

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et
Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée

Département : Ecologie et génie de l'environnement

Thème : Contribution à l'étude microbiologique des prélèvements de gorge dans la région de GUELMA

Présenté par :

- CHEGHIB Amira
- DJABRI Ilhem

Devant la commission composée de :

Dr. BARA Mouslim

Pr. HOUHAMDI Moussa

Dr. ROUAIGUIA Meriem

Président

Encadreur

Examinatrice

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Juillet 2019

DEDICACES

Ce modeste travail est dédié à :

Nos chers parents, nos frères et nos sœurs pour leur patience,

leur amour, leur soutien et leur encouragement.

Nos amies et camarades de promotion.

Nous vous disons MERCI

Amira Inès et Ilhem

Remerciements

A l'occasion de notre soutenance, nous tenons à remercier vivement le bon DIEU, le tout puissant qui a éclairé notre chemin et pour la patience et la force qu'il nous a donné afin de réaliser ce modeste travail.

Nos respects s'adressent particulièrement à notre encadreur : Pr. HOUHAMDI Moussa (Université 8 Mai 1945 Guelma), pour la confiance qu'il nous a accordée en acceptant de diriger cette modeste recherche, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a consacré à diriger ce travail. Nous sommes extrêmement sensibles à ses qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de notre parcours d'étude.

Nous remercions Dr. BARA Mouslim (MCA, Université 8 Mai 1945 Guelma) d'avoir accepté de présider de jury de soutenance.

Nous remercions également Dr. ROUAIGUIA Meriem (MAB, Université 8 Mai 1945 Guelma) d'avoir accepté de faire part de ce jury et d'examiner ce modeste travail.

Nos chaleureux remerciements vont également au Techniciens de laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital IBN ZOHR de GUELMA et particulièrement Mme. Nadia pour sa patience, son aide précieuse et ses valeureux conseils.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude vont à tous les enseignants de la Faculté SNV-STU de l'Université 8 mai 1945 GUELMA sans oublier ceux qui nous ont formés pendant tout notre cursus.

Nous remercions également tous mes amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

CHEGHIB Amira et DJABRI Ilhem

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION.....1

Synthèse théorique

CHAPITRE I : Généralités sur l'anatomie sur le peuplement microbien de la gorge

1. Les voies aériennes supérieures	2
1.1. Rappel Anatomique	3
2. La microflore des voies Aériennes supérieures	6
2.1. La microflore de la gorge	7
2.1.1. La microflore pathogène	7
A. Bactéries	8
B. Levures.....	11
C. Virus	11

CHAPITRE II : Les maladies dues aux germes pathogènes de la gorge

1. Angines.....	12
1.1. Les facteurs favorisant l'infection.....	12
1.2. Les types d'angine.....	13
1.3. Symptômes	15
1.4. Diagnostic.....	15
1.5. Epidémiologie.....	17
1.6. Traitement	17

TABLE DE MATIERE

2. Complications post-streptococciques	18
2.1. Rhumatisme Articulaire Aigue	18
2.2. Glomérulonéphrite aigue	18
2.3. Diagnostic	18
2.4. Epidémiologie.....	18
3. Scarlatine	19
4. Candidose Oro-pharyngée	19
4.1. Symptômes	19
4.2. Diagnostic	20
4.3. Epidémiologie.....	20
4.4. Traitement	20
5. Prévention	20

Partie pratique

CHAPITRE III : Matériel et Méthodes

1. Objectifs	21
2. Protocole expérimental	22
2.1. Prélèvement	22
2.2. Isolement	23
2.2.1. Milieux Culture	23
2.3. Identification	24
2.3.1. Tests préliminaires	24
2.3.2. Tests biochimiques	26
3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	26

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

1. Résultats	27
1.1. Lecture macroscopique	27
1.2. Lecture microscopique	31
1.3. Tests biochimiques	36
1.4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	40
2. Etude statistique	42
3. Discussion.....	51
Conclusion	53
Perspectives	54
Références bibliographiques	
Résumé	
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les voies aériennes supérieures	1
Figure 2 : Les glandes Salivaires	2
Figure 3 : Anatomie du pharynx	3
Figure 4 : Les amygdales	4
Figure 5 : Aspect macroscopique	9
Figure 6 : Aspect microscopique	9
Figure 7 : Angine virale et bactérienne	11
Figure 8 : Angine rouge	12
Figure 9 : Angine blanche.....	12
Figure 10 : Angine pseudomembraneuse	13
Figure 11 : Résultats de tests TDR.....	15
Figure 12 : Test complémentaire	15
Figure 13 : Sensibilité à la Bacitracine	16
Figure 14 : Sensibilité à l'Optochine.....	16
Figure 15 : Levure de la gorge.....	18
Figure 16 : Protocole suivi pour l'étude des prélèvements de gorge.....	20
Figure 17 : Galeries API 20E témoin	26
Figure 18 : α Hémolytique sur gélose au sang cuit	30
Figure 19 : β Hémolytiques sur gélose au sang frais.....	30
Figure 20 : γ Hémolytiques sur gélose au sang frais et cuit	30
Figure 21 : Colonies roses crémeuses sur Mac Conkey	30
Figure 22 : Colonies roses et sèches sur Mac Conkey.....	30
Figure 23 : Colonies jaunes sur gélose Chapman.....	30
Figure 24 : Colonies volumineuses blanchâtres Sur gélose Sabouraud Chloramphénicol	30
Figure 25 : Colonies beiges sur gélose nutritif	30
Figure 26 : Cocci en amas a Gram positif	32
Figure 27 : Cocci en chaînette Gram positif	32

LISTE DES FIGURES

Figure 28 : Bacille a Gram négatif	32
Figure 29 : Coccobacille a Gram négatif	32
Figure 30 : Filamentation négative	33
Figure 31 : Formation de filaments	33
Figure 32 : Catalase positif	34
Figure 33 : Catalase négatif	34
Figure 34 : Oxydase positif	34
Figure 35 : Oxydase négatif.....	34
Figure 36 : Coagulase positif.....	34
Figure 37 : Coagulase négatif.....	34
Figure 38 : Résultat de l'API 20 NE.....	36
Figure 39 : Résultats de l'API 20 STREP	37
Figure 40 : Résultats de l'API STAPH.....	38
Figure 41 : Résultats de l'API 20 E	39
Figure 42 : Résultats de l'antibiogramme.....	41
Figure 43 : Représentation graphique de taux d'hémolyse en fonction de nombre des streptocoques	42
Figure 44 : Représentation graphique de taux de sexe en fonction de nombre des prélèvements.....	43
Figure 45 : Représentation graphique des tranches d'âge en fonction de type d'hémolyse	44
Figure 46 : Représentation graphique de nombre des germes en fonction de la période de prélèvement.	45
Figure 47 : Représentation graphique de nombre de chaque germe en fonction de la période de prélèvement.....	46
Figure 48 : Représentation graphique des résultats d'antibiogramme de quelques espèces <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> et <i>K. pneumoniae</i>	47
Figure 49 : Représentation graphique des résultats d'antibiogramme pour <i>P. aruginosa</i>	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Flores commensales prédominantes des voies aériennes supérieures.....	5
Tableau 2 : Flores bactériennes de pharynx	6
Tableau 3 : Classification des Streptocoques	7
Tableau 4 : Les différentes espèces de streptocoque	8
Tableau 5 : les symptômes d'angine virale et bactérienne	14
Tableau 6 : Nombre des prélèvements selon le service.....	21
Tableau 7 : Les renseignements nécessaires sur les patients avant le prélèvement	27
Tableau 8 : Lecture macroscopique des colonies après cultures	29
Tableau 9 : Résultat de l'examen microscopique a l'état frais.....	31
Tableau 10 : Résultat de l'examen microscopique après coloration de Gram	31
Tableau 11 : Tests Oxydase et Catalase	33
Tableau 12 : Test Coagulase pour les staphylocoques.....	34
Tableau 13 : Résultat de la galerie biochimique API 20 STREP.....	35
Tableau 14 : Résultat de la galerie biochimique API STAPH.....	35
Tableau 15 : Résultat de la galerie biochimique API20E	36
Tableau 16 : Résultat de la galerie biochimique API20 NE	36
Tableau 17 : Résultat d'antibiogramme des germes isolés à partir de gorges	40
Tableau 18 : Résultat d'antibiogramme de <i>P.aeruginosa</i>	40
Tableau 19 : Résultat d'antibiogramme de <i>E.avium</i>	40
Tableau 20 : La répartition de taux d'hémolyse en fonction de nombre des streptocoques.....	42
Tableau 21 : La variation de taux de sexe en fonction de nombre des prélèvements	43
Tableau 22 : La répartition des tranches d'âges en fonction de type d'hémolyse	44
Tableau 23 : Variation de nombre des germes en fonction de la période de prélèvement	45
Tableau 24 : Le nombre de chaque germe en fonction de la période de prélèvement.....	46
Tableau 25 : Résultats d'antibiogramme des espèces <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> et <i>K. pneumoniae</i>	47
Tableau 26. Résultat de l'antibiogramme de <i>P. aeruginosa</i>	48

LISTE DES ABREVIATIONS

- **AK** : Amiklan.
- **AMC** : Amoxicilline.
- **AN** : Amikacine.
- **ASD** : Antistreptodornase.
- **ASK** : Antistreptokinase.
- **ASLO** : Antistreptolysine O.
- **ATB** : Antibiotique.
- **CA-SFM** : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- **CAZ** : Céfotaxime.
- **CFM** : Céfixime.
- **CIP**: Ciprofloxacine.
- **CX** : Céfotaxime.
- **E** : Erythromycine.
- **GM** : Gentamycine.
- **GN** : Gélose nutritive.
- **GNA** : Glomérulonéphrite aigue.
- **GSC** : Gélose au sang cuit.
- **GSF** : Gélose au sang frais.
- **L**: Lincomycine.
- **MNI** : Mononucléose Infectieuse.
- **ORL** : Oto-rhino-laryngologie.
- **P** : Pénicilline.
- **PEF** : Péfloxacin.
- **RAA** : Rhumatisme articulaire aigue.
- **RAM**: Rifampicine.
- **SGA** : Streptocoque de groupe A.
- **TCE**: Teicoplanine.
- **TDR** : Test de diagnostic rapide.
- **TIC** : Ticarcilline.
- **TP** : Triméthoprim.
- **VAN**: Vancomycine.
- **VAS** : Voies aériennes supérieures.

Les infections oto-rhino-laryngologique (ORL) constituent un vrai problème de santé publique et mérite une attention particulière des autorités. Le mal de gorge est une raison fréquente de consultation en clinique, il se décrit comme un assèchement, une irritation ou une inflammation de la gorge, la plupart du temps causé par une infection touchant la muqueuse pharyngienne où des fois le seul fait de respirer ou de parler peut provoquer des problèmes et des douleurs [1].

A noter que 85% des maux de gorge sont dus à une infection d'origine virale et 15% sont d'origine bactérienne. L'angine, l'amygdalite... sont des infections bactériennes, les signes et les symptômes caractéristiques de chacune de ces maladies permettent de déterminer quelle sera le diagnostic le plus efficace pour éviter le développement de complications sérieuses tel qu'un rhumatisme articulaire aigu (RAA) le cas d'une angine streptococcique (Hockenberry, 2012).

Selon la littérature scientifique 5 à 40% des angines sont dues aux streptocoques β hémolytique du groupe A et le taux de mortalité des infections invasives à streptocoque est estimé entre 10 et 16% toutes pathologies confondues (35 à 75% en cas de choc toxique streptococcique) (Diallo, 2015).

De ce contexte, ce travail a été réalisé dans la ville de Guelma (Nord-est de l'Algérie). Il a pour objectif principal l'identification des micro-organismes peuplant la gorge et ceci par des méthodes de bactériologie clinique (prélèvement de gorge) et déterminer la prévalence des streptocoques β hémolytiques selon le sexe, l'âge et en fonction de la saisonnalité. Ce présent mémoire est structuré en deux parties interdépendantes ; une bibliographique et une autre pratique.

La partie bibliographique est composée de deux chapitres. Le premier relate des généralités sur l'anatomie de la gorge et son peuplement microbien et le deuxième est dédié aux principales maladies causées par ces microorganismes pathogènes.

Dans la partie expérimentale sont décrites toutes les méthodes de bactériologie médicale utilisées pour l'élaboration de ce modeste travail (échantillonnage, isolement des microorganismes, enrichissement, identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques). Les résultats obtenus sont exposés avec leurs discussions.

Une conclusion et des perspectives clôturent ce travail.

1. Les voies aériennes supérieures :

Les voies aériennes supérieures (VAS) sont des canalisations permettant le passage de l'air depuis le nez et la bouche vers les poumons et les alvéoles pulmonaires au cours de la ventilation, Elles ont une structure complexe et multifonctionnelle qui régule les différentes fonctions de l'organisme humain, les dysfonctionnements à un certain point de ce système provoquent l'occlusion intermittente des voies aériennes supérieures (Kongolo, 2015).

Les VAS comprennent : les fosses nasale, la bouche, le pharynx (cavité oropharyngite) et le larynx. Elles sont en communication avec les sinus osseux du massif cranio-faciale et avec l'oreille moyenne (Figure 01), l'ensemble est désigné sous le terme sphère oto-rhino-laryngologique (Fauchère, 1997).

La sphère ORL a une muqueuse qui comporte divers formations lymphoïdes dont les plus Importants sont situées au niveau des Pharyngé (la gorge) et des amygdales (Fauchère, 1997).

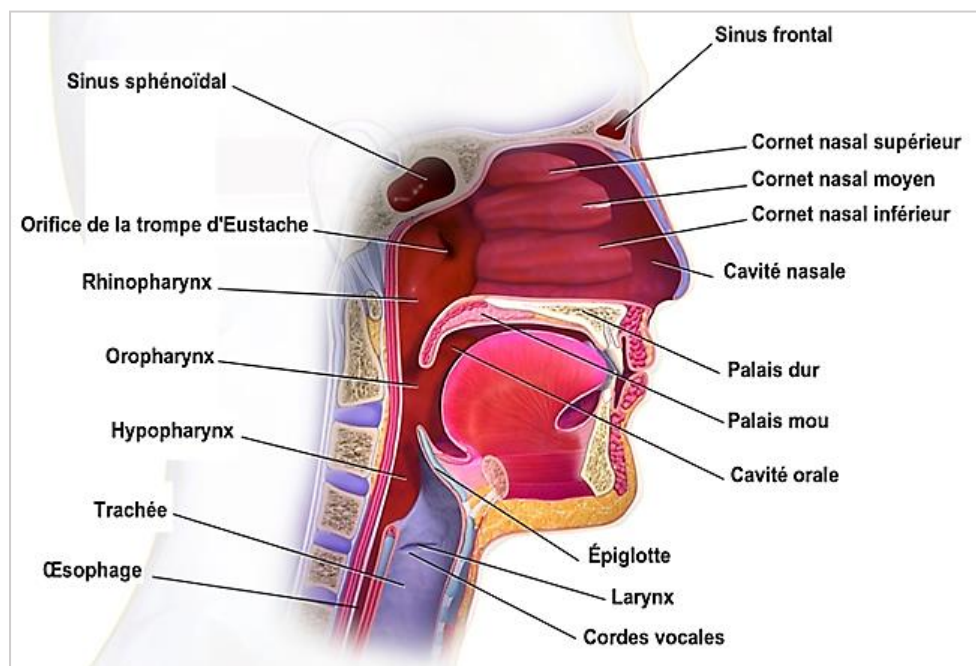


Figure 1. Les voies aériennes supérieures (Blausen, 2014).

1.1. Rappel Anatomique :

1.1.1. Le nez :

Le nez est la partie du corps de forme pyramidale qui fait sailli au milieu du visage, entre la bouche et le front, Il est divisé en deux conduits respiratoires (fosses nasales) par le septum nasal, dont la paroi latérale présente des replis osseux appelés cornets qui augmentent la surface muqueuse et protègent les méats sinusiens (Kongolo, 2015).

La muqueuse nasale est constituée d'un épithélium de type respiratoire avec des cellules ciliées et des cellules sécrétrices de mucus. Elle a un rôle respiratoire par l'humidification et le réchauffement de l'air inspiré et olfactif dans sa partie supérieure (Kongolo, 2015).

1.1.2. La bouche :

La bouche Comprend plusieurs éléments, le palais qui se divise en deux : le palais osseux en position antérieure et le palais mou composé de muscles en position postérieure. La luvette se situe à l'extrémité du palais, Un organe musculaire, tient un rôle dans la mastication, la phonation et la déglutition (Brûlé et *al.*, 2002).

La bouche contient aussi trois paires de glandes salivaires (Figure 2) : Les premières, les glandes parotides, sont les plus volumineuses, les deuxièmes, les glandes sous-maxillaires, sont sous la mâchoire, et les dernières, les glandes sous-linguales, sont les plus petites (Brûlé et *al.*, 2002).

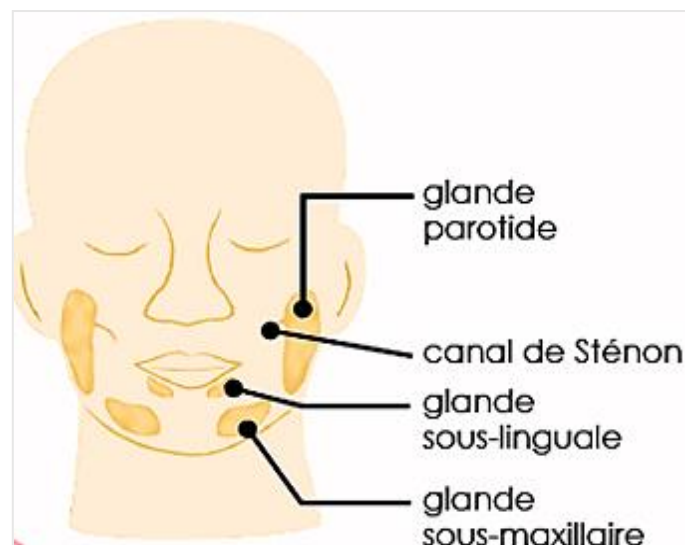


Figure 2. Les glandes Salivaires (Brûlé et *al.*, 2002).

1.1.3. Le pharynx ou la gorge :

Le pharynx (du grec pharugks) communément appelé gorge, est considéré comme le carrefour entre les voies aériennes (de la cavité nasale vers le larynx) et les voies digestives (de la cavité buccale vers l'œsophage), le pharynx est un conduit musculaire et membraneux subdivisé en trois segments : (voir Figure 3) [2].

A. Rhino-pharynx :

Le Rhino-pharynx appelé aussi nasopharynx, il est situé au-dessus du voile du palais, il est en fait l'arrière-nez. Il comprend les orifices postérieurs des fosses nasales, les choanes. On y trouve l'orifice des trompes d'Eustache qui drainent les cavités de l'oreille moyenne [1].

B. Oro-pharynx :

Il va du rhinopharynx jusqu'à la base de la langue, Il permet le passage de l'air et de la nourriture alors que la partie supérieure du pharynx. Le nasopharynx, ne laisse passer que l'air [1].

C. Hypo-pharynx :

L'Hypo-pharynx est un rétrécissement au croisement des voies digestives et aériennes, situé schématiquement latéralement et en arrière du larynx avec lequel il contracte des rapports étroits par les murs pharyngolaryngés (Kongolo, 2015).

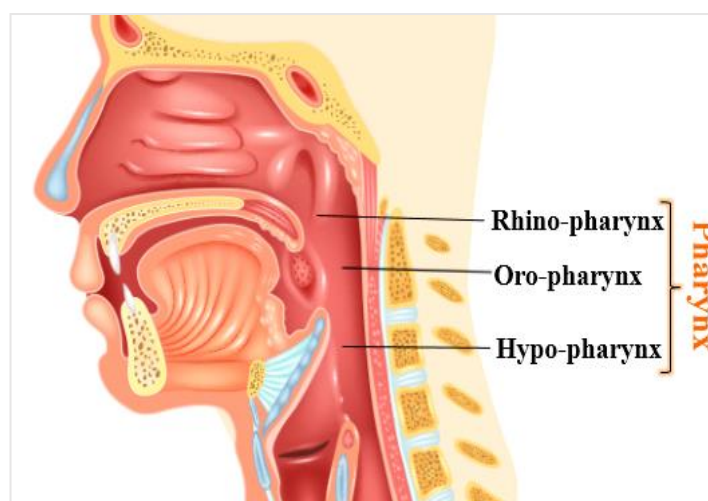


Figure 3. Anatomie du pharynx [1].

1.1.4. Le larynx :

Le larynx est un organe unique et médian situé à la partie moyenne du cou, en avant de l'hypo-pharynx, C'est la partie de la voie aérienne qui agit comme un contrôle sphinctérien à travers les cordes vocales, Il s'agit d'un tube rigide et repliable qui relie le pharynx à la trachée et abrite les cordes vocales (Kongolo, 2015).

1.1.5. Les amygdales :

Elles sont situées dans la sphère ORL. Elles exercent un rôle important dans la défense de l'organisme contre les agents extérieurs, tels les virus ou les bactéries en fabriquant des anticorps pour lutter contre leur prolifération. Les plus connus sont les amygdales palatines, elles sont des petites masses localisées au fond de la gorge et entourant la luette (Figure 04) (Kongolo, 2015).

Les amygdales atteignent leur taille maximale à la puberté, quand elles sont infectées, notamment en cas d'angine, les amygdales grossissent et la déglutition est douloureuse, Chez l'enfant, les amygdales sont volumineuses, car c'est à cet âge qu'elles sont le plus stimulées par les infections des voies respiratoires, angines, rhinopharyngites, otites ; elles régressent naturellement chez l'adolescent et l'adulte (Kongolo, 2015).

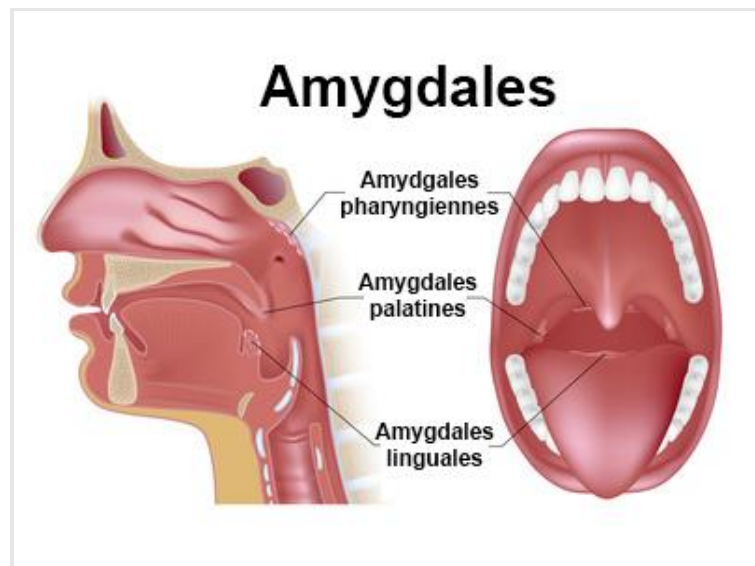


Figure 4. Les amygdales [1].

2. La microflore des voies aériennes supérieures :

La flore de la muqueuse buccale : elle est essentiellement constituée de Streptocoque alpha hémolytique (*Streptococcus salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. milleri* ...etc.) et de bactéries anaérobies (*Bacteroides*, *Mélaninogenicus*, *Fusobacterium*, *Veillonella*) (Fraperie, 2013).

La flore salivaire : elle est le reflet de la flore de la muqueuse buccale ; Elle contient un nombre élevé de bactéries avec une nette prédominance des Streptocoques et particulièrement de *S. salivarius* (Fraperie, 2013).

La flore de pharynx : prédominent les Streptocoques à Hémolyse et particulièrement les Streptocoques β hémolytiques. Elle se distingue par la présence des *Haemophilus*, des *Nesseria*, des *Branhamella* et des Staphylocoques (Fraperie, 2013). La flore de fosses nasales et des conduits auditifs sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1. Flores commensales prédominantes des voies aériennes supérieures (Fraperie, 2013).

organe ----- Germe	La muqueuse buccale	La salive	Le pharynx	Les fosses nasales	Les conduits auditifs
<i>Streptococcus salivarius</i>	+++	+++	++		
<i>Streptococcus hémolytique</i>	+++	++	+++	+	
<i>Haemophilus</i>			+		
<i>Neisseria</i>			++	+	
<i>Branhamella</i>			++		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>				+++	+++
Corynébactéries				++	+++
<i>Micrococcus</i>					++
Bactéries anaérobies	++	+	++		

2.1. La microflore de la gorge :

Le pharynx est caractérisé par une flore commensale imparfaitement connue car certains des bactéries qui le constituent et qui se cultivent mal ou pas du tout *in vitro*. La flore commensale cultivable est aussi très abondante et variée. La présence d'ont un pouvoir pathogène est aussi observé (Tableau 2) (Fauchère, 1997).

Les bactéries retrouvées dans les sécrétions rhinopharyngées (Streptocoque, staphylocoque, *Haemophilus*) font partie de la flore commensale chez l'enfant (Cnokaert, 2013).

Tableau 2. Microflore de pharynx (Grosjean, 2011).

Flores commensales	Flores pathogènes
<i>Streptococcus</i> α hémolytiques	<i>Streptococcus pyogenes</i> (β hémolytique)
<i>Streptococcus</i> non hémolytiques	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (α hémolytique)
<i>Staphylococcus</i> coagulase négative	<i>Staphylococcus aureus</i>
Corynébactéries commensales	Levures (<i>Candida albicans</i>)
Bactéries anaérobies strictes	<i>Haemophilus influenzae</i>
Espèces en transit :	
Entérobactéries.	
<i>Pseudomonas</i> spp.	

2.1.1. Microflores pathogènes :

A. Bactéries :

Majoritairement les streptocoques β hémolytiques, les staphylocoques, *Haemophilus influenzae* et *Neisseria* sont fréquemment infectées la zones de la gorge (Fritz, 2008).

Streptocoques :

- **Morphologie :**

Les Streptocoques sont des cocci à Gram positif, en chainettes, immobile, non sporulé, aéro-anaérobie facultatif, catalase négatif, oxydase négatif, le genre *Streptococcus* (famille des Streptococcaceae) est composé d'un grand nombre d'espèces. Les plus importantes sont présentées dans le tableau 2 (Fritz, 2008).

- **Classification :**

La classification est fondée sur la capacité d'hémolyse et des critères immunologiques d'agglutination, Ces aspects permettent de définir des groupes sérologiques dont les plus importants sont : Le groupe A comportant la grande majorité des streptocoques pathogènes pour l'homme de même que les groupes C et G, tous bêtas hémolytiques, Le groupe B comportant des hôtes habituels des voies digestives ainsi que le groupe D qui comprend des entérocoques, le streptocoque sanguin et le pneumocoque non groupable (Diallo, 2015).

Tableau 03 : Classification des Streptocoques (Jean, 2002).

Règne	Bacteria.
Division	Firmicutes.
Classe	Bacilli
Ordre	Lactobacillales
Famille	Streptococcaceae
Genre	<i>Streptococcus</i>

Capacité d'hémolyse :

- Hémolyse β : les colonies sur milieu sang-agar sont entourées par un halo clair (*Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus agalactiae*) (Fritz, 2008).
- Hémolyse α : les colonies sur milieu sang-agar cuit sont entourées par un halo vert, la couleur verte provenant de H_2O_2 , qui transforme l'hémoglobine en méthémoglobine (*Streptococcus pneumoniae*) (Fritz, 2008).
- Hémolyse γ : absence d'hémolyse visible sur le sang-agar (Fritz, 2008).

Structure antigénique : la structure antigénique (tableau 4) est étudié soit par :

- Agglutination sur lame du streptocoque selon la sérologie de Lancefield (Annexe 1).
- Agglutination sur lame des pneumocoques (Diallo, 2015).

Tableau 4. Les différentes espèces de streptocoque (Fritz, 2008).

Espèces	Hémolyse	Antigène de groupe
<i>Streptococcus pyogenes</i>	β	A
<i>Streptococcus agalactiae</i>	β	B
Streptocoque C	β (α , γ)	C
<i>Streptococcus bovis</i>	α , γ	D
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	α	–
Streptocoque G	β	G
Streptocoques oraux		
<i>S. salivarius</i>	α , γ	A - C - E - F G - H - K
<i>S. sanguis</i>		
<i>S. mutans</i>		
<i>S. mitis</i>		
<i>S. anginosus</i>		

Habitat :

Ce sont des bactéries fragiles, généralement parasites des muqueuses en particulier buccales, digestives et rhinopharyngées (Diallo, 2015).

Pouvoir pathogène :

Les *Streptococcus* sont des pathogènes opportunistes. Ils peuvent parfois être strictement pathogènes, provoquant de nombreuses maladies telles les angines (Diallo, 2015).

Streptocoques du groupe A :

Streptococcus pyogenes :

Ce sont des cocci à Gram positif associés en paire et/ou en chaînettes (Figure 5 et 6), dénommé aussi (SGA). Ils sont responsables des angines, des suppurations, des infections localisées ou invasives qui peuvent être accompagnés d'un choc toxique (Nauciel, 2005).



Figure 5. Aspect macroscopique.

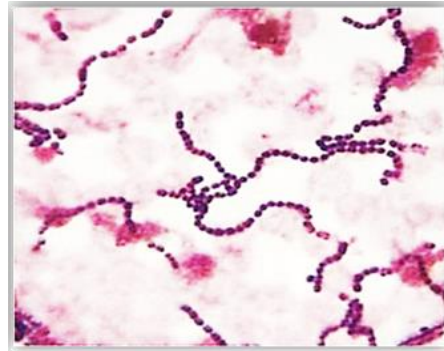


Figure 6. Aspect microscopique (Diallo, 2015).

Facteurs de pathogénicité :

Le pouvoir pathogène des Streptocoques est lié à la présence de :

- Enzymes : Streptokinase (dissolution de la fibrine), Streptodornase (destruction de l'ADN), Hyaluronidase (dissolution de la matrice intercellulaire) (Singlton, 1984).
- Toxines : Hémolysines O et S (toxine cytolytique), toxines érythrogènes A, B et C (Super antigènes) (Nauciel, 2005).
- Protéine M de la paroi : les streptocoques riches en protéine M résistent à la phagocytose et possèdent un pouvoir invasif plus important, Cette protéine est le support des sérotypes, qui sont au nombre de 80 (Diallo, 2015).

Les autres streptocoques oraux commensaux :

Ces espèces (*Streptococcus salivarius*, *S. anginosus*, *S. mutans* ...) sont commensaux de l'oro-pharynx, des muqueuses génitales ou intestinales et c'est à partir de ces portes d'entrée qu'ils vont devenir pathogènes opportunistes, parmi eux *S. pneumoniae* qui provoque des pneumopathies avec syndrome de détresse respiratoire (Fauchère, 2002).

B. Levures :

Le genre *Candida* et tout particulièrement *Candida albicans* est représentant mineur de la flore orale de la muqueuse buccale saine. La colonisation de la cavité orale nécessite l'acquisition et le maintien d'une population stable de la levure. L'infection proprement dite ou candidose oro-pharyngée : la levure se multiplie et devient pathogène, elle est capable d'adhérence et d'envahissement tissulaire, des lésions des muqueuses sont aussi observé [3].

C. Virus :

Les virus les plus importants impliqués dans la pharyngite sont : Rhinovirus, Adénovirus, Para-influenzae, Herpès, Coronavirus,...) (Flandrois, 1999).

Rhinovirus :

Appelés aussi virus de nez qui attaque spécifiquement les voies nasale et respiratoire. Ces virus sont retrouvés surtout chez les êtres humains plus spécifiquement dans les trachées et des voies respiratoires. Ils sont très faciles à transmettre car par un simple contact, sont mêmes présents dans l'air (Flandrois, 1999).

Les Infections des Voies Aériennes Supérieures (IVAS) sont dues à une infection virale ou bactérienne touchant soit le nez, la bouche, le pharynx, le larynx et l'oreille moyenne, la grande majorité des IVAS sont d'origine virale et causées par plus de 200 virus différents, alors que 10% sont d'origine bactérienne [4].

Les maladies dues aux germes pathogènes de la gorge les plus importants sont :

1. Angines :

Les angines sont dans la grande majorité des cas, provoquées par des virus (Rhinovirus, Adénovirus influenzae, Mononucléose infectieuse), lorsqu'une infection de la gorge est causée par des bactéries, elle est très souvent par les streptocoques du groupe A qui est responsable de 25 à 40 % des angines de l'enfant et jusqu'à 25 % chez l'adulte (Figure7) [5].

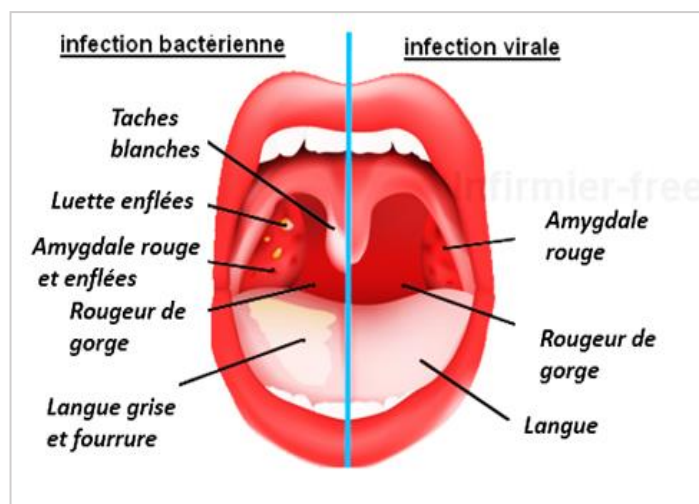


Figure 7. Angine virale et bactérienne [6].

1.1. Facteurs favorisant l'infection : Ils sont multiples et peuvent se résumer en :

- Facteurs climatiques ;
- Facteurs épidémiques : grippe... ;
- Mode de vie : crèche, école, milieu familial infectant ;
- Fièvres éruptives de l'enfance : rougeole, varicelle, scarlatine... ;
- Terrain, notion familiale de « fragilité muqueuse », allergique ou non (Fauchère, 1997).

1.2. Les types d'angines :

1.2.1. Angines rouges (ou érythémateuses) :

Ce nom vient de l'aspect congestif, autrement dit gonflé et rouge que prennent les amygdales et le pharynx dans ce type d'épisode infectieux. Elle touche majoritairement les enfants de moins de dix ans. Une angine érythémateuse peut être aussi bien virale que bactérienne bien que l'origine virale prédomine largement (50 à 80 % des cas) [7].

A. Angine rouge streptococcique

Ce type d'angines érythémateuses est à craindre dans la mesure où il peut donner lieu à un Rhumatisme articulaire aigu. Les symptômes sont une inflammation des amygdales couplée à des vomissements et à des maux de tête, Comme dans toutes angines, la mise en évidence de l'origine bactérienne est primordiale (Figure 8) [7].



Figure 8. Angine rouge [7].

1.2.2. Angines blanches (ou érythémato-pultacées)

Elle correspond à une variété d'angine à l'origine de symptômes identiques à ceux de l'angine rouge, mais avec la présence d'un enduit blanchâtre, ou parfois tirant sur le jaune, et recouvrant les amygdales. L'enduit blanchâtre est désigné par le terme pultacé. Il s'agit d'un dépôt de nature protéinique provenant du sang. Cet enduit est le plus souvent très facile à retirer à l'aide d'un coton-tige (Figure 9) (Oumar, 2017).



Figure 9. Angine blanche

(Oumar, 2017).

1.2.3. Angine pseudomembraneuse :

Dans ce type d'angine, on retrouve la présence d'une fausse membrane fibrineuse blanchâtre respectant la luette avec une extension possible sur le voile du palais. L'angine pseudomembraneuse peut être retrouvée lors de diphtérie en cas d'une bactérie ou d'une mononucléose infectieuse en cas d'un virus (Figure10) (Ballorini, 2014).



Photo 10. Angine pseudomembraneuse (Ballorini, 2014).

A. Diphtérie :

C'est une maladie à déclaration obligatoire. Elle vient du grec « Diphtheria » signifiant membrane, l'agent responsable de la diphtérie est *Corynebacterium diphtheriae* ou bacille de Klebs-Loeffler. Sa période d'incubation se situe entre 2 et 5 jours. La manifestation clinique de la diphtérie pouvant aller jusqu'à la paralysie du système nerveux central et de la gorge engendrant un risque de mort par asphyxie [8].

B. Mononucléose infectieuse :

La mononucléose infectieuse présente des particularités cliniques, l'angine de la MNI survient la plupart du temps chez l'enfant ou le jeune adulte. Le virus se transmet par les voies aériennes supérieures via la salive ou exceptionnellement par voie sanguine. L'angine à MNI peut s'exprimer sous différents aspects cliniques : pseudomembraneuse, érythémateuse ou érythémato-pultacée (Pilly, 2014).

Autres types d'angines virales :

Trois autres types d'angines sont à signaler :

- Angines ulcéreuses et nécrotiques
- Angine vésiculaire
- Angines gangréneuses nécrosantes (Ballorini, 2014).

1.3. Symptômes :

Tableau 5. Les symptômes d'angine virale et bactérienne (Brûlé et *al.*, 2002).

Maladie	Symptômes
Angines virales	Rougeur modérée Hypertrophie des amygdales Parfois asymptomatiques
Angines bactériennes	Luette rouge et œdématiée Exsudats blanchâtre sur les piliers Exsudats blanchâtre sur les amygdales Hypertrophie des amygdales Fièvre supérieur à 38°C

1.4. Diagnostic :

Sans analyse au laboratoire, il est impossible de distinguer une angine streptococcique d'une angine virale. Le diagnostic repose sur la culture de bactéries provenant d'un prélèvement de gorge, les tests sérologiques permettant la détection rapide des antigènes et par conséquent reconnaître les streptocoques présents dans un prélèvement de gorge (Tortora, 2012).

Le Test de diagnostic rapide :

- La première étape du TDR consiste à effectuer un prélèvement de gorge au niveau de l'amygdale à l'aide d'un écouvillon stérile.
- L'écouvillon est plongé dans un tube à essai fourni dans le kit, permettant l'extraction chimique du polysaccharide spécifique.
- Le tube est agité manuellement pendant une minute et l'écouvillon est pressé contre les parois du tube.
- Pour finir, la bandelette réactive est déposée dans le tube à essai pour une lecture du résultat au bout de 5 minutes environ (Annexe 2).

Deux résultats sont possibles, l'orientation de la prise en charge va en dépendre

- Si le test est positif à la lecture, deux bandes (témoins et contrôle) apparaissent sur la bandelette.

- Si le test est négatif, seule la zone de contrôle apparaît. La zone de contrôle est indispensable car elle prouve la validité du test (Figure 11) (Ballorini, 2014).

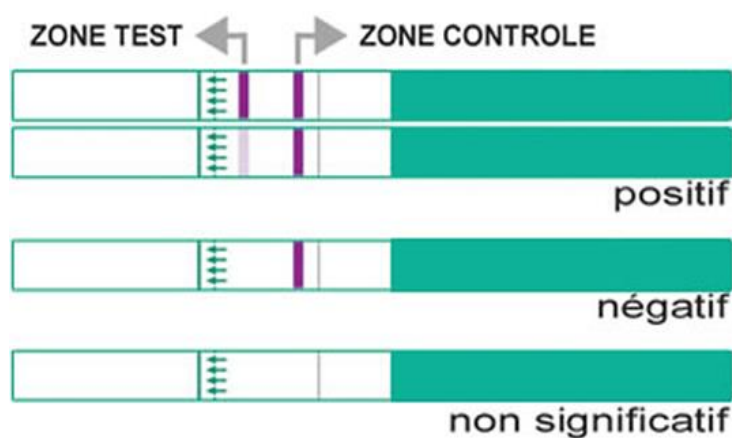


Figure 11. Résultats de test TDR (Ballorini, 2014).

Enfin un antibiogramme sera réalisé selon les recommandations du (CA-SFM) dans les cas suivants :

- *Streptococcus pyogenes*, quel que soit la quantité isolée : il comportera au minimum de la pénicilline, de l'érythromycine et de la lincomycine, ainsi que de la tétracycline.
- Streptocoques des groupes C et G, lorsqu'ils sont isolés en quantité significative.
- Autres contextes, dépend notamment de la quantité de micro-organismes isolés [9].

Test complémentaire :

Test de résistance à la bacitracine et à l'optochine :

Ces tests permettent de différencier les streptocoques et les pneumocoques, les premiers sont sensibles à la Bacitracine et les seconds à l'Optochine [10].

Principe :

- ensemencer la gélose en quadrant
- Déposer sur les quadrants 1 et 2 :
 - Un disque antibiotique d'optochine
 - Un disque antibiotique de bacitracine
- Incuber 24 heures à 37°C [10].

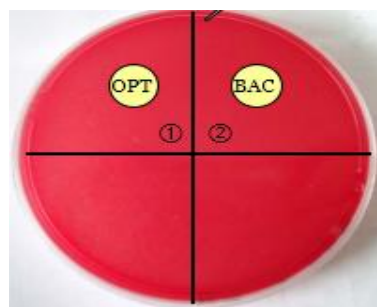


Figure 12. Test complémentaire [10].

Lecture :

- Zone d'inhibition d'au moins 12 mm autour du disque d'antibiotique : les bactéries sont sensibles à la bacitracine. Un Streptococcus sensible à la bacitracine et β hémolytique : suspicion de Streptococcus du groupe A [10].
- Zone d'inhibition autour du disque d'antibiotique > 12 mm : les bactéries sont sensibles à l'optochine. Un Streptococcus sensible à l'optochine et α hémolytique : suspicion d'un pneumocoque [10].



Figure 13. Sensibilité à La Bacitracine [10].



Figure 14. Sensibilité à l'optochine [10].

1.5. Epidémiologie :

En France environ 9 millions de cas étaient diagnostiqués, 8 millions de prescriptions d'antibiotiques (4,5 chez l'adultes et 3,3 chez l'enfant). Parmi ces 9 millions, 2 millions est dus au streptocoque β hémolytique du groupe A (Ball, 1982).

Aux Etats-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 environ 6,7 millions (selon les années entre 5,1 et 8,7 millions) les consultations adultes annuelles pour une douleur de gorge (Ball, 2002).

1.6. Traitement :

Le traitement antibiotique recommandé pour la pharyngite est comme suit :

- La Pénicilline durant 10 jours. La pénicilline à un spectre restreint avec une efficacité supérieure ou égale à tous les autres antibiotiques pour la pharyngite streptococcique.
2ème choix si allergie à la pénicilline :
- Le Clarithromycine durant 10 jours.
- L'Azithromycine durant 5 jours.

Pour réduire la douleur de gorge et de la fièvre, il est recommandé de prescrire un traitement symptomatique à tous les patients atteints de pharyngites aiguës virales ou bactériennes sous forme analgésique par voie générale [4].

2. Les Complications post-streptococciques :

Les complications sont appelés Rhumatisme fébrile ou bien Rhumatisme post-streptococcique (après angine) (Sauvezie, 2004).

2.1. Le Rhumatisme articulaire aiguë :

Le RAA ou maladie de Bouillaud « acute rheumatic fever » est une maladie inflammatoire de la voie aérienne supérieure, le plus souvent une angine due à streptocoque β hémolytique (Gnangnon, 2010). Les tissus articulaires et cardiaques sont détériorés après fixation d'anticorps dirigé contre la protéine M des streptocoques A et activation du système de complément. Le RAA est encore fréquent dans les pays en voie de développement (Fraperie, 2013).

2.2. La Glomérulonéphrite aiguë :

C'est une inflammation des glomérules liée au dépôt de complexes immuns circulants. Un traitement antibiotique d'une angine à streptocoque A ne diminue pas le risque de GNA (Fraperie, 2013).

- **Diagnostic :**

Le diagnostic repose en partie sur le sérum d'anticorps signalant une infection récente à streptocoque A : ASLO, ASD et ASK, une concentration d'anticorps élevée ou une élévation de cette concentration à 15 jours d'intervalle est observé lors d'une complication post streptococcique (Comarmond, 2010).

- **Epidémiologie :**

L'incidence du RAA et du GNA a considérablement diminué dans les pays développés grâce entre autre à l'antibiothérapie (Amoxicilline pendant 6 jours en l'absence d'allergie). Cependant le RAA reste un problème dans régions d'endémies comme en Afrique (DOM-TOM) (Comarmond, 2010).

3. Scarlatine :

La Scarlatine est une maladie éruptive des enfants. Elle survient à la faveur d'une infection streptococcique et elle est due à l'exotoxine protéique (Nauciel, 2005). Elle se produit lorsque que le streptocoque est lysogène autrement dit qu'il est lui-même infecté par un bactériophage capable de lyogénisation, les informations génétiques du phage sont intégrés au génome de la bactérie et donc les caractéristiques de cette dernière sont modifiées (Tortora, 2012).

4. Candidose Oro-pharyngées :

Ce sont des lésions de l'oropharynx induites par des levures du genre *Candida*. Il existe sept espèces de *Candida* potentiellement pathogènes pour l'homme *Candida albicans*, *C. tropicalis* et *C. grabata* sont les plus fréquemment isolées (plus de 80 %), et tout particulièrement *C. albicans* capable de se développer chez un hôte devenu susceptible à l'infection. L'infection se déroule en trois stades :

- Le saprophytisme : la levure est normalement présente dans la cavité buccale, en faible quantité, en équilibre avec la flore locale des autres microorganismes ;
- La colonisation : la levure se multiplie parce que les conditions locales, anormales, le permettent ;
- L'infection : la levure se multiplie et devient pathogène. Elle est capable d'adhérence et d'envahissement tissulaire [11].

4.1. Symptômes :

On observe deux formes qui sont :

- Le muguet : il est caractérisé par un enduit crémeux blanchâtre sur la langue, la face interne des joues et le pharynx. Il s'accompagne par une sensation de sécheresse de la bouche avec brûlure en contact des aliments (Figure 15).
- Candidose atrophique : elle se traduit par une langue très douloureuse, rouge et des muqueuses buccales sèches (Fraperie, 2013).



Figure 15. Levure de la gorge [11].

4.2. Diagnostic :

L'examen microscopique à l'état frais des spores ou des filaments mycéliens oriente vers une mycose à *Candida albicans* (Fraperie, 2013).

4.3. Epidémiologie :

Le genre *Candida* est fréquent dans l'oropharynx notamment chez la personne âgée, Il est plus fréquent chez les personnes hospitalisées ou vivant en institution que chez les personnes vivant au domicile. *Candida albicans* est la levure la plus souvent identifiée, elle est retrouvée dans la cavité buccale de 50 à 65 % des patients porteurs de prothèse dentaire et chez 64 à 88 % des personnes âgées hospitalisées, Près de la moitié des patients âgés porteurs de *Candida* ont des quantités importantes de colonies (≥ 50 colonies) [11].

4.4. Traitement :

Après un examen approprié et des résultats de laboratoire, le médecin traitant vous expliquera comment traiter la levure dans la gorge. Il convient de noter que le traitement du "muguet" dans la gorge est généralement appliqué de manière exhaustive :

- l'usage d'antibiotique par voie topique ;
- antimycotiques (pilules) [12].

5. Prévention :

En cas d'infection bactérienne, le médecin pourra amorcer une antibiothérapie, dans tous les cas d'un moux de gorge en encourageant le patient à :

- Se laver les mains régulièrement afin d'éviter la propagation de l'infection et à se reposer et à s'hydrater fréquemment afin de compenser le déficit corporel en eau et à enrayer la fièvre (Hockenberry, 2012).
- Vaccin anti-pneumococcique.
- Arrêt du tabac pour les fumeurs qui ont un risque 1.5 fois plus élevé d'IVRS qui pourrait être réduit par l'arrêt du tabac.
- Prophylaxie par antiviral pour réduire le risque de grippe et de complication chez les personnes à haut risque non vaccinées durant 2 semaines en attendant l'effet de la vaccination et /si le risque d'exposition au virus est élevé [4].

1. Objectifs :

Le but de cette étude est l'isolement et l'identification des germes qui se trouvent dans les prélèvements de gorge pendant la période estivale et la période hivernale puis réaliser des comparaisons entre les sexes, l'âge et les saisons.

2. Protocole expérimentale :

Le protocole suivi dans le laboratoire de l'Hopital Ibn Zohr à Guelma est résumé comme suit :

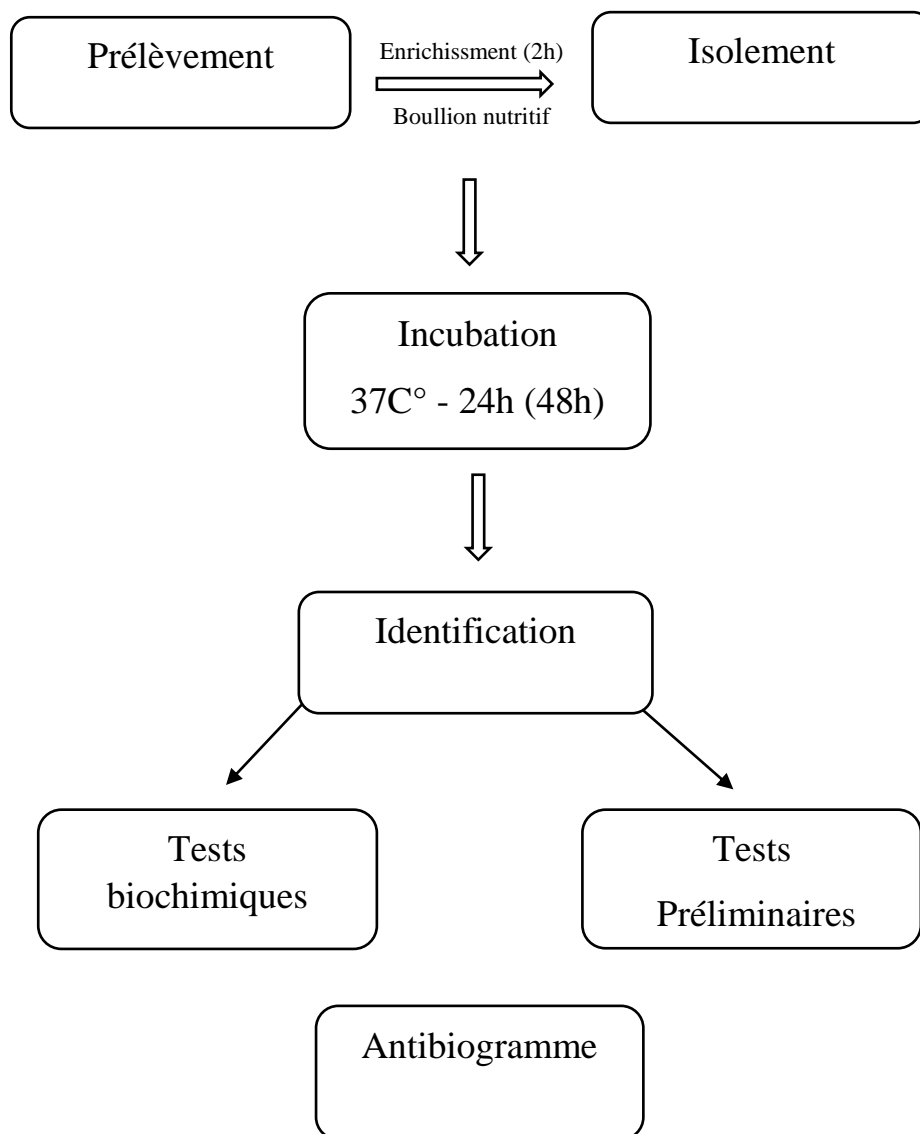


Figure 16. Protocole suivi pour l'étude des prélèvements de gorge.

2.1. Prélèvement :

Le prélèvement de gorge doit obéir à ces règles :

Principe :

- Le malade est assis, la tête en arrière, la bouche largement ouverte, la langue tirée vers le bas, le pharynx bien visible.
- Eclairer « si besoin » le fond de la gorge du patient au moyen d'une lampe.
- Faire émettre le son « aaahh » par le patient pour diminuer le réflexe nasal tout en appuyant sur l'arrière de la langue avec une abaisse langue pour faciliter l'accès.
- Avec un écouvillon stérile, on à l'attachement appuyé des deux loges amygdaliennes et la paroi postérieure du pharynx, il faut éviter le contact de l'écouvillon avec la langue ou avec la luette.
- Identifier le patient sur le prélèvement : âge, sexe, date.
- Acheminer le prélèvement vers le laboratoire dans un milieu d'enrichissement (moins de 2 heures) [13].

Les prélèvements ont été effectués sur des patients âgés entre 3 et 41 ans de différentes origines (Tableau 6). Ces derniers exhibent des signes d'infections qui se résument souvent en des signes généraux (fièvre) et des signes locaux (rougeur de la gorge, gonflement, douleur...etc.). Le travail pratique a été réalisé dans le laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr à Guelma sur 20 patients de différents origines : service d'infectiologie, cabinet ORL privé, polyclinique Bedajoui Saïd et chez un médecin généraliste à remercier, pendant deux périodes différentes : été (juin – aout), hiver (février – mars).

Tableau 6. Le nombre des prélèvements selon le service.

	Nombre de Prélèvement	Pourcentage (%)
Hôpital Ibn Zohr	05	25
Cabinet ORL	07	35
Polyclinique Saïd Bedajoui	04	20
Médecin généraliste	04	20
Total	20	100

2.2. Isolement :

2.2.1. Milieux de Culture :

La culture sur gélose est nécessaire pour la mise en évidence et l'identification des différents types des germes pathogènes (bactéries, levures...) (Annexe 2).

- Les milieux de cultures ordinaires telles que la Gélose nutritive permettent la croissance des multiples agents infectieux.
- Les milieux de cultures sélectives telles que (le milieu Chapman) permettent la croissance des bactéries spécifiques tout en inhibant la croissance des autres (Fritz, 2008).

- **Principe :**

L'isolement sur gélose solide se fait par une série de stries successives, on appauvrit l'échantillon jusqu'à ce que les bactéries isolées donnent naissance à des colonies bien individualisées (Nauciel, 2005).

A. Recherche des bactéries à Gram positif :

- **Gélose au sang frais** : un milieu d'enrichissement (gélose nutritive ou gélose Columbia) contenant 5-10% de sang (Nauciel, 2005).
- **Gélose au sang cuit** : un milieu d'enrichissement contenant une gélose au sang chauffée à 70-80°C jusqu'à l'apparition d'une coloration brun chocolat (Nauciel, 2005).
- Ensemencer sur gélose au sang frais/gélose au sang cuit, puis incuber à 37°C pendant 24 heures, après l'incubation noter la présence ou l'absence d'hémolyse (α , β , γ) (Bourdan, 1973).
- **Gélose Chapman** : un milieu sélectif, son pouvoir inhibiteur est obtenu par de fortes concentrations de chlorure de sodium qui sélectionnent les micro-organismes halophiles (Staphylocoques).

Mannitol (-) : le milieu reste rouge car les colonies ne fermentent pas le mannitol.

Mannitol (+) : le milieu devient jaune, car les colonies fermentent le mannitol [14].

B. Recherche des Bactéries à Gram négatif :

- **Gélose Mac Conkey :** est une combinaison entre de milieu sélectif/indicateur, il comporte de sel biliaire et de cristal violet, il favorise la croissance des Bacilles à Gram négatif tel que les Entérobactéries et la famille Pseudomonadaceae (Fritz, 2008).

Il détermine si la bactérie fermente le lactose ou pas :

Lactose + : colonies rouges entourées d'un halo opaque de la même couleur

Lactose - : colonies jaunes ou incolores [15].

C. Recherche des levures :

- **Gélose Sabouraud au Chloramphénicol :** C'est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures tel que (*Candida albicans*). L'addition de chloramphénicol inhibe la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif [16].

2.3. Identification :

Elle se divise en deux types de Tests :

2.3.1. Tests préliminaires.

2.3.2. Tests Biochimiques.

2.3.1. Tests préliminaires :

A. Etude Macroscopique :

L'étude macroscopique permet de déterminer les caractères phénotypiques des colonies obtenues sur des milieux de cultures (taille, la forme des colonies, odeur, aspect...) (Carr et al., 2002).

B. Etude Microscopique :

- **Etat frais :**

Test de filamentation (test de Blastèse) :

Pour l'identification de *Candida albicans*, on utilise 0,5 ml d'un bouillon de Blastèse (sérum animal ou humain), ensemencé à partir d'une colonie suspecte après 4 h d'incubation à 37°C, on effectue un montage d'état frais afin de rechercher des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans* (gémiation rapide) [17].

- **Coloration de Gram :**

La coloration de Gram est l'étape clé de notre travail, cet examen direct est essentiel pour apprécier la présence et la morphologie des germes et permet de classer les bactéries en deux grandes catégories (Gram + et Gram -) [17].

Principe :

- **Frottis :**

- Déposer une goutte d'eau sur la lame propre et stérile.
- Toucher une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur pour prélever des bactéries
- Frotter la pipette dans la goutte d'eau. Laisser sécher à l'air.
- Passer la lame dans la flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon.

- **Coloration :**

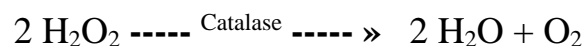
- Déposer quelques gouttes de solution de violet de Gentiane sur le frottis fixé, laisser agir 1 minute, puis rincer à l'eau.
- Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis, Laisser agir 1 minute.
- Enlever l'excès du lugol par l'eau.
- Décolorer avec de l'alcool, rincer à l'eau.
- Récolorer avec de la fuschine, pendant 1 minute, rincer à l'eau.

L'observation du frottis est réalisée en microscopie optique (x100) [17].

C. Etude du métabolisme respiratoire :

- **Test catalase :**

La catalase est une enzyme respiratoire capable de dégrader l'eau oxygénée (H₂O₂) en eau et O₂ selon la réaction suivante :



C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne. On prend une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture de 24 h et on observe.

Catalase + : dégagement immédiat de bulles d'oxygène.

Catalase - : Absence de dégagement de bulle d'oxygène (Garnier, 2007).

- **Test oxydase :**

Le dernier stade de la respiration cellulaire oxydative fait intervenir une chaîne de métallopeptide, dont le cytochrome oxydase réagit directement avec l'oxygène. Le N-diméthyl paraphénylène diamine (PDA) est utilisé comme réactif, généralement imprégnés sur des disques (disques oxydases).



Oxydase + : Si le disque devient violet.

Oxydase - : Si le disque reste Marron (Kongolo, 2015).

- **Test Coagulase :**

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5ml de plasma humain et 0.5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 h en bouillon, le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 24 heures.

La Coagulase + : se traduit par la formation d'un coagulum (Garnier, 2007).

2.3.2. Tests Biochimiques :

L'identification biochimique est un examen qui permet d'identifier une bactérie en s'appuyant sur ces caractères biochimiques, les galeries d'identification biochimique : API 20^E, API 20 NE, API 20 STAPH, API 20 STREP permettent une identification rapide des bactéries (Kari, 2013).

- **Technique :**

Inoculum : Réaliser une suspension bactérienne dans une ampoule de suspension Medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

Inoculation de la galerie (API 20 E) :

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leurs cupules de l'huile de paraffine.

- Refermer la boîte d'incubation à 35-37°C pendant 18 à 24 heures (Kari, 2013).

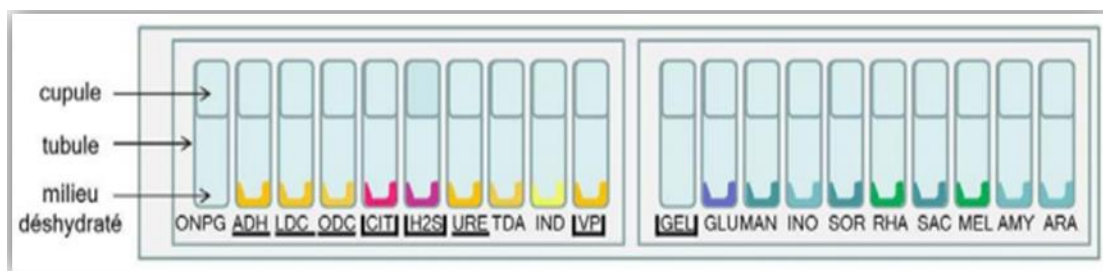


Figure 17. Galeries API 20^E témoin (Kari, 2013).

Lecture :

Noter sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées puis on révèle les tests nécessitant l'addition de réactifs (DA, VP et Kovacs). L'identification est ensuite obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification (Kari, 2013).

3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques :

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Muller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie [18].

Inoculum :

- A partir d'une culture pure, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne jusqu'à devenir trouble [18].

Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées, Répéter l'opération trois fois.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Appliquer des disques d'antibiotiques.
- Incuber à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 h [18].

Lecture :

- Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition.
- Classer la bactérie : sensible, intermédiaire ou résistante [18].

1. Résultats :

Le tableau *ci-dessous* englobe les informations nécessaires sur vingt prélèvements de vingt patients différents ont été réalisé pendant cette étude :

Tableau 7. Les renseignements nécessaires sur les patients avant le prélèvement.

Prélèvement	Sexe	Age	Traitements
01	♀	41	Aucun traitement
02	♂	09	Citromycine
03	♂	14	Clamoxyl
04	♂	21	Aucun traitement
05	♀	18	Aucun traitement
06	♀	45	Aucun traitement
07	♂	38	Amiklan, Amoxicilline
08	♀	13	Aucun traitement
09	♀	30	Pénicilline
10	♀	15	Aucun traitement
11	♀	19	Aucun traitement
12	♂	03	Aucun traitement
13	♀	12	Aucun traitement
14	♀	18	Aucun traitement
15	♀	10	Aucun traitement
16	♀	24	Aucun traitement
17	♀	18	Clamoxyl
18	♂	08	Aucun traitement
19	♂	11	Aucun traitement
20	♀	10	Aucun traitement

1.1. Lecture macroscopique :

Les résultats obtenus des 20 prélèvements (inclut les différents caractères des colonies bactériennes telles que la taille, la forme, la couleur, Aspect, l'odeur ...) sont regroupés dans les tableaux au-dessous et certains sont exposés dans les figures (18 à 25) (Annexe 3).

Tableau 8. Lecture macroscopique des colonies après cultures (suite).

	Gélose au sang frais	Gélose au sang cuit	Gélose nutritive
01	Petites, arrondies, Transparentes avec un halo clair, régulières.	Petites, arrondies, bombées, avec un halo vert, régulières.	Grosses, arrondies, beiges, régulières.
02	Petites, arrondies, Transparentes avec un halo clair, régulières.	Petites, arrondies, bombées avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse
03	Petites, arrondies, grises Régulières.	Petites, arrondies, bombées, avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse
04	Arrondies, beiges, Muqueuses, régulières.	Petites, arrondies, grises, régulières.	Aucune pousse
05	Grosses, arrondies, grises, bombées, régulières.	Petites, arrondies, grises, régulières.	Aucune pousse
06	Grosses, grises, bombées et régulières.	Petites, arrondies, grises, régulières.	Aucune pousse
07	Petites, arrondies, Transparentes avec un halo clair, régulières.	Petites, arrondies, bombées, avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse
08	Petites, arrondies, Transparentes avec un halo clair, régulières.	Petites, arrondies, avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse
09	Petites, arrondies, régulières entouré par un halo clair.	Petites, arrondies, avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse
10	Petites, arrondies, régulières, Transparentes avec un halo clair.	Petites, arrondies avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse
11	Petites, arrondies, Grises, régulières.	Aucune pousse	Aucune pousse
12	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
13	Petites, arrondies, régulières, Transparentes avec un halo clair.	Petites, arrondies avec un halo vert, régulières.	Aucune pousse

CHAPITRE IV

14	Petites, arrondies, Grises, régulières.	Aucune pousse	Aucune pousse
15	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
16	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
17	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
18	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
19	Petites, arrondies, Grises, régulières.	Aucune pousse	Aucune pousse
20	Aucune pousse	Aucune pousse	Grosses, Arrondies, Beiges, régulières.

Tableau 8. Lecture macroscopique des colonies après cultures (suite)

Prélèvement	Mac Conkey	Chapman	Sabouraud Chloramphénicol
01	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
02	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
03	Aucune pousse	Grosses, Bombées Jaunes, mauvaise odeur.	Aucune pousse
04	Aucune pousse	Grosses, Bombées, Jaunâtres, mauvaise odeur	Grosses, arrondies, blanchâtres, odeur de fermentation.
05	Grosses, bombées et roses clair, régulières.	Petites, Jaunâtres, régulières, mauvaise odeur	Grosses, arrondies, blanchâtres, odeur de fermentation
06	Petites, arrondies, bombées et roses.	Aucune pousse	Grosses, arrondies et blanchâtres
07	Arrondies, Beiges Marrons et sèches.	Aucune pousse	Grosses, rondes et blanchâtres
08	Grosses, muqueuses, roses et régulières	Arrondies, beiges muqueuses et régulières	Aucune pousse
09	Aucune pousse	Arrondies, beiges, muqueuses et régulières	Aucune pousse
10	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse

CHAPITRE IV

11	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
12	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
13	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
14	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
15	Grosses, muqueuses, roses et régulières.	Aucune pousse	Aucune pousse
16	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
17	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
18	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
19	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse
20	Aucune pousse	Aucune pousse	Aucune pousse

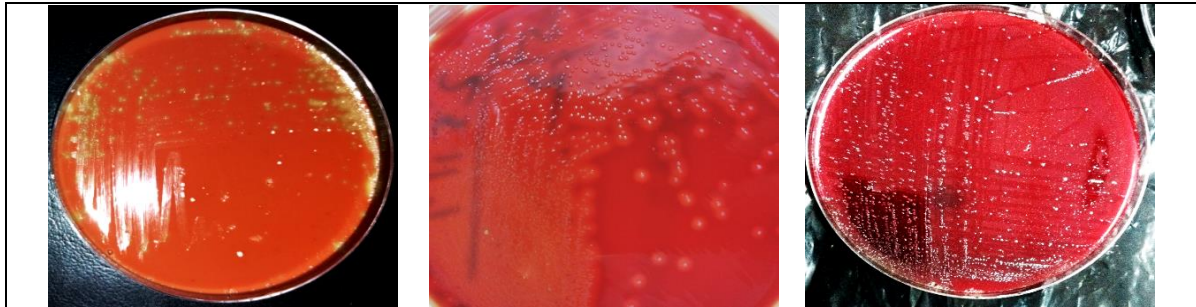


Figure 18. Hémolyse α sur gélose au sang cuit.

Figure 19. Hémolyse β Sur gélose au sang frais.

Figure 20. Hémolyse γ Sur gélose au sang frais.

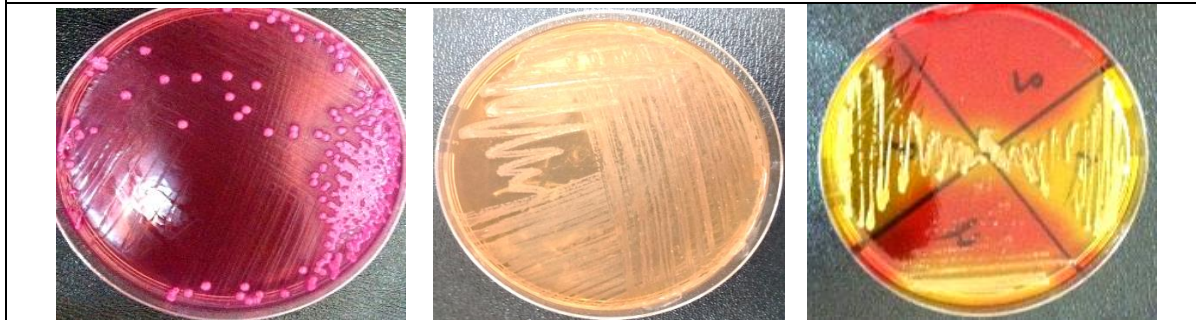


Figure 21. Colonies roses crémeuses sur Mac Conkey.

Figure 22. Colonies roses Et sèches sur Mac Conkey.

Figure 23. Colonies jaunes Sur gélose Chapman.



Figure 24. Colonies volumineuses blanchâtres sur gélose Sabouraud Chloramphénicol.

Figure 25. Colonies beiges sur gélose Nutritive. Photos originales

1.2. Lecture microscopique :

Les observations microscopiques ont été réalisées suivant :

- Observation à l'état frais pour les levures (Tableau 9) et (Figures 30 et 31).
- Observation après coloration de Gram pour les bactéries (Tableau 10) et (Figures 26 à 29) (Annexe 3).

Tableau 9. Résultat de l'examen microscopique à l'état frais.

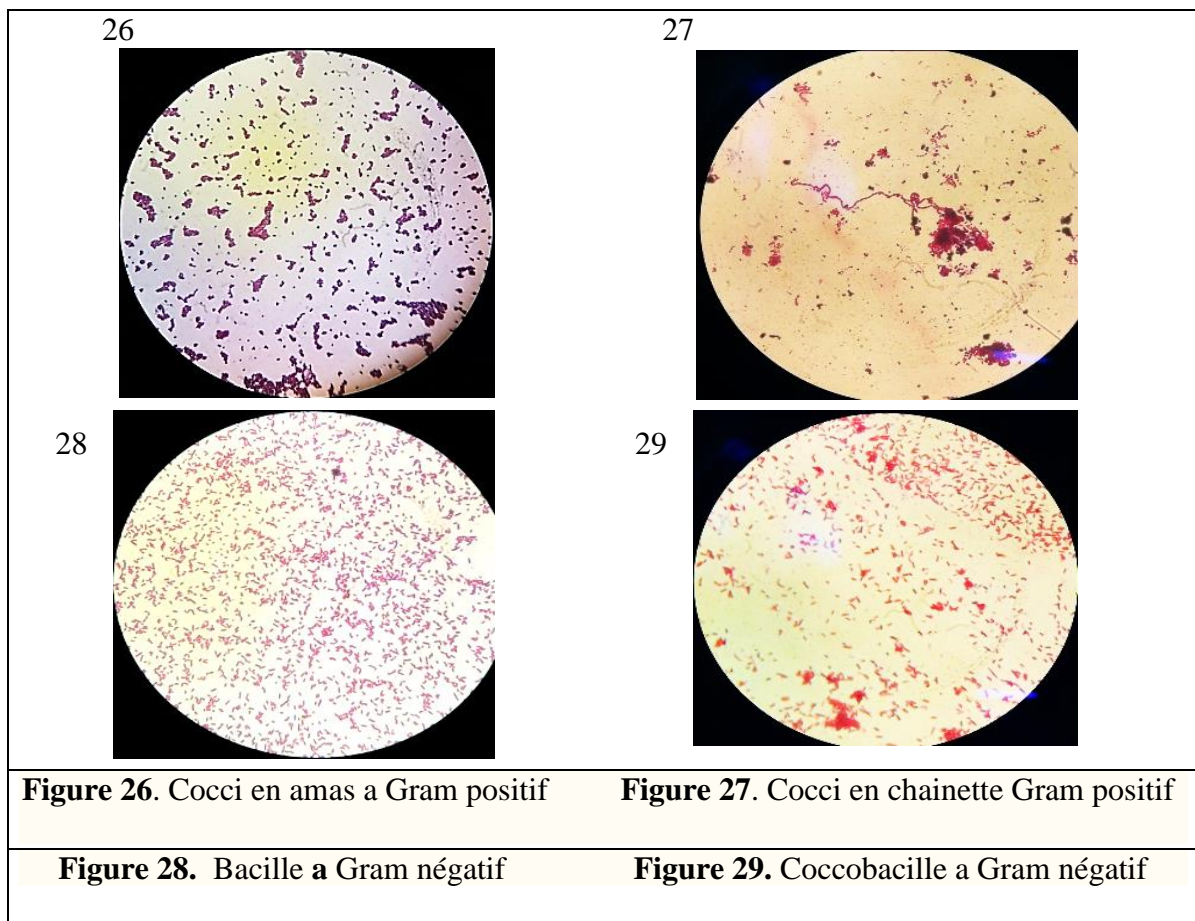
Prélèvement	Etat Frais
04	Filamentation négative
05	Test positive : Formation des filaments
06	Test positive : Formation des filaments
07	Test positive : Formation des filaments

Tableau 10. Résultat de l'examen microscopique après coloration de Gram.

Prélèvement	Gélose au sang frais	Gélose au cuit	Gélose nutritive
01	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	Cocci, Gram positif
02	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
03	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
04	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
05	Coccobacille, Gram négatif	Cocci, Gram positif	–
06	Bacille, Gram Négatif	Cocci, Gram positif	–
07	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
08	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
09	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
10	Cocci, Gram Positif	Cocci, Gram positif	–
11	Cocci, Gram Positif	–	–
13	Cocci, Gram Positif	–	–
14	Cocci, Gram Positif	–	–
19	Cocci, Gram Positif	–	–
20	–	–	Coccobacille, Gram négatif

Tableau 10. Résultat de l'examen microscopique après coloration de Gram.

Prélèvement	Mac Conkey	Chapman
01	–	Cocci, Gram positif
02	–	–
03	–	Cocci, Gram positif
04	–	Cocci, Gram positif
05	Bacille, Gram négatif	Cocci, Gram positif
06	Bacille, Gram négatif	–
07	Bacille, Gram négatif	–
08	Bacille, Gram négatif	Cocci, Gram positif
09	–	Cocci, Gram positif
10	–	–
11	–	Cocci, Gram positif
15	Bacille, Gram négatif	–



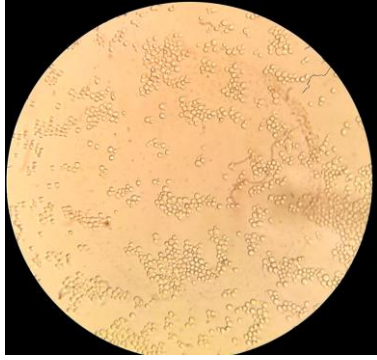


Figure 30. Filamentation négative

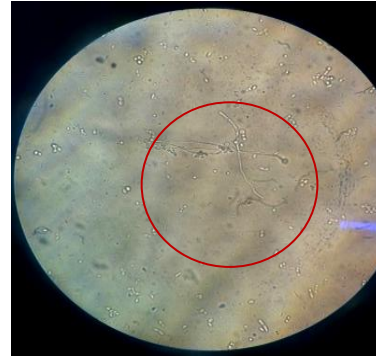


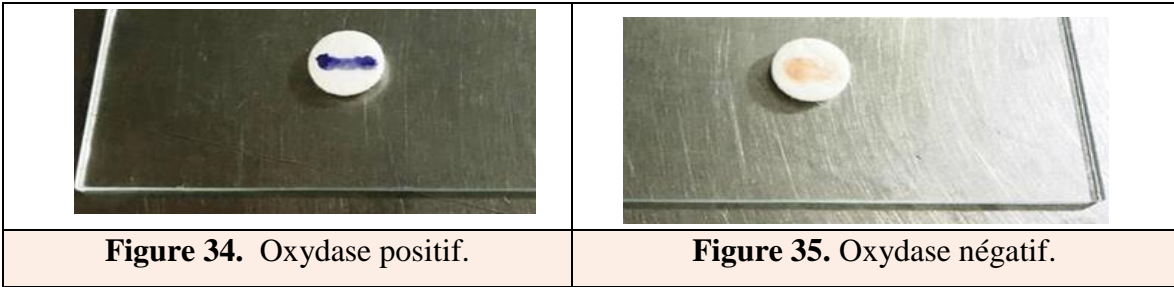
Figure 31. Formation de filaments

- **Tests de métabolisme respiratoire**

Après la réalisation des Tests oxydase et des Tests catalase sur les différents prélèvements, les réactions obtenus sont regroupées dans le Tableau 11 et résumés dans les figures (32 à 35).

Tableau 11. Résultats des tests Oxydase et Catalase.

	GSF		GSC		Mac Conkey		Chapman		GN	
	Cat	OX	Cat	OX	Cat	OX	Cat	OX	Cat	OX
01	(-)	(-)	(-)	(-)					(+)	(-)
02	(-)	(-)	(-)	(-)						
03	(-)	(-)	(-)	(-)			(+)	(-)		
04	(+)	(-)	(-)	(-)			(+)	(-)		
05	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)		
06	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)				
07	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)				
08	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)		
09	(-)	(-)	(-)	(-)			(+)	(-)		
10			(-)	(-)	(+)	(-)				
11	(-)	(-)					(+)	(-)		
13	(-)	(-)								
14	(-)	(-)								
15					(+)	(-)				
19	(-)	(-)								
20									(+)	(-)

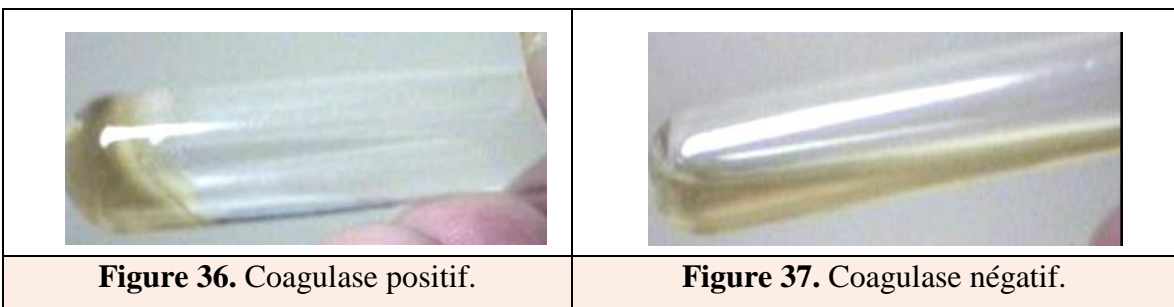


Test Coagulase :

Le test a été effectué uniquement sur les souches de Staphylocoques. Les résultats sont regroupés dans le tableau 12 et illustrés dans les figures (36 et 37).

Tableau 12. Test Coagulase pour les Staphylocoques.

Prélèvement	Coagulase
01	(-)
03	(+)
04	(+)
05	(-)
08	(-)
09	(-)
11	(-)



1.3. Tests Biochimiques :

Les résultats des galeries biochimiques utilisés pour l'identification des bactéries isolées sont résumés dans les tableaux (13 à 16) et illustrés dans les figures (38 à 41) (Annexe 3).

Tableau 13. Résultats de la galerie biochimique API 20 STREP.

Prélèvement	Code de l'API 20 STREP	identification
01	3771045	<i>Streptococcus agalataiae</i>
	5660454	<i>Streptococcus anginosus</i>
02	6761506	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	5040454	<i>Streptococcus salivarius</i>
03	4000412	<i>Aerococcus viridans 2</i>
	5370414	<i>Streptococcus salivarius</i>
04	2006754	<i>Aerococcus viridans 1</i>
05	2026754	<i>Aerococcus viridans 1</i>
07	6561404	<i>Streptococcus pyogenes</i>
08	3463714	<i>Streptococcus agalataiae</i>
09	7471704	<i>Streptococcus porcinus</i>
10	4346754	<i>Enterococcus avium</i>
11	7151450	<i>Enterococcus faecium</i>
13	4343454	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
14	4343650	<i>Enterococcus faecium</i>
19	4347750	<i>Enterococcus faecium</i>

Tableau 14. Résultats de la galerie biochimique API STAPH.

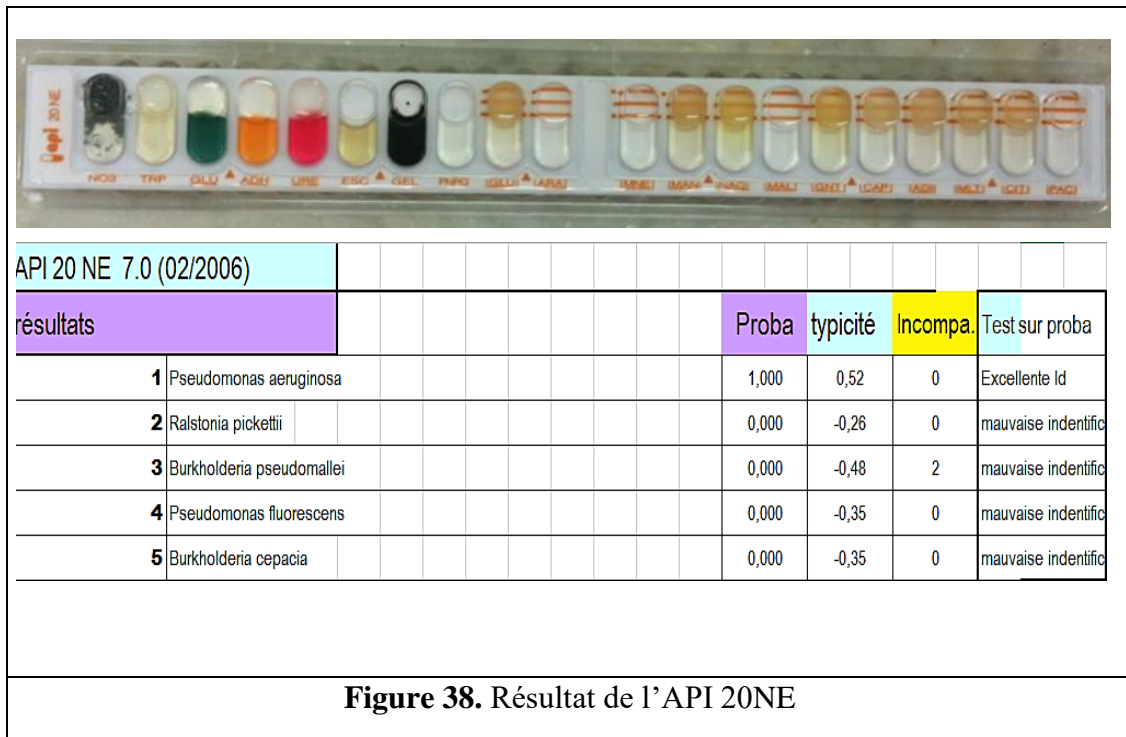
prélèvement	Code de l'API STAPH	identification
01	6713230	<i>Staphylococcus lentus</i>
03	6736152	<i>Staphylococcus aureus</i>
04	6733752	<i>Staphylococcus lentus</i>
	6736111	<i>Staphylococcus aureus</i>
05	6732150	<i>Staphylococcus sciuri</i>
08	6776774	<i>Staphylococcus lentus</i>
09	6770621	<i>Staphylococcus xylosus</i>
11	6730116	<i>Staphylococcus warneri</i>

Tableau 15. Résultats de la galerie biochimique API20 E.

prélèvement	Code de l'API 20E	identification
05	1215773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	1045773	<i>Klebsiella oxytoca</i>
06	5145572	<i>Escherichia coli 1</i>
	1004773	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
08	5355777	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
15	5257732	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
20	3305573	<i>Enterobacter cloaceae</i>

Tableau 16. Résultats de la galerie biochimique API 20NE.

prélèvement	Code de L'API 20NE	identification
07	1254571	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>





TRES BONNE IDENTIFICATION

Galerie	API 20 STREP V7.0			
Profil	3 4 6 3 2 1 4			
Note(s)	CONFIRMER PAR DES TESTS SEROLOGIQUES			
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre	
Streptococcus agalactiae	99.5	0.67	SOR	1%
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre	
Streptococcus porcinus	0.4	0.25	HIP 5% ESC 99% MAH 88% LAC 83%	



API 20 Strepto V7.0 2007/02						
résultats			Proba	typicité	Incompa.	Test sur proba
1	Streptococcus pneumoniae		0,841	0,46	0	Excellente Id
2	Enterococcus faecium		0,056	0,28	0	mauvaise identifi
3	Streptococcus sanguinis		0,040	0,26	2	mauvaise identifi
4	Enterococcus durans		0,025	0,18	2	mauvaise identifi
5	Leuconostoc spp		0,017	0,31	0	mauvaise identifi



API 20 Strepto V7.0 2007/02						
résultats			Proba	typicité	Incompa.	Test sur proba
1	Streptococcus pyogenes		0,976	-0,08	0	Excellente Id
2	Streptococcus acidomonimus		0,020	-0,19	2	mauvaise identifi
3	Streptococcus equi ssp zooepidemicus		0,002	-0,58	1	mauvaise identifi
4	Streptococcus equi ssp equi		0,001	-0,67	4	mauvaise identifi
5	Streptococcus groupe L		0,000	-0,67	4	mauvaise identifi

Figure 39. Résultats de l'API 20 STREP



TRES BONNE IDENTIFICATION AU GENRE

Galerie	API STAPH V4.1
Profil	6 7 3 6 1 5 2
Note(s)	POSSIBILITE DE S intermedius SI VETERINAIRE

Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Staphylococcus aureus	77.7	0.9	ADH 80%
Staphylococcus xylosus	19.3	0.89	XYL 82%
Staphylococcus hominis	2.2	0.83	



IDENTIFICATION ACCEPTABLE

Galerie	API STAPH V4.1
Profil	6 7 3 2 1 5 0
Note(s)	

Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Staphylococcus sciuri	88.3	0.89	

Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Staphylococcus hominis	2.7	0.79	URE 84%



BONNE IDENTIFICATION

Galerie	API STAPH V4.1
Profil	6 7 3 6 1 1 1
Note(s)	POSSIBILITE DE S intermedius SI VETERINAIRE

Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Staphylococcus aureus	92.5	0.75	HAG 90% URE 80%

Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre
Staphylococcus hominis	3.4	0.7	URE 84%

Figure 40. Résultats de l'API STAPH.



PROFIL DOUTEUX						
Galerie	API 20 E V4.1					
Profil	5 3 5 5 7 7 7					
Notes(s)						
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	99.9	0.5	OX	0%		
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0.1	0.0	ODC	0%	OX	0%



BONNE IDENTIFICATION						
Galerie	API 20 E V4.1					
Profil	3 3 0 5 5 7 3					
Notes(s)						
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Enterobacter cloacae</i>	95.1	1.0				
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Enterobacter sakazakii</i>	3.0	0.75	BIO	75%	SOR	8%



PROFIL DOUTEUX						
Galerie	API 20 E V4.1					
Profil	5 2 1 4 7 7 7					
Notes(s)	POSSIBILITE DE <i>Raoultella planticola</i>					
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i>	95.0	0.35	VP	90%	OX	0%
Taxon suivant	% ID	T	Test(s) à l'encontre			
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4.4	0.12	BID	99%	VP	80%

Figure 41. Résultats de l'API 20E.

1.4. Antibiogramme :

L'étude de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques a été réalisés à partir des différentes cultures isolées, et les résultats sont regroupés dans les tableaux (17, 18 et 19) et illustrés dans la figure 42 (Annexe 3).

Tableau 17. Résultats de l'antibiogramme des germes isolés.

	Germes	AK	CX	CAZ	E	P	AMC	CFM
		(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
01	<i>S. lentus</i>	30	35	20	15	40	45	0
03	<i>S. aureus</i>	25	15	0	20	10	17	0
05	<i>A. viridans</i>	20	18	25	0	0	15	17
05	<i>k. oxytoca</i>	23	22	28	0	0	0	17
06	<i>K. pneumoniae</i>	25	20	23	0	0	15	17
06	<i>E. coli 1</i>	15	20	22	0	0	10	0
08	<i>R. ornithinolytica</i>	20	0	25	0	0	15	0
13	<i>S. pneumoniae</i>	30	25	30	18	15	20	20
14	<i>S. feacium</i>	20	20	25	20	40	30	10
15	<i>K. pneumoniae</i>	20	–	19	0	0	11	5
20	<i>E. cloaceae</i>	20	0	18	0	0	18	0

Tableau 18. Résultats de l'antibiogramme de *P. aeruginosa*.

	TIC	GM	CAZ	TIM	PEF	AN
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
07	25	15	35	25	18	20

Tableau 19. Résultats de l'antibiogramme de *E. avium*.

	L	TCE	CIP	VAN	RAM	E	P	AMC	TP
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
08	0	20	0	20	0	0	0	0	15

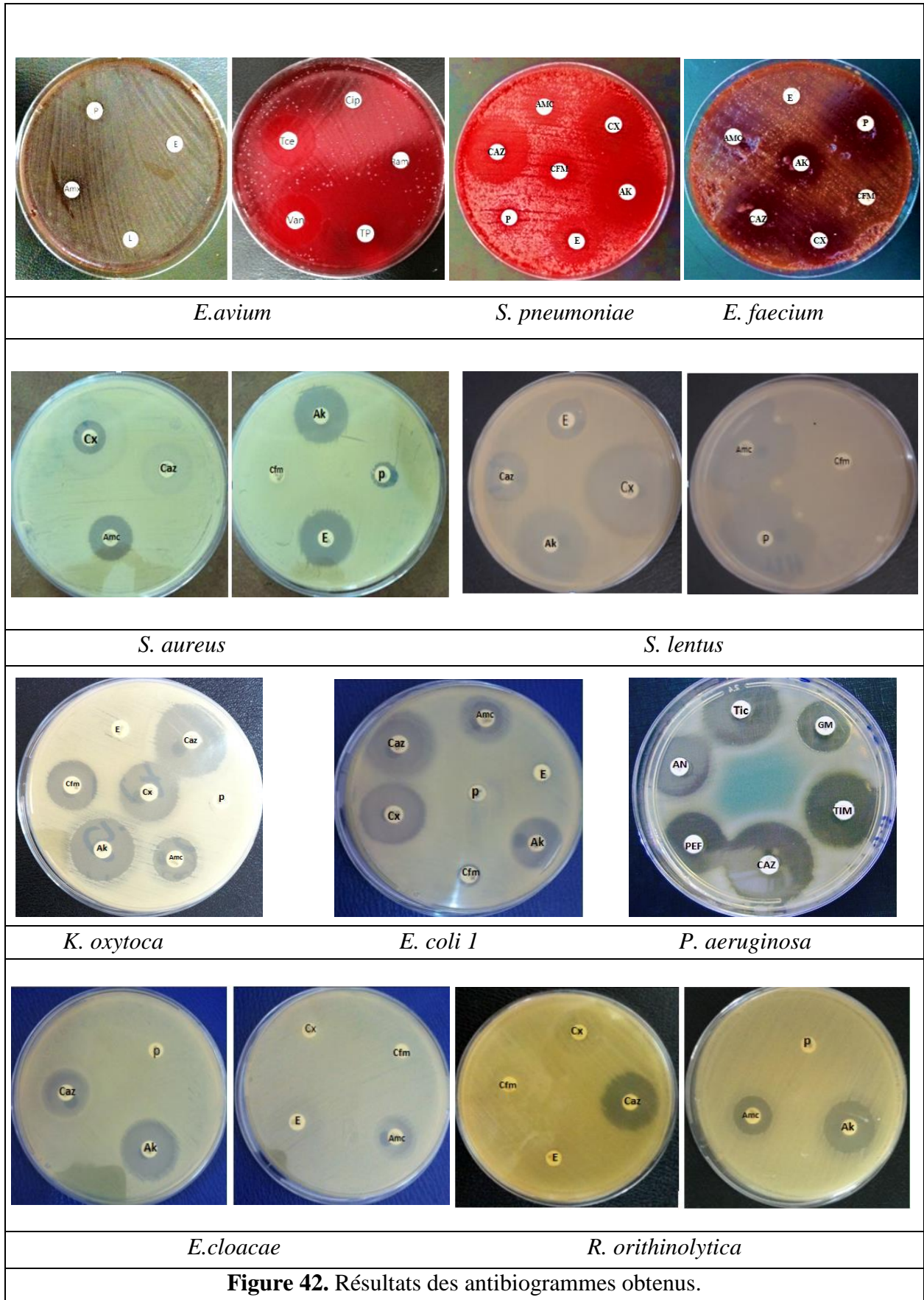


Figure 42. Résultats des antibiogrammes obtenus.

2. Etude statistique :

2.1. Taux d'hémolyse :

Tableau 20. Répartition de taux d'hémolyse en fonction de nombre des streptocoques.

	Nombre de streptocoques	Pourcentage (%)
Hémolyse α	5	31,25
Hémolyse β	7	43,75
Hémolyse γ	4	25
Total	16	100

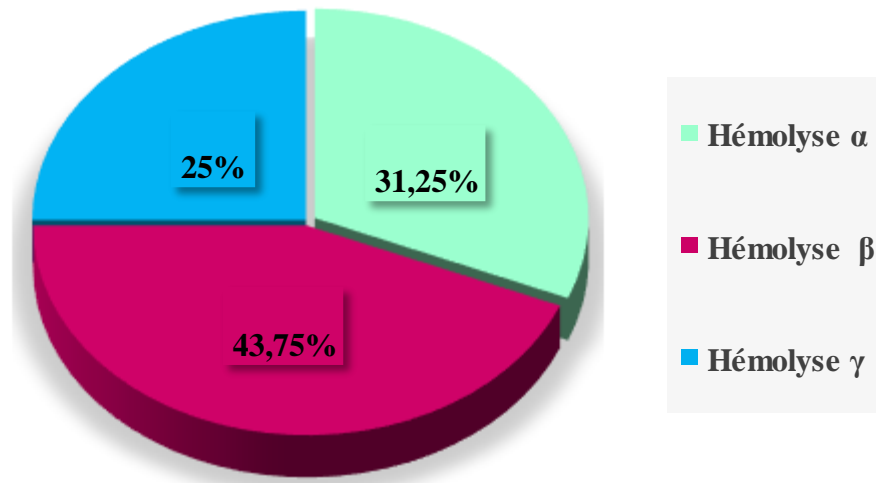


Figure 43. Représentation graphique des taux d'hémolyse en fonction de nombre des Streptocoques.

2.3. Taux de sexe :

Tableau 21. Variation de taux de sexe en fonction de nombre des prélèvements.

	Nombre des prélèvements	pourcentage
		%
Masculin	7	35
Féminin	13	65
Total	20	100

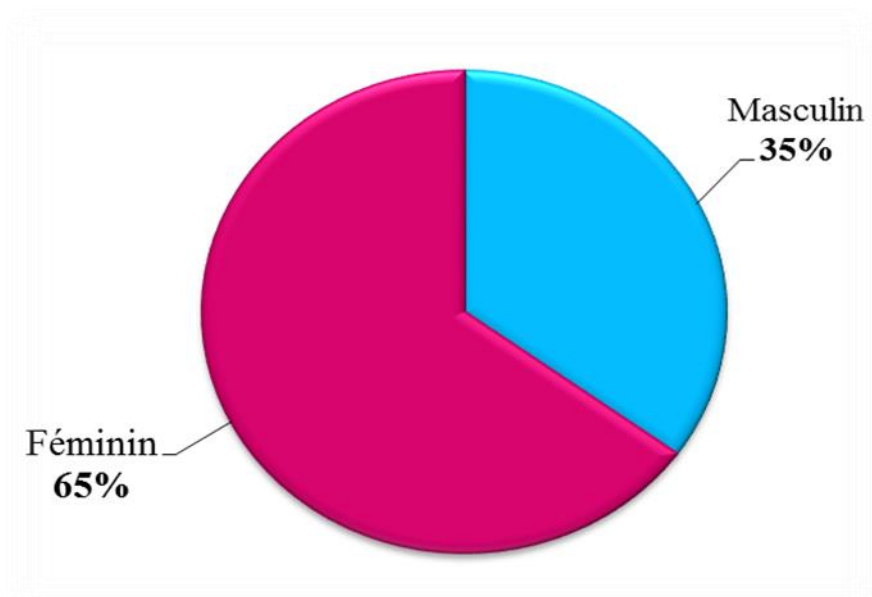


Figure 44. Représentation graphique des taux de sexe en fonction du nombre des prélèvements.

2.4. Les tranches d'âge :

Tableau 22. Répartition des tranches d'âges en fonction de type d'hémolyse.

Tranche d'âge (an)	Nombre	Pourcentage %	Type d'hémolyse		
			α	β	γ
[3 - 10]	5	25	0	2	0
[11- 18]	8	40	2	2	3
[19-26]	3	15	0	0	1
[27-34]	1	5	1	1	0
[35-42]	2	10	2	2	0
[43-50]	1	5	0	0	0

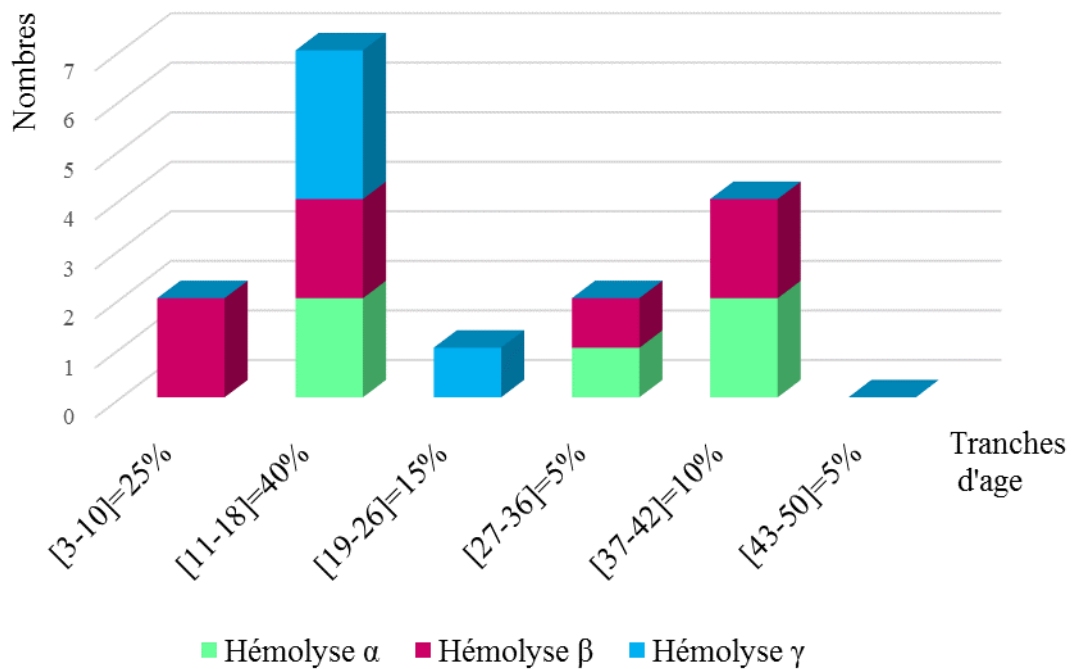


Figure 45. Représentation graphique des tranches d'âge en fonction de type d'hémolyse.

2.5. Nombre des germes :

Tableau 23. Variation de nombre des germes en fonction de la période de prélèvement.

	Nombre des germes	Pourcentage %
Période estivale	27	82
Période hivernale	6	18
Total	33	100

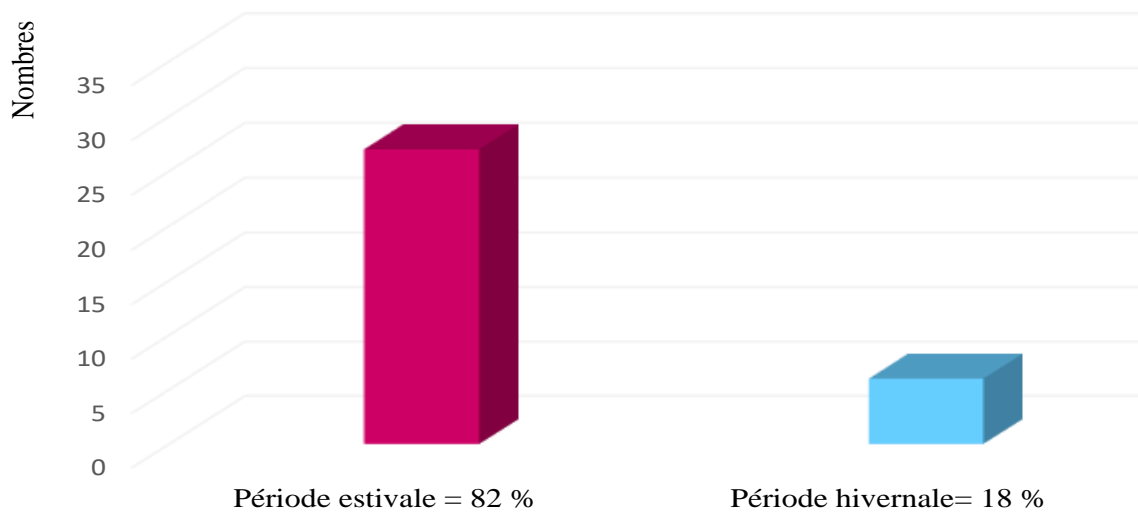


Figure 46. Représentation graphique de nombre des germes en fonction de la période de prélèvement.

Tableau 24. La variation de nombre de chaque germe en fonction de la période de prélèvement.

	Streptocoques %	Staphylocoques %	Entérobactéries %	Non Entérobactéries %	Levures %
Période estivale	41	24	17	3	13
Période hivernale	57	14	28	0	0

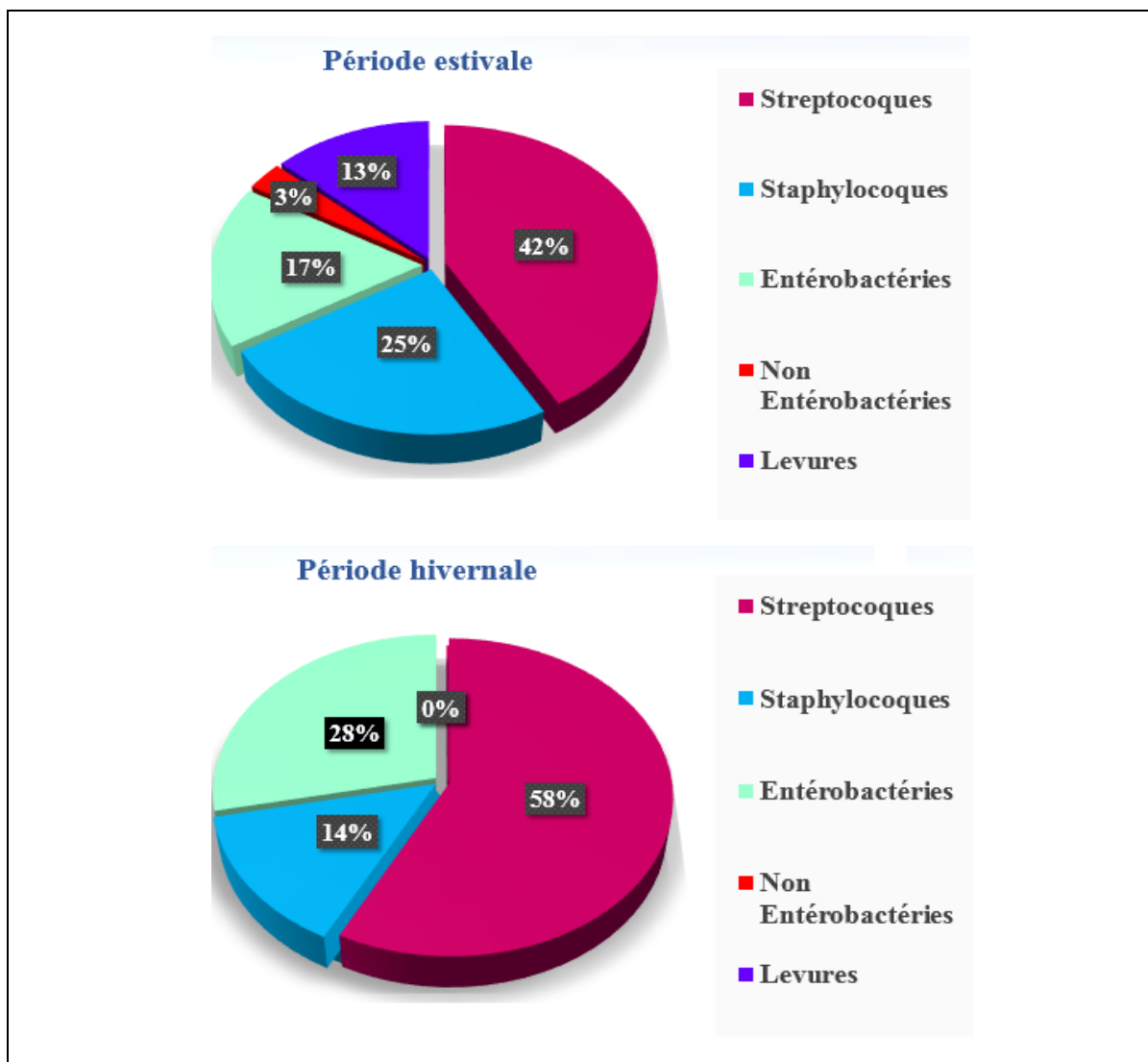


Figure 47. Représentation graphique des taux des bactéries en fonction de la période de prélèvement.

2.6. Résistance et sensibilité aux antibiotiques :

Tableau 25. Résultats des antibiogrammes de quelques espèces (*S. pneumoniae*, *S. aureus* et *K. pneumoniae*).

	AK (mm)	CX (mm)	CAZ (mm)	E (mm)	P (mm)	AMC (mm)	CFM (mm)
<i>S. pneumoniae</i>	30	25	30	18	15	20	20
<i>S. aureus</i>	25	15	0	20	10	17	0
<i>K. pneumoniae</i>	20	19	–	0	0	11	5

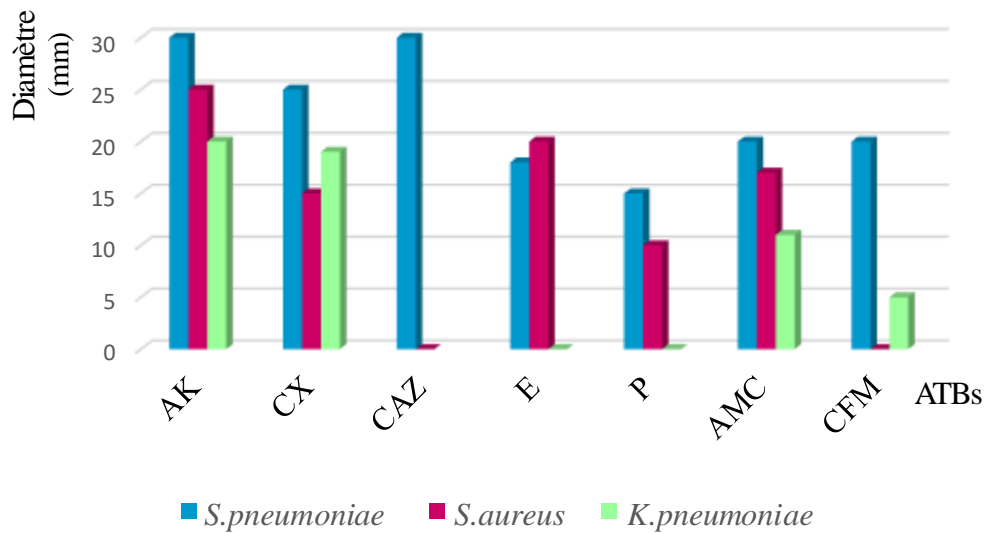


Figure 48. Représentation graphique des résultats d'antibiogramme de quelques espèces *S. pneumoniae*, *S. aureus* et *K. pneumoniae*.

Tableau 26. Résultat de l'antibiogramme de *P. aeruginosa*.

	TIC	GM	CAZ	TIM	PEF	AN
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
<i>P. aeruginosa</i>	25	15	35	25	18	20

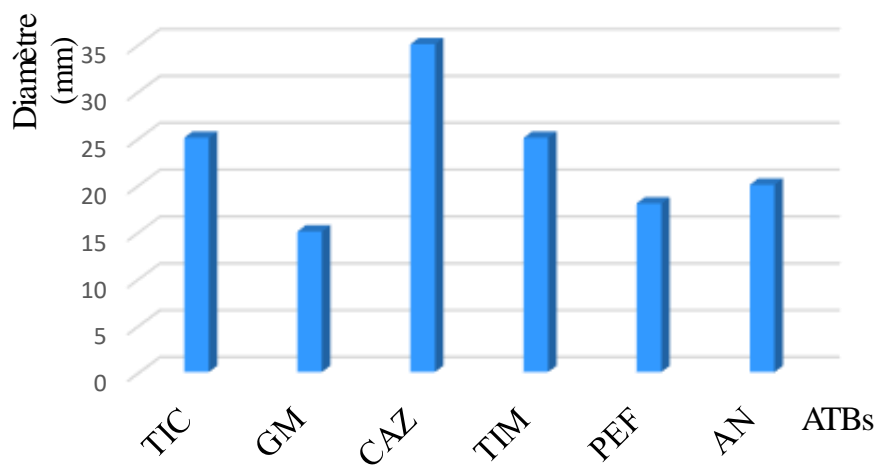


Figure 49. Représentation graphique des résultats de l'antibiogramme appliqué au *P. aeruginosa*.

3. Discussion :

Durant notre stage réalisé au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr (Guelma) sur 20 patients provenant de différentes origines. Ces patients sont âgés de 3 à 41 ans. Ces derniers manifestaient des signes généraux (fièvre) et des signes locaux (rougeur de la gorge, gonflement, douleur...etc.) d'infections ORL.

Les prélèvements de gorge ont été réalisés dans des boîtes de Pétri gélosés (gélose au sang frais et gélose au sang cuit, gélose nutritive, gélose Mac Conkey, gélose Chapman et gélose Sabouraud) et incubés à 37°C pendant 24h. Après incubation, nous avons déterminés les caractéristiques macroscopiques des colonies et nous avons procédé à la sélection des colonies suspectes. Les clones recherchés doivent avoir les caractéristiques suivantes :

- Colonies petites, arrondies, transparentes, à contour régulier exhibant un halo d'hémolyse clair de type β sur gélose au sang frais.
- Colonies petites, arrondies, bombées, à contour régulier exhibant un halo d'hémolyse vert de type α sur gélose au sang cuit.
- Colonies grandes, à contour régulier, pigmentées et entourées d'une auréole jaune, dans le cas où le mannitol est fermenté sur gélose Chapman ou des colonies de couleur blanche.
- Colonies volumineuses, arrondies, bombées, lisses, crémeuses avec un contour régulier, de couleur rose sur gélose Mac Conkey.
- Colonies volumineuses, arrondies, régulières de couleur blanche et manifestant une odeur de fermentation sur gélose Sabouraud au Chloramphénicol.
- Colonies arrondies, beiges, à contour régulier et crémeuses sur gélose nutritive.

Ce qui nous conduit à réaliser des observations microscopique (à l'état frais et après coloration de Gram) et des tests biochimiques préliminaires (recherche de la catalase, de l'oxydase, de la staphylocoagulase des différentes souches isolées et des tests de filamentation pour les levures.

Ainsi, sous microscope et après examen à l'état frais, nous avons observés chez les levures isolées sur gélose Sabouraud des filaments montrant le pouvoir pathogènes de ces microorganismes. Après coloration de différentielle de Gram, il en ressort :

- Des cocci regroupées en chaînette ou en amas à Gram positif isolés des boites de géloses au sang frais et au sang cuit.
- Des cocci regroupées en grappes de raisins à Gram positif isolés des boites de gélose Chapman.
- Des bacilles à Gram négatif isolés des boites de gélose Mac Conkey.

L'étude bactériologique se poursuit par une identification biochimique de toutes les souches isolées en étudiant le principal arsenal enzymatique de ces souches et ceci par l'utilisation des galeries d'identification API (API 20 E, API 20 NE, API 20 STAPH et API 20 STREP). Les bactéries les abondantes isolées et identifiées dans nos prélèvements sont :

- Sur géloses au sang frais : des Streptocoques β hémolytiques principalement *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus agalataiae*.
- Sur géloses au sang cuit : des Streptocoques α hémolytiques principalement *Streptococcus salivarius* et *Aerococcus viridans*.
- Des souches de Streptocoques γ hémolytiques ont été isolées sur les deux géloses (au sang frais et au sang cuit). Il s'agit de *Enterococcus faecium* et *Streptococcus porcinus*.
- Des *Staphylococcus aureus* et autres Staphylocoques coagulase négative (*Staphylococcus lentus* et *Staphylococcus sciruri*) ont été isolés des boites de gélose Chapman.
- Les Entérobactéries sont fréquemment présentées dans les boites de gélose Mac Conkey. La dominance des *Klebseilla pneumoniae* et *Escherichia coli* est à remarquer.

L'identification sérologique des streptocoques et l'étude de leur pouvoir de résistance à la Bacitracine et à l'Optochine, normalement impératives pour mieux identifier ces souches, n'ont malheureusement pas été réalisées uniquement suite aux manques de produits et de réactifs appropriés.

La dernière étape de la caractérisation bactériologique des différentes souches isolées est l'étude de leur sensibilité et de leur pouvoir de résistance aux antibiotiques commercialisés. Il en ressort que la majorité des bactéries isolées affichent une sensibilité marquée aux antibiotiques suivants (Amiklan, Céfotaxime, et Céfotazidime). Les diamètres des zones d'inhibition mesurés sont supérieurs à 15 mm. Une résistance intermédiaire a été aussi notée pour les antibiotiques suivants : Penicilline, Erythromycine, Amoxicilline et Cefixime où les diamètres de ces zones d'inhibition varient souvent entre 11 et 15mm. Sous un autre angle et d'une manière générale, il en ressort que :

- *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus lentus* et *Pseudomonas aeruginosa* affichent pratiquement une sensibilité pour tous les antibiotiques utilisés.
- *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca* et *Escherichia coli* sont résistants à la moitié des antibiotiques utilisés (Amiklan, Céfotaxime, et Céfotazidime) et ils sont sensibles pour le reste des xénobiotiques utilisés (Penicilline, Erythromycine, Amoxicilline et Cefixime).
- *Klebsiella pneumoniae* (Entérobacteriaceae) est résistante à la majorité des antibiotiques utilisés.

Enfin, en réalisant une étude rétrospective en utilisant les registres de l'hôpital Ibn Zohr, il en ressort que :

- Les streptocoques β hémolytiques sont les bactéries les plus abondants avec 43%. Ils sont suivis par les streptocoques α hémolytiques avec 31% et enfin par les streptocoques γ hémolytiques avec 25%.
- Selon le sexe, les femmes constituent la partie la plus touchée avec 65% de cas positif.
- D'une manière générale, les jeunes sont les plus affectés par les infections de gorge. La tranche d'âge la plus touchée est celle comprise entre 11 et 18 ans. Elle constitue 40% des cas. Les enfants de bas âge (3 à 10 ans) représentent un taux de 25%.
- Nos résultats exposent aussi que le nombre de germes isolés pendant la période estivale (période de grande consommation des crèmes glacés) est plus élevé. Il atteint 82% par rapport au nombre de germes isolés pendant la saison hivernale qui ne représentent que 18%.

- *Idem* la présence des Streptocoques dans les prélèvements domine de loin que ça soit pendant la période estivale que pendant la période hivernale. Elle est suivie par la présence de Staphylocoques pendant l'été et des Entérobactéries pendant l'hiver. Les non Entérobacteriacées et les levures n'ont pas été trouvés pendant la saison hivernale.

- Après ces diagnostics, l'efficacité des traitements dépend essentiellement de l'étude de la sensibilité de ces souches isolées par rapport aux antibiotiques commercialisés. Ainsi, après l'application des différents antibiotiques sur les différents phénotypes bactériens isolés il en résulte que Amiklan, Céfotaxime, et Céfotazidime sont les plus efficaces. Ils agissent sur les 3 bactéries les plus représentés dans ces prélèvements. La Céfotazidime est efficace uniquement contre les bactéries non Entérobacteriacées.

Conclusion :

Dans ce présent travail nous sommes intéressées à l'identification de la microflore de la gorge et de déterminer les germes les plus abondants et ceux qui peuvent être la cause des infections ORL.

A la lumière des résultats obtenus, il en ressort que les prélèvements réalisés sont poly-microbiens. Les Streptocoques, principalement les Streptocoques β hémolytiques, les Staphylocoques et les Entérobactéries constituent la microflore la plus abondante.

Ces microorganismes varient considérablement en fonction de l'âge des patients et la période de prélèvement (en hiver et en été). Les bactéries sont plus abondantes pendant la période estivale. Ceci peut-être expliquer par la consommation des produits frais et froids souvent en rupture de la chaîne de froid. Les Streptocoques β hémolytiques ont été particulièrement isolés chez les enfants et les jeunes qui abusent dans la consommation de ces produits. Ces Streptocoques β hémolytiques sont souvent responsables de nombreuses maladies de la gorge telle que les angines (25 à 40 % chez les enfants/adolescents et moins de 25 % chez les adultes) dont les différentes complications peuvent aboutir au rhumatisme articulaire aigu (RAA) et le Glomérulonéphrite (GNA). De ce fait le diagnostic et la déclaration sont obligatoires chez les enfants âgés entre 3 et 16 ans qui constituent la principale cible. La majorité de ces bactéries exhibent une résistance aux différents antibiotiques utilisés.

Perspectives :

Au terme de notre étude nous pouvons formuler ces quelques perspectives :

1. Réduire la consommation des crèmes glacés surtout pour les enfants pendant la saison estivale car la contamination par les Streptocoques peut engendrer des conséquences graves.
2. Eviter de boire trop froid afin d'éviter les irritations des muqueuses de la gorge.
3. Eviter et réduire la consommation irresponsable des antibiotiques, principalement la Pénicilline et l'Amoxicilline (problème de l'antibiorésistance).
4. Prendre beaucoup d'eau afin d'éviter l'assèchement des muqueuses de la gorge.
5. Préconiser aux petits de prendre de temps en temps les boissons chaudes sucrés au miel.
6. Avant chaque repas, se laver bien les mains afin d'éviter la propagation de l'infection.
7. En cas de maladie ; il est préconiser de suivre une vaccination adéquate.

BIBLIOGRAPHIE :

- **BALLORINI, M. (2014).** *Utilisation du test de diagnostic rapide des angines en Officine : Etude pilote sur le bassin de Santé de Montauban*, Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France. 69p.
- **BALL, T. R. (2002).** *Manuel pratique d'ORL*. Edition Masson. 222p.
- **BOURDAN, J. M. (1973).** *Techniques bactériologiques*. Doin éditeur. 335p.
- **BRULE ET ALL. (2002).** *L'examen clinique dans la pratique infirmière*. Edition du Renouveau pédagogique. 733p.
- **CNOKAERT, F (2013).** *Prélèvement ORL : Bactériologie médicale*. Edition CRDP Aquitaine Académie de Bordeaux. 22p.
- **COMARMOND, C.V. (2010).** *Maladies infectieuses*. 4^{ème} édition ESTEM groupe de Boeck. 135p.
- **DIALLO, T. (2010).** *Typage et prévalence du gène codant pour la protéine M de Streptococcus pyogènes*, Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Bamako, Mali, 87p.
- **FAUCHRE, J. (1997).** *Bactériofishes techniques en Bactériologie clinique*. Edition Ellipses. 174p.
- **FLANDROIS, J.P. (1999).** *Bactériologie médicale*. Edition Azay. 290p.
- **FRANCOIS, D. M. (2007).** *Bactériologie médicale : Technique usuelles*. 3^{ème} édition Masson. 571p.
- **FRAPRIE, P. M. (2013).** *Bactériologie médicale*. 1^{ère} édition CRBP Aquitaine Académie de Bordeaux. 127p.
- **FRITZ, H. K. (2008).** *Manuel de poche de microbiologie médicale*. 11^{ème} édition Flammarion médecine - Science. 764p.
- **GARNIER, F. F. (2007).** *Bactériologie médicale : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif*. Edition Masson. 254p.
- **GNANGNON, E .S. (2010).** *Etude des réactions inflammatoires dues aux infections par les streptocoques*, Mémoire de Master en Biologie, Université 8 Mai 1945, Guelma, Algérie. 61p.
- **GROSGEAN, J. D. (2011).** *Bactériologie et Virologie pratique*. 2^{ème} édition révisé de Boeck Université. 290p.
- **HOCKENBERRY, M. J. (2012).** *Soins infirmiers- Pédiatrie, Montréal*. Chenelière Éducation. 1408p. ISBN : 9782765037712.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **KARI, N. S. (2013).** *Etude de la résistance aux Antibiotiques Chez les Bacilles à Gram négatif isolés à partir des Effluents de deux Hôpitaux de la Wilaya de Bejaïa.* Mémoire de Master en Microbiologie Moléculaire et Médicale, Université Abderrahmane MIRA de Bejaïa, Algérie. 22p
- **KONGOLO, N. (2015).** *Prévalence des infections respiratoires supérieures chez les enfants de 0 à 15 ans.* Mémoire de master en sciences biomédicales, Université Kalemie, Congo. 105p.
- **LARPENT, J. (2002).** *Introduction à la nouvelle classification bactérienne.* 2^{ème} édition Azay. 174p.
- **MCISAAK, W, J. (1998).** *A clinical score to reduce unnecessary antibiotic use in patients with sore throat.* Journal: Association medical Canadian (CMAJ). 75-83p.
- **NAUCIEL, C. J. (2005).** *Bactériologie Médicale : Abrégé des connaissances et pratiques.* 2^{ème} édition Masson. 257p.
- **OUMAR, S. D. (2017).** *Etiologie des Angines chez les enfants.* Mémoire de Master, Université des frère Mentouri, Constantine, Algérie. 87p.
- **PILLY, E. (2014).** *Maladies infectieuses et tropicales.* 24^{ème} édition Alinéa plus. 154p.
- **SAUVEZIE, B. (2004).** *Immunopathologie, Allergologie et réaction inflammatoires.* Edition Ellipses. 304p.
- **SINGLETON, P.D. (1984).** *Abrégé de Bactériologie.* Edition Masson. 158p.
- **TORTORA, F.C. (2012).** *Introduction à la microbiologie.* 2^{ème} édition Renouveau Pédagogique Inc (Erpi). 831p. ISBN : 978-2-7613-4139-4.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[12]. Dermatologue en ligne (2015-2017). *Lésion fongique de la gorge, comment traiter*
Disponible sur :

http://fr.primalinstinctpheromone.com/gribkovoe-porazhenie-gorla-kak-lechit_default.htm
(Consulté le 23.04.2019).

[13]. *Réalisation d'un prélèvement de gorge*. Disponible sur :

www.hopital-armees-brest.fr/guidedesanalyses/fichiers/guide.../mo-plvtgorge.pdf
(consulté le 25.04.2019)

[14]. MAGNIEZ (2009). *Les milieux sélectifs en microbiologie* (en ligne). Disponible sur :
<http://www.technobio.fr/article-36670053.html> (consulté le 01.05.2019).

[15]. CHRINGEL. *Les Milieux de Culture en Bactériologie*. Disponible sur :
<https://chringel.files.wordpress.com/2011/12/bio303-les-milieux-de-culture.pdf> (consulté
le 02.05.2019).

[16]. Fiche technique (2012). *Gélose Sabouraud Chloramphénicol*. Disponible : sur :
https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_370-Sabouraud_CMP_FR.pdf (consulté
le 12.05.2019).

[17]. https://www.bioutils.ch/system/documents/docs//original/5.coloration_gramNEW.pdf
(consulté le 16.05.2019).

[18]. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM)
(2008). Disponible sur : <http://www.sfm.asso.fr> (consulté le 20.05.2019).

[19]. Cours de microbiologie (les Streptocoques), Département des sciences vétérinaires de
Constantine, Algérie. Disponible sur :

<https://coursexamens.org/images/An2018/Etudessuperieures/Veto/Physiologie/Constantine/1-Streptocoques.pdf> (consulté le 11.06.2019).

[20]. https://fr.wikipedia.org/wiki/Milieu_de_culture (consulté le 14.06.2019).

[21]. <http://www.microbiologie-medicale.fr/milieuxdisolement/nonselectifs/sangfrais.htm>
(15.06.2019).

[22]. [http://solabia.com/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/68FB941BBC8DAAAEC12574B30030980F/\\$file/FT_BK050_v6.pdf](http://solabia.com/solabia/produitsDiagnostic.nsf/0/68FB941BBC8DAAAEC12574B30030980F/$file/FT_BK050_v6.pdf) (16.06.2019).

Annexe 1. Sérologie de Lancefield.

Historique :

En 1929, Lancefield a proposé la classification antigénique qui porte son nom, et qui remplace la classification précédente basé sur les propriétés hémolytiques. Des nombreuses espèces de streptocoques possèdent des antigènes spécifiques situés dans la paroi appelés polysaccharides C (Figure 50), ils permettent de définir des groupes sérologiques [19].

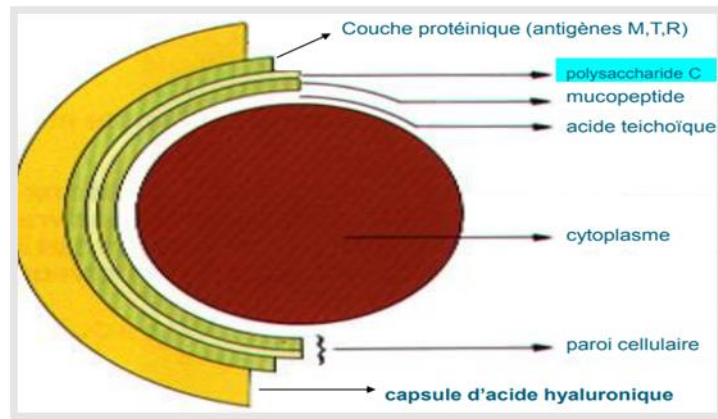


Figure 50. Structure des streptocoques [19].

Principe :

Selon la classification de Lancefield, à partir de l'extraction enzymatique de l'antigène de groupe et agglutination avec des particules latex recouvertes d'anticorps (Streptex) (Figure 51), on distingue 17 stéréotypes de A à H, de K à M et de O à T. Certains streptocoques qui ne possèdent pas d'antigène permettant de les classer selon la méthode de Lancefield sont dits « non groupable » [19].

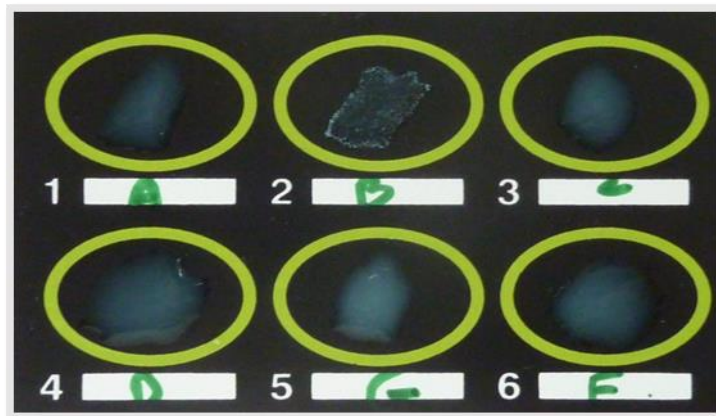


Figure 51. Typage par agglutination sur plaque [19].

Annexe 2. Composition des milieux de cultures.

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire les exigences nutritives du micro-organisme étudié ce qui implique :

- Couvrir les besoins en ions minéraux, en facteurs de croissance, apporter la source de carbone et d'énergie (Produits déshydratés) ;
- Présenter un pH voisin du pH optimal ;
- Présenter une force ionique optimale ;
- Ajouter un agent gélifiant à un milieu liquide. Le gélifiant le plus utilisé est l'agar-agar à 15g/l environ (Tableau 27) ;
- Stérilisation à l'autoclave (Entre 15 et 20 minutes à 120C° environ) [20].

Tableau 27. Composition des milieux de cultures [20].

Composition (g/l)	Produits
Gélose nutritive	1 2,5 5 5 15 pH : 7,0 Extrait viande fois Extrait de levure Peptone Chlorure de Sodium Agar
Gélose Muller Hinton	0.3 17,5 1,5 17 pH : 7,0 Infusion de viande de bœuf Peptone de caséine Amidon de maïs Agar
Gélose Columbia (+ 5% du sang)	17 3 1 5 3 13,5 pH = 7,3 +/- 0,2 Polypeptones Peptone pancréatique de cœur Amidon de maïs Chlorure de sodium Extrait de levure Agar

ANNEXES

Gélose Chapman	10	Peptone
	1	Extrait de viande de bœuf
	75	Chlorure de sodium
	10	Mannitol
	0,025	Rouge de phénol
	15	Agar-Agar
	1	Eau distillée pH : 7,4
Gélose Mac Conkey	20	Peptone
	10	Lactose
	1.5	Sels Biliaires
	0,001	Cristal violet
	0,05	Rouge Neutre
	5	Chlorure de Sodium
	15	Agar pH : 7.1
Gélose Sabouraud Chloramphénicol	10	Peptone
	35	Glucose massé
	15	Agar
	1	Eau distillée
	0.5	Chloramphénicol Vitamines et facteurs de croissance pH : 6,0
Bouillon nutritive	10	Tryptone
	5	Extrait de viande
	5	Chlorure de sodium pH du milieu : 7,2 0,2.

Préparation des milieux de cultures :

Gélose au sang frais / Gélose au sang cuit :

1. Liquéfier la base au bain-marie bouillant.
2. Attendre son refroidissement à 45°C (milieu en surfusion).
3. Ajouter stérilement, à l'aide d'une pipette Pasteur, la quantité de sang nécessaire pour obtenir une concentration finale en sang de 5%.
4. Homogénéiser en faisant rouler le tube entre les mains, en évitant la formation de bulles.
5. Chauffer à 70-80°C jusqu'à l'apparition d'une coloration brun chocolat (le cas de Gélose au sang cuit).
6. Couler en boîte de Pétri en évitant la formation de bulles [21].

Gélose Chapman :

1. Une base nutritive ordinaire.
2. Une teneur élevée en NaCl qui permet la sélection des bactéries halophiles (comme les *Staphylococcus*) et inhibe la grande majorité des autres bactéries.
3. Un critère de différenciation : la fermentation du mannitol révélé grâce au virage de l'indicateur coloré de pH : le rouge de phénol qui permet une orientation vers certaines espèces (comme l'espèce *Staphylococcus aureus*) [21].

Gélose Mac Conkey :

1. Mettre en suspension 50,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile.
2. Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
3. Répartir en tubes ou en flacons.
4. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes [22].

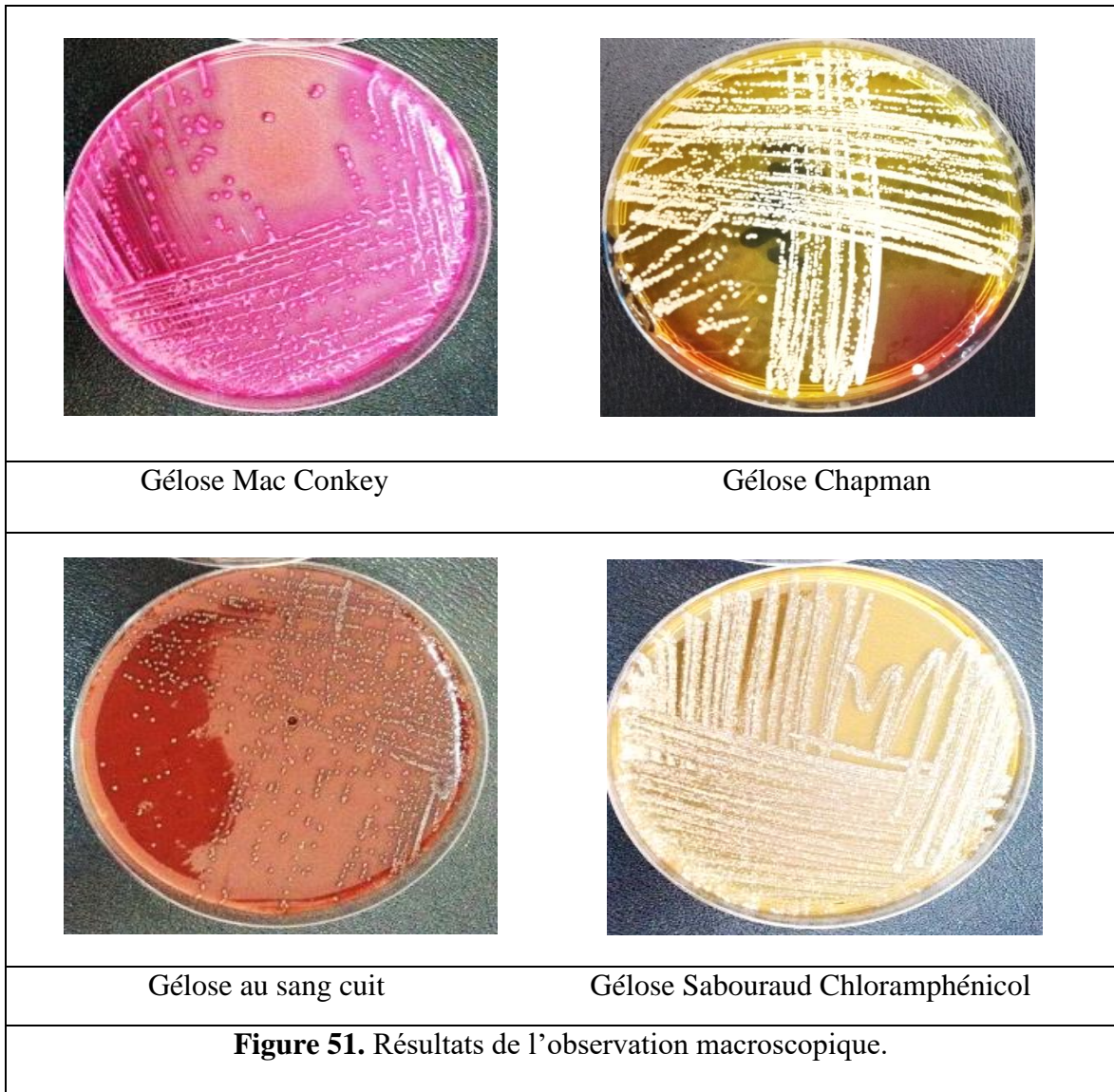
Gélose Sabouraud - Chloramphénicol :

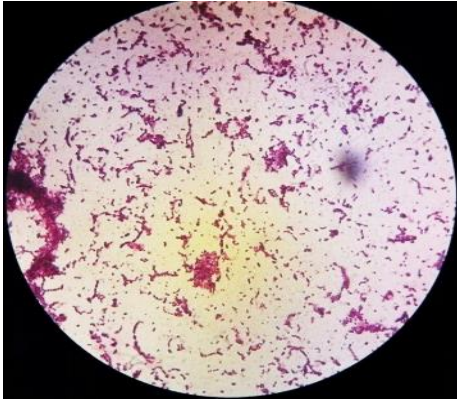
1. Mettre en suspension 45,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile.
2. Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et le maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
2. Répartir en tubes ou en flacons.
3. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes [22].

Gélose nutritive :

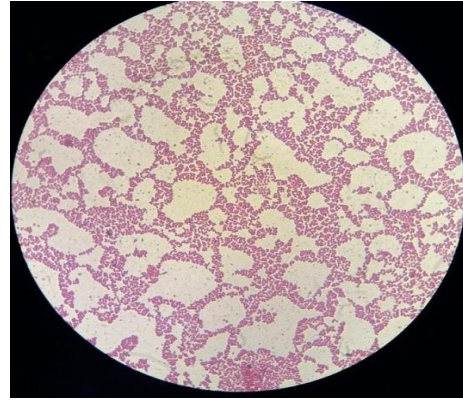
1. Verser 28 g dans un litre d'eau distillée stérile.
 2. Ajuster le PH à 7.4.
 3. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes [22].

Annexes 3. Quelques figures des résultats secondaires.



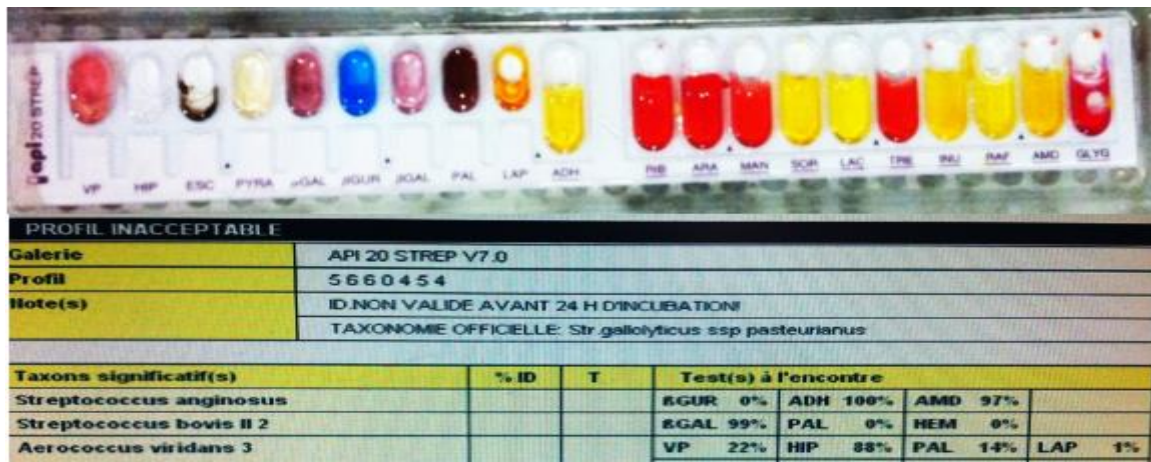


Cocci à Gram + en petit chaînette



Cocci à Gram + en amas

Figure 52. Résultats de l'observation microscopique.



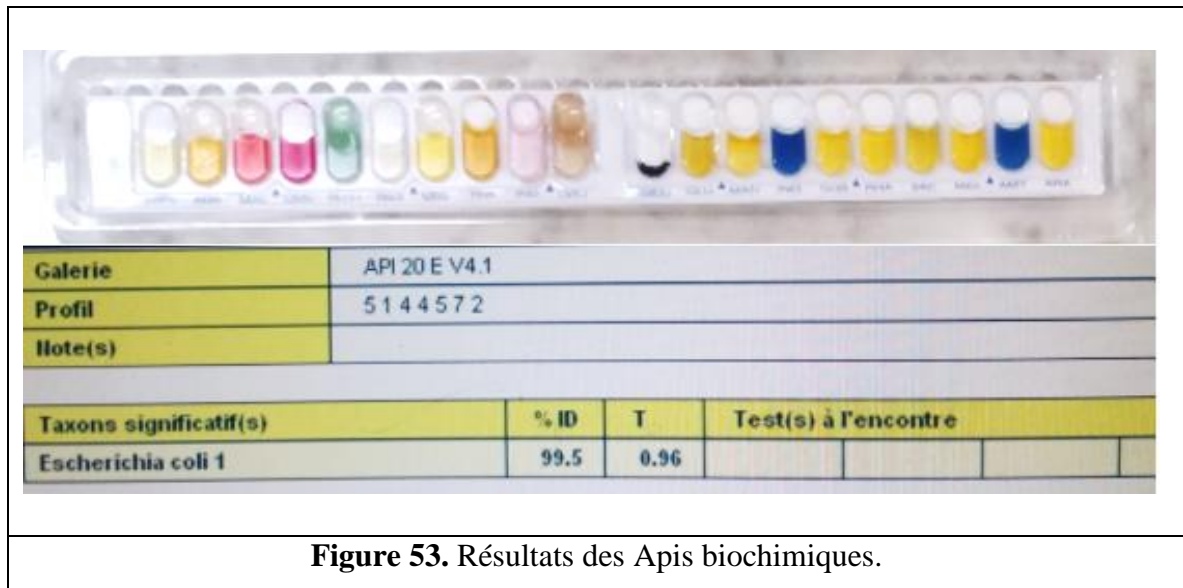


Figure 53. Résultats des Apis biochimiques.

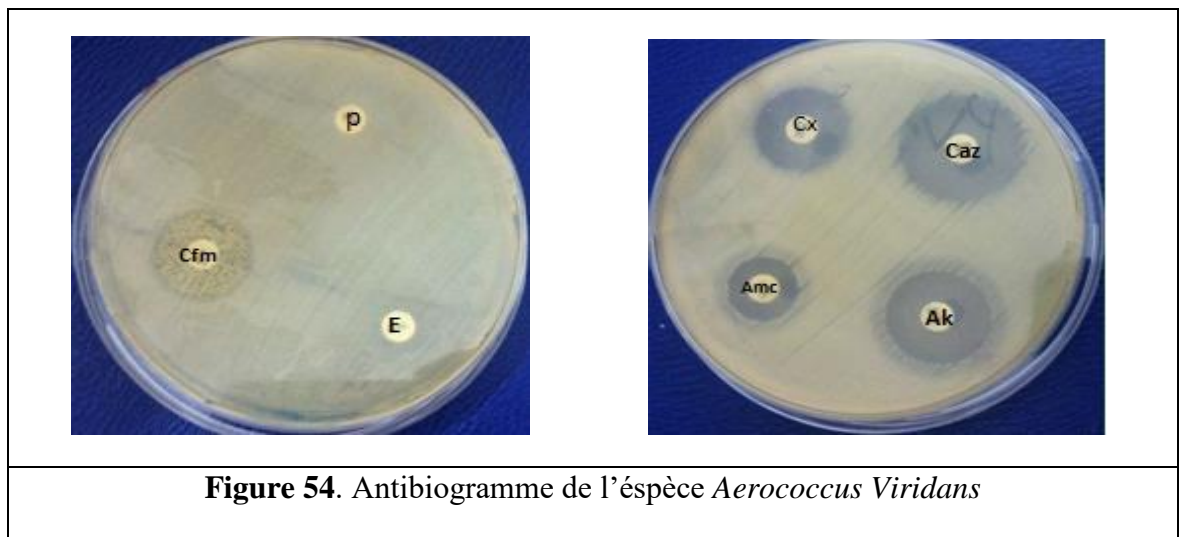


Figure 54. Antibiogramme de l'espèce *Aerococcus Viridans*

