



La microbiologie en pratique : du patient à la boîte de culture

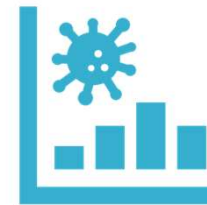
Géricco - 06/03/2025 - Dr A. Beudron - CH Le Mans

Pourquoi faire des prélèvements microbiologiques?



Visée diagnostique

Identifier le micro-organisme responsable de l'infection
Instaurer un traitement adapté



Visée épidémiologique

Surveillance nationale
Comparaison de souche



Pourquoi faire des prélèvements microbiologiques?

Diagnostic direct

- Mise en évidence de l'**agent infectieux**
- Mise en culture des prélèvements
- Mise en évidence d'antigènes
 - GDH du *C. difficile*, antigénurie légionnelle, ...

Diagnostic indirect = sérologie

- Mise en évidence de la **réponse immunitaire** de l'organisme via la production d'anticorps dirigé contre l'agent infectieux

Importance de la qualité du prélèvement !!



Exemple : ECBU

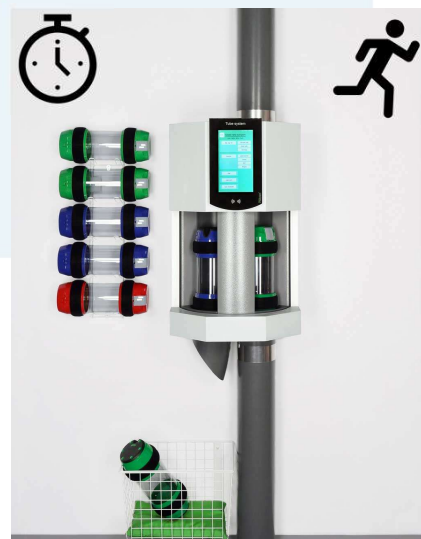
👤 Diagnostic d'une infection urinaire

En clinique

- Uniquement si patient **SYMPTOMATIQUE**
- Urine de **2^{ème} jet**
- Après **toilette intime**
- Après **stase vésical ≥ 4h**



Acheminement

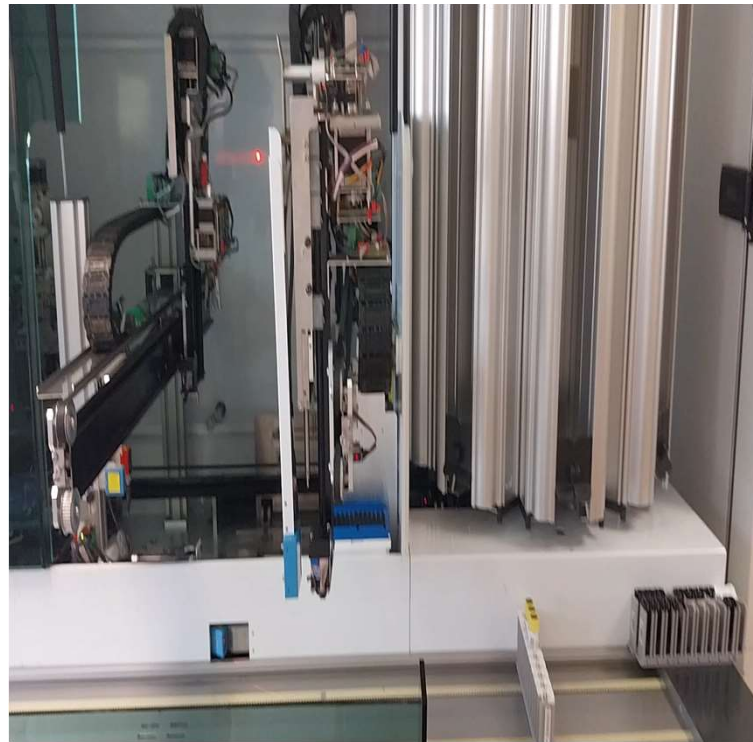


< 2h sans conservateur
> 2h avec conservateur (borate)

Au laboratoire

- Cytologie
- Examen direct
- Ensemencement
- Identification
- Antibiogramme





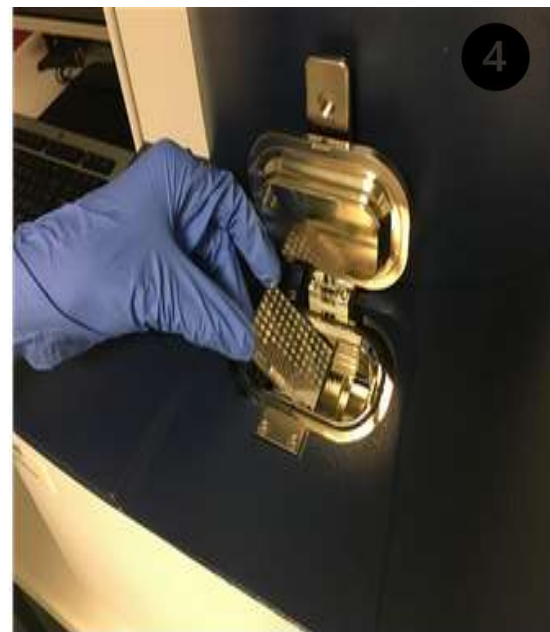
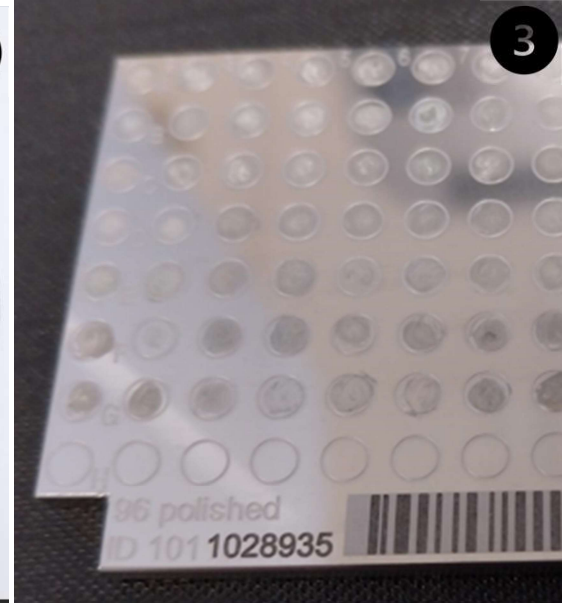
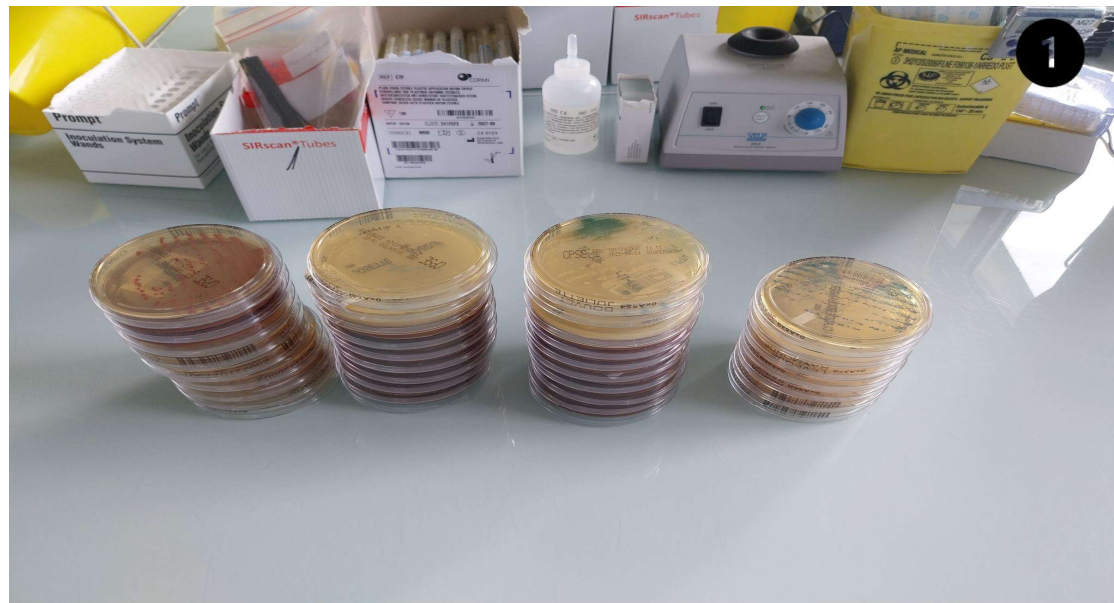
Au jour 0 : examen direct et culture

- Cytologie : dénombrement hématies et leucocytes
- Ensemencement automatisé d'une gélose chromogène

Au jour 1 : identification



- Colonie rose sur milieu chromogène = *Escherichia coli*
- Autres colonies → Spectrométrie de masse (MALDI-TOF)



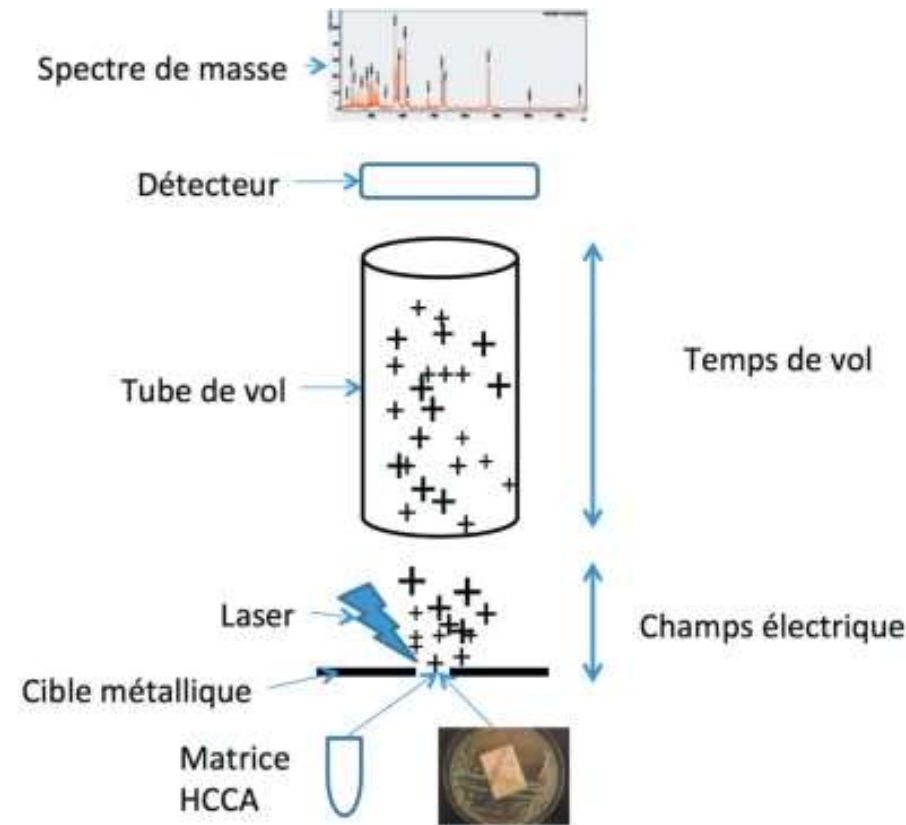
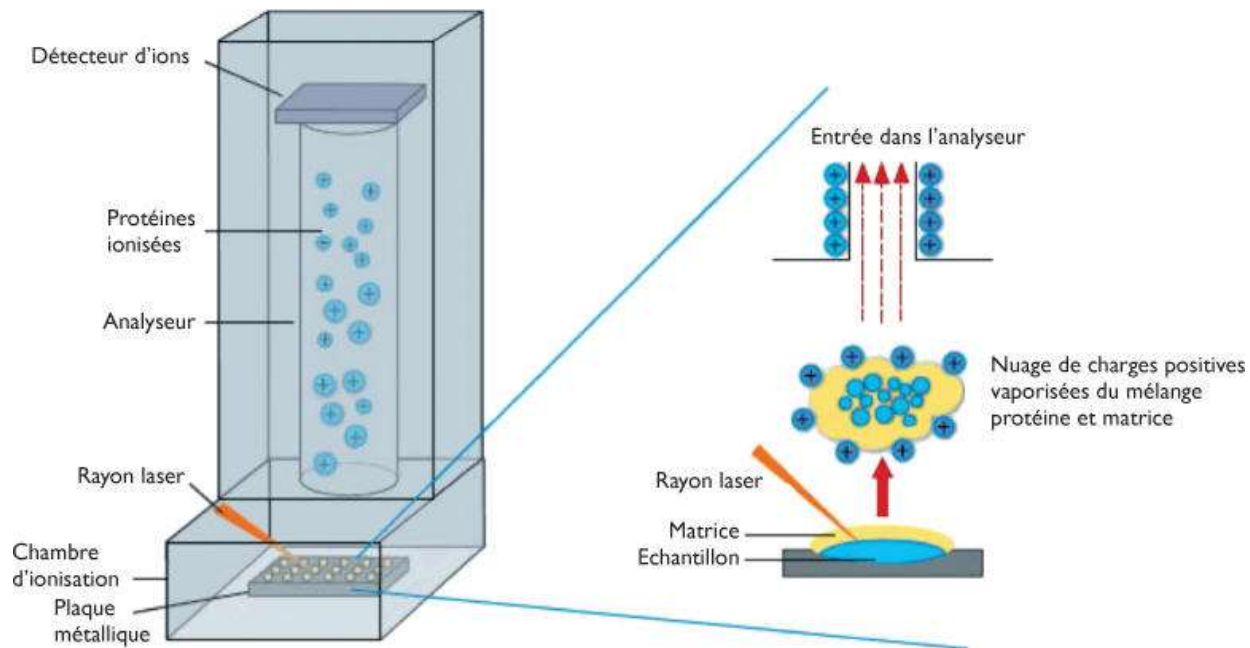
J1 : identification

- Galerie API obsolète aujourd'hui



- Spectrométrie de masse (MALDI-TOF)

Principe de la technique MALDI-TOF



Au jour 1 : identification

ETAT	SIR	SIL	MSID	DEMANDE	NOM	CODE	GENRE	ESPECE
●	NON	NON	NON	250226114502		???	Résultats inacceptables	
●	OUI	NON	NON	250227120602		PMI	Proteus	mirabilis
●	OUI	NON	NON	250227080201		SAU	Staphylococcus	aureus
●	OUI	NON	NON	250227077301		ECO	Escherichia	coli
●	OUI	NON	NON	250227021305		EFA	Enterococcus	faecalis
●	OUI	NON	NON	250227024801		KOX	Klebsiella	oxytoca
●	OUI	NON	NON	250227024401		PAE	Pseudomonas	aeruginosa

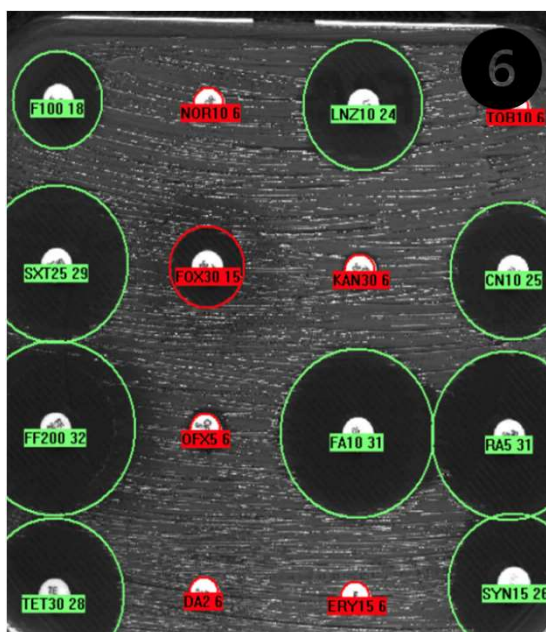
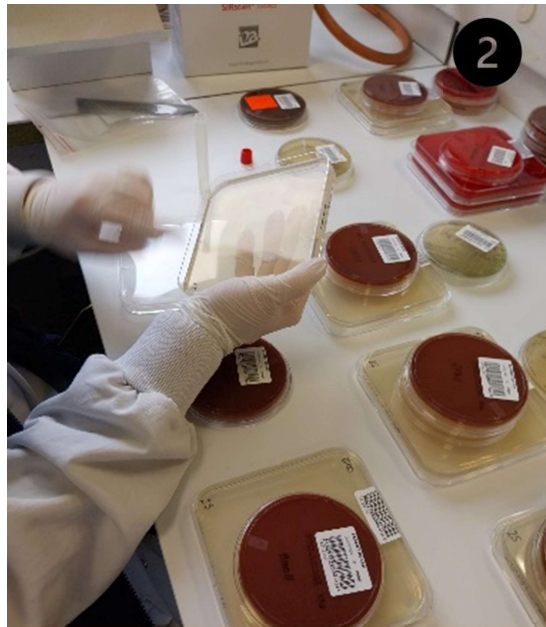
Etat	Genre	Espèce	Score	Qualité	Texte
●	Proteus	mirabilis	2,48	++	Bonne identification sur l'espèce
●	Proteus	mirabilis	2,44	++	Bonne identification sur l'espèce
●	Proteus	mirabilis	2,42	++	Bonne identification sur l'espèce
●	Proteus	mirabilis	2,4	++	Bonne identification sur l'espèce
●	Proteus	mirabilis	2,25	+	Bonne identification sur l'espèce
●	Proteus	mirabilis	2,2	++	Bonne identification sur l'espèce



Au jour 2 : rendu de l'antibiogramme



- Antibiogramme en milieu **liquide** pour les entérobactéries
- Antibiogramme en milieu **gélifié** pour le reste des identifications
- Tests **complémentaires** si besoin: dépistage CTX-M, carbapénémases, CMI supplémentaire, ...



Au jour 2 : rendu de l'antibiogramme

- Antibiogramme réalisé à partir d'un inoculum de bactéries précis (cf CASFM)
- Antibiogramme en milieu gélosé pour le reste des identifications
- Antibiogramme incubé 18-24h dans l'automate
- Lecture diamètre avec le logiciel du SIRSCAN Orion

Exemple : les hémocultures

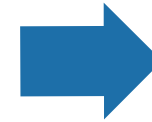
🏥 \$ Diagnostique d'une bactériémie ou d'une fongémie

En clinique

- A prélever en **1^{er}** sur un bilan sanguin complet
- Ordre de prélèvement : flacon **aérobie** puis anaérobie
- **Asepsie** rigoureuse afin de limiter la contamination
- **40 à 60 ml** (2 à 3 paires) de sang afin d'éviter les faux-négatifs
- **10 ml** de sang / flacon

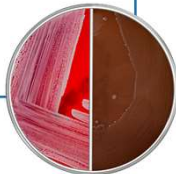
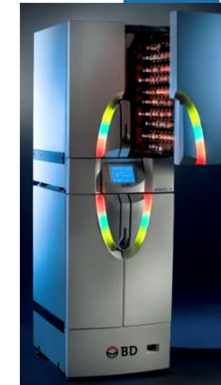


Acheminement



Au laboratoire

- Incubation dans l'automate
- Détection du % **CO²** dans les flacons (sonde)
- Détection > seuil : **alarme** visuelle et sonore
- Prise en charge d'un **flacon positif** :
 - Ⓢ Coloration de Gram
 - Ⓢ Ensemencement sur milieux de culture
- Flacon considéré **négatif** si aucune \uparrow % **CO²** sur une période de **5 jours**

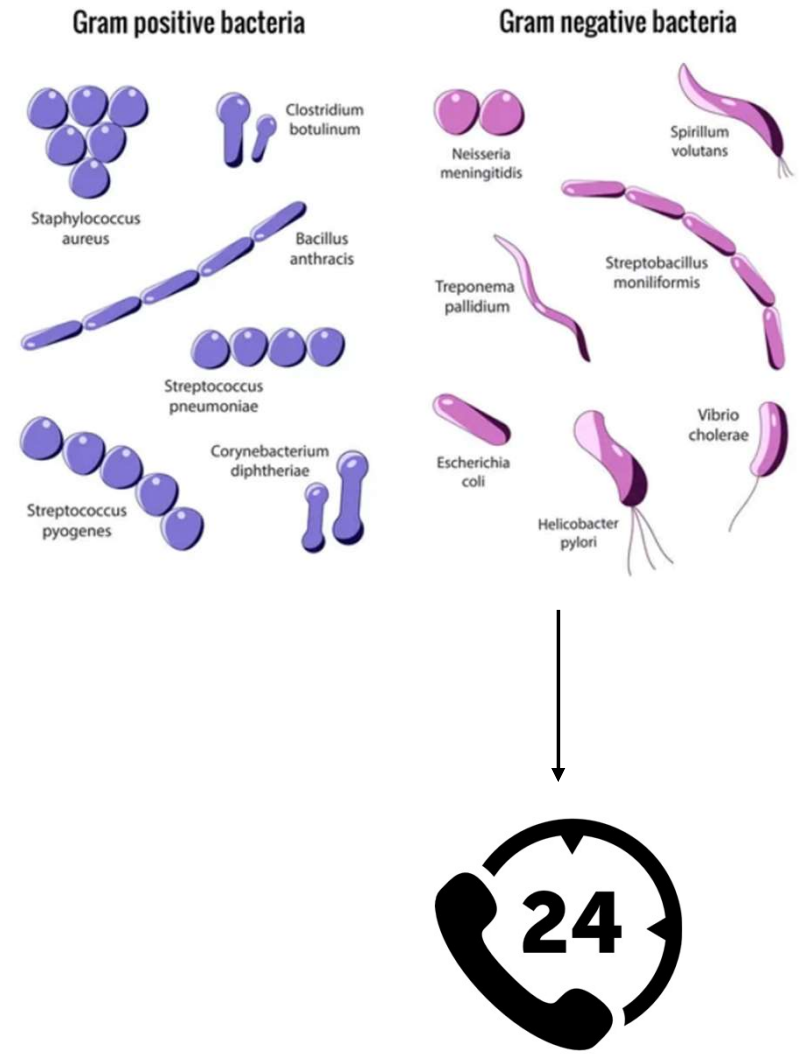
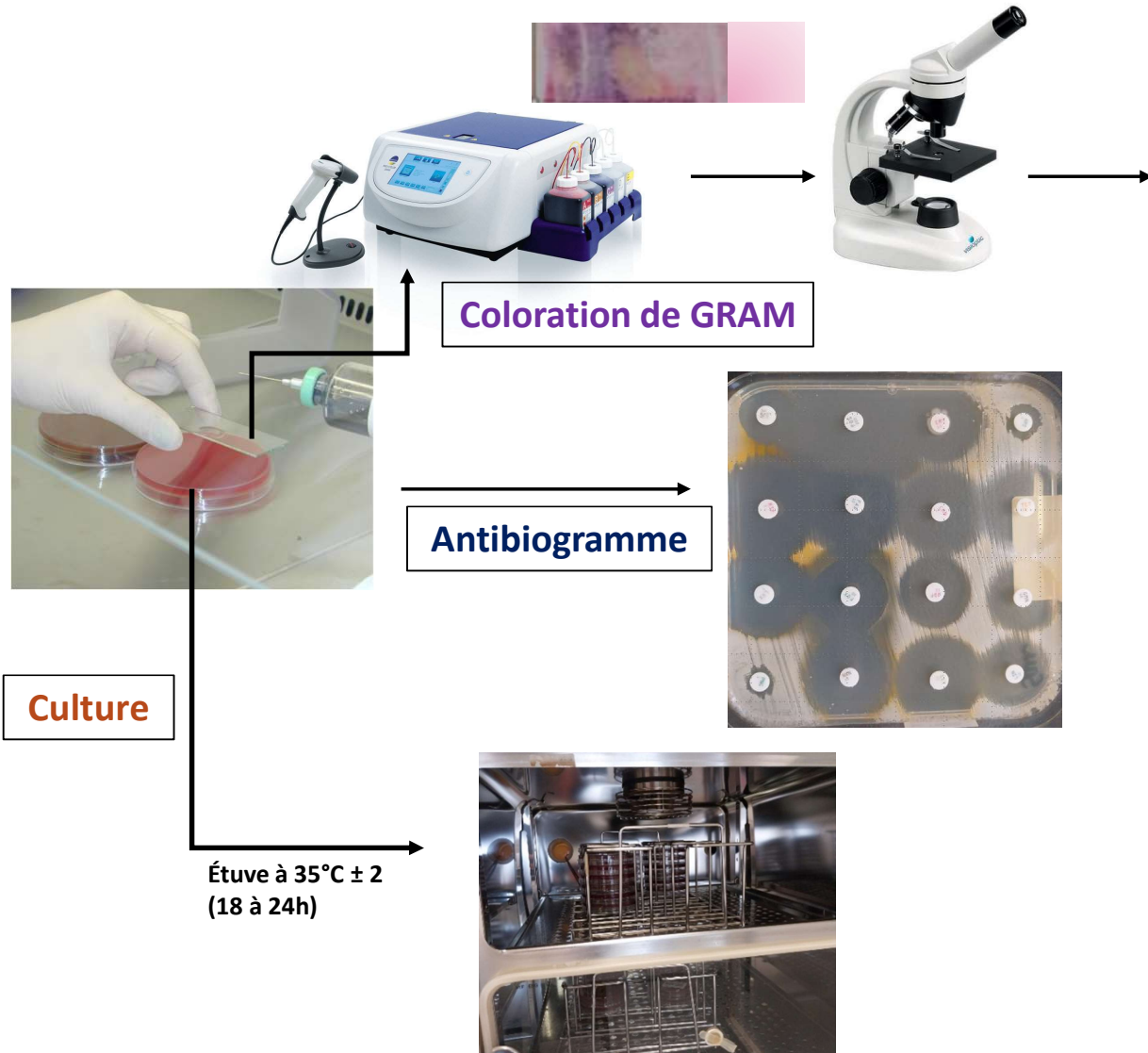


Au jour 0

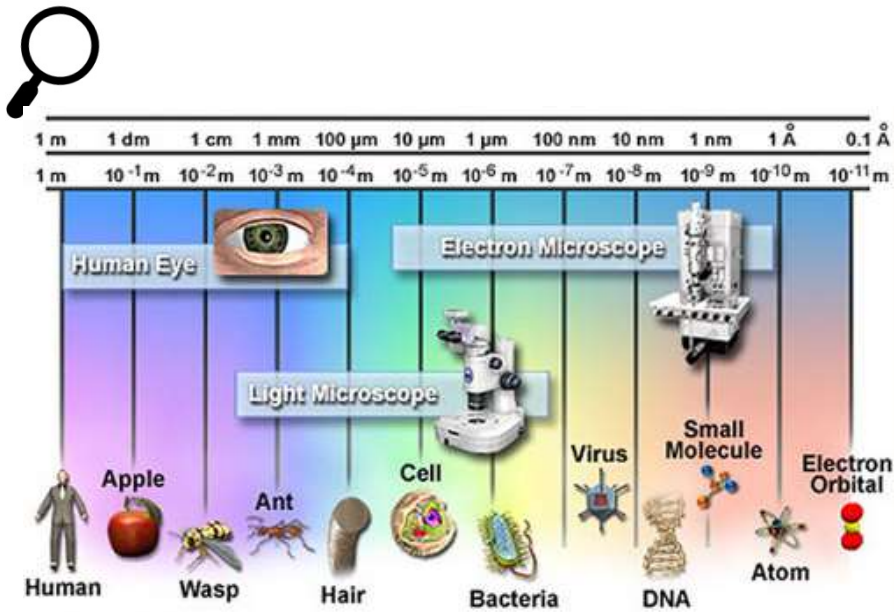
- Technique uniquement sur les flacons « **positifs** »
- Travail sous **PSM** (poste de sécurité microbologique)



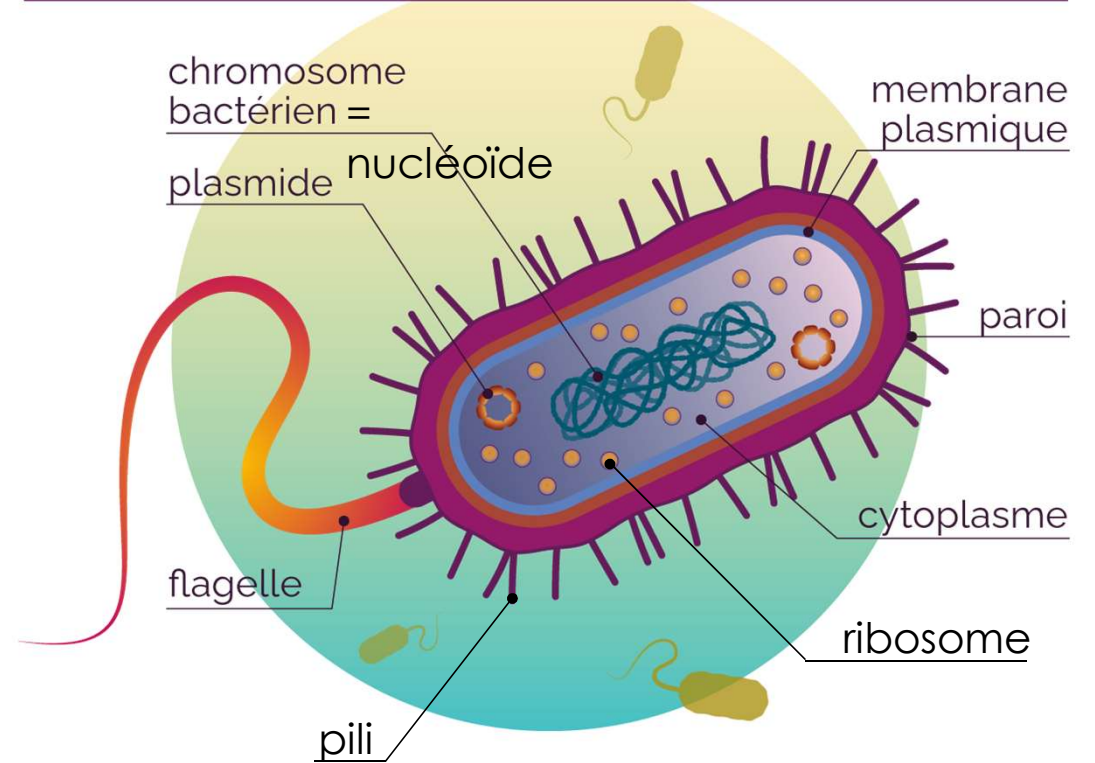
Au jour 0



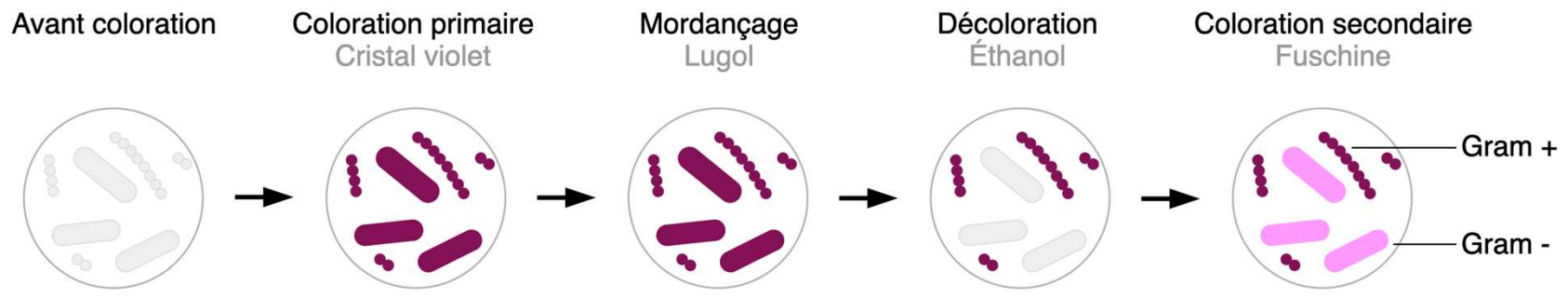
Taille & Structure d'une bactérie



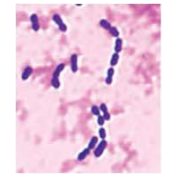
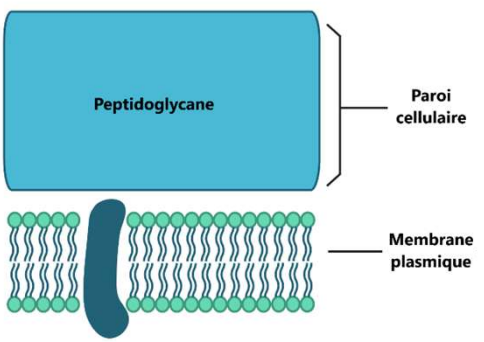
Schématisation simplifiée de la structure bactérienne



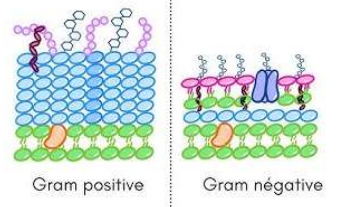
Coloration de GRAM



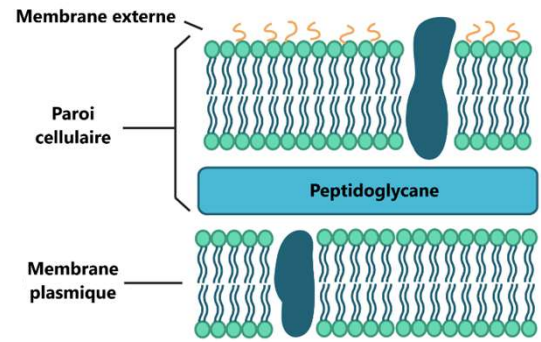
Bactéries à Gram positif



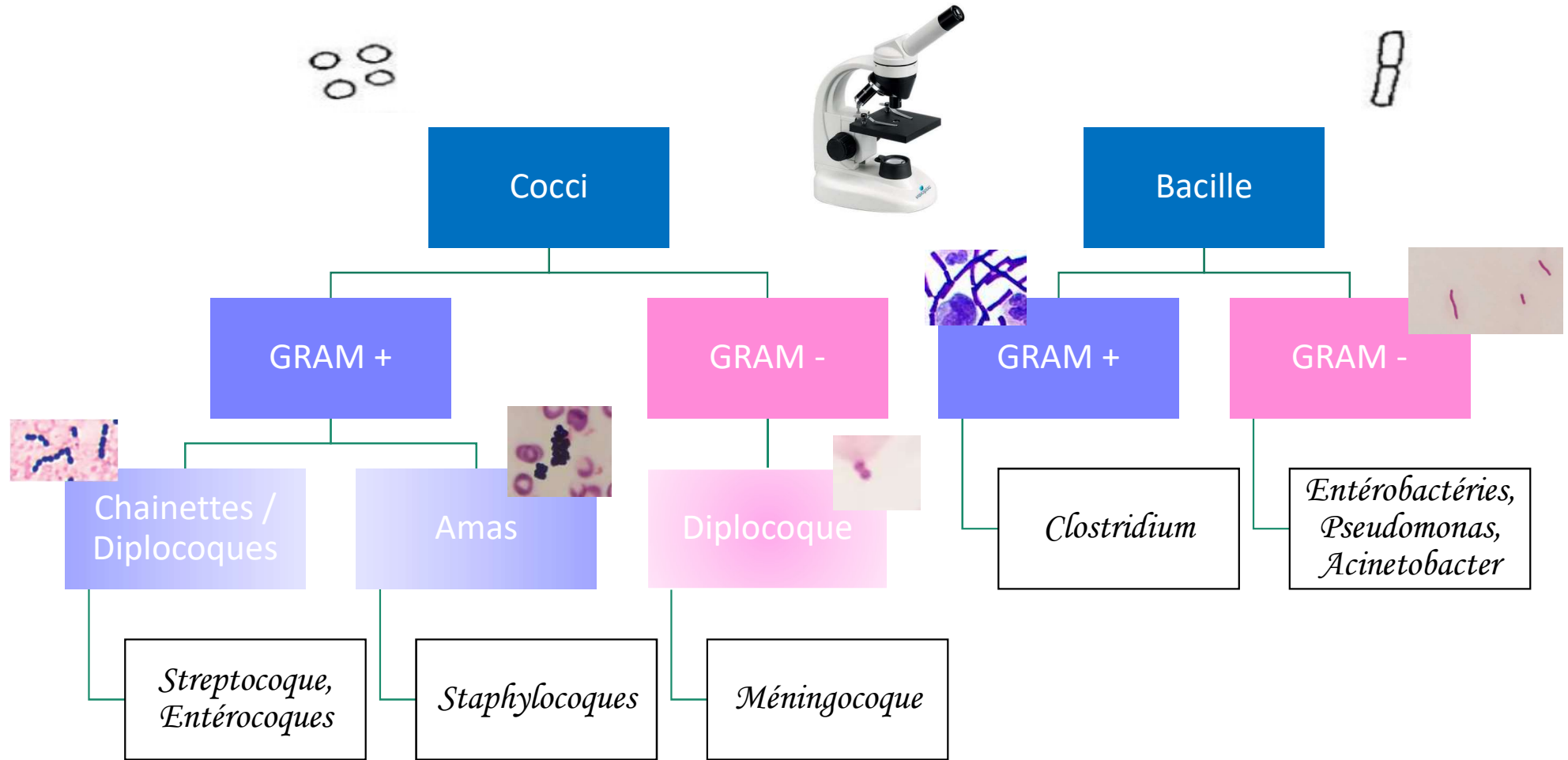
Coloration de Gram



Bactéries à Gram négatif



Identification fonction de la coloration de GRAM





Merci pour votre
attention
