

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifiques**



**Université M'HAMED BOUGARA BOUMERDES**

**Faculté des sciences**

**Département de biologie**

**Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme master 2**

**Spécialité : biochimie appliquée**

**Thème**

**Etude du microbiota respiratoire chez les patients  
asthmatiques**

**Présenté et réalisé par:**

**M<sup>elle</sup> SAOUD Keltoum M<sup>elle</sup> DAHMOUN Selma**

**Soutenu le 9 juillet 2019 devant les membres de jury :**

**Présidente: HAROUZ H. MCB UMBB**

**Promoteur: Dr SOUAMI K. Maître assistant en biologie clinique.**

**Co-promoteur: Dr AMRAOUI R. Médecin assistante en microbiologie.**

**Examinatrice: Pr TAGHIT S. Professeur pneumo-physiologie.**

**Année universitaire 2018 / 2019**

# *Remerciement*

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Dieu** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience de débiter et d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre promotrice **Dr SOUAMI Kahina** et notre co-promotrice **Dr AMRAOUI Radia**, pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mener au bon port.*

*Que dieu vous protège et vous aide dans la réalisation de vos projet.*

*Nous remercions le directeur, techniciens et simple employés formateurs et l'équipe de laboratoire bactériologie.*

*Nous remercions également Pr **TAGHIT** et tous les services de DAT Mustapha Bacha pour leur aide et leur soutien précieux.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à nos recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions*

*Nous remercions infiniment madame le chef de spécialité Pr **FAZOUAN** pour sa disponibilité, ses conseil et sa presseuse orientation .Nous vous souhaitons une florissant santé et une vie couronné de succès.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.*

*Enfin, un grand merci à nos familles et nos amis qui nous sont soutenu, et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail:*

*A ma très chère mère **BOUDERBA Baya**, Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.*

*A mon très cher père **SAOUD Boualem**, De tous les pères, tu es le meilleur. Tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme. En témoignage de brut d'années de sacrifices, de sollicitudes, d'encouragement et de prières. Pourriez vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et tous de vos efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour. Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur.*

*A mon fiancé **ABDERAHMANE**, Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon amour et mon attachement à toi, Tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie, aux moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes cotés, Je te remercie de ne m'avoir jamais déçu.*

*A mes beaux-frères et sœurs pour leur encouragement et leur soutien, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A tous les membres de ma famille.*

*A mon binôme et ma sœur **SELMA** qui partager avec moi ce magnifique travail. La personne avec qui j'ai passé pleins de bons moments inoubliables pour toujours je t'adore.*

*A mes très chères amies pour leurs aides et supports dans les moments difficiles  
, merci de votre soutien.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

*A toute personne qui m'a aidé de loin ou de près.*

**\*\*SAOUD Keltoum\*\***

# *Dédicaces*

*Louange et Gloire à **Dieu** le tous puissant qui nous a permis de mener bien ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents **DAHMOUN RABIA** et **OSMANI ATIKA**, qui sont le pilier dont je me suis lourdement repose, source de soutient sans répit, vous avez contentes de m encourager et de croire en moi, rien au monde ne vaut vos efforts fournis pour mon éducation et mon bien-être .puisse dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder sante, longue vie et bonheur.*

*A mon cher frère **RIDHA** qui à sacrifie sa vie afin de me faire devenir ce qui je suis aujourd'hui et qui m'appris le sérieux, la résistance et la persévérance et d'atteindre mon rêve.*

*A mes chers sœurs **FADHILA**, **NEDJOUA**, **HAKIMA**, **HANAN** et **HANIA** pour leur encouragement permanant, et leur soutien morale, tout au longue de mon parcours universitaire.*

*A tous les membres de ma famille.*

*A ma cher binôme et copine **KELTOUM** qui a partager avec moi ce magnifique travail, et qui je souhaite tout le bonheur du monde.*

*A mes très chères amies pour leurs aides et supports dans les moments difficiles, merci de votre soutien.*

*A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.*

*A toute personne qui m'a aidé de loin ou de près*

**\*\* DAHMOUN Selma \*\***

## **Tableau des matières**

Liste des abréviations .....	A
Liste des tableaux.....	B
Liste des figures .....	C
Introduction.....	1

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

I.1.Rappels anatomophysiologique des voies respiratoires .....	3
I.1.1.Voies aériennes supérieures (VAS).....	3
I.1.2.Voies aériennes inférieures (VAI).....	4
I.1.2.1.Zone de conduction et transition .....	4
I.1.2.2.Zone respiratoire.....	5
I.2.Mécanismes de défens de l'appareil respiratoire.....	5
I.2.1.Facteurs mécanique.....	5
I.2.2.Facteurs cellulaires.....	6
I.2.3.Facteurs humoraux .....	6
I.2.3.1.Au niveau des branches .....	6
I.2.3.2.Au niveau des alvéoles pulmonaires .....	7
I.3.Définition de l'asthme .....	7
I.4.Epidémiologie .....	8
I.5.Type d'asthme.....	9
I.5.1.Asthme extrinsèque.....	9
I.5.2.Asthme intrinsèque.....	9
I.5.3.Sévérité.....	9
I.6.Les facteurs de risque .....	11
I.7.Diagnostique et symptômes .....	12
I.8.Traitement.....	14
I.9).Microbiota respiratoire et pathologies respiratoires chroniques .....	15

I.9.1. Microbiota respiratoire et asthme.....	15
I.9.2. Différent microbiota pulmonaires.....	16
I.9.2.1. Virus.....	16
I.9.2.2. Champignons.....	16
I.9.2.3. bactéries.....	16
I.9.2.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
I.9.2.3.2. <i>Streptococcus pneumonia</i> .....	18
I.9.2.3.3. <i>Haemophilus influenzae</i> .....	19
I.9.2.3.4. <i>Mycoplasma pneumoniae</i> .....	21
I.9.2.3.5. Les entérobactéries.....	22
➤ Cas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	24
<b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>	
II.1. Matériels.....	26
II.2. Méthodes.....	26
II.2.1. Prélèvement du crachat.....	26
II.2.2. Etude cyto bactériologique du crachat.....	27
II.2.3. La mise en culture.....	29
II.2.4. Identification.....	31
<b>Chapitre III: Résultats et discussion</b>	
III.1. Résultats.....	37
III.1.1. Caractéristiques de la population d'étude.....	37
III.1.2. Répartition des Prélèvements.....	42
III.1.3. Répartition des agents microbiens.....	44
III.2. Discussion.....	51
<b>Conclusion</b> .....	54
<b>Référence bibliographique</b> .....	55
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

## A

<b>%:</b>	Pourcentage
<b>AAG:</b>	Asthme Aigu Grave
<b>ADH:</b>	Arginine Dihydrolase
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AG :</b>	Asthme Aiguë
<b>API20E:</b>	Galerie API20E
<b>ARN:</b>	Acide ribonucléique
<b>BCP:</b>	Bromo Crysol Pourpre
<b>BGN:</b>	Bacille Gram Négative
<b>BGT :</b>	Bouillon Glucosé Tamonné
<b>BPCO:</b>	Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive
<b>CDA:</b>	Courte Durée d'Action
<b>CIT:</b>	Citrat
<b>CF :</b>	Cystic fibrosis
<b>CV:</b>	Capacité vitale
<b>DALYs:</b>	Disability-Adjusted Life of Years
<b>DEP:</b>	Débit Expiratoire de Pointe
<b>E.coli:</b>	Escherichia coli
<b>ECBC:</b>	Examen Cyto-Bactériologie de Crachat
<b>ECRHS</b>	Européen Community Respiratory Health Survey
<b>EFR:</b>	Explorations Fonctionnelles Respiratoires
<b>EPH:</b>	Établissement Public Hospitalier
<b>EPH:</b>	Établissement Publique Hospitalier
<b>GC:</b>	Glucocorticoïde
<b>GINA:</b>	Global Initiative for Asthma
<b>GN:</b>	Gélose Nutritive
<b>GSC:</b>	Gélose Sang Cuit
<b>GSF:</b>	Gélose Sang Frais
<b>H2O2:</b>	Peroxyde d'oxygène
<b>HK:</b>	Hektoen
<b>IgA:</b>	Immunoglobuline A
<b>IgE :</b>	Immunoglobuline E
<b>IgG:</b>	Immunoglobuline G
<b>ISAAC:</b>	International Study of Asthma and Allergies in Childhood
<b>LABA:</b>	Long Acting Beta 2 Agoniste
<b>LDC:</b>	Lysine décarboxylase
<b>M</b>	
<b>. pneumoniae:</b>	Mycoplasma pneumoniae
<b>MO :</b>	Microorganisme
<b>O2:</b>	Oxygène
<b>ODC:</b>	Ornithine décarboxylase
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé

<b>ORL:</b>	Oto-Rhino-Laryngologique
<b>PCR:</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PN:</b>	Polynucléaire
<b>RGO:</b>	Reflux Gastro-Oesiphagien
<b>R:</b>	Réserve
<b>S.aureus :</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>SABA:</b>	Shorte Acting Beta2 Agoniste
<b>SCN :</b>	<i>Staphylococcus</i> coagulase négative
<b>TDA:</b>	Tryptophane Désaminase
<b>TVO:</b>	Trouble Ventilatoire Obstructif
<b>URÉ:</b>	Urée
<b>VA:</b>	Voie Aérienne
<b>VAI:</b>	Voies Aériennes Inférieures
<b>VAS :</b>	Voies Aériennes Supérieures
<b>VEMS:</b>	Volume Expiration Maximal par Seconde
<b>VPI:</b>	Sodium Pyruvate I
<b>VPII:</b>	Sodium Pyruvate II
<b>VR:</b>	Voie Respiratoire
<b>VRS:</b>	Virus Respiratoire Syncitial



## Liste des tableaux

**B**

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau n° 1</b>	L'évolution de la sévérité de l'asthme	10
<b>Tableau n° 2</b>	Genres de la famille ENTEROBACTERIACEAE	22
<b>Tableau n° 3</b>	Orientation rapide de l'identification des ENTEROBACTER	23
<b>Tableau n° 4</b>	Principaux caractères biochimiques des espèces appartenant à la famille des entérobactéries rencontrés dans les IRA	25
<b>Tableau n° 5</b>	Critères de classification et de sélection des crachats	29
<b>Tableau n° I</b>	Répartition des patients selon le sexe	37
<b>Tableau n° II</b>	Répartition des patients par tranche d'âge	38
<b>Tableau n° III</b>	Répartition des patients selon le sexe et tranche d'âge	39
<b>Tableau n° IV</b>	Répartition des patients selon le l'évolution de la sévérité d'asthme	40
<b>Tableau n° V</b>	Répartition des patients selon le l'évolution de la sévérité d'asthme et le sexe	41
<b>Tableau n° VII</b>	Répartition des prélèvements selon leur conformité	42
<b>Tableau n° VIII</b>	Répartition de la conformité des prélèvements selon le sexe	43
<b>Tableau n° IX</b>	Répartition des germes selon le Gram	44
<b>Tableau n° X</b>	Répartition des germes par genre	45
<b>Tableau n° XI</b>	Répartition des genres selon le sexe	46
<b>Tableau n° XII</b>	Répartition des genres en fonction de tranche d'âge	47
<b>Tableau n° XIII</b>	Répartition des germes par espèce	48
<b>Tableau n° XIV</b>	Répartition des espèces selon le sexe	49
<b>Tableau n° XIV</b>	Répartition des espèces selon la tranche d'âge	50

# Liste des figures

# C

Figures	Titre	Page
<b>Figure n° 1</b>	Schéma du système respiratoire humain	3
<b>Figure n° 2</b>	Anatomie des poumons	5
<b>Figure n° 3</b>	Comparaison entre une bronche normale et une bronche de patient asthmatique	7
<b>Figure n° 4</b>	Cedème inflammatoire de la muqueuse bronchique.	7
<b>Figure n° 5</b>	Apport du DEP dans le suivi de l'asthme.	13
<b>Figure n° 6</b>	Aspect macroscopique des crachats	27
<b>Figure n° 7</b>	Les étapes de coloration de bleu de méthyle	28
<b>Figure n° 8</b>	Préparation des milieux de cultures	29
<b>Figure n° 9</b>	L'ensemencement	30
<b>Figure n° 10</b>	Les résultats de la culture obtenus	31
<b>Figure n° 11</b>	Les étapes de la coloration au gram	32
<b>Figure n° 12</b>	Les étapes de la coloration au gram et le lecteur des lames colorées sous le microscope	33
<b>Figure n° 13</b>	Test de la catalase	34
<b>Figure n° 14</b>	Les étapes de faire l'Api 20 E	35
<b>Figure n° 15</b>	Test Coagulase	36
<b>Figure n° I</b>	Répartition des patients selon le sexe	37
<b>Figure n° II</b>	Répartition des patients par tranche d'âge	38
<b>Figure n° III</b>	Répartition des patients selon le sexe et tranche d'âge	39
<b>Figure n° IV</b>	Répartition des patients selon l'évolution de la sévérité d'asthme	40

<b>Figure n° V</b>	Répartition des patients selon l'évolution de la sévérité d'asthme et le sexe	41
<b>Figure n° VI</b>	Répartition des prélèvements selon le service d'origine	42
<b>Figure n° VII</b>	Répartition des prélèvements selon leur conformité	42
<b>Figure n° VIII</b>	Répartition de la conformité des prélèvements selon le sexe	43
<b>Figure n° IX</b>	Répartition des germes selon le Gram	44
<b>Figure n° X</b>	Répartition des germes par genre	45
<b>Figure n° XI</b>	Répartition des genres selon le sexe	46
<b>Figure n° XII</b>	Répartition des genres en fonction de tranche d'âge	57
<b>Figure n° XIII</b>	Répartition des germes par espèce	58
<b>Figure n° XIV</b>	Répartition de l'espèce selon le sexe	59



# Introduction

## Introduction

---

### Introduction:

Chez l'homme, chaque population de microbes formant en quelque sorte une communauté qui s'appelle microbiota humain, autre fois dénommée « flore bactérienne », et l'ensemble des gènes que possèdent ces microbes est intitulé le microbiome .Ces microbes formant le « microbiome humain » vivent à la surface et dans les profondeurs de nombreuses parties de notre corps. On estime que le nombre de cellules microbiennes dépasse celui des cellules hôtes par un facteur d'au moins 10 et qu'elles codent environ 100 fois plus d'information génétique que le génome (**Dusko Ehrlich S, Doré;2014**).

Jusqu'à récemment, les voies aériennes inférieures considérées comme stériles (**Andrejak C, Delhaes L;2015**). Mais Avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire et de séquençage à haut débit, trois notions sont apparues à la fin du XXe siècle : le microbiote, le microbiome et le métagénome. Microbiote représente l'ensemble des organismes microbiens dans un environnement défini, tel que l'appareil respiratoire. Le microbiome est l'ensemble des organismes microscopiques, virus et les bactéries compris, dans un environnement défini avec lequel ils interagissent (**Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, et al ; 2016**). Enfin, le métagénome définit la totalité du génome (ADN, ARN, et transcrits) de tous les organismes au sein d'une communauté microbienne dans un environnement défini. Les connaissances sur les virus, les champignons, les bactéries étant encore limitées, nous parlerons essentiellement de microbiote. Certaines espèces précédemment considérées comme exclusivement pathogènes sont identifiées dans la flore cutanée, intestinale ou pulmonaire de patients sains. La notion de mutualisme entre l'hôte et la flore devient la règle et seul un très faible échantillon d'espèces peut être réellement considéré comme exclusivement pathogène (**Martinez FD;2014**), (**Cho I, Blaser MJ;2012**). La genèse du microbiota respiratoire est étudiée de la naissance à l'âge l'adulte ainsi que son interaction avec l'environnement normal ou pathologique (**Kostic AD, Howitt MR, Garrett WS;2013**).

La méconnaissance du microbiote des VAI est également due, pour partie, à l'utilisation pendant longtemps de méthodes de cultures bactériennes (**Michon AL, Marchandin H;2015**). Durant la dernière décennie, notre connaissance de la diversité bactérienne du tractus respiratoire a évolué non seulement grâce au développement de diverses méthodes d'étude indépendantes de la culture mais aussi de méthodes basées sur la culture des microorganismes en conditions optimisées (**Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, et al;2011**) (**Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK, et al;2011**).

## Introduction

---

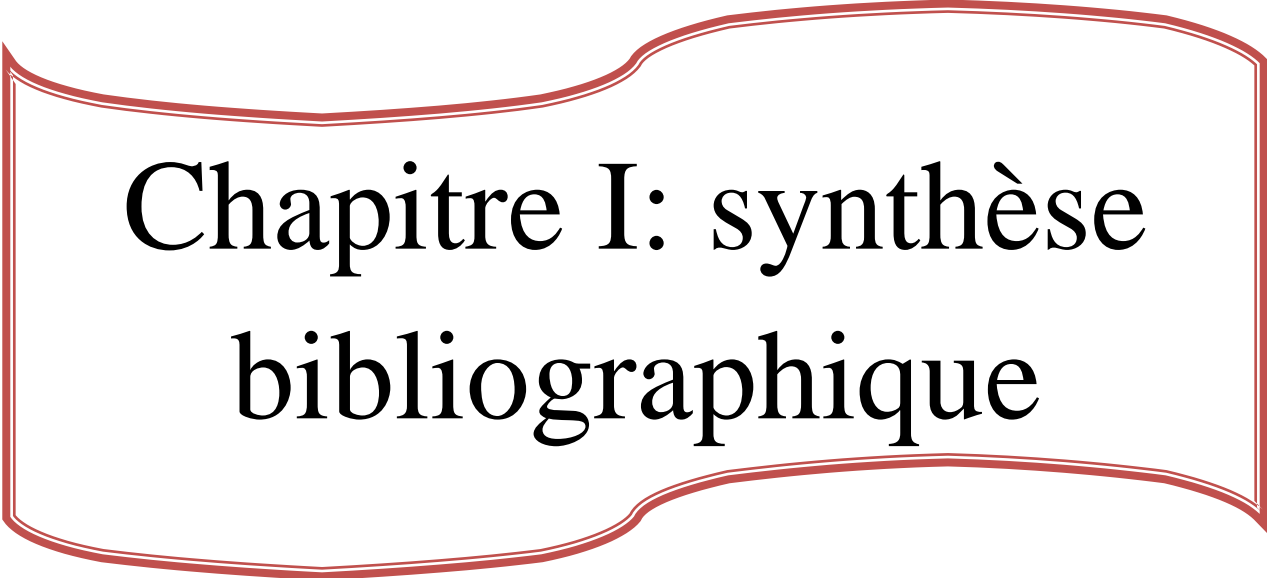
De multiples questions restent néanmoins en suspens, notamment en ce qui concerne le rôle de ce microbiome, ses interactions avec l'hôte, mais aussi avec les pathogènes de l'environnement. Même si les données sont encore limitées, des liens ont déjà été démontrés entre ce microbiome et de nombreuses pathologies respiratoires chroniques (asthme, broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) ou mucoviscidose) (**Andrejak C, Delhaes L ; 2015**).

L'asthme est une maladie chronique de l'appareil respiratoire fréquente avec une prévalence variable d'un pays à l'autre et une tendance globale à l'augmentation. Environ 300 millions de personnes dans le monde souffrent d'asthme, la prévalence d'asthme semble être en augmentation en particulier chez les enfants. Au niveau mondial, on enregistre plus de 180 000 décès par an dus à cette affection (**Baroudi M, Janssens J-P; 2013**).

En Algérie, les infections pulmonaires sont classée parmi les infections les plus fréquentes après les infections urinaires et les infections des sites opératoires (**Amazian et al;2010**).

### **L'objectif de ce travail:**

-Identification et caractérisation des microbiota pulmonaire présents dans Les expectorations chez les patients asthmatiques.



# Chapitre I: synthèse bibliographique

## I.1. Rappels anatomophysiologiques des voies respiratoires :

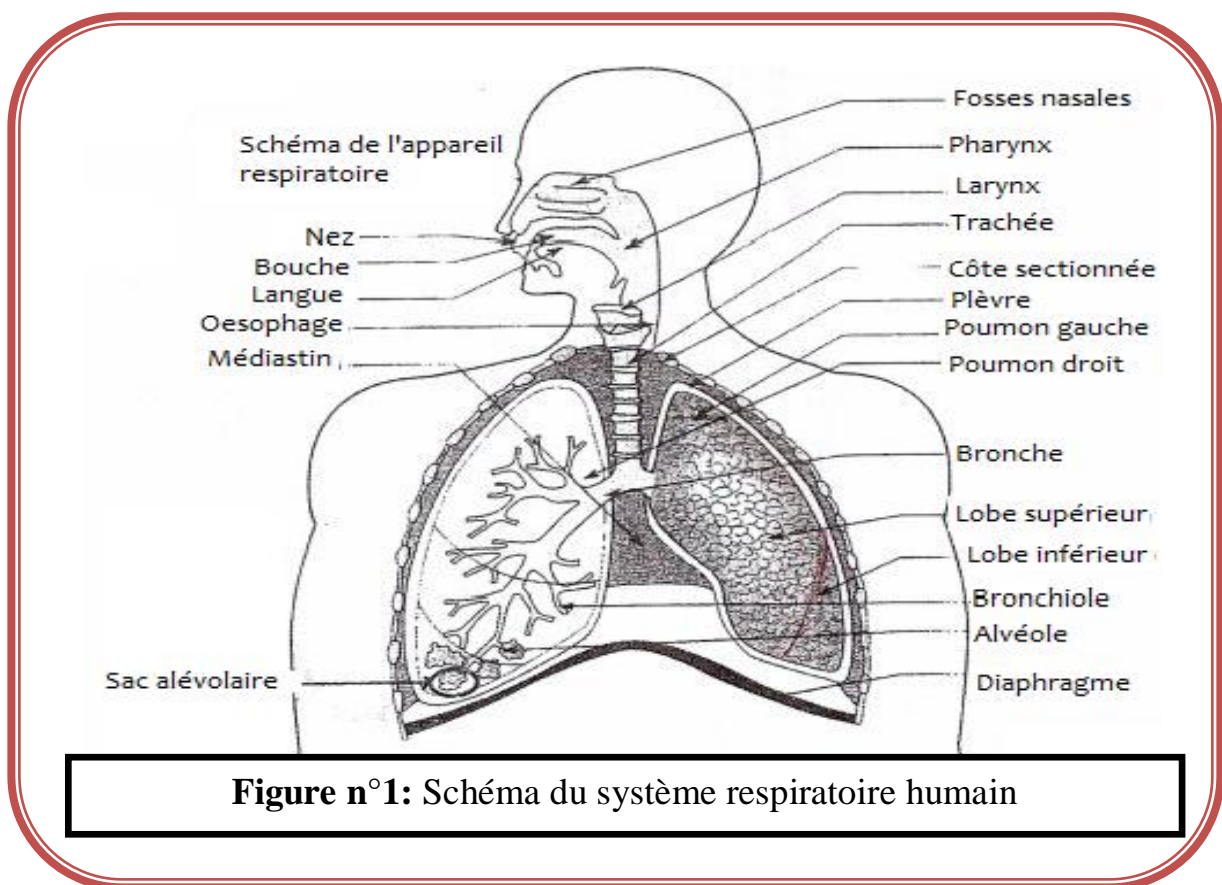
Pour comprendre comment les mouvements respiratoires aboutissent à la contamination bactérienne des voies respiratoires, il convient de rappeler d'abord quelques particularités anatomiques (Marchal G;1994).

Les voies respiratoires 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 (Sanogo B;2010).

Elles sont classées en :

### I.1.1. Voies aériennes supérieures (VAS) qui sont extra thoracique:

- ✚ Nez et fosses nasales.
- ✚ Bouch (Sanogo B;2010).
- ✚ Pharynx (carrefour aérodigestif) (SYLLA M; 1998).
- ✚ Larynx (gorge, est un tube court qui relie le pharynx à la trachée. La paroi du larynx est constituée essentiellement par du cartilage ) (Sanogo B;2010).





**I.1.2. Voies aériennes inférieures (VAI) qui sont intra thoraciques:**

Située au dessous du larynx et réparties en 2 zones :

**I.1.2.1. Zone de conduction et transition:**

- ✚ Voies extra pulmonaires : trachée
- ✚ Voies intra pulmonaires : bronches

**a)- La trachée :** C'est un conduit cartilagineux fait de plusieurs anneaux cartilagineux incomplets en fer à cheval séparés par des dépressions (tissu fibroélastique) et se termine en bas par la bifurcation trachéale donnant naissance aux deux bronches souches (droite et gauche). Elle est située à la hauteur de la sixième vertèbre cervicale et la quatrième vertèbre dorsale en avant de l'œsophage, comportant ainsi une partie cervicale et une partie thoracique.

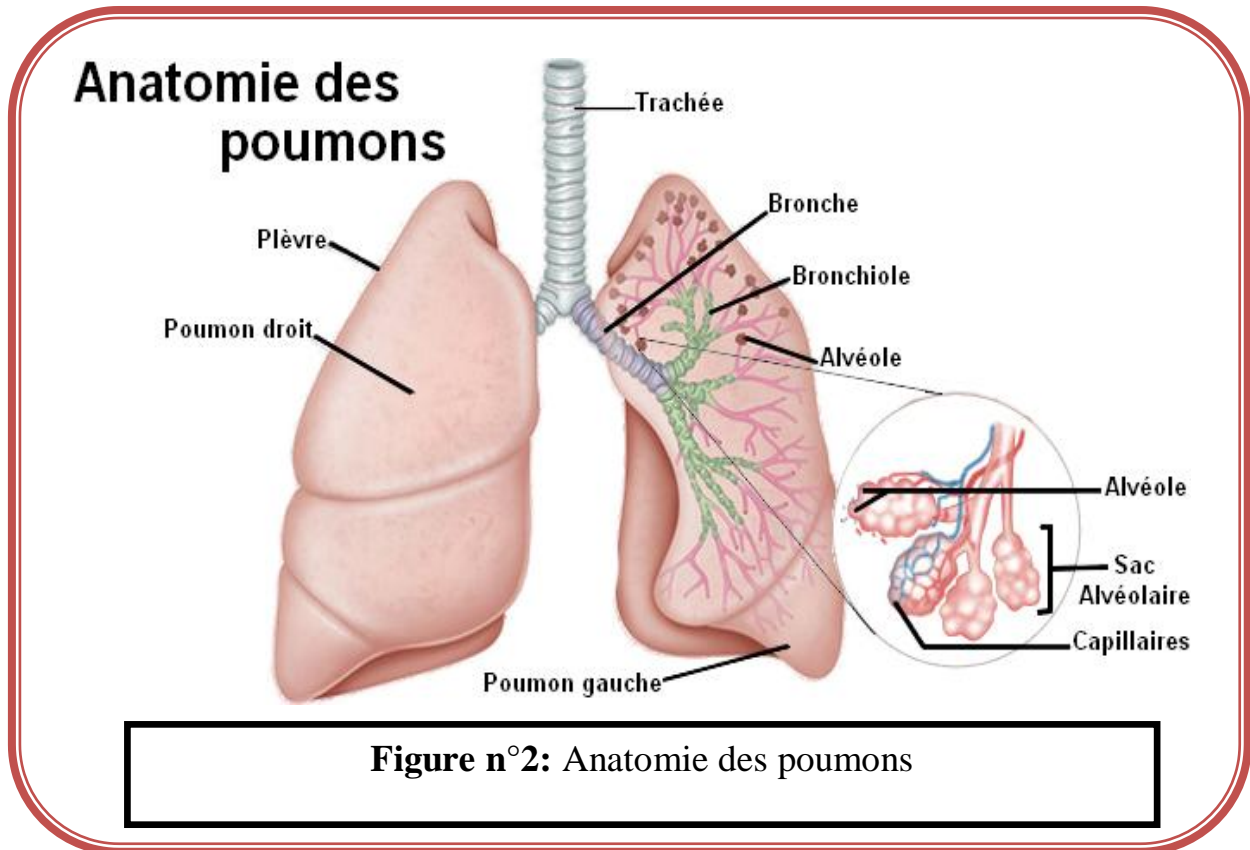
**b)- L'arbre bronchique :** C'est un composé de divisions successives asymétriques à partir de la bifurcation trachéale c'est-à-dire fait de haut en bas de bronches souches, de bronches lobaires, de bronches segmentaires, de bronches sub-segmentaires, de bronchioles, de bronchioles terminales, de bronchioles respiratoires, de conduits alvéolaires et d'alvéoles pulmonaires. Les alvéoles pulmonaires sont le lieu des échanges gazeux .

**c)- Les poumons :** sont des organes pairs et asymétriques. Contenus chacun dans une cavité pleurale, ils occupent latéralement la cage thoracique on à : Poumon droit et poumon gauche. Le poumon droit est divisé anatomiquement en trois lobes : le lobe supérieur, le lobe moyen, et le lobe inférieur et Le poumon gauche est divisé en 2 (deux) lobes : le lobe supérieur et le lobe inférieur (**Sanogo B;2010**).

**d)- La plèvre :** Le poumon est enveloppé dans une séreuse appelée plèvre constituée de deux feuillets entre lesquels se trouve l'espace pleural. La plèvre viscérale recouvre la face externe du poumon et des grosses bronches et la plèvre pariétale la face interne de la cage thoracique et le médiastin. Un épanchement liquidien dans la cavité pleurale définit une pleurésie, un épanchement sanguin un hémithorax et un épanchement aérien un pneumothorax (**CHAFFANJON P;2008**).

### I.1.2.2. Zone respiratoire:

- + sac alvéolaires
- + alvéoles pulmonaires



### I.2. Mécanismes de défense de l'appareil respiratoire:

Il existe de nombreux mécanismes dont la fonction est de chasser les MO qui tentent d'envahir les VAI, Parmi ces mécanismes on distingue des facteurs:

- + Mécaniques
- + Cellulaires
- + Humoraux

#### I.2.1.Facteurs mécaniques :

Parmi des facteurs qui freinent la progression des particules étrangères ; il y a :

- + -Des poils courts et épais appelés vibrisses présent dans les narines.
- + -L' escalator mucociliaire : mucus+cils vibratoires.

- ✚ -Des phénomènes comme la toux ; l'éternuement.

Cependant l'efficacité de ces facteurs dépend de la taille des particules inhalées effectivement ils freinent voire arrêtent les particules inférieures à 5 µm pénètrent en profondeur jusqu'aux alvéoles pulmonaires.

### **I.2.1.1.Fonctionnement de l'escalator mucociliaire:**

Le mucus piège les particules inhalées, puis le battement des cils vibratiles des cellules ciliées fait remonter le mucus jusqu'au pharynx; le sujet élimine ensuite le mucus en expectorant ou en l'ingérant par contre, la fonction de ce tapis roulant ou escalator mucociliaire est déficiente chez les grands fumeurs. (Bronchite chronique)

### **I.2.2.Facteurs cellulaires:**

Les macrophages alvéolaires phagocytent les microorganismes atteignant les alvéoles, d'autant plus s'ils sont opsonisés.

En outre, la présence de microorganisme ou l'agression des tissus déclenche une réaction inflammatoire se traduit par un afflux de granulocytes neutrophiles.

### **I.2.3.Les facteurs humoraux :**

#### **I.2.3.1.Au niveau des branches:**

- ✚ Les Immunoglobulines A (IgA) sécrétées empêchent l'adhésion des microorganismes.
- ✚ Lysozyme, sécrété par les granulocytes neutrophiles présente un pouvoir bactéricide en hydrolysant le peptidoglycane des bactéries gram négatif.
- ✚ La lactoferrine, également sécrétée par granulocytes neutrophiles, présente une activité antimicrobienne en partie liée à sa capacité à capter le fer et donc à priver les microorganismes d'un élément indispensable à leur croissance.
- ✚ L'hypothiocyanite (OSCN): est une molécule à large spectre, antimicrobienne, il est le produit d'une réaction entre peroxyde d'hydrogène et le thiocyanate catalysée par une peroxydase.

### I.2.3.2. Au niveau des alvéoles pulmonaires:

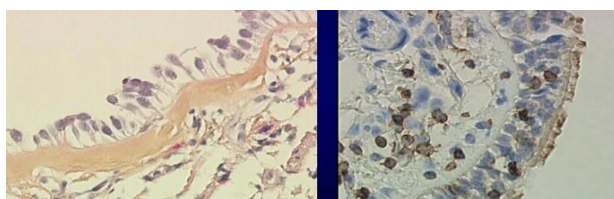
- ✚ Les immunoglobulines G (IgG) : elles agglutinent et opsonisent les microorganismes identifiés immunologiquement.
- ✚ Lysozyme: sécrété par les macrophages.
- ✚ Le surfactant sécrété par les pneumocytes 2 opsonisation des bactéries.
- ✚ La lactoferrine.
- ✚ Les macrophages alvéolaires phagocytent les fines particules atteignant les alvéoles, ensuite, ils gagnent la circulation lymphatique ou sont entraînés par l'air puis sont évacués, englués dans le mucus (Fraperie P, Lasserre M ; 2013).

### I.3. Définition de l'Asthme :

Est une maladie chronique caractérisée par une hyper-réactivité de l'arbre bronchique à divers stimuli, conduisant à une inflammation chronique des voies aériennes inférieures, avec notamment une réponse anormale des muscles lisses respiratoires conduisant au bronchospasme (Baroudi M, Janssens J-p ; 2013). La crise d'asthme, épisode de gêne respiratoire sifflante, constitue la manifestation clinique la plus typique de la maladie (Delmas MC, Guignon N, Leynaert B, Annesi-Maesano I, Com-Ruelle L, Gonzalez L, Fuhrman C; 2012).



**Figure n° 3 :** Comparaison entre une bronche normale et une bronche de patient asthmatique



**Figure n°4 :** Oedème inflammatoire de la muqueuse bronchique.

### I.4.Épidémiologie :

Selon les statistiques nationales et mondiales sur la santé, l'asthme a atteint des proportions d'épidémie. Les données épidémiologiques les plus récentes révèlent en effet que 300 millions de personnes dans le monde souffrent d'asthme, soit une prévalence variant de 2 % à 9 % ; le fardeau mondial augmentera vraisemblablement de 100 millions de cas d'ici à 2025 (**Masoli M, Fabian D, Holt S et al ; 2004**).

La comparaison des données de la littérature sur l'asthme est très difficile. Des différences vraies existent entre les différentes populations étudiées. Néanmoins ces différences semblent exagérées par plusieurs facteurs : la diversité des définitions épidémiologiques de l'asthme, les contraintes linguistiques des populations étudiées et la variabilité des techniques des enquêtes mises en œuvre (**Bouayad Z, Afif H ; 1998**). Parmi les nombreuses études épidémiologiques consacrées à l'asthme, peu ont été fondées sur une méthodologie rigoureuse, standardisée, permettant des comparaisons dans les différents pays du monde. Cependant, les résultats de l'études : chez l'adulte (étude ECRHS, European Community Respiratory Health Survey (**EurRespir J 1996, Nejmi H, Ejlaidi A, Fath K, Hasni K, Nour-Idrissi k, Laghla B ; 2010**)). répondent depuis dix ans à ces critères. Ainsi, la prévalence actuelle des symptômes d'asthme, réalisée chez des adultes de 20-44 ans, on observe, comme dans l'étude ISAAC, des pays qui possèdent une prévalence très élevée, comme l'Angleterre (7,5 à 8,4 %), la Nouvelle-Zélande (9 à 11,3 %), l'Australie (11,9 %), et des pays qui ont une prévalence très basse comme l'Islande (3,4 %) et la Grèce (2,9 %). En plus de cette variabilité sur le plan mondial, il existe aussi une très grande variabilité à l'intérieur même de certains pays. Un gradient Est-Ouest (avec des prévalences plus basses à l'Est) et un gradient Nord-Sud (avec des prévalences plus basses au Sud) sont retrouvés dans les deux études (**EurRespir J ; 1996, Lancet ; 1998**).

Au Maroc, la prévalence se situe entre 5 et 20 % de la population générale. La prévalence de l'asthme en Algérie oscille entre 4 et 6 % pour les sujets adultes. La prévalence de l'asthme en Tunisie est entre 3 et 10 % de la population générale (**Bouayad Z, Afif H ; 1998**).

La prévalence des crises aiguës graves est surtout évaluée indirectement par le taux d'hospitalisation ou de décès par asthme. La mortalité varie entre 1 et 5/100 000 habitants et atteint 2 000 cas par an en France. Elle est estimée à 5 000 cas par an en Algérie (**Mahouachi R, Fennira H, Benkheder A ;1998** ).

L'asthme aigue grave (AAG) représente 25-35 % des crises d'asthme se présentant aux urgences (**Zahhaf A ; 2011**). Chez 10 % des patients asthmatiques la maladie reste symptomatique malgré un traitement avec fortes doses des corticostéroïdes inhalés (**Wibart P;2007**).

### **I.5.Types d'asthme :**

On distingue communément deux types d'asthme : l'asthme extrinsèque (atopique) ou Intrinsèque (non atopique).

#### **I.5.1.Asthme extrinsèque : (atopique)**

80% des asthmatiques âgés de 15 à 45 ans ont un asthme allergique. Allergènes Les plus fréquemment impliqués : pollens, acariens, moisissures et squames d'animaux.





#### **I.5.2.Asthme intrinsèque : (non atopique)**

Défini par l'absence de tests cutanés positifs et d'immunoglobuline (IgE ) sériques spécifiques pour des aéro-allergènes. Survenue généralement plus tardive et évolution plus grave que celles de l'asthme atopique : 88% des asthmatiques de plus de 60 ans ont un asthme intrinsèque. Fréquente association avec une sinusite chronique et une polypose nasale (**Baroudi M, Janssens J-P;2013**).

#### **I.5.3.Sévérité:**

La sévérité de l'asthme reflète l'intensité de l'inflammation des voies aériennes, Elle a été divisée en 4 stades par le Global Initiative for Asthme (GINA) en 1998. Elle guide et détermine la thérapeutique de fond de l'asthme. Cette classification ne débouche pas sur une prise en charge particulière selon le stade en dehors de l'asthme sévère pour lequel des traitements spécifiques peuvent être proposés (**Baroudi M, Janssens J-P;2013**).

On distingue :

-  Asthme intermittent léger
-  Asthme persistant léger
-  Asthme persistant modéré
-  Asthme persistant sévère

Stade	Symptômes	Symptômes nocturnes	Test pulmonaire(DEP)	Traitement
<b>(1) Asthme intermittent</b>	<1×/sem Pas de limitation Exacerbations brèves Asymptomatique et DEP normale entre les crises	<2×/mois	VEMS ou DEP >80% prédit <20% variable	SABA en R voir en préventif si exposition (exercice)
<b>(2) Asthme persistant léger</b>	>1×/semaine et <1×/jour Limitation décrite de 1 activité et du sommeil	>2×/mois et <1×/semaine	VEMS ou DEP >80% prédit Variable <20-30%	GCI inhalés à petites doses SABA en R alternative non approuvée
<b>(3) Asthme persistant modéré</b>	1×/jour Limitation modérée de l'activité et du sommeil quotidiens Utilisation quotidiens des 2 agoniste CDA Activités normales perturbées par les crises	>1×/semaine et <1×/jour	VEMS ou DEP 60-80% prédit Variabilité >30%	GC/CABA inhalés à petites ou moyenne Dose ± corticoïde PO 0.5mg/kg 1-2 semaine pendant exacerbation SABA en R Anti-leucotrienes et /ou théophylline en tout d'appoint
<b>(4) Asthme persistant sévère</b>	Symptômes présent tout la journée Exacerbation fréquente Limitation marquée	1×/jour	VEMS ou DEP <60% prédit Variabilité >30%	GC/LABA inhalés hautes doses ± corticoïdes po 0.5mg/kg 2-3sem pendant exacerbations -SABA en R -Anti-leucotrienes et/ou théophylline en tout d'appoint -Omalizumab

Tableau n°1 :L'évolution de la sévérité de l'asthme (classification GINA) (GINA 2013)



La présence d'un critère de gravité suffit à placer un patient dans une catégorie de gravité, et quel que soit le stade de gravité, des exacerbations sont toujours possibles

Un patient peut évoluer au sein de cette classification et doit être réévalué / 3-6 mois.

### **I.6.Facteurs de risque :**

L'asthme est un syndrome multifactoriel ou des facteurs favorisant spécifiques et autres non-spécifiques (**Michel FB; 1981**).

- **Age:** L'asthme peut survenir à tout âge, mais 70% des diagnostics sont posés avant l'âge de 7 ans (**Baroudi M, Janssens J-P; 2013**).

-**L'obésité :** association épidémiologique entre obésité et asthme. L'obésité est également associée à un asthme plus sévère et plus difficile à traiter. Une perte pondérale permet souvent une amélioration du contrôle de l'asthme (**Baroudi M, Janssens J-P;2013**).

-**L'exposition répétée à des allergènes :** peut faire apparaître l'asthme chez un individu non asthmatique. Certaines infections virales (rhinovirus, Virus Respiratoire Syncytial (VRS)) et bactériennes (mycoplasma pneumoniae, chlamydia pneumoniae) peuvent également favoriser l'apparition de l'asthme (**Lougheed M D, Lemiere C, Ducharme F, et coll;2012**).

-**Prise médicamenteuse:** La recherche d'une intolérance à l'aspirine et aux AINS doit être systématique. La prise d'autres médicaments broncho-constricteurs doit être recherchée (béta-bloquants, inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine).peuvent provoquer un bronchospasme chez certains asthmatiques (**Lougheed MD, Lemiere C, Ducharme F, et coll ; 2012**).

- **Certaines maladies :**

- ✓ **Oto-Rhino-Laryngologique (ORL):** notamment les rhino-sinusites infectieuses sont susceptibles d'aggraver un asthme.
- ✓ **Reflux Gastro-Oesophagien (RGO ):** il est 3 fois plus fréquent chez l'asthmatique que dans la population générale, surtout chez les asthmatiques sévères.

-**Des facteurs génétiques et hormonaux** (puberté, ménopause, grossesse, menstruations). (**Michel FB; 1981**)

-**Exercices physiques.**



-Tabagisme (Lougheed MD, Lemiere C, Ducharme F, et coll ; 2012).

### **I.7.Diagnostic et symptômes de l'asthme:**

Le diagnostic de l'asthme est porté sur la présence des signes cliniques ainsi que sur la mesure des paramètres fonctionnels respiratoires (Débit expiratoire de pointe (DEP), Volume Expiration Maximal par Seconde (VEMS), mesure de la courbe débit-volume) (**Jeunang A ; 2016**).

#### **I.7.1.Diagnostic clinique:**

Le diagnostic clinique d'asthme est suggéré par des symptômes tels que les épisodes de gêne respiratoire avec sifflements récurrents, une toux à prédominance nocturne, une sensation d'oppression thoracique (**Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, et al;2008**) .Production chronique de crachats ,Essoufflement associé à des vertiges, des paresthésies, Douleur de poitrine ,Dyspnée induite par exercice et inspiration bruyante, Toux isolée sans symptômes respiratoires (**Gina report 2015**).Ceci est 18 d'autant plus vrai si cela survient après une exposition à un allergène, si les symptômes varient avec les saisons ou s'il existe une histoire familiale d'atopie (**Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, Fitz Gerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, et al;2008**) (**O'Byrne PM;2010**).

Le diagnostic d'asthme peut être évoqué devant une symptomatologie typique, il est néanmoins nécessaire de conforter le diagnostic clinique par des examens complémentaires (**Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, et al;2008**).

#### **I.7.2. Diagnostic fonctionnel:**

**L'Exploration Fonctionnelle Respiratoire (EFR) :** est l'examen clé dans le diagnostic et l'appréciation de la sévérité de l'asthme (**Jeunang A ; 2016**).

Les Explorations Fonctionnelles Respiratoires (EFR) montrent :

- ✚ un trouble ventilatoire obstructif (TVO) c'est-à-dire un rapport de Tiffeneau (VEMS/CV) < 0,75-0,8 ou un rapport inférieur à la limite inférieure de la normale (**Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, Coates A, van der Grinten CP, Gustafsson P, Hankinson J, et al;2005**).

- ✚ ce TVO est réversible après administration de bêta-2 mimétiques de courte durée d'action, c'est-à-dire qu'on observe une augmentation de 12% ou de 200 ml du VEMS (Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, Coates A, van der Grinten CP, Gustafsson P, Hankinson J, et al;2005).
- ✚ La recherche d'une hyperréactivité bronchique par un test à la méthacholine doit être réalisée si le patient présente des symptômes d'asthme sans TVO retrouvé aux EFR.(Busse WW; 2012).

**La radiographie du thorax :** est indispensable lors de la première consultation de l'asthmatique car elle permet d'éliminer les diagnostics différentiels. Elle est également indiquée lors d'une exacerbation grave ou quand on suspecte une complication .

**DEP :** Elle est utilisée quand il existe un doute sur le diagnostique de l'asthme (présentation atypique) ou lorsque la spirométrie ne peut être réalisée, ou encore quand elle est normale au moment de la consultation chez le médecin. Elle met en évidence l'existence d'une obstruction bronchique en comparant la valeur obtenue aux valeurs théoriques attendues chez le patient. Elle peut être prise en ambulatoire, tous les matins, tous les soirs, avant l'inhalation d'un médicament, ou après une crise d'exacerbation. L'une des caractéristiques d'un asthme non traité ou non contrôlé est la grande variabilité qui se traduit par une différence de plus de 20% entre les valeurs matinales et nocturne (Jeunang A ; 2016).

<b>DEP 80 - 100 % Normale = Zone verte</b>	<b>—————&gt; Pas de changement thérapeutique</b>
<b>DEP 50 - 80 % Normale = Zone orange</b>	<b>—————&gt; Attention : traitement de la crise</b>
<b>DEP &lt; 50 % Normale = Zone rouge</b>	<b>—————&gt; Se diriger vers l'hôpital</b>

**Figure n° 5 :** Apport du DEP dans le suivi de l'asthme.

---

## I.8. le traitement pharmacologique est fonction de la gravité de la maladie:

### I.8.1. Le traitement de fond :

- ✚ Les béta-2 agonistes inhalés d'action courte (salbutamol, Ventoline) sont à prendre à la demande pour contrôler des symptômes aigus, quel que soit la gravité de l'asthme.
- ✚ L'asthme intermittent (stade 1), aucun traitement de fond n'est justifié.
- ✚ L'asthme persistant léger (stade 2) requiert un traitement de fond, soit par corticoïdes inhalés (dipropionate de béclométhasone, Qvar; budésonide, Pulmicort; fluticasone, Flixotide ; 200-500 mcg/jour), soit par théophylline à libération prolongée (Euphylline LP). L'utilisation des anti-leucotriènes (montélukast, Singulair) semble intéressante.
- ✚ L'asthme persistant modéré (stade 3), les corticoïdes inhalés sont utilisés à posologie supérieure (500-800 mcg/j), associés à des béta-2 sympathomimétiques à durée d'action prolongée (salmétérol, Sérévent; formotérol, Foradil; bambutérol, Oxéol; salmétérol et fluticasone, Sérétide; formotérol et budésonide, Symbicort). Les anti-leucotriènes peuvent être associés aux corticoïdes.
- ✚ L'asthme persistant sévère (stade 4). Posologies supérieures de corticoïdes inhalés (800-2000 mcg/jour), des béta-2 sympathomimétiques, éventuellement associés à de la théophylline LP. Une corticothérapie orale (prednisone, Cortancyl; prednisolone, Solupred ; méthylprednisolone, Médrol), est prescrite au long cours et à la posologie minimale efficace (**Bousquet J, Demoly P, Godard P;2001**).

### I.8.2. Le traitement d'une exacerbation dépend de sa gravité :

- ✚ A domicile, elle débute par une évaluation clinique, une mesure des DEP, une oxygénothérapie (6-8 l/min), des béta-2 agonistes (nébulisation ou aérosol-doseur, 6-8 bouffées) et des corticoïdes per os (prednisolone, Solupred, 1 mg/Kg/jour). En cas d'amélioration franche, un traitement ambulatoire est suffisant (prednisone 1 mg/Kg/jour pendant 10 jours, majoration du traitement de fond et consultation pneumologique sous 8-10 jours).
- ✚ En l'absence d'amélioration ou en présence d'une aggravation secondaire, l'hospitalisation est requise, assurée par transport médicalisé. La structure d'accueil hospitalière dépend de la gravité clinique.
- ✚ En réanimation, l'administration d'un mélange oxygène-hélium (Héliox), diminue les résistances bronchiques à l'écoulement des gaz, facilite le travail respiratoire et peut

parfois permettre d'éviter l'intubation. La ventilation assistée, de type hypoventilation contrôlée, sous sédation et/ou curarisation, est difficile, associée à de nombreuses complications et à une mortalité importante (10-25%). Les béta-2 agonistes sont administrés par voie intra-veineuse (salbutamol 0,1-0,2 mcg/Kg/min, en augmentant en cas d'échec, par palier toutes les 15 minutes, jusqu'à une dose plateau de 1 mcg/Kg/min), ainsi que les corticoïdes (méthylprednisolone, Solumédrol, 1 mg/Kg/j). L'utilisation d'adrénaline pourra être discutée. L'évaluation clinique et la réponse au traitement doivent être rapprochées **(Pison C, Devouassoux G, Pin ;2001)(Devouassoux G; 2003)** .

### **I.9.Microbiota respiratoire et pathologies respiratoires chroniques:**

Au cours des infections respiratoires chroniques, un microbiote particulier est décrit par rapport aux sujets sains correspondant donc à un dysmicrobisme. Au niveau des VAI, ces pathologies sont caractérisées par un état clinique de base plus ou moins grave qui est ponctué par des périodes d'exacerbations des signes respiratoires. Les études du microbiota respiratoire ont principalement été conduites chez les patients Cystic fibrosis (CF) puis étendues à d'autres pathologies respiratoires chroniques telles que l'asthme et la Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) **(Michon AL, Marchandin H ; 2015)**.

#### **I.9.1. Microbiota respiratoire et l'asthme:**

On observe chez les patients asthmatiques par rapport aux sujets sains une différence qualitative et quantitative du microbiote pulmonaire. Il existe une plus grande prévalence des Firmicutes et de Proteobacteria et notamment de pathogènes comme Haemophilus sp **(Dickson RP, Martinez FJ, Huffnagle GB;2014) (Park H, Shin JW, Park SG, et al ; 2014)**, Moraxella et Neisseria **(Hilty M, Burke C, Pedro H, et al; 2010)** ou du genre Streptococcus **(Marsland BJ, Yadava K, Nicod LP; 2013)**. Et une diminution de la prévalence de Bactéroïdètes (notamment Prevotella sp). Il existe une plus grande diversité et une charge bactérienne plus importante dans le microbiote pulmonaire des patients asthmatiques **(Dickson RP, Martinez FJ, Huffnagle GB;2014) (Park H, Shin JW, Park SG, et al ; 2014)**.

**I.9.2. Différents microbiotes pulmonaires :**

Il n'existe pas un seul microbiote pulmonaire : chaque microbiote pulmonaire a sa propre composition et évolution, qui est unique et spécifique à chaque individu (**Marsland BJ, Gollwitzer ES;2014**).

**I.9.2.1. Virus (virome):** Il existe très peu de données concernant la présence de virus au sein du microbiote pulmonaire. Les principaux virus observés sont des eucaryotes et des bactériophages. Les infections virales étant la première cause d'exacerbation de maladies pulmonaires, telle que l'asthme, le virome pourrait prédisposer aux exacerbations via la propagation de virus latents (**Marsland BJ, Gollwitzer ES;2014**). L'analyse plus approfondie du microbiote pulmonaire viral reste une importante voie de recherche pour les années à venir.

**I.9.2.2. Champignons (mycobiote):**

Dans plus de 60 % des cas, la culture standard ne permet pas d'isoler les champignons. La PCR ARN 16S étant spécifique des espèces bactériennes, on utilise l'ARN 18S ou 28S, respectivement petite et grande sous-unité du ribosome fongique, ou le séquençage à haut débit pour l'étude du mycobiote (**Underhill DM, Iliev ID;2014**). Chez les sujets sains, les principaux champignons observés dans le microbiote pulmonaire sont des espèces habituellement présentes dans l'environnement (eau, sol, plantes), telles que *Aspergillus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Eremothecium sincaudum* (**Nguyen LDN, Viscogliosi E, Delhaes L; 2015**).

**I.9.2.3. Bactéries (microbiote):**

On note une faible masse bactérienne dans le microbiote pulmonaire par rapport au microbiote intestinal ou cutané, avec 10 à 100 cellules bactériennes pour 1000 cellules humaines dans les biopsies pulmonaires. Les pylores dominants dans les voies aériennes sont au nombre de six : Bacteroidetes (*Prevotella*, *Porphyromonas*), Firmicutes (*Streptococcus*, *Veillonella*), Proteobacteria (*Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Neisseria*), Actinobacteria, Fusobacteria et Cyanobacteria (**Marsland BJ, Gollwitzer ES;2014**).

***I.9.2.3.1. Staphylococcus aureus:*****a)- Classification :**

**Famille :** Staphylococcaceae

**Genre :** Staphylococcus

**Espèce :** *Staphylococcus aureus*

**Nom courant :** *staphylocoque doré* (Rosenbach ; 1884).

**Habitat:** *S. aureus* présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, oiseaux) et en particulier chez l'Homme (De Buyser M. L., Sutra L; 2005). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (Université pierre et marie; 24 mars 2003).

**b)-Caractères bactériologiques :**

**-Aspect microscopique:** *S. aureus* est une coque à gram positif. Il mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile (Buyser M. L., Sutra L; 2005).

Ils apparaissent en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin.

La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture (Université pierre et marie; 24 mars 2003).

**-Aspect des colonies :** les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes, opaques, de 1 mm de diamètre. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (aureus), parfois en jaune citron ou blanc porcelaine et parfois sont non pigmentées (Université pierre et marie; 24 mars 2003).

**c)-Caractères cultureux :**

- aérobie anaérobie facultatif.
- cultive facilement sur milieu ordinaire dans la majorité des cas ou sur milieu de culture sélectif, type milieu de CHAPMAN(Larabi I, Loudj Z;2015).
- La température optimale de culture est de 37°C, le pH=7,5.

**d)- Caractères biochimiques :**

-catalase positive, oxydase négative, fermente le glucose, mannitol positif et indole négatif. Il est uréase+, réducteur de nitrate en nitrile et producteur d'enzyme extra cellulaires dont la staphylocoagulase (**Larabi I, Loudj Z;2015**).

**e)- Pouvoirs pathogènes:**

-est une bactérie pathogène pour l'homme est l'un des principaux micro-organismes responsables d'infections acquises au sein de la communauté. Il représente surtout l'une des causes majeures d'infections associées aux soins (**GNPIN; 15 juillet 2018**).

- peut également causer des infections profondes : endocardite, péritonite, pneumonie nécrosante, bactériémie, méningite, ostéomyélite, arthrite septique et infections des os, des articulations et des organes. (**Prescott et Pastey, 2010**) ; (**Gheraout-Benchouk, 2013**).

**I.9.2.3.2. Streptococcus pneumoniae :****a)-Classification :**

**Famille :** Streptococcaceae

**Genre :** Streptococcus

**Espèce :** *Pneumoniae*

**Nom courant :** pneumocoque

**Habitat :** voies respiratoires (**Flandrois JP; 2000**)

**b)-Caractères bactériologie:**

**-Aspect microscopique:** Cocci Gram positif (0.5 à 1 µm) immobiles, en diplocoques ovoïdes, lancéolés, en flamme de bougie capsulés.

**-Aspect des colonies :** un diamètre de 0,5 à 1,5 mm, sont transparentes, brillantes, non pigmentées, gouttes de rosée, entourées d'une zone d'hémolyse incomplète ou α (pneumolysine).

**c)-Caractères culturels :**

-anaérobie- aérotolérant, germe exigeant, Sur des milieux enrichis (Gélose au Sang), il pousse facilement après 18 heures 37°C, sous 5% de CO<sub>2</sub>.

- pH optimum 7.2, et T°: entre 20°C et 42°C avec un optimum de 35-37°C.

**d)- Caractères biochimiques :**

Dépourvu d'oxydase et de catalase.

Deux caractères biochimiques essentiels permettent de différencier *S. pneumoniae* des autres streptocoques  $\alpha$ -hémolytiques (Sensibilité à l'optochine, Lyse par la bile et les sels biliaires).

\* Sensibilité à la vancomycine en anaérobiose avec aspect dentelé et hémolyse  $\beta$  autour diamètre d'inhibition.

**e)-Pouvoir pathogène :**

Son réservoir naturel est la muqueuse de l'homme; il fait partie de la flore naturelle des muqueuses.

Dès la naissance, il colonise le rhinopharynx .sous l'influence de certains facteurs il pourra devenir pathogène et être responsable d'infection respiratoire (pneumonies, bronchites), et d'infections ORL: otites, sinusites, mastoïdite (**Flandrois JP ; 2000**).

**I.9.2.3.4. *Haemophilus Influenzae*:****a)- Classification:**

**Famille :** Pasteurellaceae

**Genre :** *Haemophilus*

**Espèce :** *Influenzae*

**Nom courant :** *Haemophilus influenzae*

**Habitat :** Parasite obligatoire de l'homme pas des animaux. (**HAEMOPHILUS INFLUENZAE TYPE B 2016**)



Bactérie commensale des voies aériennes supérieures de l'adulte et l'enfant, plus rarement au niveau du tractus génital et de la conjonctive.

**b)-Caractères bactériologie:**

Des petits bacilles immobiles à Gram négatif dont la capsule est inconstante (capsulés pour les souches invasives) ; ce sont des bactéries pléomorphes coccobacilles ou formes longues.

**c)-Caractères cultureux :**

Aéro-anaérobie, Pousse sur gélose chocolat (sang cuit à 80°C), Exigence en facteurs X (hémine) et V (NAD) que l'on trouve dans le sang cuit et l'extrait globulaire.

Favorisé par le CO<sub>2</sub>, mais non exigeant.

**d)-Caractères biochimiques :**

l'étude des caractères biochimiques (uréase Ornithinedecarboxylase (ODC)) , , et production d'indole) permet de connaître le biotype (8 biotypes de I à VIII ) et des réactions d'agglutination sur lame en présence de sérums spécifiques permettant de reconnaître le stérotipe (6serotype de a à f)si la couche est capsulée .il possède une catalase et une oxydase .il fermente le glucose ,le maltose ,le ribose et le xylose ais as le lactose ni saccharose (Dembele k;2019-2010).

**f)-Pouvoir pathogène:2 types d'infections :**

**\*les infections aiguës**, provoquées par les souches capsulées de sérotipe b, Manifestations invasives : septicémie, méningite, épi glottite, pneumonie, arthrite, péricardite, cellulite.

**\*les infections dues aux souches non capsules**; Manifestations non invasives (souches non capsulées) : infections ORL communautaires, surinfections bronchiques (Clavé D; 2008).

**I.9.2.3.5. *Mycoplasma pneumoniae* :****a) -Classification**

**Famille :** Mycoplasmataceae

**Genre:** Mycoplasma

**Espèce:** *Mycoplasma pneumoniae*

**Habitat:** Ubiquitaires et largement répandus dans la nature, les mycoplasmes colonisent, chez l'homme, les muqueuses respiratoires et génitales. Certains seraient présents au niveau du tractus intestinal (Waites KB, Talkinton D;2004) ;(C Bébéar, B de Barbeyrac, S Pereyre, CM Bébéar;2007) ;(Thomas Prescott Atkinson, Mitchell F. Balish& Ken B ; 2008).

**b)- Caractères bactériologiques :**

Une petite sphère, de taille située entre 150 à 250 nm (DOWELL S.F., PEELING R.W., BOMAN J. et al;2001) ne sont pas colorables par la méthode de Gram car ils sont dépourvus de paroi. Ces germes sont difficiles à observer au microscope photonique mais sont visibles au microscope électronique et à contraste de phase (PAPIEROK G, PAULAT G;1992).

**c)-Caractères cultureux:**

La culture est réalisée sur des milieux liquides ou gélosés. Sa croissance nécessite des milieux complexes, comme le milieu de Hayflick ; L'incubation a lieu à 37°C de préférence sous CO<sub>2</sub> (Bébéar CM ; 2008).

**d)-Caractères biochimiques :**

Certaines activités enzymatiques sont utiles pour l'identification:

- Les déshydrogénase permettent la réduction du bleu de méthylène et des dérivés du tétrazolium.
- Des hémolysines sont possédées par certaines espèces (Cazanave C, 2014).

**f)-Pouvoirs pathogènes:**

Produit du peroxyde d'hydrogène et des radicaux superoxydes qui sont à l'origine d'un stress oxydatif au niveau de l'épithélium respiratoire (Cousin-Allery A, Charron A, de Barbeyrac B, Fremy G, Skov Jensen J, Renaudin H, et al;2000).

**I.9.2.3.3. Les entérobactéries :**

**a)- Classification :**

**Famille :** Entérobactériaceae

**Habitat :** elles proviennent du tube digestif humain ou animal.

**Genre:** on distingue 28 genres dont 14 d'intérêt médical : proteus, Escherichia, klebsiella, enterobacter, morganilla, salmonilla, yersinia, sharginilla, providencia.

	<b>Genres</b>	<b>Principales espèces</b>
Genres rencontrés en bactériologie clinique et/ou en microbiologie alimentaire	<i>Salmonella</i>	Espèce <i>enterica</i> qui comprend 6 sous espèces (dont <i>enterica</i> , <i>arizonae</i> ...). La sous espèce <i>enterica</i> est divisées en plus de 2000 sérovars déterminés par sérotypage (dont <i>Paratyphi A</i> , <i>Typhimurium</i> ...)
	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i> , <i>diversus</i> , <i>amolanaticus</i>
	<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae</i> , <i>flexneri</i> , <i>boydii</i> , <i>sonnei</i>
	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i> , <i>oxytoca</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i> , <i>aerogenes</i> , <i>agglomerans</i>
	<i>Serratia</i>	<i>marcecens</i> , <i>liquefaciens</i> , <i>rubideae</i>
	<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>
	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i> , <i>vulgaris</i>
	<i>Morganella</i>	<i>morganii</i> (seule espèce du genre)
	<i>Providencia</i>	<i>alcalifaciens</i> , <i>rettgeri</i> , <i>stuartii</i>
	<i>Yersinia</i>	<i>pestis</i> , <i>enterocolitica</i> , <i>pseudotuberculosis</i>
Autres genres ne présentant pas d'intérêt en bactériologie clinique ou en microbiologie alimentaire.	<i>Buttiauxella</i> , <i>Cedecea</i> , <i>Edwardsiella</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Ewingella</i> , <i>Kluyvera</i> , <i>Moellerella</i> , <i>Koserella</i> , <i>Leclercia</i> , <i>Obesumbacterium</i> , <i>Rahnella</i> , <i>Tatumella</i> , <i>Xenorhabdus</i> , <i>Yokenella</i>	

**Tableau n° 2 :** Genres de la famille ENTEROBACTERIACEAE (MoredaR;1992)

**b)-Caractères bactériologiques :**

Bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large), mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles, quelques fois capsulés (Cazanove C;2010).

**c)-Caractères cultureux :**

Poussant sur milieux de culture ordinaires (gélose au sange), aérobies- anaérobies facultatifs (Cristian C; 2008).

**d)- Caractères biochimiques:**

Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz, réduisant les nitrates en nitrites, oxydase négatif (Nourdmann, Poire IL, Toleman MA, Walch TR;2010).

Uréase	Indole	ONPG	H <sub>2</sub> S	Citrate	Genre	Espèce		
-	-	-	-		Nombreux genres possibles dont :			
					<i>Shigella</i>	<i>spp</i>		
						<i>Salmonella</i>	<i>spp</i>	
		+	-	+	+	<i>Salmonella</i>	<i>spp</i>	
					-	<i>Salmonella</i>	<i>cholerae suis</i>	
			+	-	+ ou -	<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>	
	+				<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>		
	+	-	-	+	<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>		
					<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>		
			+	-	+	<i>Salmonella</i>	<i>arizonae</i>	
						<i>Salmonella</i>	<i>arizonae</i>	
		+	-	+	-	<i>Edwardsiella</i>		
					-	<i>Providencia</i>		
			+	-	-	-	<i>Shigella</i>	<i>spp</i>
+						<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	
+	-	+	+	+	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis (TDA<sup>+</sup>, VP<sup>+</sup>)</i>		
				-	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>		
				-	<i>Yersinia</i>			
	+	-	-	-	<i>TDA<sup>+</sup> Providencia, Morganella</i>			
					<i>TDA<sup>-</sup> Yersinia</i>			
		+	-	-	-	<i>Morganella</i>	<i>morganii (TDA<sup>+</sup>)</i>	
						+	<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>
			+	+	+	+/-	<i>Yersinia (citrate -)</i>	
						-	<i>Yersinia</i>	
						+	<i>Klebsiella</i>	<i>oxytoca</i>

**Tableau n° 3 :** Orientation rapide de l'identification des ENTEROBACTERS (Moreda R;1992).

**e)- Pouvoir pathogène :**

Des espèces à fort potentiel pathogène, considérées comme des pathogènes stricts. Elles sont caractérisées par leurs facteurs de virulence (capacité d'adhésion aux cellules de la muqueuse, capacité d'invasion, capacité de toxinogénèse). Leur présence dans l'organisme (intestin) est anormale et se traduit par des syndromes digestifs (diarrhées).

- des espèces occasionnellement pathogènes, qui correspondent aux espèces commensales de notre organisme ou à des bactéries de l'environnement. Elles jouent un rôle pathogène à l'occasion de la rupture d'une barrière immunologique, lors d'une diminution des résistances de l'organisme ou lors d'un déséquilibre de la flore commensale (antibiothérapie). Elles sont responsables d'infections urinaires, méningites, septicémies (**Philippon A;2006**).

 **Cas de *Klebsiella pneumoniae*:****a)- Classification :**

**Famille :** Enterobacteriaceae

**Genre :** *Klebsiella*

**Espèce :** *Klebsiella pneumoniae*

**Nom courant :** Bacille de friedlander (**Trevisan, V;1885**)

**Habitat :** Ces espèces retrouvées dans la flore intestinale des animaux et de l'homme et ils existent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment les muqueuses respiratoires, peut se trouver dans l'eau, le sol et la poussière (***Klebsiella pneumoniae*. fiche INVS**).

**b)- Caractères bactériologiques:**

-**Aspect microscopique:** bacilles à Gram négatif, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6µm de longueur, se présentant de manière isolée, ou en groupés par deux ou groupés en courtes chaînes, Ce sont des bactéries immobiles, capsulées, non sporulées (**Diallo k ; 2010**)

-**Aspect des colonies :** les colonies sont lactoses positives, bombées, muqueuses, parfois filantes à l'anse de platine, d'un diamètre de 3 à 4 mm. (**RICHARD Cl, et GRIMONT F; 1992**).

c)- **Caractères biochimiques et culturels** : aéro anaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative,

Caractéristiques biochimiques	Espèces <i>K. pneumoniae</i>
Mobilité	-
Lactose	+
ONPG	+
H <sub>2</sub> S	-
LDC	+
ODC	-
ADH	-
Uréase	+
TDA	-
Indole	-
Citrate	+
VP	+
Gaz/glucose	+
Mannitol	+
Rhamnose	+
Saccharose	+
Arabinose	+
Inositol	+

**Tableau n° 4** : Principaux caractères biochimiques des espèces appartenant à la famille des entérobactéries (Larabi I, Loudj Z;2015).

**e)- Pouvoirs pathogènes:**

Elle est responsable d'infections communautaires (urinaires et respiratoires) et d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés (infections urinaires, broncho-pulmonaires, septicémies avec choc, ...) (Larabi I, Loudj Z;2015).



# Chapitre II: matériels et méthodes

**Chapitre II: Matériel et méthodes**

Notre travail se base sur l'isolement et Identification des différents germes (pathogènes et non pathogènes) isolées au niveau des crachats prélevées à partir des patients asthmatiques au niveau du service de médecine interne de L'EPH de thénia et de la consultation du service de pneumologie-physiologie CHU Mustapha Bacha

Notre étude a été focalisée sur l'examen cytbactériologique de crachat (ECBC), et réalisé durant une période de 3 mois allant du 03 mars au 12 juin 2019, au niveau du laboratoire de bactériologie du L'EPH de thénia.

**II.1.Matériel :**

- **Matériel de stérilisation** : bec Benzène, hotte.
- **Matériel d'incubation** : étuve ordinaire, étuve à co2.
- **Matériel divers** : tubes sec, porte-tubes, les boîtes de Pétri, boites noir, pipettes Pasteur, réfrigérateur, microscope optique, lames et lamelles, la poire, tubes de conservation, écouvillons à coton stérile, aiguille, blouse et gants, conteneur de déchets.
- **Milieus de culture** : Gélose nutritive (GN), Gélose au sang cuit (GSC), Gélose au sang frais (GSF), héctoén (HK), Chapman, sabouraud, BromoCrysol Pourpre (BCP), Mac conkey (**composition voire l'annexe N°1**).
- **Réactifs** : lugol, eau physiologique stérile, alcool, Eau oxygénée, Réactif de Kovacs, Réactif Sodium Pyruvate I (VP I), Réactif VP II, Réactif Tryptophane Désaminase (TDA), Huile de vaseline, Bouillon Glucosé Tamonné (BGT), disques d'antibiotiques basitracine (BAC).
- **Les colorants** : violets de gentiane, fushine, bleu de méthylène.
- Galerie API20 E.

**II.2.Méthode :****II.2.1 Prélèvement du crachat:**

Ce prélèvement nécessite une technique de recueil irréprochable pour que la contamination soit limitée et que le résultat soit interprétable.

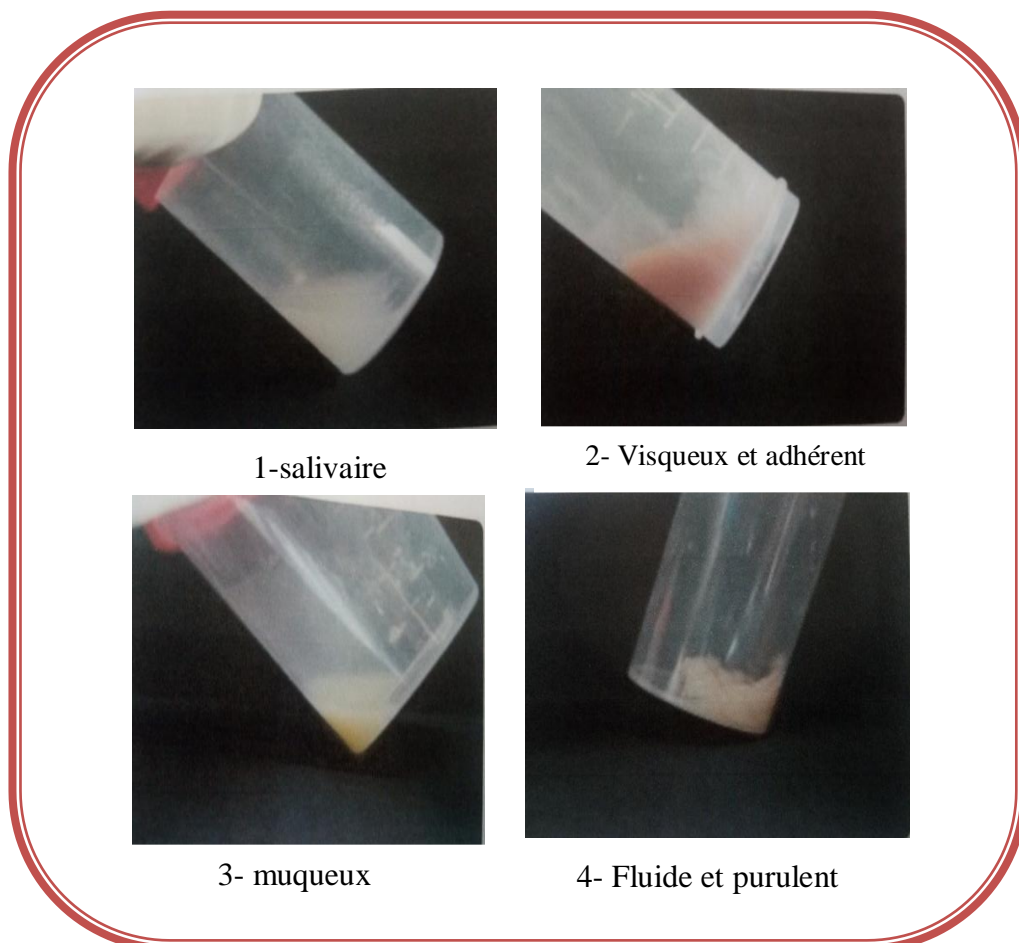


- Expliquer au patient l'importance des consignes suivantes :
  - ✚ lavage des dents et un rinçage abondant de la bouche par une solution antiseptique.
  - ✚ prélever les expectorations obtenues après des efforts de toux. Le est de meilleure qualité lorsqu'il est réalisé après kinésithérapie.
  - ✚ Recueillir des expectorations dans un boîte stérile.
  - ✚ Adresser le prélèvement au laboratoire le plus rapidement possible pour Éviter la pullulation des bactéries commensales aux dépens des bactéries fragiles
  - ✚ Le prélèvement est obligatoire étiqueté en mentionnant le nom de patient ,le sex ,la date l'heure de réalisation et le service.( **fiche de renseignemen.. ANNEXE N ° 2** )

### II.2.2 étude cyto bactériologique du crachat :

#### ✓ Examen macroscopique :

- ✚ **l'aspect** : muqueux, fluide et purulent, salivaire,visqueux ,adhérent.
- ✚ **La couleur** : rouille,verdâtre, hémoptôique.



**Figure n° 6** : Aspect macroscopique des crachats

✓ **Examen microscopique :**

Il est nécessaire pour conformer la qualité du prélèvement, il consiste à examiner un frottis coloré au bleu de méthylène au microscope optique à grossissement  $\times 100$  et à dénombrer en faisant une moyenne par champ des cellules épithéliales et les polynucléaires (PN).

➤ **la coloration de bleu de méthylène :**



1- stériliser la pipette pasteur



2- Déposé les prélèvements sur une lame



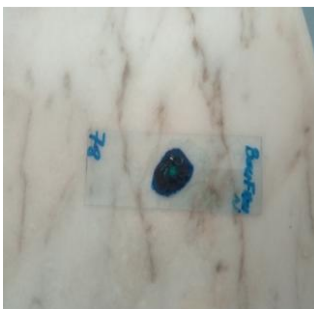
3- sécher légèrement la lame au bec benzène



4- Refroidir la lame puis Recouvrir la lame Par bleu de méthylène pendant 30min



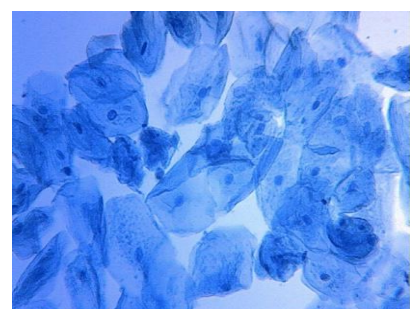
5- Rincer la lame avec l'eau du robinet



6- Sécher la lame.



7- observation sous le microscope grossissement 100 avec huile d'immersion



**Figure n° 7 :** Les étapes de coloration de bleu de méthylène

Les résultats de l'examen microscopique permettent de distinguer 5 classes de crachat

Classe selon Bartlett, Murray et Washington	Cellules /champs		L'interprétation
	Épithéliales	Leucocytes (PN)	
1	>25	<10	à refaire
2	>25	10-25	à refaire
3	>25	>25	à refaire
4	10-25	>25	Acceptable
5	<10	>25	Acceptable

Tableau n° 5 : Critères de classification et de sélection des crachats

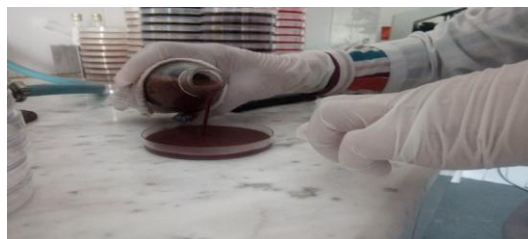
- Les crachats de classe 1 et 2 sont fortement contaminés par la salive. Ils ne sont pas utilisables pour la culture. Un autre prélèvement est à demander.
- Les crachats de classe 3, 4 ont un nombre de leucocytes qui témoigne d'une réaction inflammatoire mais sont contaminés par la salive.
- Les crachats de classe 5 sont les plus appropriés pour l'examen bactériologique. Ceux de classe 4 sont acceptables.

### II.2.3 la mise en culture :

✓ **préparation de milieux de culture :**



1- Faire fondre les milieux au bain marie bouillante 100°C



2-Couler les boites de pétri comme précédemment



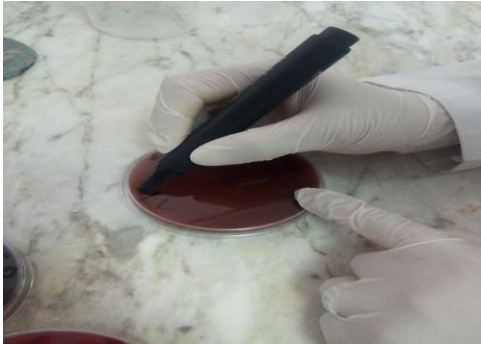
3- Laisser solidifier les milieux



4- Conserver à +4°C

Figure n° 8 : Préparation des milieux de cultures

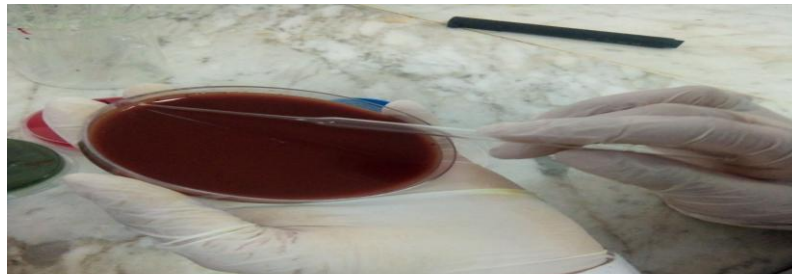
- ✓ **La culture** : la culture se fait systématiquement sur les milieux de culture suivants: GN, GSC,GSF,HK,Chapman, savoraux,BCP,Mac conky



1-Numéroter les boites pétris



2- Stérilisation de la pipette Pasteur



3- On lance les prélèvements des crachats directement dans les boites pétries par l'ensemencement à l'aide d'une pipette Pasteur stérile par la technique de quatre quadrants



4-pour les milieux chapmane et HK et BCP et Manconky l'incubation dans l'étuve à 37°C pendant 24h.



5-pour les milieux GSC et GSF L'incubation à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub>, atmosphère ambiante pendant 24h

**Figure n° 9:** L'ensemencement

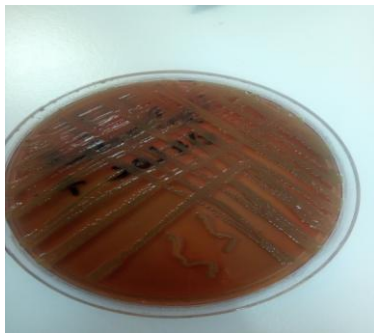


✓ **La lecture des boîtes:**

- **Si la culture négative :** ré-incubation des boîtes jusqu'à 48h.
- **Si la culture positive :** l'observation des colonies sont la suspicion de qu'elle type de bactérie et faire l'isolement.

**II.2.4 Identification :** les bactéries obtenues par culture sont identifiées à l'aide de✓ **l'aspect des colonies :**

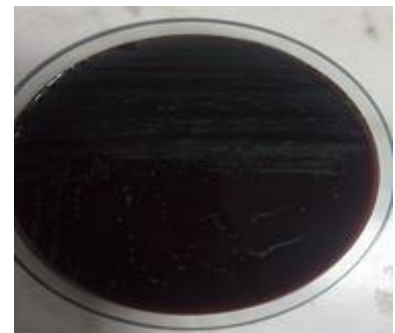
A l'œil nu on détermine l'aspect des colonies et les caractères morphologiques (la forme, la couleur, la taille, l'odeur....) à partir des boîtes pétries.



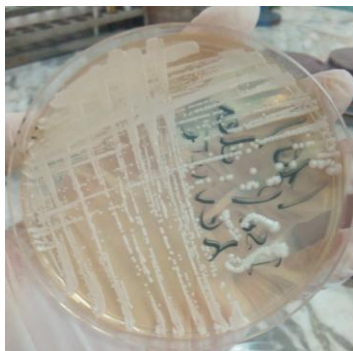
1-Culture de E. coli sur héctoén (HK) (lac +)



2-culture de proteus mirabilis sur héctoén (HK) (lac -)



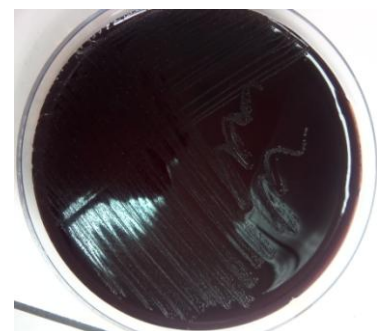
3- culture de streptococcus sp sur Gélose au sang frais (GSF)



4- culture de levures sursaboraux



5- culture de S.aureus sur CHAPMAN



6- culture de haemophilus sp sur Gélose au sang cuit (GSC)

**Figure n °10 :** Les résultats de la culture obtenus

➤ **coloration de Gram:**

La coloration de Gram doit son nom au bactériologiste danois Hans Christian Gram qui mis au point le protocole en 1884. (Singleton, 1990). Les bactéries présentent toutes une paroi constituée d'une substance, la muréine qui est un peptidoglycane. Celle-ci est recouverte par une membrane externe chez les bactéries Gram-, tandis que les bactéries à Gram+ en sont dépourvues. Cette paroi de part son organisation permet de les classer soit dans les Gram+ ou les Gram-. Cette information est importante car elle est utilisée dans la taxonomie. Elle permet ainsi, avec la reconnaissance de la morphologie et le mode de groupement des bactéries de renseigner sur l'ordre dont fait partie les bactéries étudiées.

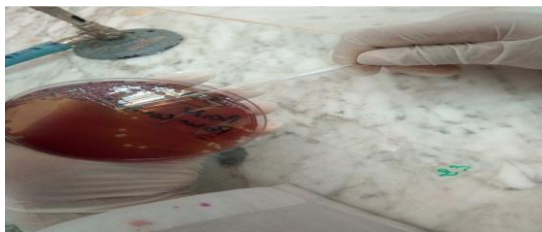
➤ **Technique :** La coloration de Gram à été réalisé selon la méthode direct par Hildebrand et Al(1988).



1- mettre une goutte d'eau physiologique  
Sur la lame



2- stériliser la pipette Pasteur



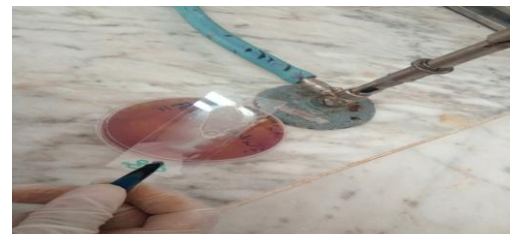
3- prendre une colonie à l'aide d'une  
pipette Pasteur



4- mélanger la colonie avec l'eau physiologique

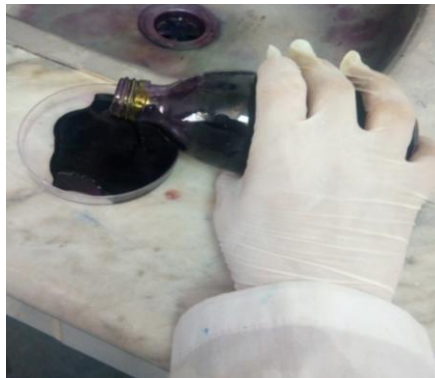


5- sécher légèrement la lame au bec  
benzène



6- Refroidir la lame

**Figure n° 11 :** Les étapes de la coloration au gram



7-coloration au violet de gentiane (1min)

Rinçage



8- ajouter lugol (1s), puis rinçage.



9-décoloration avec l'alcool (10 s)

Rinçage



10-coloration au rose de fushine (1min), puis rinçage.



11-Sécher la lame par la chaleur.



12-Observation sous le microscope grossissement 100 avec huile d'immersion

**Figure n° 12 :** Les étapes de la coloration au gram et la lecture des lames colorées sous le microscope



➤ **La lecture :**

- L'observation se fait sous microscope photonique au grossissement  $\times 100$  avec une goutte d'huile à immersion.:
- Les bactéries à gram (+) apparaissent coloré en violet.
- Les bactéries à gram (-) apparaissent coloré en rose.

✓ **teste d'orientation :**

➤ **Teste catalase:**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) :

Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de ( $H_2O_2$ ). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et d'oxygène visible par la formation de bulles.

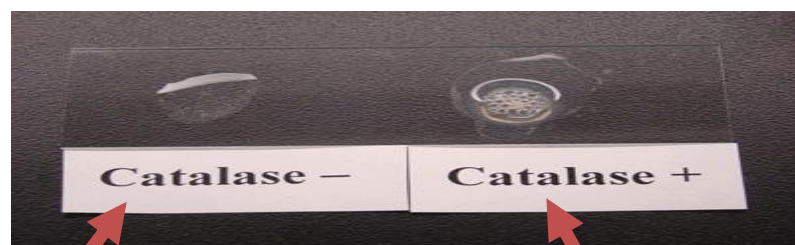


1-Sur une lame déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ .



2- A l'aide d'une pipette pasteur stérile prélever l'échantillon une colonie et la déposer et dissocier dans la solution de peroxyde d'hydrogène

3-Lecteur



Absence des bulles gazeuses

Formation des bulles gazeuses qui indique à la destruction d'hydrogène et libération d'oxygène.

**Figure n °13 : Test de la catalase**

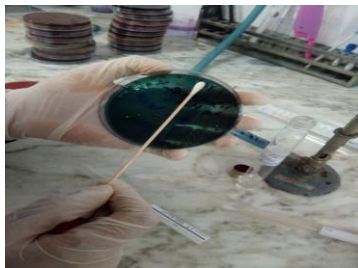


### ➤ Galerie API20

API20E est un système standardisé pour l'identification des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques, comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation (24h à 30°C) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.



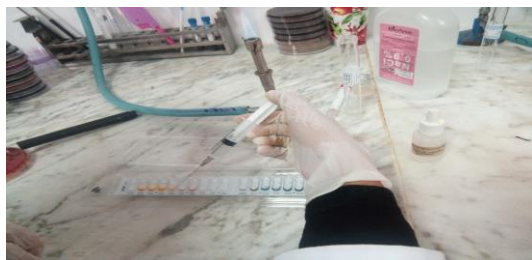
1-Prendre d'eau physiologique à l'aide d'une aiguille stérile, mettre dans un tube stérile.



2- Prendre les colonies à l'aide d'un écouvillon.



3 – préparation de l'inoculum. (colonies +eau physiologique)



4-Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une aiguille stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation des bulles.



- Pour les caractères encadrés (CIT,LDC,GEL,VP) remplir du suspension la capsule et le tube
- .Pour les caractères soulignés (ADH,LDC,ODC,H2S,URE) remplir le tube de suspension et recouvrir avec l'huile de vasline.
- Pour les autre caractères ne remplir que les tubes.(annexe n°5)



6-Repardir un peu d'eau dans les alvéoles de fond pour créer une atmosphère humide. Puis refermer la boîte et mettre à l'étuve à 30°C pendant 18 à 24h.(la lecteur voir annexe n° 3,6,4)

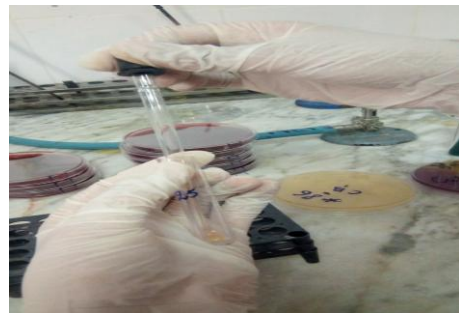
**Figure n°14** : Les étapes de la Galerie API20.

## ✓ Test Coagulase :

La **coagulase** ou staphylocoagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité **coagulase** libre chez une souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine.



1 -Prendre 0,5 ml de plasma sanguin



2- Introduire le plasma sanguin dans un tube à hémolyse stérile

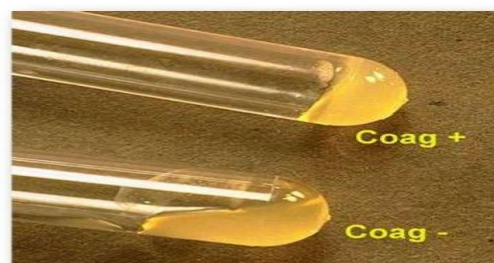


3- Prendre les colonies à l'aide d'une pipette pasteur stérile



4 - Ajouter les colonies de *Staphylococcus* et homogénéiser et incuber à 35 - 37 °C.

6- l'incubation dans l'étuve à 37°C pendant 24h puis voir le résultat.



*Staphylococcus aureus*

Coagulase negative staphylococci, e.g. *S. epidermidis*

Figure n° 15 : Test Coagulase



# Chapitre III: résultats et discussion

## III.1.Résultats:

## III.1.1.Caractéristiques de la population d'étude :

Sexe	Nombre de cas	Pourcentage%
Homme	11	37,93 %
Femme	18	62,07 %
Total	29	100 %

Tableau n° I : Répartition des patients selon le sexe

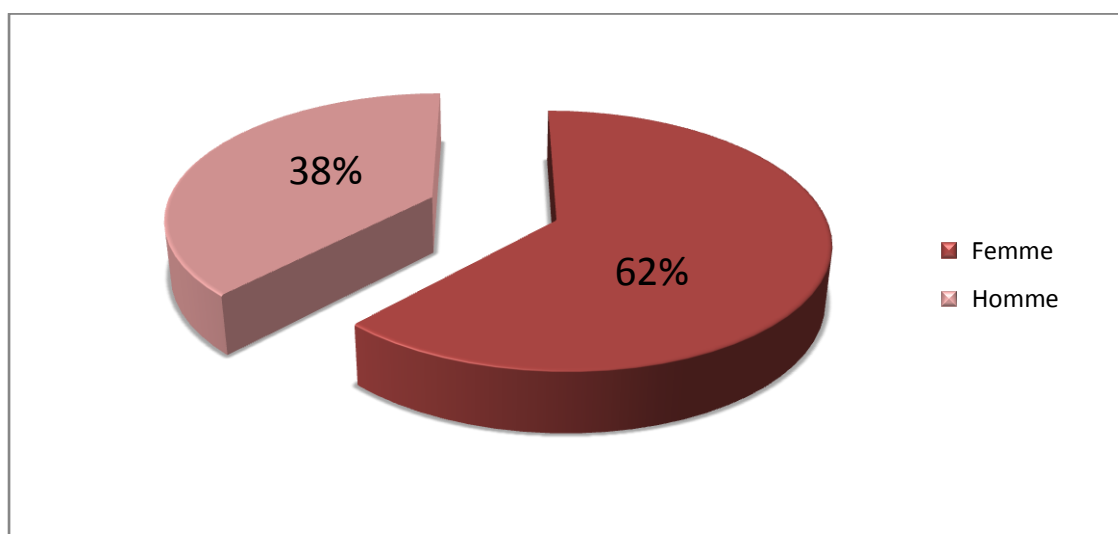


Figure n° I : Répartition des patients selon le sexe

- Parmi les 29 prélèvements analysés 18 provenait des patients de sexe féminin, avec un sexe ratio F/H:1.6, le taux de positivité des échantillons analysés été plus élevé chez les Femmes (62%) que chez les Hommes (38%).

Tranche d'âge	Nombre	Pourcentage%
[33-41[	7	24,13%
[41-49[	4	13,79 %
[49-57[	4	13,79%
[57-65[	6	20,68%
[65-73[	3	10,34%
[73-81]	5	17,24%
Total	29	100%

Tableau n° II: Répartition des patients par tranche d'âge

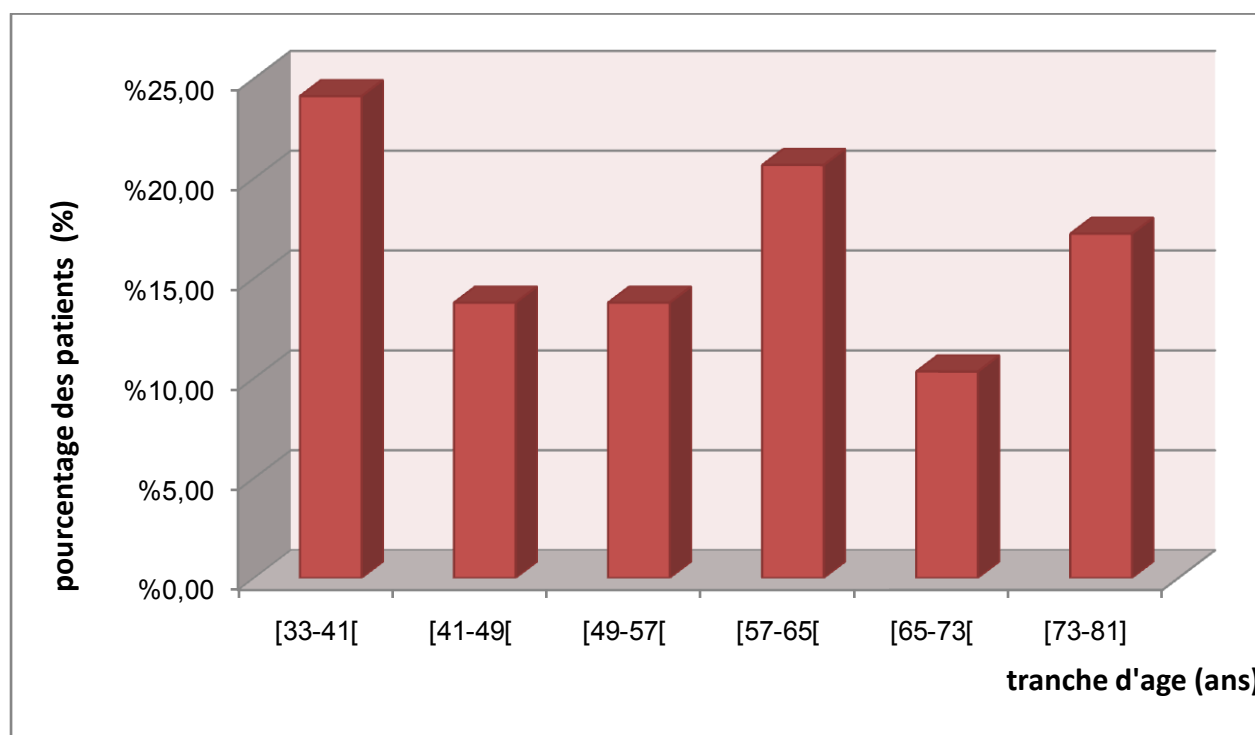


Figure n° II: Répartition des patients par tranche d'âge

- On constate dans ce graphe que les tranches d'âge les plus touchées par l'asthme sont respectivement : [33-41[, [57-65[, [73-81], avec un taux de 24,13% , 20,68%,17,24%.

Tranche d'âge	Homme		Femme	
	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
[33-41[	2	28,57%	5	71,43%
[41-49[	3	75%	1	25%
[49-57[	0	0%	4	100%
[57-65[	1	16,66%	5	83,33%
[65-73[	1	33,33%	2	66,66%
[73-81]	4	80%	1	20%

Tableau n° III: Répartition des patients selon le sexe et tranche d'âge

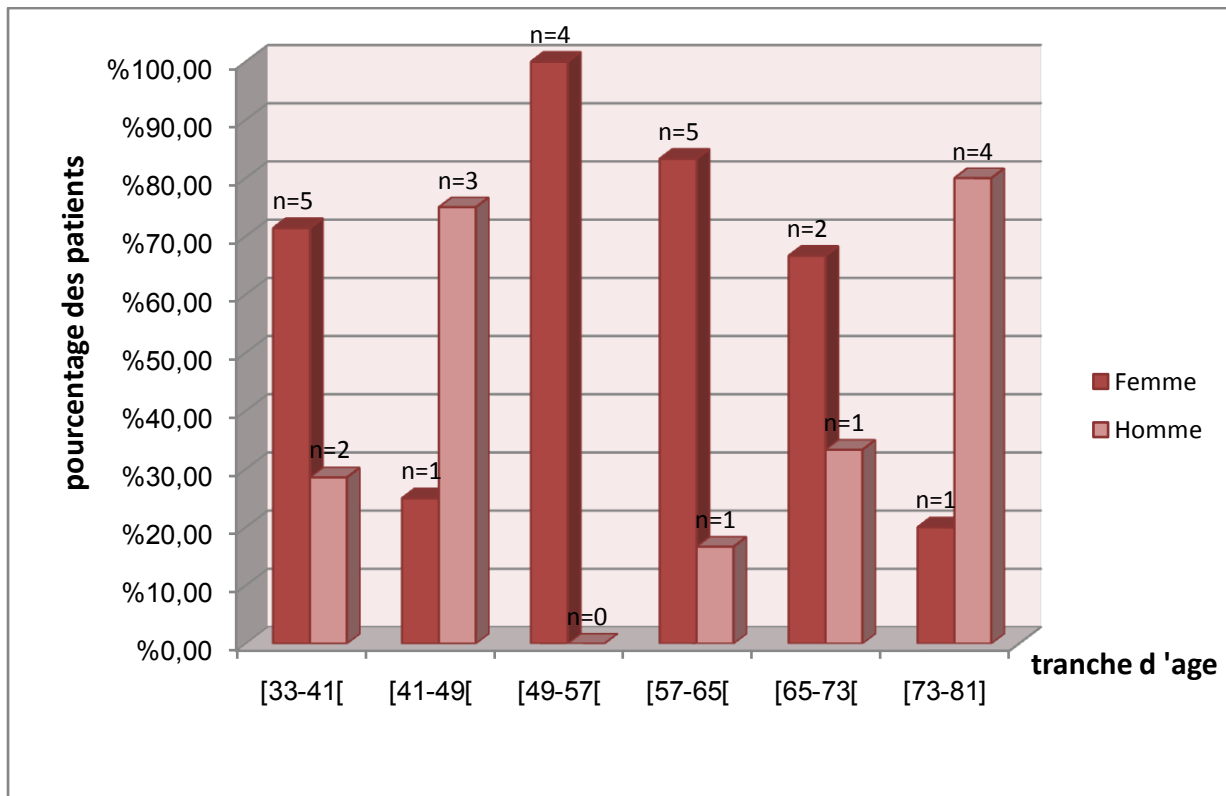
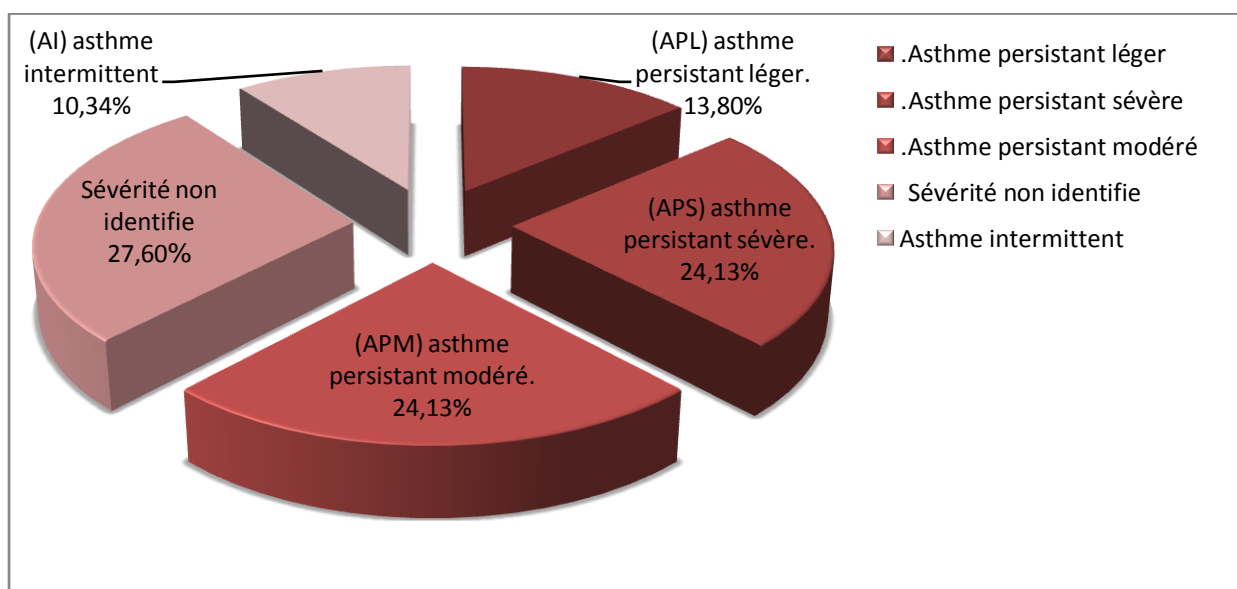


Figure n° III: Répartition des patients selon le sexe et tranche d'âge

- On remarque que l'asthme touche uniquement les femmes dans la tranche d'âge [49-57[, et dans les tranches d'âge inférieures et supérieures de 49 ans touchent les deux sexes avec une prédominance des femmes par contre dans la tranche d'âge [73-81] on note une prédominance des hommes.

L'évolution de la sévérité d'asthme	Nombre	Pourcentage%
(AI) asthme intermittent	3	10,34%
(APL) asthme persistant léger	4	13,80%
(APM) asthme persistant modéré	7	24,13%
(APS) asthme persistant sévère	7	24,13%
Sévérité non identifiée	8	27,60%
Total	N=29	100%

**Tableau n° IV :** Répartition des patients selon l'évolution de la sévérité d'asthme



**Figure n° IV :** Répartition des patients selon l'évolution de la sévérité d'asthme

➤ Durant toute la période d'étude, on observe:

Une prédominance de l'asthme persistant modéré et l'asthme persistant sévère (24,13%), suivis de l'asthme persistant Léger (13,80%) et asthme intermittent (10,34%).

L'évolution de Type d'asthme	Homme		Femme	
	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
(AI) asthme intermittent	2	66,66%	1	33,33%
(APL) asthme persistant léger	1	25%	3	75%
(APM) asthme persistant modéré	2	28,57%	5	71,42%
(APS) asthme persistant sévère	3	42,85%	4	57,14%
Sévérité non identifiée	3	37,5%	5	62,5%

Tableau n° V : Répartition des patients selon le l'évolution de la sévérité d'asthme et le sexe

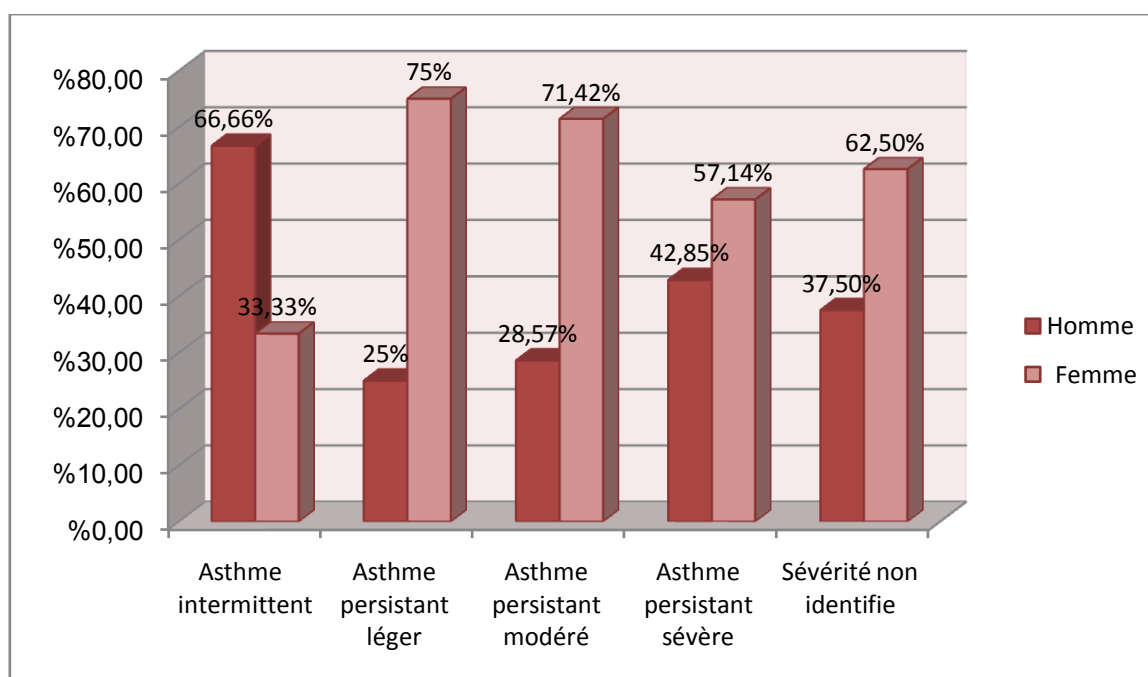


Figure n° V : Répartition des patients selon l'évolution de sévérité la d'asthme et le sexe

- On remarque dans cette répartition que l'asthme persistant léger ,l'asthme persistant modéré , l'asthme persistant sévère et touche plus fréquemment les femmes que les hommes , par contre l'esthme intermittent touche plus les hommes que les femmes.



III.1.2.Répartition des Prélèvements :

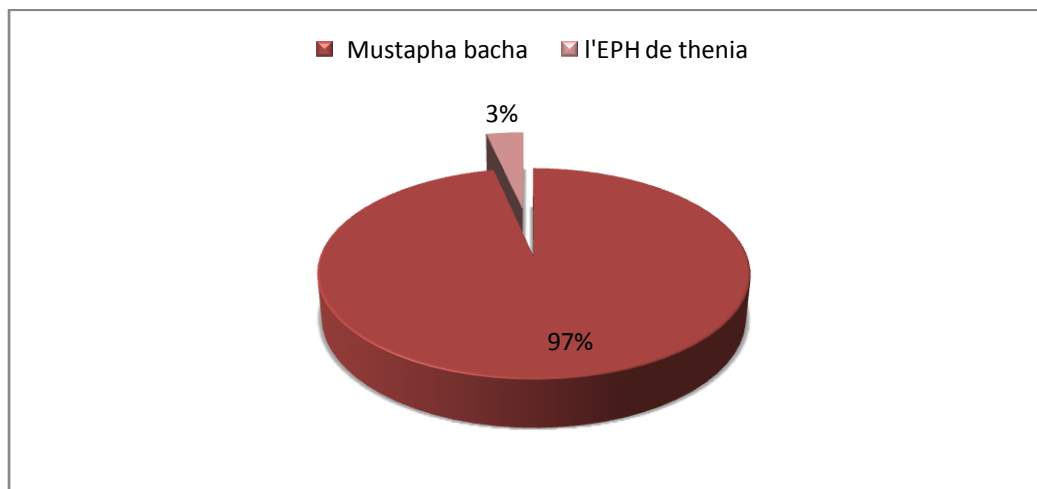


Figure n° VI: Répartition des prélèvements selon le service d'origine

- La pluparts des prélèvements sont issus du service de pneumologies -phtisiologies Mustapha bacha (N=28) avec un taux 97%.

	Nombre	Pourcentage%
Conforme	13	44,82%
Non conforme	16	55,17%
Total	29	100%

Tableau n° VII : Répartition des prélèvements selon leur conformité

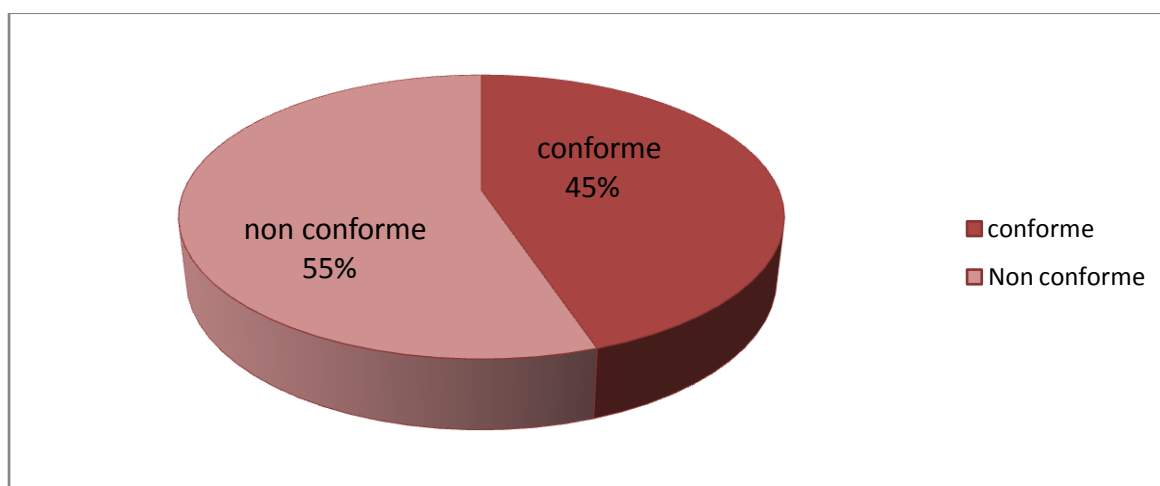


Figure n° VII: Répartition des prélèvements selon leur conformité

- Parmi 29 expectorationsreculées 13 étaient conformes a l'examen cyto bactériologique avec un taux de 44,82%.

	Homme		Femme	
	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
Conforme	5	38,46 %	8	61,53%
Non conforme	6	37,5 %	10	62,5%

Tableau n° VIII : Répartition de la conformité des prélèvements selon le sexe

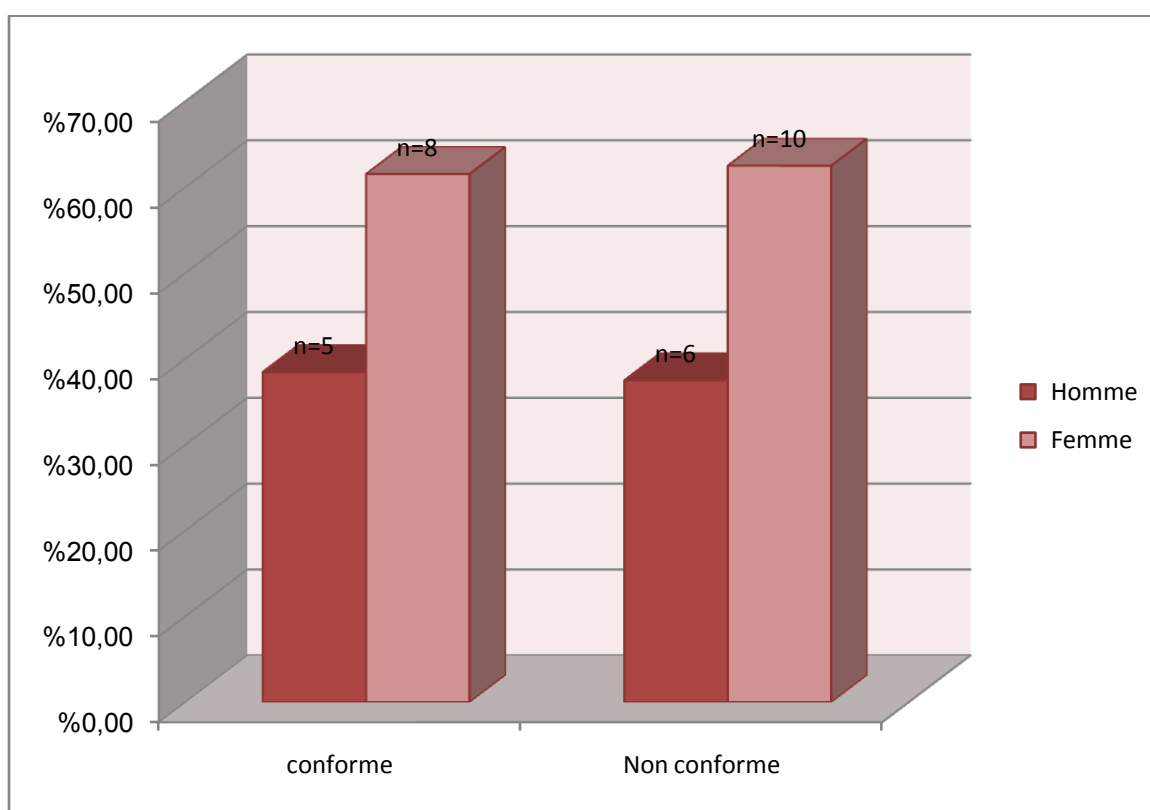


Figure n° VIII: Répartition de la conformité des prélèvements selon le sexe

- On remarque que le taux de conformité des prélèvements analysés été plus élevé chez les femmes (61,53%) que chez les hommes (38,46 %).

## III.1.3. Répartition des agents microbiens :

	Nombre	Pourcentage%
Cocci gram +	40	50%
Cocci gram -	2	2,5%
Bacille gram -	26	32,5%
Levures	12	15%

Tableau n° IX : Répartition des germes selon le Gram

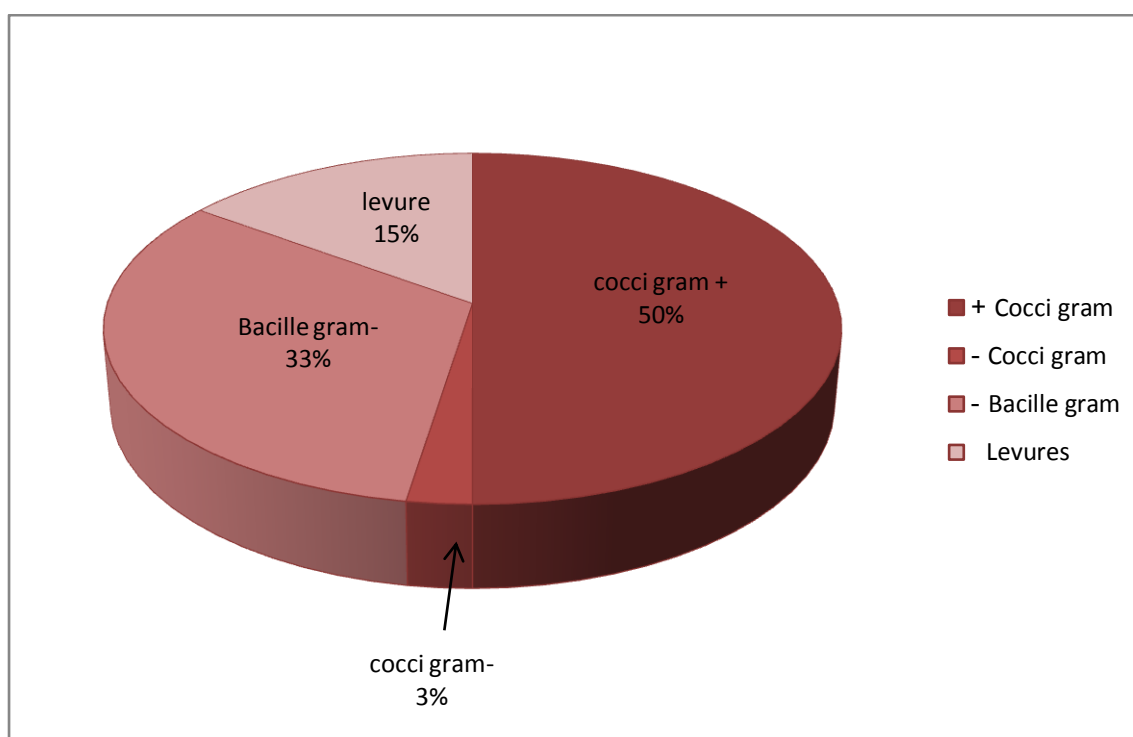


Figure n° IX: Répartition des germes selon le Gram

- On note une nette prédominance des cocci Gram positifs (50%) ensuite suivi par des bacilles Gram négatifs (33%).

genre	Nombre	Pourcentage%
Staphylococcus sp	30	37,5%
Levures	12	15%
<i>Streptococcus</i> sp	7	8,75%
Entérocooccus sp	3	3,75%
Klebsiella sp	3	3,75%
Escherichia sp	3	3,75%
Proteus sp	3	3,75%
<i>Haemophilus</i> sp	2	2,5%
Moraxilla sp	2	2,5%
Pseudomonas sp	2	2,5%
Bactéries non identifié	13	16,25%
Total	80	100%

Tableau n° X : Répartition des germes par genre

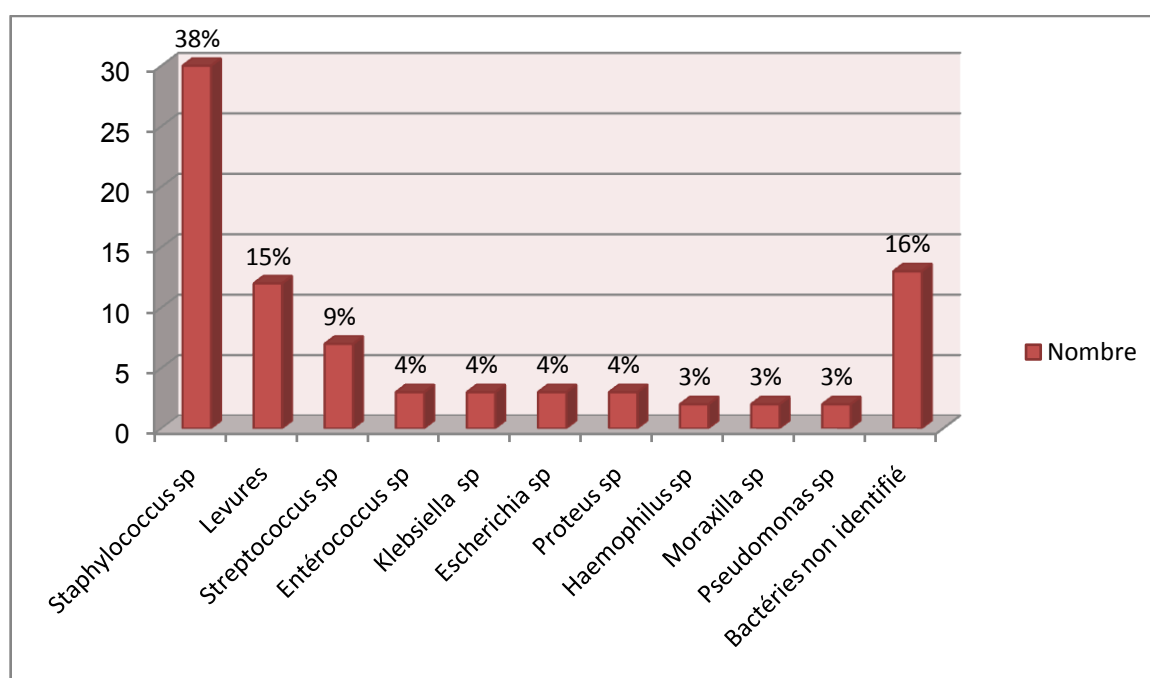


Figure n° X: Répartition des germes par genre

- La dominance des germes a été attribuée à *Staphylococcus* sp (37,5%), suivie par levures (15%), *Streptococcus* sp (9%).

genre	Homme		Femme	
	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
Staphylococcus sp	10	33,33%	20	66,66%
Levures	5	41,66%	7	58,33%
<i>Streptococcus</i> sp	2	28,57%	5	71,42%
Entérocooccus sp	3	100%	0	0
Klebsiella sp	2	66,66%	1	33,33%
Escherichia sp	2	66,66%	1	33,33%
Proteus sp	1	33,33%	2	66,66%
<i>Haemophilus</i> sp	1	50%	1	50%
Moraxilla sp	0	0	2	100%
Pseudomonas sp	1	50%	1	50%
Bactéries non identifié	6	46,15%	7	53,84 %

Tableau n° XI : Répartition des genres selon le sexe

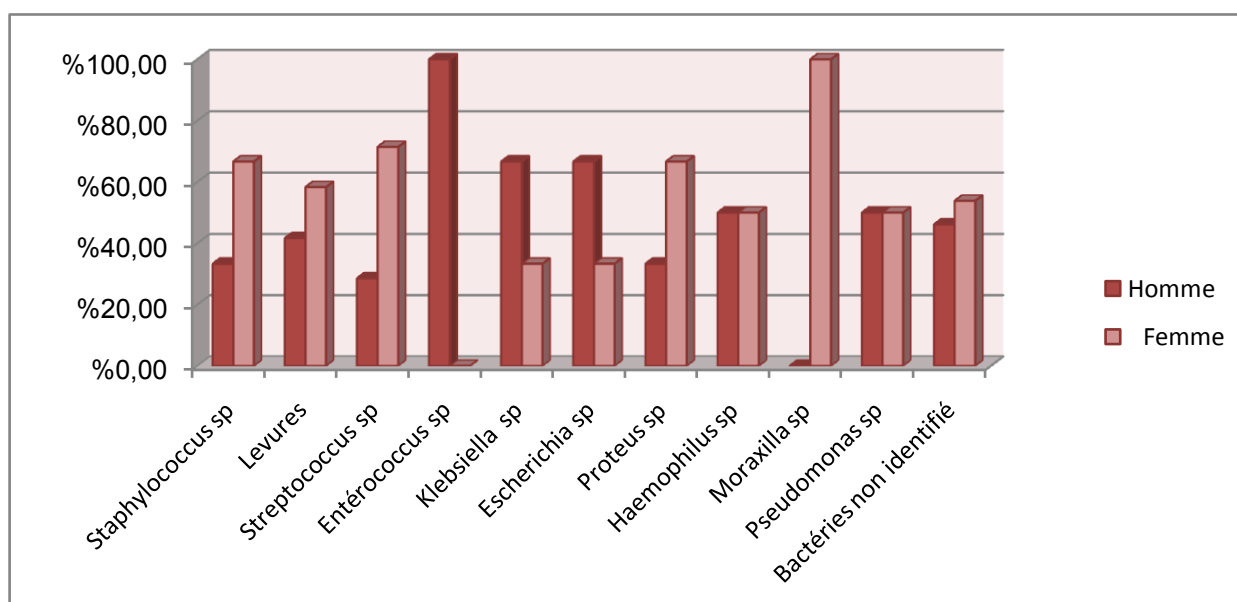


Figure n° XI: Répartition des genres selon le sexe

- Parmi les 29 cas d'asthme, 10 germes ont été mise en évidence avec des pourcentages différents ,5 germes (Staphylococcus sp, Levures, *Streptococcus* sp , Proteus sp , )sont plus fréquents chez les femmes que chez les hommes .

Moraxilla sp présente uniquement chez les femmes.

Et les germes (Klebsiella sp , Escherichia sp ) sont plus fréquents chez les hommes que chez les femmes .

Entérocooccus sp présente uniquement chez les hommes.

Tranche d'âge \ Genre	[33-41[	[41-49[	[49-57[	[57-65[	[65-73[	[73-81]
Staphylococcus sp	11	6	5	2	3	3
Levures	3	1	1	2	2	3
<i>Streptococcus</i> sp	3	1	0	0	2	1
Entérocooccus sp	0	2	0	0	0	1
Klebsiella sp	1	0	0	1	0	1
Escherichia sp	1	0	1	0	0	1
Proteus sp	1	0	0	1	0	1
<i>Haemophilus</i> sp	1	0	0	0	1	0
Moraxilla sp	1	0	0	1	0	0
Pseudomonas sp	0	0	1	1	0	0
Bactéries non identifié	4	2	2	4	1	0

Tableau n°XII : Répartition des genres en fonction de tranche d'âge

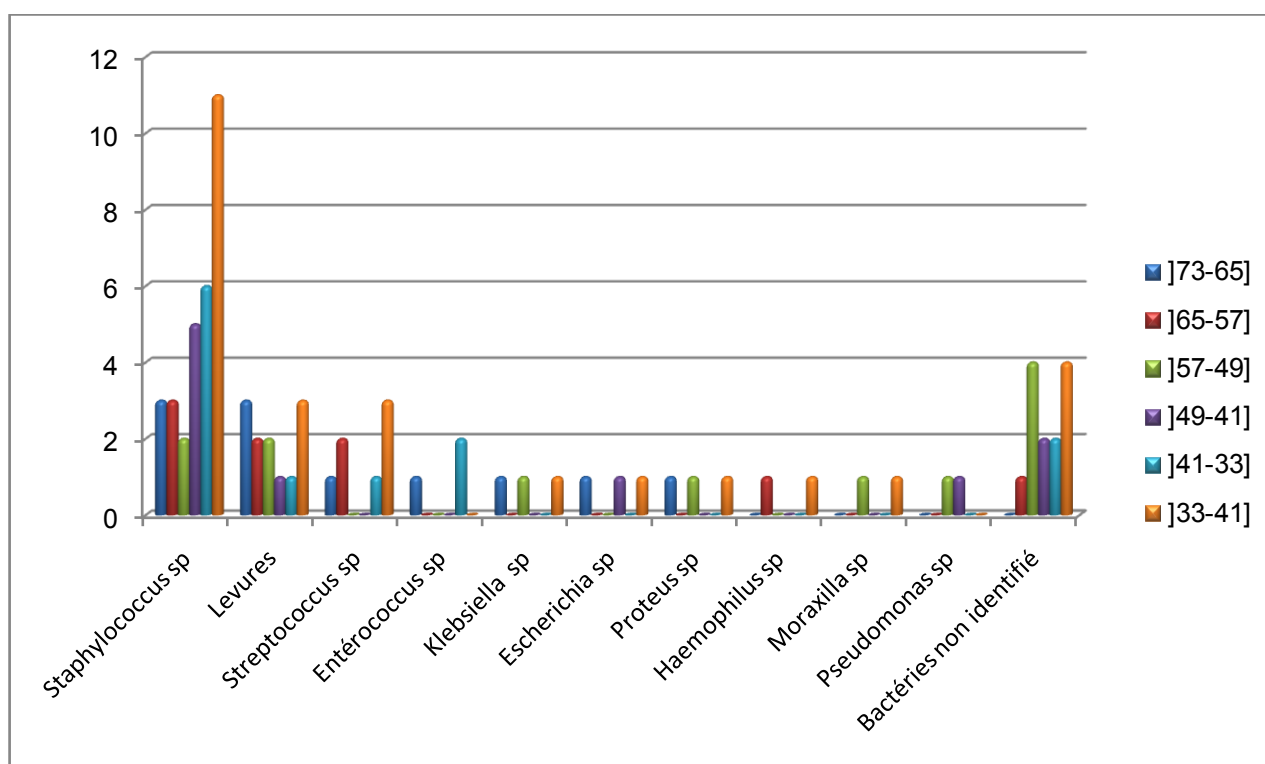
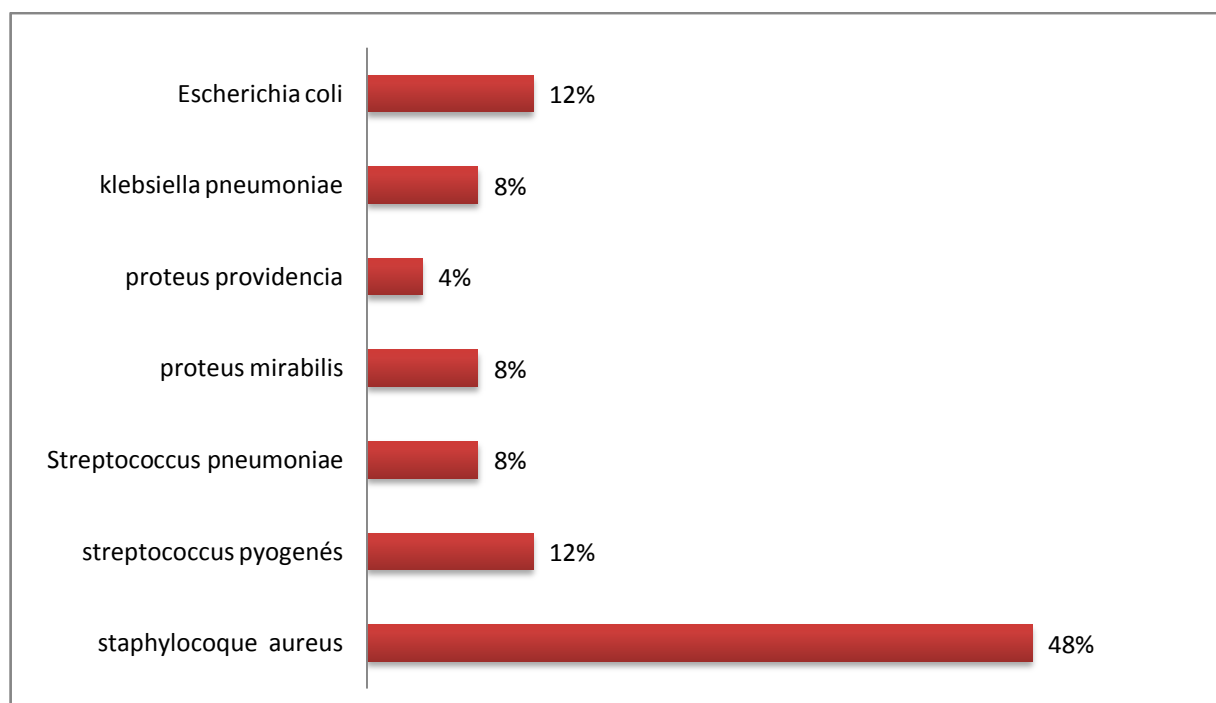


Figure n°XII: Répartition des genres en fonction de tranche d'âge

- La fréquence d'isolement *Staphylococcus* sp et *Streptococcus* sp est maximale dans la tranche d'âge [33-41[

Espèce	Nombre	Pourcentage%
staphylocoque aureus	12	48%
streptococcus pyogénés	3	12%
Streptococcus pneumoniae	2	8%
proteus mirabilis	2	8%
proteus providencia	1	4%
klebsiella pneumoniae	2	8%
Escherichia coli	3	12%
Total	25	100%

**Tableau n°XIII : Répartition des germes par espèce**



**Figure n°XIII: Répartition des germes par espèce**

- L'espèce la plus trouvée est staphylocoque aureus (48%), suivie par streptococcus pyogénés et Escherichia coli (12%), ensuite par Streptococcus pneumoniae, proteus mirabilis et klebsiella pneumoniae (8%).

Espèce	Homme		Femme	
	Nombre	Pourcentage%	Nombre	Pourcentage%
staphylocoque aureus	3	25%	9	75%
streptococcus pyogenés	1	33,33%	2	66,66%
Streptococcus pneumoniae	0	0%	2	100%
proteus mirabilis	1	50%	1	50%
Proteus providencia	0	0%	1	100%
Klebsiella pneumoniae	1	50%	1	50%
Escherichia coli	2	66,66%	1	33,33%

Tableau n°XIV : Répartition des espèces selon le sexe

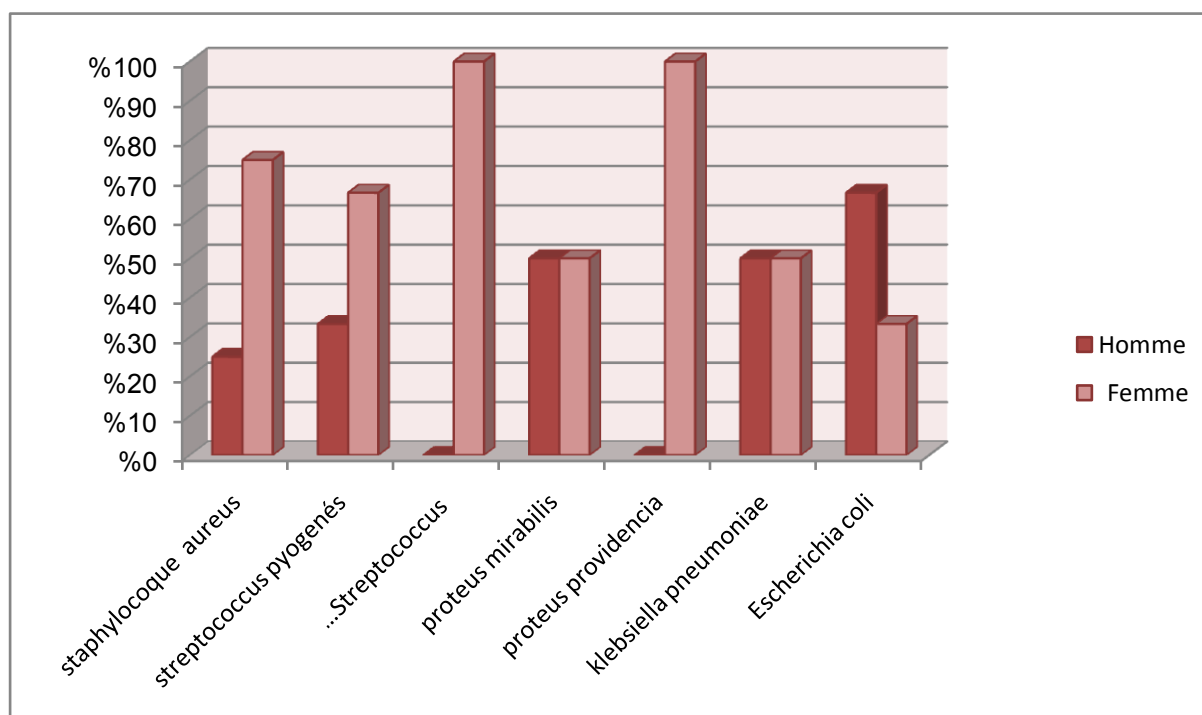


Figure n°XIV: Répartition de l'espèce selon le sexe

➤ Dans notre étude on remarque que:

-staphylocoque aureus, streptococcus pyogenés plus fréquemment chez les femmes que chez les hommes.

-Streptococcus pneumoniae, proteus providencia sont des espèces présentes uniquement chez les femmes.

- une prédominance d'Escherichia coli chez les hommes que chez les femmes.



Espèces \ Tranche d'âge	[33-44[	[41-49[	[49-57[	[57-65[	[65-73[	[73-81]
staphylocoque aureus	5	2	2	1	1	1
streptococcus pyogenés	1	0	0	0	1	1
Streptococcus pneumoniae	1	0	0	0	1	0
proteus mirabilis	0	0	0	1	0	1
proteus providencia	1	0	0	0	0	0
klebsiella pneumoniae	1	0	0	1	0	0
Escherichia coli	1	0	1	0	0	1

Tableau n°XIV : Répartition des espèces selon la tranche d'âge

➤ on remarque que:

-La fréquence d'isolement de staphylocoque aureus est maximale chez la tranche [33-44[.

- streptococcus pyogenés présent chez les tranches d'âge [33-44[, [65-73[, [73-81] et absent chez les autres.

- Streptococcus pneumoniae présent chez les tranches d'âge [33-44[, [65-73[et absent chez les autres.

-proteus mirabilis présent chez les tranches d'âge [57-65[, [73-81] et absent chez les autres

- proteus providencia présent uniquement chez la tranche d'âge [33-44[et absent chez les autres

- klebsiella pneumoniae présent chez les tranches d'âge[33-44[ , [57-65[et absent chez les autres.

-Escherichia coli présent chez les tranches d'âge [33-44[, [49-57[, [73-81]et absent chez les autres.

**III.2.Discussion:**

Notre étude est faite sur 29 prélèvements du crachat des patients asthmatiques admis aux services de consultation pneumologie-phtisiologie du centre hospitalo-universitaire Mustapha bacha et du service médecine interne de l'EPH de thenia , durant de 03 mars 2019 jusqu'au 12 juin 2019.

- Dans notre étude le sexe féminin était prédominant avec un sexe ratio F/H:1.6 chez les patients asthmatiques (Femelle=18, Male=11) .
  - le taux de positivité des échantillons pour l'asthme était plus élevé chez les femmes (61,53%) que chez les hommes (38,46 %).Ces résultats sont comparable à ceux de **(Makhloufi M, Guerinik M; 2015)** qui avaient trouvé que les femmes (56%) sont les plus touchées que les hommes (44%) et **(Boussa M, et ses collaborateurs ; 1990)** qui avaient trouvé que les femmes souffrent d'asthme trois fois plus que les hommes (26,13% pour les hommes et 73,78% pour les femmes) et **(El kamel, et ses collaborateurs 1998)** avaient trouvé (58%) des cas de sexe féminin et **(Koffi, et ses collaborateurs 2001)** avaient trouvé 59% de sujets de sexe féminin et 41% d'asthmatiques de sexe masculin.
  - En comparant le sexe, comme il a été discuté dans la littérature, le sexe féminin souffre d'asthme plus que le sexe masculin, ce qui est vrai pour notre cas d'étude, cela peut être due à l'existence d'une lien entre le système immunitaire et les hormones sexuelles, qui pourrait en partie contribuer aux différences entre les hommes et les femmes.
- Au cours de notre étude on a remarqué que l'asthme touche uniquement les femmes dans la tranche d'âge [49-57[, et dans les tranches d'âge inférieurs et supérieurs de 49 ans touchent les deux sexes avec une prédominance des femmes par contre dans la tranche d'âge [73-81] on note une prédominance des hommes. Ces résultats sont comparable à ceux de **(Laure CR, Barbara C, Sylvie D ; 2000) ; (Charpin D, Vervolet D ; 1990)**ont trouvé que plus l'âge est élevé, plus l'asthme est grave les adultes jeunes sont les plus touchés par la maladie. La prévalence avoisine les 7 % chez les enquêtés de moins de 30 ans . Les adultes de 30 à 69 ans sont moins affectés par cette maladie, environ 5 % souffrent d'asthme chez les 30-49 ans). Ensuite, la

prévalence remonte légèrement chez les personnes de plus de 70 ans (6,3 %). l'asthme se calme à la puberté, un peu plus tôt et plus souvent chez les femmes que chez les hommes. Entre 50 ans, ces asthmes tardifs sont plus souvent sévères. Chez la femme, après la ménopause, les symptômes régressent parfois et peuvent même disparaître.

- Notre étude montre une prédominance de l'asthme persistant modéré et l'asthme persistant sévère (24,13%), suivis de l'asthme persistant Léger (13,80%) et asthme intermittent (10,34%). Ces résultats sont comparables à ceux de **(Boussa M, et al ; 1990)** ; **(El kamel, et ses collaborateurs 1998)** ont trouvé en Tunisie que plus de la moitié (55,2%) avaient un asthme modéré, (22%) avaient un asthme léger et (22,8%) avaient un asthme sévère. Ces résultats sont presque similaires à notre étude mais se différencient que au niveau de l'asthme léger asthme sévère qui est l'inverse de nos résultats. Cette étape de précision du degré de sévérité de l'asthme constitue le point central de la prise en charge thérapeutique de l'asthme. En effet, les décisions d'un traitement sont prises sur base de la sévérité de la maladie **(GINA, 2002)**. La classification de la sévérité de l'asthme est fondée sur une évaluation associant les symptômes et les mesures de la fonction respiratoire **(GINA, 2002)**. **(Laure CR, Barbara C, Sylvie D ; 2000)** ont trouvé que l'asthme Intermittent (50 %), ensuite l'asthme Persistant légère (29 %), suivis de l'asthme Persistant modéré (11 %), et l'asthme Persistant sévère (10%).
  
- On remarque dans cette répartition que l'asthme persistant léger, l'asthme persistant modéré, l'asthme persistant sévère touche plus fréquemment les femmes que les hommes, par contre l'asthme intermittent touche plus les hommes que les femmes. Ces résultats sont comparables à ceux de **(Laure CR, Barbara C, Sylvie D ; 2000)** ont trouvé que chez les hommes, l'asthme intermittent (50%), l'asthme persistant léger (31 %), l'asthme persistant modéré (10 %), l'asthme persistant sévère (9 %), Les femmes l'asthme intermittent (49%), l'asthme persistant léger (28 %), l'asthme persistant modéré (12 %), l'asthme persistant sévère (11%), l'hypothèse est que les personnes sans activité professionnelle sont plus souvent atteintes par cette maladie, notamment les chômeurs et les « autres inactifs ». Les chômeurs sont, à structure d'âge et de sexe comparable, 1,2 fois plus souvent asthmatiques que les actifs occupés.

De même, la sévérité de la maladie est très différente selon l'activité. D'un côté, les chômeurs et les enfants sont plutôt atteints d'asthme intermittent.

- On note une nette prédominance des cocci Gram positifs (50%) ensuite suivi par des bacilles Gram négatifs (33%). Ces résultats sont comparable à ceux de **(Goleva E, Jackson LP, Harris JK, et al ; 2013)** ont retrouvé que certaines bactéries à Gram négatif, voient leur nombre augmenté chez les asthmatiques.
  
- Notre étude montre une dominance des germes a été attribuée à *Staphylococcus* sp (37,5%), suivie par levures (15%), *Streptococcus* sp (9%) , Ces résultats sont comparable à ceux de **(Guilloux CA, Lamoureux C, Geneviève HA ; 2018)**(**Hilty M, Burke C, Pedro H, et al ; 2010**),(**Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al ; 2010**) ont trouvé que chez les asthmatiques, une plus grande proportion des genres *Prevotella* , *Streptococcus* sp , *Staphylococcus* sp , *Neisseria* sp , *Corynebacterium* et à *Haemophilus* sp, est observée. Le microbiote pulmonaire des patients asthmatiques est donc caractérisé par une augmentation des *Proteobacteria*,(**Zhang Q, Cox M, Liang Z, et al ;2016**) ont retrouvé l'asthme sévère, une altération du microbiote distincte de celle de l'asthme modéré, avec une présence plus importante des *Staphylococcus* sp.
  
- L'espèce le plus trouvé est *staphylocoque aureus* (48%), suivi par *streptococcus pyogenés* et *Escherichia coli* (12%), ensuite Par *Streptococcus pneumoniae*, *proteus mirabilis* et *klebsiella pneumoniae*(8%). Ces résultats sont comparable à ceux de **(Yvonne J, Huang MD, et al ; 2015)** ont retrouvé que *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae* ou *Streptococcus pneumoniae* a été associée à une augmentation significative de leur rapport de cotes pour l'asthme aussi à une plus grande sévérité des maladies respiratoires.

## Conclusion

---

Conclusion :

Chaque individu, sain ou malade, comporte une flore poly-microbienne et multi-sites qui lui sont propre et indispensable pour sa survie. Lors du développement d'une pathologie, on observe une modification du microbiome. Ainsi, dans les pathologies respiratoires chroniques, le microbiome pulmonaire est altéré, il est dysbiotique

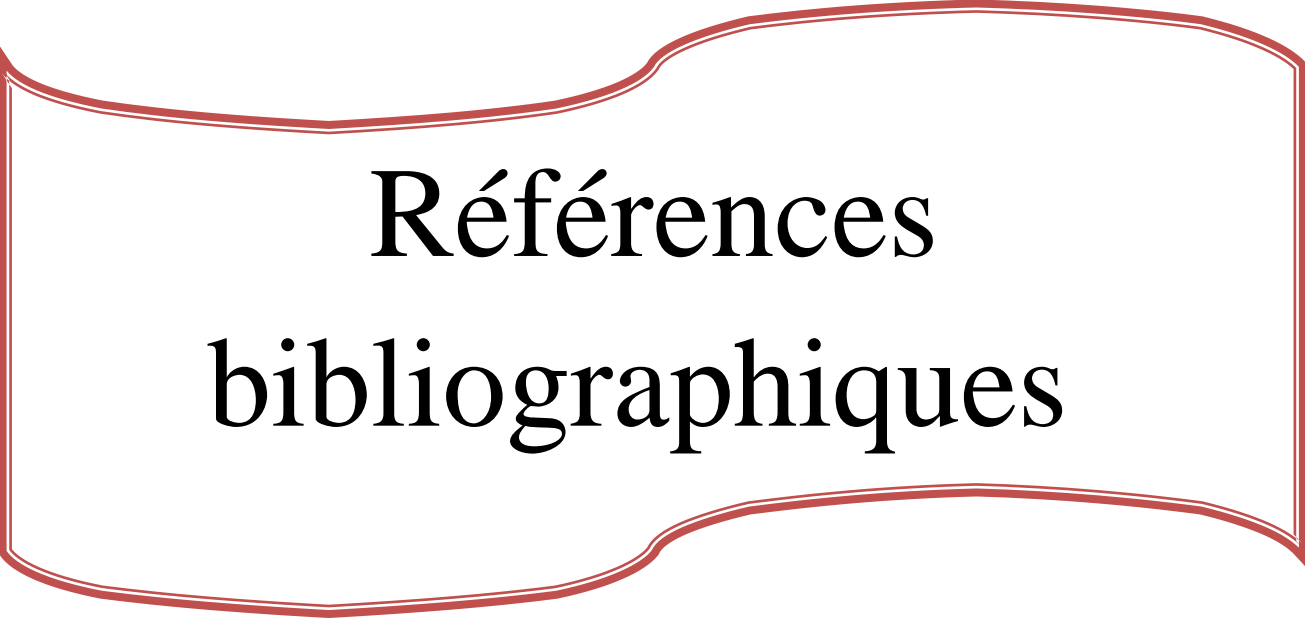
La pathologie asthmatique est l'exemple même de l'interaction entre l'hôte, un pathogène et l'environnement. Un lien a été clairement démontré entre microbiote environnemental et asthme.

L'asthme est une maladie chronique fréquente qui peut affecter des de tout âge .Elle provoque une inflammation des voies respiratoires, Le terme asthme de l'adulte fait référence à un asthme de l'enfant qui se poursuit à l'âge adulte, ou à asthme qui réapparaît après d'être manifesté dans l'enfance, ou a qui s'est développé uniquement à l'âge adulte , Elle est plus fréquent chez les femmes .

L'asthme constitue un problème majeur de la sante publique; Est souvent lié aux allergies et s'accompagne alors d'autre manifestations allergiques, son origine est multifactorielle, faisant intervenir des facteurs génétiques et environnementaux (tabagisme, infections et expositions à certains allergènes) et facteurs hormonaux.

Notre étude révélée que :

- ✓ L'asthme touche les deux sexes femmes et hommes avec une prédominance des femmes, il est plus fréquent chez les adultes jeunes
- ✓ une prédominance de l'asthme bronchique ensuit l'asthme persistant modéré et l'asthme persistant sévère, suivis de l'asthme persistant Léger et asthme intermittent
- ✓ chez les asthmatiques l'espèce le plus trouvé est staphylocoque aureus, streptococcus pyogenés , Escherichia coli, Streptococcus pneumoniae, proteus mirabilis , klebsiella pneumoniae, Moraxella sp et Haemophilus



# Références bibliographiques

## Référence bibliographique

---

**Andrejak C, Delhaes L.** Le microbiome pulmonaire en 2015 Une fenêtre ouverte sur les pathologies pulmonaires chroniques. 2015; 31:971-978.

**Amzian K , Rosselo J ,Castella A ,Sekkat S ,Terzaki S , Dhidah L ,AbdelmoumeneT ,Fabry J.** Prévalence des infections nosocomiales dans 27hopitaux de la région méditerranéenne. EMHJ.10, 2010,1070-1078.

**Bébéar CM.** Physiopathologie et diagnostic des infections à Mycoplasma pneumoniae. Arch Pédiatrie. 2008;15(7):1253-1256.

**Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, et al.** Global strategy for asthma management and prevention: Gina executive summary. Eur Respir J 2008;31:143-178.

**Busse WW.** What is the best pulmonary diagnostic approach for wheezing patients with normal spirometry? Respir Care 2012;57:39-46; discussion 47-39.

**Bousquet J, Demoly P, Godard P.** Recommendations for the management of asthma. Rev Prat 2001;5:533-7.Devillier P. Anti-asthma drugs. Rev Prat 2001;51:523-31.

**Buyser ML, Sutra L.** Staphylococcus aureus. In : Federighi M. Bactériologie alimentaire – Compendium d'hygiène des aliments. Economica, Paris, 2005:25-51

**Bébéar C, de Barbeyrac B, Pereyre S, Bébéar CM .** Mycoplasmes. ESKA 2007-Précis de bactériologie Clinique.1597-1606

**Baroudi M, Janssens J-P.**ASTHME. 2013

**Bouayad Z, Afif H.** L'épidémiologie de l'asthme et de la rhinite dans les pays au sud de la méditerranée. Rev Fr Allergo 1998 ; 38 : 154-9.

**Boussa M, et ses collaborateurs .**Asthme de l'adulte en milieu tropicale : ses particularities à Brazzaville .medcine d'Afrique Noire :1990 .

**Cho I, Blaser MJ.** The human microbiome: at the interface of health and disease. Nat Rev Genet 2012;13:260–70.

## Référence bibliographique

---

**Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, et al.** Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med* 2011 ; 184:957-63.

**Charpin D, Vervloet D .** Epidémiologie de l'asthme, *La Revue du Praticien - Médecine Générale*, 18 juin 1990, n°102; 1990

**CHAFFANJON Philippe**, Faculté de Médecine de Grenoble/ Université Joseph Fourier. Les poumons et les plèvres. [www.wikinu.org/medecine/docvideos/anatomie/CHAFFANJON\\_philippe/CHAFFANJON\\_philippe\\_P14/CHAFFANJON\\_philippe.pdf](http://www.wikinu.org/medecine/docvideos/anatomie/CHAFFANJON_philippe/CHAFFANJON_philippe_P14/CHAFFANJON_philippe.pdf) Site consulté le 18/12/2008

**Cazanave C.** Les infections à *Mycoplasma pneumoniae* de l'adulte : étude rétrospective de 2010 à 2012 au CHU de Bordeaux. 2014:1-100.

**Cazanave C.** bactériémie à entérobactéries productrices de BLSE, 2010.

**Clave D.** Laboratoire de bactériologie, hygiène CHU Toulouse ,2008.

**Cristian C.** Microbiologie Hygiène Base microbiologiques de la diététique. Ed. TEC & DOC Lavoisier, Paris, 2008, p.76 -86, 257.

**Cousin-Allery A, Charron A, de Barbeyrac B, Fremy G, Skov Jensen J, Renaudin H, et al.** Molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae* strains by PCR-based methods and pulsed-field gel electrophoresis. Application to French and Danish isolates. *Epidemiol Infect.* 2000;124(1):103-111.

**Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, et al.** The microbiome and the respiratory tract. *Annu Rev Physiol* 2016;78:481– 504

**Dickson RP, Martinez FJ, Huffnagle GB.** The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases. *Lancet* 2014;384:691–702.

**Delmas MC, Guignon N, Leynaert B, Annesi-Maesano I, Com-Ruelle L, Gonzalez L, Fuhrman C.** Prévalence et contrôle de l'asthme chez le jeune enfant en France. *Rev Mal Respir.* 2012;(29):688-96.



## Référence bibliographique

---

**DOWELL SF, PEELING RW, BOMAN J.** et al. Standardizing chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae Assays : recommendations from the Center for disease control and prevention (USA) and laboratory centre for disease control (Canada). Clin. Infect. Dis., 2001, 33 : 492-503.

**Diallo k.** FREQUENCE D'ISOLEMENT DES KLEBSIELLA AU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE CVD DU CHU GABRIEL TOURE DE 2002 A 2007.2010:1-96

**Dembele k.** Détermination du taux d'anticorps anti haemophilus influenzae type b dans le sérum et enquête de couverture vaccinale chez les enfants âgées de 6-7mois à 18mois (janvier 2007) après l'introduction de vaccin Hib dans le district da Bamako ,Mali;2019-2010 Mali; p23;24:64

**Devouassoux G.** Astme: DESC Allergologie Immunologie Clinique .2017

**Dusko Ehrlich S, Doré J.**BIODIVERSITE MICROBIENNE, MICROBIOME, MICROBIOTE ou des microbes là où on ne les attendait pas;2014;p1

**Eur Resp J 1996.**European Community Respiratory Health Survey. Variations in the prevalence of respiratory symptoms, self-reported asthma attacks, and use of asthma medication in the European Community Respiratory Health Survey (ECRHS) ; 9 : 687-95.

**Eur Resp J 1998.** International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) steering committee. Worldwide variations in the prevalence of asthma and allergies in childhood; 12 : 315-35

**El kamel, et ses collaborateurs.** L'asthme bronchique en tunisie .revue des maladies respiratoires, 1S41 ; 1998.

**Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK, et al.** Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD. PLoS ONE 2011 ;6:e16384.

**Fraperie P ,lasserre M .**microbiologie biomédicale, 2013

## Référence bibliographique

---

**Ghernaout S.** 2013. Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* : Son rôle dans l'infection du site opératoire. [Thèse]. Université Aboubeker Belkaid-Tlemcen (Algérie). 175p.

**GINA 2013.** Global Initiative For Asthma, [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)

**Goleva E, Jackson LP, Harris JK, et al.** The effects of airway microbiome on corticosteroid responsiveness in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2013 ; 188 : 1193–1201.

**Guilloux CA, Lamoureux C, Geneviève HA.** Les bactéries anaérobies, ces inconnues du microbiote pulmonaire *Med Sci (Paris)*, 34 3 (2018) 253-260

**Hilty M, Burke C, Pedro H, et al.** Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS ONE* 2010 ; 5(1):e8578.

**Jeunang A.** Intérêts et bénéfice de la mise en place de l'éducation thérapeutique Dans le contrôle de l'asthme chez l'enfant Expérience du CH de DREUX.2016;1-77.

**Kostic AD, Howitt MR, Garrett WS.** Exploring host–microbiota interactions in animal models and humans. *Genes Dev* 2013;27:701–18.

**Klebsiella pneumoniae.** fiche INVS Sources : <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/kk/klebsiella.html> et document Bio-Rad

**Koffi, et ses collaborateurs** .profil de l'asthmatique adulte suivi en consultation en ilieu africain à Abidjan.*Medicine d'Afrique Noir*; 2001.

**Larabi I, Loudj Z .** les pneumopathie bactériennes chez l'enfant .2015:1-95.

**Lougheed MD., Lemiere C., Ducharme F.et coll.** Mise à jour des Lignes directrices de la société canadienne de thoracologie : Diagnostic et gestion de l'asthme chez les enfants d'âge préscolaire, les enfants et les adultes. *Revue can pneumol* 2012 : 19(2), 127-6.

**Laure CR, Barbara C, Sylvie D .** L'asthme en France selon les stades de sévérité; 2000

**Martinez FD.** The human microbiome. Early life determinant of health outcomes. *Ann Am Thorac Soc* 2014;Suppl. 1:7–12.

## Référence bibliographique

---

- Michon AL, Marchandin H.** Diversité physiopathologique du microbiote respiratoire. 2015;13:37-49.
- Marsland BJ, Gollwitzer ES.** Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nat Rev Immunol* 2014;14:827–35
- Michel FB.** Asthmologie. Rueil. Malmaison : Sandoz 1981 ; 82p
- Makhloufi M, Guerinik M.** l'évolution du profil des asthmatiques en Alger; 2015
- Mahouachi R, Fennira H, Benkheder A.** La prise en charge de l'asthmatique au Maghreb. *Rev Fr Allergol* ; 1998;38 : 128-31.
- Masoli M, Fabian D, Holt S et al.** Global burden of asthma. *Global Initiative for Asthma (GINA)* ; 2004.
- Moreda R.** famille des entérobactéries;1992
- Nguyen LDN, Viscogliosi E, Delhaes L.** The lung mycobioime: an emerging field of the human respiratory microbiome. *Front Microbiol* 2015;6:89
- Nejmi H, Ejlaïdi A, Fath K, Hasni K, Nour-Idrissi K, Laghla B.** la prise en charge de l'asthme aiguë grave au Maghreb; 2010;p861
- Nodmann P, poirel L, toleman MA, walch TR.** does broad spectrum B lactam résistance due to NDN-1 Herald thé end of the antibiotic sera for treatment of infection caused by gram négative bacteria ,2010.
- Park H, Shin JW, Park SG, et al.** Microbial communities in the upper respiratory tract of patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *PloS One* 2014;9:e109710.
- Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, Coates A, van der Grinten CP, Gustafsson P, Hankinson J, et al.** Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005;26:948-968.
- Pison C, Devouassoux G, Pin I.** Asthma followup in consultation. *Rev Prat* 2001;51:493-501.

## Référence bibliographique

---

**Prescott MA, Pastey MK.** 2010. Identification of Unique Blood and Urine Biomarkers in Influenza Virus and Staphylococcus aureus Co-infection: A Preliminary Study. *Biomark Insights*, 5:145-151

**PAPIEROK G, PAULAT G.ESCORGUEL C.**Mycoplasmes : leur place en microbiologie. *Revue Française des Labos*, 1992, n°244.

**Philippon A.** Bactériologie médical ; 2006

**RICHARD Cl,et GRIMONT F.** Klebsiella, Enterobacter, Hafnia, Serratia, In : LE MINOR (L). *Bactériologie médicale*, Paris : Flammarion, 1992, 427-31p.

**Sanogo B.** ETUDE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUËS EN MILIEU COMMUNAUTAIRE CHEZ LES ENFANTS DE MOINS DE 5 ANS DANS LES REGIONS DE KAYES, SIKASSO, SEGOU ET MOPTI.2010;1-72.

**SYLLA M.** Infections Respiratoires Aiguës basses, Prise en charge et écrit en milieu hospitalier pédiatrique. Thèse, Médecine, Bamako, 1998, n° 60.

**Single T .**Bacteriologie,Paris,Donod.415p

**Thomas Prescott Atkinson, Mitchell F. Balish & Ken B. Waites.** Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of Mycoplasma pneumoniae infections. *Federation of European Microbiological Societies Microbiol Rev* 32 (2008) 956–973

**Trevisan, V.**les genres de batteriaceae (caractéristique de certains nouveaux genres de bacteriaceae).*att.accad .fis-med-stat.milano(ser4)(1885) 3:92-106*

**Flandrois JP.** Bactériologie médical. Coll azay.puf.2000

**Underhill DM, Iliev ID.** The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nat Rev Immunol* 2014;14:405–16.

**Université pierre et marie.** bactériologie,service de bactériologie.24 mars 2003

**Wibart P.** Asthme aigu grave : identification et bases de traitement. *JARCA* 2007 : 1-13.

## Référence bibliographique

---

**Yvonne J, Huang MD, et al.** Le microbiome dans l'asthme, MD J Allergy Clin Immunol. 2015 Jan; 135(1): 25–30 ; 2015)

**Zahhaf A.** Asthme aigu grave. Poumonpathologique. ifrance.com ; 2011

**Zhang Q, Cox M, Liang Z, et al.** Airway microbiota in severe asthma and relationship to asthma severity and phenotypes. PloS One 2016; 11 : e0152724.

<https://hopital-prive-clairval-marseille.ramsaygds.fr/vous-%C3%AAtes-patient-pourquoi-choisir-notre-%C3%A9tablissement-tous-nos-soins/asthme-2> (figure 3)


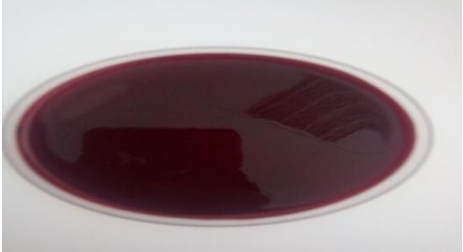

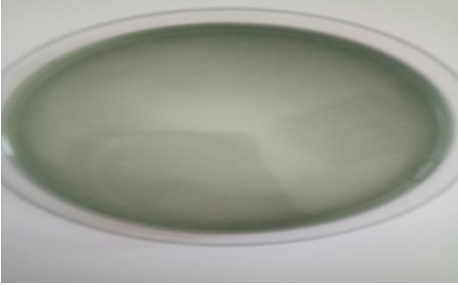
<http://infirmier-freedom.blogspot.com/2015/05/anatomie-des-poumons.html> (Figure 2)




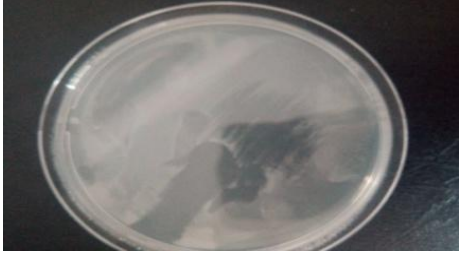


# Annexes

## Annexes

### Annexe N°1: la composition des milieux de culture

Milieux	Composition	Utilisation
<b>Gélose nutritive (GN)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Extrait de viande:1g/l</li> <li>-Peptone trypsine : 15g/l</li> <li>-Chlorure de sodium : 5g/l</li> <li>-Agar:15à20g/l</li> </ul>	 Milieu standard non sélectif.
<b>Gélose au sang frais (GSF)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-GN+5 à10% de sang de mouton</li> </ul>	 Utilisé pour les germes exigeant.
<b>Gélose au sang cuit (GSC)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-GN+5à10%de sang de mouton</li> <li>-portée 10min au bain marié à70-80C°</li> </ul>	 Utilisé pour les germes exigeant.
<b>Hektoen (Hk)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone : 12g/l</li> <li>-Extrait de levure3g</li> <li>-Na Cl: 15g</li> <li>-Sel biliaires: 9g</li> <li>-Thiosulfate de sodium: 5g/l</li> <li>-Citrate de fer ammoniacal : 1.5g/l</li> <li>-Lactose: 12g/l, Saccharose : 12g/l</li> <li>-Salicine: 2g/l</li> </ul>	 Milieu sélectif pour l'isolement des bactéries à gram négatif.

## Annexes

<p style="text-align: center;"><b>Chapman</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Extrait de viande de bœuf : 1g/l</li> <li>-Peptone : 10g/l</li> <li>-Mannitol: 10g/l</li> <li>-Chlorure de sodium : 75g/l</li> <li>-Rouge de phénol : 0.025g/l</li> <li>-Agar: 15g/l</li> <li>-PH=7</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">Milieu sélectif des bactéries du genre staphylococcus</p>
<p style="text-align: center;"><b>Sabouraud</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone: 10 g/l</li> <li>-Glucose : 20 g/l</li> <li>-Agar-agar:15 g/l</li> <li>-Eau distillée:1 000 ml</li> <li>-vitamines et facteurs de croissance</li> <li>-pH = 6</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">milieux d'isolement des Fungi (moisissures et levures).</p>
<p style="text-align: center;"><b>BCP</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-En gramme par litre de l'eau distillée</li> <li>- Peptone 5g</li> <li>- Extraite de viande 3g</li> <li>- Lactose 10 g</li> <li>- BCP 0,025 g</li> <li>-Agar 15 g</li> <li>- PH final =7</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">Milieu de base non sélectif pour l'isolement des bactéries.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Mac-conky</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peptone de caséine 17g/l</li> <li>- Peptone de viande 3 g/l</li> <li>-Sels biliaires 1,5g/l</li> <li>- cristal violet 0,001g/l</li> <li>-Lactose 10g/l</li> <li>-Rouge neutre 0,03g/</li> <li>-NaCl 5 g/l</li> <li>-Agar 13,5g/L</li> <li>-PH=7</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">Milieu sélectif pour l'isolement des Entérobactéries ; le lecteur se fait après 24h d'incubation en aérobie.</p>



## Annexes

---

### Annexe N ° 2 : Fiche exploitation de l'asthme

N d'ordre :

NOM :

RENOM:

AGE :

SEXE :

DATE :

SERVICE:

#### 1 -Facteurs déclenchant :

- Jardin : Oui  Non  Animaux à domicile : Oui  Non
  - Habitat : aéré, ensoleillé  humidité
  - Moquette, tapis, lit en laine de mouton : Oui  Non
  - Tabagisme passif : Oui  Non
  - Aliments : Oui  Non
- Préciser type:.....
- Médicaments (aspirine, AINS...) Oui  Non

-Antécédents d'asthme aigu grave : Oui  Non

#### -Hospitalisation:

- Hospitalisations antérieures pour crise d'asthme Oui  Non

Si oui :

Nombre d'hospitalisation :.....

#### 2- clinique:

##### Examen clinique :

- Fièvre : Oui  Non
- Tachycardie : Oui  Non
- polypnée : Oui  Non  Râles sibilants : Oui  Non
- Signes de détresse respiratoire : Oui  Non  Complications : Oui  Non

## Annexes

---

- Pneumothorax

Surinfection

Emphysème s/cutané

3-classification de l'asthme maladie:

Asthme intermittent

Asthme persistant léger

Asthme persistant modéré

Asthme persistant sévère

4-Co morbidité : Obésité

Diabète

Autres

5- Traitement:      oui  non

Si oui Préciser

6 - Antibiotique :    oui     non

Si oui Préciser




























## Annexes

Annexe N° 3: Tableau de lecture de la galeria

Lactose +	VP -	E-Coli	Cit -	LDC +	ODC +/-	Urée				
		Citrobacter	Cit +	LDC -	ODC +	Indole -	H2S -	C.diversus		
						Indole -	H2S +	C.frendij		
	Klebsielles	Cit +	LDC +	Urée +	Dégrade tous les sources	Indole +	K.oxytoxa			
						Indole -	K.pneumoniae			
	Enterobacter	Cit +	Indole -	ADH	LDC +	ODC +	FOX R	SOR	E.aerogene s	
									E.cloacae	
									E.sakazaki	
	Serratia	Cit +	Indole -	LDC +	ODC +	Gel +	ARA +	S.liquefasclens		
S.marcesens										
Cs en cocade										
Lactose -	TDA +	Proteus	Urée +	Indole -	H2S +/-	ODC +	Cit	P.mirabilis		
				+	H2S +/-	ODC -		P.vulgaris		
				+	H2S -	ODC -		+	Providencia rettgeri	
				+	H2S -	ODC +			Marganella morganii	
				Urée +	H2S -	Gaz -		Providencia stuartii		
			Gaz +	Providencia alcalifasciens						
	TDA -	Salmonelles	Urée -	H2S +	Gaz -	LDC +	ODC -	S.typhi		
				H2S -	Gaz +	LDC -	ODC +	S.para A		
				H2S +	Gaz +	LDC +	ODC +	S.Para B		
				Shigelles Galerie inerte						

## Annexes

Annexe N 4: Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E.

<b>TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E</b>						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H <sub>2</sub> S	Thiosulfate de sodium	Production d'H <sub>2</sub> S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoine (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO <sub>2</sub> / N <sub>2</sub>	Nitrates (NO <sub>3</sub> )	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

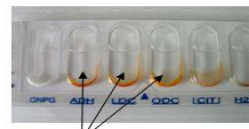
Annexe N ° 5: Ensemencement de la galerie API 20E.

### Ensemencement de la galerie API 20E

 Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ouverte **pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté** pour éviter la formation de bulles



Remplir de suspension le tube et la cupule  
Pour les tests : [CIT] [VP] [GEL]



Recouvrir d'huile de paraffine  
Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE

# Annexes

## Annexe N ° 6 : lecture des résultats de la galeria

Lecture des résultats de la galerie :

Résultats reportés sur la fiche d'identification

Ident.

Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code

## Résumé :

Notre étude a montré, sur la base de 29 vingt-neuf patients ayant consultés aux du service de pneumologie- phtisiologie CHU Mustapha Bacha et urgences de l'établissement public hospitalier de thenia dans la période du 03 mars au juin 2019 est effectuée afin d'étudier le microbiote respiratoire dans l'asthme chez les adultes dont on a isolée et identifiée des différents germes présent dans les crachats et les détecter. le sexe féminin est prédominant (62%) (N=18) que masculin (38%) (N=11). Les tranches d'âge les plus touchées par l'asthme sont l'inférieur à 57ans (24,13%).les germes les plus souvent incriminés dans l'asthme étaient cocci gram positifs (50%) avec une dominance de *staphylococcus aureus* (48%).

**Mots clé :** Microbiote respiratoire, Asthme

## Abstract :

Our study showed, on the basis of 29 twenty-nine patients having consulted at the patients department of pneumology-phtisiology CHU Mustapha Bacha and emergencies of thenia public hospital in the period from march 03 to june , 2019 is carried out in order to study the respiratory microbiota in asthma in adults from whom sputum has been isolated and identified in different sputum and detected. the female sex is predominant (62%) (N=18) than male (38%) (N=11). the age groups most affected by asthma are less than 57 years (24,13%). the most frequently implicated germs in asthma were gram-positive cocci (50%) with a dominance of *staphylococcus aureus* (48%).

**Key words :** Respiratory microbiota, Asthma

## الخلاصة :

أظهرت دراستنا ، على أساس 29 تسعة وعشرين مريضًا بعد التشاور معهم في قسم أمراض الرئة والفيزيولوجيا CHU مصطفى باشا وحالات الطوارئ في مستشفى الثنية العام في الفترة من 03 مارس إلى يونيو 2019 من أجل دراسة الجراثيم التنفسية في الربو لدى البالغين الذين تم عزل البلغم وتحديد الجراثيم التي يحتويها واكتشافهم ، والجنس الأنثوي هو الغالب (62%) (N=18) والذكور (38%) (N=11). الفئات العمرية الأكثر تأثرًا بالربو نقل عن 57 عامًا (24.13%) ، وكانت أكثر الكائنات المتورطة شيوعًا في الربو هي gram Cocci إيجابية (50%) مع هيمنة المكورات العنقودية الذهبية db (*Staphylococcus aureus*) (48%)

الكلمات المفتاحية: الميكروبات التنفسية ، الربو