

Cours I : Anatomie fonctionnelle des bactéries

I. Citer les constituants cellulaires communs à toutes les bactéries et ceux qui sont facultatifs. Citer leurs principales fonctions.

Les constituants cellulaires communs à toutes les bactéries sont :

- l'appareil génétique
 - 80% d'ADN chromosomique (double hélice d'ADN circulaire)
 - 10% d'ARN (rôle de structuration)
 - 10% de protéines :
 - ADN polymérases (copient l'ADN)
 - ARN polymérases (synthèse des ARN)
 - Topoisomérases (compactent et déroulent l'ADN)
- les plasmides
 - le facteur F (sexuel ou fertilité) transfère de fragments de chromosomes bactériens par conjugaison
 - les facteurs R (plasmides de résistance aux antibiotiques par enzymes inactivatrices)
 - les plasmides de virulence (toxines, systèmes d'attachement ou facteurs d'invasion tissulaire)
- le cytoplasme
 - riche en ARN ribosomal (ribosomes en deux sous unités : 30S et 50S)
 - riche en ARN libre
- la membrane cytoplasmique (membrane interne) limite le cytoplasme
 - double couche de phospholipides et de protéines associées (dont la Penicillin-Binding-Proteins qui synthétise le peptidoglycane)
 - fonction respiratoire (transport d'électrons et phosphorylation oxydative pour les espèces aérobies)
 - barrière osmotique et transport actif
 - efflux actifs des molécules toxiques
 - excrétion d'enzymes qui dégradent des polymères du milieu extérieur (pour les importer)
 - support d'enzymes assurant le transport vers l'extérieur de précurseurs qui sont intégrés dans les polymères de la paroi
- la paroi bactérienne (structure rigide polymérique ; substance de base, le peptidoglycane)
 - le peptidoglycane, polymère complexe composé :
 - de monomères de N-acétylglucosamine et N-acétylmuramique
 - reliés entre eux par des transglycosylases pour former des chaînes peptidiques
 - et par des ponts interpeptidiques assurés par des transpeptidases (Penicillin-Binding-Proteins)
 - elle confère à la bactérie sa morphologie
 - elle contient la pression osmotique interne
 - elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram
 - elle joue un rôle dans l'antigénicité des bactéries
 - elle est le support de l'action d'enzymes exo et endogènes et de certains antibiotiques
 - elle est capable d'activer le complément par la voie interne (défense non spécifique contre l'infection)

Les constituants cellulaires facultatifs des bactéries sont :

- la capsule (enduit sécrété par certaines bactéries, polysaccharidique ou polypeptidique)
 - rôle important dans le pouvoir pathogène
 - rôle protecteur contre la phagocytose
 - caractère antigénique de la capsule utile pour le sérotypage
- les cils ou flagelles (appendices filamenteux de protéines flagellaires appelées flagellines)
 - ancrés dans la membrane cytoplasmique et la paroi, ce sont les organes de la locomotion
 - caractère antigénique des flagellines utile pour le sérotypage
- les pili ou fimbriae (appendices de surface plus court et plus fins que les flagelles, surtout chez Gram -)
 - les pili communs (structures protéiques filamenteuses de piline disposées régulièrement à la surface)
rôle dans la fixation de la bactérie sur les muqueuses, ce qui conditionne pouvoir pathogène
 - les pili sexuels (plus longs mais moins nombreux, codés par les facteurs F)
rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison
- les spores (résultat d'une différenciation cellulaire en réponse à un environnement défavorable)
 - cellule bactérienne au repos hautement résistante à la dessiccation, la chaleur et aux agents chimiques
 - contient tout ce qui est essentiel à la survie et dans les bonnes conditions, redonne une bactérie

Cours I : Anatomie fonctionnelle des bactéries

2. Citer les principaux constituants cellulaires d'une bactérie et donner pour chacun un exemple d'antibiotique dont il est la cible.

Tableau 1 Structures bactériennes et cibles des antibiotiques

Familles	Cible ou structure	Cibles spécifiques
Fosmomycine	inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Enzymes de synthèse des précurseurs
Beta-lactamines		PLP (ou PBP)
Glycopeptides		Dimère D-ala D-ala du pentapeptide de jonction
Sulfamides Triméthoprim	inhibition de la synthèse des bases puriques	enzymes de la voie de synthèse
Quinolones	inhibition de la Réplication de l'ADN	DNA gyrases et Topoisomérases
Rifamycines	inhibition de la transcription de l'ADN	ARN polymérase
Aminosides	inhibition de la synthèse protéique	Ribosomes (sous unité 30S)
Macrolides		Ribosomes (sous unité 50S)
Tétracyclines		Ribosomes (sous unité 30S)
Phénicolés		Ribosomes (sous unité 50S)
polymyxines	Altération de la structure membranaire	Membrane externe + membrane cytoplasmique

Cours I : Anatomie fonctionnelle des bactéries

3. Quelles sont les différences entre la paroi des bactéries à Gram positif et celle des bactéries à Gram négatif? Implications médicales.

- Chez les bactéries à Gram positif :
 - nombreuses couches de peptidoglycane (90% des constituants de la paroi)
 - feutrage d'acides teichoïques (polymère du glycérol ou du ribitol phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie.
Les acides lipoteichoïques sont transversaux et s'ancrent dans la membrane cytoplasmique.
 - en général, pas ou peu de protéines dans la paroi des bactéries à Gram positif (sauf exceptions)
 - chez les mycobactéries, on retrouve aussi dans la paroi :
 - un polysaccharide, l'arabinogalactane lié de manière covalente au peptidoglycane
 - les acides mycoliques (lipides très longs) liés de manière covalente à l'arabinogalactane
- Chez les bactéries à Gram négatif :
 - une ou deux couches de peptidoglycane (5 à 20% des constituants de la paroi)
 - une autre structure complexe située à l'extérieur du peptidoglycane complète la paroi, il s'agit de la membrane externe, qui est constituée :
 - d'un feuillet de phospholipides
 - d'un feuillet de lipopolysaccharides (LPS) formé du lipide A auquel est associé un polysaccharide
 - de protéines spécifiques associées à la paroi :
 - protéines de structure qui consolident la membrane externe
 - porines qui permettent le passage de petites molécules hydrophiles
 - lipoprotéines qui assurent le lien entre le peptidoglycane et la membrane externe
- Implications médicales :
 - la paroi des mycobactéries très riche en lipides leur confère :
 - une résistance naturelle à de nombreux antiseptiques et antibiotiques
 - des propriétés tinctoriales (acido-alcool résistance) utiles dans la coloration de Ziehl
 - chez les bactéries à Gram négatif :
 - le LPS est très toxique, c'est l'endotoxine des bactéries à Gram négatif, il entraîne :
 - des troubles thermiques (fièvre ou hypothermie)
 - des troubles cardiovasculaires (choc)
 - des troubles de la coagulation (purpura, coagulation intravasculaire disséminée)
 - le polysaccharide attaché au lipide A est responsable de la spécificité antigénique (antigène O)
utile pour le sérotypage de certaines bactéries et le sérodiagnostic de certaines infections
 - les porines permettent le passage des antibiotiques

Figure 4
Bactéries à Gram positif

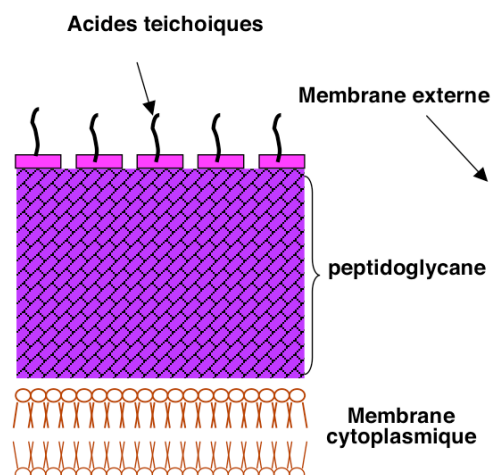
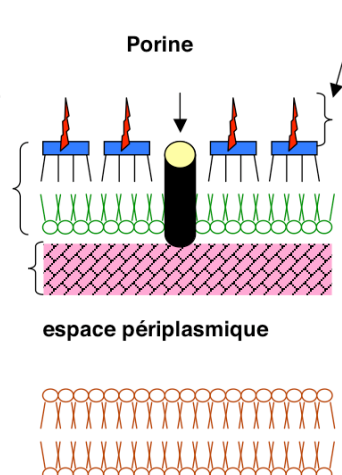


Figure 5
Bactérie à Gram négatif



Cours I : Anatomie fonctionnelle des bactéries

4. Différenciation des bactéries par la coloration de Gram : rappeler les étapes de la coloration, décrire les structures cellulaires qui sont responsables de la différence de coloration entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

- Chez les bactéries à Gram positif :
 - nombreuses couches de peptidoglycane (90% des constituants de la paroi)
 - feutrage d'acides teichoïques (polymère du glycérol ou du ribitol phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie.
Les acides lipoteichoïques sont transversaux et s'ancrent dans la membrane cytoplasmique.
 - en général, pas ou peu dans la paroi des bactéries à Gram positif (sauf exceptions)
- Chez les bactéries à Gram négatif :
 - une ou deux couches de peptidoglycane (5 à 20% des constituants de la paroi)
 - une autre structure complexe située à l'extérieur du peptidoglycane complète la paroi, il s'agit de
 - la membrane externe, qui est constituée :
 - d'un feuillet de phospholipides
 - d'un feuillet de lipopolysaccharides (LPS) formé du lipide A auquel est associé un polysaccharide
 - de protéines spécifiques associées à la paroi :
 - protéines de structure qui consolident la membrane externe
 - porines qui permettent le passage de petites molécules hydrophiles
 - lipoprotéines qui assurent le lien entre le peptidoglycane et la membrane externe
- La coloration de Gram :

Elle nécessite un frottis fixé soit par l'alcool, soit par une fixation à l'eau et à la flamme.

On effectue une coloration au violet de gentiane (30s) puis on rince à l'eau

 - la coloration se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries

On effectue un mordantage au lugol (30s) puis on rince à l'eau

 - le lugol permet de fixer cette coloration violette interne

On effectue une décoloration rapide à l'alcool (au goutte-à-goutte) puis on rince à l'eau

 - cette étape permet de décolorer le cytoplasme des bactéries Gram négatives :
 - leur paroi est plus pauvre en peptidoglycane et donc plus fine et laisse passer l'alcool (et acétone)
 - ces derniers vont éliminer le violet de gentiane et donc décolorer ces bactéries
 - les bactéries à Gram positif restent violettes grâce à leur couche épaisse de peptidoglycane

On effectue une recoloration à la safranine (ou la fuchsine) puis on rince à l'eau et on sèche la lame

 - cette coloration permet de donner une teinte rosée au cytoplasme des bactéries à Gram négatif
 - les bactéries à Gram positif, restées violettes, sont insensibles à cette coloration

Cours 2 : Génétique bactérienne

I. Caractères généraux des mutations bactériennes, et mécanismes moléculaires impliqués.

La mutation est une modification du génome bactérien (ADN)

- elle est spontanée
 - elle n'est pas induite par l'agent sélecteur (antibiotique par exemple)
 - celui-ci ne fait que "révéler" la conséquence phénotypique de la mutation
- elle est discontinue (caractère brusque)
 - la mutation se produit en une seule étape (loi du tout ou rien)
 - toutefois la résistance à certains antibiotiques résulte de l'addition de plusieurs mutations successives survenant dans un même gène ou dans plusieurs gènes
 - c'est le cas de la résistance de haut niveau aux quinolones chez E. coli
- elle est héréditaire (stable)
 - même en l'absence d'agent sélecteur le caractère acquis par mutation est transmis à la descendance et se maintient dans les subcultures
 - la stabilité n'exclut pas une réversibilité de la mutation au moins aussi rare que la mutation initiale
- elle est rare (10^{-6} à 10^{-9})
 - il s'agit d'un phénomène qui n'affecte qu'une faible fraction de l'ensemble des cellules bactériennes au sein d'une large population
 - pour une même espèce, la proportion de mutants présents au sein d'une population sauvage (taux de mutation) peut différer beaucoup selon le caractère considéré
 - les mutants peuvent être sélectionnés parce qu'ils possèdent un avantage physiologique "sélectif"
- elle est indépendante du caractère codé par le gène affecté (non spécifique, aléatoire)
 - la mutation d'un caractère donné ne modifie pas la probabilité de mutation d'un autre caractère c'est l'indépendance des mutations, d'où $P(M_1 \text{ et } M_2) = P(M_1) * P(M_2)$
 - la mutation n'affecte habituellement qu'un seul caractère en respectant les autres si sur un opéron (gène gouvernant plusieurs caractères phénotypiques) $\Rightarrow$ mutation pléiotrope

La mutation à l'échelon moléculaire est un changement dans la séquence nucléotidique d'un gène

- consécutif à la substitution d'une paire de bases
 - transition : AT remplacé par GC
 - transversion ou inversion : AT devient TA
 - la plupart de ces mutations sont réversibles
 - certaines sont silencieuses (surtout si touchant le troisième nucléotide du codon)
 - certaines sont létales (par exemple si elle introduit un codon stop)
- consécutif à une cassure de l'ADN
 - affecte en général une série séquentielle de bases
 - peut entraîner la délétion ou l'inversion de cette séquence ou l'insertion d'une nouvelle séquence
 - elles sont en général non réversibles et souvent létales

Cours 2 : Génétique bactérienne

2. Transfert de matériel génétique : en décrire les différents types.

- la transformation est un transfert passif d'un fragment nu d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie
 - naturelle (physiologique) : exige l'état de compétence de la bactérie réceptrice qui n'apparaît qu'à certains stades de la division cellulaire et seulement chez une fraction de la population bactérienne
 - artificielle : peut être obtenue par un traitement chimique, enzymatique ou physique de la paroi bactérienne avant sa mise en contact avec l'ADN
 - elle se produit selon les phases suivantes :
 - apparition de l'état de compétence de la cellule réceptrice
 - fixation de l'ADN à la surface de cette cellule
 - pénétration de l'ADN
 - intégration de l'ADN dans le génome (ADN d'une espèce génétiquement proche)
 - elle ne permet que le transfert d'une petite fraction du génome bactérien (<1%)
 - elle est d'efficacité relative (fréquence de transfert : de 10^{-6} à 10^{-4})
 - elle est limitée à quelques espèces bactériennes
 - intérêt médical : rôle important dans l'évolution vers la résistance du pneumocoque aux β -lactamines
- la conjugaison est un transfert actif d'ADN entre une bactérie donatrice (F+) et une bactérie réceptrice qui résulte d'un contact physique entre ces bactéries. Elle repose sur la présence d'un facteur F.
 - spécificité : elle ne peut se produire qu'entre des bactéries d'une même espèce ou très proches, mode particulièrement fréquent chez les bactéries à Gram négatif comme les entérobactéries
 - différenciation sexuelle : le transfert est à sens unique
 - il repose sur la présence chez la bactérie donatrice du facteur F
 - ce facteur confère la polarité ou le caractère mâle (F+)
 - il code pour la biosynthèse de pili sexuels et pour la mobilisation de l'ADN
 - contact ou appariement
 - les pili sexuels (2 à 3 par bactérie F+) peuvent reconnaître par leur extrémités les zones de contact à la surface des bactéries F-
 - ils s'y fixent puis se rétractent en rapprochant les deux cellules
 - ils permettent le contact et la formation d'un pont cytoplasmique de 100 à 300 μ m
 - transfert de l'ADN : il ne porte que sur un brin (respect de l'intégrité de la cellule donatrice)
 - il est à sens unique, orienté, progressif et parfois total
 - il commence par les premiers gènes répliqués (en aval immédiat du centre de réplication)
 - facteur F intégré dans le chromosome bactérien :
 - le transfert commence par les gènes en aval immédiat du site d'insertion (gènes Hfr)
 - le transfert des gènes du facteur F ne peut avoir lieu que lorsque tous les gènes chromosomiques ont été transférés
 - facteur F intégré à un plasmide : plasmides conjugatifs (ADN extrachromosomique)
 - F-duction ou sex-duction : le plasmide conjugatif est capable de transférer les gènes qu'il porte à une bactérie réceptrice (résistance aux antibiotiques souvent)
 - il est plus répandu parmi les espèces bactériennes que F intégré au chromosome
 - il est moins spécifique d'espèce que lorsque F est intégré au chromosome
- la transduction est le transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire de bactériophages (virus de bactéries)
 - selon la forme du phage, on distingue deux cycles :
 - forme virulente : multiplication dans la bactérie, lyse puis libérations des nouveaux virus
 - forme tempérée : intégration dans le chromosome bactérien. Virus appelé prophage et bactérie appelée bactérie lysogène. Puis un prophage se libère du chromosome et devient virulent.
 - lors de l'excision du chromosome, le phage peut emporter des gènes chromosomiques bactériens et il peut alors assurer le transfert de ces génomes d'une bactérie à une autre
 - la transduction concerne les espèces à Gram positif ou négatif
 - conversion lysogénique : le génome du phage contient un nouveau caractère très important pour la bactérie réceptrice (ex : sécrétion de la toxine érythrogène par un streptocoque A)
 - transduction : le phage a juste un rôle de vecteur

Cours 2 : Génétique bactérienne

3. Plasmides et transposons : description brève, conséquences médicales.

- Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaire, circulaires et cytoplasmiques
 - de petite taille (10 à 1000 fois plus petites que le chromosome)
 - leur répllication est autonome et non nécessaire au métabolisme normal de la cellule hôte
 - ils confèrent aux bactéries qui les hébergent de nombreux caractères génétiques supplémentaires
 - ils représentent un élément essentiel de l'adaptation bactérienne
 - ils sont responsables d'épidémies de gènes à travers le monde bactérien notamment ceux de la résistance aux antibiotiques
- Les transposons :
 - fragment d'ADN limité de part et d'autre par des séquences répétitives inversées (IR)
 - ces IR appartiennent à des séquences d'insertion (IS)
 - ces IS portent les gènes nécessaires à la transposition (excision, intégration)
 - la partie centrale du transposon porte les marqueurs spécifiques (ex : gènes de résistance)
 - la transposition joue un rôle majeur dans l'évolution bactérienne en permettant l'échange de gènes entre plasmides et entre plasmides et chromosomes (acquisition de propriétés nouvelles)
 - recombinaison "illégitime" : l'intégration se fait directement en l'absence d'homologie de séquence

Les séquences d'insertion :

- elles s'insèrent sur une séquence cible en entraînant sa duplication
- elle laisse sa trace d'insertion en s'excisant, entraînant l'inactivation du gène ciblé
- certaines IS ont dans leurs extrémités 3' des séquences très proches des séquences consensus de promoteurs procaryotes
 - cela entraîne une expression à haut niveau des gènes en aval de l'insertion
 - avant l'insertion, leur expression était soit silencieuse soit à bas niveau
- d'autres IS sont capables d'emmener une partie de l'ADN adjacent lors de leur déplacement
- bon nombre de gènes de résistance aux antibiotiques provenant du chromosome de bactéries de l'environnement ont ainsi été ainsi mobilisés sur des plasmides conjugatifs

Cours 3 et 4 :

Familles d'antibiotiques

- Définition : agents antibactériens naturels ou obtenus par synthèse ou par semi-synthèse présentant une activité sélectivement dirigée contre les bactéries :
 - liée à un mécanisme d'action spécifique
 - exercée à de faibles concentrations
 - sur certaines espèces bactériennes (spectre d'activité large ou étroit)
 - relativement lente
 - bactériostatique (inhibiteur de croissance)
 - ou bactéricide (activateur d'enzymes autolytiques entraînant une lyse bactérienne)
- Classification : par famille et la structure chimique de base :
 - β -lactamines :
 - pénicillines (ex : amoxicilline)
 - céphalosporines (ex : céfotaxime)
 - carbapénèmes (ex : imipénème)
 - monobactam (ex : aztréonam)
 - fosfomycine
 - glycopeptides (ex : vancomycine)
 - aminosides (ex : gentamycine)
 - quinolones
 - quinolones (ex : acide nalidixique)
 - fluoroquinolones (ex : ciprofloxacine)
 - polymyxines B et E (ex : colistine)
 - macrolides et apparentés
 - macrolides (ex : érythromycine)
 - lincosamines (ex : lincocine)
 - streptogramines (ex : pristinaamycine)
 - cyclines (ex : tétracycline)
 - rifamycine (ex : rifampicine)
 - phénicoles (ex : chloramphénicol)
 - nitro-imidazoles (ex : métronidazole) : activité anti anaérobies stricte
 - sulfamides (ex : sulfadiazine)
 - diaminopyrimidines (ex : triméthoprim)
 - acide fusidique
- Toxicité :
 - β -lactamines : allergie
 - Aminosides : rein et audition
 - Quinolones : cartilages (enfants) et tendons (personnes âgées), exposition au soleil
 - Phénicolés : moëlle osseuse
 - Sulfamides : allergie
 - Cyclines : minéralisation dentaire et osseuse, exposition au soleil

Cours 3 et 4 :

Structures bactériennes et cibles des antibiotiques

Familles	Cible ou structure	Cibles spécifiques
Fosmomycine	inhibition de la synthèse du peptidoglycane	Enzymes de synthèse des précurseurs
Beta-lactamines		PLP (ou PBP)
Glycopeptides		Dimère D-ala D-ala du pentapeptide de jonction
Sulfamides Triméthoprim	inhibition de la synthèse des bases puriques	enzymes de la voie de synthèse
Quinolones	inhibition de la Réplication de l'ADN	DNA gyrases et Topoisomérases
Rifamycines	inhibition de la transcription de l'ADN	ARN polymérase
Aminosides	inhibition de la synthèse protéique	Ribosomes (sous unité 30S)
Macrolides		Ribosomes (sous unité 50S)
Tétracyclines		Ribosomes (sous unité 30S)
Phénicolés		Ribosomes (sous unité 50S)
Polymyxines	Altération de la structure membranaire	Membrane externe + membrane cytoplasmique

4. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES ET ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Antibiotiques	Voies d'administration	Elimination	Activité antibactérienne
Beta-lactamines	Per Os, IM, IV	Urinaire	Bactéricide Temps dépendant
Aminosides	IV	Urinaire	Bactéricide Cc dépendant
Quinolones	Per Os, IV	Urinaire	Bactéricide Cc dépendant
Cyclines	Per Os, IV	Biliaire	Bactériostatique
Macrolides & apparentés	Per Os, (IV)	Biliaire	Bactériostatique
Phénicolés	Per Os	Biliaire	Bactériostatique
Sulfamides-triméthoprim	Per Os, (IV)	Urinaire	Bactériostatique

5. PRINCIPALES CONTRE-INDICATIONS

	Terrain		
	Femme enceinte	Nouveau-né	Enfant < 8ans
Beta-lactamines	Non	Non	Non
Aminosides	Oui ¹	Non	Non
Quinolones	Oui ²	Oui	Oui ³
Cyclines	Oui	Oui	Oui
Macrolides & apparentés	Non	Non	Non
Sulfamides & triméthoprim	Oui	Oui	Non
Phénicolés	Oui	Non	Non

1 : sauf si le pronostic vital est en jeu

2 : sauf au deuxième trimestre de la grossesse

3 : peuvent être prescrit chez l'enfant de plus de quinze ans et exceptionnellement avant si le pronostic vital est en jeu

Cours 3 et 4 :

Les flores microbiennes normales de l'homme

- Classification fonctionnelle des bactéries en infectiologie :
 - espèces pathogènes : espèces intrinsèquement pathogènes ou parasites :
 - réservoir : homme malade ± animaux malades
 - espèces commensales : espèces comportant les flores de l'homme normal, potentiellement pathogènes (opportunisme) pour certaines
 - réservoir : homme sain
 - espèces saprophytes : espèces de la nature, potentiellement pathogènes pour certaines
 - réservoir : sol, eau, plantes
- La flore bactérienne commensale : elle participe activement au maintien de la santé
 - la flore cutanée : variable en qualité et en quantité selon la topographie (10^2 à 10^6 par cm^2)
 - résidente : espèces à Gram + (staphylocoques à coagulase négative et corynébactéries)
 - transitoire : staphylocoques dorés
 - les mains ont souvent une flore transitoire abondante d'où leur rôle essentiel dans la transmission croisée
 - la flore de l'arbre respiratoire supérieur : variable et abondante au niveau du rhinopharynx
 - staphylocoque doré (orifices nasaux en particulier)
 - streptocoque (dont *S. pneumoniae*)
 - haemophilus (dont *H. influenzae*)
 - la flore génitale : rôle de protection, essentiel chez la femme
 - lactobacilles acidophiles (Döderlein) par leur sécrétion d'acide lactique maintiennent un pH bas
 - flore commensale réduite (streptocoque, corynébactéries et bifidobactéries)
 - la flore digestive : la plus abondante et la plus importante, varie selon les étages du tube digestif
 - bouche ($10^8/\text{ml}$ de salive) : streptocoques (génése plaque dentaire), entérobactéries et anaérobies
 - estomac (10 à $10^2/\text{ml}$) : flore très pauvre du fait de son acidité
 - intestin grêle ($10^8/\text{ml}$) : flore limitée par le péristaltisme et l'abondance des sécrétions
 - on retrouve des streptocoques, des staphylocoques et des lactobacilles
 - colique ($10^{12}/\text{gr}$) : très variée et abondante ; stable, elle limite l'implantation d'espèces pathogènes par la prédominance des anaérobies strictes (99,9%) : Bactéroïdes, Bifidobactérium, Clostridium puis entérobactéries (*E. coli*), entérocoques et staphylocoques
 - rôle de creuset des échanges génétiques entre bactéries (humaines et environnement)
 - l'impact des traitements antibiotiques sur les flores commensales (pression de sélection) et la transmission croisée sont les éléments-clefs de l'évolution des résistances bactériennes

Cours 5 : Staphylocoques

I. Les facteurs de virulence chez *S. aureus*. Leur rôle dans son pouvoir pathogène.

Les facteurs de virulence sont :

- les composants de la paroi entraînent des effets biologiques démontrés in vivo comme la sécrétion de cytokines par des cellules lympho-monocytaires :
 - les polysaccharides capsulaires (90% des souches en ont) permettent une meilleure résistance à la phagocytose et l'opsonisation
 - certaines souches produisent un glycocalix (biofilm adhérent entourant les bactéries) leur permettant d'infecter les biomatériaux et de résister aux antibiotiques
- les facteurs d'invasion et d'adhésion : *S. aureus* colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. Cette adhésion se fait par l'intermédiaire de protéines de surface, les adhésines, qui sont ancrées dans le peptidoglycane.
 - la protéine A (que chez les souches humaines) se lie au fragment Fc des immunoglobulines elle intervient dans l'opsonisation et la phagocytose
 - la protéine de liaison au collagène permet l'adhésion de *S. aureus* au cartilage
 - la protéine de liaison à la fibronectine permet l'adhésion aux caillots plasmatiques, aux biomatériaux
 - la protéine de liaison au fibrinogène provoque l'agrégation de bactéries en présence de plasma
 - la protéine de liaison à l'élastine
- les substances élaborées par *S. aureus* : protéines diffusibles d'activité toxique, ou juste enzymatique
 - les toxines :
 - hémolysines (α) : action cytotoxique sur de nombreuses cellules
 - la cytolyse de plaquettes et de monocytes libère des cytokines et d'autres médiateurs de la réaction inflammatoire impliqués dans le choc septique
 - la destruction de cellules endothéliales favorise la dissémination des bactéries et les métastases infectieuses
 - leucocidine : formée de deux composés codés par des gènes distincts agissant en synergie
 - elle agit sur les polynucléaires et les macrophages en provoquant la lyse cellulaire
 - elle a un rôle important dans la formation du pus
 - exfoliatine : protéine thermostable donnant une épidermolyse (décollement intra épidermique)
 - elle est responsable des lésions bulleuses généralisées que l'on peut observer
 - elle est aussi impliquée dans l'impétigo staphylococcique
 - entérotoxines : protéines thermostables et insensibles aux enzymes du suc digestif
 - elles sont responsables d'intoxications alimentaires (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales et absence de fièvre)
 - d'apparition rapide (quelques heures après l'ingestion)
 - toxine responsable du choc staphylococcique (TSST-I) : effet pyrogène
 - elle se comporte comme un superantigène qui active simultanément de nombreuses sous-populations lymphocytaires
 - ce qui entraîne la libération de médiateurs (IL, TNF- α , Interféron γ) responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique
 - les enzymes :
 - coagulase libre : exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin, toujours chez *S. aureus*
 - elle active la prothrombine en thrombine qui transforme le fibrinogène en fibrine
 - facteur primordial dans le pouvoir pathogène : elle coagule le plasma autour des bactéries ce qui les protège de la phagocytose
 - associée à l' α -hémolysine elle est à l'origine de thrombophlébites suppurées
 - fibrinolysine : active le plasminogène en plasmine
 - elle provoque la dislocation des caillots endoveineux qui libère des embolus septiques
 - ceux-ci sont à l'origine de bactériémies et de localisations septiques secondaires
 - désoxyribonucléases : facteurs de destruction des noyaux cellulaires
 - hyaluronidase : hydrolyse l'acide hyaluronique et favorise ainsi la diffusion des staphylocoques
 - lipase : facteur de virulence dans les abcès ou elle favorise la survie des staphylocoques en modifiant les lipides bactériens

Cours 5 : Staphylocoques

2.Diagnostic bactériologique des infections à *S. aureus*

- Le diagnostic bactériologique de l'infection staphylococcique est uniquement direct. Il est en trois étapes :
 - le prélèvement : aseptique et effectué avant le début du traitement antibiotique
 - pus, tissus infectés et hémocultures si infection sérieuse
 - l'examen microscopique d'orientation à la recherche de Cocci à Gram positif groupés en amas
 - la culture sur gélose ordinaire
- L'identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivant :
 - catalase (contrairement aux streptocoques)
 - fermentation du glucose en anaérobiose (contrairement aux microcoques)
 - coagulase (contrairement aux staphylocoques à coagulase négative)
 - protéine de liaison au fibrinogène (clumping factor)
- Le diagnostic est toujours complété par un antibiogramme étant donné la fréquence de la résistance de *S. aureus* aux β -lactamines :
 - résistance aux pénicillines G et A par production de pénicillinases (très fréquent, même pour les souches communautaires)
 - résistance à l'ensemble des β -lactamines par acquisition d'une nouvelle protéine de liaison aux pénicillines PLP-2A qui leur est insensible. Apanage des souches hospitalières, aussi appelées SARM
 - *S. aureus* résistante à la méticilline, souvent résistantes à d'autres classes d'antibios (multirésistantes)
 - résistance aux aminosides
 - résistance aux macrolides

Cours 5 : Staphylocoques

3. Quelles sont les différences bactériologiques essentielles entre un staphylocoque et un streptocoque ?

- Au microscope :
 - Staphylocoques : cocci à Gram positif en amas en forme de grappes de raisin ; la grande majorité des souches sont capsulées
 - Streptocoques : cocci à Gram positif groupés en chainettes plus ou moins longues et flexueuses
- En culture :
 - Staphylocoques : se cultivent facilement sur les milieux usuels mais aussi dans des conditions hostiles
 - Streptocoques : germes exigeants ne poussant pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés en sérum ou sang frais
- Caractères biochimiques :
 - Staphylocoques : métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, catalase positif
 - Streptocoques : métabolisme anaérobie, tolérant l'oxygène, catalase négatif

Décrire brièvement les deux tests les plus utilisés pour différencier un *S. aureus* d'un staphylocoque à coagulase négative.

- On effectue une recherche de la coagulase de la façon suivante :
 - on dépose sur une lame une goutte de réactif test et une goutte de réactif contrôle
le réactif contrôle est constitué d'hématies de mouton sensibilisées par du fibrinogène
 - on met dans chacune quelques colonies de staphylocoques en suspension
 - une réaction positive se traduit par une agglutination :
 - agglutination en moins de 15 secondes pour le réactif test et non pour le contrôle : coagulase +
 - absence d'agglutination des deux réactifs : coagulase -
 - agglutination du réactif de contrôle : staphylocoque autoagglutinable, on ne peut donc pas conclure
- On effectue une recherche de la désoxyribonucléase de la façon suivante :
 - on ensemence un bouillon cœur-cerveille pendant 24h avec la souche à étudier
 - on en place ensuite une partie à 100°C pendant 15 minutes, et on conserve le reste
 - dans la gélose au bleu de toluidine, on perce trois trous que l'on inocule :
 - dans le premier, on place du bouillon stérile (contrôle négatif)
 - dans le deuxième, on place du bouillon chauffé
 - dans le troisième, on place du bouillon non chauffé
 - on incube pendant 4h à 37°C
 - l'observation d'un halo rose signe la présence d'une désoxyribonucléase autour des trous percés sur le fond bleu de la gélose :
 - puits 1 rose : test invalide, à recommencer
 - puits 2 rose et puits 3 bleu : la souche possède une DNase non thermostable
 - puits 2 et 3 roses : la souche possède une DNase thermostable

Cours 5 : Staphylocoques

4. Citer les différentes pathologies provoquées par le staphylocoque doré.

- Infections cutané-muqueuses :
 - atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncle, anthrax)
 - impétigo
 - atteinte péri-unguéale (onyxis, péri-onyxis)
 - atteinte du tissu sous-cutané (panaris, abcès, phlegmons)
 - surinfections des plaies et des brûlures
 - formes muqueuses : otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites
- Infections généralisées :
 - septicémie succédant à un foyer initial cutané-muqueux
 - diffusion dans le tissu conjonctif et atteinte des veines donnant la séquence : caillot, phlébite suppurée et embolies septiques
 - se complique de localisations viscérales :
 - ostéo-articulaires : ostéomyélite
 - pleuro-pulmonaires : abcès du poumon
 - cardiaques : endocardite aiguë
 - rénales : abcès
- Intoxications alimentaires : par absorption d'entérotoxine thermostable préformée dans des aliments contaminés par une souche productrice
- Syndrome de choc toxique : il associe
 - une hypotension artérielle
 - un état de choc
 - de la fièvre $>39^{\circ}\text{C}$
 - une érythrodermie diffuse
 - une atteinte pluriviscérale
 - et une desquamation des paumes et des plantes une à deux semaines après le début de la maladie

Cours 6 : Streptocoques, entérocoques et pneumocoques

I. Bases du pouvoir pathogène du streptocoque A, conséquences cliniques.

Les streptocoques sont après les staphylocoques dorés, les bactéries pyogènes n°2. *S. pyogenes* (A) est le plus pathogène des streptocoques.

- présence dans la paroi de la protéine M, qui fait saillie à la surface :
 - facteur majeur de la virulence de *S. pyogenes* : rôle dans la résistance à la phagocytose
 - par dégradation de la fraction C_{3b} du complément qui est opsonisante
 - en plus, une C_{5a} peptidase dégrade la fraction C_{5a} du complément qui est chimiotactique elle joue aussi un rôle dans la résistance à la phagocytose
- des facteurs d'adhésion donnent au pouvoir invasif au germe
- la toxine érythrogène (Spe) : superantigène responsable de la scarlatine
 - elle n'est sécrétée que par les streptocoques lysogènes (dont A) qui hébergent un bactériophage tempéré (prophage) codant pour la protéine
 - il s'agit d'une exotoxine pyrogène
 - il en existe plusieurs types (A, B, C, ...) mais aucun n'est lié spécifiquement à un tableau clinique
 - elle est responsable du choc toxique
- de nombreuses enzymes non toxiques sont sécrétées par les streptocoques :
 - les hémolysines O et S (appelées streptolysines) : antigéniques et l'hôte produit des antistreptolysines
 - hémolysines O : action cytotoxique
 - elle agit sur les polynucléaires et les macrophages en provoquant la lyse cellulaire
 - elle a un rôle important dans la formation du pus
 - la streptokinase (fibrinolysine) : lyse la fibrine, ce qui participe à la formation des embols septiques
 - la hyaluronidase : permet la dissémination des streptocoques et de leurs enzymes dans les lésions

2. Citer au moins cinq pathologies liées au streptocoque A.

Décrivez les principaux caractères bactériologiques de cette bactérie, ainsi que sa sensibilité aux antibiotiques et l'antibiotique de choix pour le traitement.

- Le streptocoque A peut donner les pathologies suivantes :
 - l'angine rouge ou érythémato-pultacée
 - des infections aiguës cutanées ou muqueuse : impétigo, érysipèle
 - la scarlatine
 - des septicémies
 - des syndrômes de choc toxique avec défaillance viscérale multiple
 - affections auto-immunes : rhumatisme articulaire aigu, glomérulonéphrite aiguë, chorée de Sydenham
- Les caractères bactériologiques de *Streptococcus pyogenes*
 - au MO : cocci à Gram positif, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses
 - culture :
 - germes exigeants ne poussant que sur des milieux additionnés de sérum ou de sang frais
 - les colonies sont entourées d'une zone d'hémolyse complète β
 - bactéries à métabolisme anaérobie préférentiel tolérant la présence d'oxygène et sans catalase
 - appartient au groupe A de la classification de Lancefield
- Le *streptococcus pyogenes* :
 - est extrêmement sensible à la pénicilline G et à l'érythromycine mais 25% des souches résistent à l'érythromycine
 - la pénicilline G est donc l'antibiotique de choix pour le traitement

Cours 6 : Streptocoques, entérocoques et pneumocoques

3. Citer les agents étiologiques responsables de rhinopharyngites et donner le traitement recommandé pour une rhinopharyngite

- Agents étiologiques responsables de rhinopharyngites :
 - 60 à 90% des rhinopharyngites sont d'origine virale ("virus respiratoires")
 - différents agents bactériens peuvent intervenir :
 - Streptococcus pyogenes (A)
 - Streptococcus pneumoniae (pneumocoques)
 - Haemophilus influenzae
 - Staphylococcus aureus
- Traitement recommandé pour une rhinopharyngite :
 - rhinopharyngite aiguë non compliquée chez l'adulte comme chez l'enfant : PAS d'antibiotiques
 - seules les complications avérées, supposées bactériennes justifient une antibiothérapie :
 - otite moyenne aiguë et sinusite
 - dans ce cas : amoxicilline ou cotrimoxazole pendant 8 à 10 jours

4. Citer les agents étiologiques responsables d'un érysipèle et donner le traitement recommandé pour un érysipèle

- L'érysipèle (infection cutanée aiguë)
 - placard cutané rouge
 - surélevé
 - limité par un bourrelet inflammatoire
 - accompagné de signes généraux
- Dans 80% des cas, causée par des streptocoques A ou G.
Dans 15% des cas, causée par des staphylocoques dorés.
Rarement, causée par des bacilles à Gram négatif
- Traitement recommandé : pénicilline G

5. Citer les agents étiologiques responsables d'une angine et donner le traitement recommandé pour une angine

- L'angine rouge ou érythémato-pultacée (infection streptococcique la plus fréquente)
 - fièvre à 39~40°C
 - dysphagie par inflammation amygdalienne et périamygdalienne
 - adénopathie satellite
 - céphalées ou asthénie
- Elle peut être virale et dans ce cas on ne donne pas d'antibiotiques
Elle peut être bactérienne (*S. pyogenes*) et dans ce cas le traitement recommandé est la pénicilline G

Cours 6 : Streptocoques, entérocoques et pneumocoques

6. Caractères principaux de *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque)

- Au microscope optique :
 - cocci à Gram positif en flamme de bougie encapsulés
 - groupés par paire (diplocoque), parfois en courtes chaînettes
- En culture :
 - germes exigeants ne poussant que sur des milieux additionnés de sérum ou de sang frais
 - les colonies sont entourées d'une zone d'hémolyse partielle α
- Bactérie à métabolisme anaérobie préférentiel tolérant la présence d'oxygène et sans catalase
- Bactérie sensible à l'optochine (sel de cuivre), contrairement aux streptocoques

7. Pathologies provoquées par *Streptococcus pneumoniae*

- Pneumonies franches lobaires aiguës (50 à 80% des pneumonies bactériennes)
- Pleurésies
- Méningites (agent le plus fréquent des méningites après 25 ans)
- Surinfections bactériennes des bronches (après bronchite virale, sur BPCO, ...)
- Sinusites
- Otites moyennes aiguës
- Conjonctivites

8. Citer au moins deux pathologies liées au pneumocoque.

Décrivez les principaux caractères bactériologiques de cette bactérie, ainsi que sa sensibilité aux antibiotiques et l'antibiotique de choix pour le traitement.

- Cf. questions 6 et 7
- Antibiogramme : la fréquence des souches de pneumocoques résistantes aux antibiotiques est importante
 - 30% des souches sont de sensibilité diminuée à la pénicilline
 - 30% des souches sont résistantes à l'érythromycine et à l'amoxicilline
 - 20% des souches sont résistantes au co-trimoxazole
- Le traitement repose sur l'administration de β -lactamines (apicilline, amoxicilline, céfotaxime)

Cours 6 : Streptocoques, entérocoques et pneumocoques

9. Principaux caractères bactériologiques des entérocoques, pathologies provoquées

- Caractères bactériologiques :
 - MO : cocci à Gram positif en diplocoques ou courtes chaînettes
 - Culture : ils poussent sur milieu ordinaire et même sur milieu hypersalé (hostile)
 - Classification de Lancefield : groupe D
 - Enterococcus faecalis est l'espèce la plus fréquente
- Pathologies provoquées :
 - infections urinaires
 - péritonites
 - cholécystites (associé à E. coli)
 - endocardites (beaucoup plus rarement que les streptocoques non hémolytiques)

10. Citer au moins deux pathologies liées aux entérocoques.

Décrivez les principaux caractères bactériologiques de cette bactérie, ainsi que sa sensibilité aux antibiotiques et l'antibiotique de choix pour le traitement.

- Cf. question 9
- Antibiogramme :
 - moins sensible aux pénicillines que les streptocoques
 - résistance naturelle aux céphalosporines
 - émergence en France depuis 2004 de souches résistantes aux glycopeptides (fréquentes aux USA)
- Le traitement repose sur l'administration d'amoxicilline

Cours 7 : Les Neisseria

I. Diagnostic bactériologique d'une méningite à méningocoques

- diagnostic de la méningite : numération/formule du LCR
- MO : - cocci réniformes à Gram négatif groupés en diplocoques, en général peu nombreux, à l'intérieur et à l'extérieur des polynucléaires
 - réaction cellulaire habituellement intense
- culture : germe très exigeant, il pousse
 - sur gélose au sang cuit ("chocolat") à partir du sang, du LCR et des lésions purpuriques
 - sur bouillon pour hémocultures
- biochimie : méningocoque aérobic stricte à oxydase positive, glucose + et maltose +
- sérotype : sérotypage par agglutination (A-B-C-Y-W135)
- antibiogramme : bilan de la sensibilité à la pénicilline

2. Pathologie provoquée par le méningocoque, bases du pouvoir pathogène et prévention

- La pathologie provoquée est la méningite : non traitée : évolue vers le coma en quelques heures
 - apparition brutale
 - céphalées
 - vomissements
 - raideur de la nuque
 - complication maligne : purpura fulminant accompagné de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et de collapsus (défaillance vasculaire)
- Bases biologiques du pouvoir pathogène :
 - la capsule protège de la phagocytose
 - la présence d'endotoxine (lipo-polysaccharides ou LPS)
 - la capacité à passer la barrière hémato-encéphalique (BHE)
- Prévention :
 - chimioprophylaxie : son but est d'éradiquer les méningocoques chez les porteurs sains
 - celle par la pénicilline n'est pas efficace
 - on utilise la rifampicine à raison de 10mg/kg deux fois par jour à 12h d'intervalle pendant 2 jours
 - recommandée chez les sujets contacts proches des cas (famille proche, collectivités fréquentées)
 - vaccination : réservée aux populations exposées et si risque d'épidémie (A+C ou A+C+Y+W135)
 - les polysaccharides capsulaires purifiés extraits des méningocoques des sérogroupes A, C, Y et W135 sont vaccinaux
 - il n'y a pas de vaccin contre le sérotype B qui est peu immunogène

Cours 7 : Les Neisseria

3. Quelle est la bactérie la plus fréquemment responsable de méningite chez l'adulte, quels en sont les facteurs favorisants, quels sont les traitements recommandés en fonction des risques de résistance (préciser quels sont les facteurs de risque de résistance aux antibiotiques)?

- De 1 à 25 ans, le méningocoque (*Neisseria meningitidis*) est l'agent prédominant des méningites. Mais chez l'adulte, c'est *Streptococcus pneumoniae* qui est le plus souvent responsable des méningites.
- Facteurs favorisants de la méningite à pneumocoques :
 - une brèche ostéo-méningée
 - secondaire à un traumatisme crânien ou une intervention chirurgicale
 - rarement congénitale
 - un foyer infectieux de voisinage comme une sinusite frontale, un otite suppurée ou une mastoïdite
 - un déficit de l'immunité humorale (VIH, splénectomie, ...)
- Facteurs de risque de résistance aux antibiotiques :
 - pression sélective par mauvais choix d'antibiotique (injustifié ou inadapté)
 - la vie en collectivité (enfants +++ car proximité des contacts)
 - défaut d'observance du traitement (durée, dose, rythme des prises)
- Traitements recommandés en fonction des risques de résistance :
 - deux premiers jours : céfotaxime (300 mg/Kg/j) + vancomycine (60 mg/Kg/j)
 - le traitement est ensuite adapté aux résultats de l'antibiogramme :
 - sensibilité normale à la pénicilline :
 - poursuite de la céfotaxime à une plus petite dose (200mg/Kg/j)
 - arrêt de la vancomycine
 - résistance à la pénicilline : poursuite de la biantibiothérapie
 - l'efficacité du traitement est systématiquement contrôlée par une PL dans les 48 heures

4. Quelles sont les signes cliniques et biologiques évocateurs d'une méningite bactérienne, quel est le traitement antibiotique aux urgences, en l'absence d'orientation étiologique mais avec des signes de gravité chez un enfant d'un an?

- La méningite bactérienne peut être évoquée lorsque l'on observe :
 - des signes infectieux (fièvre, frisson)
 - un syndrome méningé d'apparition brutale :
 - céphalées, vomissements en jet, photophobie, phonophobie, raideur méningée
 - éventuellement un purpura (taches rouges violacées)
 - dans le LCR (PL) : numération/formule et MO
 - des cocci réniformes à Gram négatif groupés en diplocoques, en général peu nombreux, à l'intérieur et à l'extérieur des polynucléaires
 - réaction cellulaire habituellement intense
- Aux urgences, en cas de suspicion de méningite avec des signes de gravité, on injecte sans attendre 1g de Céfotaxime avant toute action

Cours 7 : Les Neisseria

5. Diagnostic bactériologique des infections génitales à gonocoques

- diagnostic bactériologique : prélèvement indispensable avant la mise en route du traitement
- MO : cocci réniformes à Gram négatif groupés en diplocoques, en général en amas plus ou moins importants à l'intérieur de polynucléaires altérés dans les produits pathologiques (pus uréthral)
- culture : germe fragile (très sensible à la dessiccation) et exigeant, il pousse
 - sur gélose au sang cuit ("chocolat") enrichie de supplément vitaminique et additionnée d'un mélange d'antibiotiques (vancomycine, colistine et nystatine) pour inhiber la croissance des bactéries commensales des muqueuses génitales
 - dans une atmosphère humide et enrichie en CO₂
- biochimie : gonocoque aérobie stricte à oxydase positive, glucose + mais maltose -
- antibiogramme : recherche de la production de β -lactamase (10~15% des souches)

Cours 8 : Bacilles à Gram positif non sporulés

I. Toxine diphtérique : rôle dans le développement de la maladie, conséquences thérapeutiques (prophylactique et thérapeutique)

- Rôle de la toxine diphtérique dans le développement de la maladie :
 - *Corynebacterium diphtheriae* se multiplie sur les muqueuses respiratoires et sécrète sa toxine
 - la toxine est alors absorbée par les muqueuses
 - où elle détruit l'épithélium et provoque une réaction inflammatoire
 - l'épithélium nécrosé se recouvre alors d'un exsudat fibrineux riche en hématies et en leucocytes
 - c'est la "fausse membrane", qui est adhérente (toute tentative de la retirer fait saigner)
 - dans celle-ci, *C. diphtheriae* continue à produire sa toxine qui diffuse dans tout l'organisme
 - elle bloque la synthèse cellulaire et provoque dans le cœur, le foie, les reins et les surrénales :
 - une dégénérescence parenchymateuse
 - une infiltration graisseuse
 - des lésions nécrotiques
 - elle entraîne des lésions neurologiques (paralysie, dysphagie)
- Conséquences thérapeutiques :
 - traitement préventif : vaccination obligatoire par l'anatoxine purifiée durant la première année de vie
 - trois injections sous-cutanées à un mois d'intervalle avec rappel un et cinq ans plus tard
 - elle est efficace à 100%
 - traitement curatif :
 - injection aussi précoce que possible d'anticorps (sérum antitoxique) par voie IM ou IV de 20 000 à 100 000 unités antitoxiques selon la gravité
 - traitement antibiotique complémentaire à base de pénicilline G ou d'érythromycine afin :
 - d'arrêter la production de toxine
 - de réduire le portage (qui sinon dure 3 mois) et donc la contagiosité
 - de soigner l'infection locale
 - la vaccination est recommandée pour renforcer l'effet de la sérothérapie et parce que la maladie n'est pas suffisamment immunisante pour éviter une réinfection

Cours 8 : Bacilles à Gram positif non sporulés

2. *Listeria monocytogenes* : réservoir, pouvoir pathogène et pathologie

- Réservoir : les *Listeria* sont des germes ubiquitaires
 - on les trouve dans le sol, sur les plantes et dans l'eau
 - portage intestinal asymptomatique de *Listeria* chez les animaux et l'homme
 - présence possible après souillure dans les produits laitiers, carnés, légumes
 - problème de préparation et de conservation des aliments
- Bases biologiques du pouvoir pathogène :
 - porte d'entrée intestinale (entérocytes et plaques de Peyer)
 - une protéine de surface (internaline) déclenche l'adhésion et la pénétration dans la cellule en induisant la phagocytose
 - les bactéries se multiplient alors dans le cytoplasme des macrophages et des cellules épithéliales grâce à leur facteur de virulence, la listérollysine O, active au pH acide qui règne dans le phagolysosome
 - les mouvements intracellulaires et le passage de cellule à cellule requiert la polymérisation de l'actine
 - par voie sanguine et lymphatique, les bactéries atteignent le foie et la rate où elles sont phagocytées
 - les survivantes infectent les hépatocytes et entraînent leur lyse qui libère à nouveau des bactéries
 - celles-ci sont phagocytées par des polynucléaires neutrophiles ou des macrophages
 - selon l'état immunitaire de l'hôte, il y a ou non des survivants
 - si il y en a, ils peuvent atteindre par voie sanguine le cerveau (méningite) ou le placenta
- Pathologies provoquées : bactérie opportuniste à diffusion hématogène donnant trois types d'infections
 - listériose de l'adulte : atteint surtout les personnes âgées et immunodéprimées
 - méningites
 - méningo-encéphalites
 - encéphalites
 - septicémies
 - listériose de la femme enceinte : infection bénigne pour la femme (simple fièvre)
 - mais grave pour le fœtus, pouvant provoquer
 - la mort in utero
 - l'accouchement prématuré
 - un avortement
 - listériose néonatale : septicémie ou méningite
 - secondaires à la contamination dans les jours qui précèdent ou au moment de l'accouchement

Cours 9 : Entérobactéries et autres bacilles à Gram - non exigeants

I. Principales caractéristiques cliniques de la peste de l'homme

- La peste bubonique :
 - vésico-pustule au point de piqûre par la puce
 - adénopathie suppurée satellite : le bubon douloureux, dur, de la taille d'une noisette
 - fièvre et syndrome infectieux sévère
 - syndrome toxique (endotoxine)
 - septicémie : possible localisation pulmonaire (alors transmission aérienne)
- La peste pulmonaire : rapidement mortelle
 - syndrome infectieux sévère
 - signes respiratoires très intenses (dyspnée, cyanose)

2. Diagnostic bactériologique des fièvres typhoïdes/paratyphoïdes

- Diagnostic direct : mise en évidence de la Salmonella responsable
 - hémoculture : moyen essentiel de faire le diagnostic d'une fièvre typhoïde
 - elle doit être répétée car il y a peu de Salmonella dans le courant sanguin
 - même sans traitement antibiotique, leur positivité diminue avec le temps (semaines)
 - coproculture : elle se fait sur milieu sélectif
 - l'examen est souvent négatif du fait du faible nombre de salmonella excrété dans les selles
 - ce n'est pas le meilleur moyen de faire le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde
 - identification par caractères biochimiques (lactose -) et sérotypage (antigènes O et H)
 - antibiogramme pour compléter
- Diagnostic indirect : sérodiagnostic de Widal et Felix
 - il est spécifique des anticorps anti-O et anti-H
 - il n'est pas le meilleur moyen de faire le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde

3. Diagnostic bactériologique des infections à E. coli (hors diarrhées)

- Dans les infections urinaires :
 - MO : réaction inflammatoire avec présence de polynucléaires ($\geq 10^4/\text{ml}$) et de bacilles à Gram négatif
 - culture : elle est facile et se fait sur milieu ordinaire
 - une concentration $\geq 10^3 \sim 10^4/\text{ml}$ est suffisante pour le diagnostic d'infection urinaire basse symptomatique à E. coli chez la femme
 - identification biochimique : lactose + et indole +
 - hémoculture : peut être positive lors d'une pyélonéphrite (infection urinaire haute)
 - antibiogramme car résistances acquises fréquentes
- Dans les infections locales autres qu'urinaires : diagnostic fait selon les procédés habituels
 - prélèvements aseptiques
 - MO : recherche d'une réaction inflammatoire et de bacilles à Gram négatif
 - culture / identification / antibiogramme

4. Quels sont les mécanismes que peuvent acquérir les entérobactéries pour résister aux β -lactamines?

- acquisition de la sécrétion de β -lactamase (d'origine plasmidique)
- mutation de la Penicillin-Binding-Protein (PBP) qui devient peu ou pas sensible à la pénicilline

Cours 9 : Entérobactéries et autres bacilles à Gram - non exigeants

5. Quelle est la place en pathologie humaine de E. coli?

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Ils expriment leur potentiel pathogène dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) :

- Par pénétration par voie urétrale ascendante (contiguïté) dans l'arbre urinaire :
 - cystite : infection "urinaire basse" limitée à la vessie, sans fièvre
 - pyélonéphrite : infection "urinaire haute" du rein, avec fièvre et bactériémie
 - E. coli est responsable de 75% des infections urinaires spontanées en ville
- Par essaimage à point de départ digestif :
 - régional : cholécystite suppurée, péritonite
 - général : septicémie
- Par contamination néonatale : méningite du nouveau-né
 - souche K1 dont la capsule ressemble à celle du méningocoque B

6. Quels sont les critères utilisés par le laboratoire de bactériologie pour le diagnostic d'une infection urinaire?

- leucocyturie et bactériurie $\geq 10^4$ /ml chez un patient symptomatique

7. Espèces bactériennes responsables des infections urinaires en ville et à l'hôpital

Les germes les plus fréquemment mis en cause sont des entérobactéries (bacilles à Gram négatif):

- E. coli (75% des cas)
- Proteus mirabilis
- Klebsiella

Il peut aussi y avoir Staphylococcus saprophyticus, cocci à Gram positif (5 à 25% des cas)

8. Traitement des infections urinaires basses

Il repose sur l'antibiothérapie et la correction des facteurs favorisants (anatomiques, calculs, ...)

Cours 10 : Les bacilles à Gram positif sporulés

I. Bases biologiques du pouvoir pathogène de *Bacillus anthracis*.

Diagnostic bactériologique de la maladie du charbon.

- Bases biologiques du pouvoir pathogène de *Bacillus anthracis* :
 - sporulation : spores résistantes dans le milieu extérieur
 - l'infection est consécutive à la pénétration de spores par des blessures de la peau et des muqueuses
 - formation d'une pustule maligne : multiplication du bacille au niveau de la porte d'entrée cutanée
 - qui se transforme en une ulcération nécrotique noirâtre d'où l'infection peut essaimer
 - ce qui entraîne une septicémie
 - inhalation de spores provenant de poussières de laine, peaux et poils : pneumonie rapidement fatale
 - toxine charbonneuse : de nature protéique, elle est formée de trois protéines
 - l'antigène de protection (PA) assure la pénétration des deux autres protéines dans la cellule
 - le facteur de l'œdème (EF) qui est une adénylate cyclase
 - le facteur léthal (LF) qui est une toxine violente par son pouvoir nécrotique
 - elle induit la formation d'anticorps neutralisants (immunité anti-charbonneuse)
- Diagnostic bactériologique de la maladie du charbon :
 - contexte de contact avec animal malade ou mort, professionnel ou conflit
 - prélèvements :
 - sérosité ou pus de la lésion locale
 - hémoculture
 - crachats et épanchement pleural en cas d'infection pulmonaire
 - examen au microscope optique :
 - gros bacille à Gram positif à extrémités carrées, groupé en longues chainettes
 - immobile et entouré d'une capsule
 - spore centrale et non déformante
 - culture sur gélose au sang : elle permet de suspecter le diagnostic
 - colonies aplaties, à bords irréguliers, à surface rugueuse
 - habituellement non hémolytique
 - métabolisme aérobie
 - diagnostic formel : moléculaire (gènes de la toxine)

2. Botulisme : bases biologiques du pouvoir pathogène, caractéristiques principales de la maladie, prévention.

- Bases biologiques du pouvoir pathogène de *Clostridium botulinum*
 - botulisme : intoxication suite à l'ingestion d'aliments contaminés par des spores de *C. botulinum*
 - ces spores ont germé et produit de la toxine
 - ingestion d'une quantité plus ou moins importante de toxine
 - il y a sept variétés de toxine botulinique différentes (A à G) de nature protéique
 - A, B et E sont les plus couramment associées à la maladie humaine
 - ce sont parmi les substances les plus toxiques connues
 - neurotoxines : diminution de l'acétylcholine des synapses des plaques neuromusculaires
- Botulisme : caractéristiques principales de la maladie
 - intoxication résultant de l'ingestion d'aliments contaminés par les spores (donc de la toxine)
 - incubation courte (18~96h), d'autant plus courte que la quantité de toxine absorbée est importante
 - signes cliniques essentiellement neurologiques : paralysies flasques bilatérales et symétriques
 - de l'accommodation (constantes) et des muscles extrinsèques de l'œil
 - des muscles buco-pharyngés : dysphagie, paralysie de la déglutition, difficultés d'élocution
 - selon la quantité de toxine ingérée, il y a des formes frustes et mortelles. Dans ces dernières, il y a :
 - paralysie bulbaire progressive (malade reste conscient)
 - mort par paralysie respiratoire et arrêt cardiaque
- Prévention :
 - mesures légales : préparation industrielle des conserves alimentaires, abattage des animaux
 - précautions à prendre pour la préparation familiale des conserves
 - jeter les conserves suspectes ou les chauffer à 100°C pendant au moins 10 minutes

Cours 10 : Les bacilles à Gram positif sporulés

3. Clostridium tetani : caractères principaux de la bactérie et de la toxine, caractéristiques principales de la maladie.

- Caractères bactériologiques :
 - examen au microscope optique :
 - bacille mobile à Gram positif
 - spore terminale et déformante
 - aspect en clou ou en baguette de tambour
 - la toxine tétanique (une seule sorte). Protéine antigénique contenant deux facteurs :
 - la tétanolysine : responsable de l'hémolyse et de la nécrose ; cardiotoxique
 - la tétanospasmine (fragment α toxique, β antigénique) ; neurotoxique
- Caractéristiques du tétanos :
 - C. tetani n'est pas invasif et reste limité dans les tissus dévitalisés où les spores ont été introduites
 - la maladie est presque uniquement une toxémie
 - incubation : de 4~5 jours à plusieurs semaines
 - au début : spasmes musculaires de la zone blessée
 - puis contractures douloureuses des masseters (trismus) : le sujet ne peut plus ouvrir la bouche
 - progressivement, les autres muscles sont atteints : contractures douloureuses $\pm$ généralisées
 - le malade reste conscient, sa température est élevée
 - mort par asphyxie aiguë au cours d'un spasme laryngé fréquente en l'absence de traitement

4. Bases du traitement curatif et préventif du tétanos.

- Traitement curatif du tétanos :
 - mesures spécifiques :
 - administration de sérum antitétanique
 - administration d'anatoxine
 - administration de pénicilline
 - mesures non spécifiques :
 - administration de myorelaxants
 - administration de sédatifs
 - respiration assistée
- Traitement préventif du tétanos : il repose sur quatre moyens
 - immunisation active de la population par vaccination (anatoxine tétanique)
 - trois injections sous-cutanées à un mois d'intervalle avec rappel un an plus tard
 - des injections de rappel tous les cinq à dix ans
 - nettoyage minutieux des plaies souillées de terre, le débridement chirurgical permet d'enlever les tissus nécrosés
 - séro-anatoxino-prévention : emploi préventif de sérum antitétanique (antitoxine) accompagné d'une injection de rappel d'anatoxine tétanique
 - administration de pénicilline

Cours 10 : Les bacilles à Gram positif sporulés

5. Gangrène gazeuse : bases biologiques du pouvoir pathogène, caractéristiques principales de la maladie, prévention.

- Bases biologiques du pouvoir pathogène de *Clostridium perfringens*
 - gangrène gazeuse : toxi-infection grave consécutive à l'introduction dans une plaie de terre ou de matières fécales souillées de spores de *C. perfringens*
 - multiplication locale du germe avec production de gaz par fermentation
 - sécrétion d'une exotoxine protéique :
 - qui est une phospholipase (lécithinase) qui désorganise les membranes cellulaires (musculaires ++)
 - mais aussi une hémolysine
 - et qui est antigénique
 - sécrétion d'enzymes dont l'action favorise l'extension de l'infection à *C. perfringens* :
 - une désoxyribonucléase (DNase)
 - une hyaluronidase
 - une collagénase
- Gangrène gazeuse : caractéristiques principales de la maladie
 - gangrène gazeuse : toxi-infection grave consécutive à l'introduction dans une plaie de terre ou de matières fécales souillées de spores de *C. perfringens*
 - à partir d'une plaie contaminée (ex : fracture ouverte, plaie utérine) l'infection s'étend en 1 à 3 jours
 - elle peut prendre la forme de la classique gangrène gazeuse :
 - phlegmon gazeux avec crépitation et nécrose progressive
 - fièvre
 - hémolyse
 - syndrome toxique
 - choc
 - mortelle sans traitement
 - elle peut donner des syndrômes septicémiques d'origine puerpérale avec ictère hémolytique et anurie
- Prévention :
 - les soins réguliers et le nettoyage des plaies à l'aide d'antiseptiques permettent d'éviter la gangrène
 - les personnes âgées, diabétiques ou ayant une mauvaise circulation doivent être vigilantes lorsqu'elles ont des infections aux pieds et aux mains
 - débridement des plaies souillées, excision des tissus dévitalisés et administration de pénicilline

Cours 11 : Les bacilles à Gram négatif hémophiles ou exigeants

I. Haemophilus influenzae B : pouvoir pathogène, prévention, traitement.

- Pouvoir pathogène de H. influenzae B : rarement porté par l'homme sain, transmission respiratoire
 - chez l'accouchée : troisième cause d'infections néonatales après S. agalactiae et E. coli
 - chez le jeune enfant : agent le plus fréquent des otites moyennes
 - provoque des rhinopharyngites qui peuvent se compliquer de sinusites et d'otites
 - par voie hématogène, il peut atteindre les méninges et provoquer une méningite (à tout âges), plus rarement une endocardite ou une arthrite septique.
 - occasionnellement responsable de laryngite, de laryngo-trachéite et d'épiglottite
 - chez l'immunodéprimé :
 - il peut être responsable de bronchites (chez les bronchitiques chroniques)
 - ou bien de pneumonies, d'arthrite (plus rarement, d'endocardites)
 - facteur de virulence : capsule polysaccharidique
- Traitement et prévention de H. influenzae B :
 - traitement : problème thérapeutique (40% des souches résistantes à l'ampicilline)
 - méningites : céphalosporines de 3^e génération, type céfotaxime
 - infections ORL : amoxicilline associée à un inhibiteur des β -lactamases, type acide clavulanique
 - prévention : vaccination par polysaccharide capsulaire de type b
 - prévient les infections invasives (méningites)
 - mais a peu d'effet sur les infections ORL et respiratoires
 - trois injections à un mois, un rappel à 18 mois
 - diminution spectaculaire sur 10 ans de l'incidence des infections invasives de l'enfant

2. Physiopathologie et prévention de la coqueluche (Bordetella pertussis)

- Physiopathologie de la coqueluche : transmission d'individu à individu par voie aérienne
 - B. pertussis adhère à la surface de l'épithélium trachéo-bronchique et s'y multiplie rapidement
 - ce qui irrite les cellules superficielles
 - ce qui provoque la sécrétion de mucine (catharrhe) et la lymphocytose
 - puis nécrose de l'épithélium avec :
 - infiltration de polynucléaires
 - inflammation péribronchique
 - pneumonie interstitielle
 - trois substances sécrétées pour deux rôles : adhésion (permet développement in situ) et toxine
 - l'hémagglutinine filamenteuse (FHA) : rôle dans l'adhérence aux cellules de l'arbre respiratoire
 - la toxine pertussique (Ptx) : protéine hexamérique au double rôle :
 - elle permet la fixation aux cellules ciliées de l'arbre respiratoire (rôle d'adhésine)
 - elle provoque la transformation de l'AMP en AMP cyclique (rôle de toxine) ce qui entraîne une hypersécrétion de mucine et la mort cellulaire
 - l'adénylate cyclase renforce l'action de la Ptx
 - l'action combinée de ces substances est à l'origine des deux caractéristiques de la maladie :
 - quinte de toux
 - hyperlymphocytose (16 000 à 30 000 par mm³)
- Prévention de la coqueluche : combinée par deux vaccins
 - un vaccin à germes entiers : suspension tuée de B. pertussis capsulé virulent
 - administré en primo-vaccination en trois injections au 3^e, 4^e et 5^e mois
 - un vaccin acellulaire : contient les antigènes Ptx et FHA
 - administré lors des rappels à 1 et 5 ans
 - antibiothérapie :
 - effet préventif sur les complications infectieuses
 - et sur la transmission du germe à l'entourage

Cours 12 : Les spirochetes

Stades de l'infection syphilitique : physiopathologie, diagnostic.

La syphilis est une maladie humaine transmise par contact sexuel, qui se décompose en trois stades.

Dans la plupart des cas, la lésion infectante siège sur la peau ou la muqueuse des organes génitaux.

Dans 10% des cas, la lésion primaire est extra-génitale (buccale, rectale).

L'incubation est de ± 3 semaines : les tréponèmes se multiplient au point d'inoculation mais certains d'entre eux essaient vers les ganglions lymphatiques, d'où ils gagnent ensuite la grande circulation.

- **Stade primaire** : chancre syphilitique (lésion primaire au point de pénétration)
 - papule qui devient rapidement en une ulcération superficielle, indolore, reposant sur une base indurée
 - elle s'accompagne d'adénopathies satellites
 - le chancre et les adénopathies satellites sont riches en tréponèmes (contagieux)
 - non traité, le chancre guérit spontanément en 3 à 6 semaines et les adénopathies un peu plus tard
- **Stade secondaire** : dissémination hématogène facilitée par une hyaluronidase
 - éruption maculopapuleuse rosée : peut siéger n'importe où sur le corps (roséole, syphilide papuleuse)
 - plaques muqueuses : papules plus pâles siégeant dans la région ano-génitale, dans le creux axillaire et dans la bouche
 - ces lésions secondaires accompagnent une septicémie et sont riches en tréponèmes (contagieuses)
 - elles guérissent spontanément mais des rechutes peuvent se produire pendant 3 à 5 ans

Dans un tiers des cas la syphilis guérit spontanément, et dans un autre tiers, elle reste latente (juste séro +)

- **Stade tertiaire** : ne représente qu'un tiers des cas
 - développement des gommès : lésions granulomateuses de la peau, des os et du foie
 - lésions dégénératives du système nerveux central ou du système cardio-vasculaire :
 - paralysie générale, tabès
 - aortite avec parfois formation d'anévrisme, insuffisance aortique
 - les tréponèmes sont rares dans les lésions tertiaires
 - les lésions tissulaires sont attribuées à un état d'hypersensibilité au tréponème
- **Diagnostic bactériologique** : manifestations cliniques et diagnostic biologique
 - prélèvements :
 - frottis de la sérosité dermique du chancre et des lésions secondaires par grattage des lésions avec un vaccinostyle pour recherche microscopique du germe
 - prélèvements de sang pour le sérodiagnostic
 - recherche du tréponème : mise en évidence du tréponème dans les lésions
 - au microscope à fond noir : immédiatement après le prélèvement, état frais
 - Treponema pallidum de forme hélicoïdale
 - mobilité caractéristique par une rapide rotation sur l'axe longitudinal
 - par immunofluorescence : fixation par un sérum anti-tréponémique marqué par la fluorescéine
 - sérodiagnostic : on emploie deux types d'antigènes
 - des antigènes non tréponémiques : cardiolipides extraits de cœurs de boeufs sains
 - il réagit avec une substance présente dans le sérum des sujets atteints de syphilis : la réagine
 - * elle apparaît dans le sérum des syphilitiques 1 à 2 semaines après le début du chancre
 - * elle apparaît dans le LCR des syphilitiques 4 à 8 semaines après le début du chancre
 - on utilise des réactions de floculation (d'agglutination) ou de fixation du complément
 - des antigènes tréponémiques : suspensions ou extraits de T. pallidum
 - il met en évidence des anticorps spécifiques anti-tréponèmes
 - on utilise deux réactions sérologiques :
 - * l'immunofluorescence (FTA) : réaction d'immunofluorescence indirecte
 - positive dans les jours qui suivent l'apparition du chancre syphilitique
 - elle le reste malgré des traitements antibiotiques efficaces (ne peut donc pas la juger)
 - * l'hémagglutination passive des tréponèmes (TPHA) : utilise des GR de mouton sur lesquels a été fixé un sonicat de T. pallidum comme antigène
 - elle devient positive un peu plus tardivement

Cours 13 : Mycobactéries

I. Phénomène de Koch : description, interprétation, conséquences médicales.

- *M. tuberculosis* est pathogène pour de nombreux animaux de laboratoire, surtout le cobaye.
 - 15 jours à 3 semaines après l'inoculation de bacilles, un nodule se forme au point d'inoculation
 - celui-ci s'ulcère et laisse sourdre un pus blanchâtre et homogène (caseum)
 - l'ulcération persiste jusqu'à la mort de l'animal
 - l'animal meurt par essaimage lymphatique des bacilles et atteinte des principaux viscères
- Phénomène de Koch : la réinoculation de bacilles de Koch à un cobaye déjà inoculé n'est pas suivie des mêmes lésions que la primo-inoculation. Il se traduit de la manière suivante :
 - une ulcération nécrotique se forme en 2 à 3 jours au point d'inoculation
 - au lieu de 2 à 3 semaines après la primo-inoculation
 - l'ulcération nécrotique guérit spontanément
 - alors que celle de la primo-inoculation persiste jusqu'à la mort de l'animal
- De ce phénomène, on peut tirer deux déductions essentielles en médecine :
 - le cobaye déjà inoculé est hypersensible aux constituants du bacille de Koch :
 - il réagit plus vite à la réinoculation qu'à la primo-inoculation
 - c'est l'hypersensibilité ou allergie tuberculeuse
 - pour la mettre en évidence chez l'homme, l'injection d'un extrait protéinique de bacille suffit
 - test de Mantoux : l'hypersensibilité à la tuberculine se recherche par une intradermoréaction
 - le cobaye déjà inoculé a une immunité de surinfection :
 - la lésion de réinoculation guérit spontanément vs celle de primo-inoculation reste jusqu'à la mort
 - on peut reproduire artificiellement cet état d'immunité de surinfection en inoculant à l'homme une mycobactérie vivante atténuée
 - c'est le BCG (bacille de Calmette et Guérin) : dérivé avirulent de *Mycobacterium bovis*

2. Principaux caractères de *M. tuberculosis* utiles pour comprendre les étapes du diagnostic de la tuberculose.

- Microscopie : bacille BAAR (M+) → diagnostique de forte présomption de tuberculose
 - *M. tuberculosis* est un bacille immobile sans capsule et sans spore
 - après coloration de Ziehl-Neelsen : apparaît comme un bacille rouge légèrement incurvé
 - la paroi de *M. tuberculosis* très riche en lipides (20 à 45% de l'ensemble de la bactérie)
 - elle est peu perméable aux substances hydrophiles
 - elle est responsable de ses propriétés tinctoriales (bacille acido-alcoolo-résistants ou BAAR)
 - il résiste plus que les autres bactéries aux acides, aux bases, aux antiseptiques et aux détergents
- Culture : prélèvements décontaminés par des antiseptiques (*M. tuberculosis* y est moins sensible)
 - *M. tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux usuels et exige des milieux très enrichis
 - le plus employé : milieu à l'oeuf (LJ) où *M. tuberculosis* donne des colonies caractéristiques
 - *M. tuberculosis* donne des colonies de teinte crème beige, à surface rugueuse, en chou-fleur
 - les colonies n'apparaissent qu'en 3 à 4 semaines en moyenne (lenteur de division : 20h)
 - *M. tuberculosis* est un aérobie stricte : bien aérer les cultures
 - caractères biochimiques : permettent le diagnostic de certitude de la tuberculose
 - catalase positive et nitrate positif
 - accumulation d'acide nicotinique ou niacine
 - test de Konno dont la positivité est spécifique de *M. tuberculosis*
- Génétique :
 - résistance acquise aux antibiotiques antituberculeux par sélection de mutants résistants
 - identification par hybridation de sondes génomiques spécifiques d'une séquence (ARN ribosomal) du complexe *M. tuberculosis*
 - elle permet d'identifier en quelques heures les bacilles de tuberculose isolés en culture

Cours 13 : Mycobactéries

3. Quel est l'examen indispensable au diagnostic de tuberculose pulmonaire ?

Quel est le traitement standard de la tuberculose pulmonaire ?

- Examen indispensable au diagnostic de tuberculose pulmonaire : la culture
 - elle seule permet le diagnostic de certitude de la tuberculose
 - les prélèvements sont décontaminés par des antiseptiques (*M. tuberculosis* y est moins sensible)
 - *M. tuberculosis* ne pousse pas sur les milieux usuels et exige des milieux très enrichis
 - le plus employé : milieu à l'oeuf (LJ) ou *M. tuberculosis* donne des colonies caractéristiques
 - *M. tuberculosis* donne des colonies de teinte crème beige, à surface rugueuse, en chou-fleur
 - les colonies n'apparaissent qu'en 3 à 4 semaines en moyenne (lenteur de division : 20h)
 - *M. tuberculosis* est un aérobie stricte : bien aérer les cultures
 - caractères biochimiques : permettent le diagnostic de certitude de la tuberculose
 - catalase positive et nitrate positif
 - accumulation d'acide nicotinique ou niacine
 - test de Konno dont la positivité est spécifique de *M. tuberculosis*
- Traitement standard de la tuberculose pulmonaire :
 - curatif : administration quotidienne pendant six mois d'une association antibiotique
 - 2 mois : isoniazide + rifampicine + pyrazinamide + éthambutol
 - 4 mois : isoniazide + rifampicine
 - association d'antibiotiques : indispensable pour éviter une sélection de mutants résistants
 - longue durée du traitement : indispensable pour éviter les rechutes à bacilles sensibles
 - préventif :
 - vaccination BCG : confère 80% de protection pendant 15 ans
 - permet d'éviter les formes graves chez l'enfant (méningite)
 - chimioprophylaxie par l'isoniazide chez les sujets fragiles pour éviter le passage de l'infection à la maladie (nourrissons, adolescents, immuno-déprimés)

Cours 14 : Les Chlamydiae

Différentes espèces de Chlamydia rencontrées en pathologie humaine, pathologies provoquées

Ce sont des bactéries de petite taille incapable de faire la synthèse de leurs propres constituants (parasites intracellulaires obligatoires). On distingue trois espèces principales :

- Chlamydia trachomatis : premier agent bactérien responsable d'infections sexuellement transmissibles
 - trachome : maladie endémique des zones intertropicales
 - kérato-conjonctivite franche
 - avec altération conjonctivale (papilles rouges et follicules translucides pathognomoniques)
 - et cornéenne (pannus = néovascularisation)
 - évolue vers cécité par surinfection bactérienne, complication mécanique et ulcération cornéenne
 - infections génitales ou sexuellement transmissibles : d'incidence croissante
 - chez l'homme : urétrites mucopurulentes trainantes
 - chez la femme : cervicites souvent latentes
 - pouvant se compliquer de salpingite et de stérilité tubaire
 - augmentant le risque de grossesse extra-utérine
 - possibilité d'une infection néonatale par transmission verticale lors de l'accouchement
 - le plus souvent il s'agit d'une conjonctivite
 - ou colonisation du pharynx qui peut se compliquer d'une pneumonie interstitielle tardive
 - lymphogranulomatose vénérienne ou maladie de Nicolas et Favre :
 - maladie sexuellement transmissible systémique à point de départ génital
 - 3 à 30 jours d'incubation puis micro-chancres au point d'inoculation (gland, vagin, anus)
 - polyadénopathie inguinale quelques jours plus tard
 - celle-ci donne lieu à de multiples fistules en pomme d'arrosoir
 - localisation extragénitales possibles (neurologiques, oculaires, articulaires)
- Chlamydia psittaci : contamination essentiellement par voie respiratoire, donne l'ornithose-psittacose
 - favorisée par les contacts rapprochés avec les oiseaux infectés : maladie professionnelle
 - incubation de 1 à 2 semaines lors de laquelle les Chlamydia spp se multiplient dans le poumon
 - ce qui entraîne une pneumonie à la localisation radiologique atypique
 - maladie souvent bénigne : syndrome pseudo-grippal (fièvre, céphalées, myalgie) et toux sèche
 - forme grave et potentiellement mortelle :
 - pneumopathie atypique sévère
 - plus rarement, une forme extra-pulmonaire (encéphalite, myocardite, ...)
- Chlamydia pneumoniae : transmission exclusivement interhumaine
 - pneumonie atypique
 - bronchite
 - sinusite
 - pharyngite
 - rôle dans la genèse de l'athérosclérose ?

Cours I5 et I6 :

Les Mycoplasma :

Ce sont des bactéries dépourvues de peptidoglycanes (résistance naturelle aux β -lactamines).

On distingue deux genres et trois espèces pathogènes pour l'homme :

- *Mycoplasma pneumoniae* : responsable d'infections à localisation respiratoire
 - pharyngite et pneumonie atypique
 - chez l'enfant et le jeune adulte (5 à 35 ans)
- *Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum* : responsables de maladies sexuellement transmissibles
 - chez l'homme : urétrite
 - chez la femme : vaginite, salpingite, stérilité
 - chez la femme enceinte : avortements à répétition, accouchement prématuré, fièvre du post-partum
 - maladie souvent bénigne : syndrome pseudo-grippal (fièvre, céphalées, myalgie) et toux sèche
 - chez le nouveau-né : infections neuro-méningées et pulmonaires
 - *M. hominis* peut être isolé dans d'autres localisations (urinaires, articulaires)
- Diagnostic :
 - *M. pneumoniae* : diagnostic indirect (sérologique)
 - *M. hominis* et *U. urealyticum* :
 - prélèvement : recueillir des cellules épithéliales
 - culture sur milieux aquacellulaires complexes
 - sur milieux solides : colonies en oeufs sur le plat (*M. hominis*) ou en oursin (*U. urealyticum*)
 - identification biochimique
- Traitement :
 - *M. pneumoniae* et *U. urealyticum* : sensibles aux cyclines, aux macrolides et aux fluoroquinolones
 - *M. hominis* : résistant aux macrolides, mais sensible aux cyclines et aux fluoroquinolones

Les Rickettsia :

- les rickettsia : ensemble de bactéries de petite taille, non cultivables sur milieux inertes
- elles sont responsables de rickettsioses :
 - un syndrome infectieux évoquant la typhoïde
 - s'accompagnant d'un exanthème
- elles sont transmises par un insecte vecteur et ont comme réservoir des rongeurs sauvages.

TP de bactériologie : questions

Les 10 questions auxquelles l'étudiant doit savoir répondre en fin de la première journée :

1. Quelles sont les précautions à prendre pour réaliser un prélèvement urinaire pour ECBU de bonne qualité et pour quelles raisons ?

- désinfecter le méat urinaire (pour éviter contamination)
- sélectionner le milieu du jet (pas le début pour éviter contamination)
- pas de traitement antibiotique avant le prélèvement (sinon on voit rien)
- conserver au froid (pour stopper le développement bactérien)

2. Flore commensale digestive : quelle est sa composition ?

- 99% anaérobies (effet barrière pour l'implantation de souches pathogènes)
- entérobactéries (E. coli)
- entérocoques et rectobacilles aussi

3. Flore commensale cutanée : quelle est sa composition ?

- Staphylocoques à coagulase négative en grande majorité

4. Flore commensale cutanée : quel est son impact sur les examens de bactériologie ?

- elle est à l'origine de souillure (hémocultures +++)

5. Quel moyen doit-on utiliser au laboratoire de bactériologie pour isoler une bactérie pathogène au sein d'une flore commensale ?

- on utilise des conditions de cultures favorables à la bactérie recherchée et défavorables aux autres

6. Quel est le gîte naturel de *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque doré ?

- les fosses nasales antérieures (25~30% de la population)

7. Quel est le pouvoir pathogène du staphylocoque doré ?

- infection cutanéomuqueuse, pyogène. Très pathogène

8. Quel est le principe de la coloration de Gram ?

- cf. questions sur le cours I

9. Quel est l'intérêt de l'ensemencement par isolement en quadrants sur gélose ?

- on isole les bactéries les unes des autres

10. Quel est le délai nécessaire pour obtenir une culture bactérienne à partir d'un prélèvement ?

- 24h (pour la plupart)

TP de bactériologie : questions

Les 10 questions auxquelles l'étudiant doit savoir répondre en fin de la deuxième journée :

1. Comment dénombre t-on les leucocytes et les bactéries lors de l'analyse bactériologique d'une urine ?
 - cellules de Malassez : quadrillage ($1\text{mm}^3/\text{nb}$ de quadrants) pour compter et rapporter au volume
2. Quels sont les seuils de leucocyturie et de bactériurie définissant une infection urinaire chez un patient symptomatique ?
 - $10^4/\text{ml}$ pour tous
3. Quelles sont les différences essentielles entre un staphylocoque et un streptocoque ?
 - morphologie et catalase (cf. questions cours 5)
4. Quel(s) test(s) utiliser pour différencier un staphylocoque doré d'un staphylocoque « blanc » ?
 - coagulase : test d'agglutination (cf. questions cours 5)
5. Sur quelle caractéristique biochimique distingue t-on aisément un streptocoque d'un entérocoque ?
 - Streptocoque : pousse sur une gélose additionnée en sang ou sérum frais (germe exigeant)
 - Entérocoque : pousse sur un milieu de bilescoline (car pas fragile)
6. Qu'est ce qu'un entérocoque et quel est son pouvoir pathogène ?
 - infections urinaires et digestives (péritonites et cie), endocardites si valvulopathie pré-existante
7. A quoi sert le test de l'oxydase pour les bacilles à Gram négatif ?
 - à différencier les pseudomonas des entérobactéries
8. Sur quelles caractéristiques repose l'identification des différentes espèces d'entérobactéries ?
 - au moyen de tests biochimiques
9. Quel est le principe de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose ?
 - déterminer la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance (CMI)
des petits disques sur la gélose diffusent, on mesure le diamètre d'inhibition équivalent)
10. Quel est le délai nécessaire pour obtenir les résultats d'un antibiogramme à partir d'un prélèvement ?
 - 18h minimum

TP de bactériologie : questions

Les 10 questions auxquelles l'étudiant doit savoir répondre en fin de la troisième journée :

1. Citer les 3 entérobactéries les plus fréquemment responsables des infections urinaires en ville. → *E. coli* ; *Proteus Mirabilis* ; *Klebsiella Pneumoniae*

2. Quelles sont les trois catégories cliniques du résultat d'un antibiogramme et leur signification ?
→ Sensible : P(succès thérapeutique) = +++
→ Intermédiaire, éviter de prescrire sauf si besoin et si :
- l'antibiotique est peu toxique et on peut augmenter les doses
- l'antibiotique se concentre dans les foyers infectieux
→ Résistance : P(succès thérapeutique) = 0

3. Interprétation et conduite à tenir devant un résultat d'ECBU : jeune femme, dysurie, pollakiurie

LEUCOCYTES/ml : 70.000 GRAM : Bacilles à Gram $\ominus$: ++ Coques à Gram $\oplus$: absence
CULTURE : Bactéries/ml > 100.000 Identification : *Escherichia coli*
→ leucocyturie > 10^4 /ml et bactéries > 10^4 /ml donc infection urinaire à Colibacille
→ traitement minute (monodose)

4. Interprétation et conduite à tenir devant un résultat d'ECBU : femme, prurit génital, gêne mictionnelle

LEUCOCYTES/ml : 3.000 GRAM : Bacilles à Gram $\ominus$: absence Coques à Gram $\oplus$: rares
CULTURE : Bactéries/ml 50.000 Identification : au moins 3 espèces différentes
→ ECBU mal fait, sans doute contaminé (on peut traiter ou pas)

a. Idem + cellules épithéliales +++ à l'examen microscopique : conduite à tenir ?
→ C'est obligatoirement contaminé et mal prélevé : recommencer

5. Interprétation et conduite à tenir devant un résultat d'ECBU : femme asymptomatique ; analyse systématique dans le cadre d'un bilan médical

LEUCOCYTES/ml : 3.000 GRAM : Bacilles à Gram $\ominus$: rares Coques à Gram $\oplus$: absence
CULTURE : Bactéries/ml > 100.000 Identification : *Escherichia coli*
→ la personne a du garder ses prélèvements avec elle toute la journée avant de l'amener au labo

6. Quelle est la coloration spécifique utilisée pour mettre en évidence le bacille de la tuberculose à l'examen microscopique ?

→ c'est la coloration de Ziehl qui met en évidence l'acido-alcool-résistance

7. Citer d'autres bactéries acido-alcool-résistantes c'est-à-dire Ziehl $\oplus$

→ les mycobactéries atypiques

8. Quel est le délai moyen de culture de *Mycobacterium tuberculosis* (Bacille de Koch)

→ 3 semaines (prélèvement : expectoration ou tubage gastrique)

9. Quel est le délai moyen pour avoir le résultat d'un antibiogramme de *Mycobacterium tuberculosis*

→ 6 semaines en classique ; 13 jours en pratique

10. Quel est l'impact d'un examen microscopique positif lors d'une suspicion de

tuberculose ? → isolement respiratoire du patient, port du masque obligatoire pendant les premiers jours de traitement, puis après ~6 jours, le patient n'est plus contagieux

ED 1 et 2 : Les antibiotiques

I. Interprétation de l'antibiogramme : quelles sont les différentes catégories et leurs définitions respectives.

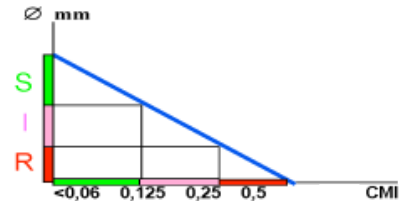
Pour comprendre l'antibiogramme, il faut connaître la notion de concentrations critiques :

- **c** : concentration critique inférieure
→ concentration plasmatique de l'antibiotique obtenue à posologie recommandée
dose minimale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir faisant effet sur la souche bactérienne
- **C** : concentration critique supérieure
→ concentration plasmatique (ou locale) maximale de l'antibiotique non toxique pour le malade
dose maximale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers

Etude mathématique de la distribution → Droite de régression

On fait correspondre aux concentrations critiques des diamètres critiques que l'on lit sur l'antibiogramme.

	CMI	Diamètres
S	$CMI \leq c$	$\varnothing \geq D$
I	$c < CMI \leq C$	$d \leq \varnothing < D$
R	$CMI > C$	$\varnothing < d$



Les différentes catégories de l'antibiogramme sont :

- **S** : la bactérie est sensible à l'antibiotique testé **CMI < c**
→ P(succès thérapeutique) acceptable avec un traitement par voie générale à posologie recommandée
la concentration plasmatique de l'antibiotique sera toujours suffisante pour tuer les bactéries
- **R** : la bactérie est résistante à l'antibiotique testé **CMI >> C**
→ forte probabilité d'échec thérapeutique quel que soit le type de traitement et la dose
la dose nécessaire chez l'homme pour tuer les bactéries est bien trop élevée pour pouvoir être supportée
- **I** : la bactérie est intermédiaire **c < CMI < C**
→ P(succès thérapeutique) imprévisible : on préfère ne pas utiliser l'antibiotique sauf si il n'y a pas mieux
la concentration plasmatique de l'antibiotique sera tantôt suffisante, tantôt insuffisante pour tuer les bactéries

2. Définition de bactériostase et de bactéricidie.

- **Bactériostase** : diminution de la croissance bactérienne (sans phase de destruction)
→ définie par la CMI : concentration minimale inhibitrice (mg/L ou µg/mL)
plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible après 24h d'incubation
→ ATB bactériostatique : arrête la croissance des bactéries **CMI << CMB**
en empêchant la prolifération bactérienne, il facilite la destruction des germes par les défenses de l'hôte
- **Bactéricidie** : correspond à la mort des bactéries
→ définie par la CMB : concentration minimale bactéricide (mg/L ou µg/mL)
plus faible [ATB] pour laquelle on dénombre moins de 0,01% de survivants après 24h d'incubation
→ ATB bactéricide : tue les bactéries **CMI # CMB**
on le préfère en cas d'infection grave et/ou à inoculum important et chez tous les patients immunodéficients

3. Quelles sont les raisons théoriques conduisant à la prescription d'antibiotiques ?

- **Élargir le spectre d'action** :
→ antibiothérapie probabiliste surtout
→ dans le cadre des infections poly-microbiennes aussi
- **Diminuer le risque de sélectionner un mutant résistant** :
→ fonction du germe
→ fonction de l'antibiotique
- **Synergie** : permet d'obtenir un effet bactéricide plus intense
→ utile en cas d'infection sévère

ED 1 et 2 : Les antibiotiques

4. Antibiotiques temps-dépendant et concentration-dépendant : définition.

Citer un exemple de chaque type.

- Antibiotique temps-dépendant : son effet dépend du temps d'exposition mais pas de la concentration
 - temps d'exposition T : temps pendant lequel $[ATB]_{\text{plasma}}$ se situe au-delà de la CMI
 - ne présente pas ou peu d'effet post-antibiotique
 - maximiser le temps au-dessus de la CMI
 - exemple : les β -lactamines
- Antibiotique concentration-dépendant : son effet augmente avec la concentration
 - pic sérique C_{max} : $[ATB]_{\text{plasma}}$ maximale obtenue
 - présente un effet post-antibiotique important et dépendant de la dose
un apport important en ATB garantit dans ce cas une réduction drastique de l'inoculum bactérien qui pourra se maintenir jusqu'à une nouvelle administration grâce à l'effet post-antibiotique
 - exemple : les aminoglycosides

5. Citer les grands mécanismes de résistance aux antibiotiques :

- Diminution de l'accumulation de l'antibiotique
 - par défaut de pénétration de l'antibiotique : imperméabilité
 - par efflux actif (surexpression des pompes à efflux ; système énergie-dépendant) : excrétion
- Inactivation de l'antibiotique par un système enzymatique
- Problème de cible : diminution de l'affinité
 - par une modification
 - par une nouvelle voie métabolique (by-pass)

6. Mécanisme d'action des β -lactamines et mécanismes de résistance acquise chez les staphylocoques.

- Mécanisme d'action des β -lactamines : inhibition de la synthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne)
 - par la liaison aux Penicilin-Binding-Proteins (PBP), ce qui entraîne
 - l'inhibition de leur activité trans-peptidase impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne
par une parenté structurale entre les β -lactamines et le dipeptide D-ala D-ala constitutif de la paroi
- Mécanismes de résistance acquise chez les staphylocoques :
 - inactivation des β -lactamines par production de pénicillinase
 - nouvelle voie métabolique : production d'une nouvelle PBP (PLP-2A) insensible aux β -lactamines
*mutation des souches SARM (*S. Aureus* Résistant à la Mécilline) souvent multirésistantes*

7. Citer les indications préférentielles des quinolones.

- Infections urinaires basses et hautes
- Prostatites
- Infections digestives :
 - typhoïde
 - diarrhées aiguës invasives à Salmonelles et Shigelles
- Infections ostéo-articulaires