



Techniques d'analyses des produits pathologiques

Master II BPC
2021/2022

Enseignant. Ramzi LAMRAOUI

Analyses biologiques

Définition

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



Produits pathologiques ?

Produits pathologiques

=

Produits biologiques contaminés

Produits pathologiques

Ce sont des produits biologiques où se sont multipliés des micro-organismes responsables de l'infection.

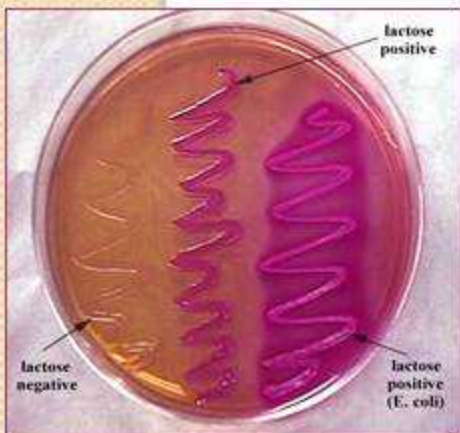
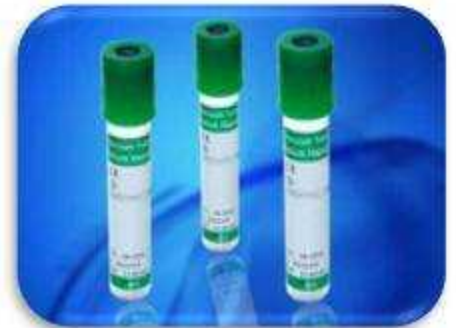
Diagnostic de l'infection

Diagnostic clinique

Diagnostic para clinique

Examen microbiologique

Examens non microbiologiques



Analyses des produits pathologiques

Objectives

- d'isoler et d'identifier les micro-organismes pathogènes.
- de mesurer leur **sensibilité(s)** aux antibiotiques habituellement actifs sur cette ou ces bactérie(s).
« Antibiogramme »
- Identification  suivi épidémiologique

Règles générales concernant l'analyse bactériologique

Une analyse bactériologique ne doit pas se résumer à une simple technique, mais doit être orientée selon la demande du clinicien et selon les renseignements cliniques qui accompagnent le prélèvement.

Elle comprend 3 phases (pré-analytique, analytique et post-analytique).

Phases analytiques des analyses de microbiologie médicale

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

N.B. Les phases : pré-analytique et analytique sont les phases *critiques*

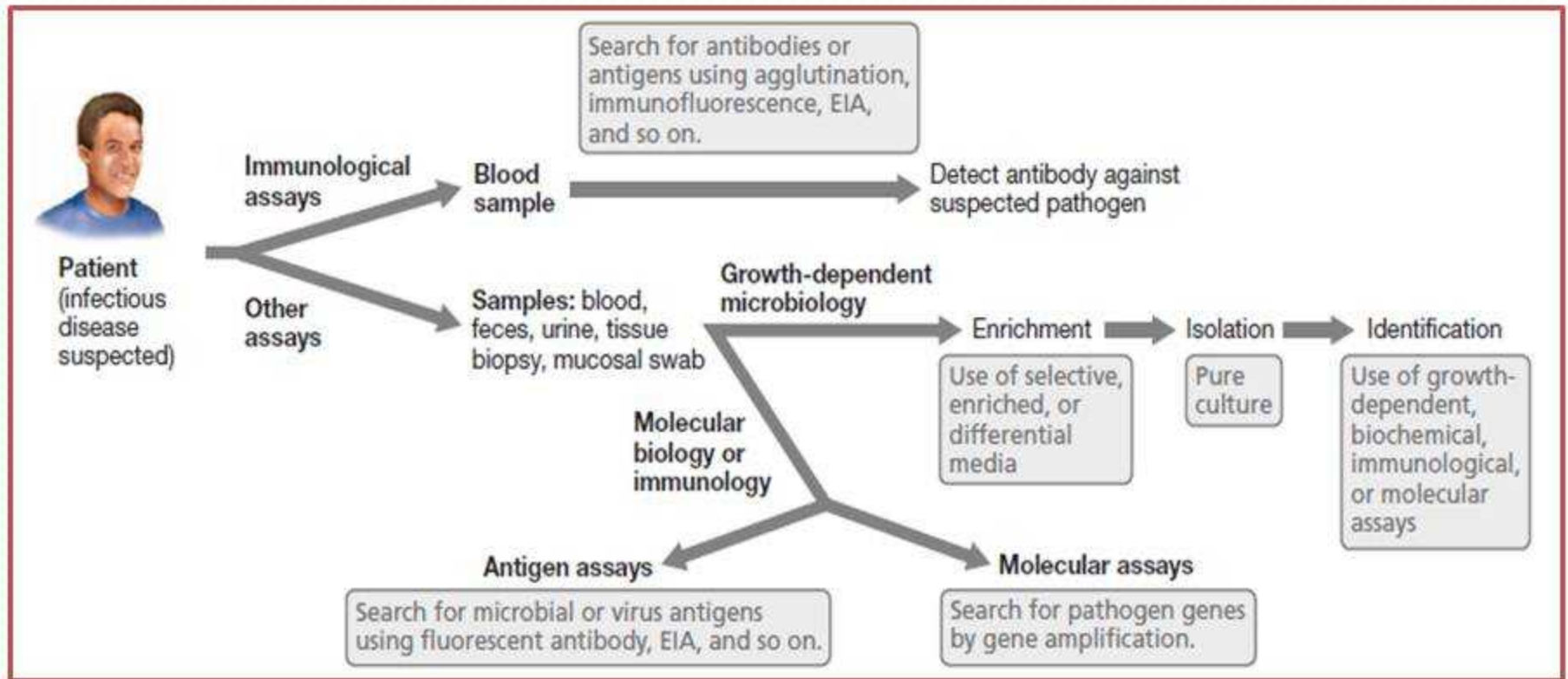


Démarche de l'examen bactériologique

Démarche de l'examen bactériologique

Le diagnostic bactériologique est un ensemble de moyens permettant de confirmer telle ou telle étiologie infectieuse d'origine bactérienne. Ces moyens diagnostiques sont variés et caractérisent soit le diagnostic **direct** soit celui **indirect** :

Démarche de l'examen bactériologique



Laboratory identification of microbial pathogens. The flowchart shows alternative paths for identifying pathogens or pathogen exposure in the clinical laboratory.

Démarche de l'examen bactériologique

DIAGNOSTIC DIRECT : mise en évidence de la bactérie elle-même, donc finalement de sa culture ou isolement qui permettra l'identification ultérieure ainsi que de préciser sa sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).

Démarche de l'examen bactériologique

DIAGNOSTIC DIRECT

Ceci n'est pas toujours possible soit :

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

Démarche de l'examen bactériologique

DIAGNOSTIC DIRECT

Ceci n'est pas toujours possible

- ❑ L'agent a été identifié par la culture (ex : apparition des symptômes à la culture (ex : brucellose) ou

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

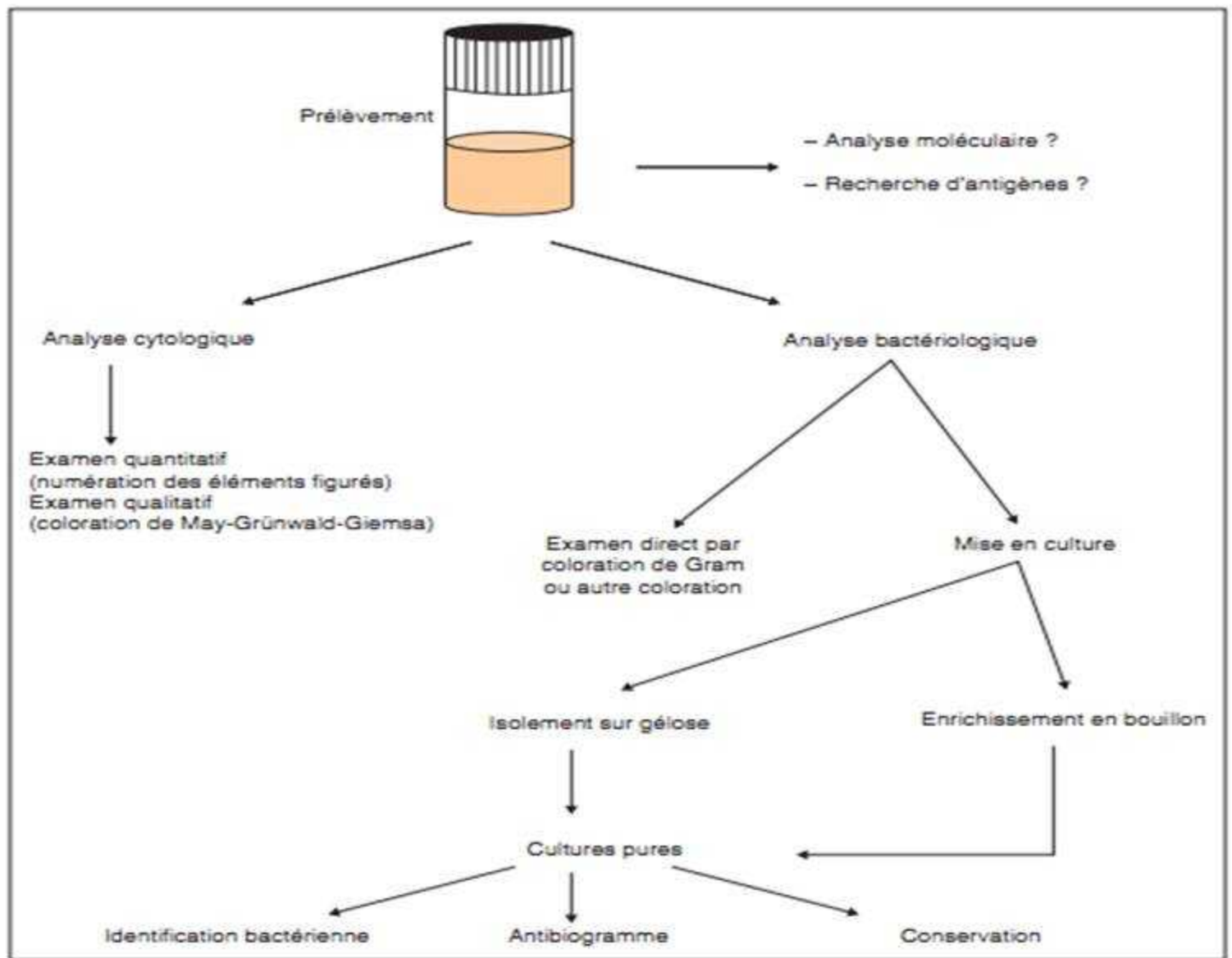
- ❑ Les agents pathogènes ou nécessite des milieux de culture particuliers par des laboratoires spécialisés (ex : mycobactéries, amopathie atypiques : chlamydiae, myco

Démarche de l'examen bactériologique

DIAGNOSTIC INDIRECT : mise en évidence de la réponse de l'organisme à l'infection par la présence d'anticorps spécifiques, le plus souvent sériques ou plus rarement par une réponse d'hypersensibilité, dite allergique.

Démarche de l'examen bactériologique

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



Démarche de l'examen bactériologique

I- Les prélèvements (1ere étape du diagnostic)

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

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

Produits pathologiques

Monomicrobiens

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

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

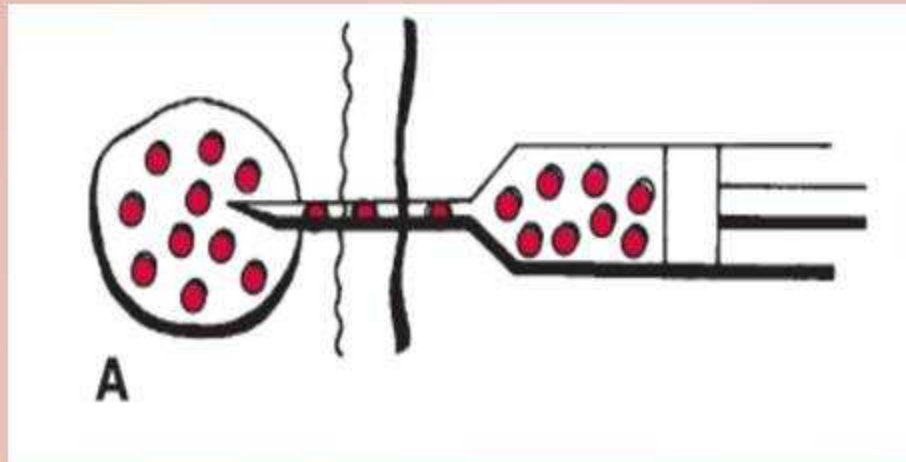
Polymicrobiens

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

Il y a de difficulté dans l'interprétation des résultats

I- Les prélèvements

sites normalement stériles



(liquide céphalorachidien, liquide articulaire, sang, biopsies, etc.)



contamination est très peu probable



si la désinfection a été correctement exécutée.



L'interprétation est relativement aisée.

I- Les prélèvements

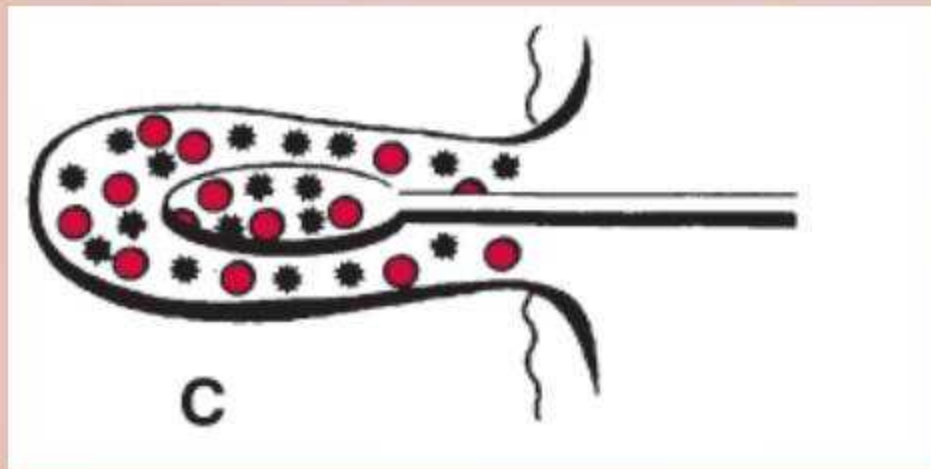
- ❖ site anatomique normalement stérile mais la contamination par une flore endogène est pratiquement obligatoire.



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

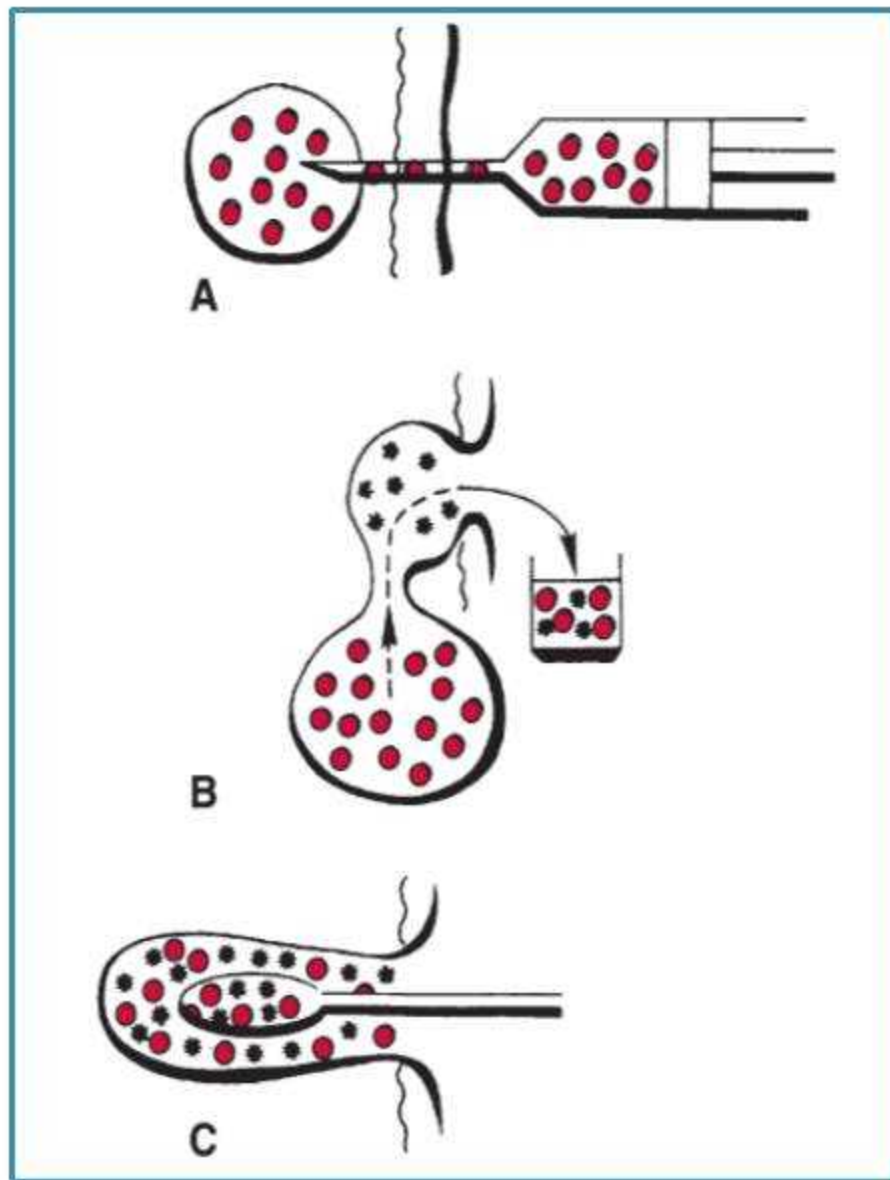
I- Les prélèvements

- ❖ Enfin, lorsque la bactérie responsable de l'infection est associée à une flore endogène.



(c'est le cas dans les infections digestives, les infections cutanées, les angines, etc.),

- ➡ interférer avec l'isolement de la bactérie,
- ➡ l'utilisation de milieux **sélectifs**.



Récapitulatif des lieux de prélèvements

**Bons
prélèvements**



**Bons
résultats**

I- Les prélèvements

I-I - Le préleveur

Il doit respecter les règles de soins et d'hygiène, notamment en ce qui concerne (le port de gants, blouse et dans certains cas de masques ou de lunette de protection).

Tout produit pathologique doit être considéré comme potentiellement infectieux



4 niveaux de sécurité biologique

BSL (Biosefty Laboratory Level 1, 2, 3, 4)

Tableau 1. Classification des micro-organismes infectieux par groupe de risque

Groupe de risque 1 (*risque faible ou nul pour les individus ou la collectivité*)

Micro-organisme qui, selon toute probabilité, ne peut causer de maladie humaine ou animale.

Groupe de risque 2 (*risque modéré pour les individus, faible pour la collectivité*)

Germe pathogène capable de provoquer une maladie humaine ou animale mais qui ne présente vraisemblablement pas un sérieux danger pour le personnel de laboratoire, la collectivité, le bétail ou l'environnement. Une exposition en laboratoire est susceptible d'entraîner une infection grave, mais qui peut être traitée ou prévenue efficacement; par ailleurs le risque de propagation de l'infection est limité.

Groupe de risque 3 (*risque important pour les individus, faible pour la collectivité*)

Germe pathogène qui cause habituellement une grave maladie humaine ou animale, mais qui ne se transmet généralement pas d'un individu à l'autre. Il existe un traitement et des mesures préventives efficaces.

Groupe de risque 4 (*risque important pour les individus comme pour la collectivité*)

Germe pathogène qui cause habituellement une grave maladie humaine ou animale et peut se transmettre facilement d'un individu à l'autre, soit directement, soit indirectement. Il n'existe généralement ni traitement, ni mesures préventives efficaces.

I-1- Le préleveur

Chaque pays ou région devra établir une classification nationale ou régionale, par groupe de risque, des micro-organismes. Cette classification devra reposer sur les critères suivants :

- ❑ Pathogénicité du germe.

- ❑ Mode de transmission et gamme d'hôtes, qui peuvent dépendre de l'état immunitaire de la population locale, de la densité et de la mobilité des hôtes, de la présence de vecteurs appropriés et du niveau d'hygiène de l'environnement.

I-1- Le préleveur

- ❑ Possibilité de prendre localement des mesures préventives efficaces, lesquelles peuvent comprendre : une prophylaxie par vaccination ou administration d'immunsérums (immunisation passive), des mesures sanitaires concernant par exemple l'hygiène des aliments et de l'eau, l'élimination des réservoirs animaux ou des arthropodes vecteurs.
- ❑ Possibilité de dispenser localement un traitement efficace : immunisation passive, vaccination post-exposition, utilisation d'anti-infectieux et d'agents chimiothérapeutiques ou antiviraux, sans négliger le risque d'apparition de souches pharmacorésistantes.

I-2- Le moment de prélèvement

Avant l'administration d'agents antimicrobiens (ATB,...).

le début de processus infectieux (pic fébrile).

N.B. Si la sévérité de l'évolution ne permet pas l'arrêt des antibiotiques pendant plus de quelques heures, l'antibiothérapie en cours reste justifiée et des modalités techniques particulières peuvent être proposées. L'ensemencement pourra par exemple être pratiqué dans des milieux liquides permettant de **diluer les antibiotiques** de l'échantillon, ou dans des milieux contenant **des inhibiteurs d'antibiotiques**.

I-3- Le site de prélèvement

Le site de prélèvement

Les plus proches du foyer infectieux initial

Les localisations secondaires

La porte d'entrée

Les voies d'*excrétion* ou d'*évacuation* de l'infection (fistule, drainage).

1-4- Une quantité suffisante de matériel est nécessaire pour une analyse complète

Une **trop petite quantité** de matériel ne permet pas au laboratoire de réaliser les frottis et les cultures appropriés. Le microbiologiste privilégie alors les techniques permettant la reconnaissance des bactéries les plus souvent en cause.

1-4- Une quantité suffisante de matériel est nécessaire pour une analyse complète

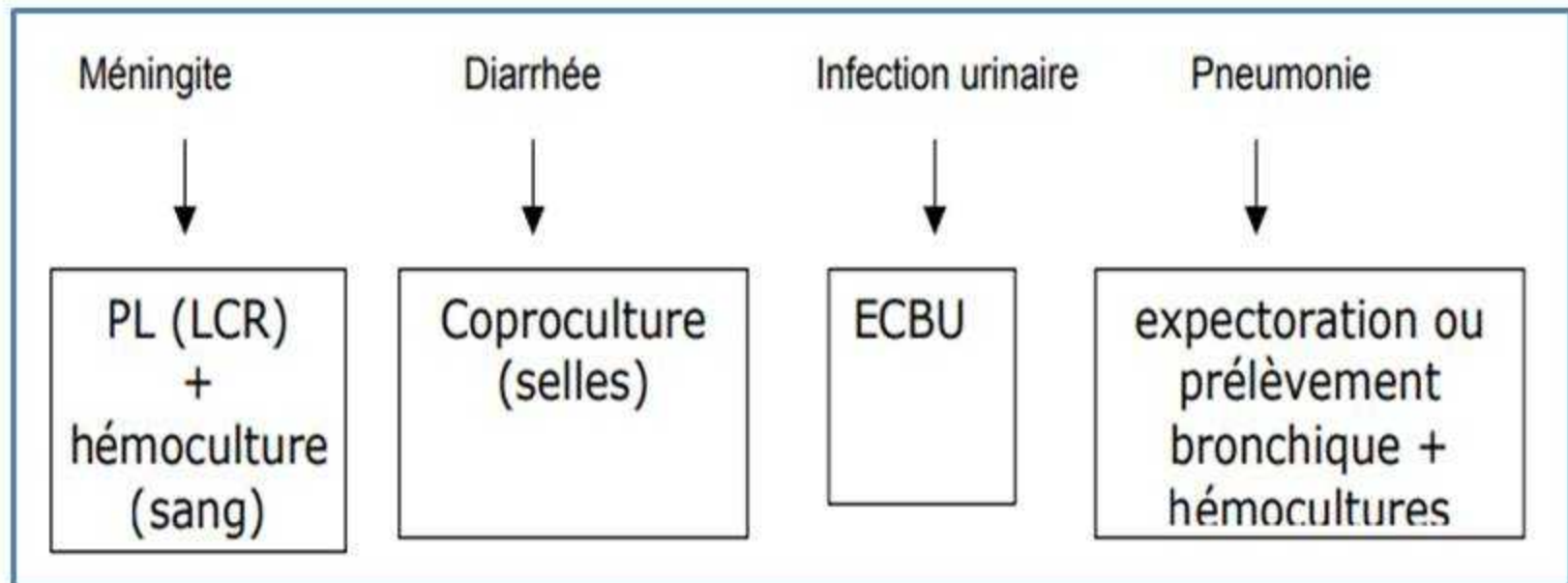
Ceci est particulièrement problématique pour les **lésions chroniques** contenant un petit nombre de micro-organismes qui risquent de ne pas être **détectés** à l'examen microscopique d'un frottis, ni même **recupérés** en culture. Des volumes insuffisants peuvent donc donner lieu à des résultats **faussement négatifs**.

1-4- Une quantité suffisante de matériel est nécessaire pour une analyse complète

Comme les échantillons de **sang**, les produits de ponction ou de biopsie contenant une faible quantité de bactéries peuvent êtreensemencés directement dans un milieu de culture liquide. Il faut alors réduire au maximum les risques de contamination par des bactéries se multipliant plus rapidement que l'agent pathogène.

I-5- Les méthodes de prélèvement

Dépendant des micro-organismes capable d'infecter différents organes ou tissus. Elles dépendent également du type de lésion et de l'enjeu du diagnostic étiologique, *en limitant les indications des prélèvements invasifs* selon le bénéfice escompté et les risques **iatrogènes**.



I-5- les méthodes de prélèvement

Dans **tous** les cas, les prélèvements seront réalisés avec du matériel ***stérile*** à usage unique, selon les règles d'hygiène et d'asepsie appropriées.

I-5- Les méthodes de prélèvement



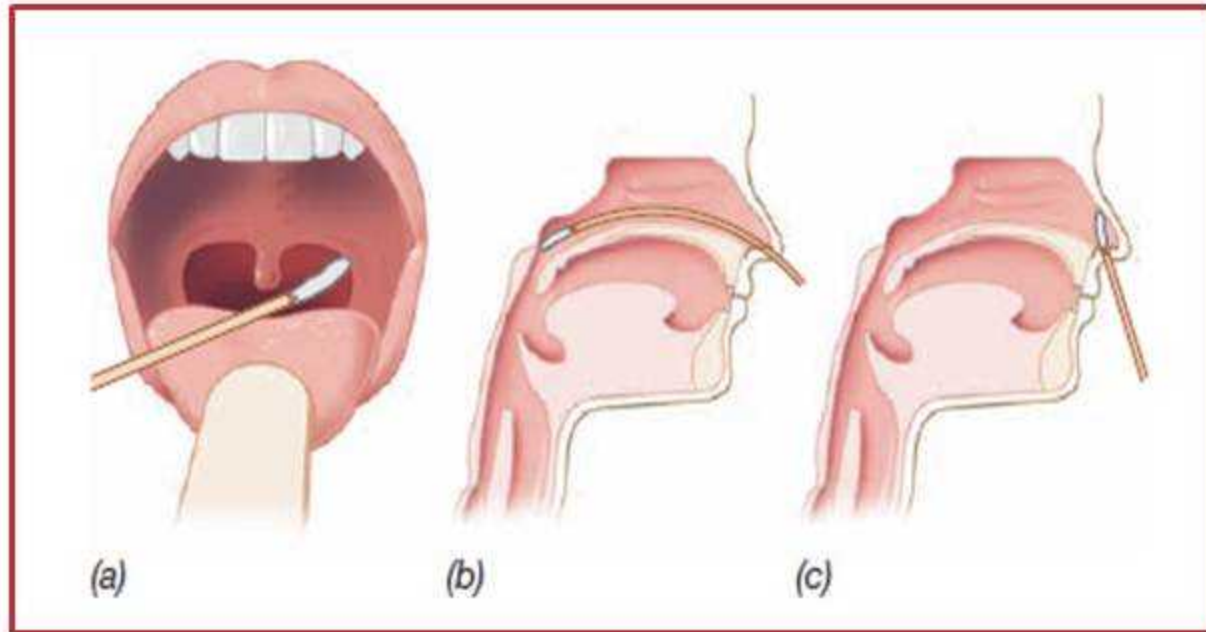
Un écouvillon stérile est introduit doucement dans la narine et dans le nasopharynx

©ADAM

Écouvillonnage

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

Usage limité aux
prélèvements des
téguments ou des
muqueuses



Specimens from the upper respiratory tract. (a) Throat swab. (b) Nasopharyngeal swab passed through the nose. (c) Swabbing the inside of the nose.



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

ponction

cathétérisme

chirurgie

I-5- Contamination des prélèvements

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

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

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

I-6- Récipients contenant les échantillons

Identification de récipient

- ❑ Nom, prénom et la date de naissance de malade
- ❑ La date, l'heure, la nature et le site de prélèvement.

Délai de transport et conservation des échantillons

En règle générale, les bactéries ne résistent pas à la dessiccation et au froid, en particulier lorsque de petits volumes d'échantillon sont prélevés.

La plupart des échantillons primaires peuvent être transportés à température ambiante (22°C) s'ils sont apportés rapidement au laboratoire (délai inférieur à 4h).

Les bactéries qui ne supportent pas de délai peuvent être préservées dans des *milieux de transport* (assurent la survie des germes sans provoquer de multiplication).

Conservation des échantillons

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

La conservation à $+4^{\circ}\text{C}$ inhibent la multiplication bactérienne.

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

Milieux de transport

Ces milieux sont destinés à la conservation de certains types de micro-organisme et à l'inhibition des autres organismes de croissance plus rapide.

Les milieux de *stuart* conviennent pour la plupart des bactéries, y compris les anaérobies strictes.

CONCLUSIONS

- **Ne prélever que si c'est nécessaire**
- **respecter les conditions de prélèvement et de transport**
- **analyser et interpréter en fonction de la clinique**
- **étudier à mauvais escient peut entraîner des erreurs de diagnostic**
- **un traitement antibiotique non nécessaire peut être dangereux pour le patient et/ou l'environnement (population)**

Diagnostique de labo de l'infection

microscopy



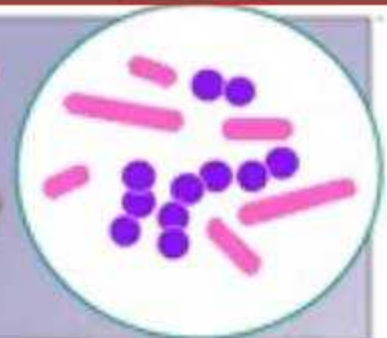
unstained or stained with e.g. Gram stain



Stain

Decolorise

Counterstain



culture



identification by biochemical or serological tests on pure growth from single colony



on plates or in broth



sensitivities



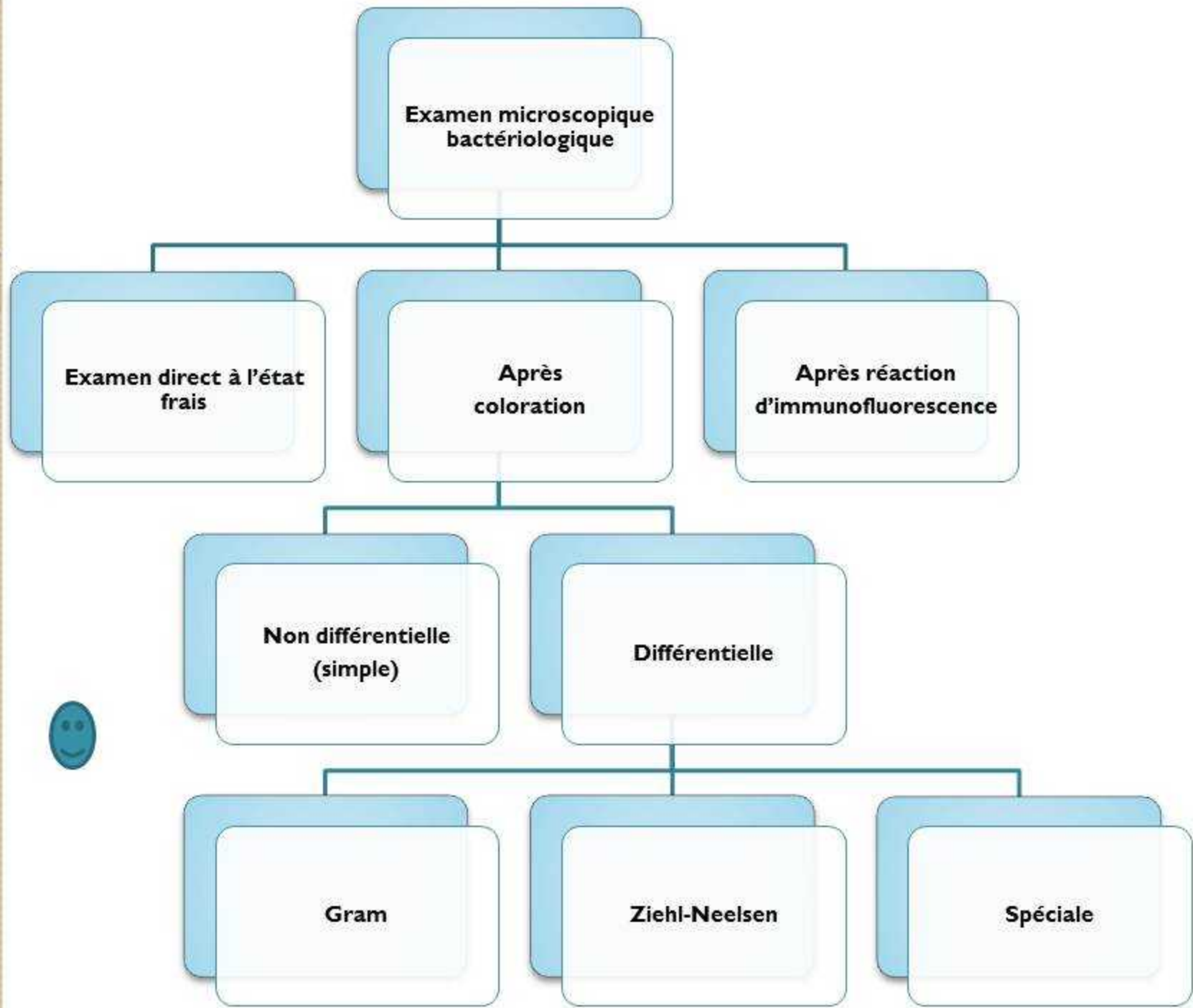
by disc diffusion methods, breakpoints or MICs



Serodiagnosis



DNA technologies



**Examen microscopique
bactériologique**

**Examen direct à l'état
frais**

**Après
coloration**

**Après réaction
d'immunofluorescence**

**Non différentielle
(simple)**

Différentielle

Gram

Ziehl-Neelsen

Spéciale

Coloration de Gram

Coloration basée sur la perméabilité de la paroi des bactéries à l'alcool.

- 1^{er} temps : cristal violet + lugol

⇒ complexe colorant soluble dans l'alcool qui colore en violet le cytoplasme de toutes les bactéries.

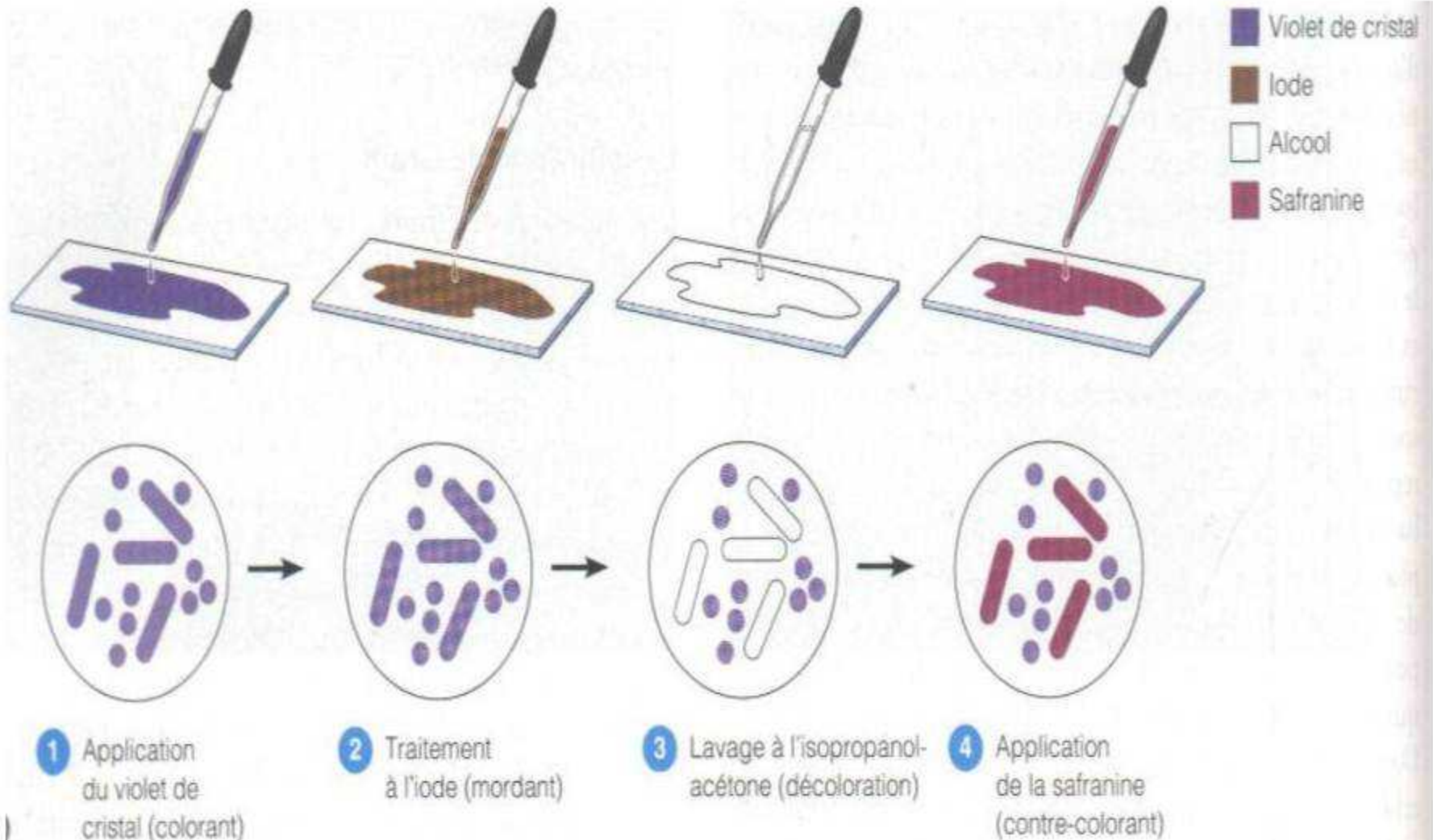
- 2^e temps : décoloration par l'alcool

⇒ l'alcool traverse la paroi des bactéries dites à Gram négatif et dissout le complexe colorant (bactéries décolorées).

⇒ bactéries à Gram positif : la paroi ne se laisse pas traverser par l'alcool (bactéries restent colorées en violet): bactéries dites à **Gram positif**.

- 3^e temps : contre coloration par de la fushine (rose) : les bactéries décolorées apparaissent rose ⇒ on les dit à **Gram négatif**.

Coloration de Gram



Coloration de gram

Chez les bactéries à Gram positif, **la paroi bloque l'extraction** du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif.

Coloration de Gram

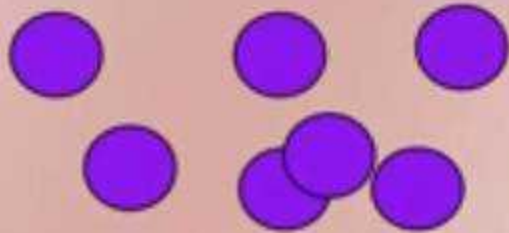
Retenir : La coloration de Gram ne permet pas une identification mais une *orientation*.

Renseigne sur

- la présence (ou absence) de bactéries.
- leur forme (cocci ou bacille, cocobacille, fusiforme).
- leur groupement (amas, chaînettes, diplocoques)
- leur gram (+ ou -) \Rightarrow très utile car oriente *l'antibiothérapie*.

Coloration de Gram (Résultat)

Gram-positive cocci



Gram-positive rods



Gram-negative cocci



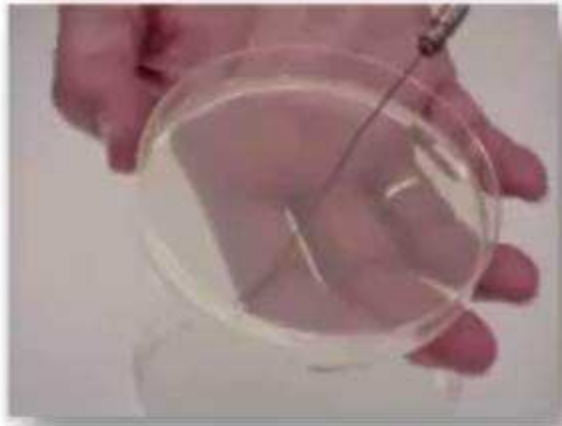
Gram-negative rods



Bactéries qui ne sont pas colorable par Gram

1. Bactérie avec une paroi très riche en lipide.
Exp: Mycobactérie
2. Bactérie qui ne possède pas une paroi Exp:
Mycoplasme
3. Bactérie à multiplication intracellulaire
obligatoire. Exp Chlamydia, Rickettsia
4. Bactérie très mince pour la visualiser. Exp
treponema

Les milieux de culture en bactériologie



Les milieux de culture en bactériologie

Introduction

L'examen direct d'un étalement biologique contenant des bactéries n'est généralement pas suffisant pour identifier l'espèce bactérienne en cause;

seule la culture associée à une galerie d'identification biochimique peut garantir une identification **précise**.

Les milieux de culture en bactériologie

Définition

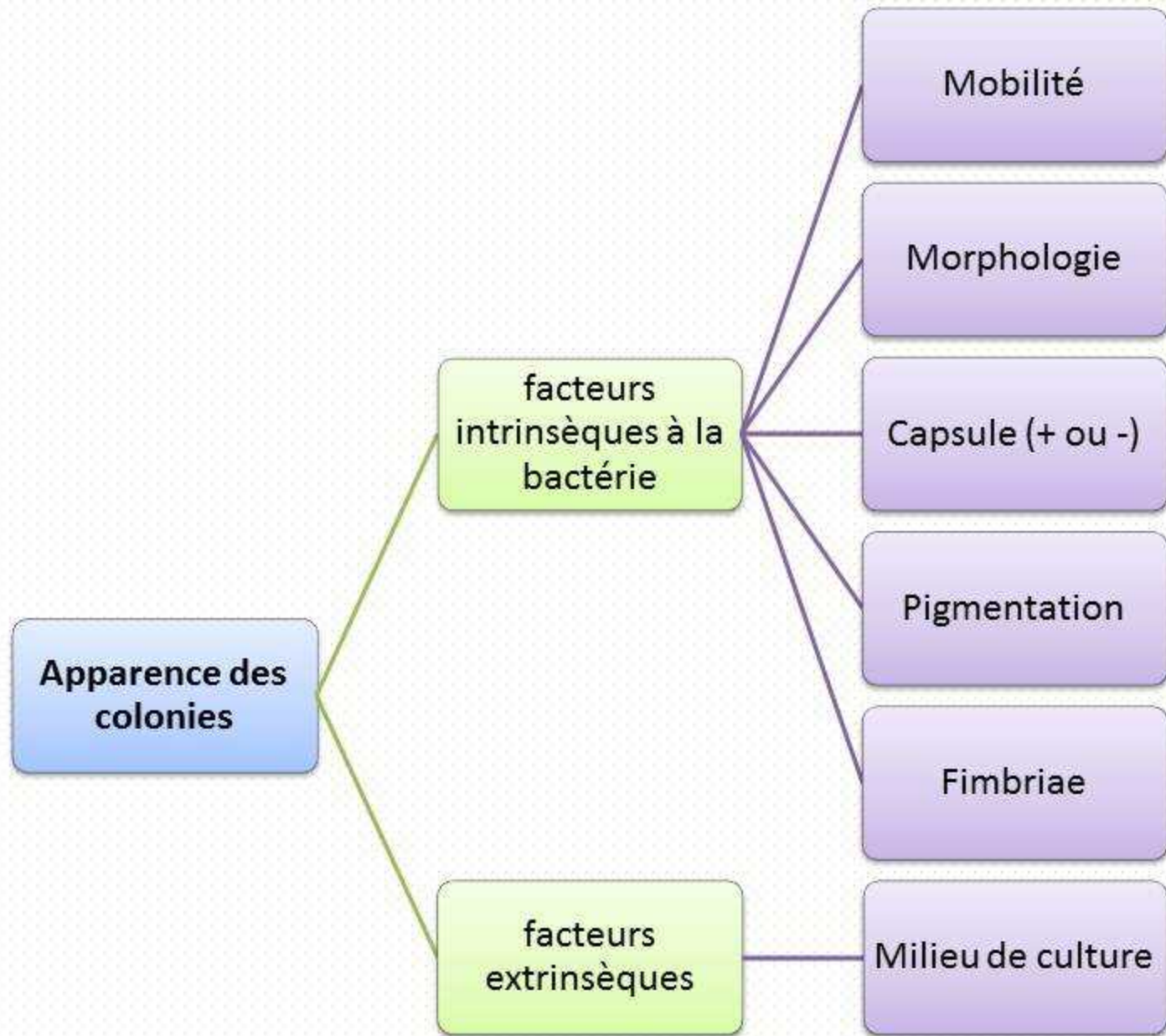
Un **milieu de culture** est composé d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, bases nucléiques, sucres, etc), d'un système tampon pour éviter les variations importantes du pH, de sels minéraux et de vitamines. Il est possible d'ajouter d'autres facteurs de croissance (sang, protéines, hémoglobine, vitamines). Ils sont de nature solide, semi-solide ou liquide.

Les milieux de culture en bactériologie


















Définition

Les bactéries d'intérêt médical les plus fréquemment responsables d'infection arrivent à se développer sur des milieux de culture.

Ces milieux de culture sont indispensables à la multiplication bactérienne, ce qui permet par la suite une identification bactérienne ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques lorsque la bactérie est isolée en culture **pure**.



N.B. L'aspect des colonies est le caractère primaire utilisé pour orienter le diagnostic effectué par le bactériologiste

| | | | | | | |
|-----------|--|--|---|--|--|--|
| Forme |  |  |  |  |  |  |
| | Punctiforme | Circulaire | Filamenteuse | Irrégulière | Rhizoïde | Fusiforme |
| Élévation |  |  |  |  |  | |
| | Plane | Elevée | Convexe | Bombée | Bossue | |
| Bord |  |  |  |  |  |  |
| | Régulier | Ondulé | Lobé | Dentelé | Filamenteux | Bouclé |

Morphologies des colonies bactériennes

Différents type de milieux de culture bactérien

Base

- permet la croissance d'espèces non ou peu exigeantes.

Enrichissement

- enrichis par l'addition de diverses substances (sérum, œuf, sang, vitamines, etc.) qui autorisent la croissance de bactéries plus exigeantes (*fastidieuse*).

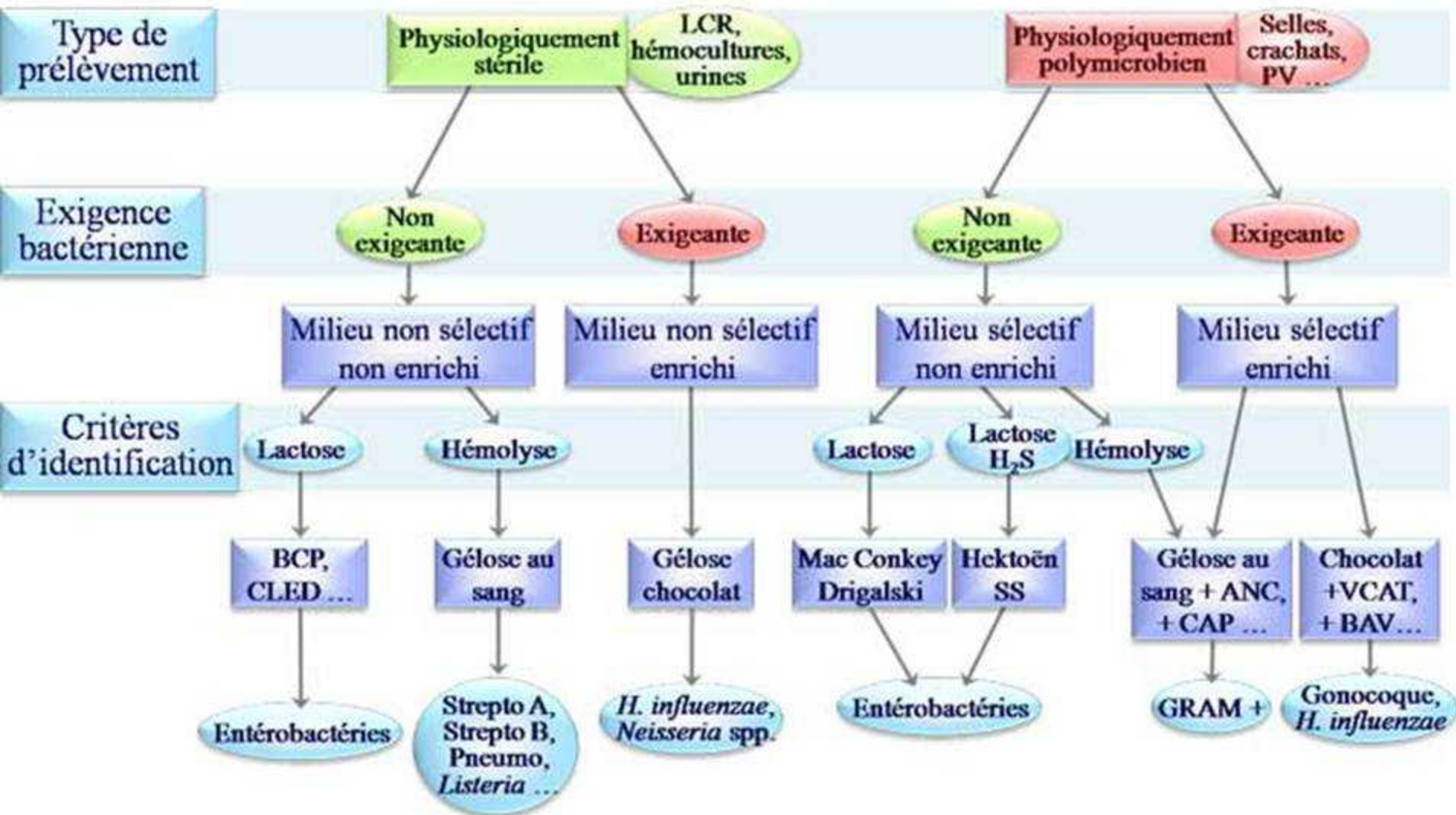
Différentiel

- Contient des facteurs qui permettent la croissance des différentes espèces bactériennes sur le même milieu.

Sélectif

- Par addition d'antibiotiques, d'antiseptiques ou de colorants qui vont inhiber les bactéries sensibles à ces composés.

Choix d'un milieu de culture

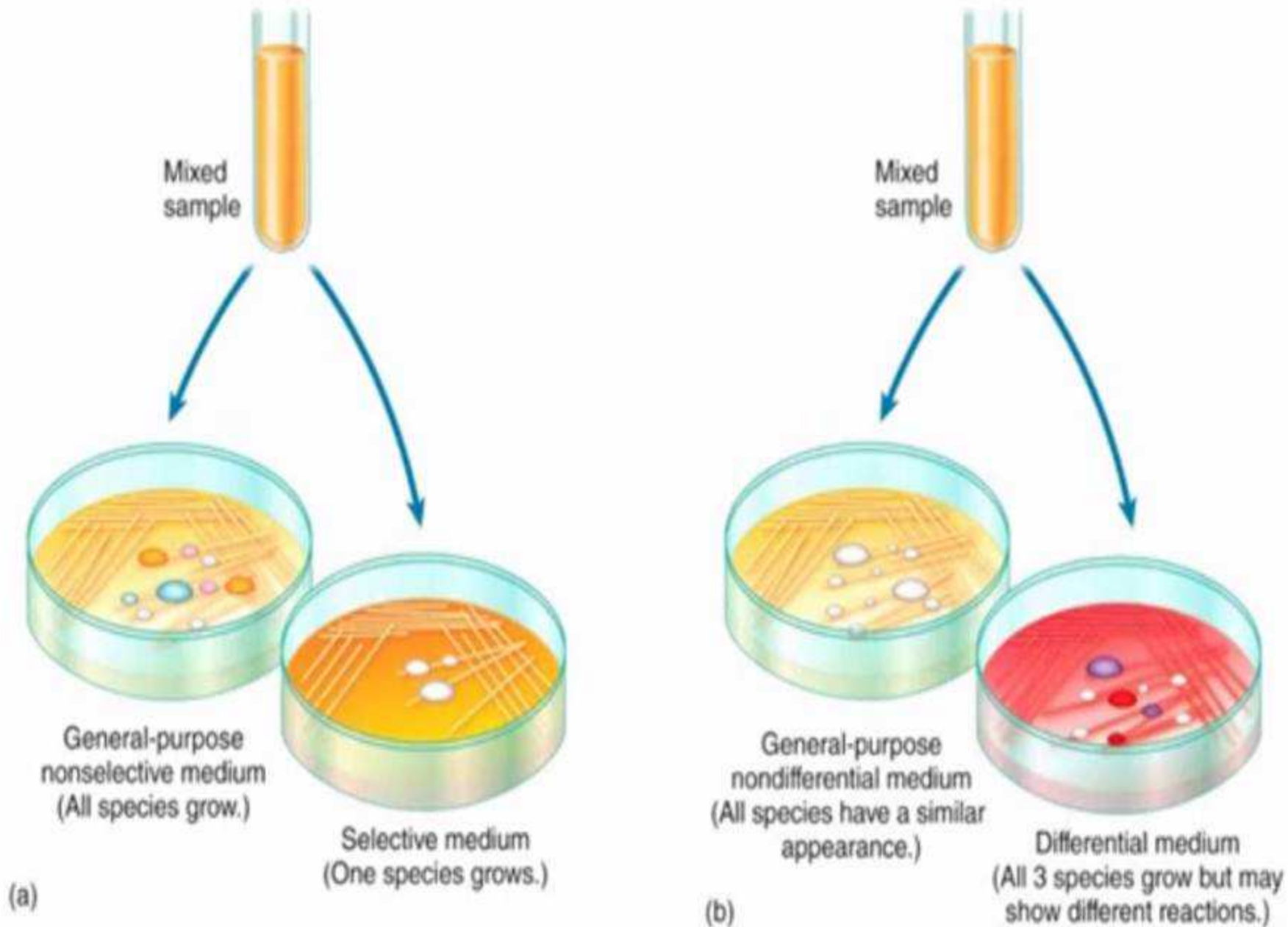


Milieux spécifiques de certaines espèces

Chapman : *S. aureus* ; Granada : *S. agalactiae* ; Cétrimide : *P. aeruginosa* ; milieux chromogènes ...

Comparison of Selective and Differential Media

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display



Gélose Mac Conkey



Sélectivité

- Sélectif des gram négatif (sels biliaires + cristal violet)

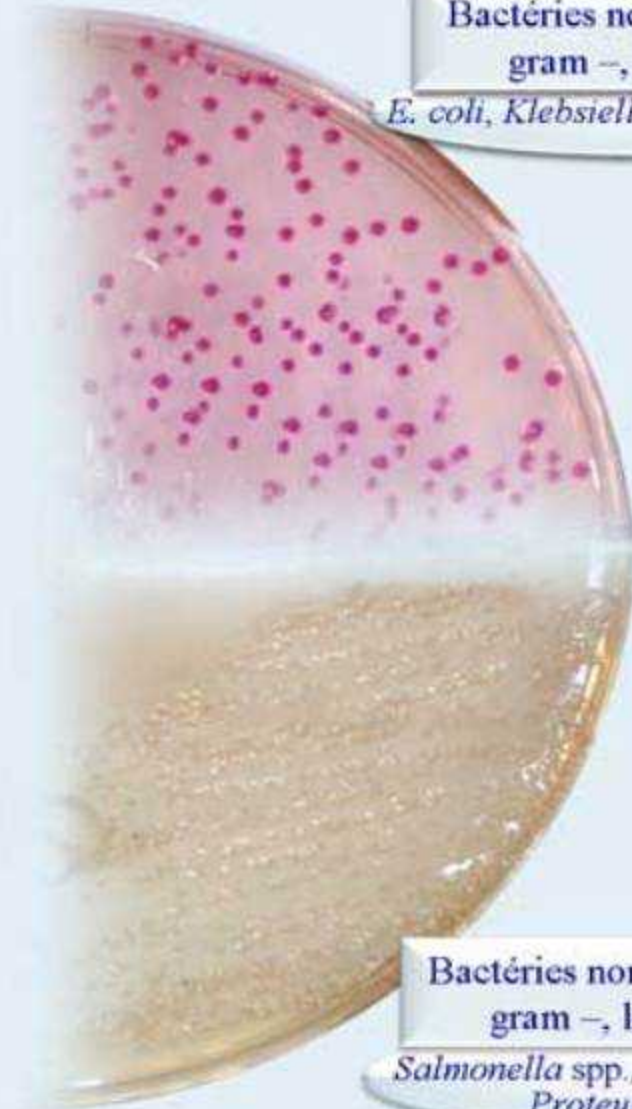
Indicateur coloré

- Rouge neutre (vire du rose pâle au rose foncé)

Substrats

- Sucre : lactose

Différentiel



Bactéries non exigeantes
gram -, lactose +

E. coli, Klebsiella, Enterobacter ...

Bactéries non exigeantes
gram -, lactose -

*Salmonella spp., Shigella spp.,
Proteus spp.*

Techniques d'isolement et de purification des bactéries pathogènes

Isolement et purification des bactéries

Définition

L'isolement est une technique qui permet de séparer les bactéries d'un échantillon. Il permet d'obtenir des colonies différentes, espacées les unes des autres.

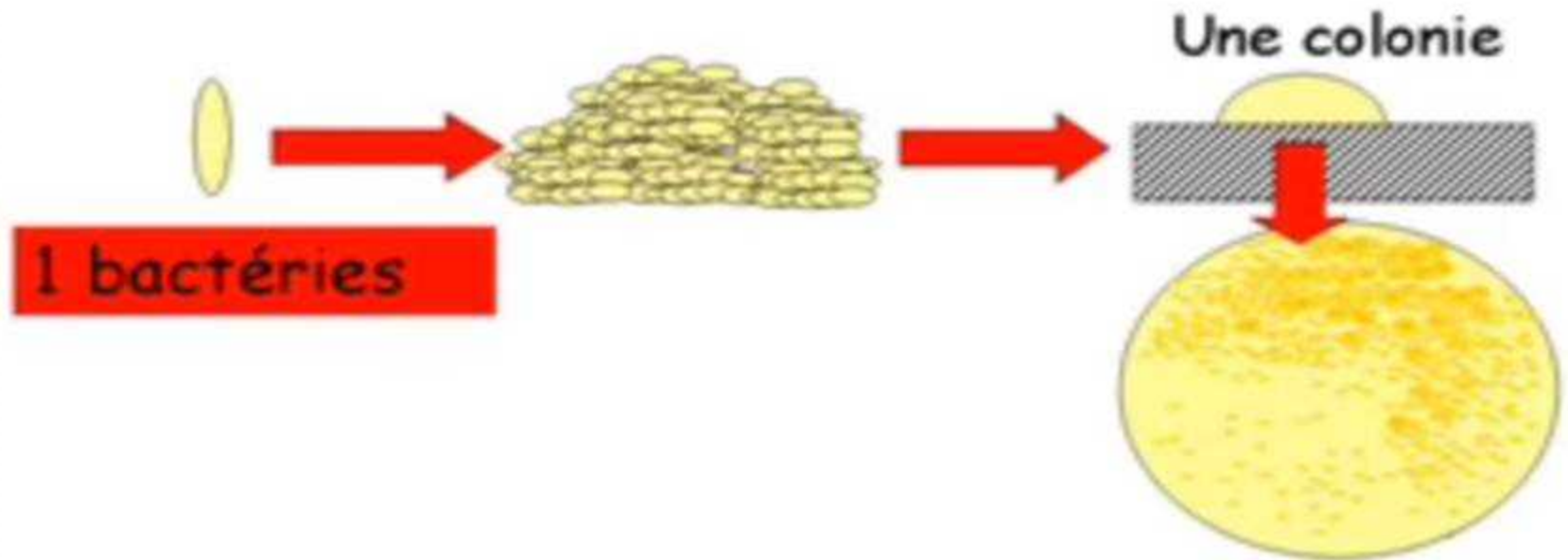


Les milieux d'isolement sont des milieux solides qui permettent d'obtenir des colonies isolées permettant d'effectuer les tests **d'identification** ou d'étudier la **sensibilité aux antibiotiques** des bactéries d'intérêt médical.

Isolement et purification des bactéries

Principe

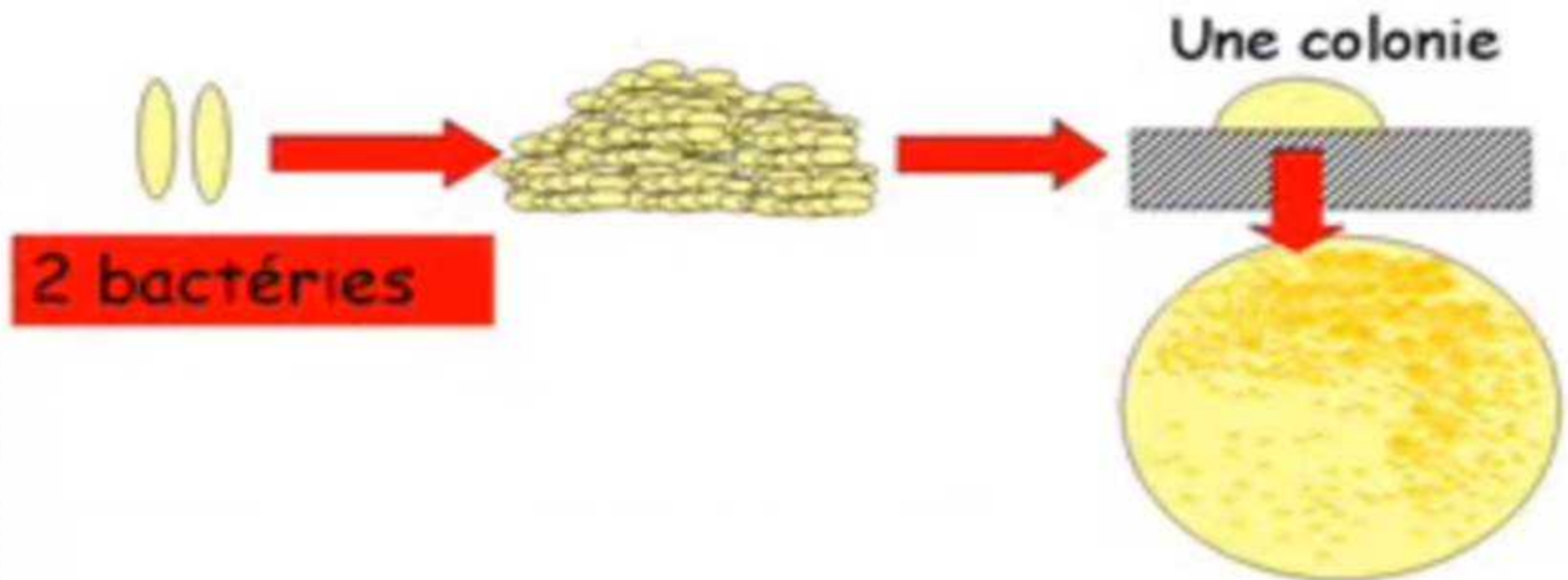
Une bactérie se multiplie en des millions d'exemplaires identiques qui forment une colonie visible à l'œil nu.



Cela permet l'isolement des bactéries en *culture pure* parce que la colonie est supposée provenir d'un *seul organisme*.

Isolement et purification des bactéries

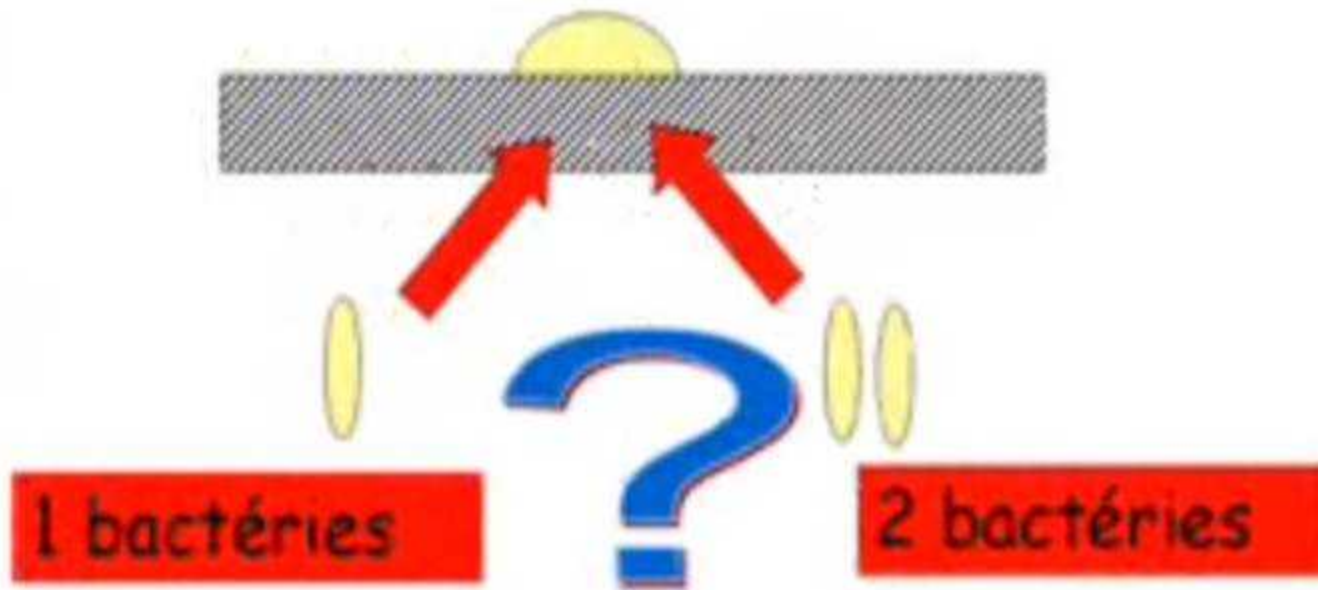
Attention: 2 bactéries l'une à côté de l'autre peuvent donner une seule colonie visible à l'œil nu.



Isolement et purification des bactéries

Une colonie peut alors être dénommée **UFC** pour unité formant colonie.

Une colonie = UFC « unité formant colonie »



Isolement et purification des bactéries

Si l'on sépare **physiquement** des bactéries en les déposant sur un milieu de culture gélosé (ensemencement) on a des chances de séparer suffisamment les bactéries pour qu'une *colonie* *correspond à une seule bactérie.*

Isolement et purification des bactéries

Culture mixte

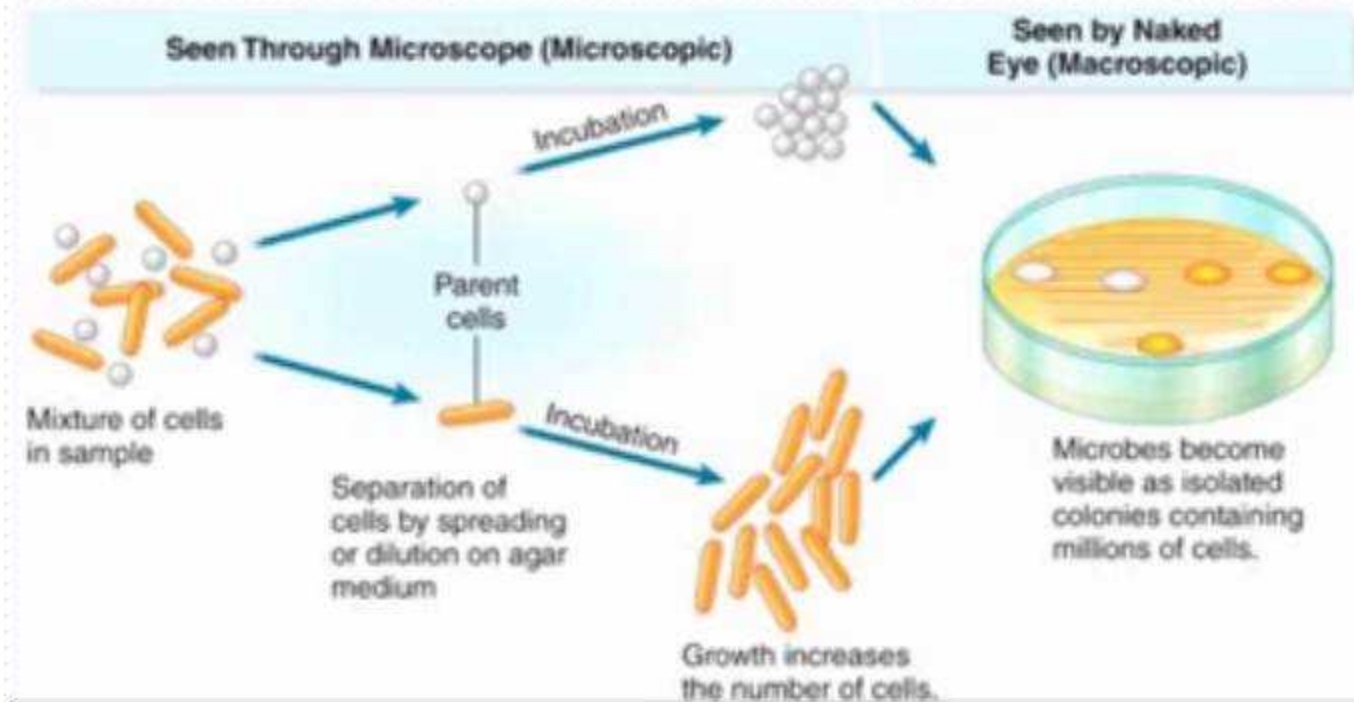


Culture pure

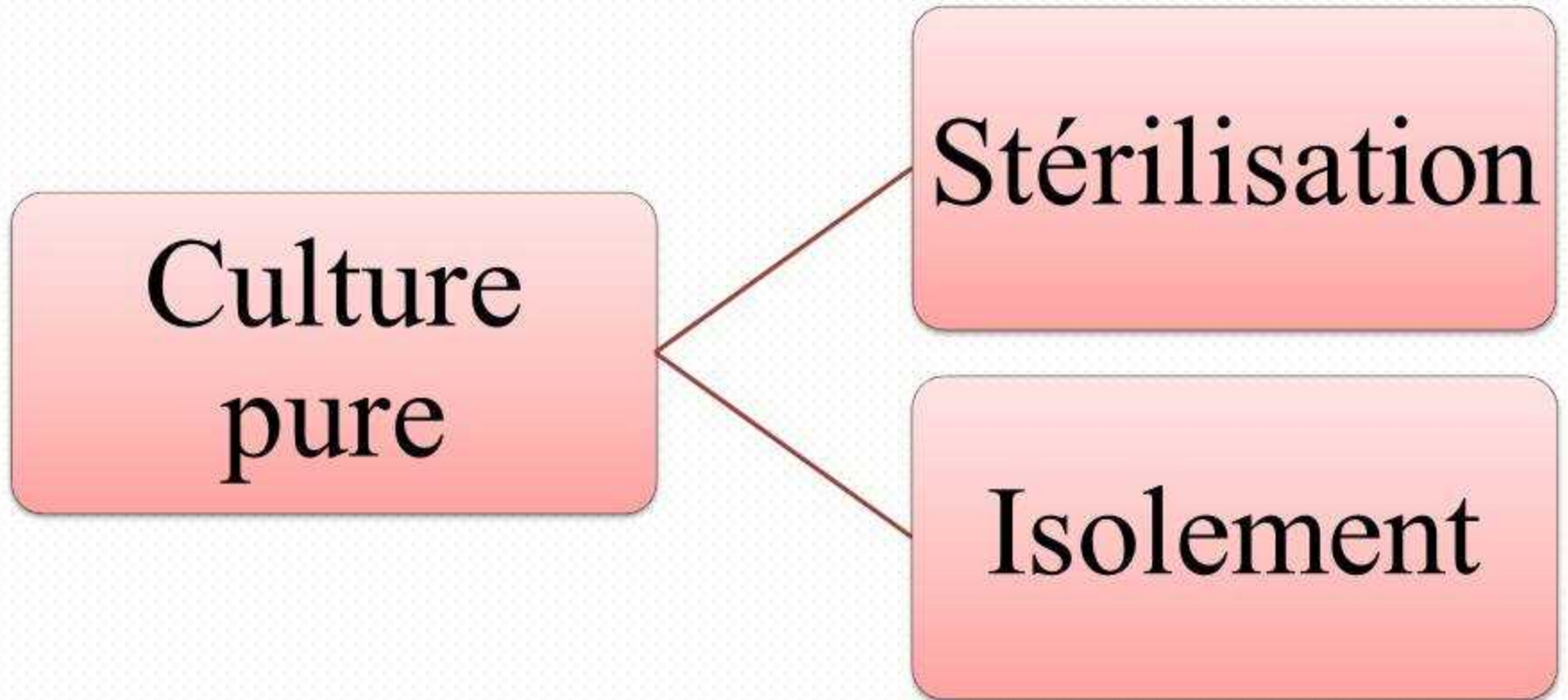
Contient Plusieurs
espèces bactériennes

Contient une seule
espèce bactérienne.

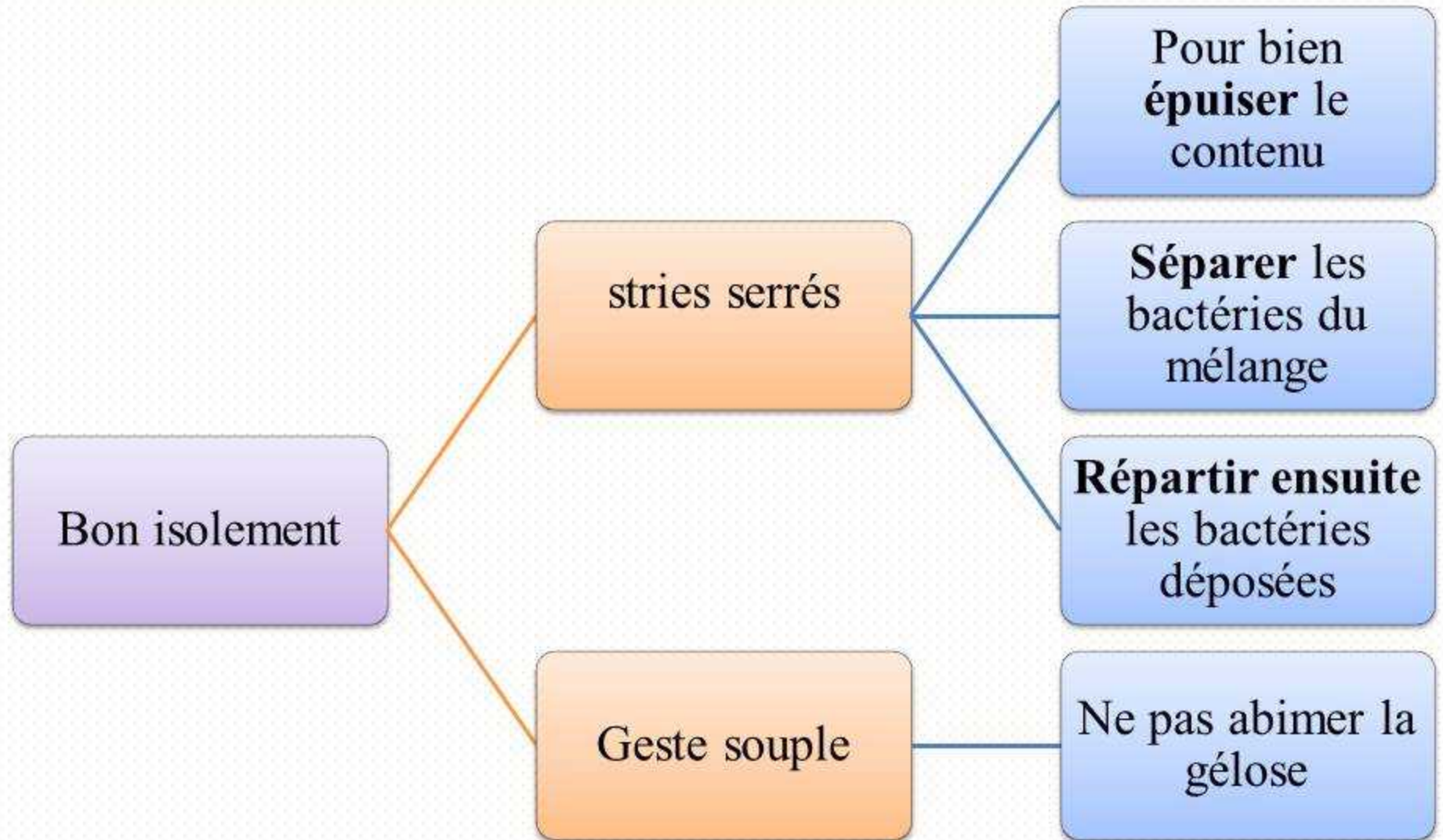
Isolement et purification des bactéries



Isolement et purification des bactéries



Réussir un isolement



Méthodes d'isolement

❑ **Technique d'isolement par épuisement**

(méthode des cadrants)

❑ *technique d'incorporation dans la gélose*

❑ *Ensemencement par la technique du râteau*

Qu'est-ce qu'un bon isolement ?

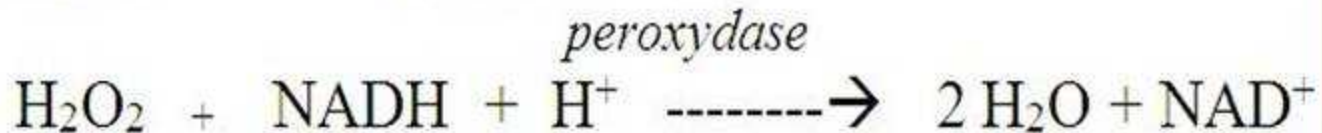
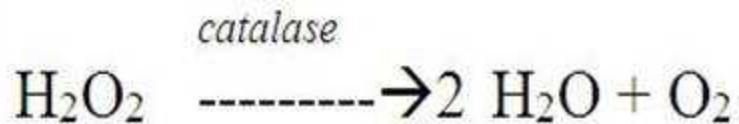
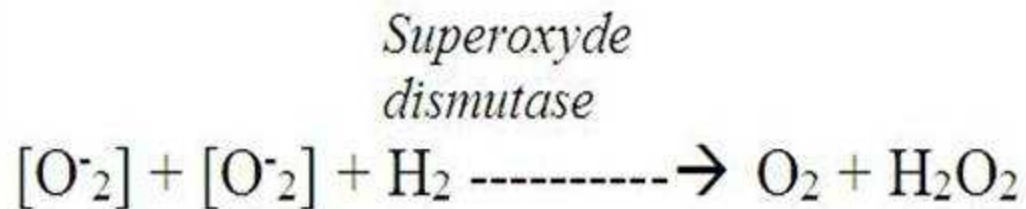
- ❑ La présence d'un nombre suffisant de colonies isolées dans la dernière partie de l'isolement.
- ❑ La présence d'un gradient décroissant et régulier de colonies.



Chapitre V: Tests biochimiques pour l'identification des bactéries

1- Test de catalase

Rappel

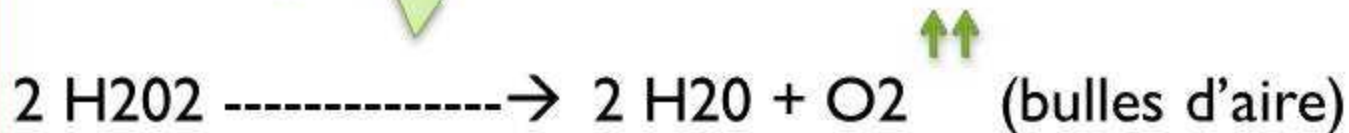


1- Test de catalase

Objectif: déterminer la capacité de la bactérie à produire de catalase.

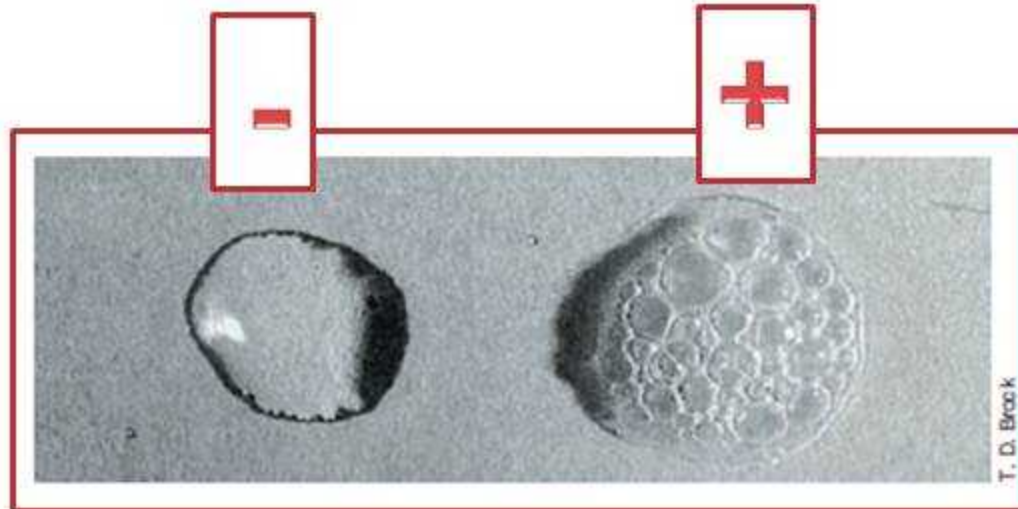
Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir d'H₂O₂ une libération d'oxygène gazeux.

catalase



La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) formé comme sous produit de processus métaboliques

1- Test de catalase





Method for testing a microbial culture for the presence of catalase. A heavy loopful of cells from an agar culture was mixed on a slide (right) with a drop of 30% hydrogen peroxide. The immediate appearance of bubbles is indicative of the presence of catalase. The bubbles are O_2 produced by the reaction $H_2O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{S} 2 H_2O + O_2$.

Test de catalase

Intérêt

Différentiation entre les espèces de la famille des Micrococcaceae

- ❖ catalase +  *Staphylococcus spp*
- ❖ catalase -  *Streptococcus spp*

2- Test de nitrate réductase

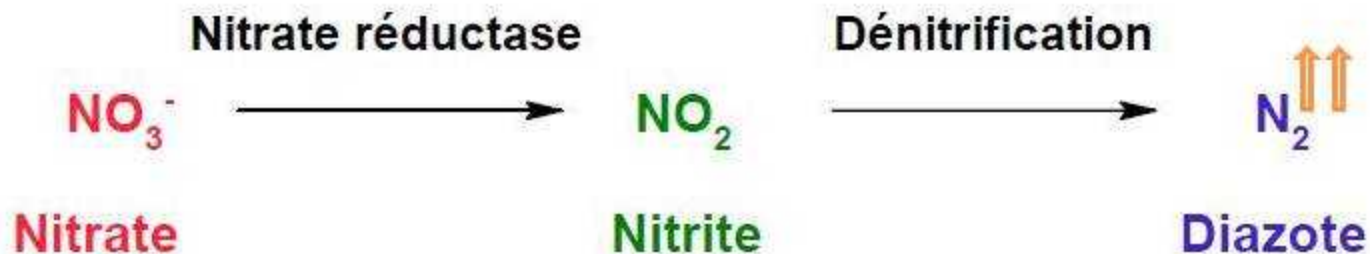
- En l'absence d'oxygène, certaines bactéries peuvent obtenir leur énergie par respiration anaérobie.
- **Cette respiration anaérobie** est liée à l'activité d'enzymes localisées dans la membrane plasmique bactérienne.

2- Test de nitrate réductase

Objectif : recherche la production d'une enzyme : la nitrate-réductase par la bactérie.

Principe

La réduction des nitrates par la nitrate réductase se traduit par la production de nitrites. Parfois, certaines bactéries peuvent poursuivre cette réduction, jusqu'à une dénitrification.



consister à mettre en évidence le métabolite nitrite ou la disparition des nitrates initiaux.

Remarque : La bactérie produit cette enzyme quand elle est cultivée en anaérobiose (elle est inhibée par l'oxygène).

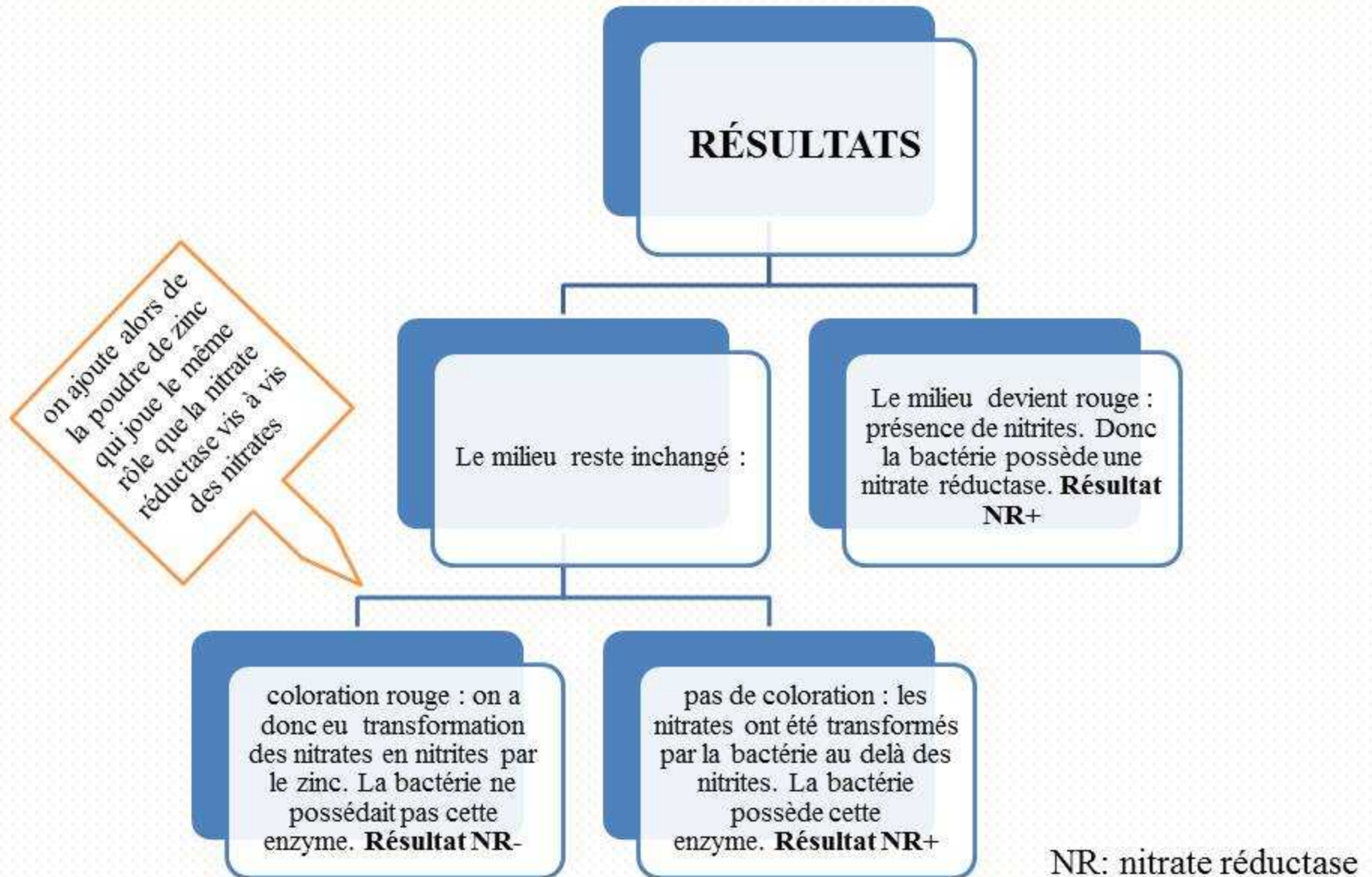
2- Test de nitrate réductase

Ce test va consister à mettre en évidence la présence ou non des nitrites dans le milieu de culture. S'ils sont présents, ils donnent une réaction colorée rose en présence d'acide *sulfanilique* et de *naphtylamine*. Ces réactifs portent le nom de réactifs de **GRIESS**.

En l'absence de nitrites, on va rechercher la disparition des nitrates par addition de zinc : en effet le zinc réduit les nitrates en nitrites.

N.B: *zinc joue le même rôle de nitrate réductase*

2- Test de nitrate réductase

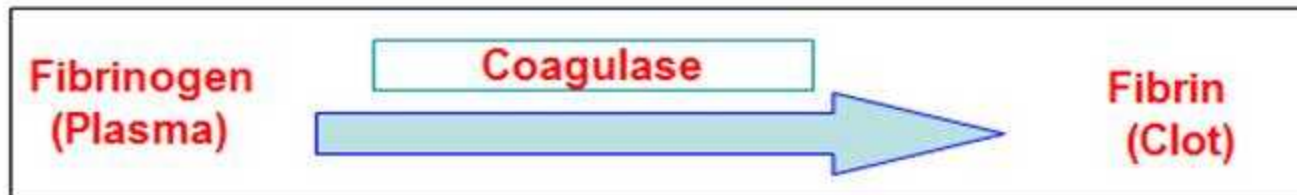


2- Test de nitrate réductase

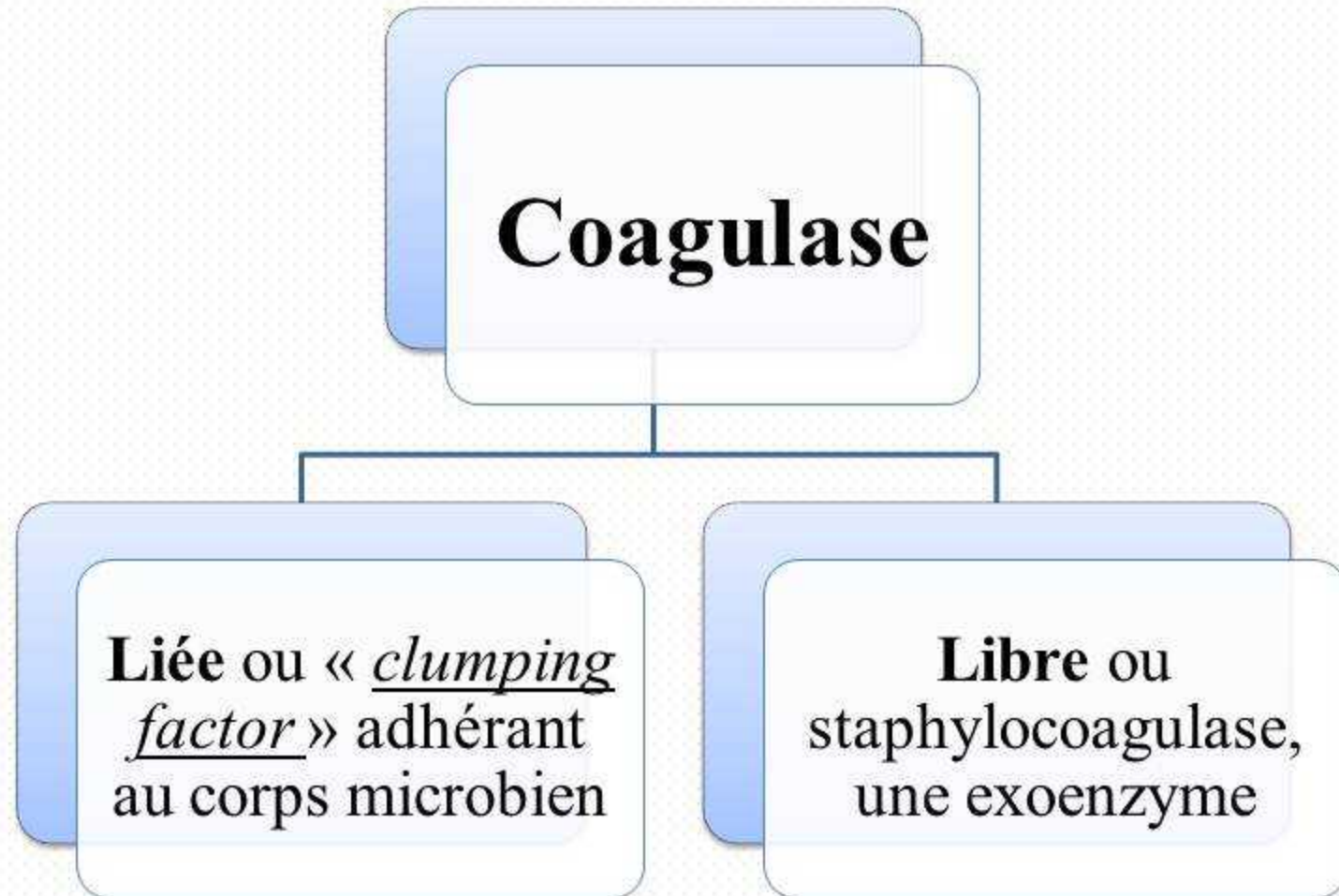
- Les réactifs des nitrites sont toujours présents. Deux cas sont possibles :
- Coloration rouge : les nitrates encore présents dans le milieu ont été réduits en nitrites par le zinc et ont réagi avec les réactifs, la nitrate réductase est donc négative.
- Pas de coloration rouge : au contraire les nitrates du milieu ont été réduits par les bactéries et l'addition de zinc ne peut produire de nitrites. La nitrate réductase est donc positive jusqu'au stade azote.

3- Coagulase

L'objectif est de déterminer la capacité d'un organisme de produire la coagulase qui induit la coagulation de plasma.



3- Coagulase

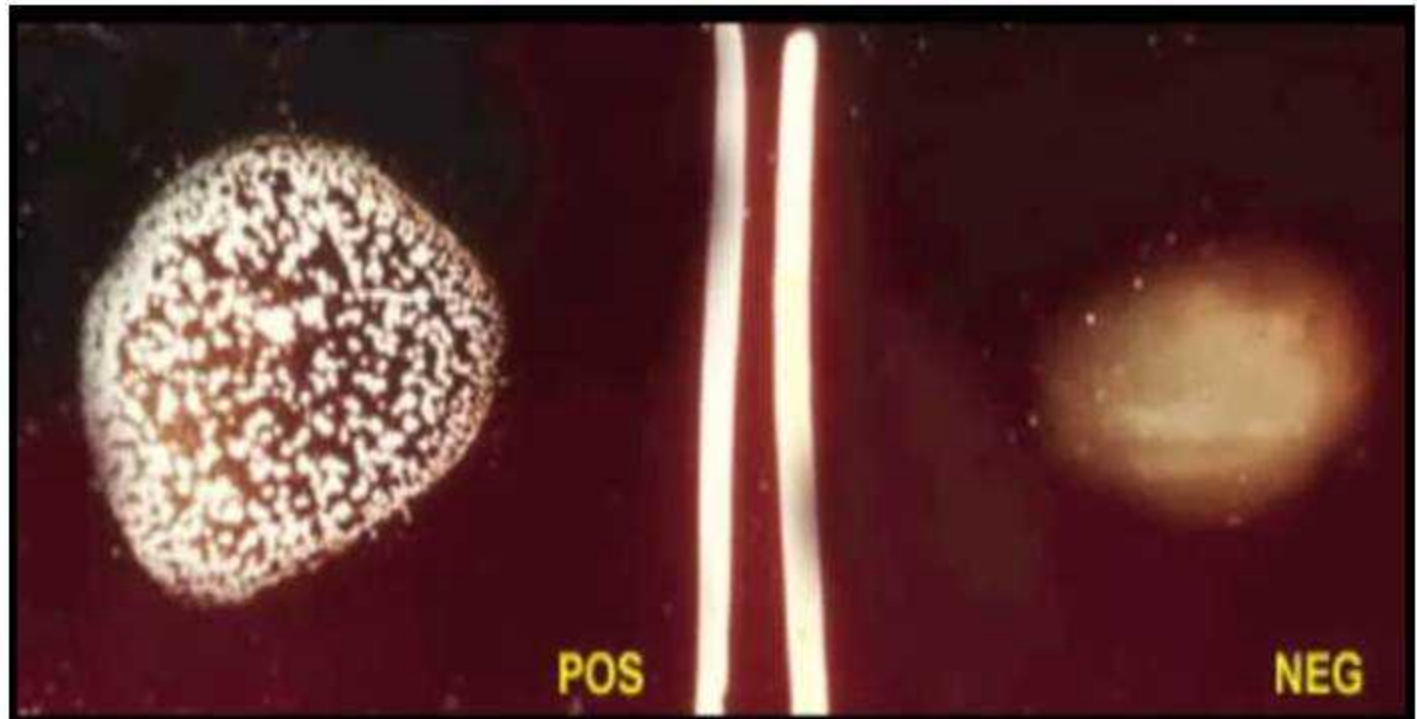


3- Coagulase

Principe

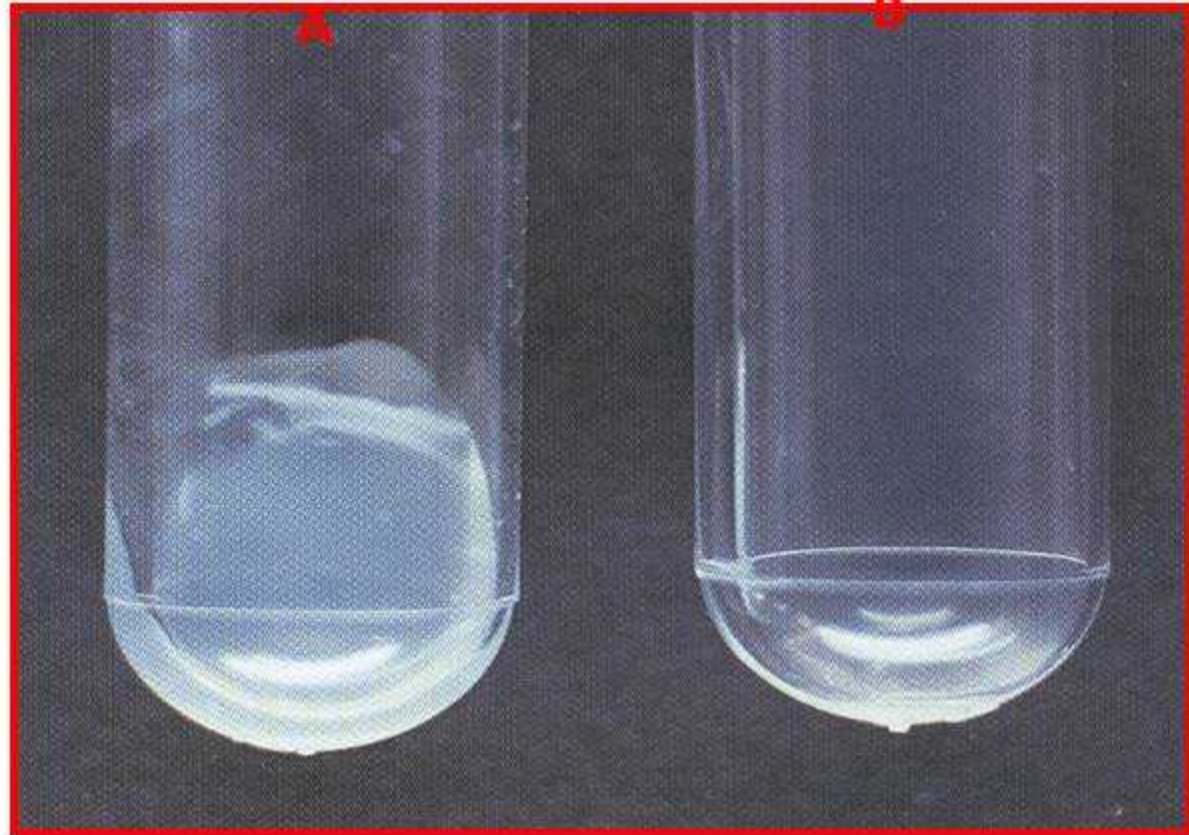
- On met en contact du plasma oxalté, incapable de coaguler seul, avec un peu de bouillon Cœur-Cervelle où a été cultivé le germe étudié. Si le fibrinogène, soluble dans le plasma, se transforme en fibrine solide, un caillot se formera au **fond du tube**.
- On peut également réaliser ce test par une **agglutination sur lame**. Sur une lame propre et sèche, on met en contact une goutte de Plasma sanguin oxalté avec une goutte de bouillonensemencé par le germe étudié (ou 1 colonie). Si le germe possède le récepteur au fibrinogène, il y aura une agglutination visible à l'œil nu

3- Coagulase



Test de Coagulase sur lame

3- Coagulase

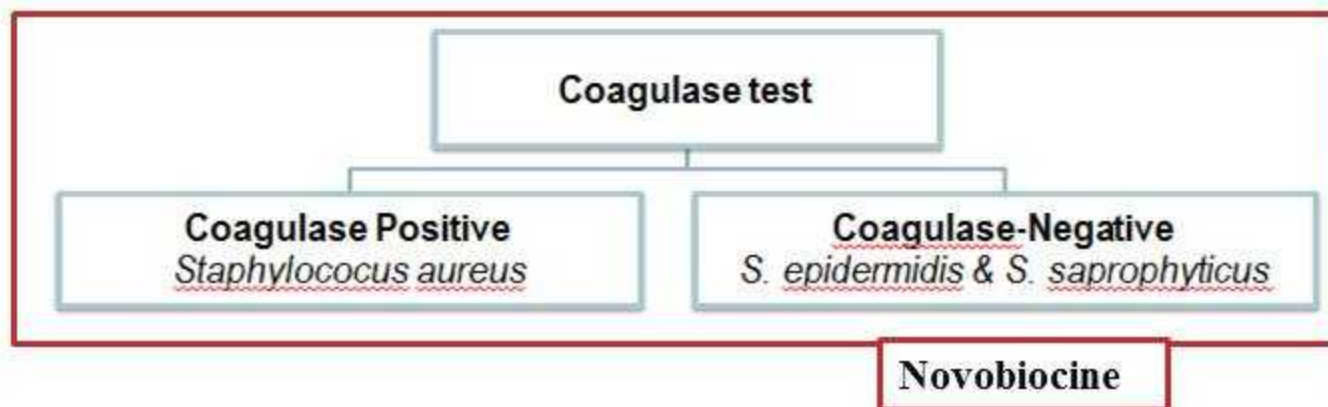


Test de coagulase sur tube

A. Positive – B. Negative

3- Coagulase

Intérêt



4- Pouvoir hémolytique



Streptococcus

α -hemolytic

green,
partial hemolysis

β -hemolytic

clear,
complete hemolysis

γ -hemolytic

no hemolysis

pneumoniae

optochin sensitive,
bile soluble,
capsule =>
quellung +

Viridans

mutans, sanguis
optochin resistant,
not bile soluble,
no capsule

pyogenes

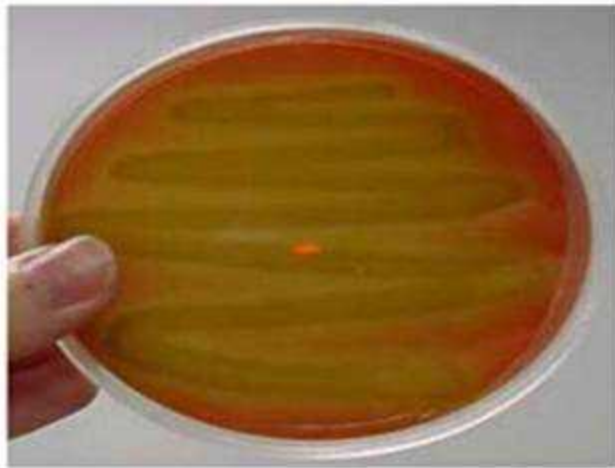
Group A,
bacitracin sensitive

agalactiae

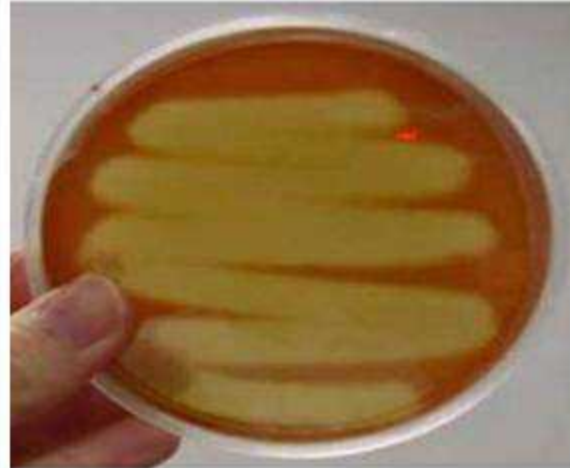
Group B,
bacitracin resistant

Enterococcus

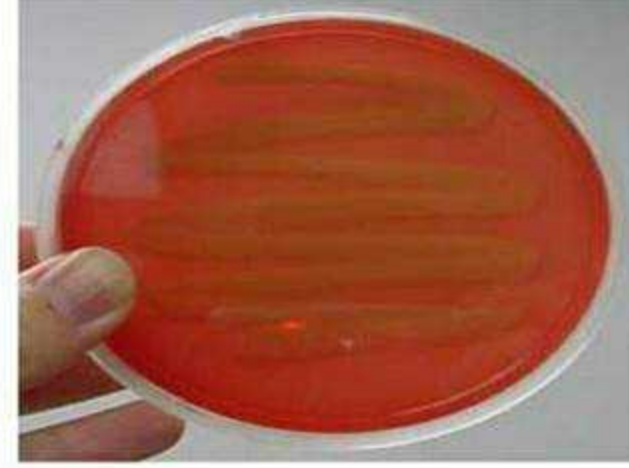
E. faecalis,
E. faecium



Alpha Hemolysis



Beta Hemolysis



Gamma Hemolysis