

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 08 Mai 1945 de GUELMA
FACULTE DES SCIENCES ET DE L'INGENIERIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



443

SAC. 242

12/20

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE
Pour l'obtention du Diplôme De master 2

BIOLOGIE

Option : Santé, Eau ; Microbiologie et Environnement

THÈME

LA PHARYNGITE

Présentées par :

- * Dorbani Amina
- * Mihoubi Asma
- * Zerdoudi Wafa



Membres de jury :

Président : Mr Djekoune.M (C.C)
Examinatrice : M^{me} Torche. (M.A.)
Promoteur : M^{elle} Bidjoui. S (M.A)

Université de Guelma
Université de Guelma
Université de Guelma

Session Juin 2011

Liste des abréviations :

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie.

SGA: *Streptocoque* β -hémolytique du groupe A.

TE: les toxines érythroènes.

RAA: Le Rhumatisme Articulaire Aigue.

St.: *Streptocoque*.

ASK: antistreptokinase.

ASD: antistreptodornase.

ASLO: antistreptolysines O.

AMC: Acétyle- Méthyle- Carbinol.

ONPG: Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside.

BHIB: Cœur cerveau

H₂O₂ : L'eau oxygénée.

E.P.T: Eau Peptonnée tamponnée.

GN: Gélose Nutritive.

CH: Gélose Chapman.

MAC: Gélose Mac Conkey.

SB: Gélose Sabouraud.

TSI: Triple- Sugar- Iron.

RM: Rouge de méthyle.

VP: Voges Proskauer.

API: Appareillage et Procédé d'Identification.

NR: Nitrate Réductase.

P : prélèvement.

PG : prélèvement de gorge.

M : masculin.

F : féminin.

PPA: Phlegmon péri amygdalien.

HA: Hypertrophie amygdalienne.

Produced with ScanTOPDF

Table des figures

Numéro de figure	Le titre	Numéro de page
01	Anatomies de pharynx.	02
02	La pharyngite virale	03
03	La pharyngite bactérienne	03
04	Hémolyse de type β	10
05	Morphologie des streptocoques du groupe A	11
06	Composants cellulaires d'un streptocoque du groupe A	14
07	les étapes de la dilution et l'ensemencement sur les milieux	23
08	Milieu de TSI.	26
09	le milieu Mannitol - Mobilité.	27
10	Milieu au Citrate de Simmons	28
11	Test de Rouge de Méthyle	28
12	Test de Voges - Proskauer.	29
13	Test d'Indole	30
14	API 20	33
15	le test catalase	33
16	le test ONPG	34
17	le test oxydase	35
18	Aspect macroscopique du milieu GN (P1)	36
19	Aspect microscopique du milieu GN (P1)	36
20	Aspect macroscopique du milieu MAC (P1)	36
21	Aspect microscopique du milieu MAC (P1)	37
22	Aspect macroscopique du milieu CH (P1)	37
23	Aspect macroscopique du milieu SB (P1)	37
24	Aspect macroscopique du milieu gélose au sang (P1)	38
25	Aspect macroscopique du milieu GN (P2)	38
26	Aspect microscopique du milieu GN (P2)	38
27	Aspect macroscopique du milieu MAC (P2)	39
28	Aspect microscopique du milieu MAC (P2)	39

29	Aspect macroscopique du milieu CH (P2)	39
30	Aspect microscopique du milieu CH (P2)	40
31	Aspect macroscopique du milieu SB (P2)	40
32	Aspect microscopique du milieu SB (P2)	40
33	Aspect macroscopique du milieu gélose au sang (P2)	41
34	Aspect microscopique du milieu gélose au sang (P2)	41
35	Aspect macroscopique du milieu GN (P3)	41
36	Aspect microscopique du milieu GN (P3)	42
37	Aspect macroscopique du milieu MAC (P3)	42
38	Aspect microscopique du milieu MAC (P3)	42
39	Aspect macroscopique du milieu CH (P3)	43
40	Aspect macroscopique du milieu SB (P3)	43
41	Aspect microscopique du milieu SB (P3)	43
42	Aspect macroscopique du milieu gélose au sang (P3)	44
43	Aspect microscopique du milieu gélose au sang (P3)	44
44	Résultat de la galerie classique du milieu MAC(P1)	45
45	Résultat des tests complémentaires du milieu MAC(P1)	46
46	Résultat de l'API 20 du milieu GN (P1)	48
47	Résultat de la galerie classique du milieu GN(P2)	48
48	Résultat des tests complémentaire du milieu GN(P2)	49
49	Résultat de la galerie classique du milieu MAC(P2)	50
50	Résultat des tests complémentaires du milieu MAC(P2)	50
51	Résultats des testes d'identification des staphylocoques	51
52	Résultat de la galerie classique du milieu GN(P3)	52
53	Résultat des tests complémentaire du milieu GN(P3)	53
54	Résultat de la galerie classique du milieu MAC(P3)	54
55	Résultat des tests complémentaires du milieu MAC(P3)	55
56	la répartition de taux d'hémolyse en fonction du nombre	56
57	la variation de taux de sexe en fonction du nombre	56
58	La variation de l'âge en fonction de type d'hémolyse	57
59	La répartition du nombre des malades en fonction de mois	59

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Le titre	Numéro de page
1	classification de l'espèce streptocoque	07
2	classification des Streptocoques	09
3	fréquences des infections dues à <i>Streptococcus pyogènes</i> .	16
4	liste des prélèvements.	20
5	liste de l'origine et caractéristiques de prélèvement étudiés.	22
6	les étapes de préparation de l'API 20E	32
7	Résultat de la galerie classique de milieu MAC (P1).	45
8	Résultat des tests complémentaires de milieu MC (P1).	46
9	résultat de l'API 20E de milieu GN (P1).	47
10	Résultat de la galerie classique de milieu GN (P2).	48
11	Résultat des tests complémentaires de milieu GN (P2).	49
12	Résultat de la galerie classique de milieu MAC (P2).	49
13	Résultat des tests complémentaires de milieu MAC (P2).	50
14	les Résultats des testes d'identification des staphylocoques.	50
15	Résultat de la galerie classique de milieu GN (P3).	52
16	Résultat des tests complémentaires de milieu GN (P3).	53
17	Résultat de la galerie classique de milieu MAC (P3).	54
18	Résultat des tests complémentaires de milieu MAC (P3).	54
19	la répartition de taux d'hémolyse en fonction du nombre	56
20	la variation de taux de sexe en fonction du nombre.	56
21	La variation de l'âge en fonction de type d'hémolyse.	57
22	La répartition du nombre des malades en fonction de mois. (Année 2010).	58

Sommaire :

Introduction

Première partie : Etude théorique.

Chapitre I : La maladie de la pharyngite.

1. Définition de la pharyngite.....	1
2. Épidémiologie.....	1
3. L'organe cible.....	2
4. Les formes de la pharyngite.....	3
a- La pharyngite virale.....	3
b- La pharyngite bactérienne.....	3
5. Les types de la pharyngite.....	3
a- La pharyngite aiguë.....	4
b- La pharyngite chronique.....	5

Chapitre II: les agents causals de la pharyngite

1- Les virus.....	6
1-1- Les rhinovirus.....	6
2- les champignons.....	6
3- Les bactéries.....	6
3-1 Etude générale du genre <i>Streptococcus</i>	7

3-1-1 Historique.....	7
3-1-2 Définition.....	7
3-1-3 Principe de classification des Streptocoques.....	8
3-1-3-1 Streptocoques du groupe A.....	10
A) Caractères bactériologiques	11
B) Habitat-pouvoir pathogène chez l'homme.....	14
C) Diagnostic des infections à streptocoques A.....	16
D) Mode de transmission.....	18
3-1-3-2 Les streptocoques beta hémolytique C, G ou L.....	19

Deuxième partie : Etude pratique

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Introduction	20
I- Matériel.....	20
1- Matériel utilisés au laboratoire.....	20
2- Milieux et réactifs utilisés.....	21
II-Méthode.....	22
1- Prélèvement de gorge.....	22
2- Ensemencement à l'aide d'un écouvillon.....	22
3- Identification bactériologique.....	24

3-1 Examens macroscopiques du prélèvement	24
3-2 Examens microscopiques du prélèvement.....	24
4- Identification biochimique.....	26
4-1 La galerie classique.....	26
4-2 Le système miniaturisée API 20 E.....	31
4-3 Les tests complémentaires.....	33
 Chapitre IV: Résultats et Discussion	
I- Résultats des caractères cultureux et morphologiques.....	36
II- Résultats de la galerie classique et les tests complémentaires.....	45
 Chapitre V: Etudes statistique	
Discussion.....	60
Conclusion	62
Résumé	
Bibliographie	
Annexe	

Produced with Scantopdf

Introduction :

Les maladies respiratoires, sont soumises à différentes Contraintes qui altèrent leur fonctionnement et leur intégrité à tous les âges de la vie. Ces Contraintes peuvent être d'origine interne, liées à des facteurs biologiques, morphologiques Ou physiologiques. D'autres contraintes d'origine externe sont dues à des facteurs infectieux, allergiques et irritants. L'évolution des atteintes chroniques des voies respiratoires est marquée par la constitution de désordres durables ponctués par la survenue des Presses thermales et climatiques de crises d'aggravation plus ou moins espacées.

Les cures thermales répétées peuvent enrayer le passage à la chronicité en éliminant l'inflammation muqueuse résiduelle au décours des épisodes aigus ; elles renforcent l'immunité locale au niveau de la barrière muqueuse et abaissent le seuil d'hyper-réactivité aux facteurs allergisants ou irritants.

Les indications des cures thermales chez l'adulte sont les rhinites chroniques, sinusites chroniques, laryngites chroniques, otites chroniques, dilatations des bronches, bronchites, Pharyngites.

Cette dernière décrit l'inflammation, le plus souvent d'origine infectieuse, du pharynx. Les amygdales sont le plus souvent impliquées. C'est pourquoi les termes d'angine, amygdalite, pharyngite, pharyngo-amygdalite sont interchangeable. La pharyngite dominée par les symptômes sécheresse, mal à gorge, fièvres.

C'est une affection banale et fréquente qui représente une des premières causes de prescriptions d'antibiotiques. Elle se rencontre à tout âge, mais survient plus souvent chez les enfants d'âge scolaire. Elle est d'origine viral 90% ou bactérienne 10% mais le streptocoque β hémolytique du groupe A (SGA) est la première bactérie responsable qui fait la gravité potentielle de cette affection.

Dans notre projet nous avons réalisés deux parties l'une théorique et l'autre pratique.

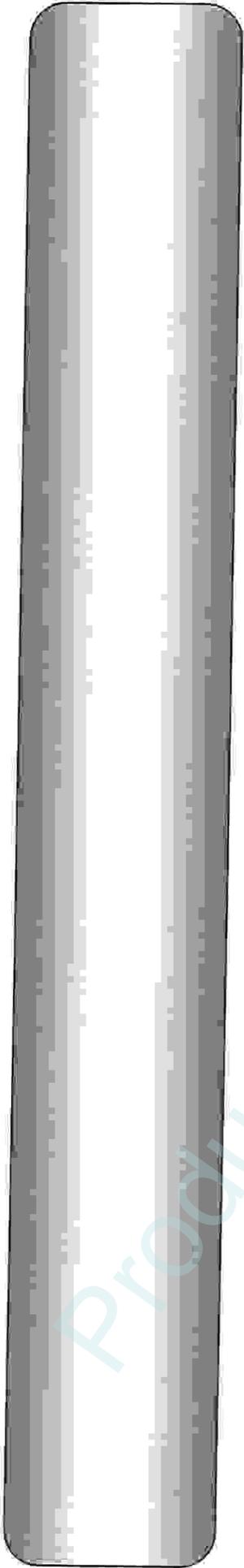
Dans la partie bibliographique qui répartie en deux chapitre :

Le premier chapitre des généralités sur la pharyngite (causes, symptômes, diagnostic et traitement), et l'organe cible de cette affection.

Le deuxième chapitre concernant les agents causals de la pharyngite

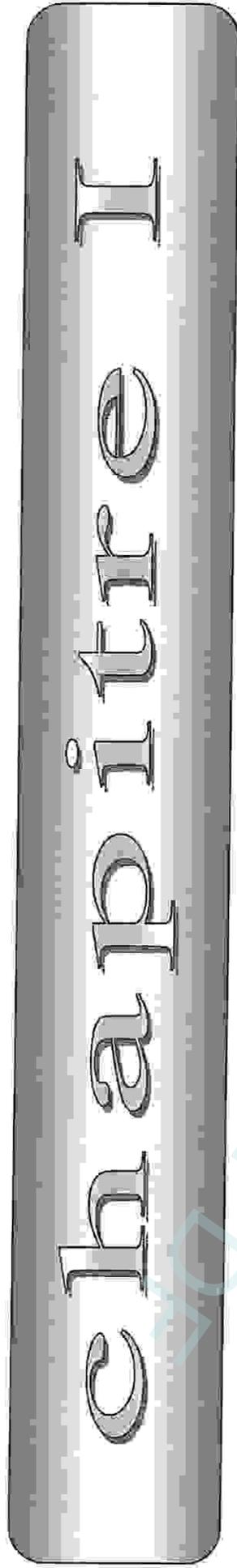
Dans la partie expérimentale on a réalisé deux chapitres :

Le premier chapitre consiste a déterminé les différents matériels et méthode impliqués pour la réalisation de notre analyse bactériologique et l'identification les différents germes



Partie Théorique

Produced with ScanTOPDF



La maladie de la pharyngite

Produced with Scantopdf

1. Définition de la pharyngite :

La pharyngite est une inflammation du pharynx. Elle est l'une des affections ORL. Les plus communes se manifestent par des maux de gorge, de la fièvre, des difficultés à avaler, ainsi que des douleurs au niveau des oreilles. Souvent, les ganglions lymphatiques du cou sont enflés. La pharyngite peut s'accompagner d'une otite aiguë, d'une sinusite aiguë et d'une bronchite aiguë. Elle est le plus souvent d'origine virale. Chez l'enfant, elle se développe essentiellement dans la partie supérieure du pharynx (le rhino-pharynx). La rhinopharyngite aiguë est l'affection la plus courante chez l'enfant. (Portmann, (1977)

La contamination se fait par voie directe et indirecte avec les sécrétions des voies respiratoires (nasales ou buccales) d'une personne atteinte. (1)

2. Épidémiologie :

En France en 1997 on estimait qu'environ 9 millions de cas étaient diagnostiqués annuellement, entraînant 8 millions de prescriptions d'antibiotiques (4,5 chez l'adulte et 3,3 chez l'enfant). Parmi ces 9 millions de cas, seuls 2 millions étaient dus au streptocoque β hémolytique du groupe A (SGA), bactérie responsable des principales complications et nécessitant un traitement antibiotique.

Aux États-Unis, la douleur de gorge représente 2,1% des motifs de consultation, et est le deuxième symptôme motivant une visite médicale après la toux. Entre 1989 et 1999, on estime à environ 6,7 millions (selon les années, entre 5,1 millions et 8,7 millions) les consultations adultes annuelles pour une douleur de gorge. Dans 73% des cas, des antibiotiques étaient prescrits. Dans 68% des cas, les antibiotiques n'étaient pas ceux des recommandations. (2)

3. L'organe cible:

Le pharynx est un carrefour aéro-digestif entre les voies aériennes cavité nasale au larynx et les voies digestives cavité buccale ou bouche à l'œsophage. On rencontre également à son niveau l'ouverture de la trompe d'Eustache ou tube auditif, qui relie avec l'oreille moyenne au niveau de la caisse du tympan.

Le pharynx intervient dans : la déglutition, La respiration La phonation L'audition
Il mesure : 15 cm de long ,5 cm de large en position nasale ,4 cm de large en position orale,

2m de large en position laryngée.

C'est un conduit musculo-membraneux subdivisé en 3 parties:

1- Le rhinopharynx, ou pharynx nasal :

La partie supérieure du pharynx qui communique avec les fosses nasales par les choanes et qui est limité en bas par le voile du palais.

Ils comportent latéralement les orifices des trompes d'Eustache, communiquant avec les oreilles.

Pour les bébés, les trompes d'Eustache sont horizontales. Cette orientation favorise en cas d'écoulement nasal et de nettoyage mal effectué, l'apparition de l'otite de l'oreille moyenne.

2- Le pharynx buccal, partie moyenne du pharynx. La gorge, proprement dite qui communique avec :

- la bouche en avant
- le rhinopharynx en haut
- l'hypopharynx en bas.

3- L'hypopharynx ou pharynx laryngé correspond à la zone du larynx.

Le larynx est le conduit qui mène aux poumons.

L'épiglotte est un clapet qui ferme le larynx. (Ball, 1982)

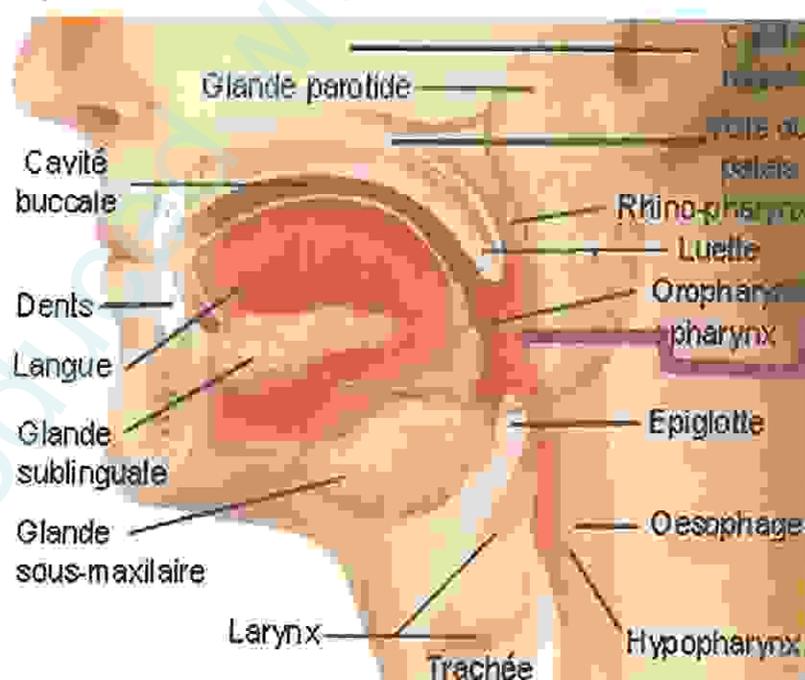


Fig 01: anatomies de pharynx. (3)

4. Les formes de la pharyngite :

Il existe deux formes de pharyngite : la pharyngite virale et la pharyngite bactérienne.

a) La pharyngite virale :

Se présente souvent lors d'une infection globale des voies respiratoires supérieures.

- s'accompagne alors d'un écoulement nasal et le mal de gorge est rarement la plainte principale de l'enfant.



Fig 02 : la pharyngite virale

b) La pharyngite bactérienne :

Est causée dans presque tous les cas par une bactérie appelée streptocoque b-hémolytique du groupe A (*S. pyogènes*). -Elle est la seule cause de pharyngite qui nécessite l'administration d'un antibiotique.

- S'accompagne plus souvent de fièvre et de sécrétions purulentes au niveau du pharynx ou des amygdales, mais ces signes cliniques peuvent se retrouver également dans les pharyngites virales. (4)

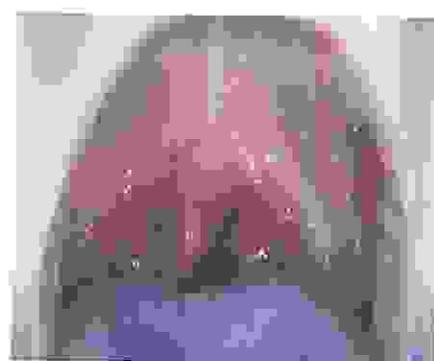


Fig 03: la pharyngite bactérienne

5. Les types de la pharyngite :

Il faut distinguer les deux types de pharyngites car elles n'ont pas du tout les mêmes causes. Se subdivise en deux catégories :

a) -La **pharyngite aiguë**, qui correspond à une inflammation de l'oropharynx (partie moyenne du pharynx, à la hauteur de la gorge), est appelée angine. Elle peut avoir deux

origines : virale (la plupart du temps) ou bactérienne (en l'occurrence, le germe le plus en cause est le streptocoque).

Les symptômes :

Elle se caractérise par une douleur locale exacerbée à la déglutition et peut s'accompagner de fièvre. Les amygdales peuvent également être touchées par l'inflammation.

Le diagnostic :

Un examen de la gorge du patient est pratiqué par le médecin à l'aide d'une lampe. Pour pouvoir observer la gorge correctement, il utilise un abaisse-langue et faire dire « Aaah » au patient. Chez un patient souffrant d'angine, la gorge est gonflée et présentera soit une couleur rouge (angine rouge), soit plusieurs petites tâches blanches (angine blanche). Le médecin cherche également la présence de ganglions au niveau du cou, de la nuque et sous les oreilles. Les amygdales peuvent être grosses et recouvertes d'un abcès.

Les traitements :

Cette forme se soigne par la prise d'antalgiques et de collutoires. Un traitement antibiotique n'est nécessaire que si la pharyngite est d'origine bactérienne

b)- la pharyngite chronique :

Correspond-elle, à une inflammation persistante du pharynx. Plusieurs facteurs peuvent être en cause :

- Faiblesse constitutionnelle de la muqueuse du pharynx.
- Abus de tabac.
- Abus d'alcool.
- Rhinite ou sinusite chronique.
- Contact avec des polluants atmosphériques.
- Travail exposé à des courants d'air.
- Reflux Gastro-œsophagien.
- Troubles endocriniens (ménopause, diabète, hypothyroïdie).

-Utilisation excessive de la voix (chanteurs, instituteurs, ect.) (5).

Cette dernière est classée en :

1- Pharyngite hypertrophique :

Caractérisé par épaissement et une congestion généralisés de la muqueuse pharyngienne.

2- Pharyngite atrophique :

Probablement un stade avancé du premier type (muqueuse mince, blanchâtre, brillante et par fois plissée).

3-Pharyngite granuleuse :

Caractérisée par la présence de nombreux follicules lymphoïdes tuméfiés sur les parois pharyngiennes (6).

Les symptômes :

Elle se caractérise, elle, par des douleurs locales intermittentes dans la gorge et à la déglutition. Une sécheresse du pharynx accompagne également ces symptômes, obligeant à se racler régulièrement la gorge.

Le diagnostic :

L'examen, le même que celui pratiqué pour la pharyngite aiguë, ne permet de distinguer qu'une rougeur pharyngée.

Les traitements :

Le traitement est plus compliqué à mettre en place car il faut d'une part identifier la cause du mal et d'autre part soigner les symptômes. Généralement, des soins locaux permettent de soulager les douleurs et la sécheresse pharyngienne (humidification de la muqueuse pharyngée par des inhalations, des gargarismes et des bains de bouche) (5).

Chapitre III

les agents causals de la pharyngite

La pharyngite est la limite médicale générique donnée à l'affection généralement connue sous le nom de « gorge endolorie ». C'est une inflammation du pharynx, le plus souvent accompagnée de douleur, et il est généralement provoqué par une infection virale. Bien que les bactéries soient responsables environ de 10% des cas, on l'a noté que les autres 90% sont provoqués par des virus, en l'occurrence une rare inflammation provoquée par des mycètes (tels que la grive provoquée par la candidiase) et une irritation des substances chimiques ou des agents de polluant (7).

1- Les virus :

Les virus les plus importants impliqués dans la pharyngite. Nous retrouvons, au sommet :

(*rhinovirus, adénovirus, para-influenzæ, coxsackie, coronavirus, l'échovirus, le virus de l'herpès simplex, le virus d'Epstein-Barr, cytomégalovirus*) (8).

1-1- Les rhinovirus :

Tout abord, dans la catégorie des rhinovirus, qui veut dire les virus du nez, on retrouve 200 sortes de virus qui appartiennent à ces filières, qui attaque spécifiquement les voies nasales et respiratoires. Ces virus sont retrouvés surtout chez les êtres humains plus spécifiquement dans la trachée et voie respiratoire, Sont très faciles à transmettre car, par un simple contact d'une surface fraîchement, Sont mêmes présents dans l'air (9).

2- les champignons :

La Candidose (maladie causée par la prolifération du champignon *candida albicans*), est une des causes possible d'un problème des voies respiratoires (+dérèglement du système nerveux, digestifs, allergies,...) (10).

3- Les bactéries :

Pour ce qui concerne les bactéries, celles-ci sont impliquées majoritairement dans des cas de pharyngite, bronchite chronique ainsi que d'autres maladies. Ces bactéries sont principalement les suivantes :

- Majoritairement *Streptocoque* β -hémolytique du groupe A et d'autre *Streptocoques*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Hæmophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis*, *Staphylocoques*... (8).

3-1 Étude générale du genre *Streptococcus* :

3-1-1 Historique

- **PASTEUR** En 1878, décrit dans le plus d'un abcès chaud des micro-organismes en chapelet de grains.
- **Rodenbach** En 1884, décrit avec précision *Streptococcus pyogenes*.
- **Dick**, En 1924, démontre que la scarlatine est due aux Streptocoques.
- **Rebecca Lancefield**, En 1933, établit la classification moderne des Streptocoques basée sur les propriétés antigénique des hydrates de carbone. (Jean Pière et Flandois, 2002).

3-1-2 Définition :

Le genre *Streptococcus* regroupe un vaste ensemble de micro-organismes ubiquitaires et qui comprend de nombreuses espèces, En raison de leur nombre, on distingue les espèces pathogènes, des espèces commensales et saprophytes. Le genre *Streptococcus* est souvent associé au genre *Leuconostoc* car leurs caractéristiques sont très proches et difficilement différenciables encore aujourd'hui. (11)

Tableau 01: classification de l'espèce streptocoque (Larpen et Jean Pierre, 2002).

Domaine :	Bacteria.
Phylum :	Firmicutes.
Classe :	Bacilli.
Ordre :	Lactobacillales.
Famille :	Streptococcaceae.
Genre :	<i>Streptococcus</i>

3-1-3 Principe de classification des Streptocoques :

Leur classification se fonde sur plusieurs critères :

- D'après leur pouvoir hémolytique :
 - Hémolyse incomplète : Streptocoques α -hémolytiques.
 - Hémolyse complète : Streptocoques β -hémolytiques.
 - Pas d'hémolyse : Streptocoques non hémolytiques.
- D'après leur équipement antigénique (Lancefield) :
 - Un antigène de la paroi, le polyside C permet de définir plusieurs groupes : A.B.C.D.E.F.G.H.K.L.M.N.O.P.R.S.T.U.V. Certains Streptocoques, dépourvus de polysides C, sont dits « non groupables »

On peut mettre en évidence le polyside C :

- Par la technique de Lancefield qui comprend une extraction du polyside C à partir d'une suspension de la souche par l'acide chlorhydrique à chaud ou par l'acide nitreux ou par la formamide ou encore par la pronase suivie d'une réaction de précipitation en tube en présence des antisérums spécifiques.
- Par précipitation en milieu gélosé par contre-immunoelectrophorèse.
- Par coagglutination de Staphylocoques ou de particules de latex sensibilisés par des anticorps spécifiques (cette dernière technique est actuellement la plus utilisée).
- D'après leurs caractères biochimiques, qui permettent d'individualiser des espèces dans le genre : *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus bovis* etc....

Ces classifications ne sont pas superposables. Les critères de la taxonomie moléculaire ont permis de définir des groupes génomiques et d'individualiser de nouvelles espèces.

En routine, on peut toutefois classer et identifier la plupart des Streptocoques grâce aux caractères phénotypiques décrits ci-dessus.

On classe actuellement les Streptocoques en « ensembles » et « sous-ensembles » (ce qui n'est hélas guère en conformité avec les règles de la taxonomie bactérienne) :

- Les *Streptocoques pyogenes*,
- Les *Streptocoques* du groupe D,
- Les *Streptocoques oraux*,

- Les Streptocoques non classés (Larpent et Jean Pierre, 2002).

Tableau 02: classification des Streptocoque (Fauchère et Avril, 2002).

pyogènes	Groupes D	Oraux
Sous-ensemble 1	<i>St. bovis</i>	Sous-ensemble 1
<i>St. pyogenes</i>	<i>St. equinus</i>	<i>St. mitis, St. sanguis</i>
	<i>St. alactolyticus</i>	<i>St. oralis</i>
		<i>St. gordonii</i>
Sous-ensemble 2		Sous-ensemble 2
<i>St. agalactiae</i>		
Sous-ensemble 3		Sous-ensemble 3
<i>St. equismilis</i>		<i>St. pneumomae</i>
<i>St. dysgalactiae</i>		
Sous-ensemble 4		Sous-ensemble 4
		<i>St. milleri</i>
Sous-ensemble 5		Sous-ensemble 5
		<i>St. mutans</i>
Sous-ensemble 6		Sous-ensemble 6
		<i>St. salivarius</i>

- Dans l'ensemble des streptocoques pyogenes :
 - *Streptococcus pyogenes* est l'espèce type du genre ; c'est le Streptocoque β hémolytique du groupe A.
 - *Streptococcus agalactiae* : possédant l'antigène de groupe B est souvent désigné streptocoque B.
 - Dans le sous-ensemble 3, on trouve les streptocoques β hémolytiques des groupes C, G ou L.
 - Les souches des sous-ensembles 4 et 5, non hémolytiques, sont d'origine animale.
- Dans l'ensemble des streptocoques du groupe D, on trouve trois espèces commensales du tube digestif de l'homme et des animaux. *St. bovis* est le plus fréquemment isolé.
- Les Streptocoques oraux correspondent aux Streptocoques autrefois dénommés *viridans*. sont, pour la plupart, α ou non hémolytiques et non groupables.

Parmi eux, *St. pneumoniae*, le pneumocoque, mérite une étude particulière à cause de sa virulence. (Fauchère et Avril, 2002).

3-1-3-1 Streptocoques du groupe A :

Encore appelés *Streptococcus pyogenes*, sont reconnus par l'hémolyse de type β (complète et à bords nets, détruisant totalement les globules rouges incorporés dans la gélose) qui entoure des colonies de petite taille (Fig : 04).

Ils comprennent plusieurs espèces responsables de différentes infections aiguës. (Flandois, 1999).



Fig 04 : hémolyse de type β (12).

A) Caractères bactériologiques :**➤ Morphologie :**

Ce sont des cocci à Gram +, disposés en chainettes, immobiles, non sporulés, apparaissant parfois capsulés. (Fig: 05).

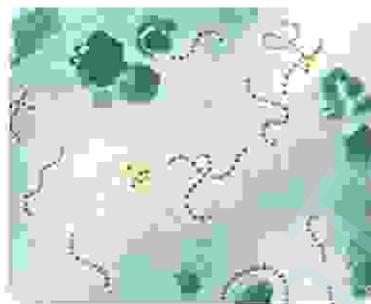


Fig 05 : morphologie des streptocoques du groupe A. (12).

➤ Caractères cultureux :

Les streptocoques du groupe A, se comportent en culture comme des aérobies-anaérobies facultatifs : tolèrent l'oxygène mais l'eau oxygénée, apparue lors du métabolisme respiratoire, leur est nuisible, contrairement aux Staphylocoques, ils sont dépourvus de catalase.

L'adjonction de sang dans le milieu est donc utile à cause de l'action catalasique de l'hémoglobine.

Sur gélose au sang, les colonies sont petites et entourées d'une zone d'hémolyse complète (c'est une β hémolyse).

En milieu liquide la culture prend dans le bouillon l'aspect de « mie de pain ».

La température optimale de croissance se situe entre 35°C et 37°C. Le pH qui doit être voisin de 7,2 impose d'utiliser des milieux tamponnés. (Pitte, Piot et Heuk, 1994).

➤ **Caractères biochimiques :**

Les Streptocoques du groupe A se caractérisent par :

- L'absence de catalase.
- L'utilisation de la voie fermentaire pour la dégradation de certains glucides sans production de gaz. (Avril, Dabernat, Denis et Montiel, 2000).

➤ **Paroi :**

Les structures de la paroi comprennent de dedans en dehors :

1. La couche de **peptidoglycane**,
2. Le **polyoside C**, qui détermine le groupe A de Lancefield est situé entre la couche de peptidoglycane et la couche protéique externe,
3. La **couche protéique externe** qui comprend trois types de protéines M, T, R. (Pitte, Piot et Heuk, 1994).

➤ **Les antigènes :**

❖ **Les antigènes diffusibles :**

Parmi les nombreuses substances antigéniques diffusibles, certaines ont une importance bactériologique et pathogénique. (12).

- La **Streptolysine O** (O pour oxygène-labile) lyse la membrane des érythrocytes et d'autres cellules (leucocytes et plaquettes) en se liant au cholestérol. Une faible concentration de cholestérol dans le milieu inhibe son action.

La Streptolysine O est antigénique et suscite la formation d'anticorps dénommés antistreptolysines O (ASLO) dont l'élévation des titres sériques constitue un bon marqueur d'infection du streptocoque.

- La **Streptolysine S**, insensible à l'oxygène, est produite par de nombreux streptocoques des groupes A, C, G mais aussi E, H et L. Elle n'est pas antigénique.

- La **hyaluronidase** a un effet lytique sur la substance de base du tissu conjonctif et se comporte, de ce fait, comme un facteur favorisant la diffusion de l'infection.
- La **streptokinase** active la transformation du plasminogène en plasmine qui lyse la fibrine et s'oppose ainsi à la formation de barrières fibrineuses autour des lésions tissulaires où se développent des streptocoques : c'est également un facteur de diffusion comme l'hyaluronidase.
- La **streptodornase** ou DAase dégrade les acides nucléiques. Elle n'a pas d'effet cytotoxique car elle ne pénètre pas dans les cellules eucaryotes. Comme la streptolysine O, streptokinase, streptodornase et hyaluronidase sont antigéniques et les anticorps correspondants dénommés antistreptokinase (ou ASK), antistreptodornase (ou ASD) et antihyaluronidase sont, comme les ASLO, des marqueurs d'infection à streptocoque A.
- Les **toxines érythrogènes (TE)** ou **pyrogènes**, au nombre de quatre, A, B, C, D, provoquent une éruption érythémateuse et de fièvre. Antigéniques, elles induisent un état d'hypersensibilité retardée ainsi que la production d'anticorps neutralisants. Elles sont la cause de l'éruption de la scarlatine par effet direct ou par effet secondaire en déclenchant une réaction d'hypersensibilité retardée.

Sont en cause dans le choc toxique streptococcique, elle se comporte comme un superantigène pouvant entraîner l'activation non spécifique des lymphocytes T. L'injection sous-épidermique de toxine érythrogène provoque une zone d'éruption chez les sujets réceptifs non immunisés : c'est l'épreuve de Dick. (Flandois, 1999).

❖ **Les antigènes structuraux :**

- La **protéine M** est un antigène qui différencie les sérotypes ; elle est le facteur principal de virulence et les anticorps qu'elle suscite sont immunisants et protecteurs,
- La **protéine T**, également antigénique, est utilisée, avec la protéine M, comme marqueur dans les études épidémiologiques,
- La **protéine R**, n'est pas impliquée dans la virulence ou l'immunité, (fig. 06).

(Bugnicort, 1995).

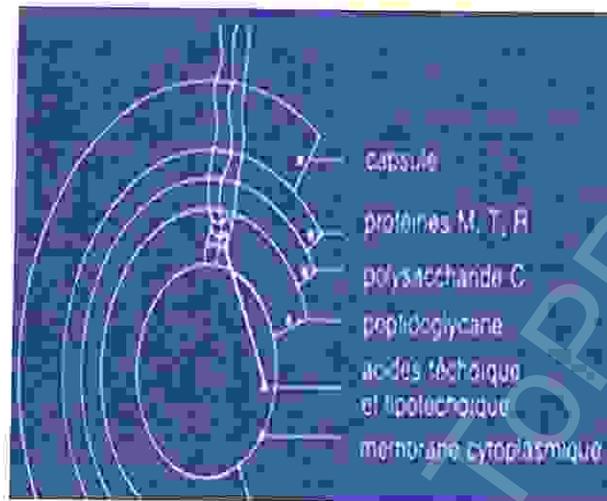


Fig 06 : Composants cellulaires d'un streptocoque du groupe A. (13)

B) Habitat-pouvoir pathogène chez l'homme :

Les streptocoques hémolytiques du groupe A sont la principale cause d'infections à streptocoques chez l'homme mais on peut en trouver dans la gorge des sujets bien portants.

Les streptococcies aiguës sont bénignes ou sévères mais sont susceptibles d'occasionner des affections non suppuratives redoutables à pathogénie auto-immune regroupées sous l'appellation de syndromes post-streptococciques (Morin, 2001).

❖ **Infection de la sphère rhinopharyngée.**

❖ **les angines à streptocoques**

Fréquentes chez l'enfant avec prédilection entre 5 et 10 ce sont des angines érythémateuses à surveiller et à traiter.

❖ **la scarlatine** est une maladie éruptive et immunisante provoquée par des souches productrices des toxines érythréennes.

❖ **Érysipèle** caractérisé par un placard cutané rouge et oedématisé à contour nettement délimité survenant chez les nourrissons ou les personnes âgées.

❖ **Impétigo streptococcique** fréquente chez l'enfant surtout dans le tiers-monde

❖ **Infections et suppurations cutanées** telles que cellulite ou surinfections cutanées sur plaies ou brûlures

- ❖ **Gangrène sous cutanée streptococcique ou fasciste nécrosante ou syndrome de Meleney** donnant lieu à une infection extensive avec nécrose atteignant le tissu cellulaire sous cutané (bactérie « mangeuses de chair ») avec une mortalité de 50% (tableau 02)
- ❖ **Les autres infections locales ou générales :**
 - **Surinfection d'atteintes broncho-pulmonaire d'origine virale**
 - **Endométrites streptococciques** survenant après un accouchement ou un avortement septique avant l'ère des antibiotiques et de l'asepsie, elles se compliquaient souvent de la redoutable fièvre puerpérale, septicémie qui représentait la principale cause de mortalité de la femme jeune.
 - **Infections profondes rares mais graves :** endocardites, pneumopathies, arthrites, péritonites, avec souvent bactériémies.
 - **Choc toxique streptococcique** associant fièvre, hypotension et éruption avec atteintes viscérales (rénales, respiratoires) souvent due à un streptocoque de sérotype M1 et provoqué par la libération de toxines érythrogènes. (Mac Victor et al., 1999).
- ❖ **Les syndromes post – streptococciques :**
 - **Le rhumatisme articulaire aigu (RAA)** avec atteintes articulaire, cutanée et surtout cardiaque : endocardite, myocardite, péricardite et risque de redoutables séquelles valvulaires elle survient quelques semaines après chaque réinfection à streptocoques A d'un autre type.
 - **La chorée de Sydenham :** caractérisée par des mouvements désordonnés parfois associée à des atteintes rhumatismale et cardiaques.
 - **La glomérulonéphrite aiguë post –streptococcique,** de pronostic souvent favorable elle évolue parfois d'une façon subaiguë et peut être la cause d'insuffisance rénale chronique
 - **L'érythème noueux et le purpura rhumatoïde** peuvent révéler d'une étiologie streptococcique. (Avril et al, 2000).

Tableau 03 : fréquences des infections dues à *Streptococcus pyogènes* : (Enquête nationale-1995) (13)

Types d'infections	Frequencies %
Infection non invasives (79%) :	
Lésions cutanées	48
Angine	25
Otite	2-3
Vulvo-vaginites	3
Conjonctivites	< 0,5
Infection invasives (21%) :	
Erysipèles	5
Dermo-hypodermites nécrosantes	5
Septicémie d'origine cutanée	3
Pleuro-pneumopathies	2
Arthrites	2
Bactériémies isolées	1
Péritonites	1
Ostéomyélites	1
Autres localisations	1

D'après le tableau ci-dessus la fréquence des infections à st pyogènes est assez élevée dans les infections non invasives (79%) que dans les infections invasives (21%) avec une prédominance des angines et des lésions cutanées.

C) Diagnostic des infections à streptocoques A :

Le diagnostic biologique des infections à streptocoques A repose sur la mise en évidence de la bactérie dans les lésions ou sur la détection d'anticorps antistreptococcique dans le sérum. (Fauchère et Avril, (2002).

❖ L'examen bactériologique :

Les prélèvements de gorge de sérosité de pus ou de sécrétions doivent être rapidement ensemencés car le germe est fragile dans le milieu extérieur.

A l'examen microscopique du prélèvement on voit de nombreux cocci en chaînettes à Gram positif la culture nécessite un milieu au sang frais.

Les colonies petites, apparaissent en 24 heures et sont entourées d'une zone d'hémolyse franche et complète (β hémolyse) très évocatrice.

L'absence de catalase et d'oxydase confirme le genre *streptococcus* et l'étude antigénique caractérise le groupe A (technique de lancefield, coagglutination, agglutination de particule de latex).

Les streptocoques de groupe A se distinguent parmi les streptocoques β hémolytiques par leur sensibilité à la bacitracine.

On peut recourir à des méthodes de diagnostic rapide pratiquées sur un prélèvement obtenu par écouvillonnage pharyngé mettant en œuvre des techniques d'immunofluorescence directe ou ELISA. (14)

❖ Sérologie :

Les anticorps antistreptococciques utiles au diagnostic sont les anticorps anti-enzymes :

Antistreptolysine O (ASLO), antistreptodornase (ASD), antistreptokinase (ASK) ou antihyaluronidase.

Tous le monde ou presque est porteur d'anticorps ASLO à des titres faibles aussi ne considère-t-on comme significatifs que les titres supérieurs à 200 unités.

Le taux de ASLO s'élève dix jours après la survenue de l'infection mais peut rester normal dans 20-30% d'infections streptococciques authentiques et n'est guère modifié au cours des atteintes cutanées.

En outre, la réaction risque d'être faussement négative si le sérum est ictérique ou s'il est riche en lipides ou cholestérol.

Les infections à streptocoques C et G s'accompagnent également d'une élévation des ASLO.

Le titrage des ASLO n'est donc ni sensible ni spécifique et seule, la constatation de titres élevés ou d'une ascension des taux en quelques jours a une signification clinique.

Les antistreptodornases sont plus spécifiques et plus sensible.

Il existe des tests globaux détectant en une seule manipulation, tous les anticorps antistreptococciques.

La sérologie antistreptococcique est utile pour confirmer l'étiologie streptococcique de manifestations cliniques évoquant un syndrome post-streptococcique. (Singleton, 2005).

D) Mode de transmission :

La transmission par contact direct ou intime avec un malade ou un porteur (fosses nasales) ; rarement par contact indirect des objets ou des mains; l'organisme peut être isolé à partir de la peau 1-2 semaines avant l'apparition de l'impétigo et la même souche apparaît dans la gorge plus tard ou cours de l'évolution de l'infection cutanée ; des épidémies nosocomiales d'infections des plaies sont attribuables à la contamination par les porteurs du germe (anus, vagin, peau et pharynx).

- Les streptocoques desséchés présents dans la poussière, etc. sont viables mais ne sont pas infectieux pour les muqueuses ou la peau saine.
- Les streptocoques du groupe A peuvent se transmettre des vaches, des porteurs humains par l'intermédiaire du lait cru.
- L'ingestion d'aliments contaminés (produits laitiers, œufs) peut provoquer des épidémies brutales ; la fasciite nécrosante débute souvent par une infection cutanée qui apparaît près des blessures mineures ou des piqûres. (Jean Pière et Flandois, 2002).

3-1-3-2 Les streptocoques beta hémolytique C, G ou L :

Les streptocoques des groupes C, G et L constituent le sous -ensemble 3 de l'ensemble des pyogènes. Ils sont d'origine humaine ou animale.

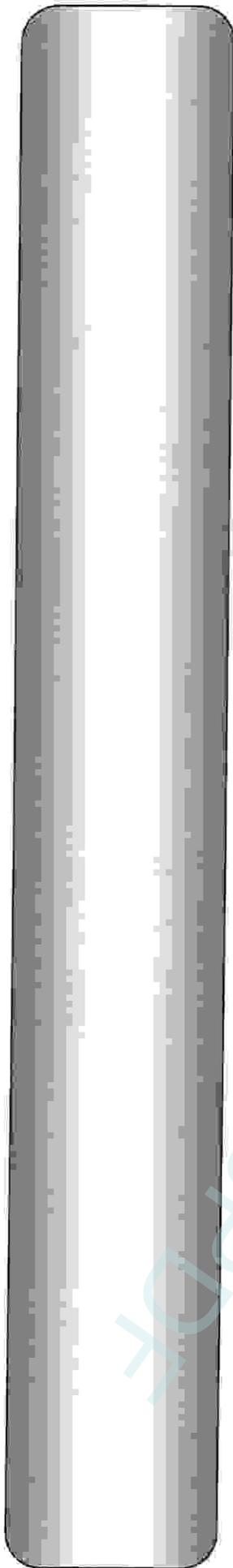
Chez l'homme, ils se comportent comme commensaux mais sont parfois responsables désinfections aiguës de la peau, de la gorge et des voies respiratoire, d'endocardites ou d'infections néonatales.

Ces infections sont rares mais assez sévères car elles s'accompagnent souvent de bactériémies et de suppurations métastatiques profondes.

La seule complication post-streptococcique à redouter est la glomérulonéphrite.

Ces streptocoques forment, sur gélose au sang, de petites colonies entourées d'une zone de β hémolyse et leur culture, contrairement à celle des streptocoque A, n'est pas inhibée par la bacitracine.

Ils sont sensibles à la plupart des antibiotiques, aux pénicillines en particulier. (Larpent et Jean Pierre, 2002).



Partie Pratique

Produced with Scantopdf

Chapitre III

Matériels et Méthodes

Introduction :

Notre stage pratique à été réalisé sur 06 prélèvements de différentes origines :

Tableau 04: liste des prélèvements.

N°= de prélèvement	L'origine
P1	Service de pédiatre de l'hôpital Dr OKBL.
P2	La cabine d'ORL du Dr HAZEM.N.
P3	La cabine d'ORL du Dr DRIDEH.N.
P4	La cabine d'ORL du Dr DRIDEH.N.
P5	La cabine d'ORL du Dr HAZEM.N.
P6	La cabine d'ORL du Dr DRIDEH.N.

P : prélèvement

A été réalisé dans Le laboratoire de microbiologie du département de la biologie de l'université 08 Mai 1945.

I. Matériel :**1. Matériel utilisés au laboratoire :****1-1- Appareillages :**

- Autoclave.
- Microscope optique.
- Réfrigérateurs.
- Centrifugeuse.

1-2- Verrerie :

- Lamé et lamelles.
- Des pipettes pasteurs stériles.
- Des pipettes graduées stériles.
- Des béchers stériles.

1-3- Autre matériel consommables :

- Anse de platine.
- Bec bunsen.
- Portoir.
- Des boîtes de pétri stériles.

- Micropipette.
- Disques oxydase.
- Disques Ortho-nitro-phényl-galactoside (ONPG).
- L'eau oxygéné H_2O_2

2- Milieux et réactifs utilisés :

2-1- Milieux d'enrichissement :

- Cœur cerveau (BHIB).
- Eau Peptonnée tamponnée (E.P.T).

2-2- Milieux d'isolement :

- Gélose Nutritive (GN).
- Gélose Chapman (GH).
- Gélose au sang frais et cuit.
- Gélose Mac Conkey (MAC).
- Gélose Sabouraud (SB).

2-3- Milieux d'identification :

Galerie biochimique classique :

- Triple- Sugar- Iron. (TSI).
- Citrate de Simmons.
- Eau de Peptonnée exempte d'indole.
- Clark et Lubs.
- Mannitol mobilité.

2-4- Réactifs et colorants consommables :

- Violet de Gentiane.
- Lugol.
- L'alcool.
- Fuchsine.
- Huile de cèdre.
- Réactifs de KOVACS.
- Rouge de méthyle. (RM)
- Voges Proskauer [VPI (KOH), VPII (alpha-naphtol)].
- Bleu de méthylène.

II. Méthode :

1-Prélèvement de gorge :

Le malade est assis, soutenu s'il s'agit d'un jeune enfant, la tête en arrière, la bouche largement ouverte, la langue tirée vers le bas, le pharynx bien éclairé, et avec un écouvillon stérile procède à l'attouchement appuyée des deux loges amygdaliennes. Le prélèvement de la paroi postérieure du pharynx est facultatif, il faut éviter un contact de l'écouvillon avec la langue ou avec la muqueuse jugale, transporter dans un milieu spécifique immédiatement vers le laboratoire (moins de 3H). (Sayad, 1997).

Tableau 05 : liste de l'origine et caractéristiques de prélèvement étudiés

numéro	sexe	âge	Cas clinique ou biologique	prélèvement	La date	résident
1	M	2 ans	angine	PG	11/04/2011	Hospitalisé
2	F	26ans	angine	PG	17/04/2011	ambilaire
3	F	16ans	angine	PG	21/04/2011	ambilaire
4	M	44ans	angine	PG	02/05/2011	ambilaire
5	F	23ans	angine	PG	08/05/2011	ambilaire
6	F	23ans	angine	PG	11/05/2011	ambilaire

M : masculin ; F : féminin ; PG : prélèvement de gorge

2- Ensemencement à l'aide d'un écouvillon

Le milieu de culture peut être inoculé au moyen d'un écouvillon : petite boucle d'ouate compacte bien fixée à l'extrémité d'un mince tige de bois de plastique, on utilise un écouvillon stérile pour prélever un échantillon à un endroit donné (dans la gorge), une fois chargés ; l'écouvillon est promené délicatement sur un bouillon d'enrichissement après dans une boîte d'un milieu adéquat en veillant à ce que tous les côtés de la boucle d'ouate soient mis en contact d'une petite zone périphérique d'ou l'inoculum est ensuite répandu par touche et striation puis incubé la boîte dans un étuve à 37 °C pendant 24h (Djebbari et al, 2008).

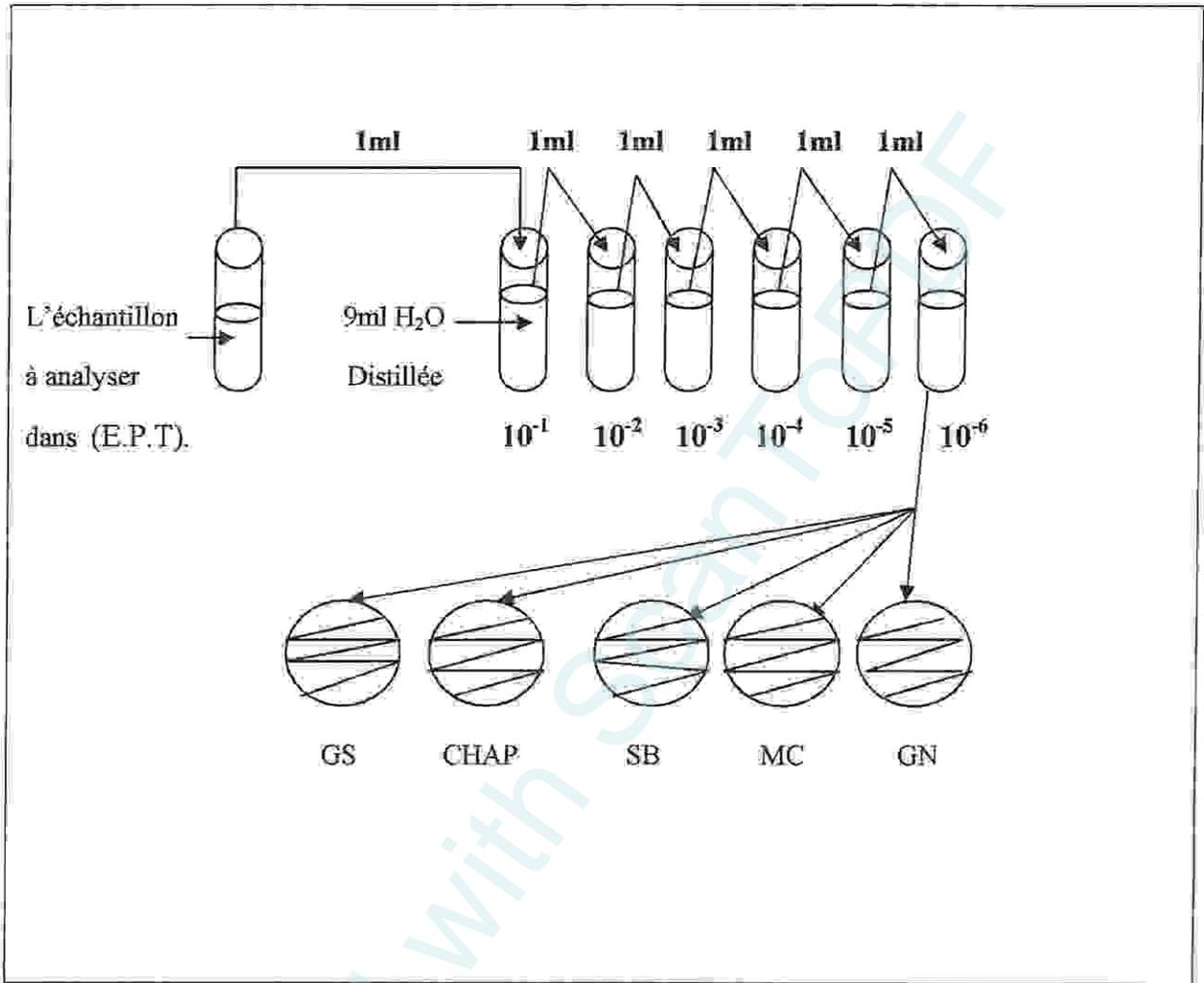


Fig 07 : les étapes de la dilution et l'ensemencement sur les milieux.

3-Identification bactériologique :

3-1 Examens macroscopiques du prélèvement :

Après l'incubation, noter à l'aide d'une loupe ou à l'œil nu, l'aspect des colonies :
(La forme, la taille, la couleur, l'odeur regroupement,).

3-2 Examens microscopiques du prélèvement :

A/ Examen à l'état frais :

L'examen à l'état frais consiste à mettre une goutte de prélèvement entre lame et lamelle, puis l'observation avec un grossissement ($\times 10$) et ($\times 40$) pour déterminer la fiabilité des germes et d'autres caractères tel que :

- * La forme des cellules.
- * leur mode de regroupement.
- * leur mobilité.

B/ Examen après coloration :

❖ Préparation d'un frottis :

- Consiste à obtenir des colonies blanchâtres à l'aide d'un bec bunsen.
- Il doit être mince, bien étalé et homogène.
- la coloration des bactéries a pour but de rendre perceptible les détails pouvant nous échapper au cours de l'examen à l'état frais.
- la coloration des éléments cellulaires et bactériens permet de mieux les différencier.
- l'observation se fait au microscope optique au grossissement ($\times 100$) à l'immersion parmi les colorations les plus utilisées en bactériologie on note.

B₁/ coloration au bleu de méthylène :

Pour observer la cytologie de prélèvement analysée (présence des polynucléaires, lymphocytes et monocytes) ainsi que la présence éventuelle des germes (forme et groupement).

❖ La méthode :

Après étalement et fixation, le frottis est :

- Étaler le bleu de méthylène pendant une minute.
- Rincer avec l'eau du robinet.
- Sécher à l'aide du papier buvard.
- Observer au microscope ($\times 100$).

B₂/ coloration de Gram :

La coloration de Gram doit son nom au bactériologiste Danois Christian Gram qui mit au point le protocole en 1884.

C'est une coloration utilisée pour l'orientation des bactéries selon la composition membranaire de sa perméabilité.

❖ La méthode :

- Avec une anse stérile, prélever dans la zone stérile de bec bunsen des bactéries de la boîte pétri.
- Les diluer dans une goutte d'eau, sur une lame dégraissée, ne pas trop étaler, stériliser et placer dans la galerie.
- Faire un frottis sur une lame, réduire la flamme du bec bunsen en veilleuse, fixé à la chaleur.
- Poser le frottis sur la lame.
- Mettre le Violet de Gentiane pendant 1 minute.
- Laver à l'eau ordinaire.
- Couvrir de Lugol pendant 1 minute.
- Laver à l'eau ordinaire, différenciation à l'alcool (15 à 20 secondes maximum) on verse l'alcool goutte à goutte sur le bout de la lame inclinée, on arrête quand l'alcool devient incolore au bas de la lame.
- Rinçage immédiat à l'eau ordinaire.
- Couvrir du Fushine pendant 30 secondes.
- Laver à l'eau ordinaire et laisser sécher à l'air.
- Observation sur microscope optique ($\times 100$). (Lassoued et Touhami, 2008)

4-Identification biochimique :

Consiste la galerie classique et le système miniaturisée.

La galerie classique

✿ Milieu de TSI (Triple Sugar Iron.) :

❖ A) principe :

Ce milieu est utilisé dans l'identification des entérobactéries, il permet de mettre en évidence la dégradation du glucose et lactose et /ou saccharose, ainsi que la production d'hydrogène sulfure et la production de gaz. (Delarras, 1998).

❖ B) Technique :

- ensemencer la surface par des stries puis le culot par pique centrale, ne pas visser le bouchon du flacon pour permettre l'aération du milieu.
- incubation pendant 24 à 48 heures dans l'étuve à 37°C.

❖ C) Résultats :

- La fermentation des 3 sucres (glucose, lactose, saccharose) qui est positive virage du milieu au marron en jaune.
- La production d' H_2S se manifeste par des zones LA PRODUCTION noires.
- La production de gaz se manifeste par des bulles d'air à l'intérieur du glucose.

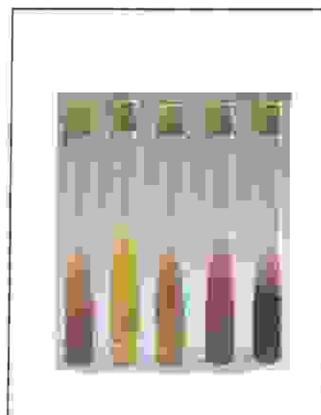


Fig 08 : Milieu de TSI. (14)

✚ Mannitol - Mobilité :

❖ A) principe :

Le milieu mannitol- mobilité permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. (Delarras, 1998).

❖ B) Technique :

- Ensemencer les tubes par piqure centrale dans la gélose en culot avec les souches à tester.
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

❖ C) Résultats :

- Le virage de milieu du rouge au jaune implique la dégradation du sucre.
- Une mobilité positive se manifeste par la formation de ramification autour de la piqure centrale.
- Une mobilité négative : absence de ramification

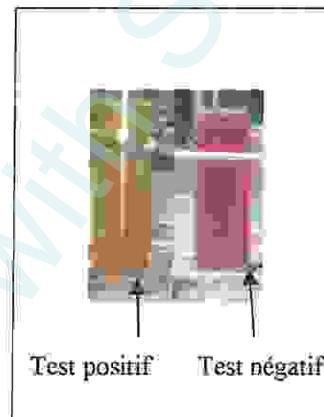


Fig 09 : le milieu Mannitol - Mobilité.

✚ Milieu au Citrate de Simmons :

❖ A) principe :

Ce test permet de mettre en évidence l'utilisation de citrate par les bactéries comme source unique de carbone 24h. (Djebbari et al, 2008).

❖ B) Technique :

- Le milieu de citrate de Simmons est ensemencé sur la pente, puis incubé à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

❖ **C) Résultats :**

- Après l'incubation l'apparition des colonies et le virage de la couleur en bleu/vert indique l'utilisation de citrate comme source de carbone
- Absence des colonies, sans virage du milieu, permet de détecter citrate négatif

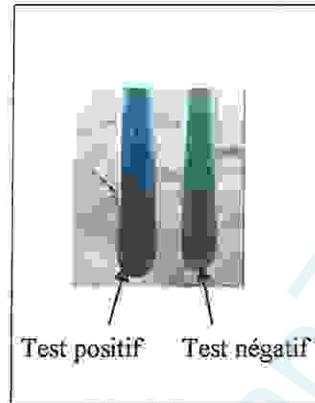


Fig 10 : Milieu au Citrate de Simmons. (14)

✚ **Test de Rouge de Méthyle :**❖ **A) principe :**

Il permet d'identifier des entérobactéries capables de croître dans un milieu glucose et de l'acidifier.

❖ **B) Technique :**

- Après 24 heures d'incubation, prélever 1 à 2 ml de culture de Clark et Lubs.
- Ajouter 1 à 2 gouttes d'une solution de rouge de méthyle.

❖ **C) Résultats :**

- Une coloration rouge détectée RM+
- Une coloration jaune détectée RM- (Djebbari et al, 2008).

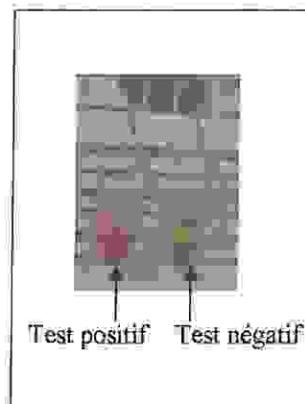


Fig 11 : Test de Rouge de Méthyle.

✚ Test de Voges – Proskauer :

❖ A) principe :

Ce test permet de détecter la capacité d'une bactérie à dégrader le glucose en acétoïne (Acétyl méthyle carbinol : (AMC)).

❖ B) Technique :

Selon la technique de barrit :

- Prélever 1ml de milieu Clark et Lubs.
- Ajouter 0,5 ml d'une solution d'alpha- naphthol et de 0,5 ml d'une solution aqueuse de potasse.
- Agiter et attendre 15 min.

❖ C) Résultats :

- Coloration rouge permet de détecter : acétoïne positif.
- Coloration incolore permet de détecter : acétoïne négatif (Djebbari et al, 2008).

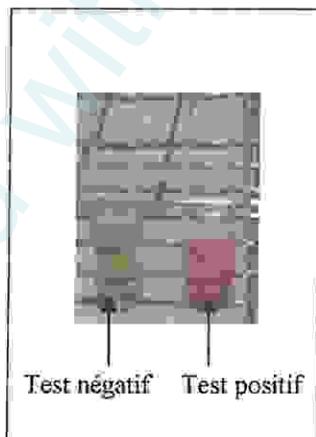


Fig 12: Test de Voges – Proskauer:

✚ Test d'Indole :

❖ A) principe :

Il permet de savoir si une bactérie peut produire de l'Indole à partir du tryptophane à l'aide de tryptophanases.

❖ **B) Technique :**

- Mettre en culture les bactéries à tester dans l'eau peptonée ou l'eau tryptonée à 37°C pendant 24 heures.
- Après incubation, on ajoute à la culture le réactif de KOVACS (0,5 ml) de KOVACS pour 0,5 ml de la culture.

❖ **C) Résultats :**

- Un anneau rouge détecte : indole (+)
- Absence d'anneau rouge détecte : indole (-) (Djebbari et al, 2008).



Fig 13 : Test d'indole. (14)

✦ Recherche du Nitrate Réductase :

Ensemencer sur douillon nitrate, puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

Ce milieu permet de détecter la production d'enzyme nitrate réductase.

Après addition de NRI, NRII on obtient les résultats suivants :

- Si la coloration est rouge cela confirme la présence de nitrite à l'intérieur du milieu donc il ya a une réduction des nitrates en nitrites par l'enzyme nitrate réductase qui permet de détecter nitrate réductase positif.
- si la coloration rouge est absente (incoloré) permet de détecter nitrate réductase négatif.
- L'absence de coloration rouge ne signifie pas que la réaction est négative car une durée d'incubation plus longues.

- La confirmation définitive se fait après l'addition de la poudre de Zinc dans le milieu.
- La réapparition de la couleur rouge implique une présence des nitrates qui sont réduits par une poudre de Zinc donc on peut dire que la réaction de l'enzyme nitrate réductase est négative.
- L'apparition de la couleur rouge après addition de la poudre de Zinc permet de détecter la présence du nitrate réductase. (Djebbari et al, 2008).

Le système miniaturisée API 20E :

A) Principe :

- Le système API (Appareillage et procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.
- Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les Entérobactéries.
- Elle comprend 20 tests biochimiques.

B) Technique :

❖ Préparation de galerie :

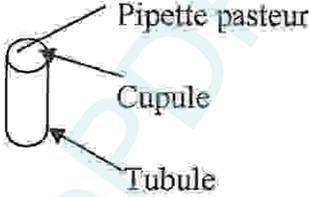
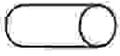
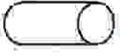
- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

❖ Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule de suspension d'eau physiologique (ou un tube d'eau stérile).
- Prélever une seule colonie bien isolée sur le milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Ferland).

❖ Préparation de la galerie :

Tableau 06 : les étapes de préparation de l'API 20E

Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT .		Remplissage des tubes : 
Remplir les tubules et les cupules des tests ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.		
Remplir uniquement les tubules des tests restants.		

Remarque

Il est important de veiller à ne pas créer de bulles de gaz lors de l'inoculation qui peut fausser le résultat. De plus l'apparition de bulles de gaz après incubation apporte un caractère de l'identification supplémentaire (GAZ₁)

Identification :

- Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau : chaque cellule de ce tableau contient les pourcentages de positivité.
- Avec le catalogue analytique : les tests sont regroupés de 03, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun. Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants au test positif. On obtient un nombre à 7 chiffres qui sert de code d'identification à l'aide de logiciel. (Chibani et al, 2007).

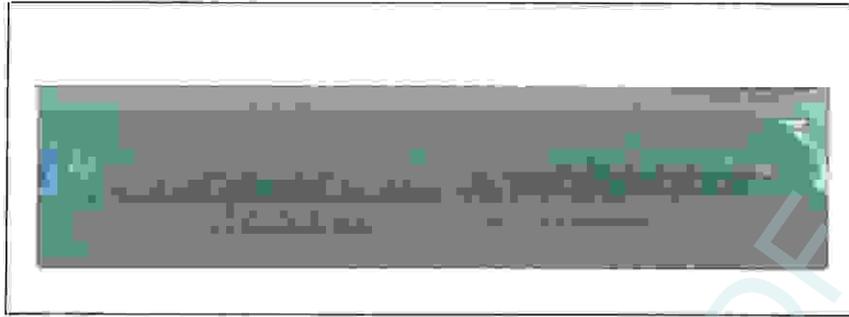


Fig 14 : API 20E.

Les tests complémentaires :

❖ Le test catalase :

Ce test sert notamment à différencier les bactéries de la famille des exemples : Micrococcaceae (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Kocuria*) catalase +, de celle des exemples : Streptococcaceae (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*) catalase-

➤ Méthode de travail :

Sur une lame porte-objet, déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, puis émulsionner un ose de bactérie prélevée sur la culture en milieu gélosé de la souche.

➤ Résultat attendu :

- Si un dégagement de bulles de gaz (oxygène) apparaît le test positif. (Delarras, 2003).

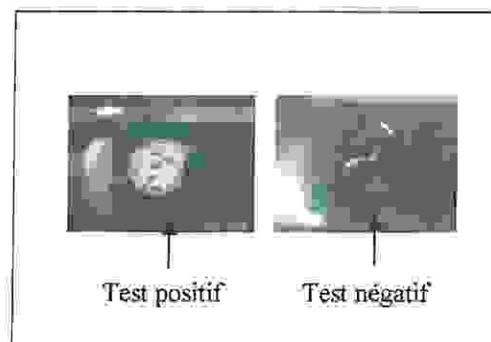


Fig 15 : le test catalase.

❖ Recherche d'ONPG (Ortho-nitro-phényl-galactoside):

Le test ONPG est une méthode simple et rapide qui permet de rechercher l'enzyme capable de scinder la molécule de lactose en glucose et galactose (ONPG hydrolase).

Le lactose qui est un composé incolore en se scindant libère un composé soluble jaune

➤ Méthode de travail :

- Préparer une suspension dense d'une culture de la bactérie à étudier dans 0,5 ml d'eau physiologie.
- Ajouter un disque d'ONPG.
- Incubation à 37°C pendant 24 heures.

➤ Résultat attendu :

- Test ONPG négatif : pas de coloration.
- Test ONPG positif : coloration jaune citrique. (Delarras, 1998).

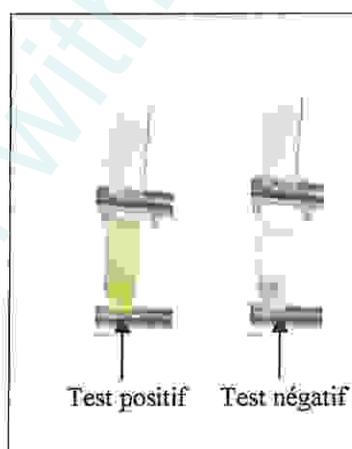


Fig 16 : le test ONPG. (14)

❖ Recherche de l'oxydase :

La recherche de l'oxydase est l'un des critères les plus discriminatifs et le plus employé dans le diagnostic des bacilles Gram⁺. Ce test simple consiste à mettre en évidence la capacité de la souche à tester à oxyder la forme réduite, incolore de dérivés de N-diméthyl-para-phénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé

➤ **Méthode de travail :**

Dans 10 gouttes d'une suspension épaisse de la bactérie à tester, introduire un disque imprégné d'une solution d'oxalate de N-diméthyl-para-phénylène diamine (disque OX BioMérieux)

➤ **Résultat attendu :**

Coloration violette foncé : bactérie oxydase positif.

Remarque 1 :

La coloration doit apparaître immédiatement ou après quelque secondes puis noircit.

Remarque 2 :

La recherche de l'oxydase ne doit pas être pratiquée à partir de colonies prélevées sur gélose au sang ni avec anse de platine. (Delarras, 1998).

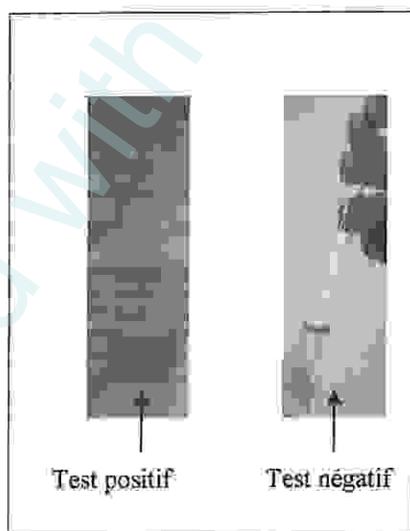


Fig 17: le test oxydase.

Chapitre IV

Résultat et Discussion

I- Résultats des caractères cultureux et morphologiques.

Prélèvement 01 :

1. Le milieu Gélose nutritive :

❖ Caractères cultureux :

Des Colonies volumineuses rondes, lisses, bombées avec contour régulier, regroupées et d'autre distincte jaunâtre.



Fig 18: Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des coccobacilles (Gram-).

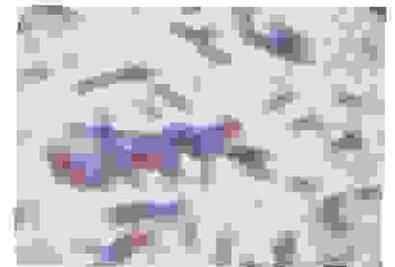


Fig 19: Aspect microscopique

×100

2. Le milieu Mac Conkey :

❖ Caractères cultureux :

Colonies volumineuses, lisses, bombés de contour régulier de couleur rose regroupées et d'autre distincte.

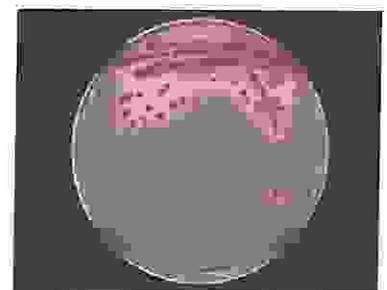


Fig 20: Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des bacilles (Gram-).

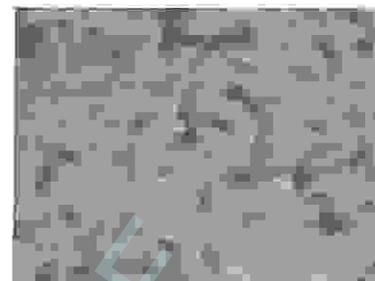


Fig 21 : Aspect microscopique
×100

3. Le milieu Chapman :**❖ Caractères culturaux :**

L'absence totale des colonies (résultat négatif).



Fig 22: Aspect macroscopique

4. Le milieu Sabouraud :**❖ Caractères culturaux :**

L'absence des colonies (résultat négatif).



Fig 23: Aspect macroscopique

5. Le milieu Gélose au sang :

❖ Caractère culturaux :

L'absence des colonies (résultat négatif).

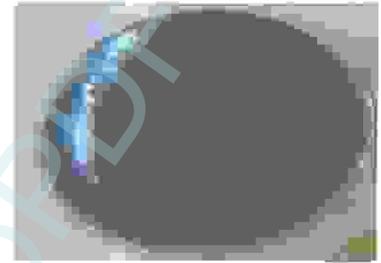


Fig 24 : Aspect macroscopique

Prélèvement 02 :

1. Le milieu Gélose nutritive :

❖ Caractères culturaux :

Des petites colonies lisses rondes, avec contour régulier parfois sont regroupées, pigmentés blanchâtre et orangés avec l'absence d'une odeur. Le type d'ensemencement : touche et strie

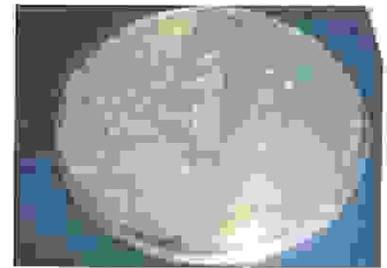


Fig 25 : Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des bacilles Gram (-).



Fig 26 : Aspect microscopique

×100

2. Le milieu Mac Conkey :

❖ Caractères cultureux :

Des petites colonies plates, rondes, avec contour régulier distinct, d'une couleur rose, la présence d'une Odeur.



Fig 27 : Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des bâcilles Gram (-).



Fig 28 : Aspect microscopique
×100

3. Le milieu Chapman :

❖ Caractères cultureux :

Des petites colonies lisses, bombées, rondes de couleur jaunâtres avec virage du couleur (milieu), Absence d'odeur.

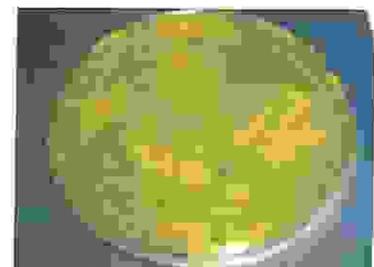


Fig 29 : Aspect macroscopique

❖ **Caractères morphologiques :**

Des cocci regroupées en amas
(forme du grappe de raisin).

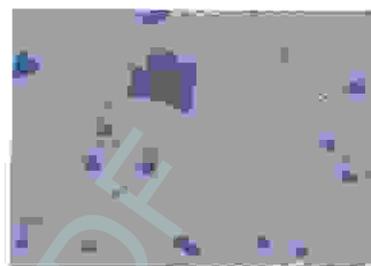


Fig 30 :Aspect microscopique
×100

4. Le milieu Sabouraud :

❖ **Caractères culturaux :**

Des petites colonies rondes distinct avec contour irrégulier, jaunâtres avec la présence d'une odeur putride.

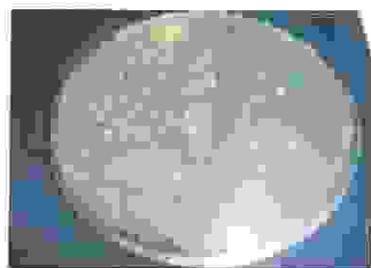


Fig 31 : Aspect macroscopique

❖ **Caractères morphologiques :**

Des colonies rondes de petites tailles partagées en deux donnant la forme des grains de café.

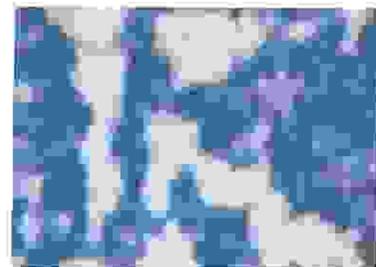


Fig 32 :Aspect microscopique
×100

5. Le milieu Gélose au sang :

❖ Caractères cultureux :

Des petites colonies rondes de petite taille

Une zone opaque incomplète entourée.

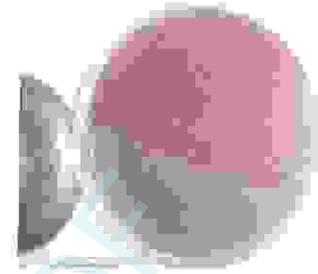


Fig 33 :Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des cocci (Gram+) enchainâtes.

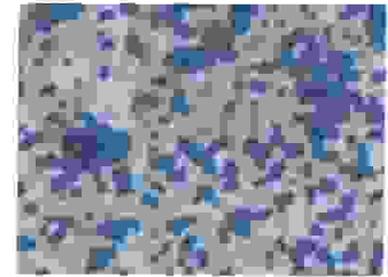


Fig 34 :Aspect microscopique
×100

Prélèvement 03 :

1- Le milieu Gélose nutritive :

❖ Caractères cultureux :

Des colonies volumineuses jaunâtres avec la présence d'autres colonies transparentes de petite taille, regroupés et distinct, absence d'odeur.



Fig35 : Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des bacilles Gram (-).

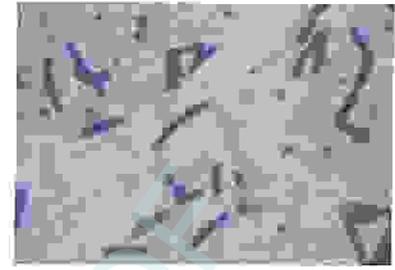


Fig 36 :Aspect microscopique
×100

2- Le milieu Mac Conkey :**❖ Caractères cultureux :**

Des petites colonies plates, ronde, avec contour régulier, distinct, d'une couleur rose.



Fig 37 :Aspect ma du milieu

❖ Caractères morphologiques :

Des bacilles Gram (-).

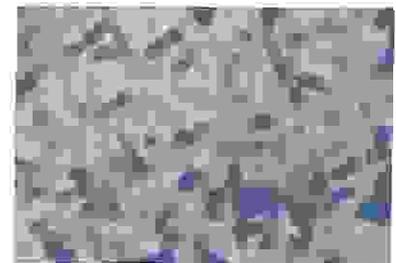


Fig 38:Aspect microscopique

×100

3- Le milieu Chapman :

❖ **Caractères cultureux :**

l'absence totale des colonies (résultats négatif).

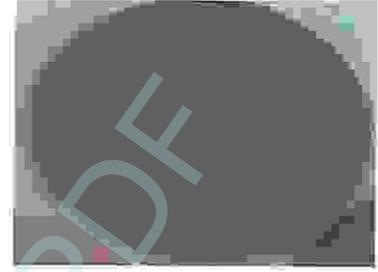


Fig39:Aspect macroscopique

4- Le milieu Sabouraud :

❖ **Caractères cultureux :**

Des colonies filamenteuses, volumineuses blanchâtres et grisâtres avec une odeur putride.

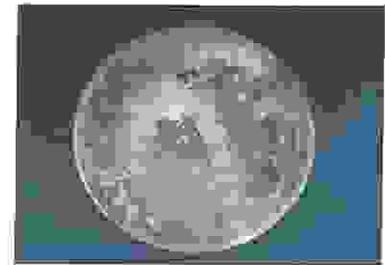


Fig 40 :Aspect macroscopique

❖ **Caractère morphologiques :**

Des filaments cloisonnés du couleur bleu.

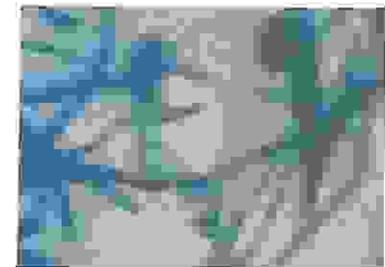


Fig 41 :Aspect microscopique

×100

5- Le milieu Gélose au sang :

❖ Caractères cultureux :

Des petites colonies distinctes bombées, lisses, rondes à contour régulier, grisâtres masqués par l'odeur du sang entourées par une zone claire facilement visible sur la gélose au sang frais (*Hémolyse β*).



Fig 42: Aspect macroscopique

❖ Caractères morphologiques :

Des cocci Gram (-) en chaîne.

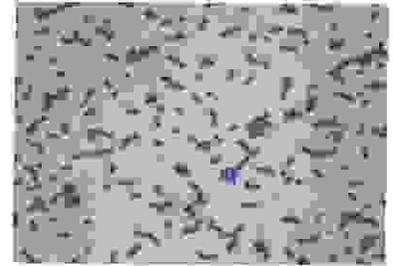


Fig 43 : Aspect microscopique

×100

II- Résultats de la galerie classique et les tests complémentaires.

❖ Prélèvement 1 :

1. Le milieu (MAC):

Tableau 07: Résultats de la galerie classique.

Le paramètre	La lecture	Résultat
Mannitol	- Virage de couleur vers le jaune - Présence de la fermentation de mannitol	Mannitol (+)
Mobilité	- Présence d'une ramification	Mobilité (+)
Citrate de Simmons	- Virage de couleur vers le bleu vert - Présence d'enzyme perméase	Citrate de Simmons (+)
VP	- Virage de couleur vers le rouge	VP (+)
RM	- Reste la même couleur	RM (-)
Indole	- Absence d'anneau rouge	Indole (-)

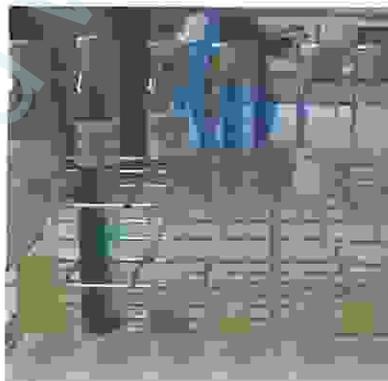


Fig.44 : Résultats de la galerie classique.

➤ Résultats des tests complémentaires :

Tableau 08 : Résultats des tests complémentaires.

Le test	La lecture	résultat
catalase	La présence d'enzyme extracellulaire qui libère O ₂ et H ₂ O	Catalase (+)
oxydase	L'absence de la chaîne respiratoire	Oxydase (-)
ONPG	Présence d'enzyme β Galactosidase	ONPG(+)

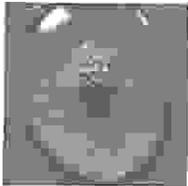
Test catalase	Test oxydase	Test ONPG
 <p>Catalase +</p>	 <p>Oxydase : +</p>	 <p>ONPG +</p>

Fig.45 : Résultats des tests complémentaires.

2. Le milieu (GN):

- Le système API 20 :

Tableau 09 : Résultats de l'API 20.

Le test	La lecture	Résultats	
ONPG	L'apparition d'une couleur jaune	Présence d'enzyme beta-galactosidase	ONPG(+)
ADH	L'apparition d'une couleur jaune	L'absence d'enzyme Arginine dihydrolase	ADH(-)
LDC	L'apparition d'une couleur orange	Présence d'enzyme Lysine décarboxylas	LDC(+)
ODC	L'apparition d'une couleur jaune	L'absence d'enzyme Ornithine décarboxylas	ODC(-)
CIT	L'apparition d'une couleur bleu-vert	Présence d'enzyme perméase	CIT(+)
H ₂ S	Le micro tube est incolore	L'absence de production d' H ₂ S	H ₂ S(-)
URE	L'apparition d'une couleur rouge/orange	Présence d'enzyme Uréase	URE(+)
TDA	L'apparition d'une couleur jaune	L'absence d'enzyme Tryptophane désaminase	TDA(-)
IND	Le micro tube est incolore	L'absence de production d'indole	IND(-)
VP	L'apparition d'une couleur rose	Production d'acétoïne	VP(+)
GEL	Pas de diffusion de pigment noir	L'absence d'enzyme Gélatinase	GEL(-)
GLU	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation de glucose	GLU(+)
MAN	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Mannitol	MAN(+)
INO	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Inositol	INO(+)
SOR	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Sorbitol	SOR(+)
RHA	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Rhamnose	RHA(+)
SAC	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Saccharose	SAC(+)
NEL	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Melibiose	NEL(+)
AMY	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Amygdaline	AMY(+)
ARA	L'apparition d'une couleur jaune	La fermentation /oxydation Arabinose	ARA(+)

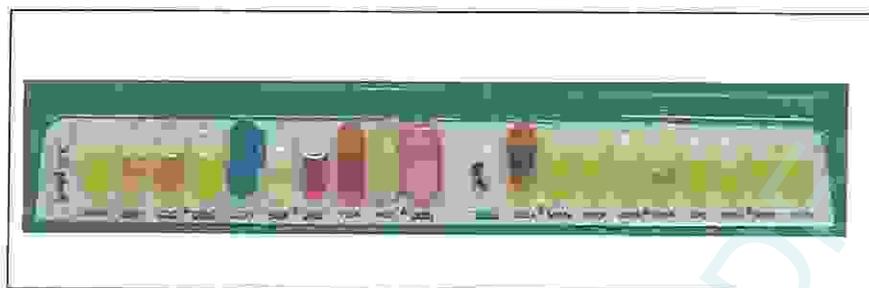


Fig 46: résultat de l'API 20.

❖ **Prélèvement 2 :****1. Le milieu GN :**

Tableau 10 : Résultats de la galerie classique.

Le paramètre	La lecture	Résultat
Citrate de Simmons	- Reste la même couleur - Absence d'enzyme perméase	Citrate de Simmons (-)
Mannitol	- Reste la même couleur - L'absence de la fermentation de mannitol	Mannitol (-)
Mobilité	- Présence d'une ramification	Mobilité (+)
Indole	- Absence d'anneau rouge	Indole (-)
RM	- Virage de couleur vers le rouge	RM(+)
VP	- Reste la même couleur	VP(-)

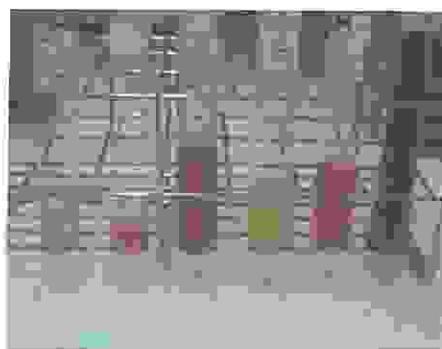


Fig. 47 : Résultats de la galerie classique.

➤ Résultats des tests complémentaires :

Tableau 11 : Résultats des tests complémentaires.

Le test	La lecture	résultat
catalase	La présence d'enzyme extracellulaire qui libère O_2 et H_2O	Catalase (+)
oxydase	L'absence de la chaîne respiratoire	Oxydase (-)
ONPG	L'absence d'enzyme β Galactosidase	ONPG(-)

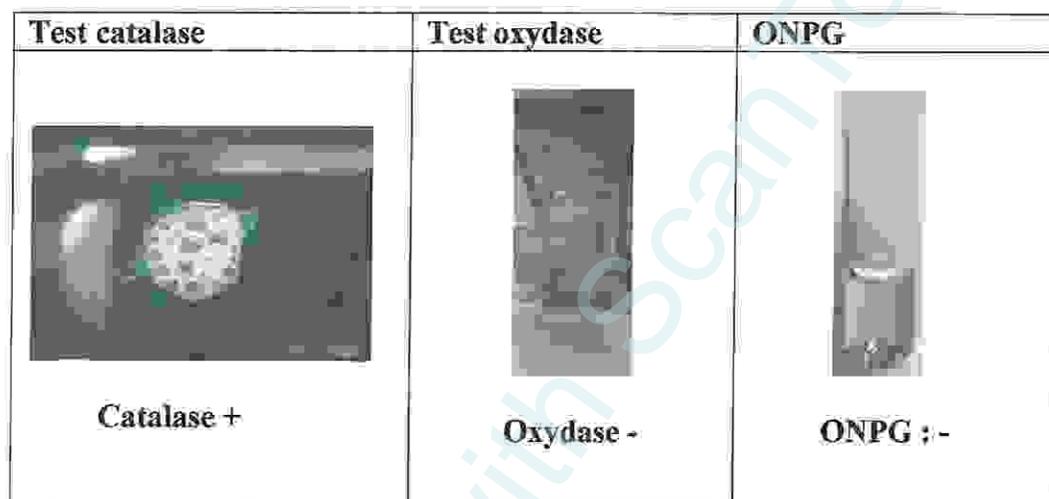


Fig.48 : Résultats des tests complémentaires.

2. Le milieu MAC :

Tableau 12 : Résultats de la galerie classique.

Le paramètre	La lecture	Résultat
Citrate de Simmons	- Reste la même couleur - Absence d'enzyme perméase	Citrate de Simmons (-)
Mannitol	- Virage de couleur vers le jaune - la fermentation de mannitol.	Mannitol (+)
Mobilité	- L'absence de la ramification	Mobilité (-)
Indole	- Absence d'anneau rouge	Indole (-)
RM	- Virage de couleur vers le rouge	RM(+)
VP	- Reste la même couleur	VP(-)



Fig. 49 : Résultats de la galerie classique.

➤ Résultats des tests complémentaires :

Tableau 13 : Résultat des tests complémentaires.

Le test	La lecture	résultat
catalase	La présence d'enzyme extracellulaire qui libère O ₂ et H ₂ O	Catalase (+)
oxydase	L'absence de la chaîne respiratoire	Oxydase (-)
ONPG	L'absence d'enzyme β Galactosidase	ONPG(-)

Test catalase	Test oxydase	Test ONPG
 <p>Catalase +</p>	 <p>Oxydase : -</p>	 <p>ONPG -</p>

Fig.50 : Résultats des tests complémentaires.

3. Le milieu Chapman :

Tableau 14 : les Résultats des testes d'identification des staphylocoques.

Le test	La lecture	résultat
Mannitol	L'apparition de virage du couleur (au niveau de la boite de gélose)	Mannitol (+)
Catalase	La présence d'enzyme extracellulaire qui libère O ₂ et H ₂ O	Catalase (+)
Coagulase	L'absence de la coagulation	Coagulase (-)

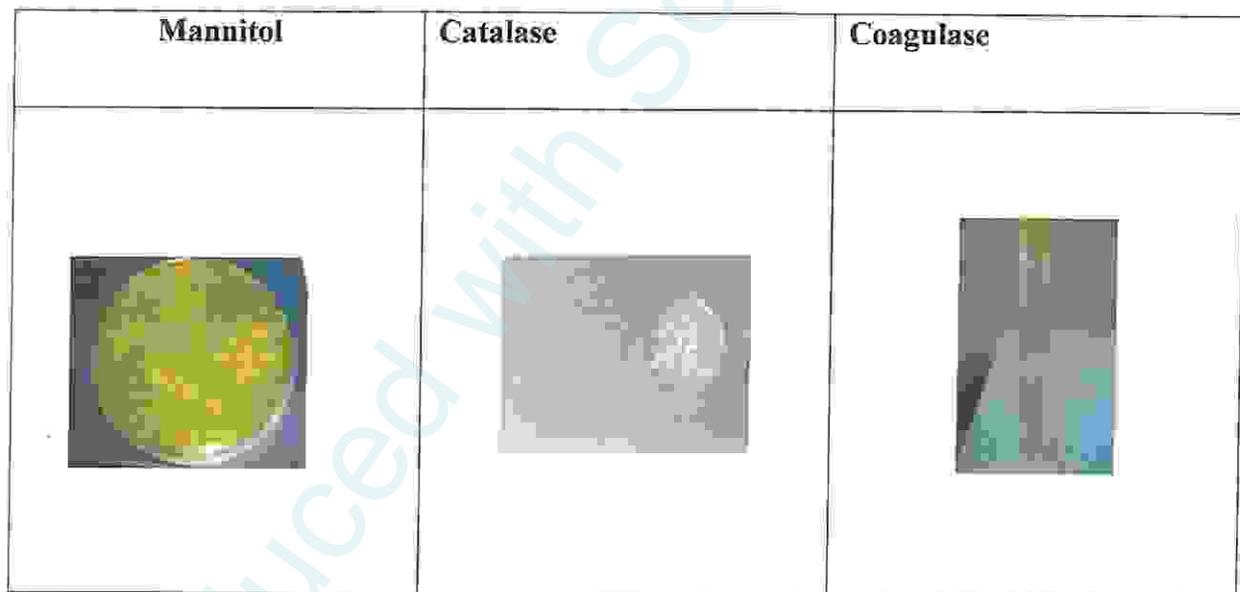


Fig 51 : Résultats des testes d'identification des staphylocoques

❖ **Prélèvement 3 :****1. Le milieu GN :****Tableau 15 :** Résultats de la galerie classique.

Le paramètre	La lecture	Résultat
Mannitol	- Virage de couleur vers le jaune - Présence de la fermentation de mannitol	Mannitol (+)
Mobilité	- Absence d'une ramification	Mobilité (-)
Citrate de Simmons	- Reste la même couleur - Absence d'enzyme perméase	Citrate de Simmons (-)
Indole	- Absence d'anneau rouge	Indole (-)
RM	- Virage de couleur vers le rouge	RM (+)
VP	- Reste la même couleur	VP (-)

**Fig.52 :** Résultats de la galerie classique.

➤ Résultats des tests complémentaires :

Tableau 16 : Résultats des tests complémentaires.

Le test	La lecture	résultat
catalase	La présence d'enzyme extracellulaire qui libère O ₂ et H ₂ O	Catalase (+)
oxydase	L'absence de la chaîne respiratoire	Oxydase (-)
ONPG	Présence d'enzyme β Galactosidase	ONPG(+)

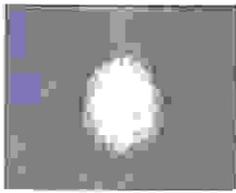
Test catalase	Test oxydase	Test ONPG
 <p>Catalase +</p>	 <p>Oxydase :-</p>	 <p>ONPG +</p>

Fig.53 : Résultats des tests complémentaires.

2. Le milieu MAC :

Tableau 17 : Résultats de la galerie classique.

Le paramètre	La lecture	Résultat
Mannitol	- Reste la même couleur - Absence de la fermentation de mannitol	Mannitol (-)
Mobilité	- Présence d'une ramification	Mobilité (+)
Citrate de Simmons	- Reste la même couleur Absence d'enzyme perméase	Citrate de Simmons (-)
Indole	- Absence d'anneau rouge	Indole (-)
RM	- Virage de couleur vers le rouge	RM (+)
VP	- Reste la même couleur	VP (-)

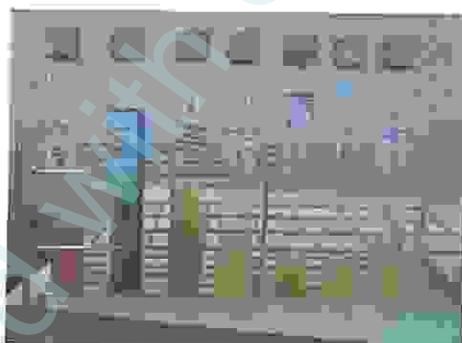


Fig. 54 : Résultats de la galerie classique du milieu.

➤ Résultats des tests complémentaires :

Tableau 18 : Résultats des tests complémentaires.

Le test	La lecture	résultat
catalase	La présence d'enzyme extracellulaire qui libère O ₂ et H ₂ O	Catalase (+)
oxydase	Présence de la chaîne respiratoire	Oxydase (-)
ONPG	Absence d'enzyme β Galactosidase	ONPG(-)

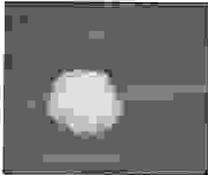
Test catalase	Test oxydase	Test ONPG
 Catalase +	 Oxydase : +	 ONPG -

Fig. 55: Résultats des tests complémentaires du milieu MAC.

Chapitre V

Etude statistique

Pour avoir une étude plus détaillé sur notre maladie on a essaie de Faire une étude statistique concernant notre prélèvement.

Tableau 19: la répartition de taux d'hémolyse en fonction du nombre.

	Le nombre des prélèvements	Le pourcentage des prélèvements (%)
α	1	$1/6 \times 100 = 16,67$
β	4	$4/6 \times 100 = 66,66$
Autre bactérie	1	$1/6 \times 100 = 16,67\%$

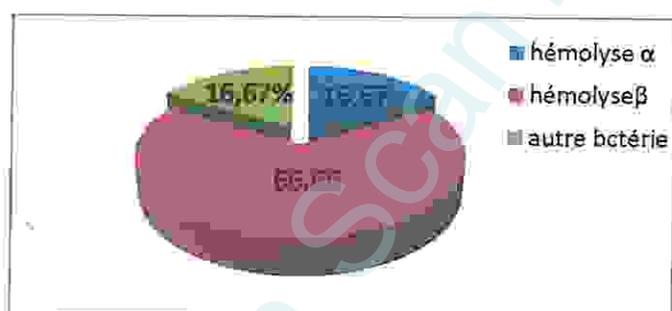


Fig 56 : la répartition de taux d'hémolyse en fonction du nombre.

Tableau 20 : la variation de taux de sexe en fonction du nombre.

Le sexe	Le pourcentage des prélèvements (%)
F	$4/6 \times 100 = 66,67 \%$
M	$2/6 \times 100 = 33,33\%$

F : féminin, M : masculin.

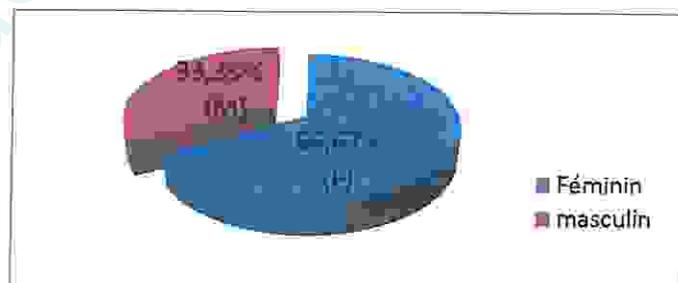


Fig 57: la variation de taux de sexe en fonction du nombre.

Tableau 21 : La variation de l'âge en fonction de type d'hémolyse.

L'âge (an)	Le nombre de prélèvements	Le pourcentage de prélèvements (%)	le type de l'hémolyse		
			α	β	Autre bactérie
[01 - 15ans]	1	$1/6 \times 100 = 16,67\%$	/	/	1
[15 - 30 ans]	4	$4/6 \times 100 = 66,66\%$	1	3	/
[30 - 45 ans]	1	$1/6 \times 100 = 16,67\%$	/	1	/

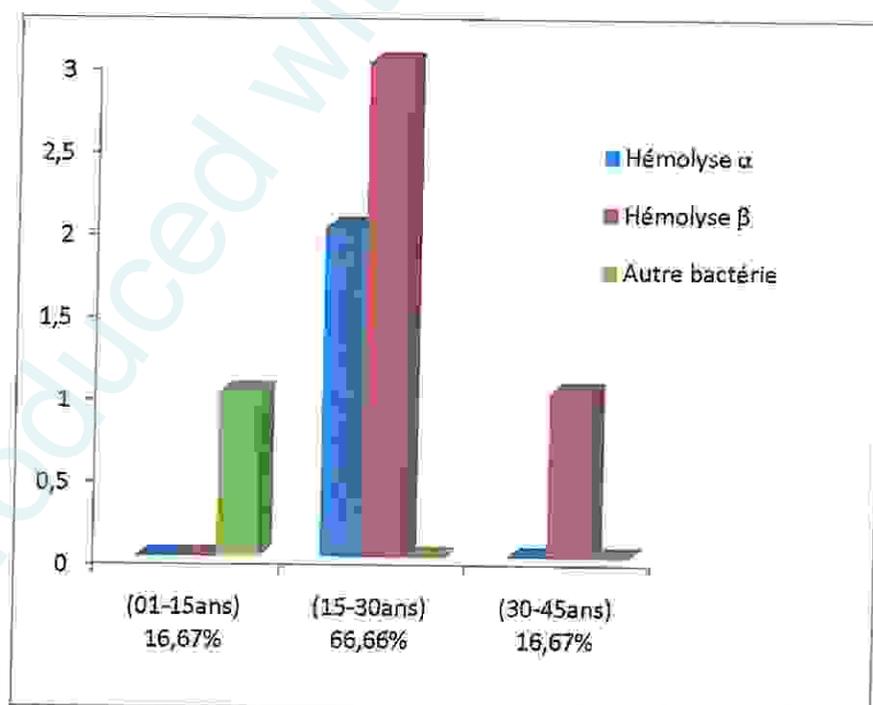


Fig 58 : La variation de l'âge en fonction de type d'hémolyse.

❖ **Tableau 22** : La répartition du nombre des malades en fonction de mois. (Année 2010)

Le moi	Le nombre des malades	Total
Janvier	PPA= 03 HA= 05	08
Février	PPA=02 HA=07 Angine =01	10
Mars	PPA=03 HA=15	18
Avril	PPA=02 HA=02 Angine =01	07
Mai	PPA=05 HA=04 Angine =03 Amygdalite = 01	07
Juin	PPA=01 HA=10	05
Juillet	PPA=09 HA=01 Angine = 03	04
Aout	PPA= 04 Angine = 03 Amygdalite = 01	03
Septembre	PPA=04 Angine = 08	07
Octobre	PPA=08 HA=02 Angine = 03	09
Novembre	PPA=07 HA=04 Pharyngite = 01	10
Décembre	PPA=03 Angine = 03	13

- **PPA** : Phlegmon péri amygdalien.
- **HA** : Hypertrophie amygdalienne.

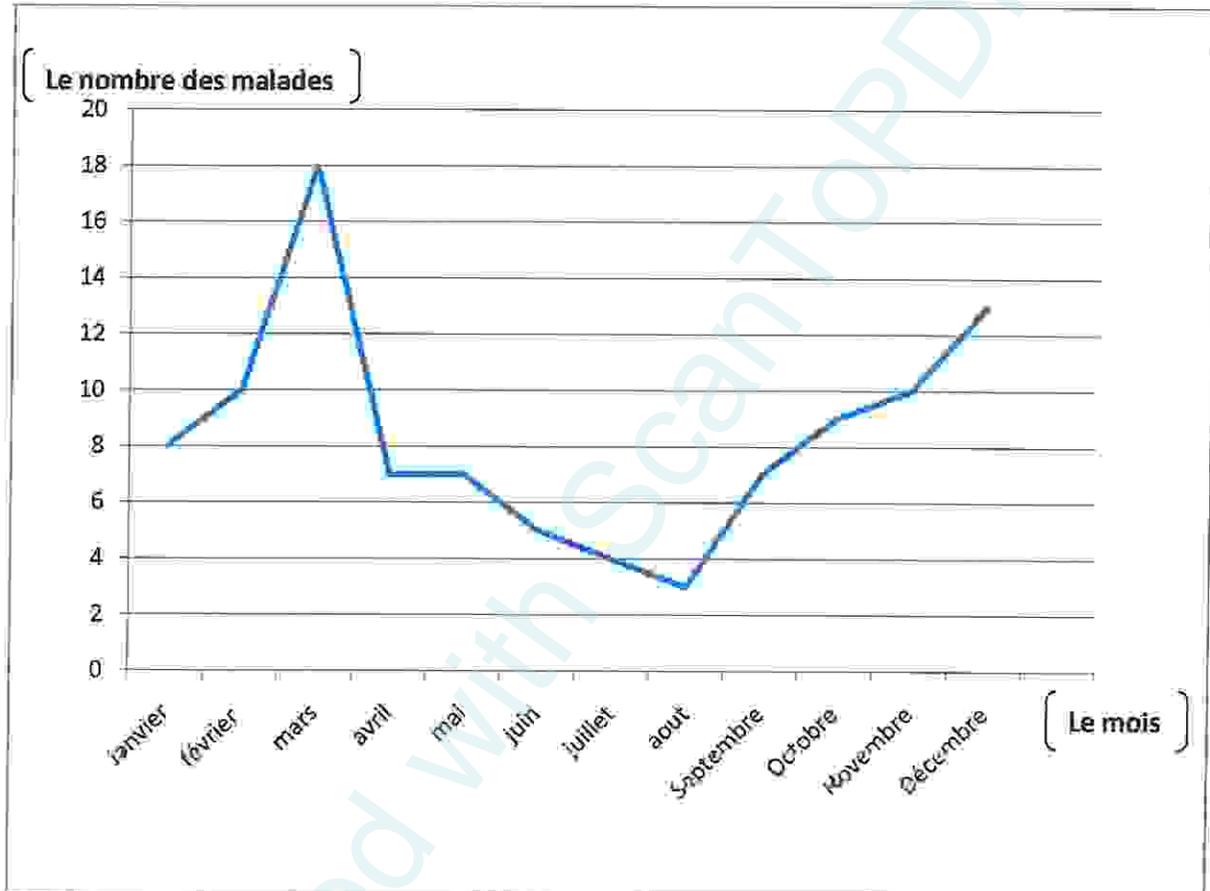


Fig59 : La répartition du nombre des malades en fonction de mois.

Discussion :

Notre stage a été réalisé dans laboratoire du département de biologie sur six prélèvements de pharynx durant de mois d'avril 2011 dont le but d'une identification bactériologique des germes Causals qui présentent une inflammation aigue ou chronique du pharynx d'origine viral 90% ou bactérienne 10% avec des symptômes sécheresse, fièvre touche principalement les patients de différents âge (2 - 45 ans).

ces malades subit des prélèvements par écouvillonnages et nous avons isolé sur les boîtes de culture (géloses ou sang cuit et frais ,gélose nutritif, Mac Conkey, Chapman, et Sabouraud après l'incubation on a sélectionnés a partir d'un études macroscopique des boîtes des petits colonies, volumineuse, ronde, lisse,(bombé, plate) avec contour régulier, regroupée et distinct avec une couleur (orangé, rosé) dans les boîtes de Mac Conkey (fig. 20,27,37) , des petites colonies lisse ,ronde ,regroupées dans les boîtes de Chapman (fig. 29) ;des petites colonies filamenteuses et ronde distinct avec contour régulier blanchâtres et jaune avec une odeur putride dans les boîtes de Sabouraud.(fig. 31,40) ;des petites colonies ronde bombé distinct grisâtres masqué par l'odeur du sang entouré par des zones sombre hémolyse type α dans les boîtes du géloses au sang cuits (fig. 33) ; et des colonies arrondie régulier transparente bombé masqué par l'odeur du sang entouré par une zone clair d'hémolyse type β dans les boîtes de gélose au sang frais (fig. 42).

Après l'observation macroscopique on a réalisés des colorations différentielles (coloration du Gram) sur les colonies ,après la réalisation de cette coloration on a observé des cocci en chainettes Gram+ dans les boîtes de gélose au sang (fig. 33,42) ; des bacilles Gram - ,coccobacille Gram- dans les boîtes de gélose nutritif (fig. 18 ,25,35) ,des bacilles Gram- dans les boîtes de Mac Conkey (fig. 20,27,37) ; des grappes de raisins Gram + dans les boîtes de Chapman (fig. 30) et après la coloration simple avec bleu de méthylène on a observé des filaments bleus cloisonnés, des grains de café dans les boîtes de Sabouraud (fig. 32,41).

Avec cette confirmation microscopique nous avons étudié certain caractères culturaux dans le but d'identifier les espèces on utilisant les tests biochimiques des galeries classiques qui sont (le mannitol mobilité, citrate de Simmons, VP, l'indole,) réalisé sur les boîtes de GN et de Mac Conkey on a obtenu des tests positif et tests négatif tableaux (07, 10, 12, 15,17) et aussi par le système API 20e sur certain culture résultat tableau 09

Par la suite on a introduire les tests complémentaires sont (l'oxydase, catalase, sécrétion d'enzyme.):

L'identification microscopique et biochimique sont généralement suivies par des études sérologique et l'antibiogramme mais par manque du matériel et de produits on n'a pas réalisés ces techniques d'ailleurs en a étudié théoriquement les germes le plus étiologiques de la pharyngite c'est les streptocoques et leur sensibilité aux antibiotiques (bacitracine et l'optochine).

Ces dernières permettent de différencier les pneumocoques et les streptocoques les premières sont sensibles à l'optochine et les seconds à la bacitracine.

Après ces résultats on distingue la variations des germes on a trouvées la présences des streptocoques α hémolytique dans les boîtes de géloses au sang cuit ;des streptocoques β hémolytiques dans les boîtes de gélose au sang frais ; des (*proteus mirabilis ;shigella .*) dans les boîtes de gélose nutritif et des (*Ecoli 2 ;ochrobactérium enterobacter.*) dans les boîtes de mac conkey ,des (champignons filamenteux) dans les boîtes de Sabouraud des (*staphulococcus épidermidis*) dans les boîtes de Chapman.

Après la réalisation des études statistiques des prélèvements selon le type d'hémolyse on voit que l'hémolyse β trouvé dans la majorité des prélèvements comparant a l'hémolyse α (tableau N°19).

Selon l'âge on trouve que la pharyngite fréquente chez les enfants de 2ans et chez l'adulte moins de 45 ans (le tableau N°21)

Fréquente chez le sexe féminin 66.67% en comparant à sexe masculin 33.33% (tableau N°20)

Le graphique des variations mensuelles de la pharyngite dans la wilaya de Guelma montre que le nombre des cas très élevés dans la période hivernal décroissant dans le printemps et très faible dans la période estival. (fig59).

Conclusion :

La pharyngite se transmet principalement par les contacts oraux, les projections de salive et par manque de vaccination adéquate, l'hygiène et la prévention sont les meilleures solutions pour éviter cette affection :

- Utiliser un humidificateur d'air (Fontaine d'arômes) ou des récipients d'eau placés contre les radiateurs, calme les irritations de la gorge et donc modère la toux.
- L'assèchement de la muqueuse pharyngée augmentant la sensation de brûlure, il est conseillé de boire beaucoup d'eau.
- Privilégiez les boissons chaudes avec du miel (miel citron par exemple). Boire permet de diluer les virus et donc de limiter le risque d'avoir une toux.
- Manger essentiellement des aliments sous forme liquide pour diminuer la douleur à la déglutition.
- Sucrer des pastilles pour la gorge. L'hypersalivation provoquée par la succion contribue à la guérison.
- Éviter de manger des aliments trop acides ou trop salés pour ne pas irriter la muqueuse de la gorge.
- Protéger le cou et la gorge du froid par une écharpe ou un foulard surtout en hiver.
- Éviter les courants d'air.
- Ne pas forcer sa voix. Le repos vocal doit être observé pendant 2 à 3 jours.

Glossaire :

- **Une endocardite** : est une inflammation de l'endocarde (structures et enveloppe interne du cœur, incluant les valves cardiaques). C'est une maladie assez rare mais souvent très grave
- **La myocardite** : est une atteinte inflammatoire du myocarde de causes variées, se caractérise souvent par une fatigue, une douleur thoracique, fréquemment accompagnée d'une fièvre, d'un pouls rapide et d'une hypotension artérielle.
- **La péricardite** : est une infection du péricarde, la membrane mince et résistante, semblable à un sac, qui entoure le cœur.
- **Les choanes** : sont les orifices postérieurs internes des cavités nasales qui s'ouvrent à l'arrière du palais dans le rhinopharynx chez les tétrapodes.
- **ORL** : (L'Oto-Rhino-Laryngite) est la spécialité médico-chirurgicale consacrée aux anomalies de l'oreille, du nez et des sinus, de la gorge et du cou.
- **La trompe d'Eustache ou trompe auditive** : est un conduit osseux et fibro-cartilagineux reliant la paroi antérieure de l'oreille moyenne au rhinopharynx
- **Le formamide** : est un amide provenant de l'acide formique. À température ambiante, il se présente comme un liquide incolore proche de la consistance de la glycérine. C'est un solvant hygroscopique et un réducteur d'odeur proche de celle de l'ammoniac. Il peut se transformer en acide cyanhydrique, ammoniac, monoxyde de carbone et eau.
- **Immuno-électrophorèse** : est une méthode de laboratoire qui, en couplant une électrophorèse avec une solution contenant des anticorps spécifiques, va séparer les composants du sérum ou de l'urine en formant un précipité qui sera spécifique de chaque immunoglobuline
- **Coagglutination** : Propriété que possède le sérum de certains malades d'agglutiner non seulement le microbe spécifique de la maladie en cause, mais encore certains microbes voisins.
- **Antistreptolysines O (ASLO)** : anticorps produites par l'organisme lors des infections par des streptocoques, et mesurables dans le sang.

- **Le test ELISA** : (acronyme de *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) est un test immunologique destiné à détecter et doser une protéine dans un liquide biologique
- **Une pneumopathie** : est une infection du tissu pulmonaire
- **Bacitracine** est un antibiotique utilisée en laboratoire de bactériologie pour identifier un streptocoque du groupe A.
- **Optochine** : sont des antibiotiques utilisées pour les germes streptocoque
- **Variété de phlegmon** : se caractérisant par la survenue d'une affection localisée entre l'amygdale et le muscle constricteur supérieur du pharynx.
- **Hypertrophie amygdalienne** : c'est une affection responsable de troubles respiratoires du sommeil

Produced with Scantopdf

Bibliographie

Liste des livres :

- 1- Avril. J. L., H. Dabernat., F. Denis et H.Montiel., (2000). Bactériologie clinique. Edition Ellipses, p : 06-23-26-32.
- 2- Ball T-R., (1982). Manuel pratique d'ORL. Masson éditeur 120 bd. Saint-Germain.p : 221-222.
- 3- Bugnicort.M.,(1995). Dictionnaire de microbiologie générale. Edition markding, p : 676
- 4- Chibani.S., Nabti et Saye ., (2007).La bithérapie par association d'antibiotique. Mémoire d'ingénieur d'état en génie biologique. Université du Guelma, p : 63.
- 5- Delarras. C., (1998). Microbiologie 90 heures de travaux pratique. Gaitan marin-éditeur,Paris, p :276
- 6- (Delarras. S., (2003).Surveillance sanitaire et microbiologie des eaux usées. Tec et Doc, p :269
- 7- Djebbari .H., Elhamza.H et Chouli.N., (2008). Les infections urinaires. Mémoire d'ingénieur d'état en génie biologique. Université du Guelma, p : 56
- 8- Fauchère JL et Avril JL., (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses,Paris,p :365
- 9- Flandois.J.P.,(1999). Bactériologie médicale. Edition AZAY,p :122-128-245-290.
- 10- Jean Pière et Flandois., (2002). Bactériologie médicale. Édition AZAY, p : 119-120-121.
- 11- Larpent et Jean Pière.,(2002).Introduction à la nouvelle classification bactérienne. 2^{ème} édition,p : 169-174.

- 12- **Lassoued, K et Touhami, N., (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau du Barrage de Hammam Debagh. Mémoire d'ingénieur d'état en génie biologique. Université du Guelma, p : 44.
- 13- **Mac Victor Assous., Anne -Lise Basse- Guérineau., Herve Bourhy. , Robin Dhote et André Paugam., (1999).** Microbiologie et pathologie infectieuse. 2^{em} édition Américaine, p :179-183
- 14- **Morin .Y., (2001).** Petit Larousse de la médecine, Edition Larousse, p : 55-56-57-62,
- 15- **Pitte .J.V.K engback., P.Piot et C.C Heuk., (1994).** Bactériologie clinique : Technique de bases pour laboratoire. p : 47-48-49.
- 16- **Portmann .M., (1977).** Oto-rhino -Laryngologie. Maloine 27 rue de l'école de médecine Paris. p: 204 – 205.
- 17- **Sayad.M., (1997).** Mémoire réalisé en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en médecine, RAA. À propos de 54 cas hospitalisés dans la clinique CHU Annaba, p : 118
- 18- **Singleton .P.,(2005).** Bactériologie pour la médecine et la biotechnologie, p : 201-552.

Produced with Scantopdf

Les sites web :

(1) Index des maladies de A à Z, mal de gorge (consulté le 02/04/2011)

http://www.naitreetgrandir.net/fr/MauxEnfants/IndexMaladiesA_Z/Fiche.aspx?doc=naitre-grandir-sante-enfant-mal-gorge-pharyngite-amygdalite

(2) Le pharynx et la pharyngite, administratrice jacotte (consulté le 28/03/2011)

<http://jacotte26.forumactif.com/t10487-le-pharynx-et-la-pharyngite>

(3) La pharyngite virale et la pharyngite bactérienne (consultation le 15/04/2011)

<http://www.mfa.gouv.qc.ca/fr/ministere/services-outils/bye-bye-microbes/no7-3/Pages/article1.aspx>

(4) Les maladies infectieuses (consulté 24/04/2011)

<http://sante.journaldesfemmes.com/pratique/maladies/maladiesinfectieuses/1421/pharyngite.html>

(5) Pharyngite cours d'otolaryngologie (consulté le 05/05/2011)

<http://medecine.sante-dz.org/cours/orl/pharyngite.htm>

(6) Informations générales de pharyngite (consulté le 12/05/2011)

<http://www.pharmacyescrow.com/p6-fr-935-s-pharyngitis.aspx>

(7) Les Angines maîtrisent les [Archives] - Forum Algérien de *Médecine* (consulté le 16/05/2011)

<http://www.antiinfectieux.org/antiinfectieux/PTS/infections-respiratoires/pharyngite/PTS-respi-pharyngite.html>

(8) Les agents infectieuse de la pharyngite (consulté le 29/04/2011)

<http://mpronovost.ep.profweb.qc.ca/INTN0B/H2007/antibiotiques/site%20web/page4.htm>

(9) La maladie de candidiose (Wikipedia) (consulté le 05/05/2011)

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Candidose>

(10) Les streptocoques, Jean- Claude Lenahieu, Anee Decoster, (consulté le 29/03/2011)

<http://annee.decocter.free.fr/strepto/strepto.htm>

(11) Bactériologie médicale, cours de bactériologie générale, Pr.A. Bouvet, (consulté le 07/05/2011)

<http://www.Microbe-edu-org/étudiant/streptocoques.html>

(12) Wikipedia, streptocoque, (consulté le 23/03/2011)

<http://fr.wikipedia.org/wiki/streptocoque>

(13) Les streptocoques, entérocoques et pneumocoques, université Pierre et Marie Curie, Paris, faculté de médecine. (consulté le 15/04/2011)

<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.chp.4.html>

(14) Les milieux de culture en microbiologie (consulté le 05/05/2011)

<http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/milieux.html#tubes>

Produced with Scantopdf

Annexe :

1. Les milieux des cultures :

Milieu de culture	composants	concentratin
1) Milieux solide :		
Milieu Gélose Nutritif	-extrait de viande de bœuf -extrait de levure -peptone -chlorure de sodium -agar	1g 2g 5g 5g 15g
Milieu gélosé de Mac Conkey :	-Bio-gelytone -Bio-polytone -agar -lactose -sels biliaires -NaCL - rouge neutre	17g 3g 12g 10g 5g 5g 0.04
Milieu gélosé de Chapman :	-Peptone -extrait de viandes -chlorure de sodium -mannitol -rouge de phénol -agar agar -eau distillé	10g 01g 75g 10g 0.025g 15g 1 litre
Milieu Gélosé de Sabouraud :	-peptone. -glucose. -agar agar -eau distillé -vitamines et des facteurs de croissance - pH =6	10g 20g 15g 1000 ml

Gélose au sang	Gélose de base : gélose Mueller-Hinton ou gélose Columbia Ajouter au moment de l'emploi à la gélose fondue 5 à 10 % de sang frais défibriné.	
Milieu TSI :	<ul style="list-style-type: none"> -agar -extrait de bœuf -extrait de levure -peptone -lactose -saccharose -NaCl -glucose -citrate ferrique -thiosulfate de sodium -rouge de phénol -Eau distillé 	<ul style="list-style-type: none"> 12g 03g 03g 20g 10g 10g 05g 01g 03g 03g 0.025g 1000ml
Milieu de Citrate de Simmons :	<ul style="list-style-type: none"> -chlorure de sodium -sulfate de magnésium -phosphate di-potassique PO_4 HK_7 -citrate trisodique -solution de bleu romothymol -agar -eau distillée -phosphate d'ammonium PO_4 H_2 	<ul style="list-style-type: none"> 05g 0.2g 07g 02g 08g 15g 1000ml 01g
Milieu mannitol mobilité :	<ul style="list-style-type: none"> -Agar agar -Peptone pancréatique de viande -mannitol -Nitrate de potassium -Rouge de phénol solution à 1% -eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> 04g 20g 02g 01g 04g 1000ml

2) Les milieux liquides :		
Milieu Clark et Lubs :	- Peptone tryptique de caséine - Phosphate bi-potassique - Glucose - Eau distillé	05g 05g 05g 100ml
Eau peptoné exempté d'indole (EPAI)	- Peptone exempté d'indole - Chlorure de sodium - Eau distillé	10g 05g 1000ml
Bouillon nutritif :	- Biogetytone - Eau distillé	5g 1000ml

2. Les réactifs :

réactifs	composition	concentration
Réactif de Kovacs (IND) : pour la mise en évidence la production d'indole	Paradiméthylamino benzaldéhyde Alcool iso amylique Acide chlorhydrique concentré	5g 75g 25g

<p>Reactif de Voges Proskauer (VP) :</p> <p>pour la recherche de lactoïne</p>	<p>1- VPI (KOH) -Hydroxyde de Potassium -Eau distillé.</p> <p>2- VPII alpha naphtol : -Alpha naphtol. -Eau distillé</p>	<p>40g 100ml</p> <p>06g 100ml</p>
<p>Réactifs Griess pour les Nitrites :</p>	<p>1-NR I (nitrate réductase I) -Acide sulfanilique. -Acide acétique.</p> <p>2-NR II (nitrate réductase II) : -N-N –diméthyl -1 – naphtylamine -Acide acétique 5N.</p>	<p>0.8g 100ml</p> <p>0.6g 100ml</p>
<p>Rouge de Méthyle :</p>	<p>-Rouge de méthyle. -Alcool éthylique à 95%. -Eau distillé.</p>	<p>0.1g 300ml 500ml</p>

3. Les colorants :

colorants	composition	concentration
Violet de Gentiane :	<ul style="list-style-type: none">-Violet de Gentiane.-Ethanol à 90%.-Phénol.-Eau distillé.	<ul style="list-style-type: none">0.1g10ml02g100ml
Lugol :	<ul style="list-style-type: none">-Lode-Lodure de potassium-Eau distillé	<ul style="list-style-type: none">01g02g300ml
Fuchsine :	<ul style="list-style-type: none">-Fuchsine basique.-Alcool méthylique-Phénol.-Eau distillée.	<ul style="list-style-type: none">01g100ml05g100ml

Produced with Scantopdf

Résumé :

Notre stage pratique a été réalisé dans le laboratoire du département dont le but d'une identification de plusieurs espèces telles que *Klebsiella pneumoniae* et Streptocoque β hémolytique.

L'ensemencement et l'incubation de nos prélèvements qui est variée selon l'âge et le sexe, était sur les milieux de cultures suivants :

Le gélose Nutritif, Gélose Chapman, Gélose Mac Conkey, Gélose Sabouraud et le Gélose au sang dont le but d'une obtention des colonies macroscopiques ; après l'identification biochimique nos résultats nous permettent d'avoir une variété d'une microflore (le plus souvent sont les streptocoques β hémolytiques de groupe A).

Les mots clés : prélèvement, ensemencement, incubation, identification, les streptocoques β hémolytiques de groupe A.

Produced with Scantopdf

Summary:

Our practical training was conducted in the laboratory of the department which aims to identification of several species such as: klebsiella pneumonia et streptocoque β hemolytic.

The inoculation and incubation of our sample which varied by age and sex, was on the culture media following: the nutrient agar, agar Chapman, Mac Conkey agar, Saboraud agar and blood agar with the aim of obtaining macroscopic colonies, after identifying biochemical results we can have a variation of microflora most by β hemolytic streptococci were group A.

Key word:

Sampling, inoculation, incubation, identification, β -haemolytic streptococci group A

Produced with ScanTopdf

المخلص:

تمت دراستنا التطبيقية في مختبر قسم البيولوجيا وذلك بهدف التعرف على العديد من أنواع البكتيريا مثل:

Klebsiella pneumoniae et streptocoque β hémolytique

إن زرع و حضن العينات التي قمنا بأخذها تختلف حسب العمر و الجنس و التي تم وضعها في الأوساط المغذية التالية:

le gélose nutritif, le gélose chapman, le gélose saboraud, gélose Mac Conkey et le gélose au sang

بهدف الحصول على مستعمرات عينية, و بعد التعرف البيوكيميائي النتائج المتحصل عليها تسمح لنا بملاحظة تغيرات في مجموعة الكائنات الدقيقة (المجهرية) في اغلب الأحيان هم:

Les streptocoques β hémolytique de groupe A

الكلمات المفتاحية:

Les streptocoques β hémolytique de groupe عينات, زرع, حضن, التعرف