enrichis sélectifs (gélose au sang cuit et chocolat). Les colonies sont grisâtres, brillantes et irrégulières. L'absence de capsule polysaccharidique chez *N. gonorrhoeae*.

➤ **Pouvoir pathogène**

Le gonocoque est l'agent des maladies sexuellement transmissibles (M.S.T.) les plus répandues, la blennorragie ou gonococcie. Depuis 1960, la gonococcie est en augmentation dans presque tous les pays du monde. Toutefois, dans les pays développés, cette augmentation a été stoppée en 1985 et depuis cette date on note même une diminution sensible du nombre de cas. Sa transmission est principalement le fait des sujets (femmes et hommes) porteurs asymptomatiques de gonocoques.

Chez la femme, le risque de contamination après un rapport sexuel avec un partenaire infecté est de 75 à 90 %. L'infection est le plus souvent peu ou pas symptomatique. Elle se traduit par une uréthrite, une cervicite, une bartholinite, et peut donner lieu à un écoulement purulent. L'infection peut s'étendre et provoquer une salpingite (avec risque d'oblitération secondaire et de stérilité), et une pelvi-péritonite.

En revanche **chez l'homme**, le risque de contamination après un rapport sexuel avec une partenaire infectée est de 35 % en moyenne. La maladie apparaît brutalement 2 à 5 jours plus tard et se traduit le plus souvent par une affection aiguë : uréthrite avec écoulement purulent et brûlures vives à la miction (chaude-pisse). Dans moins de 5 % des cas, l'infection uréthrale est pauci ou asymptomatique. En se prolongeant, l'infection uréthrale entraîne localement une réaction scléreuse qui peut conduire au rétrécissement urétral. L'infection peut s'étendre aux glandes uréthrales, à la prostate, aux vésicules séminales et à l'épididyme. Il n'est pas rare que ces complications locorégionales soient les premières manifestations de l'infection gonococcique chez la femme.

Des bactériémies peuvent se produire, entraîner la dissémination du gonocoque dans l'organisme et être responsables de lésions cutanées (papules hémorragiques, pustules), d'arthrites, de ténosynovites (genou, cheville, poignet), etc...

Chez le nouveau-né, l'ophtalmie purulente est acquise au moment de la traversée de la filière génitale lorsque la mère est infectée et non traitée. Elle conduit à la cécité. Pour la prévenir, il y a obligation légale d'instiller dans les yeux des nouveaux-nés un collyre antiseptique (nitrate d'argent à 0,5-1 % : méthode de Credé) ou antibiotique (tétracycline ou érythromycine).

I.2.3. Bacilles à Gram positif sporulés : *Clostridium*

➤ Caractères généraux des bactéries du genre *Clostridium*

Toutes les bactéries du genre *Clostridium* sont de gros bacilles à Gram positif qui peuvent donner des spores plus larges que le diamètre des bacilles. La plupart des espèces sont mobiles et possèdent des flagelles péritriches.

Les bactéries du genre *Clostridium* ne poussent qu'en anaérobiose, soit sur boîtes de Pétri placées dans des enceintes anaérobies (jarres anaérobies), soit dans des bouillons contenant des agents réducteurs.

Dans ce dernier cas, la culture ne se fait qu'en profondeur. Sur gélose au sang, placée en anaérobiose, certaines espèces donnent de grandes, d'autres de petites colonies. La plupart des colonies sont hémolytiques.

La caractéristique principale des bacilles anaérobies est non seulement leur incapacité à utiliser l'oxygène comme accepteur final d'hydrogène mais encore leur incapacité à se multiplier en présence d'oxygène. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène : les bacilles anaérobies n'ayant pas de catalase, le peroxyde d'hydrogène, qui est toxique, s'accumule dans leur cytoplasme en présence d'oxygène ; ou encore, n'ayant pas de superoxyde dismutase, le superoxyde s'accumule et devient toxique. On a suggéré aussi que les réactions métaboliques ne pouvaient avoir lieu qu'à un potentiel d'oxydo-réduction négatif.

I.2.3.1. *Clostridium tetani*

Clostridium tetani est l'agent du tétanos.

➤ Habitat

Clostridium tetani, découvert en 1885 par NICOLAIER, se retrouve partout dans le sol, où il survit sous sa forme sporulée. Commensal du tube digestif de plusieurs espèces animales (cheval, bovins, ovins), il est éliminé par les selles et sporule sur le sol. Il est particulièrement abondant dans les zones de pacage des animaux et à l'emplacement des anciennes écuries.

➤ **Caractères bactériologiques**

C'est un bacille mobile à Gram positif. La spore est terminale, déformante et donne au bacille un aspect en clou ou en baguette de tambour (**Fig. 9**).

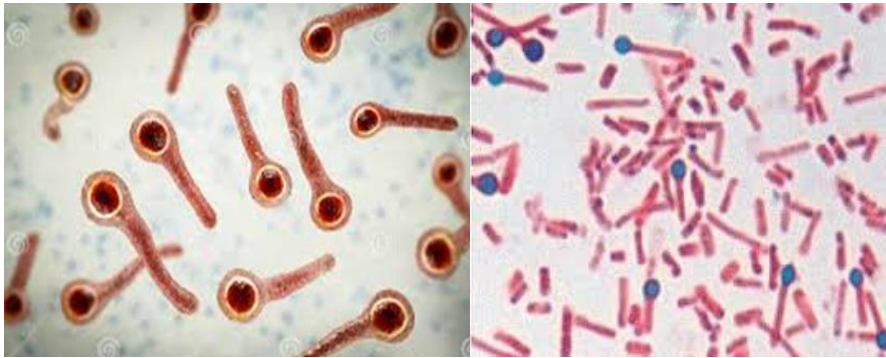


Figure 9: *Clostridium tetani*.

Bien qu'il existe plusieurs variétés de *Clostridium tetani*, toutes produisent la même toxine. Celle-ci est produite par le germe durant sa croissance mais est aussi libérée par l'autolyse du corps bactérien.

La toxine est une protéine, antigénique, qui contient deux facteurs : (1) la tétanolysine responsable de l'hémolyse, de la nécrose et qui est cardiotoxique, (2) la tétañospasmine (composée du fragment alpha qui est toxique et du fragment beta qui est antigénique) qui est le facteur essentiel de la toxicité neurologique. Comme la toxine diphtérique, la toxine tétanique peut être transformée en anatoxine par l'action combinée du formol et de la chaleur (Ramon).

➤ **Pouvoir pathogène**

Clostridium tetani n'est pas un germe invasif. L'infection reste strictement limitée dans les tissus dévitalisés (blessure, brûlure, cordon ombilical ligaturé, suture chirurgicale) où les spores ont été introduites. Le volume de tissu infecté est petit, et la maladie est presque uniquement une toxémie.

La germination de la spore et la multiplication des formes végétatives qui vont produire la toxine tétanique nécessitent : des tissus nécrosés, c'est-à-dire l'anaérobiose, la présence d'un corps étranger, et la présence de bactéries pyogènes qui doivent vraisemblablement aider à maintenir un potentiel d'oxydoréduction bas.

L'incubation dure de 4-5 jours à plusieurs semaines. La toxine formée pénètre dans l'axone et gagne le système nerveux central par voie rétrograde en suivant le tissu périneural ou bien par voie lymphatique ou sanguine. Elle se fixe sur les gangliosides de la moelle épinière et du cerveau, où elle empêche la libération d'un inhibiteur des synapses des neurones moteurs. Il en résulte des réactions exagérées et des spasmes violents des muscles en réponse à toute stimulation.

La maladie clinique commence souvent par des spasmes musculaires de la zone blessée et par des contractures douloureuses des masseters (*trismus*) de sorte que le sujet ne peut plus ouvrir la bouche. Progressivement, les autres muscles de la musculature volontaire sont atteints. Des contractures douloureuses plus ou moins généralisées peuvent se produire. Le malade reste conscient, sa température est élevée. La mort survient souvent par asphyxie aiguë au cours d'un spasme laryngé.

I.2.3.2. *Clostridium perfringens*

Le principal *Clostridium* qui provoque la gangrène gazeuse est *C.perfringens*.

➤ Habitat

C.perfringens est présent dans le sol, dans le tube digestif de l'homme et des animaux. On le trouve également dans les voies génitales féminines dans 5 % des cas.

➤ Caractères bactériologiques

C.perfringens est de forme bacille (**Fig. 10**), se distingue des autres *Clostridia* par son immobilité et l'existence d'une capsule.



Figure 10: *Clostridium perfringens*.

En culture, il est fortement hémolytique et produit une quantité importante de gaz par fermentation (gangrène gazeuse). Il sécrète une exotoxine protéique qui est une phospholipase (lécithinase) qui désorganise les membranes cellulaires, en particulier musculaires. Cette toxine est aussi une hémolysine.

C.perfringens sécrète également une désoxyribonucléase (DNase), une hyaluronidase et une collagénase dont l'action favorise l'extension de l'infection à *C.perfringens*.

Enfin, certaines souches, responsables d'intoxication alimentaire, sécrètent une entérotoxine, thermolabile, voisine de l'entérotoxine d'*E.coli*.

➤ **Pouvoir pathogène**

A partir d'une plaie contaminée (par exemple fracture ouverte ou plaie utérine), l'infection s'étend en 1 à 3 jours. Elle réalise :

- La gangrène gazeuse** qui se manifeste comme un phlegmon gazeux avec crépitation et nécrose progressive, fièvre, hémolyse, syndrome toxique, choc, puis la mort survient rapidement. Avant l'apparition des antibiotiques, l'amputation était le seul traitement possible ;

- Des appendicites, des entérites gangréneuses ;

- Des syndromes septicémiques** d'origine puerpérale avec ictère hémolytique et anurie.

Par ailleurs, certaines souches de *C.perfringens* provoquent des intoxications alimentaires avec diarrhée profuse qui durent de 1 à 3 jours, par un mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine d'*E.coli*.

I.2.4. Bacilles à Gram positif non sporulés

I.2.4.1. *Corynebacterium diphtheriae*

➤ **Historique**

En 1883, à une époque où la diphtérie tuait encore 60 000 personnes par an en France, KLEBS découvre le bacille dans les fausses membranes de l'angine diphtérique.

En 1884, LOEFFLER le cultive et reproduit la maladie locale et générale chez l'animal. Il constate que le bacille reste au point d'inoculation.

En 1888, ROUX et YERSIN reproduisent expérimentalement la diphtérie par inoculation d'un filtrat de bouillon de culture. La toxine diphtérique était découverte.

En 1890, BEHRING et KITASATO immunisent l'animal avec des doses faibles de toxine et obtiennent un sérum antitoxique utilisé pour le traitement des malades.

En 1913, SCHICK met au point un test d'immunité par injection intradermique de toxine.

En 1923, RAMON transforme la toxine en anatoxine et produit le premier vaccin antidiphtérique.

➤ Habitat

Corynebacterium diphtheriae est un parasite strict de l'espèce humaine. Il s'agit d'un germe se transmettant d'homme à homme par voie respiratoire (des particules de salive des malades ou porteurs de germes). Les agents de contamination sont les malades ou les porteurs sains.

Il est relativement résistant dans les milieux extérieurs. Rarement isolée à partir de sols contaminés par diverses excréctions humaines.

➤ Caractères bactériologiques

Bacille à gram positif, immobile, sans spore ni capsule, morphologie coryneforme (Il est légèrement incurvé, avec des extrémités arrondies), groupement en palissade, ou lettres de l'alphabet (**Fig.11**), catalase positive, croissance aéro-anaérobie ; à métabolisme respiratoire et fermentatif.

Ses caractères biochimiques sont sans intérêt dans la mesure où seule la production de toxine a valeur diagnostique.

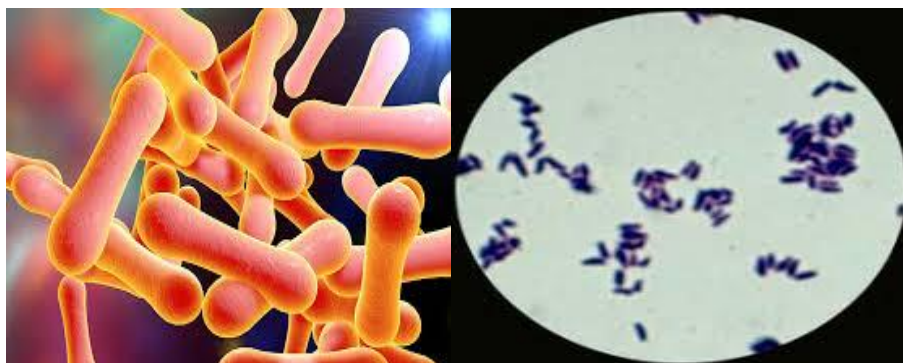


Figure 11: *Corynebacterium diphtheriae*.

Les corynébactéries rencontrées en pathologie sont exigeantes pour de nombreux facteurs de croissance.

Corynebacterium diphtheriae pousse sur la majorité des milieux de culture usuels. Mais la culture est favorisée par la présence de sang ou de sérum. Sur le milieu de LOEFFLER, au sérum coagulé, il pousse plus rapidement que les autres bactéries en donnant de petites colonies grisâtres granuleuses, à bord irrégulier.

➤ Pouvoir pathogène

Corynebacterium diphtheriae est l'agent de la diphtérie. C'est une maladie respiratoire devenue rare du fait de la mise en place d'une vaccination obligatoire. La diphtérie est due aux souches produisant de la toxine diphtérique à partir d'un foyer pharyngé (angine pseudo-membraneuse) avec effets systémiques de la toxine au niveau périphérique (paralysie – troubles oculaires et cardiaques).

La maladie commence par une angine fébrile à fausses membranes située habituellement sur les piliers du voile avec une importante réaction ganglionnaire (dit cou « proconsulaire »). Les signes de toxicité apparaissent rapidement et conduisent à la prostration. Ils peuvent être accompagnés de dyspnée liée à l'obstruction des voies aériennes supérieures (larynx et trachée) par la fausse membrane (croup). En dehors du croup, les complications cardiaques (myocardite) et nerveuses (dysphagie et paralysie) dominent le pronostic.

Chez le sujet vacciné, la diphtérie se manifeste par une angine banale ou à fausses membranes mais sans signes généraux.

Les souches non toxinogènes sont responsables de bactériémies avec des localisations diverses (endocardites, arthrite..) souvent à partir d'un foyer cutané.

I.2.5. Les bacilles à gram négatif : Les entérobactéries.

➤ Caractères généraux et classification des entérobactéries

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants:

- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large),
- Mobiles avec ciliature pérित्रique ou immobiles,
- Poussant sur milieux de culture ordinaires,
- Aérobie - anaérobie facultatif,

- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- Réduisant les nitrates en nitrites,
- Oxydase négatif.

➤ Répartition en genres

Les entérobactéries appartiennent à une grande famille qui regroupe des bacilles à Gram négatif (BGN). Cette famille comporte plusieurs genres, espèces et sérotypes. La classification récente (hybridation ADN-ADN) recense 31 genres et plus de 140 espèces. Parmi tous les genres et espèces décrits, une vingtaine est impliquée en pathologie humaine : *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Entérobacter*, *Proteus*....

La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimiques dont les plus importants sont : fermentation du lactose, production d'indole, production d'uréase, production d'acétoïne (réaction dite VP+), utilisation du citrate, désamination du tryptophane.

➤ Habitat

Le nom d'entérobactérie a été donné parce que ces bactéries sont en général des hôtes normaux ou pathologiques du tube digestif de l'homme et des animaux. L'environnement (sols, eaux, végétaux) peut être contaminé par la matière fécale et constitue une source de contamination indirecte.

➤ Caractères bactériologiques

Les entérobactéries, regroupant plusieurs genres, sont des bacilles à Gram négatif, mobiles grâce à une ciliature péritriche, certains sont immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*). Ils sont aéro-anaérobies facultatifs et se développent sur milieu ordinaire.

Ils sont dépourvus d'oxydase et ont la faculté de fermenter le glucose, mais aussi de réduire les nitrates en nitrites. Les différences entre les nombreux genres et espèces viennent de critères plus précis, comme la fermentation des différents sucres, la production ou non de sulfure, la présence ou l'absence d'enzymes du métabolisme.

➤ Pouvoir pathogène

Chez l'homme, il convient de distinguer :

- Les entérobactéries pathogènes opportunistes peuvent provenir de la flore digestive commensale normalement résidente (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterbacter*, *Serratia*, *Proteus* ...

Les infections qu'elles peuvent engendrer ont un point de départ endogène citons à titre d'exemple :

- Les infections urinaires
- Les infections intra abdominales (cholécystites, appendicites.)
- Septicémies à point de départ urinaire ou intra abdominale
- Surinfection respiratoire

-Les entérobactéries pathogènes spécifiques que l'on ne trouve pas à l'état commensal(en dehors des porteurs sains) et dont la présence dans les milieux extérieurs n'est qu'un phénomène transitoire. Les maladies qu'elles engendrent sont dues à un défaut d'hygiène et la contamination se produit soit par contact direct soit par l'intermédiaire d'un vecteur (alimentaires ou animal) citons : La fièvre typhoïde due à *Salmonella typhi*, les toxi-infections alimentaires dues à *Salmonella mineures*, *Shigella* et à *Yersinia*.

-**En milieu hospitalier** : Ces bactéries sont au premier plan des infections nosocomiales. Elles sont manu portée et elles sont capables de surinfecter n'importe quelle lésion pré-existante. La multiplication des actes médico- chirurgicaux (endoscopie, cathéter, sonde à demeure, drain..), l'utilisation d'antiseptiques et d'antibiotiques majore leur rôle pathogène et leur résistance aux antibiotiques tel que les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (EBLSE) qui sont responsables d'épidémies, difficiles à gérer.

I.2.5.1. *Escherichia coli*

➤ Définition

Escherichia coli (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole.

➤ **Habitat**

E.coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de matière fécale (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme).

➤ **Pouvoir pathogène**

1. Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) :

- **Par pénétration par voie urétrale ascendante** (contiguïté) dans l'arbre urinaire, à l'origine de cystite (infection limitée à la vessie, sans fièvre) et de pyélonéphrite (infection du rein avec fièvre et bactériémie). La pénétration des colibacilles dans l'arbre urinaire est favorisée chez la femme par la brièveté de l'urètre. Leur persistance est favorisée par : (1) la présence de pili ou fimbriae (adhésine) à la surface des bactéries pour lesquels, il existe des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires et (2) toute anomalie fonctionnelle de l'arbre urinaire (stase, obstacle, reflux...).

E.coli est responsable des trois-quarts des infections urinaires spontanées en pratique de ville.

- **Par essaimage à point de départ digestif** : cholécystite suppurée, péritonite, septicémie.

2. Certaines souches de colibacilles ont un pouvoir entéropathogène intrinsèque par acquisition de gènes de pathogénicité :

- a. **Par sécrétion d'entérotoxine (ETEC)**, ils peuvent provoquer des diarrhées aiguës, «cholera-like ». La sécrétion d'entérotoxine est codée par un plasmide. La toxine est le plus souvent une toxine thermolabile ou LT (très voisine de celle du vibron cholérique), mais parfois thermostable ou ST.

LT entraîne la cascade d'événements suivants, (a) l'activation de l'adénylcyclase, (b) l'augmentation de l'AMP-cyclique, (c) l'activation de kinases AMP-cyclique dépendantes, (d) la phosphorylation de protéines membranaires, et enfin (e) une hypersécrétion intestinale d'eau et de chlorures, un hyperpéristaltisme intestinal et une diarrhée explosive, qui durent de 1 à 3 jours.

Les plasmides en cause portent aussi des gènes responsables de la production de pili ou fimbriae (adhésines) qui permettent l'attachement des *E.coli* à la muqueuse intestinale.

Les ETEC sont une des causes les plus fréquentes des diarrhées de l'enfant dans les pays en voie de développement et des voyageurs arrivant dans les zones endémiques (« diarrhée de Mexico »). La moitié des cas de diarrhée du voyageur sont causés par des ETEC.

b. Par fixation sur la surface des cellules de la muqueuse, abrasion de la bordure en brosse des villosités intestinales et production de cytotoxines (EHEC), les EHEC provoquent une diarrhée aiguë, aqueuse, puis hémorragique (« all blood, no stool »), sans pus ni fièvre.

Le sérotype 0157 : H7 est le plus fréquent. Les EHEC produisent de puissantes cytotoxines, dites vérotoxines et appelées SLT car elles ressemblent à la toxine de *S.dysenteriae*. Elles sont produites sous le contrôle de bactériophages en situation chromosomique (intégrés) convertisseurs.

Les SLT disséminent par voie sanguine et inhibent la synthèse protéique par hydrolyse de l'ARN ribosomal. Les EHEC hébergent un plasmide codant pour une adhésine.

Les EHEC se propagent sous forme épidémique à partir d'aliments contaminés (« maladie du hamburger ») et provoquent jusqu'à plusieurs centaines ou milliers de cas à la fois. Ils peuvent aussi provoquer une complication redoutable : le syndrome hémolytique et urémique (SHU), dans 5 à 10 % des cas.

c. Par invasion de la muqueuse colique, certains colibacilles (EIEC) provoquent des diarrhées aiguës, « **dysenterie-like** », avec présence de mucus, sang et leucocytes dans les selles. Ces *E.coli* ont été isolés dans quelques cas sporadiques de diarrhée aiguë. La virulence des EIEC est liée à la présence d'un plasmide très proche de celui connu chez *Shigella*.

d. Enfin, certaines souches d'*E.coli* sont associées à des diarrhées et sont clairement entéropathogènes (EPEC) grâce à des propriétés d'adhésion particulières. Elles ne sont ni sécrétrices d'entérotoxine, ni entéro-invasives.

Elles forment des pili, codés par des plasmides, qui forment des « faisceaux » (« bundle ») qui se fixent sur les villosités des entérocytes. Les villosités sont progressivement détruites (« attachement-effacement »).

Le cytosquelette des entérocytes est altéré et il se produit très rapidement une fuite hydrique dont le mécanisme biochimique n'est pas complètement élucidé.

I.2.5.2. *Salmonella*

➤ Définition et habitat

Les *Salmonella* sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase. Les *Salmonella* sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles).

Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n° 1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (maladies à déclaration obligatoire n° 12).

Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S.typhi* surtout), des aliments (exemple : produits laitiers, œufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs (tortues).

➤ Classification

Les travaux récents de taxonomie, en particulier par hybridation de l'ADN, ont permis de conclure que le genre *Salmonella* ne comportait qu'une seule espèce, *Salmonella enterica*. Cette espèce comprend 7 sous-espèces différenciées par leurs biotypes. Les sous-espèces sont subdivisées en près de 2 000 sérovars sur la base de leurs antigènes O, H et de capsule. Les sérovars étaient auparavant considérés comme des espèces distinctes.

➤ Le pouvoir pathogène

Les *Salmonella* sont responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

a. Etiologie

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire : *S.Typhi*, *S.Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*. Ces salmonella sont dites majeures en raison de la gravité de la pathologie qu'elles provoquent.

b. Physio-pathologie

Les *Salmonella* sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (coquillages).

La dose infectante serait de l'ordre de 10^5 bactéries. Elles traversent sans la léser la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites où elles vont se multiplier.

Une partie des *Salmonella* se lysent et libèrent leur endotoxine. Celle-ci provoque des signes cliniques (fièvre, typhos, bradycardie) et biologiques (leucopénie) et une irritation des plaques de PEYER qui peut entraîner des hémorragies intestinales et des perforations.

A partir des ganglions mésentériques, par le canal thoracique, des *Salmonella* gagnent le courant sanguin (hémoculture positive), et disséminent dans tous les organes (reins, foie, vésicule biliaire) et sont excrétées en faible nombre et de manière intermittente dans les selles (coproculture positive).

Finalement, l'organisme infecté produit des anticorps contre les antigènes bactériens (sérodiagnostic positif), qui contribuent à la guérison spontanée de la maladie. Sans traitement, la mortalité est d'environ 20 %.

I.2.5.3. Shigella**➤ Définition**

Les *Shigella* sont des entérobactéries immobiles extrêmement proches d'*Escherichia coli* mais qui ne fermentent pas le lactose. Elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas de gaz. Elles sont parasites de l'homme et entraînent une colite infectieuse endémo-épidémique, la dysenterie bacillaire (Shigellose).

➤ Le pouvoir pathogène**- Physio-pathologie**

Après pénétration par voie orale (la dose infectante serait de l'ordre de 10^2 bactéries) les *Shigella* envahissent la muqueuse de la partie terminale de l'iléon et du gros intestin. Elles y forment des micro-abcès qui donnent naissance à des ulcérations superficielles qui saignent et se recouvrent d'une pseudo-membrane faite de mucus, de débris cellulaires, de leucocytes et de *Shigella*. La virulence est liée à la présence de grands plasmides (120 à 140 MDa) codant pour des protéines nécessaires à la phagocytose par les cellules M des plaques de Peyer et à la multiplication intracellulaire, et au passage de cellule à cellule.

Certaines souches de *Shigella* produisent aussi une toxine à activité entérotoxique et neurotoxique, responsable du syndrome hémolytique urémique (SHU).

- Clinique

Les sujets atteints de shigellose se plaignent de douleurs intestinales paroxystiques (coliques), de diarrhée et de fièvre. Les selles sont liquides et contiennent du mucus, du pus et du sang.

I.2.5.4. *Yersinia*

Ce sont des entérobactéries immobiles, cultivant lentement, produisant une uréase très active (base de l'identification) mais pas de tryptophane désaminase, à la différence des *Proteus* qui sont aussi uréase +.

I.2.5.4.1. *Yersinia pestis*

➤ Habitat

Yersinia pestis est un parasite des animaux et de l'homme, agent de la peste animale et humaine.

Le réservoir est constitué par les rongeurs sauvages (peste sauvage ou silvatique, endémique). Chez les rats domestiques, la maladie occasionne des épizooties massives qui sont à l'origine des épidémies humaines. L'agent vecteur est la puce du rat qui contamine animaux et hommes par piqûre. Il peut exister une transmission interhumaine par la puce de l'homme, ou par voie aérienne en cas de forme pulmonaire.

➤ Le pouvoir pathogène

-Physiopathologie

Le bacille se multiplie au point d'inoculation (vésico-pustule), se propage par voie lymphatique et se multiplie dans le ganglion lymphatique satellite (adénopathie suppurée : le bubon).

L'évolution peut se faire vers la septicémie. La forme septicémique peut être à l'origine d'une localisation pulmonaire secondaire qui à son tour, par transmission aérienne, peut être à l'origine de cas de peste pulmonaire primitive. Le bacille se multiplie dans les macrophages.

-Maladie

La peste bubonique se présente comme l'association d'un syndrome infectieux sévère, d'un syndrome toxique (endotoxine) et du bubon douloureux, dur, de la taille d'une noisette. La peste pulmonaire qui se présente comme l'association d'un syndrome infectieux sévère et de signes respiratoires très intenses (dyspnée, cyanose) est rapidement mortelle.

I.2.5.4.2. *Yersinia entérocolitica* et *pseudotuberculosis***➤ Habitat**

Yersinia enterocolitica et *Y.pseudotuberculosis*, trouvées chez l'animal (maladie des rongeurs) et dans l'environnement (sol, eaux), sont surtout les agents d'infections animales et rarement d'infections humaines.

➤ Le pouvoir pathogène**-Physiopathologie**

Le bacille pénètre par voie digestive et se multiplie dans les ganglions mésentériques. Chez le sujet fragilisé, l'évolution peut se faire vers la septicémie.

-Maladie

La forme la plus habituelle est l'adénite mésentérique à *Y.pseudotuberculosis* du sujet jeune à symptomatologie pseudo-appendiculaire. A l'intervention, l'appendice est normal mais on trouve un ou plusieurs ganglions congestifs. L'entéocolite à *Y.enterocolitica* est plus particulière : elle est à début brutal et associe diarrhée intense, vomissements, douleurs abdominales et fièvre.

I.2.5.5. Autres entérobactéries commensales**➤ *Proteus mirabilis***

Ce sont des bactéries très mobiles (pouvant envahir les milieux de culture) qui se distinguent facilement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques (uréase +, tryptophane désaminase+) et leur résistance naturelle à la colistine. C'est un commensal du tube digestif.

Proteus mirabilis vient au second rang, après *E.coli*, dans l'étiologie des infections urinaires de ville (10 % des cas). C'est une espèce bactérienne habituellement sensible aux antibiotiques.

➤ **Klebsiella**

Ce sont des entérobactéries qui ont un métabolisme fermentaire particulier, c'est-à-dire qui produisent de l'acétoïne (elles sont dites V.P+, c'est-à-dire réaction de Voges-Proskauer positive). Espèce commensales des voies aériennes supérieures et du tube digestif, *Klebsiella* provoque des infections urinaires (5 % des infections en ville) et des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques, voire des abcès du poumon. *Klebsiella* est naturellement résistante à l'ampicilline par production de pénicillinase chromosomique.

➤ **Entérobactéries saprophytes**

Les autres entérobactéries sont des bactéries occasionnelles et transitoires du tube digestif, mais sont surtout des bactéries saprophytes (environnement). Dénuées de pouvoir pathogène propre, elles jouent surtout le rôle de bactéries opportunistes lors d'infections nosocomiales (urologie, réanimation).

Ce sont essentiellement *Enterobacter* et *Serratia* (qui comme les *Klebsiella* sont VP +), *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia*. Toutes ces espèces sont naturellement résistantes à l'ampicilline et aux céphalosporines de 1^{ère} génération par production de céphalosporinase chromosomique inductible.

I.2.6. Les Mycobactéries

Les bactéries du genre *Mycobacterium* sont des bacilles qui ne se colorent pas facilement mais qui, une fois colorés, résistent à la décoloration par l'acide et l'alcool et sont de ce fait dits « acido-alcoolo-résistants ». Le genre *Mycobacterium* est le seul genre de la famille des *Mycobacteriaceae*. En pratique, les mycobactéries sont classées en:

- **Mycobactéries tuberculeuses:** bacilles tuberculeux (BK). C'est un complexe regroupant les espèces : *M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanu*.
- **Mycobactéries non tuberculeuses:** *M. lèpreae* (agent de la lèpre),
- **Autres mycobactéries atypiques :** infections opportunistes chez les patients immunodéprimés.

I.2.6.1. *Mycobactrium tuberculosis*

➤ Historique

Au début du XIXe siècle, LAENNEC individualise la tuberculose. En 1865, VILLEMIN montre qu'il s'agit d'une maladie inoculable à l'animal et transmissible d'un animal à l'autre. Robert KOCH découvre et cultive en 1882 le bacille responsable.

Entre 1908 à 1920, CALMETTE et GUERIN préparent le B.C.G., la première vaccination ayant lieu en 1921. WAKSMAN découvre en 1944 la streptomycine, premier antibiotique actif sur *M.tuberculosis*.

En 1952 arrive l'isoniazide et, en 1967, la rifampicine. Malgré ces découvertes, la tuberculose est encore un des plus grands fléaux de l'humanité qui entraîne en l'an 2000 près de 10 millions de nouveaux cas et plus de trois millions de morts chaque année dans le monde. L'épidémiologie et la gravité de la maladie sont aggravées par l'épidémie de SIDA.

➤ Habitat

M.tuberculosis est un parasite strict de l'espèce humaine. La transmission interhumaine est habituellement directe et se fait par voie aérienne (inhalation de gouttelettes salivaires contaminées). Les animaux familiers de l'homme peuvent occasionnellement être contaminés.

➤ Caractères bactériologiques

Les bactéries du genre *Mycobacterium* sont des bacilles immobiles, rectilignes ou légèrement incurvés, aérobies strictes, non sporulés non capsulés. Leur paroi est riche en acides gras à longues chaînes carbonées (60 à 90 C). Ces acides gras, appelés acides mycoliques rendent la paroi relativement imperméable au colorant: acido- alcool- résistance. *M.tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux usuels. Il nécessite des milieux très enrichis. Le plus employé est le milieu de Loewenstein-Jensen. Sur ce milieu, il donne des colonies de teinte crème-beige, sèches, à surface rugueuse, en chou-fleur, tout à fait caractéristiques (**Fig. 12**). Fait important, les colonies n'apparaissent qu'en 21 jours en moyenne (temps de division de *M.tuberculosis* = 20 heures).

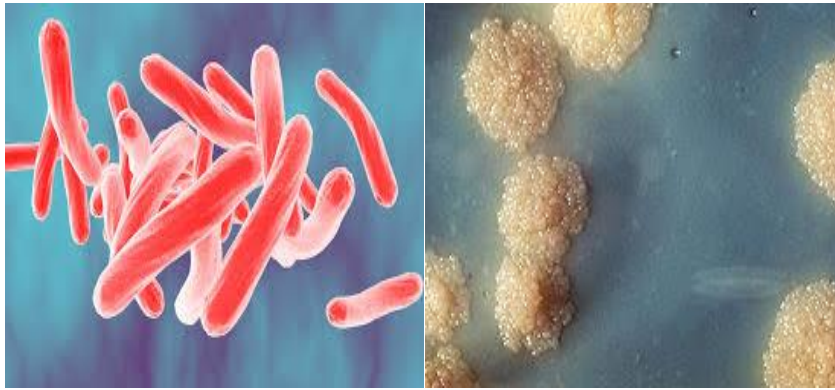


Figure 12: Morphologie et colonies de *Mycobacterium tuberculosis*.

➤ Pouvoir pathogène

La pathogénicité des mycobactéries n'est pas liée à la sécrétion des toxines, enzymes ou à d'autres produits élaborés, elle est fonction de l'immunité antituberculeuse de l'hôte (rôle des macrophages et des lymphocytes T compétents).

La pénétration du bacille dans l'organisme ne conduit à la maladie que dans 10 % des cas en moyenne. Dans 90 % des cas, la multiplication des bacilles s'arrête rapidement. C'est la primo-infection simple qui se traduit par le développement de l'hypersensibilité tuberculinique et de l'immunité de surinfection. Le sujet n'est pas malade, il est simplement infecté.

La maladie tuberculeuse est habituellement provoquée par la multiplication des bacilles de la primo-infection soit immédiatement soit après un temps de latence, les bacilles ayant survécu dans les lésions primaires (réinfection endogène). Plus rarement, elle l'est par de nouveaux bacilles inhalés d'une nouvelle source de contamination (réinfection exogène).

Deux types de localisation peuvent s'observer. Les localisations pulmonaires sont les plus fréquentes (90 % des cas environ) et les plus dangereuses épidémiologiquement car ce sont elles (notamment les cavernes) qui permettent la transmission du bacille. Les localisations extra-pulmonaires sont généralement pauvres en bacilles mais invalidantes (ostéo-arthrite) ou gravissimes (méningite).

Le substratum anatomique des lésions est le même ; c'est le granulome et surtout la caséification.

Chez les sujets infectés par le virus du SIDA (VIH), l'infection par *M.tuberculosis* mène très fréquemment à la tuberculose qui est souvent généralisée et se traduit dans près de 50 % des cas par des localisations multiples, pulmonaires et extrapulmonaires.

I.6.2.2. Mycobactéries atypiques

Il existe dans la nature de nombreuses mycobactéries autres que celles de la tuberculose humaine et dont les caractères cultureux et biochimiques sont tout à fait particuliers. Ces mycobactéries ont été appelées mycobactéries atypiques.

Certaines sont parasites des animaux (*M.avium*, *M.marinum*...), d'autres sont saprophytes (*M.gordonae*, *M.chelonae*, *M.flavescens*...). Elles sont habituellement isolées en tant que contaminant des cultures mais, à des degrés divers, toutes sont susceptibles de se multiplier chez l'homme et de provoquer des maladies simulant la tuberculose que l'on appelle mycobactérioses. Celles-ci apparaissent essentiellement chez les sujets présentant un déficit immunitaire local (lésions cavitaires pulmonaires résiduelles) ou général de nature thérapeutique (greffés) ou pathologique (cancer, SIDA).

Leur diagnostic est purement bactériologique. *M.avium* est la mycobactérie atypique la plus souvent isolée chez les malades atteints de Sida chez lesquels, elle est à l'origine d'infections généralisées septicémiques. L'hémoculture est alors le meilleur moyen de faire le diagnostic. Le traitement des mycobactérioses est très difficile en raison de l'habituelle résistance naturelle des mycobactéries atypiques aux antibiotiques antituberculeux. La clarithromycine, un nouveau macrolide proche de l'érythromycine, est cependant actif sur *M.avium*.

Chapitre II : Méthodes de diagnostic des produits pathologiques.

Les objectifs de la démarche de l'analyse bactériologique sont divers. Le plus fréquemment, il s'agit pour le laboratoire de mettre en évidence la ou les bactéries responsables d'une infection, d'effectuer une identification précise du ou des pathogènes et de tester sa (leurs) sensibilité(s) aux antibiotiques habituellement actifs sur cette ou ces bactérie(s). Le diagnostic bactériologique permet de mieux cerner l'épidémiologie des infections, afin de mieux adapter l'antibioprophylaxie et l'antibiothérapie et ceci par une bonne connaissance des germes. Ce diagnostic consistera à un isolement et à une identification des bactéries au niveau de divers prélèvements, à savoir: les produits pathologiques.

Les moyens de diagnostiquer une infection bactérienne sont de deux ordres, les méthodes de diagnostic direct et les méthodes de diagnostic indirect. Les méthodes directes regroupent les techniques qui permettent de mettre en évidence tout ou partie de la bactérie. Les méthodes mettant en évidence les bactéries dans leur intégralité sont fondées principalement sur les techniques de microscopie en absence de coloration (état frais) ou après coloration et sur les techniques de culture sur milieu artificiel. Les méthodes de diagnostic indirect correspondent aux techniques de détection d'anticorps développés par l'organisme infecté en réponse à l'agression par la bactérie pathogène. Il s'agit dans ce cas des méthodes de sérodiagnostic.

II.1. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

L'examen cyto bactériologique des urines (ECBU) est l'analyse microbiologique la plus fréquemment réalisée en laboratoire. L'analyse permet principalement de rechercher la présence d'une infection urinaire, de déterminer les germes responsables et d'adapter ainsi le traitement antibiotique. La réalisation de l'ECBU comprend les différentes étapes indiquées dans **la figure 13**.

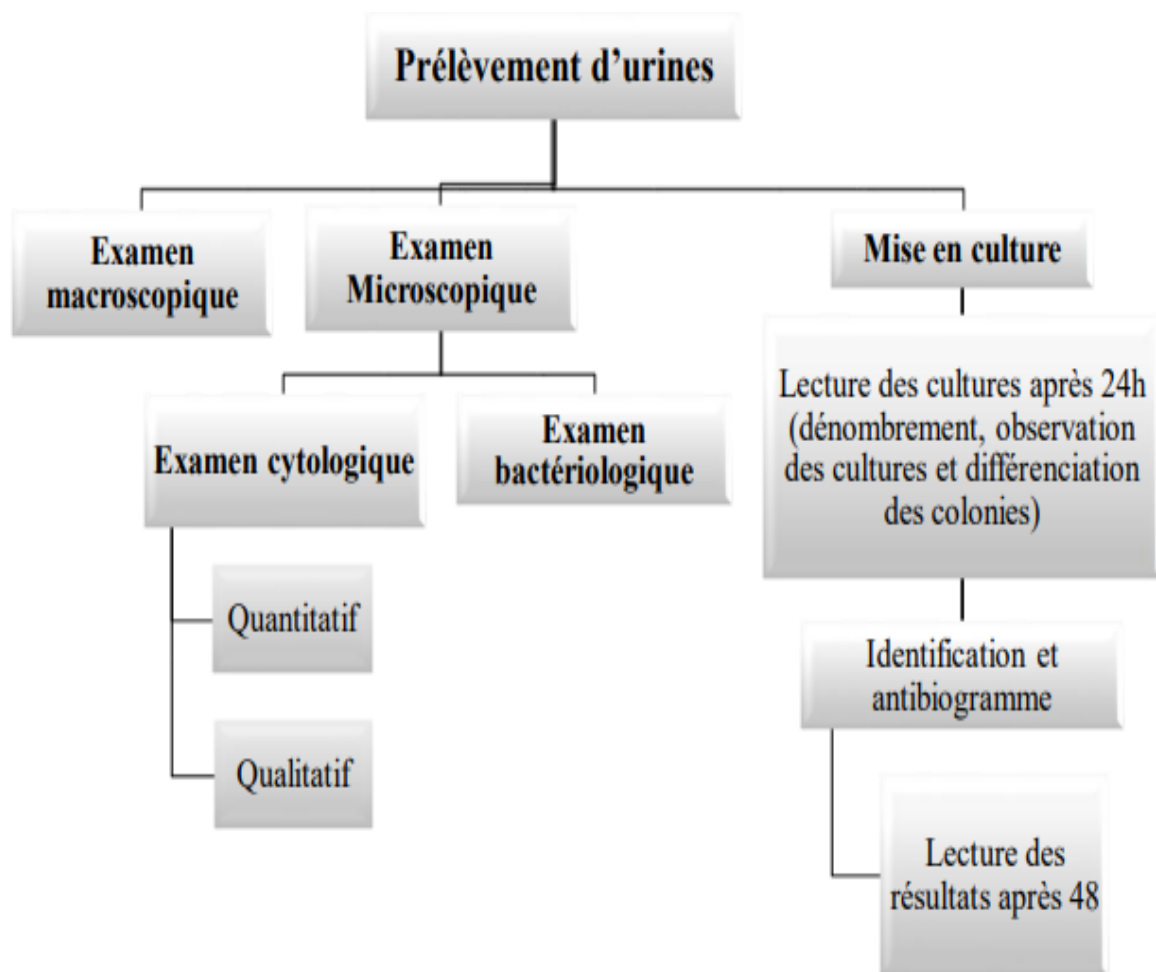


Figure 13: Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU.

II.1.1. Examen macroscopique

Cet examen est effectué immédiatement dès la réception des urines. Il s'agit de visualiser l'apparence des urines à l'œil nu. Il permet de noter s'il y a une modification des caractères physiques de l'urine tels que la couleur, l'odeur, et l'aspect. L'urine normale est de couleur jaune citron et claire, tandis que l'urine infectée est souvent trouble, d'odeur nauséabonde et de couleur plus foncée. Parfois, on note même la présence de sédiments blanchâtres (phosphates), ou rouge brique (acide urique ou urate), hématique ou marron.

II.1.2. Examen microscopique

Il comprend un examen cytologique et un examen bactériologique.

II.1.2.1. Examen cytologique (qualitatif et quantitatif)

➤ Analyse qualitatif (leucocytes, hématies, cylindres, cristaux).

Cette analyse permet d'observer et d'apprécier les cellules présentes dans l'échantillon d'urine, essentiellement les leucocytes, les germes et leurs éventuelles mobilités, les hématies, les cellules épithéliales, les cylindres granuleux et les cristaux. Cet examen est réalisé en déposant une goutte d'urine, à l'aide d'une micropipette entre lame et lamelle, puis la lame est examinée sous microscope optique à l'objectif x 40.

➤ Analyse quantitatif

Cette analyse consiste à quantifier les cellules présentes dans l'urine d'une façon précise, surtout les leucocytes et les hématies. Le dénombrement de ces éléments se fait dans un hématimètre de préférence en verre de Malassez (Cellule de Malassez) permettant la numération dans un volume 1mm^3 (**Fig. 14**). Le résultat est exprimé en hématies et leucocytes par mm^3 , ou plus volontiers par millilitre (unité reconnue internationalement). A l'état physiologique, l'urine contient moins de 10 000 leucocytes et 5 000 hématies par ml (ou 10 leucocytes/ mm^3 et 5 Hématies/ mm^3). En cas d'infection urinaire, le processus inflammatoire se traduit le plus souvent par la présence de :

- > 50.000 leucocytes /ml.
- > 10.000 hématies /ml témoins de microhémorragies

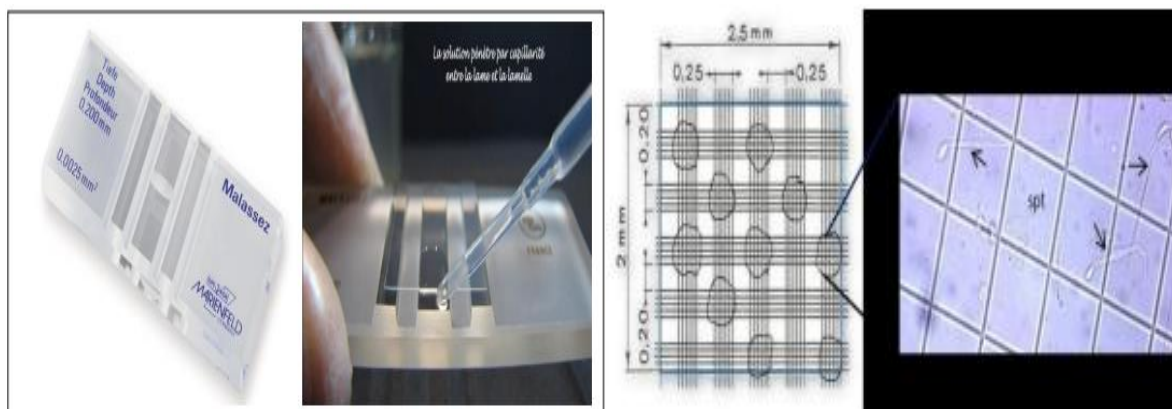


Figure 14: Méthode de comptage sur cellule de Malassez (Vandepitte *et al.*, 1994).

II.1.2.2. Examen bactériologique

Cet examen peut être effectué sans coloration par observation directe à l'état frais, ou bien après la coloration de Gram.

➤ L'état frais

Il permet de détecter la présence des bactéries et de déterminer leur forme, et surtout leur mobilité par l'observation directe d'une gouttelette d'urine entre une lame et lamelle sous microscope à l'objectif x 40.

➤ La coloration de Gram

Cet examen reste indispensable en apportant des informations immédiates au clinicien sur le type de bactéries impliquées permettant d'adapter le traitement. Cette coloration permet d'étudier la morphologie des germes et le Gram différentiel.

Avant la coloration, il faut préparer un frottis : à l'aide de l'anse de platine ou de pipette Pasteur, on prélève une goutte d'urine puis on la pose sur une lame préalablement marquée. Ensuite, on étale, on fait sécher puis on fixe par trois ou quatre passages brefs dans la flamme d'un bec benzène.

Ensuite, une coloration primaire se fait par le violet de gentiane pendant 30 secondes pendant 1 minute. Cette étape est suivie par un rinçage à l'eau du robinet. La deuxième étape s'agit d'un mordantage au lugol pendant 60 secondes suivie d'un autre rinçage à l'eau distillée. La troisième étape est une décoloration à l'alcool (+ acétone) pendant 5 à 10 secondes. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. La décoloration est suivie également d'un rinçage d'eau distillée. La dernière étape de la coloration de Gram est une contre-coloration à la fuchsine pendant 30 secondes à 1 minute. Cette dernière étape est suivie par un lavage à l'eau distillée et ensuite d'un séchage de la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes (**Fig. 15**). L'observation microscopique se fait avec une goutte d'huile à immersion en microscope à l'objectif x 100.

Les bactéries à Gram positif sont colorées en violet, les bactéries à Gram négatif en rose. Cependant elles peuvent avoir l'une de ces formes : Cocci isolé, Cocci en diplocoque, Cocci en tétrade, Cocci en chaînette, Cocci en grappe de raisin, Bacilles, coccobacilles, bacilles fusiformes...

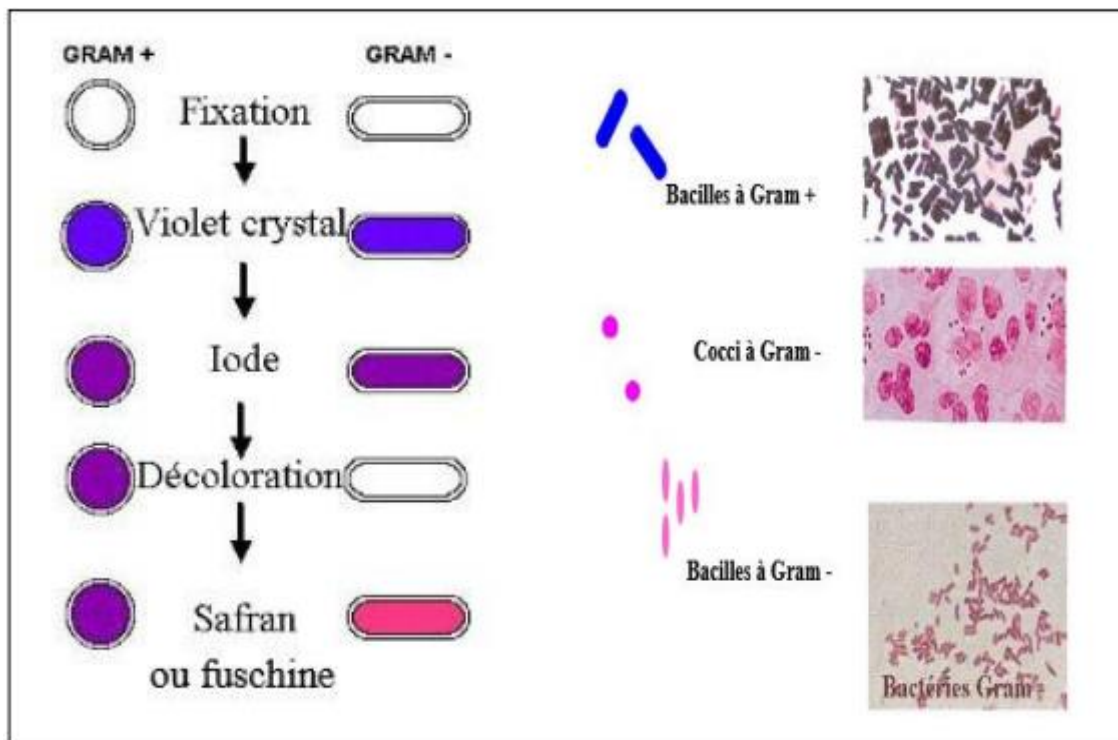


Figure 15: Étapes de la coloration de Gram (Denis, 2016).

II.1.3. Mise en culture

La mise en culture est une étape très importante, elle sert à l'isolement et la numération des bactéries afin de permettre leur identification. L'importance de cette étape réside dans le choix d'un milieu de culture adapté à la pousse des germes les plus fréquemment impliqués dans les infections urinaires, et aussi la connaissance des exigences culturelles des germes en cause.

L'isolement est effectué sur différents milieux. La majorité des bactéries responsables d'infection urinaire ne sont pas exigeantes et sont cultivées sur gélose nutritive (GN). D'autres milieux peuvent être utilisés telle que des milieux sélectifs comme le milieu Chapman, surtout utilisé pour l'isolement des Germes Gram⁺ halophiles : les *Staphylococcus*, les *Micrococcus*, les *Enterococcus*, les *Bacillus* et de rares bactéries à Gram négatif. Ainsi, la gélose au sang frais ou au sang cuit qui est un milieu enrichi pour l'isolement des streptocoques et toutes les bactéries exigeantes et non exigeantes.

En présence de germes à l'examen direct et en l'absence de culture en 24 heures, une recherche de germes anaérobies et exigeants sera réalisée en ensemençant une gélose au sang incubée en anaérobioses durant 48 heures et une gélose Chocolat sous CO₂ durant 48 heures. En présence de levures, un milieu Sabouraud ou un milieu chromogène pour levures sera ensemencé et incubé à 30°C.

➤ Modes d'ensemencement

L'ensemencement doit reprendre au double but de dénombrer les bactéries et d'isoler la ou les bactéries en causes en obtenant des colonies bien distinctes les unes des autres. Plusieurs méthodes d'ensemencement peuvent être utilisées :

- **Méthode originale de Kass** : se fait par des dilutions en séries de 10 en 10. Un volume connu de chaque dilution est étalé sur boîte de Pétri.
- **Méthode simplifiée de Véron** : l'urine est diluée à 1/100 en eau distillée stérile. On étale 0,1ml de cette dilution. Une colonie correspond à 1000 bactéries par millilitre.
- **Méthode de lame immergée** : Consiste à prolonger dans l'urine fraîchement émise une lame portant des milieux nutritifs, généralement Mac Conkey et CLED. Cette méthode permet l'ensemencement des urines au lit du malade. Toutefois, elle présente le désavantage de ne pas obtenir des colonies isolées pour des concentrations de 10³ bactéries par mL et donc nécessite souvent le réensemencement en isolement des urines en cas d'infection.

- Méthode de l'anse calibrée

C'est la méthode la plus utilisée. Cette méthode consiste à déposer un volume de 10µl d'échantillon d'urine parfaitement homogénéisée sur un rayon de la boîte à l'aide d'une anse calibrée stérile, puis étaler le dépôt en stries perpendiculaires au rayon sur toute la surface de la gélose (**Fig. 16**). Cette méthode simple, sans dilution préalable, permet une numération de 10³ à 10⁶ UFC/mL tout en permettant l'obtention des colonies isolées.

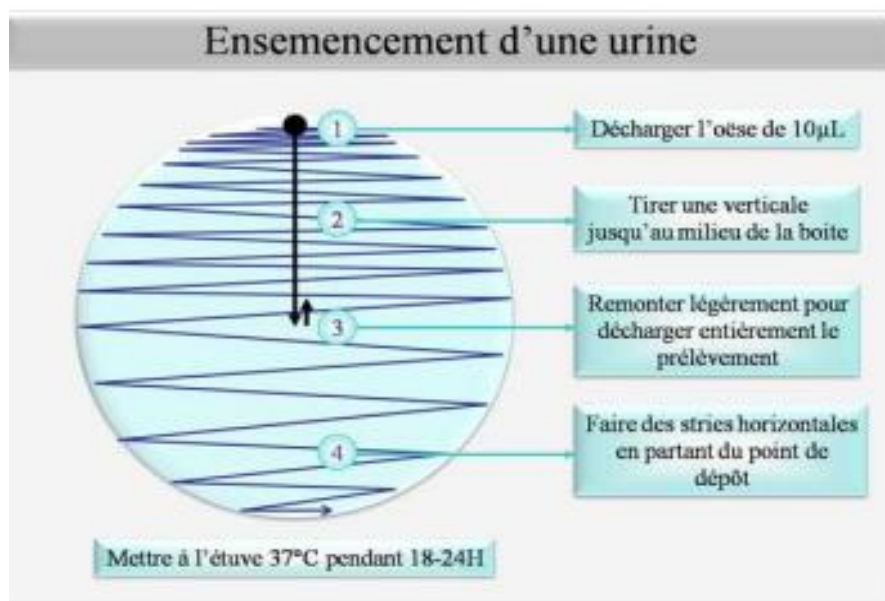


Figure 16: Ensemencement des urines par méthode de l'anse calibrée (Denis, 2016).

➤ Incubation des urocultures

La majorité des bactéries des infections urinaires poussent en 18 à 24 heures et en dehors de contexte particulier, il n'y a pas lieu de prolonger l'incubation. Dans certains cas, des bactéries exigeantes, déficientes, ou culture négative, malgré la présence de bactéries à l'examen direct, il faut savoir modifier le milieu de culture (gélose au sang ou chocolat), et l'atmosphère (anaérobiose et CO₂), et donc prolonger l'incubation.

II.1.4. Numération bactérienne

Après le temps d'incubation, chaque bactérie viable donne naissance à une colonie visible à l'œil nu. Le nombre de bactéries/ ml d'urine ou bactériurie est alors calculé à partir du nombre de colonies obtenus et le volume d'urine ensemencé : Unité Formant Colonie (UFC) par ml d'urine analysée. Dans la pratique de routine, la numération des colonies repose sur une comparaison de la densité des colonies présentes sur la partie supérieure de la gélose à celle du schéma fourni avec l'abaque de dénombrement (**Fig. 17**).

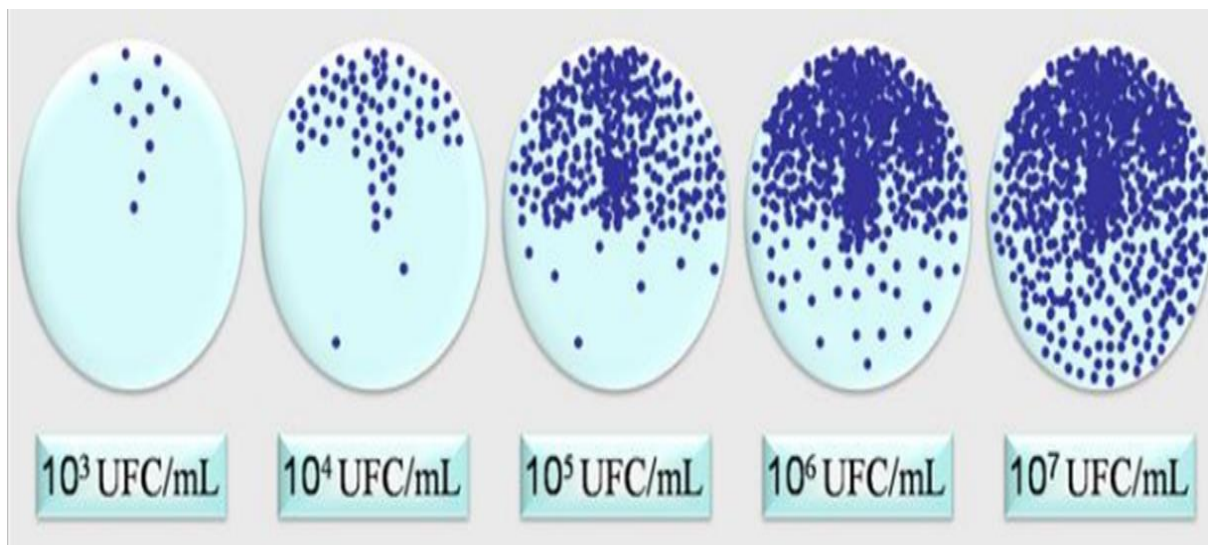


Figure 17: Abaque de dénombrement (Denis, 2016).

I.1.5. Interprétation des résultats

En fonction des résultats de l'examen cytologique, du compte de germes et du nombre de colonies différentes obtenues après culture, plusieurs situations sont possibles :

- **Absence de colonies sur les milieux de culture + présence de germes à l'examen cytologique** : Ré-incuber pendant 24h à 35°C (possibilité de germes à croissance tardive ou infection décapitée par une antibiothérapie récente). S'il y'aura absence de colonies à 48 h, la culture est dite négative.
- **Absence de colonies + présence d'assez nombreux, très nombreux leucocytes** : L'éventualité d'une antibiothérapie préalable, refaire l'ECBU 3 à 5 jours après l'arrêt de traitement, recherche du germe exigeant comme les mycobactéries.
- **Une sorte de colonies (un seul type de germe), $N < 10^3$ UFC/ml** : Absence de culture bactérienne significative, peut être une infection débutante, ou contamination possible.
- **Une sorte de colonie, $N \geq 10^3$ UFC/ml** : Culture bactérienne positive. Procéder à l'identification de germe et réaliser l'antibiogramme.
- **Deux sortes de colonies, $N \geq 10^5$ UFC/ml** : Poursuivre le protocole avec deux cas à envisager : Si l'une des colonies est majoritaire, l'autre germe constitue une contamination du prélèvement. Donc, il faut identifier et réaliser l'antibiogramme du germe responsable des colonies majoritaires. S'il y'a une équivalence, on identifie les deux sortes, et on réalise l'antibiogramme de chaque germe.

- **Plus de deux sortes de colonies** : Flore bactérienne polymorphe et donc la culture est contaminée, refaire le prélèvement.

Ce tableau 3 représente les principales espèces responsables d'infections urinaires.

Tableau 3: Espèces responsables d'infections urinaires (proportion en %) (**Denis *et al.*, 2007**).

Espèces bactériennes	Infections communautaires Réseau AFORCOP-BIO Rapport Onerba 2002 (n = 417)	Infections nosocomiales Groupe d'étude ESCMID Europe 2000 (n = 421)	Infections S.A.U. d'un hôpital pédiatrique 2005 (n = 221)
Gram négatif			
<i>Escherichia coli</i>	68	38	79
<i>Proteus mirabilis</i>	8	7	9
<i>Klebsiella spp.</i>	5	9	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	6	0,5
Autres entérobactéries	3	7	1
<i>Acinetobacter spp.</i>		2	
Gram positif			
<i>Enterococcus spp.</i>	5	17	3
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3		0,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	2	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3		1
Autres	1	2	1
Levures		10	

II.2. Examen bactériologique des selles (La coproculture)

La coproculture est recommandée en cas de diarrhée persistante, d'intoxication alimentaire, de suspicion de maladie intestinale. Généralement, la coproculture est envisagée en cas de diarrhées infectieuses aiguës.

De nombreuses bactéries sont incriminées dans l'étiologie des diarrhées infectieuses aiguës. Certaines d'entre elles ont un pouvoir entéropathogène bien établi (*Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Yersinia spp.*, *Campylobacter spp.*...etc).

D'autres bactéries sont devenues pathogènes après acquisition de facteurs de virulence. C'est le cas en particulier d'*Escherichia coli*, est à la fois une bactérie commensale (espèce représentant 80% de la flore intestinale aérobie de l'homme), et une bactérie entéropathogène par l'expression de facteurs de virulence acquis et/ou constitutifs.

Donc, le but essentiel de la coproculture est de rechercher parmi une flore commensale très abondante, des bactéries habituellement absentes et réputées pour leur pouvoir pathogène. On peut également, en plus de la recherche de ces bactéries, mettre en évidence des toxines ou des gènes codant pour les toxines dans les selles (*Clostridium difficile*, *E.coli* entéro-hémorragique (EHEC)).

II.2.1. Examen direct

Il comporte deux étapes : un examen macroscopique et un examen microscopique.

II.2.1.1. Examen macroscopique

Un examen macroscopique consiste à noter la consistance des selles (moulée, selle molle ou en bouse, selle liquide, selle semi liquide, selle dure), et leur couleur : brune, jaune ou ocre, verte, décolorée, rouge ou noir. Ainsi la présence de glaires, de pus ou de sang. Donc, la selle peut être:

- **Normale:** moulée, molle ou liquide.
- **Diarrhéique** ou afécale avec glaires sanglantes (dysentériques) ou, incolore en eau de riz (cholérique).

II.2.1.2. Examen microscopique

-Observation des selles à l'état frais

Pour les selles liquides, on travaillera directement sur la selle. Pour les selles moulées, Elle se fait par étalement de la matière fécale avec une goutte d'eau physiologique sur une lame propre puis recouvrir d'une lamelle, on fait l'observation au microscope optique (x40), et on note la présence des leucocytes, des hématies, et des bactéries très mobiles. Il permet également d'apprécier un déséquilibre de la flore. A l'état normal, on trouve environ 4/5 de bacilles et 1/5 de cocci et de rares levures. Un processus invasif est caractérisé par la présence d'hématies et de leucocytes.

- Observation des selles après coloration

➤ Préparation de frottis

- **En cas de selle solide** : On fait une dilution au 1/10 dans de l'eau distillée, bien agiter au vortex, étaler sur lame et colorer.
- **En cas de selle liquide** : étaler directement une goutte sur lame.

➤ Coloration au bleu de méthylène

Cet examen permet d'apprécier la flore, de voir les leucocytes (Recherche des polynucléaires) et les levures.

➤ Coloration de Gram

Cet examen est très important, permet d'évaluer le pourcentage de bactéries Gram⁺ et Gram⁻ (voir si la flore est équilibrée entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif : environ 60 % de bactéries Gram⁻, et 40 % de bactéries Gram⁺, dans une selle normale) (**Fig. 18**), de rechercher les aspects caractéristiques (Entérobactérie, *Vibrio*). Il permet aussi de rechercher les leucocytes qui en quantité supérieure à 5 par champ, sont le signe d'une diarrhée à germe invasif, de même que la présence d'hématies.

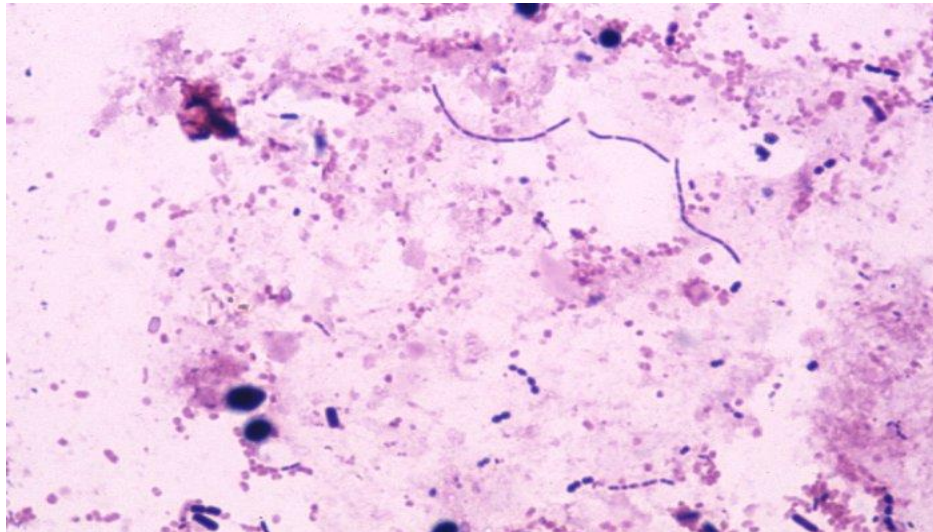


Figure 18: Flore équilibrée : majorité de bactéries à Gram négatif (Freney et Renaud, 2007).

II.2.2. Milieux utilisés et ensemencement

La recherche de certains germes responsables d'infections digestives peut être grandement facilitée par l'ensemencement dans des milieux sélectifs d'isolement et d'enrichissement, pour isoler, puis identifier l'agent infectieux.

La recherche de *Salmonelle* et *Shigelle* doit être systématique. Différents milieux sélectifs sont commercialisés: Gélose *Salmonelle-Shigelle*, Gélose Hektoen...etc. En plus, des milieux chromogènes ont été mis au point pour permettre une différenciation plus aisée des *Salmonelle* (SM ID2, OSCM II, etc). L'incubation de ces milieux se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Pour la recherche de *Salmonella*, on ensemence un milieu d'enrichissement au sélénite, milieu de Leifson, ou au tétrathionate, milieu de Muller-Kauffman, avec 0,5ml de selle. Il est important de les repiquer après 3 à 6 heures maximums d'incubation à 37°C, afin d'éviter la multiplication des bactéries commensales mal inhibées au-delà de ce délai. Il n'existe pas de milieu d'enrichissement pour *Shigella*.

II.2.3. Méthode

- Une dilution de la selle au 1/10 dans de l'eau distillée.

- **Ensemencement systématiquement**

- Une goutte de la dilution en quadrant sur un milieu pour recherche de *Salmonelle-Shigelle* (Hektoen, SS, milieu chromogène).

- Une goutte de la dilution en bouillon Mueller Kauffman (pour l'enrichissement en *Salmonelle*).

- En cas de selles sanglantes, on fait l'ensemencement des milieux suivants :

- Un milieu Mac Conkey Sorbitol pour la recherche d'*E.coli* 0157.
- Un milieu sélectif pour *Yersinia* ;
- Un milieu sélectif pour rechercher *Clostridium difficile* ;
- Un milieu Sabouraud : Si présence de levures à l'examen direct ;
- Pour cultiver *Campylobacter spp.*, on dispose de divers milieux sélectifs spécialement conçus (par exemple : milieu de Mueller-Hinton + 5 % de sang de mouton).
- En cas de suspicion de choléra : ensemencer un milieu spécial alcalin TCBS (milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose) pour la recherche de vibron.

La démarche diagnostique de la coproculture est résumée dans la figure suivante (Fig.19) :

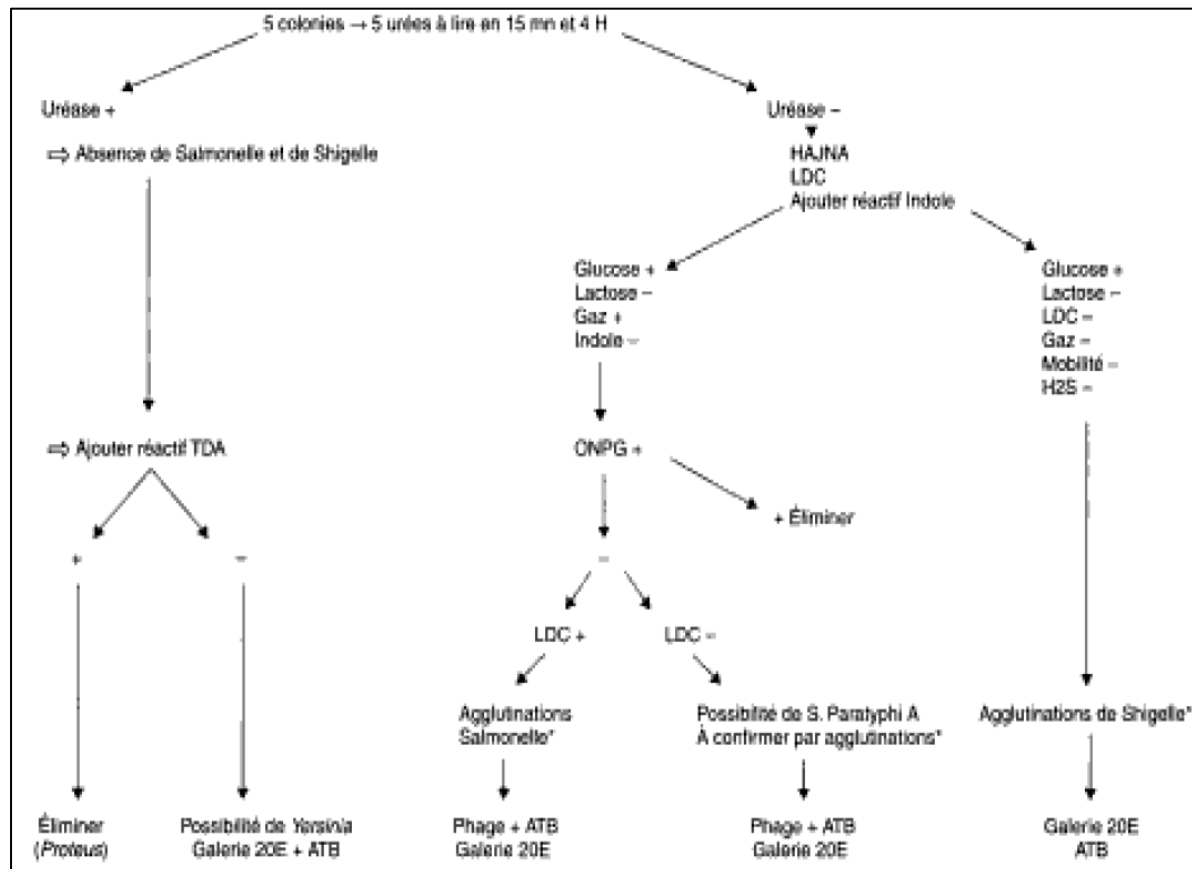


Figure 19: La démarche diagnostique de la coproculture (Denis *et al.*, 2007).

II.2.3. Interprétation des résultats

➤ Résultat normaux d'une coproculture

Les résultats sont interprétés comme normaux lorsque la flore saprophyte ne présente pas de danger pour l'organisme. Une flore normale renferme plus de 400 espèces de bactéries différentes, on la considère normale quand elle est constituée de germes non pathogènes et en absence de globules blancs (leucocytes) ou de globules rouges (hématies).

➤ **Résultat anormaux d'une coproculture**

Les infections digestives et diarrhées aiguës sont dues principalement à la *Salmonella* sp et des autres germes qui sont à une concentration très faible dans les selles : *Shigella*, *Campylobacter*, *Vibrio cholerae*, certains colibacilles : *Yersinia Enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* et *Clostridium*, et certains souches d'*Escherichia coli* (**Fig. 20**).

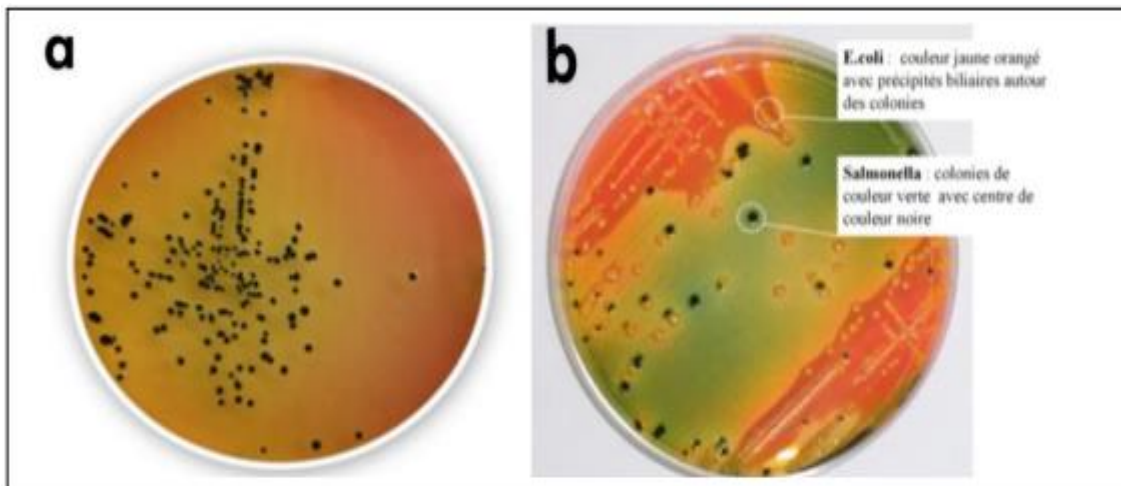


Figure 20: a) Milieu Salmonelle-Shigelle b) Les germes *E. coli*, *Salmonella* sur milieu Hektoen (**Freney et Renaud, 2007**).

II.3. Examen bactériologique du sang (Hémoculture)

Le sang est normalement stérile. Lorsque des agents infectieux passent dans le sang, de façon répétée, ils peuvent provoquer une infection grave. On parle de bactériémie, voire septicémie en cas de passages importants et répétés dans le sang des agents pathogènes.

L'hémoculture est un examen médical utilisé pour détecter la présence de bactéries ou de micro-organismes pathogènes dans le sang. C'est un outil diagnostique essentiel pour identifier les infections bactériennes systémiques, souvent appelées bactériémies ou septicémies. Les étapes d'hémoculture sont les suivantes :

II.3.1. Prélèvement et milieux d'hémoculture

Le milieu pour hémoculture est classiquement un bouillon conditionné en flacon sous pression réduite, et que l'on inocule avec le sang du patient à travers un opercule en caoutchouc. On trouve dans le commerce divers modèles de flacons d'hémoculture, les uns pour incubation conventionnelle, les autres spécifiques pour incubateurs automatisés. En incubation classique, diverses options sont proposées :

- La présentation Biphase (phase solide - phase liquide) retrouvée dans le modèle CASTANEDA (BIORAD) ou HEMOLINE (BIOMERIEUX).
- La présentation monophasique proposée par les mêmes fournisseurs et destinée à la détection des bactéries anaérobies strictes : il s'agit d'un bouillon de culture SCHAEGLER conditionné sous vide.
- L'hémoculture SIGNAL (OXOID) ; équipé d'un indicateur de croissance.
- Le bouillon pour hémoculture de l'institut Pasteur d'Algérie (**Fig. 21**).



Figure 21: Les flacons d'hémocultures retrouvés sur le marché (**Denis *et al.*, 2007**).

- A)** Gamme de flacons pour Bactecs ; **B)** Gamme de flacons pour BacT/ALERT (bioMérieux) ; **C)** Flacon manuel Signal (Oxoid) ; **D)** Flacon manuel Hémoline (bioMérieux) ; **E)** Système isolator (Oxoid).

Classiquement, tout bouillon pour hémoculture est un bouillon nutritif enrichi de facteurs de croissance : Peptones de Caséine et de Gélatine, Extraits de levure, NAD et Hémine, Vitamines B6, K3, Cystéine. L'atmosphère à l'intérieur du flacon est faite de CO₂. L'anticoagulant est le SPS (Sodium polyanéthole sulfonate).

➤ **Nombre de flacons et volume de sang à prélever**

Les prélèvements doivent être répétés afin de majorer les chances d'isolement de l'agent causal. Classiquement, on admet 2 à 3 hémocultures (c'est à dire 4 à 6 flacons : 2 à 3 paires aérobies et anaérobies sur une période de 24 heures), généralement suffisante pour isoler le germe responsable de la bactériémie. Un grand nombre de prélèvements exposant à une augmentation du risque de contamination, il est généralement conseillé de ne pas dépasser quatre hémocultures par 24 heures.

La densité bactérienne au cours des bactériémies est généralement faible chez l'adulte, de 1 à 10 UFC/ml. Le recueil d'un volume suffisant de sang est donc nécessaire pour augmenter les chances d'isolement, mais un ratio sang/bouillon doit être respecté car une dilution au 1/10, voir 1/5, permet d'inactiver l'effet bactéricide du sérum et de diluer les antibiotiques éventuels.

Chez l'adulte, un volume de 10 ml constitue donc un minimum et un doublement du volume (20ml) augmente de 30% la positivité des prélèvements. Chez l'enfant et le nourrisson, la densité bactérienne étant plus élevés (souvent supérieur à 1000 UFC/ml), un volume de 1 à 2 ml est suffisant.

➤ **L'acheminement au laboratoire**

Les flacons d'hémoculture doivent être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire d'analyse, de préférence enveloppés dans du coton afin de les maintenir à une température proche de celle de l'organisme. Chaque hémoculture doit être étiquetée correctement et accompagnée d'une fiche sur laquelle figurera : nom, prénom et date de naissance du patient ; le service d'origine ; la date, l'heure et le mode de prélèvement (veineux direct ou sur cathéter ou autre dispositif) ainsi que la température du patient au moment où il est effectué, sans oublier une éventuelle antibiothérapie et la nature de celle-ci.

II.3.2. Incubation et suivi des flacons d'hémoculture

Une incubation à 37°C pendant 7 jours est recommandée pour les systèmes manuels. La lecture est visuelle et doit être réalisée deux fois par jours au cours de 48 premières heures puis seulement une fois par jour pour les 5 jours suivant.

L'observateur va rechercher la présence d'un trouble du milieu provoqué par la croissance bactérienne (bacilles à Gram négatif aérobies, *Staphylococcus spp.* et *Bactéroïdes spp.*), d'un voile en surface, d'une hémolyse (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp.*, et *Bacillus spp.*), d'un coagulum (*Staphylococcus aureus*), de colonies au fond du flacon (*Streptococcus spp.*, *Nocardia spp.*), de production de gaz (bactéries aéro-anaérobies facultatifs et anaérobies strictes) ou la présence de colonies sur la gélose.

Certains genres bactériens comme *Brucella*, *Haemophilus*, *Neisseria* et *Campylobacter* troublent peu ou pas le bouillon de culture, donc l'usage d'un flacon biphasique s'avérant alors utile. En cas de flacon biphasique (CASTANEDA), l'apparition de colonies sur la paroi gélosée pose le diagnostic d'hémoculture positive (**Tab. 4**).

Par contre, pour les systèmes automatisés, une incubation de 5 jours suffit. Au-delà de ce délai, les bactéries détectées sont généralement des contaminants qui étaient en très faible quantité.

Cependant, quel que soit le système utilisé, la prolongation de l'incubation est parfois nécessaire, c'est notamment le cas pour des microorganismes du groupe HACEK (*Haemophilus aphrophilus/paraphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens* et le genre *kengella*) et *Brucella spp.*

Tableau 4: Différents aspects du bouillon d'hémoculture en cas de positivité (Archambaud et Clavé, 2011).

Aspect macroscopique	Bactérie en cause
Turbidité	<i>Bacilles à Gram – aérobies</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Bacteroides sp.</i>
Hémolyse	<i>Streptococcus sp.</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Clostridium sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>
Production de gaz	<i>Bactéries aero-anaérobies ou anaérobies strictes</i>
Coagulum	<i>Staphylococcus aureus</i>
Colonies au fond du flacon	<i>Streptococcus sp.</i> <i>Nocardia sp.</i>

II.3.3. Traitement des flacons positifs

Devant toute suspicion de positivité (système manuel ou automatique), un examen microscopique et une mise en culture sont réalisés sur les flacons. Les flacons d'hémoculture ne sont jamais ouverts ; l'isolement et l'identification des agents infectieux sont réalisés à partir d'un échantillon prélevé par ponction à la seringue, de chaque flacon. Toutes les manipulations se font sous hotte bactériologique à flux laminaire. Le port d'un masque et de gants est indispensable vu le risque de transmission au manipulateur, de certains germes dangereux (exemple *Brucella*).

➤ Examen microscopique

Sous un poste de sécurité microbiologique, le bouillon est prélevé de façon aseptique après avoir désinfecté l'opercule du flacon à l'aide d'une seringue et du dispositif fourni par le fabricant. L'examen du bouillon est effectué en deux étapes :

- L'état frais afin d'observer la morphologie et la mobilité des bactéries.
- La coloration de Gram pour déterminer plus précisément la morphologie des bactéries (cocci ou bacille) et leur affinité tinctoriale (Gram⁺ ou Gram⁻). Pour certains germes, on peut avoir recours à d'autres colorations bleue de méthylène, acridine orange...etc). Tout résultat positif de l'examen direct doit être communiqué rapidement au clinicien, notamment si plusieurs flacons sont positifs, si l'examen direct est évocateur de *Clostridium* ou *Neisseria*, ou si les patients sont à risque (immunodéprimés, aplasiques, tableaux de choc, etc).

➤ Ensemencement (repiquage)

Les repiquages de flacons suspects sont effectués en fonctions de l'examen direct. Les cultures étant généralement monomicrobiennes, des milieux gélosés non sélectifs seront utilisés, gélose Colombia avec 5% du sang frais incubées en aérobiose pendant 48h et en anaérobiose pendant 5 jours, gélose au sang cuit enrichis (polyvitex) placés sous CO₂ pendant 48h lorsqu'un *Haemophilus spp.* ou *Neisseria spp.* sont évoqués.

Si à l'examen direct un mélange de bactéries est suspecté, des milieux sélectifs pourront être utilisés, la gélose ANC (Acide nalidixique- colistine) pour isolé sélectivement les bactéries à Gram⁺ et la gélose CLED (Cystine Lactose Electrolyte Déficient = milieu enrichi en cystine et lactose et pauvre en ions) pour les bacilles Gram⁻. Le choix de l'atmosphère (aérobiose, CO₂ ou anaérobiose) pour l'incubation de ces milieux à 37°C dépend du diagnostic présomptif (Tab. 5).

Les flacons sont conservés à température ambiante pour un éventuel nouveau repiquage ultérieur si les cultures sont restées négatives.

Tableau 5: Milieux utilisés pour les repiquages d'hémocultures (Archambaud et Clavé, 2011).

Agents recherchés	Repiquage sur milieux de culture suivants	T° et durée d'incubation
<i>Brucella sp</i>	Columbia au sang frais Columbia au sang cuit (autres : TSA+5%sérum de bœuf ou Brucella Agar)	37°C 48h -72h S Sous 5% CO2
<i>Campylobacter sp</i>	Columbia au sang frais Columbia au sang cuit (autres : milieu de Skirrow ou Butzler ou Karmali)	37°C 3- 4jrs 5% CO2 Microaérophilie
<i>Legionella sp</i>	BCYE	37°C 15jrs 5%CO2
HACCEK	Columbia au sang cuit Columbia au sang cuit +PVX	37°C 4jrs S/CO2
<i>Abiotrophia sp</i> <i>Granulicatella sp</i>	Columbia + sang frais+strie de Staph (Satellitisme) Autres : Columbia +sang frais+ 0,001% Pyridoxal Enrichissement sur TODD HEWITT + PVX	37°C 3jrs S/CO2
<i>Bartonella quintana</i> Ou <i>Bartonella henselae</i>	Prélèvement de sang sur tube hépariné Utilisation du système de centrifugation-lyse Culot de centrifugation mis en culture sur Columbia +sang frais de mouton ou de lapin Mise en culture sur lignée cellulaire (cellules endothéliales)	37°C 6 semaines 5% CO2 37°C 10 jrs /CO2
Leptospires	Prélèvement de sang sur tube hépariné Milieu au Tween + Albumine en tubes	30°C à l'obscurité 2 mois
Mycobactéries	Hémoculture en Bact/alert- flacon d'hémoc. spécifique pour Mycobactéries	
Levures	Sabouraud	30°C 1 mois
Mycoplasmes Ureaplasma	Culture en bouillon PPLO (Pleuropneumoniae like organisms) ou en gélose A3	37°C Microaérophilie 3 jours

➤ Identification et antibiogramme

Sur des hémocultures monomicrobienne, suivant le type bactérien observé à la coloration de Gram, une identification sera parallèlement lancée. Il est possible à partir d'un culot lavé, de réaliser directement un antibiogramme.

Dans le cas d'un mélange de bactéries suspecté à l'examen direct, les colonies des repiquages seront pratiqués avec quelques test biochimiques, permettant d'orienter vers une identification complète (galerie, biotypage/sérogroupe...etc), et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées.

II.3.4. Interprétation des résultats

➤ **Résultats normaux (négatifs)**

- Les différentes hémocultures sont stériles, aucun germe n'est retrouvé.
- Une hémoculture négative ne veut pas forcément dire qu'il n'existe pas d'infection, mais cela indique qu'à l'instant précis où le prélèvement a été pratiqué il n'y avait pas de germes dans le sang.
- Ou alors que le germe responsable de l'infection a des exigences de cultures très particulières et qu'il ne pousse pas dans les milieux de cultures usuels. Le résultat est alors faussement négatif.

➤ **Résultats anormaux (positifs)**

L'interprétation des résultats des hémocultures positives est simple quand il y'a un isolement d'une bactérie pathogène spécifique (BPS) : *Salmonella typhi*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, par exemple. L'isolement de telles bactéries impose le diagnostic (**Tab. 6**).

Tableau 6: Répartition des principales espèces bactériennes isolées d'hémocultures d'après diverses études (Denis *et al.*, 2007).

Micro-organismes	1990 ¹ (%)	1997 ² (%)	1997-1998 ³ (%)	2002 ⁴ (%)	2005 ⁵ (%)
Gram positifs	44,8	40,4	52,9	54,3	61
SCN	9,2	5,1	17,8		16,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,9	14,7	15,1		8,6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3,6	5,1	5,9		2,3
<i>Enterococcus spp.</i>	6,9	7,7	4,6		4,8
Autres Gram positifs	6,2	7,7	9,5		29
Gram négatifs	42,5	43,5	41,2	38,8	32,1
<i>Escherichia coli</i>	15	23,1	14,5		13,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,9	4,5	5,3		2,2
Autres entérobactéries	11	3,2	3,9		6,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,6	5,1	5,3		3,9
Autres Gram négatifs	4	7,6	12,2		6,2
Anaérobies	3,9	1,3	1,3	1,2	4,2
Autres	8,8	14,8	4,6	5,7	2,7
Total des bactériémies	944	156	304	1 165	1 536

SCN : Staphylocoques à coagulase négative

¹MP Melvin *et al.* The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 1997 ; 24 : 584-602.

²ML PANKER *et al.* Aetiology and prognosis of bacteremia in Italy. *Epidemiol. Infect.* 2004 ; 132 : 647-654.

³E. BOUZA *et al.* Report of ESGNI-001 and ESGNI-002 studies. Bloodstream infections in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 1999 ; 5 : 251-2512.

⁴AS HADZYANNIS *et al.* Blood culture results during the period 1995-2002 in a Greek tertiary care hospital. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004 ; 10 : 657-678.

⁵CHU Dupuytren de Limoges, chiffres pour l'année 2005.

II.4. Examen bactériologique des sécrétions broncho pulmonaires

L'examen cyto bactériologique des sécrétions broncho-pulmonaires est un examen médical qui a comme objectifs :

- Recherche de bactéries responsables d'infections broncho-pulmonaires (Pneumopathies);
- Détermination de traitement adapté ;
- Surveillance d'efficacité de traitement en cours.

Cet examen a une sensibilité et spécificité variables. Notamment à cause d'une contamination fréquente du prélèvement par la salive et la flore oropharyngée.

Le choix du prélèvement est fonction de l'importance clinique, du terrain du patients (immunodépression) et du résultat attendu (atypiques, mycobactéries). La stratégie diagnostique d'une infection broncho-pulmonaire va dépendre de sa gravité clinique. Pour des cas simples, chez des patients ayant un état général conservé, l'analyse bactériologique des expectorations convenablement recueillies et lavées peut fournir des résultats acceptables. En revanche, si le processus infectieux présente un caractère vital, la réalisation d'un prélèvement fiable : Aspiration endotrachéale (AET), mini liquide broncho-alvéole (mini-LBA), Brossage bronchique distale protégé ou cathéter distale protégé sera nécessaire, il en est de même si une étiologie à bactérie anaérobie est suspectée.

Donc, en dehors des expectorations, différents prélèvements pulmonaires peuvent être effectués :

- Fibro-aspiration ;
- Aspiration endotrachéale (AET) ;
- Liquide broncho-alvéole (LBA) ;
- mini liquide broncho-alvéole (mini-LBA) ;
- Cathéter distale protégé ;
- Bronchite transtracheale ;
- Brossage bronchique distale protégé

Les différentes étapes de traitement des prélèvements au laboratoire sont résumées dans la figure suivante (**Fig. 22**) :

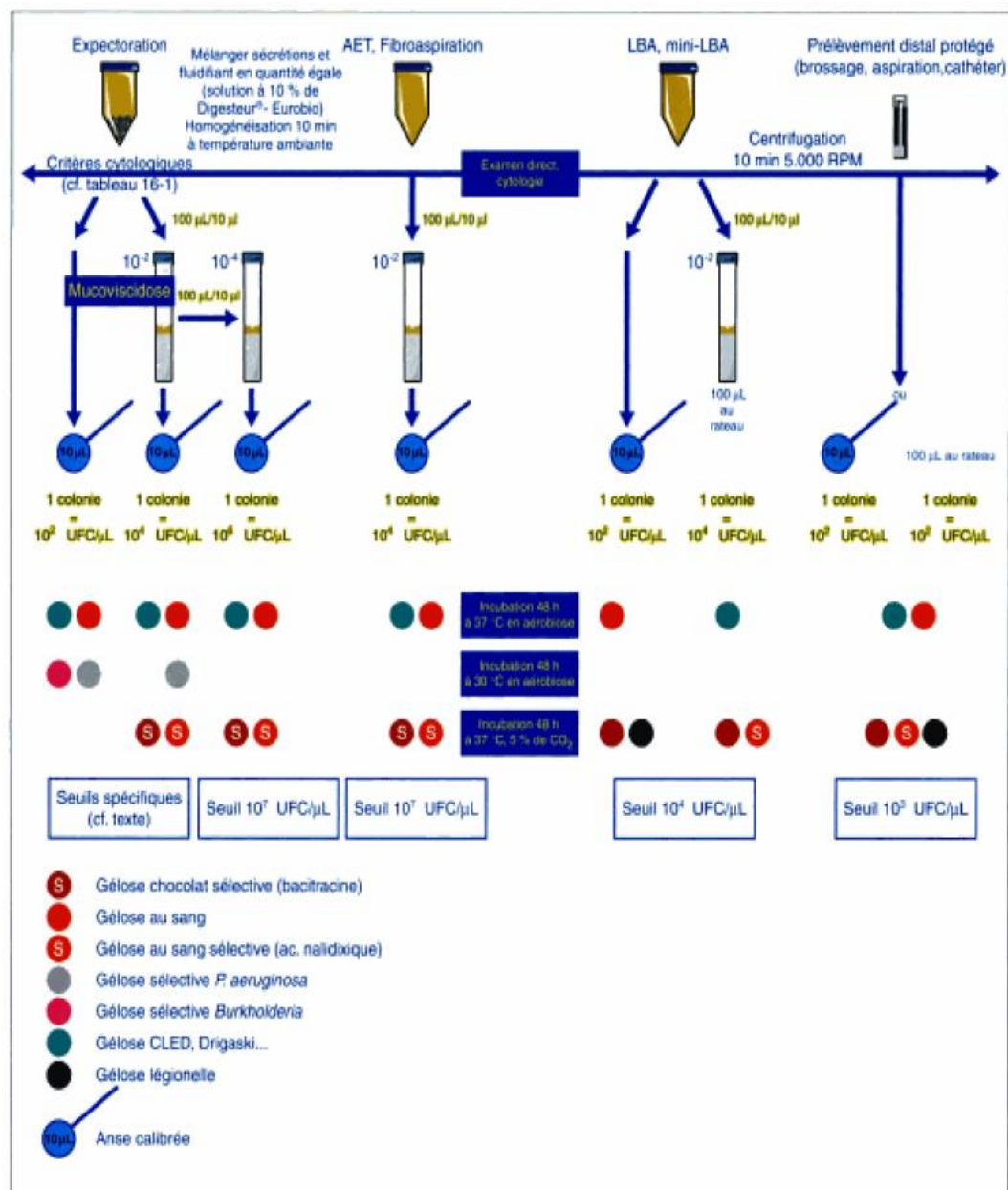


Figure 22: Représentation synoptique de l'étude bactériologique des différents prélèvements bronchiques (Denis *et al.*, 2007).

II.4.1. Examen macroscopique

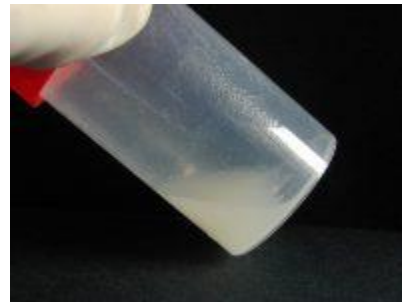
Cet examen macroscopique concerne seulement les expectorations (crachat) et les aspirations bronchiques. On décrira si l'aspect est (Fig. 23):

- Muqueux : donnant un aspect en gelée avec de rares parcelles purulentes ;
- Mucopurulent : muqueux avec des parcelles de pus plus nombreuses ;
- Salivaire ;
- Fluide et purulent ;
- Visqueux et adhérent.

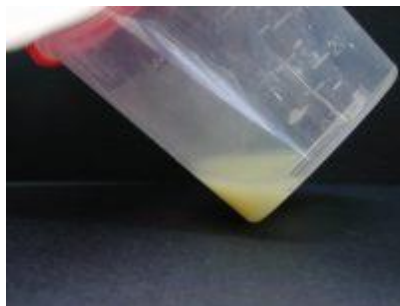
Préciser aussi la couleur éventuellement : rouille, verdâtre, hémoptoïque (sang). De même, la perception d'une odeur fétide témoigne de la présence des bactéries anaérobies.



Muqueux



Salivaire



Fluide et purulent



Visqueux et adhérent

Figure 23: Différents aspects macroscopiques de crachat (Freney et Renaud, 2007).

II.4.2. Examen microscopique

L'examen microscopique présente deux objectifs :

- évaluer la qualité du prélèvement en s'assurant d'une part qu'il n'a pas été trop contaminé lors du passage par les voies aériennes supérieures et d'autre part qu'il provient bien d'un foyer infectieux (présence de granulocytes neutrophiles).
- observer la flore bactérienne de l'expectoration afin d'orienter rapidement le diagnostic et choisir les méthodes pour le confirmer.

Tout d'abord, c'est dans les parcelles purulentes que la probabilité de trouver l'agent infectieux est la plus grande. Il s'agit donc de prélever une parcelle purulente, de l'écraser entre 2 lames et de l'étaler sur 3 lames pour une coloration : au bleu de méthylène ou MGG, coloration de Gram, coloration de Ziehl-Neelsen ou à l'auramine.

➤ **Coloration au bleu de méthylène ou MGG**

Consiste à apprécier les cellules présentes : Cellules épithéliales, polynucléaires, lymphocytes, autre cellules, et confirmer la qualité du prélèvement ou le rejeter (critères de Bertlett) (Tab. 7).

Tableau 7: Confirmation de la qualité du prélèvement (Archambaud et Clavé, 2011).

Nombre de cellules par champ : objectif x100			Interprétation selon les critères de Bertlett*
	Cellules épithéliales	Leucocytes	
1	>25	<25	Contamination salivaire – prélèvement à rejeter
2	>25	>25	Réaction inflammatoire – contamination salivaire
3	10-25	>25	Prélèvement acceptable
4	<10	>25	Prélèvement adapté

➤ **Coloration de Gram** : Consiste à apprécier la flore bactérienne.

➤ **Coloration de Ziehl-Neelsen**

La coloration de Ziehl-Neelsen est une méthode de coloration permettant l'identification des mycobactéries au microscope (Fig. 24). Elle fait partie des colorations qui mettent en évidence l'acido-alcool-résistance, caractère fondamental des mycobactéries, en prenant en compte la difficulté de pénétration des colorants. Les étapes sont les suivantes :

- **Préparation de frotti**

- Etaler l'expectoration régulièrement sur la zone centrale de la lame grâce à un mouvement continu de rotation ; on recommande un étalement d'environ 20 mm sur 10mm.
- Placer les lames sur le séchoir avec la surface d'étalement vers le haut et laisser sécher à l'air durant environ 30 minutes.
- Procéder à la fixation des lames séchées en les tenant avec une pince et en les passant sur la flamme 5 fois pendant environ 4 secondes, la face d'étalement tournée vers le haut.

➤ **Etapas de la coloration**

- ➊ Placer les lames fixées sur le support de coloration selon leur numéro d'ordre, la face d'étalement vers le haut. Les lames devraient être séparées par un intervalle d'1 cm et ne jamais se toucher l'une l'autre.
- ➋ Recouvrir les lames l'une après l'autre au moyen de la solution de travail de fuchsine phéniquée de Ziehl à 0,3 % filtrée.
- ➌ En plaçant une bande de papier absorbant comme un papier filtre ou même du papier journal, on retiendra la solution de coloration et on évitera le dépôt de cristaux de fuchsine sur le frottis.
- ➍ Chauffer les lames par le dessous au moyen de la flamme d'un bec Bunsen, d'une lampe à alcool ou d'un tampon d'ouate imbibé d'alcool, jusqu'à émission de vapeur. Il ne faut jamais aller jusqu'à l'ébullition de la solution de colorant. Ne pas laisser le colorant se dessécher.
- ➎ Laisser les lames recouvertes d'une solution chaude et fumante de fuchsine phéniquée pendant 5 minutes en repassant la flamme si c'est nécessaire.
- ➏ Rincer les lames délicatement à l'eau pour écarter l'excès de fuchsine phéniquée.
- ➐ Evacuer l'excès d'eau de rinçage des lames. Les frottis d'expectoration ont une couleur rouge.

✓ **Décoloration**

- ➊ Recouvrir les lames au moyen d'acide sulfurique à 25 % ou d'une solution d'alcool-acide et laisser agir pendant 3 minutes, après cela la coloration rouge devrait avoir presque disparu. En cas de nécessité, répéter cette séquence durant deux minutes supplémentaires.
- ➋ Laver délicatement l'acide sulfurique ou l'alcool-acide et l'excès de colorant à l'eau. Evacuer des lames l'excès d'eau de rinçage.

✓ Contre-coloration

- ❶ Recouvrir les lames l'une après l'autre avec la solution de contre-coloration (bleu de méthylène à 0,3 %) et laisser agir pendant 1 minute.
- ❷ Rincer les lames à l'eau individuellement
- ❸ Evacuer l'eau des lames et les laisser sécher à l'air.

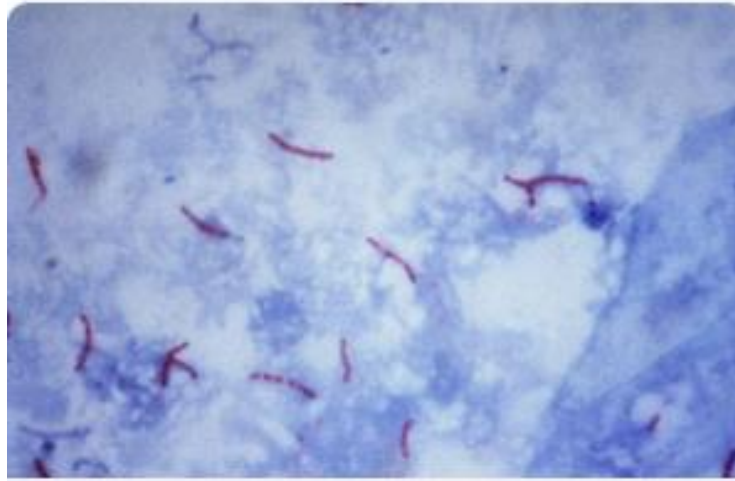


Figure 24: *Mycobacterium tuberculosis* après la coloration de Ziehl-Neelsen (Freney et Renaud, 2007).

➤ La coloration à l'auramine

La coloration à l'auramine est une coloration en fluorescence, pour la mise en évidence des mycobactéries. (Les BAAR ou Bacilles Acido-Alcool Résistants). Ils sont colorés en jaune-vert fluorescent sur fond rouge. C'est une alternative à la coloration de Ziehl-Neelsen pour la mise en évidence des mycobactéries. Elle permet d'augmenter la sensibilité de l'examen direct et permet un screening plus rapide. Un résultat positif à la coloration par l'auramine doit être confirmé par une coloration de Ziehl-Neelsen (qui peut être réalisé sur la même lame).

Voici la technique selon la méthode de Degommier :

1. Recouvrir la lame d'alcool méthylique : 2 minutes
2. Rincer à l'eau distillée
3. Recouvrir la lame d'auramine : 15 minutes
4. Rincer à l'eau distillée
5. Recouvrir la lame d'alcool acide : 5 minutes
6. Rincer à l'eau distillée
7. Recouvrir la lame de rouge de thiazine : 1 minute 30
8. Rincer à l'eau distillée
9. Recouvrir la lame d'alcool acide : 3 minutes
10. Rincer à l'eau distillée
11. Laisser sécher à l'air libre ou dans une étuve.

La lecture se fait avec un microscope à fluorescence, de préférence dans une pièce sombre. Les BAAR apparaissent en vert/jaune brillant sur fond rouge orangé (**Fig. 25**). Ceci permet une exploration rapide du frottis (3 à 5 minutes); la lecture peut se faire à faible grossissement: x25 pour un dépistage rapide et x40 pour confirmation. On doit observer au minimum 30 champs pour déclarer une lame négative (où il n'y a pas de BAAR).

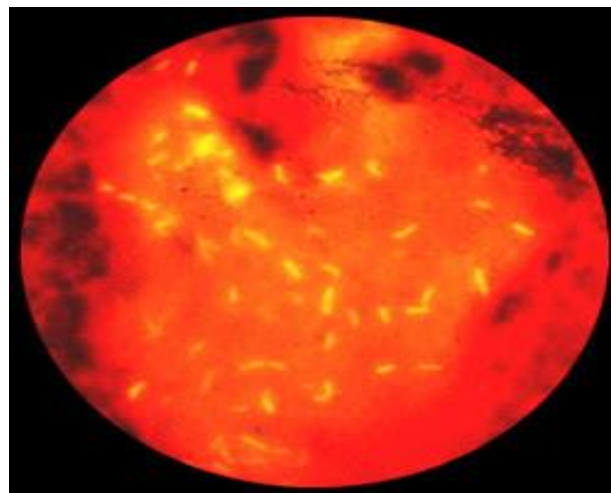


Figure 25: *Mycobacterium tuberculosis* après coloration à l'auramine (**Frenay et Renaud, 2007**).

II.4.3. Mise en culture

Choisir un floccule de matériel purulent (ou de matériel le plus proche de la purulence) et l'ensemencer dans les diverses boîtes de culture. Une série de milieux de culture courants est proposée ci-après (**Tab. 8**):

- Gélose au sang, avec un disque d'optochine disposé au milieu des stries d'ensemencement secondaire ;
- Gélose chocolat (ou un milieu sélectif de gélose au sang pour *H. influenzae*) ;
- Milieu de Mac Conkey.

Les boîtes de gélose au sang et de gélose chocolat sont incubées à 35-36°C dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone (par ex. dans une cloche bougie) et la boîte de milieu de Mac Conkey est incubée à l'air libre.

Si des grappes de cocci à Gram positif sont présentes dans le frottis coloré, il est proposé d'y ajouter une boîte de milieu de Chapman. La présence de structures levuriformes à Gram positif dans le frottis coloré peut être une indication pour l'ensemencement d'un tube de gélose Sabouraud glucosée (qui doit être incubé pendant au moins 3 jours à 35-37°C).

Les cultures sur milieu de Chapman et de Sabouraud ne se font pas en routine sur tous les prélèvements d'expectorations.

On inspectera les cultures après les avoir laissé incuber jusqu'au lendemain (18 heures) et une nouvelle incubation de 24 heures supplémentaires peut être indiquée lorsque la croissance observée est moins importante que l'on ne prévoyait d'après les résultats de l'examen microscopique, ou lorsqu'il n'y a que de toutes petites colonies.

Tableau 8: Milieux et conditions de culture (Archambaud et Clavé, 2011).

Milieux	Justification de l'usage	Conditions d'incubation
Ensemencement systématique		
Gélose chocolat enrichie (gélose chocolat + polyvitex)	Gélose non sélective qui permet la culture de la plupart des bactéries aérobies rencontrées dans les crachats.	37° C Atmosphère humide enrichie en CO ₂
Gélose au sang frais + ANC (acide nalidixique + colistine)	Les deux antibiotiques inhibent la plupart des bactéries Gram -, ce milieu permettra donc un meilleur isolement des streptocoques et des staphylocoques,	37° C Atmosphère enrichie en CO ₂
Gélose chocolat enrichie + bacitracine (50 UI/mL) avec ou sans vancomycine	Milieu sélectif des <i>Haemophilus</i>	37° C Atmosphère humide enrichie en CO ₂
Gélose Drigalski ou Mac Conkey	Elle permet une meilleure orientation des bacilles à Gram négatifs non exigeants	37° C Atmosphère ordinaire
Ensemencement non systématique		
Gélose BCYE	Gélose non sélective pour la culture des <i>Legionella</i> ensemencement non systématique	35° C Atmosphère ordinaire
Gélose BCYE sélective (GVPC)	Gélose sélective utile à la culture des <i>Legionella</i> , intéressante aussi pour les <i>Nocardia</i> ensemencement non systématique	35° C Atmosphère ordinaire
Gélose Sabouraud + chloramphénicol ± gentamicine	Gélose sélective des champignons son ensemencement se justifie si des levures ou des moisissures sont observées à l'examen microscopique (à ensemencer directement avec le crachat fluidifié).	37° C Atmosphère ordinaire
Gélose Schaedler + sang de mouton + néomycine et vancomycine	Gélose sélective des bacilles à Gram négatifs anaérobie stricte. son ensemencement dépend du contexte (expectoration fétide)	37° C Anaérobiose

Pour la recherche de *Mycobacterium tuberculosis*, on utilise le milieu de de Lowenstein-Jensen. L'incubation des tubes de Lowenstein se fait à 35-37°C pendant 2 à 3 jours en position horizontale, les bouchons étant dévissés d'un demi-tour. Les tubes de culture seront ensuite conservés à 37°C pendant 6 semaines, puis inspectés une fois par semaine à la recherche d'une prolifération.

Au cours de ces inspections, toute croissance d'une colonie de bactéries à la surface des tubes devra être notée. On préparera avec soin un frottis, que l'on colorera par la méthode de Ziehl-Neelsen. Si les germes ne sont pas des bacilles acido-résistants, il faudra alors considérer la culture comme contaminée.

Les souches typiquement humaines de *Mycobacterium tuberculosis* sont rugueuses, résistantes et crème-beige, et s'observent parfois au bout de 2 à 3 semaines d'incubation (mais rarement plus tôt).

II.4.4. Interprétation des résultats

De nombreux microorganismes responsables d'infections broncho-pulmonaires proviennent des flores commensales des voies aériennes supérieures et peuvent coloniser les voies aériennes inférieures sans provoquer une infection. Pour cette raison, il est nécessaire de distinguer une colonisation d'une infection. C'est pourquoi, il faut connaître la concentration des différents germes dans le prélèvement. En effet, on considère qu'un germe est responsable d'une infection broncho-pulmonaire si sa concentration dans le prélèvement dépasse un certain seuil (**Tab. 9**). Notons que les seuils retenus dépendent du mode de recueil des sécrétions.

Tableau 9: Protocoles pour un dénombrement des germes et seuils définissant la pathogénicité selon les modalités du prélèvement (Archambaud et Clavé, 2011).

	Dilution finale obtenue	Volume de l'inoculum	Seuils définissant la pathogénicité
Expectoration	1/10000	100 µL	≥ 100 colonies /boite soit 10^7 UFC/mL
	1/1000	10 µL	
Aspiration endotrachéale	1/100	100 µL	≥ 100 colonies /boite soit 10^5 UFC/mL
Aspiration bronchique	1/10	10 µL	
Aspiration bronchique protégée	1/2*	100 µL	≥ 50 colonies /boite soit 10^3 UFC/mL
Lavage bronchoalvéolaire	1/10*	100 µL	≥ 100 colonies /boite soit 10^4 UFC/mL
Mini- LBA	Pas de dilution*	100 µL	≥ 100 colonies /boite soit 10^3 UFC/mL
Brossage bronchique protégé	Pas de dilution* / extrémité de la brosse dans 1 mL d'eau physiologique	100 µL	≥ 100 colonies /boite soit 10^3 UFC/mL

II.5. Examen cyto bactériologique et biochimique du liquide céphalo- rachidien (LCR)

L'examen du liquide céphalorachidien (LCR) est une urgence dans laquelle le rôle du laboratoire est fondamental: il permet très rapidement de confirmer un diagnostic de méningite, de reconnaître une cause bactérienne et d'orienter un traitement antibiotique. En effet, la méningite bactérienne est une maladie grave, et c'est seulement un traitement précoce et efficace qui peut conduire à une guérison sans séquelles.

L'analyse biologique du liquide céphalorachidien comporte trois étapes:

- L'examen direct avec l'étude macroscopique et microscopique pour la recherche des cellules et bactéries ;
- L'examen biochimique : dosage des protéines, du glucose et des chlorures.
- La mise en culture suivie le lendemain de l'identification et de l'antibiogramme du micro-organisme isolé ;

II.5.1. Examen macroscopique du LCR

Après homogénéisation par une légère agitation, on note le degré de limpidité du liquide et sa coloration.

- **Un liquide clair** (appelé souvent eau de roche) correspond soit à un liquide normal, soit à un liquide pathologique. Les liquides clairs peuvent se rencontrer dans les méningites virales, tuberculeuses, mycosiques ou à leptospires.
- **Un liquide trouble** ou franchement purulent (eau de riz) correspond à une réaction leucocytaire marquée, traduisant généralement une méningite bactérienne.
- En cas de **piqûre d'un vaisseau** au cours de la ponction, on note une coloration rouge du liquide, plus marquée dans le premier tube que dans le dernier, avec souvent formation d'un petit caillot.
- **Les liquides sanglants ou jaunes** (appelés xanthochromiques) dans les trois tubes évoquent plutôt une hémorragie méningée, sans toutefois éliminer systématiquement une méningite.

II.5.2. Examen microscopique

Les examens microscopiques sont des examens d'urgence. Ils permettent l'orientation du diagnostic d'une méningite. Ils doivent être communiqués au clinicien dès leur réalisation. Il comporte :

II.5.2.1. Examen cytologique (qualitatif et quantitatif)

Les examens cytologiques sont importants, ils permettent d'orienter vers la méningite purulente ou lymphocytaire et permettent également de suivre l'évolution de l'infection.

➤ **Examen quantitatif (Numération des cellules)**

La numération cellulaire est un examen d'urgence. Elle permet l'orientation du diagnostic. C'est une étape très importante dans l'ECB du LCR. Après homogénéisation du liquide céphalorachidien, la numération des leucocytes et des hématies est effectuée en cellule de Malassez. Cet examen consiste à compter le nombre de leucocytes sur plusieurs champs ou bandes en fonction de la richesse de la cellule. Pour faciliter l'examen, on peut ajouter une trace de colorant (solution de bleu de méthylène) à quelques gouttes du liquide céphalorachidien.

En cas de liquide hémorragique, il peut être difficile de différencier les hématies et les éléments. Compter alors l'ensemble, puis dans un petit tube ajouter à 9 gouttes de liquide céphalorachidien, 1 goutte d'acide acétique au 1/10. Attendre quelques minutes que les hématies soient lysées, puis compter à nouveau l'ensemble des éléments visibles. Ajouter 10% à cette valeur pour tenir compte de la goutte d'acide acétique. La quantité de leucocytes sera obtenue par soustraction des deux valeurs des dénombrements.

En dehors de la période néonatale, le LCR normal a une cellularité comprise entre 3 à 5 éléments/mm³. En fonction de l'âge et au-delà de 10 éléments/mm³ (**Tab. 10**), la formule leucocytaire est établie après cytocentrifugation et coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG).

Tableau 10: Protocoles pour un dénombrement des germes et seuils définissant la pathogénicité selon les modalités du prélèvement (**Denis et al., 2007**).

Âge	Aspect du LCR	Cellules par mm ³	
		Moyenne	Écart
Prématuré	Jaune ou rosé	9	0-29
Nouveau-né à terme 1 ^{re} semaine de vie	incolore ou xanthochromique	8	0-22
0 – 4 semaines	incolore et limpide	11	0-50
4 – 8 semaines	incolore et limpide	7	0-50
> 6 semaines	incolore et limpide	2	–

➤ **Examen qualitatif des éléments**

Il doit être fait dès que le nombre de cellules dépasse dix par mm³. Il consiste à centrifuger le liquide céphalorachidien à 5 000 tours/mn pendant cinq à dix minutes dans un tube conique stérile. Puis, décanter le surnageant (dans un récipient contenant de l'eau de Javel). Maintenir le tube incliné à 45°, la partie effilée dirigée vers le haut. Introduire une effilure de pipette Pasteur au contact du culot: celui-ci monte spontanément par capillarité. Ensuite, le répartir sur deux lames à raison d'une goutte par lame. Étaler de façon à ne pas disperser les éléments. Dans le cas d'un culot important, étaler en couche mince, dans le cas contraire, concentrer l'échantillon sur une petite surface. Ensuite, laisser sécher et colorer la première lame avec du bleu de méthylène, ou du colorant de MGG.

- **La coloration au bleu de méthylène**

La coloration au bleu de méthylène permet de faire la différence entre les polynucléaires et les lymphocytes. Elle permet également de voir l'aspect morphologique des bactéries (bacilles, Cocci, diplocoques, chainettes...etc.)

- **La coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG)**

Cette coloration permet d'établir l'équilibre leucocytaire dans le LCR (Exemple : 80% de PNA, 20% de lymphocytes) (**Fig. 26**).

La coloration de May-Grünwald-Giemsa (MGG) est la coloration de référence pour l'analyse des cellules en hématologie cellulaire. Elle colore les éléments acidophiles ainsi que les granulations neutrophiles des leucocytes et des lymphocytes. La technique de coloration consiste à :

- Couvrir le frottis avec 1 mL de May-Grünwald en solution pendant 3 minutes.
- Ajouter avec précautions 1 mL de Tampon en solution pour hématologie et réaliser le mélange sans débordement. Laisser le mélange en contact 1 minute.
- Rejeter l'excès de colorant par égouttage ou rinçage rapide.
- Couvrir le frottis avec le colorant de Giemsa R diluée au 1/30 dans un Tampon en solution pour hématologie pendant 10 minutes.
- Rinçage rapide à l'eau courante ou dans un Tampon en solution pour hématologie pendant 10 secondes.

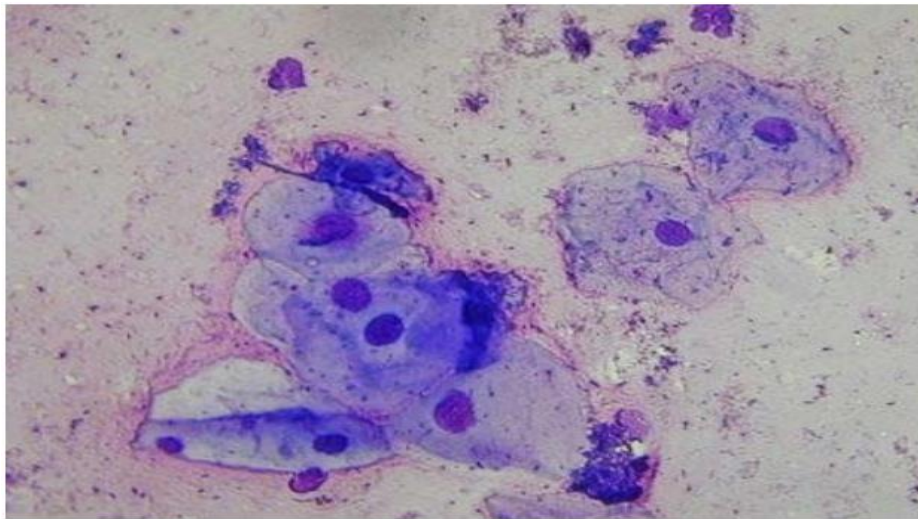


Figure 26: Observation après coloration MGG (Denis *et al.*, 2007).

Enfin, établir une formule en pourcentages respectifs des polynucléaires, des lymphocytes et des monocytes (compter au moins 100 éléments).

Les liquides clairs contiennent en général une majorité de lymphocytes, alors que les liquides troubles sont le plus souvent à prédominance de polynucléaires. On trouve:

- une majorité de polynucléaires dans les méningites bactériennes ;
- une majorité de lymphocytes dans les méningites virales, tuberculeuses, ou mycosiques;
- parfois des formules mixtes, en particulier dans les formes de début et au cours des méningites à *Listeria*.

II.5.2.2. Examen bactériologique

L'examen bactériologique est basé sur la recherche des bactéries dans le LCR en utilisant les colorations suivantes :

- Coloration de Gram

Comme l'agent de la méningite bactérienne s'observe fréquemment dans un frottis coloré au Gram, cet examen est extrêmement important. Il consiste à sécher le frottis à l'air, le fixer à la chaleur douce et le colorer par la méthode de Gram. L'examiner à l'objectif X100 à immersion pendant au moins 10 minutes, ou jusqu'à ce qu'on trouve des bactéries.

- Coloration de Ziehl neelsen

La coloration de Ziehl-neelsen permet la recherche des bacilles acido-alcool-résistants (BAAR). Bien que sa sensibilité ne soit pas très élevée, l'examen d'une préparation de culot ou de pellicule de fibrine colorée par un colorant acido-résistant est indiqué lorsque le médecin soupçonne une méningite tuberculeuse. Examiner soigneusement la préparation pendant au moins 15 minutes. Si le résultat est négatif, répéter l'examen microscopique sur un prélèvement frais le lendemain.

II.5.3. Examen biochimique

En plus de l'ECB du LCR, des examens de biochimie sont également effectués à partir du LCR. Cet examen permet d'identifier essentiellement les mesures de la protéinorachie et Glycorachie :

- **Protéinorachie** : les valeurs normales se situent entre 0,10 et 0,45 g/L : ces valeurs étant cependant plus élevées en période néonatale jusqu'aux 2 ans. Une protéinorachie très élevée oriente vers une méningite bactérienne ; Elle varie de 1 à 5 g/L lors de méningites purulentes. L'hyperprotéinorachie peut persister 2 à 3 semaines après le début de la méningite.
- **Glycorachie** doit toujours être exprimée en fonction de la glycémie. Une Glycorachie normale est égale à 2/3 de la glycémie (valeur normale = 0,6 g/L). Une hypoglycorachie oriente vers une méningite bactérienne. Cependant, une hypoglycorachie est parfois observées lors de méningite ourlienne, de méningite à entérovirus, de méningo-encéphalites herpétiques ou lors d'hémorragies méningées.
- Albuminorachie : Taux normal < à 0,40 g/l.
- Chlorurorachie : Taux normal : 110-120 meq/L. En cas de de suspicion de méningite tuberculeuse, le dosage des chlorures montre une hypochlorurachie.

II.5.4. Mise en culture

Quelque soit le nombre d'éléments, le LCR estensemencé sur milieux de cultures adaptés aux bactéries recherchées. En effet, au tout début d'une méningite bactérienne, il est possible de constater une cellularité normale. Dans rares cas et selon les données cliniques, la recherche des germes anaérobies est envisagée. Les cultures sont observées quotidiennement, avec une réponse provisoire à 48 heures, et conservées en incubation 5 jours. Selon la cytologie ou contexte clinique, différentes possibilités peuvent être envisagées :

➤ **Cytologie normale**

Le LCR est ensemencé en quadrant sur gélose chocolat, incubée 5 jours à 37°C sous 5% de CO₂ et sur gélose Columbia au sang incubée en anaérobiose.

➤ **Cytologie anormale et absence de germes à l'examen direct**

La mise en culture du LCR sur gélose chocolat, incubée 5 jours à 37°C sous 5% de CO₂ et sur gélose Columbia au sang incubée en anaérobiose, et complétée par l'ensemencement d'un bouillon cœur-cerveille. Ces deux milieux sont incubés 5 jours à 37°C.

➤ **Présence de germes à l'examen direct**

La morphologie, le groupement et la coloration de Gram permettent d'orienter le diagnostic. L'examen direct par coloration de Gram est généralement positif à partir 10⁴- 10⁵ UFC/ml. En conséquence, en plus de l'ensemencement classique, une culture quantitative doit être réalisée par ensemencement au râteau de 100 µl de LCR pur, et de dilutions au 1/10 et 1/100 du LCR, sur gélose chocolat incubée à 37°C sous de CO₂ (**Fig. 27**).



Figure 27: Numération de germes dans le LCR après ensemencement au râteau (méningite à *E.coli* 10⁵ UFC/ml) (Denis *et al.*, 2007).

Quand il s'agit d'un liquide purulent ou trouble, la culture est réalisée avant les examens microscopiques pour éviter les contaminations.

Quand il s'agit d'un liquide hématique, généralement la cytologie est impraticable et la culture est obligatoire. L'incubation des milieux de culture se fait pendant 18h à 24h à 37°C dans une atmosphère enrichie en 5 à 10% de CO₂.

Quand il s'agit de méningite tuberculeuse, les milieux sont incubés à 37°C pendant 28 jours. La première lecture s'effectue après une semaine (éliminer les tubes contaminés).

II.5.5. Lecture et interprétation

On trouvera dans le tableau 11, un résumé des observations diagnostiques importantes pour les différentes formes de méningite.

Tableau 11: Tableau de lecture des résultats du LCR (Archambaud et Clavé, 2011).

Paramètres	LCR normal	LCR purulent	LCR lymphocytaire
Aspect	Claire	Trouble	Clair
Eléments/mm ³	< 5	>10	>10
Type d'éléments		50% Polynucléaires	50% Lymphocytes
Protéïnorachie	<0,4 g/l	>0,4 g/l	>0,4 g/l
Orientation	Normal	Méningite bactérienne	Méningite virale Méningite à <i>Listeria</i> Méningite tuberculeuse

Chapitre III : Épidémiologie.

Avant, l'épidémiologie ne s'intéressait qu'aux maladies infectieuses et épidémiques, avec l'apparition d'études sur les maladies non transmissibles, l'épidémiologie est considérée comme une discipline à part entière de la médecine. La méthodologie épidémiologique s'est même élargie à d'autres domaines même en dehors de la médecine.

III.1. Historique

Hippocrate (460 ans avant JC): rôle de l'environnement dans les phénomènes morbides.

John Graunt, 1662: dénombre les décès d'enfants et leurs causes par semaine à Londres (1^{ère} table de mortalité).

James Lind XVIII siècle: essai thérapeutique (agrumes et scorbut). Ainsi se dégage la principale caractéristique de la démarche épidémiologique

William Farr 1807-1883 Grande Bretagne : en 1838 il montra l'importance des analyses longitudinales (« cohortes ») pour évaluer les risques (notion de risque).

1839 : collecte systématique des données de morbidité : fondateur de la surveillance épidémiologique. Semmelweis Ignas

Phillipe 1847: causes et explication des fièvres puerpérales.

Jhon Snow: 1854, met en évidence l'agent incriminé dans le choléra.

Avant 1950 : l'épidémiologie s'est consacrée quasi essentiellement aux maladies infectieuses (épidémies et endémies; scorbut, choléra...).

À partir de 1940 : dépasse le cadre de l'infectiologie (appui scientifique des biostatistiques).

Les 2 premières études réalisées par Doll et Hill en Angleterre : Comment expliquer «l'épidémie» de cancers broncho-pulmonaires chez les hommes d'âge moyen ?

Depuis 1930 (recueil systématique des cas dans les hôpitaux de Londres...)

Augmentation progressive mais persistante des cancers broncho pulmonaires.

III.2. Définition

L'origine grecque du mot est simple :

EPI ; veut dire « sur » ;

DEMOS ; veut dire «peuple – population » ;

LOGOS ; veut dire «Etude ou connaissance » ; Par conséquent : l'Epidémiologie est l'étude de ce qui arrive aux individus ».

Il existe plusieurs définitions de l'épidémiologie, parmi lesquelles :

➤ **Celle de J.H ABRAMSON**

« L'épidémiologie est une science qui a pour objet d'étudier la survenue, la répartition et les déterminants des états de santé et des maladies dans la population et les groupes humains ». L'épidémiologie a une approche essentiellement collective de l'étude de la santé et des maladies. Elle apparaît ainsi comme une des sciences qui sous-tendent l'action de santé publique. Les groupes humains étudiés peuvent répondre à des critères géographiques, d'âge, d'appartenance à une catégorie socio-professionnelle, de lieu de travail, etc...

➤ **Définition de l'organisation mondiale de la santé (OMS)**

L'épidémiologie est l'étude de la distribution des maladies dans les populations humaines, ainsi que les influences qui déterminent cette distribution.

Elle s'intéresse aux maladies animales ou humaines. Elle a connu ces dernières années un important développement et est considéré comme un outil majeur de connaissance et de maîtrise des risques sanitaires.

III.3. Vocabulaire en épidémiologie

-Maladie infectieuse : C'est une maladie provoquée par la pénétration et la multiplication d'un agent pathogène vivant (bactérie, virus) dans l'organisme. Elle se manifeste par des troubles ou des signes cliniques ou des symptômes.

-Maladie contagieuse : C'est la transmission d'une maladie contagieuse d'un animal malade à un animal sain (2 types de transmission : directe, indirecte).

-Epizootie: Il s'agit d'une maladie animale infectieuse et contagieuse qui frappe simultanément un grand nombre d'animaux de même espèce ou d'espèces différentes. Elle s'étend à tout un pays ou un continent et se répandant très rapidement (Fièvre aphteuse, fièvre catarrhale ou Blue Tongue).

-Enzootie : Il s'agit d'une maladie animale infectieuse et contagieuse qui touche une espèce ou plusieurs animaux dans une région donnée (village, étable, région...) d'une façon constante ou à certaines époques déterminées mais sans tendance à l'extension ou dissémination ou propagation (charbon charbonneuse, tétanos, botulisme, charbon symptomatique, brucellose...).

-Panzootie : Il s'agit d'une maladie infectieuse et contagieuse qui existe pratiquement sur toute la surface du globe et chez toutes les espèces animale. **Exemple** : tuberculose, rage..

-Anthropozoonose (Zoonose) : Il s'agit d'une maladie animale infectieuse et contagieuse communes aux hommes et aux animaux vertébrés. Qui se transmet naturellement des animaux vertébrés domestiques ou non, à l'homme avec possibilité de contagion inverse, **Exemple** : Tuberculose : *Mycobatérium bovis* = Animale à l'homme et *Mycobatérium hominis* ou *tuberculosis* = Homme à l'animale.

III.4. Les objectifs de l'épidémiologie

L'épidémiologie est l'étude des différents facteurs qui interviennent dans l'apparition des maladies, leur fréquence, leur mode de transmission, leur évolution et la mise en œuvre des moyens nécessaires à leur prévention.

L'unique caractéristique de l'épidémiologie est sa focalisation sur un groupe de personnes plutôt que sur un individu isolé.

A- L'épidémiologie peut aider à découvrir l'étiologie ou la cause d'une maladie.

Ainsi les travaux de Gregg en Australie en 1940 révéleront que certaines anomalies à la naissance étaient associées à l'exposition à la rubéole durant le premier trimestre de la grossesse...

B- La méthode épidémiologique peut aider à trouver la source de l'agent pathogène.

Exemple : Epidémie de la maladie des légionnaires aux USA en 1970 ; la source de la bactérie est le système d'air conditionné de l'hôtel.

C- L'épidémiologie peut aider à comprendre comment la maladie est transmise.

* Transmission horizontale directe de personne à personne ou indirecte par vecteur ou objets.

* Transmission verticale de parents à enfants.

D- L'épidémiologie peut découvrir qui risque de devenir malade.

Malades atteints de drépanocytose ont un risque plus grand d'infection à salmonelles que les individus à sang normal.

E- L'épidémiologie peut dévoiler l'exposition spécifique qui a causé directement la maladie.

Les ouvriers des chantiers Navals développèrent un cancer de la plèvre à cause d'une exposition aux poussières d'amiante.

III.5. Branches de l'épidémiologie

La réflexion sur les mots « occurrence », « répartition » et « déterminant » amène à distinguer trois branches de l'épidémiologie : descriptive, analytique, et évaluative.

III.5.1. Épidémiologie descriptive

C'est l'étude de la distribution de la maladie dans les populations selon les caractéristiques de:

- **Personne** : âge, état civil, profession.
- **Lieu** : résidence, région, pays, lieu de travail,...
- **Temps d'observation**: saison, années, mois, etc...

➤ **Les objectifs sont :**

- Identifier les problèmes de santé dans une population et leur ampleur ;
- Décrire leur répartition en fonction des caractéristiques de personnes, de lieu et de temps ;
- Déterminer la nature et la quantité de ressources nécessaires pour résoudre ces problèmes.

III.5.1.1. La méthode

La réalisation d'enquêtes épidémiologiques descriptives suppose :

- l'utilisation d'instruments de mesure pour une quantification précise et objective ;
- une définition rigoureuse des phénomènes à étudier et à dénombrer ;
- une bonne connaissance de la population sur laquelle vont porter les mesures.

Pour ce faire, il est nécessaire de disposer d'outils qui sont en général dénommés sous un thème plus générique d'indicateurs de santé.

- **Un ratio** est le rapport d'un numérateur et d'un dénominateur de nature différente. Il est statique et n'a pas d'unité : exemple sex-ratio (homme/femme),
- **Une proportion** est le rapport d'un nombre de personnes atteintes d'un problème de santé à l'effectif de la population correspondante. Elle est statique et sans unité. C'est en général un pourcentage.
- **Un taux** est le rapport du nombre de nouveaux cas d'un problème de santé apparu pendant une période à la population moyenne pendant cette période. Il permet de comparer les populations de taille différente. C'est une mesure des évolutions.

- **Un quotient** est le rapport du nombre de personnes touchées par un problème de santé dans une période à la population concernée au début de la période. Une mesure de la probabilité de survenue du problème dans la population au cours de la période.

Exemple :

- **La prévalence** : c'est le nombre de cas d'une maladie (anciens et nouveaux) à un moment donné.

- **Le taux de prévalence** : C'est le rapport de la prévalence sur l'effectif de la population.

a. Le taux de prévalence instantané

Le taux de prévalence instantanée exprime la situation épidémiologique, à un moment précis, et permet une programmation des moyens d'action.

$$\frac{\text{Nombre de personnes présentant une maladie à un moment donné}}{\text{Nombre de personnes observées au moment de l'étude}} \times 10^x$$

Exemple : Taux de prévalence instantané du diabète dans la population d'un pays (étude transversale).

b. Le taux de prévalence de période

C'est le nombre de cas d'une maladie sur toute une période, souvent 12 mois. Par exemple, dans un questionnaire, on vous demanderait si vous avez fumé au cours des 12 derniers mois.

$$\frac{\text{Nombre de personnes présentant une maladie pendant une période donnée}}{\text{Nombre de personnes observées durant cette période}} \times 10^x$$

- **L'incidence** : est le nombre de nouveaux cas d'une maladie apparus pendant une période donnée. Selon la durée de cette période, on distingue l'incidence journalière, hebdomadaire, ou annuelle.

- **Le taux d'incidence** est le rapport de l'incidence sur la population au milieu de la période.

$$\frac{\text{Nombre de nouveaux cas d'une maladie donnée par unité de temps}}{\text{Population totale exposée pendant la période considérée}} \times 10^x$$

(en général 1 année civile)

- Le taux d'incidence est nommé taux d'attaque lorsqu'il est calculé sur une épidémie de maladie aiguë (courte période d'incubation et courte durée de la maladie). C'est un taux d'incidence utilisé dans certaines circonstances ; Toxi-infection alimentaire collective (T.I.A.C).

- Taux de létalité

$$\frac{\text{Nombre de décès en rapport avec une maladie donnée}}{\text{Nombre totale de cas de cette maladie}} \times 100$$

S'exprime toujours en %.

- **Exemple** : parmi 100 cas de typhoïde survenus lors d'une épidémie ont été enregistrés. Le taux de létalité = 0,10 soit 10%. Le taux de létalité exprime la gravité d'une maladie et permet d'évaluer l'efficacité d'un traitement.

-Taux de mortalité générale ou taux brut de mortalité (T.B.M)

Est le rapport des décès d'une année à la population moyenne de cette année.

$$\frac{\text{Nb de décès survenus pendant une période donnée (1 année en général)}}{\text{Population moyenne pendant la période considérée}} \times 1\,000$$

-Les taux spécifiques de mortalité

Taux spécifiques de mortalité = $\frac{\text{Nombre de décès dans le sous-groupe pendant période } t}{\text{Effectif moyen du sous-groupe pendant période } t}$

- Par âge (taux de mortalité des plus de 75 ans, taux de mortalité infantile ...)
- Par sexe (taux de mortalité des femmes)
- Par profession
- Par milieu (urbain ou rural)
- Par état matrimonial (marié, célibataire, divorcé, veuf...)
- Par cause (Exemple : le taux de mortalité par causes cardio-vasculaires).

➤ **Les études à visée descriptive sont :**

- **Les études de prévalence**

Les études de prévalence permettent d'observer la fréquence de survenue d'un phénomène de santé, dans une population, à un moment précis. Il s'agit d'enquêtes transversales. Le recueil d'information s'effectue sur une période brève, « un jour donné ». La notion de suivi des patients dans le temps est absente.

- **Les études d'incidence**

Les études d'incidence nécessitent l'observation sur une période déterminée d'un ou de groupes de sujets pour mesurer les modifications de l'état de santé des populations. Il s'agit d'études longitudinales.

III.5.1.2. Les principaux paramètres démographiques utilisés en épidémiologie descriptive

Les paramètres démographiques en général sont les indicateurs qui nous permettent d'étudier les variations quantitatives de la population dans le temps et dans l'espace, en fonction des milieux socio-économiques et culturels. Ils sont indispensables pour la connaissance de la structure et de la dynamique des populations. Ils sont fondés sur les résultats des recensements et des données de l'état civil.

A- La pyramide des âges

Elle représente la distribution des effectifs de la population par classe d'âge et par sexe. Son profil décrit le vieillissement de la population, la baisse de la natalité.

B- La fécondité et la natalité

- **Le taux brut de natalité**, le rapport entre le nombre de naissances de l'année divisé par la population au milieu de l'année ;

- **Le taux global de fécondité** est le rapport du nombre de naissances sur le nombre de femmes en âge de procréer.

C- Taux d'accroissement naturel

C'est le taux de croissance démographique imputable au mouvement naturel de la population. Il se calcule comme la différence du taux de natalité moins le taux de mortalité générale.

$TAN = \text{Taux de natalité} - \text{Taux de mortalité générale}.$

D- Les indicateurs socio-économiques

- niveau de revenu
- niveau éducationnel,
- comportement social,
- catégorie socioprofessionnelle,
- caractéristiques environnementales : nombre de sujets par ménage, lieu de résidence, confort du logement.

III.5.2. Épidémiologie analytique

Elle a pour but d'analyser le rôle des facteurs susceptibles d'influencer l'incidence des phénomènes de santé. Ces facteurs sont appelés « facteurs de risque ». Leur connaissance permet une recherche des moyens de lutte ou de prévention.

III.5.2.1. La méthode

Deux types d'enquête permettant des comparaisons

➤ Les études de cohortes

Une cohorte est un groupe de sujets suivis dans le temps. Les études de cohortes sont également appelées études exposés / non exposés.

En pratique, deux groupes sont établis :

- les sujets exposés au facteur de risque.
- les sujets non exposés au facteur de risque.
- Les deux groupes vont être suivis (études longitudinales) puis comparés entre eux. On parlera de cohorte historique si la survenue de l'exposition au(x) facteur(s) et de la maladie, a déjà eu lieu au moment où le chercheur débute son enquête.
 - ✓ enquête exposé- non exposé= enquête de cohorte.

➤ Les études cas témoins

Deux groupes de sujets vont être comparés :

- Des sujets malades : « les cas »
- Des sujets non malades : « les témoins »

Le recueil d'information est toujours rétrospectif dans ce cas. Les groupes sont ensuite comparés.

Les cas et les témoins doivent être choisis dans la même population. Les caractéristiques du groupe « témoin » doivent être les plus proches possible du groupe « cas ». La seule différence observable entre les groupes devrait être théoriquement l'absence de signes de la maladie.

III.5.3. Épidémiologie évaluative

Elle a pour objet d'étudier les effets des interventions préventives ou curatives dans le domaine de la santé. Les interventions en santé publique se définissent comme des actions visant à améliorer l'état de santé d'un groupe (prévention primaire, secondaire ou tertiaire). Elle exclut l'évaluation de thérapeutiques appliquées au niveau individuel (essai thérapeutique). L'épidémiologie évaluative a recours idéalement à des enquêtes de type quasi expérimental (à rapprocher des méthodes mises en œuvre en recherche clinique), à défaut à des études de type « avant-après » ou « ici-ailleurs » qui comparent un groupe ayant bénéficié de l'intervention et un autre qui n'en a pas bénéficié.

III.6. Les différents types d'études épidémiologiques

Les études réalisées en épidémiologie peuvent être expérimentales (études d'intervention) ou non expérimentales (études observationnelles).

III.6.1. Les études non expérimentales (observationnelles)

Les enquêtes d'observation peuvent être de trois types : études descriptives, étude de cohorte et étude cas-témoins.

III.6.1.1. Les études descriptives

➤ Le principe

Les études transversales permettent d'observer l'état de santé d'une population à un « instant » donné. Elles permettent d'observer la fréquence de survenue d'un phénomène de santé, dans une population, à un moment précis. Les informations sont recueillies sur une période brève et fournissent un indicateur statique de morbidité : **la prévalence**.

Les études longitudinales permettent de suivre la fréquence de ce phénomène de santé au cours du temps et fournissent un indicateur dynamique de morbidité : **l'incidence**.

➤ **Expression des résultats**

L'état de santé de la population peut se mesurer via la prévalence et l'incidence des cas de morbidité.

La prévalence correspond au nombre de cas d'une maladie dans une population à un instant t rapporté à l'effectif de la population à cet instant t (**Tab. 12**).

Tableau 12: Prévalence des statuts des participants de constances vis-à-vis du tabac et de la cigarette électronique (France, 2014) (**Goldberg et al., 2016**).

Statut vis-à-vis du tabac et de la cigarette électronique	Total	
	N	%
Fumeurs de tabac		
Non-utilisateurs de cigarettes électroniques	2 627	10,9
Utilisateurs de cigarettes électroniques	475	2,0
<i>% d'utilisateurs de cigarettes électroniques parmi les fumeurs</i>		15,3
Ex-fumeurs de tabac		
Non-utilisateurs de cigarettes électroniques	8 568	35,5
Utilisateurs de cigarettes électroniques	251	1,0
<i>% d'utilisateurs de cigarettes électroniques parmi les ex-fumeurs</i>		2,8
Non-fumeurs de tabac		
Non-utilisateurs de cigarettes électroniques	10 208	42,3
Utilisateurs de cigarettes électroniques	11	0,0
<i>% d'utilisateurs de cigarettes électroniques parmi les non-fumeurs</i>		0,0
Statut inconnu	2 017	8,3
Total	24 157	100,0

L'**incidence** correspond, quant à elle, au nombre de nouveaux cas dans la population pendant la période T, rapporté à l'effectif de cette population. Les études d'incidence nécessitent de suivre une population sur une période de temps définie (étude longitudinale) (**Fig. 28**).

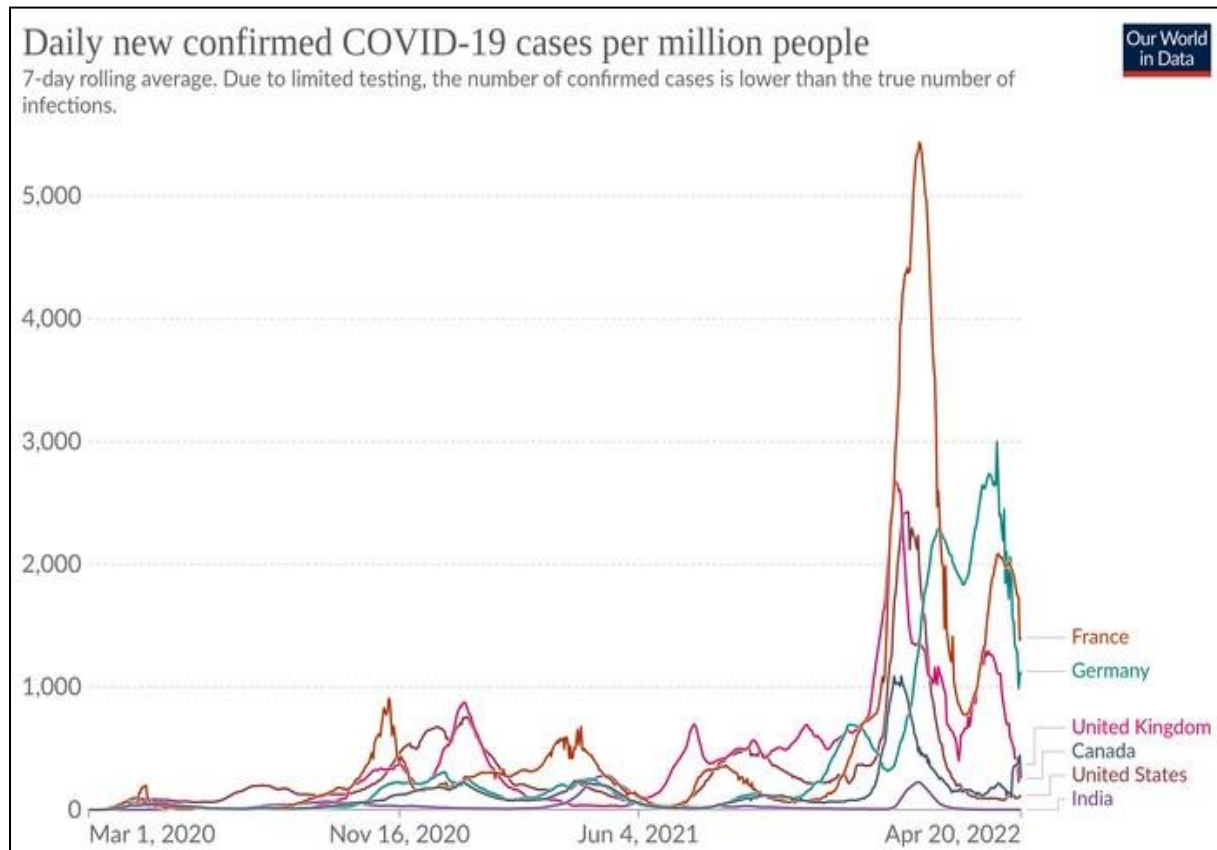


Figure 28: Incidence de la Covid-19 dans six pays entre le premier mars 2020 et le 20 avril 2022 (Voysey, 2022).

L'incidence des cas de Covid-19 correspond au nombre de nouveaux cas détectés par jour, pour 1 000 000 d'individus (le nombre de nouveaux cas par jour indiqué dans ce graphique correspond à une moyenne sur une semaine). À cause de capacités de tests limitées, le nombre de cas confirmés est inférieur au nombre de cas réels.

➤ Les avantages et les limites

Les études descriptives peuvent être réalisées relativement simplement et donnent des informations sur l'état de santé d'une population. Cependant, elles ne permettent pas de suivre les patients et ne fournissent pas d'information sur l'origine de la pathologie.

Pour aller plus loin dans la détermination de l'étiologie d'une maladie, les épidémiologistes peuvent essayer de vérifier des hypothèses de relation entre une maladie et sa ou ses cause(s) supposée(s).

La vérification épidémiologique vise à estimer le risque d'une population exposée à un facteur de développer une maladie, par rapport à une population non exposée. Ce sont des études analytiques qui permettent d'évaluer ce risque et d'établir un lien probable entre exposition et pathologie. Il en existe deux types :

- les études de cohortes.
- les études cas-témoins.

III.6.1.2. Les études de cohortes de type « exposés / non-exposés »

Les études de cohortes consistent à suivre une population dans le temps. En particulier, les études de type « exposés / non-exposés » visent à observer la survenue ou non d'une pathologie en fonction d'un facteur d'exposition. Elles permettent de définir l'effet de l'exposition, et d'estimer le risque qu'une personne développe la maladie si elle est confrontée à cette exposition.

➤ Le principe

La population étudiée est constituée d'individus exempts de la maladie étudiée. Elle est divisée en deux groupes : celui des individus exposés au facteur de risque étudié et celui des individus non exposés.

Après une certaine durée, pouvant aller jusqu'à plusieurs années, le nombre de malades et de non malades est déterminé dans chacun des deux groupes (**Fig. 29**).

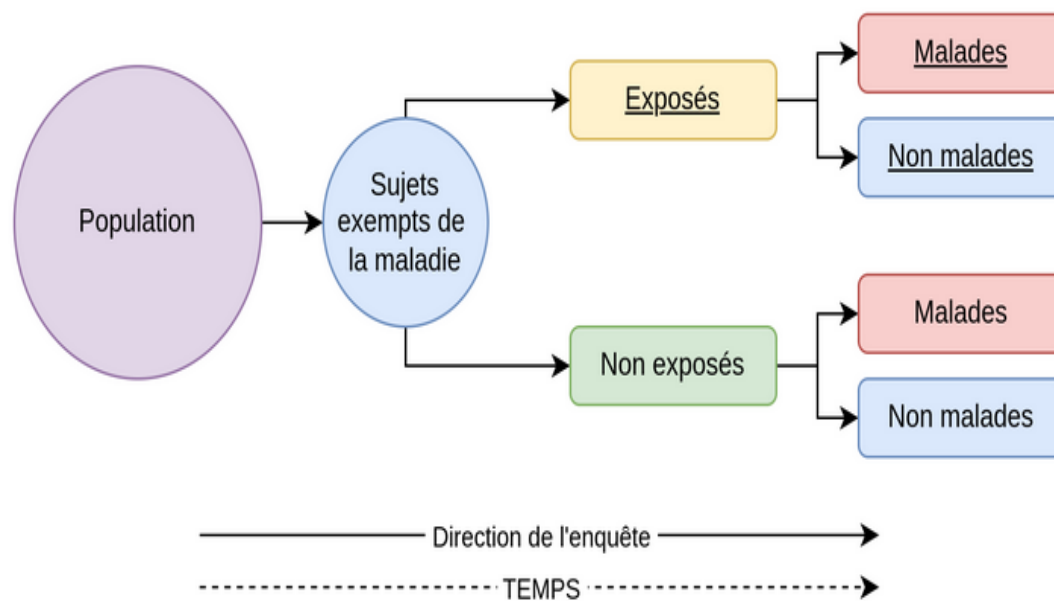


Figure 29: Principe d'une étude de cohorte (Bonita *et al.*, 2010).

De nombreuses études de cohorte ont également été faites de façon rétrospective, *a posteriori*, sur des facteurs tels qu'un type d'environnement de travail ou la prise d'un médicament à une époque de la vie (par exemple la prise d'œstrogène chez la mère pendant la vie fœtale).

➤ L'expression du résultat

Le résultat s'exprime sous la forme d'un risque relatif lié à la présence du facteur. C'est le rapport entre la fréquence de la maladie dans le groupe exposé au facteur de risque et la fréquence de la maladie dans le groupe non exposé.

	Individus malades (événements)	Individus non malades (non événements)
Individus exposés au facteur de risque	a	b
Individus non exposés au facteur de risque	c	d

$$\text{Risque relatif RR} = [a/(a+b)] / [c/(c+d)]$$

Pour donner un exemple concret de calcul de risque relatif, prenons les résultats d'une étude de cohorte portant sur l'effet de l'exposition au tabac sur la mortalité. Cet article s'appuie sur les données du National Health Interview Survey. Il s'agit d'une enquête annuelle menée auprès d'un échantillon représentatif de la population américaine. Les participants avaient entre 50 et 74 ans au moment de l'entrée dans l'étude, entre le 1^{er} janvier 1997 et le 31 décembre 2003. Les décès ont été comptabilisés jusqu'au 31 décembre 2006 (**Tab. 13**).

Tableau 13: Résultats d'une étude de cohorte portant sur l'effet de l'exposition au tabac (Mehta *et al.*, 2012).

Nombre de décès (pour mille individus)	Hommes 1997-2006	Femmes 1997-2006
Non-fumeurs, taux de mortalité pour 1000	12,1	9,1
Fumeurs, taux de mortalité pour 1000	37,7	23,0
Risque relatif	3,12	2,53
Taille de l'échantillon	23 792	30 675

Dans le cas des hommes, le risque relatif de mourir si l'on fume est de 3,12 (37,7/12,1). Autrement dit, un homme fumeur âgé de 50 à 74 ans au moment de l'entrée dans l'étude avait 3,12 fois plus de risque de mourir durant la période de dix ans de l'étude qu'un homme qui ne fumait pas.

➤ **Les avantages et limites**

Contrairement aux études d'incidence, ces suivis de cohortes permettent de tenir compte d'un ou plusieurs facteurs d'exposition et d'établir une relation entre ces derniers et une pathologie donnée. Par ailleurs, il est possible de s'intéresser à plusieurs maladies au sein d'une même cohorte.

Comme les études de cohortes se déroulent sur plusieurs années et nécessitent d'interroger et, éventuellement, de faire réaliser des bilans biologiques (analyse de sang, d'urine...) aux sujets de l'étude, elles sont longues et coûteuses. De plus, il n'est pas possible d'exposer « volontairement » une population à un facteur de risque ; il faut que les individus soient « naturellement » exposés à ce facteur de risque. Si celui-ci touche peu d'individus, il faut alors suivre des populations aux effectifs nombreux pour pouvoir étudier l'influence de ce facteur.

Dans le cas de maladies telles que certains cancers rares, cela implique que la population étudiée contienne un nombre suffisamment important d'individus pour que des cas de ces cancers soient détectés dans les populations exposées et non exposées. Par exemple si on considère que l'incidence du cancer étudié est de 1/1000 et que l'on veut compter au moins 5 nouveaux cas de ce cancer dans la population témoin en 1 an, il faudra que celle-ci renferme plus de 5000 individus. Les études de cohortes ne sont donc pas adaptées à la détermination des causes de pathologies très rares.

III.6.1.3. Les études cas-témoins

Comme les études de cohortes, les enquêtes cas-témoin cherchent aussi à mettre en évidence un lien entre exposition et pathologie, mais contrairement à celles-ci, plusieurs facteurs d'exposition et une seule pathologie sont étudiés (**Fig. 30**).

➤ Le principe

Dans ce type d'étude, le choix de la population est fait sur la base de la maladie elle-même ; on part d'une population de malades pour étudier un ou plusieurs facteur(s) potentiellement en cause. On apparie donc, à la population de malades, une population témoin ayant les mêmes caractéristiques générales que la population atteinte, à l'exception de la maladie étudiée.

Les deux groupes des malades et des témoins non malades sont étudiés grâce à des questionnaires et des données biologiques. L'objectif est d'analyser un certain nombre de caractéristiques qui ont pu potentiellement influencer la survenue de cette maladie.

Ces études sont adaptées s'il existe déjà des soupçons quant à un facteur de risque, si la maladie est rare ou s'il existe un temps très long entre l'exposition au risque et la survenue de la maladie (ce qui rendrait une étude de cohorte trop longue et coûteuse).

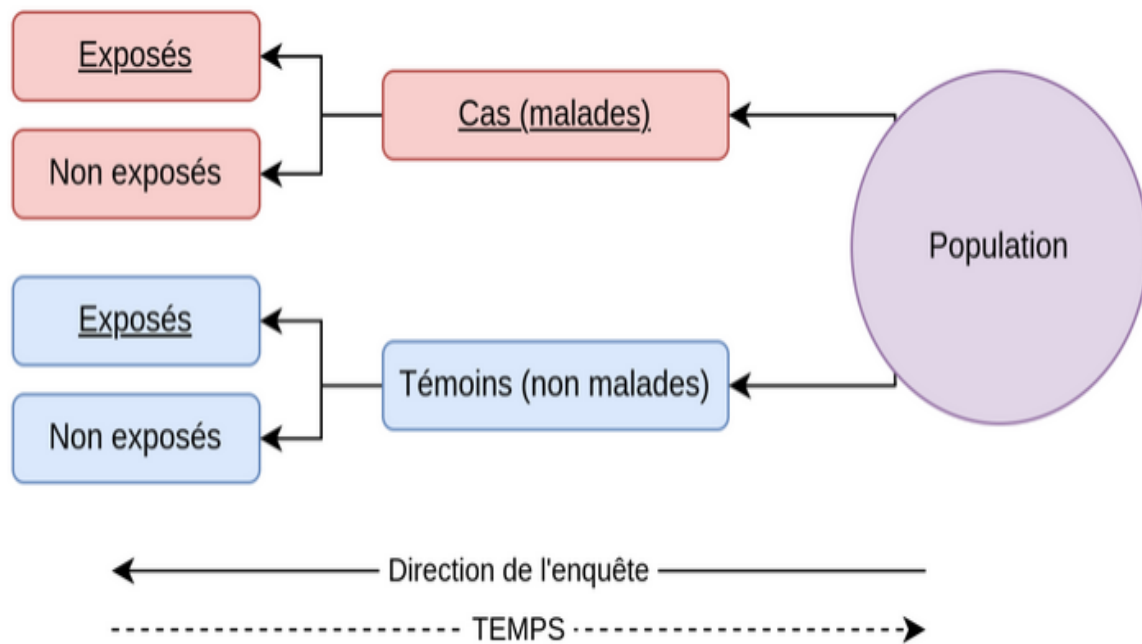


Figure 30: Principe d'une étude cas-témoin (Bonita *et al.*, 2010).

➤ L'expression du résultat

Puisque la population témoin ne renferme pas de malades, il est impossible d'y définir un « taux d'évènements indésirables » et donc impossible de calculer un risque relatif dans ce cas.

La relation entre le facteur (l'exposition) et la maladie peut alors être exprimée par un *odds ratio* (ou rapport des cotes). L'*odd*, ou la cote, d'évènements indésirables dans un groupe donné, correspond au nombre de patients qui présentent l'évènement (qui sont malades) par rapport au nombre de patients qui ne le présentent pas (ne sont pas malades). Par exemple un *odd* de 0,25 correspond au rapport 1/4, c'est-à-dire au cas où une personne présente l'évènement et quatre ne le présentent pas. L'*odd* peut aussi être calculé à partir de la fréquence « *r* » de l'évènement dans le groupe exposé et le non exposé. L'*odd* correspond alors à $r/1-r$.

	Individus malades (cas) (événements)	Individus non malades (témoins) (non événements)
Individus exposés au facteur	a	b
Individus non exposés au facteur	c	d

Avec le nombre d'individus dans chaque groupe, exposé ou non, l'*odds ratio* de l'évènement peut être calculé de deux façons :

- soit en comparant l'*odd* d'évènements indésirables (maladie) dans le groupe exposé au facteur à celui du groupe non exposé *Odd* du groupe exposé = a/b et *odd* du groupe non exposé = c/d

$$\text{Odds ratio d'évènements} = (a/b) / (c/d)$$

- soit en comparant les *odds* d'exposition au risque dans le groupe événements (individus malades) et dans le groupe non événements (individus non malades = témoins).

Odd d'exposition dans le groupe malade = a/c et *odd* d'exposition dans le groupe non malade = b/d

$$\text{Odds ratio d'exposition} = (a/c) / (b/d)$$

Les deux méthodes amènent au même résultat, qui sera supérieur à 1 lorsque l'exposition est nocive et inférieure à 1 s'il s'agit d'une exposition bénéfique, qui prévient la maladie...

D'après les résultats de l'étude présentée au Tableau 14, il est possible, entre autres, de calculer l'*odds ratio* entre l'exposition au tabac (à raison de plus de 25 cigarettes par jour) et la survenue d'un cancer de la bouche (chez des consommateurs de 21 à 48 verres par semaine). Dans ce cas, et quel que soit le mode de calcul $(a/b)/(c/d)$ ou $(a/c)/(b/d)$, on trouve que le rapport de côtes est de 11. Ce rapport des cotes n'est « que » de 6,3 chez les personnes consommant moins de 20 verres par semaine.

Tableau 14: Résultats d'une étude cas-témoin portant sur la survenue d'un cancer de la bouche en fonction de l'exposition au tabac et à l'alcool (Italie et Suisse, 1992-1997) (Franceschi *et al.*, 1999).

	Consommation d'alcool (verres/semaine)	
	Entre 0 et 20	Entre 21 et 48
Groupe des cas : cancer de la bouche		
Non-fumeurs	3	5 = c
Fumeurs		
1-14 cigarettes/jour	2	6
15-24 cigarettes/jour	4	28
≥ 25 cigarettes/jour	4	12 = a
Groupe témoin : pas de cancer		
Non-fumeurs	193	119 = d
Fumeurs		
1-14 cigarettes/jour	62	49
15-24 cigarettes/jour	78	65
≥ 25 cigarettes/jour	41	27 = b

➤ **La distinction entre risque relatif et odds ratio**

Le risque relatif porte sur un nombre d'individus malades par rapport au nombre total d'individus.

L'*odds ratio* porte sur un nombre d'individus malades par rapport au nombre d'individus non malades. Il est à noter que lorsque les risques relatifs sont faibles, les *odds ratio* sont à peu près égaux aux risques relatifs.

➤ **Les avantages et limites**

L'avantage de ce type d'étude est que toute différence observée entre les deux groupes de patients est attribuée à l'intervention du traitement. Mais cela en fait une étude longue et coûteuse.

Ce type d'étude exige une population de patients la plus homogène possible, c'est-à-dire des patients qui ont une pathologie commune dominante, voire une unique pathologie, afin de mieux tester l'effet du traitement. De fait, ce type d'étude élimine une grande quantité de patients qui présentent une comorbidité ou des facteurs de risque particuliers.

III.6.2. Les études expérimentales

Ces études s'apparentent aux études de cohortes mais, contrairement aux études analytiques, le facteur d'exposition est choisi par les épidémiologistes. Ce sont des études d'intervention permettant de tester la validité d'une hypothèse précise, par exemple l'efficacité d'un traitement. Dans les essais randomisés, les populations constituant le groupe expérimental et le groupe témoin sont constituées au hasard.

➤ **Le principe**

Un essai randomisé est un « essai », car c'est une intervention thérapeutique qui est testée, la plupart du temps, sous forme de traitement. Il est dit « randomisé », car les patients (malades) sont répartis au hasard : un groupe recevra le traitement à tester, l'autre un placebo. Ces essais peuvent être conduits en simple aveugle (ou simple insu) quand seuls les patients ignorent la nature du traitement, ou en double aveugle (ou double insu) quand patients et investigateurs ignorent la nature du traitement (les deux médicaments, traitement et placebo, ont la même apparence). Le tirage au sort permet d'éviter un biais de sélection, comme une inégale répartition de patients plus gravement affectés, entre les deux groupes.

➤ **L'expression du résultat**

L'expression du résultat d'un essai thérapeutique se fait sous la forme d'un risque relatif (RR). C'est le risque de tomber malade dans le groupe expérimental par rapport au risque de tomber malade dans le groupe témoin.

Prenons un exemple fictif chiffré, portant sur deux groupes de 30 individus :

	Individus malades (événements)	Individus sains (non événements)	Total
Groupe expérimental	2 (= a)	28 (= b)	n = 30
Groupe témoin	6 (= c)	24 (= d)	n = 30

- Le risque de tomber malade dans la population traitée (TEE, ou taux d'évènements dans le groupe expérimental) est de $a/(a + b)$ soit $2/(2+28)$ soit 0,066.
- Le risque de tomber malade dans la population non traitée (TET, ou taux d'évènements dans le groupe témoin) est de $c/(c + d)$ soit $6/(6+24)$ soit 0,20.
- Le **risque relatif** est le rapport entre les deux, TEE/TET, soit $0,066/0,20$ soit 0,33 (ou 33 %).

Un risque relatif inférieur à 1 indique que le traitement est efficace, et plus il est faible, plus le traitement est efficace. Si le traitement était nocif, le risque relatif serait supérieur à 1.

L'efficacité du traitement peut être évaluée par la diminution du risque entre le fait de tomber malade dans le groupe témoin et celui de tomber malade dans le groupe traité.

La « **réduction du risque relatif** », ou RRR, correspond à la différence de risque entre le fait de tomber malade dans le groupe témoin et le fait de tomber malade dans le groupe expérimental, rapportée au risque de tomber malade dans le groupe témoin.

$$RRR = (TET - TEE) / TET = 1 - (TEE/TET) = 1 - RR$$

La réduction du risque relatif est donnée en pourcentage. Ici la réduction du risque relatif est égale à $1 - 0,33$, soit 76 % : le traitement fait baisser le risque de tomber malade de 76 % par rapport au risque « normal » en dehors de tout traitement.

➤ **Exemple de l'étude d'un vaccin contre la Covid-19**

Les données ci-dessous sont extraites du tableau 2 d'une publication de Voysey et collaborateurs parue en 2020, et qui présente une analyse intermédiaire de l'efficacité du vaccin ChAdOx1 nCoV-19 (encore nommé AZD1222) contre la Covid-19. Cette étude rapporte les résultats d'un essai clinique de phase 3 mené au Brésil en 2020 (COV003, portant sur un total de 4088 personnes). Il s'agit d'un essai mené en simple aveugle, le groupe vacciné recevant deux doses du vaccin AZD1222 et le groupe témoin recevant à la place une solution saline. Les individus dits « malades » sont ceux qui ont présenté un résultat positif au test PCR sur prélèvement par écouvillon.

	Individus malades	Individus sains	Total
Individus vaccinés	12 (= a)	2051 (= b)	2063
Individus non vaccinés	33 (= c)	1992 (= d)	2025

Le calcul du risque relatif se fait par comparaison entre le risque d'être malade dans le cas du groupe expérimental (taux d'évènement chez les individus vaccinés = TEE) et celui d'être malade dans le groupe témoin (taux d'évènement chez les individus non vaccinés = TET) :

- Ici TEE groupe vacciné = $12/2063 = 0,005816$ (0,6 % dans la publication)
- et TET groupe témoin = $33/2025 = 0,01629$ (1,6 % dans la publication).
- Le risque relatif TEE/TET est donc $0,005816/0,01629 = 0,3570$.

Inférieur à 1, ce risque relatif indique donc que le vaccin protège l'individu. L'efficacité du vaccin s'exprime par la réduction du risque relatif, c'est-à-dire $1 - 0,3570 = 0,643$ ou encore 64,3 %.

➤ **Les avantages et limites**

L'avantage de ce type d'étude est que toute différence observée entre les deux groupes de patients est attribuée à l'intervention du traitement. Mais cela en fait une étude longue et coûteuse. Ce type d'étude exige une population de patients la plus homogène possible, c'est-à-dire des patients qui ont une pathologie commune dominante, voire une unique pathologie, afin de mieux tester l'effet du traitement. De fait, ce type d'étude élimine une grande quantité de patients qui présentent une comorbidité ou des facteurs de risque particuliers.

Les références bibliographiques

A

Abramson J.S. (2000). Technical Reports : prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcae conjugate and polysaccharide vaccines and antibiotic prophylaxis. *Pediatrics*. 106 (2) : 367-376.

Ancelle T. (2008). Statistique Epidémiologique, 2ème édition, Coll Sciences Fondamentales, Maloine, Paris.

Archambaud M., Clavé D. (2011). Bactériologie et virologie pratique. 2^{ème} édition.

Avril J.L, Dabernat H, Denis. F, Monteil. H. (2000). Bactériologie Clinique. Ellipses édition.

B

Bonita R., Beaglehole R., Kjellström, T., World Health Organization. (2010). Éléments d'épidémiologie, 2^e éd. Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44055>

Bouza E., San Juan R., Munoz P. (2001). An European perspective on nosocomial urinary tract infections, *Clin. Microbiol. Infect.* 7 ; 523-531.

Bulletin Epidémiologique Annuel. (1997). Résistance du pneumocoque aux antibiotiques en France. 2 : 183-186.

C

Clinical Microbiology and infection : official journal of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease.

Courvalin P., Leclercq R. (2012). Antibiogramme 3^{ème} édition. ESKA.

D

Dedet J.P. (2007). La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Dunod Edition.

Denis F, Ploy M.C, Martin C, Bengen E, Quentin R. (2011). Bactériologie médicale Techniques usuelles, 2ème édition, Elsevier Masson SAS, Paris.

Denis F. (2016). Bactériologie médicale : Techniques usuelles. 3ème édition.

Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bengen E., Quentin R., (2007). Bactériologie médicale : Techniques usuelles, Elsevier Masson, ISBN: 978 2 21-1 01176, France.

Dune W.M., Larocco M. (2001). Laboratory Diagnosis of bacterial infections. In : Blood culture systems, New York Basel, 189-209.

F

Falissard B. (2005). Comprendre et utiliser les statistiques dans les sciences de la vie, MASSON.

Franceschi, S., Levi, F., La Vecchia, C., Conti, E., Dal Maso, L., Barzan, L., & Talamini, R. (1999). Comparison of the effect of smoking and alcohol drinking between oral and pharyngeal cancer. International Journal Of Cancer, 83, 1-4.
[http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19990924\)83:1<1::AID-IJC1>3.0.CO;2-8](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19990924)83:1<1::AID-IJC1>3.0.CO;2-8)

Freney J., Hansen W., Boulet C., Leclerc R. (2003). Actualités permanentes en bactériologie clinique. ESKA, Paris, section I, chapitre 1, 42 pages.

Freney J., Renaud F. (2007). Précis de Bactériologie clinique. 2ème édition.

G

Gentilini M. (2011). Médecine tropicale, 6^{ème} édition, Flammarion, Médecine Sciences. Paris.

Goldberg, M., Hourani, I., Cyr, D., Guégen, A., & Zins, M. (2016). Utilisation de la cigarette électronique et du tabac : premières données de la cohorte Constances, France, 2014. Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire. Consulté à l'adresse http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2016/15/2016_15_2.html (Original work published may)

Gregg M. (1990). Introduction à l'épidémiologie, Cours I.D.E.A / CDC. Septembre ; 1990.

Groupe Rémic de la Société Française de microbiologie. (2004). Examen cyto bactériologique des sécrétions broncho-pulmonaires. In : Référentiel en microbiologie médicale (Bactériologie et mycologie) Ed, 2M2, P :47-55.

Guyatt, G., Cairns, J., Churchill, D., Cook, D., Haynes, B., Hirsh, J., et al. (1992). Evidence-Based Medicine: A New Approach to Teaching the Practice of Medicine. *Jama*, 268, 2420-2425. <http://doi.org/10.1001/jama.1992.03490170092032> (Original work published nov).

H

Hervé B. (2008). L'Histoire des Vaccinations, John Libbey Eurotex.

J

Jenicek M., Cleroux R. (1983). Epidémiologie: principes - techniques - Applications Ed maloine. Paris.

L

Laga M., Plummer FA, Piot P, Datta P, Namaara W, Ndinga-Achola JO, Nzange H, Maitha G, Ronald AR, Pamba HO and Brunham RC. (1988). Prophylaxis of gonococcal and chlamydial ophthalmia neonatorum : a comparison of silver nitrate and tetracycline. *N Engl J Med*. 318 : 653-57.

Leclercq R, Derlot E, Duval S. (1988). Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *New England J. Med*. 319 : 157-161.

M

Mandell GL. (2010). Principles and practices of infectious diseases. 7 ed. Philadelphia.

Mehta, N., & Preston, S. (2012). Continued Increases in the Relative Risk of Death From Smoking. *American Journal Of Public Health*, 102, 2181-2186. <http://doi.org/10.2105/AJPH.2011.300489> (Original work published nov).

N

Neal R. (2009). Big pictures in medical microbiology. The McGraw-Hill Companies, ISBN: 978-0-07-164301-6.

Nessar A., Maureen D., Chris S., Wood E. (2007). Biology of disease. Taylor et Francis Group.

Nicole LE., Bradley S., Golgan R. (2005). infectious disease society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin. Infect. Dis.*, 40 ; 643-654.

P

Pilly E. (2016). Maladies infectieuses et tropicales. 25^{ème} édition. CMIT.

Prescott L. M., Harley, J. P. & Klein, D. A. (2003). Microbiologie. De Boeck.

R

Référentiel en microbiologie médicale, (2004). SFM, Ed, 2M2, 31-36.

S

Schrag S.J., Beall B, Dowel S.F. (2000). Limiting the spread of resistant pneumococci : biological and epidemiologic evidence for the effectiveness of alternative interventions. *Clin. Microbiol. Rev.* ; 13 : 588-601.

Service de Bactériologie, Université Paris-VI, Faculté de médecine, Bactériologie, DCEM1, 2002 – 2003, Mise à jour : 24 mars 2003.

V

Vandepitte J., Engbaek K., Piot P., Heuck C.C. (1994). Bactériologie clinique : techniques de base pour le laboratoire, Organisation mondiale de la Sante, ISBN 92 4 2544256, Genève.

Voysey, M. (2021). Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *The Lancet*, 397, 99-111. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32661-1](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32661-1) (Original work published jan)

Sites Web

Haute Autorité en Santé :

<http://www.hassante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2011->

Pilly TROP : http://www.infectiologie.com/site/_actualite_detail

POPI : Guide de traitement pour un bon pratique médical et bon usage des anti-infectieux.
Web (www.epopi.fr).

Site de l'Infectious Diseases Society : [www. Idsociety.org](http://www.idsociety.org)

Site de l'institut de veille sanitaire : [www. Invs. sante .fr](http://www.invs.sante.fr)

Site de l'institut Pasteur : www.pasteur.fr/externe

Site du CMIT et de la SPLF : www.infectiology.com

Université de Jussieu : <http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/>