



Université Paris-VI

Bactériologie

DCEM1

2002 - 2003

Service de Bactériologie

Mise à jour : 24 mars 2003

Table des matières

3	Table des matières	
9	Chapitre 1 : Anatomie fonctionnelle des bactéries	
9	1.1	La découverte du monde bactérien
9	1.2	L'anatomie des bactéries
10	1.2.1	L'appareil nucléaire des bactéries
11	1.2.2	L'ADN extra-chromosomique
12	1.2.3	Le cytoplasme bactérien
12	1.2.4	La membrane cytoplasmique
13	1.2.5	La paroi bactérienne
16	1.2.6	Structures inconstantes
19	Chapitre 2 : Génétique bactérienne	
19	2.1	Variations génétiques par mutation
19	2.1.1	Caractères de la mutation bactérienne
22	2.1.2	La mutation à l'échelon moléculaire
22	2.2	Les variations génétiques par transfert de matériel génétique
23	2.2.1	La transformation
24	2.2.2	La conjugaison
25	2.2.3	Les plasmides
26	2.2.4	La transposition - Les transposons
27	2.2.5	La transduction
29	Chapitre 3 : Staphylocoques	
29	3.1	Définition
29	3.2	Historique
29	3.3	Habitat
29	3.4	Pouvoir pathogène
29	3.4.1	Caractères généraux
30	3.4.2	Infections staphylococciques
31	3.5	Etude bactériologique
31	3.5.1	Microscope
31	3.5.2	Culture
31	3.5.3	Caractères biochimiques
32	3.5.4	Facteurs de virulence de physiopathologie
34	3.6	Diagnostic bactériologique
35	3.7	Les bases du traitement

- 35 3.7.1 Traitement préventif
35 3.7.2 Traitement curatif

37 **Chapitre 4 : Les streptocoques, entérocoques et pneumocoques**

- 37 4.1 Les streptocoques
37 4.1.1 Historique
37 4.1.2 Habitat
38 4.1.3 Pouvoir pathogène
39 4.1.4 Etude bactériologique
40 4.1.5 Diagnostic bactériologique
41 4.1.6 Traitement
42 4.2 Les entérocoques
42 4.3 Le pneumocoque
42 4.3.1 Définition
42 4.3.2 Habitat
42 4.3.3 Pouvoir pathogène naturel
43 4.3.4 Etude bactériologique
44 4.3.5 Diagnostic bactériologique
45 4.3.6 Traitement
45 4.4 Bibliographie

47 **Chapitre 5 : Les neisseria**

- 47 5.1 *Neisseria meningitidis*
47 5.1.1 Habitat
47 5.1.2 Epidémiologie et pouvoir pathogène
48 5.1.3 Etude bactériologique
49 5.1.4 Diagnostic bactériologique
49 5.1.5 Traitement
50 5.2 *Neisseria gonorrhoeae*
50 5.2.1 Habitat
50 5.2.2 Pouvoir pathogène
51 5.2.3 Etude bactériologique
52 5.2.4 Diagnostic bactériologique
53 5.2.5 Traitement
54 5.3 Références

55 **Chapitre 6 : Les bacilles à gram positif non sporules**

- 55 6.1 *Corynebacterium diphtheriae*
55 6.1.1 Historique
55 6.1.2 Habitat
56 6.1.3 Pouvoir pathogène
56 6.1.4 Bactériologie

57	6.1.5	Diagnostic bactériologique
57	6.1.6	Traitement
58	6.2	Listéria monocytogènes
58	6.2.1	Habitat
59	6.2.2	Facteurs de virulence et physiopathologie
59	6.2.3	Pouvoir pathogène
60	6.2.4	Caractères bactériologiques et antigéniques
60	6.2.5	Diagnostic bactériologique
60	6.2.6	Traitement
61	Chapitre 7 : Entérobactéries et autres bacilles à gram négatif non exigeants	
61	7.1	Les entérobactéries
61	7.1.1	Caractères généraux et classification des entérobactéries
63	7.1.2	Salmonella
66	7.1.3	Shigella
67	7.1.4	Yersinia
69	7.1.5	Escherichia coli
71	7.1.6	Autres entérobactéries commensales
72	7.1.7	Entérobactéries saprophytes
72	7.2	Les autres bacilles à gram négatif aerobies non exigeants
72	7.2.1	Les bacilles à gram négatif des genres pseudomonas et acinetobacter
73	7.2.2	Vibrio cholerae
77	Chapitre 8 : Les bacilles a gram positif sporules	
77	8.1	Bacilles aerobies sporules
77	8.1.1	Bacillus anthracis
79	8.2	Bacilles anaérobies sporules
79	8.2.1	Caractères généraux des bactéries du genre clostridium
80	8.2.2	Clostridium botulinum
82	8.2.3	Clostridium tétani
84	8.2.4	Clostridia de la gangrène gazeuse
85	8.2.5	Les colites pseudomembraneuses provoquées par les clostridia
87	Chapitre 9 : Les bacilles à gram négatif hémophiles ou exigeants	
87	9.1	Genre géemophilus
87	9.1.1	Caractères généraux
87	9.1.2	Haémophilus influenzae
89	9.1.3	Autres haemophilus
90	9.2	Genre bordetella
90	9.2.1	Bordetella pertussis
92	9.3	Genre brucella

92	9.3.1	Définition
92	9.3.2	Habitat
92	9.3.3	Pouvoir pathogène naturel
92	9.3.4	Diagnostic
93	9.3.5	Traitement
95	Chapitre 10 : La flore microbienne normale de l'organisme	
97	Chapitre 11 : Les spirochetes	
97	11.1	Genre treponema
97	11.1.1	La maladie syphilitique
99	11.1.2	Bactériologie
100	11.1.3	Diagnostic biologique
101	11.1.4	Traitement
102	11.2	Borrelia
102	11.3	Les leptospira
103	Chapitre 12 : Mycobactéries	
103	12.1	Mycobacterium tuberculosis
103	12.1.1	Historique
103	12.1.2	Habitat
104	12.1.3	Pouvoir pathogène
104	12.1.4	Etude bactériologique
106	12.1.5	Pouvoir pathogène expérimental. Le phénomène de Koch
106	12.1.6	Diagnostic bactériologique
107	12.1.7	Traitement
108	12.2	Mycobacterium bovis
108	12.3	Mycobacterium africanum
108	12.4	Mycobactéries atypiques
109	12.5	Mycobactérium leprae
111	Chapitre 13 : Les rickettsia et bactéries voisines	
111	13.1	Définition
111	13.2	Historique
112	13.3	Bactériologie
112	13.3.1	Les rickettsia : classification
113	13.3.2	Les caractères généraux des rickettsies
114	13.4	Pouvoir pathogène chez l'homme
114	13.4.1	Bases du pouvoir pathogène
114	13.4.2	Les différentes rickettsioses humaines
117	13.5	Diagnostic des rickettsioses

117	13.6	Traitement des rickettsioses
119	Chapitre 14 : Les chlamydia	
119	14.1	Caractères généraux des chlamydia
119	14.2	Chlamydia trachomatis
120	14.2.1	Le trachome
120	14.2.2	Les infections génitales ou sexuellement transmissibles
120	14.2.3	Lymphogranulomatose vénérienne ou maladie de Nicolas et Favre
120	14.2.4	Diagnostic bactériologique
121	14.2.5	Traitement
121	14.3	Chlamydia psittaci
121	14.3.1	Le réservoir de germes
121	14.3.2	Le pouvoir pathogène
121	14.3.3	Diagnostic bactériologique
121	14.3.4	Traitement
122	14.4	Chlamydia pneumoniae
122	14.4.1	Réservoir de germes
122	14.4.2	Pouvoir pathogène
122	14.4.3	Diagnostic bactériologique
122	14.4.4	Traitement

Chapitre 1

Anatomie fonctionnelle des bactéries

1.1 La découverte du monde bactérien

Anton VAN LEEUWENHOEK (1632-1723), drapier hollandais et grand amateur de loupes et instruments d'optique, découvre et décrit entre 1674 et 1687 le monde microbien (« les animalcules »). Mais celui-ci n'est véritablement reconnu qu'à partir du milieu du XIX^e siècle à la suite des travaux de Louis PASTEUR et de ses élèves.

En 1866, HAECKEL crée le terme de **protistes** pour désigner, entre le monde animal et le monde végétal, les êtres unicellulaires et les êtres pluricellulaires sans tissus différenciés. Les protistes sont classés en deux catégories :

- Les protistes supérieurs ou **eucaryotes** qui possèdent un noyau entouré d'une membrane, des *chromosomes*, un *appareil de mitose* et une *structure cellulaire complexe* (mitochondries notamment).
- Les protistes inférieurs ou **procaryotes** qui ont un chromosome unique sans membrane nucléaire et sans appareil de mitose, et une structure cellulaire élémentaire (pas de mitochondries). *Les bactéries font partie des protistes procaryotes.*

En 1878, SEDILLOT crée le terme de *microbes* parmi lesquels on distinguera ensuite les bactéries proprement dites et les virus. Le terme virus, qui au début désignait tout agent infectieux, est maintenant réservé à la catégorie bien particulière de microbes qui ne possèdent qu'un seul type d'acide nucléique et qui sont incapables d'assurer à eux-seuls la synthèse de leurs propres constituants. Seule l'expression « réservoir de virus » a gardé un sens général : elle signifie réservoir de germes (de microbes) sans préjuger de la nature exacte du germe (du microbe) en question.

1.2 L'anatomie des bactéries

Les bactéries sont des êtres unicellulaires qui possèdent les éléments essentiels à la vie cellulaire.

Leur taille varie de 1 à 10 microns (μm). Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique ($\times 10^3$) ou au microscope électronique ($\times 10^6$). Elles peuvent être désintégrées par divers procédés physiques et chimiques, ce qui permet d'étudier les constituants bactériens ainsi libérés.

Quelques chiffres concernant une bactérie-type, *Escherichia coli* :

Poids d'une cellule : 10^{-12}g

Eau : 70 %

Poids sec d'une cellule : $3 \times 10^{-13}\text{g}$

Proportion du poids sec : protéines 55 %, lipides 10 %, lipopolysaccharides (LPS) 3 %, peptidoglycane 3 %, ribosomes 40 %, ARN 20 %, ADN 3 %.

1.2.1 L'appareil nucléaire des bactéries

Comme tous les protistes procaryotes, les bactéries possèdent un appareil nucléaire constitué d'acide desoxyribonucléique (ADN) qui est le support de l'information génétique.

L'ADN chromosomique est constitué d'une double hélice d'ADN circulaire. Cette double hélice est pelotonnée, surenroulée dans le cytoplasme grâce à l'action des topoisomérases (au nombre de 4 chez les bactéries). Déplié, le chromosome bactérien a près de 1 mm de long (1000 fois la longueur de la bactérie) et 3 à 5 nanomètres de large.

Les deux chaînes de nucléotides se répliquent selon le schéma de Watson et Crick, chaque chaîne assurant la répllication de la chaîne complémentaire selon un mode semi-conservatif.

L'analyse chimique de l'appareil nucléaire indique qu'il est composé à 80 % d'ADN (le chromosome), à 10 % d'acide ribonucléique ou ARN (rôle de structuration) et à 10 % de protéines. Ces dernières sont représentées en particulier par les ADN polymérases qui copient les doubles brins d'ADN, les topoisomérases, surtout les ADN gyrases, qui les déroulent pour permettre l'action des polymérases, et des ARN polymérases qui assurent la synthèse des divers ARN.

Les constituants de l'appareil nucléaire sont la cible d'action de plusieurs antibiotiques : les quinolones inhibent les topoisomérases et les rifamycines inhibent les ARN polymérases, tandis que les nitromidazolés entraînent la fragmentation de l'ADN chez les anaérobies stricts.

Tableau 1 Cible d'action des principaux antibiotiques

<i>Antibiotiques à activité principalement bactéricide</i>			<i>Antibiotiques à activité principalement bactériostatique</i>	
Classe	Cible bactérienne d'action		Classe	Cible bactérienne d'action
1. Betalactamines Ex. : pénicillines céphalosporines	paroi (peptidiglycane)	1.	Phénicol Ex. : chloramphénicol thiophénicol	ribosome
2. Aminosides Ex. : streptomycine gentamicine	ribosome	2.	Cyclines Ex. : tétracycline doxycycline	ribosome
3. Polymyxines Ex. : colimycine	membrane cytoplasmique	3.	Macrolides et apparentés Ex. : érythromycine pristinamycine	ribosome
4. Rifamycines Ex. : rifampicine	ARN polymérase	4.	Sulfamides et apparentés Ex. : cotrimoxazole	synthèse des acides nucléiques
5. Quinolones Ex. : A.nalidixique ciprofloxacine	ADN gyrase	5.	Nitroimidazolés Ex. métronidazole	Acides nucléiques

1.2.2 L'ADN extra-chromosomique

A côté du chromosome, support de l'hérédité, la bactérie peut contenir des éléments génétiques (ADN) de petite taille (0,5 à 5 % du chromosome bactérien), extra-chromosomiques. Ces éléments, appelés *plasmides*, ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie dans les conditions habituelles de croissance. Ils se répliquent indépendamment et en général plus rapidement que le chromosome bactérien. On les détecte lorsque les gènes qu'ils transportent confèrent à la bactérie de nouvelles propriétés (cf. chapitre « Génétique bactérienne » page 19). Les plus connus de ces plasmides sont les suivants :

1.2.2.1 Le facteur sexuel ou facteur F

Le facteur sexuel ou facteur F assure le transfert de fragments de chromosome bactérien par conjugaison (appariement de deux bactéries).

1.2.2.2 Les plasmides de résistance aux antibiotiques (ou facteurs R)

Ils portent des gènes qui confèrent aux bactéries la résistance à divers antibiotiques. Au contraire de la résistance conférée par une mutation chromosomique, la résistance conférée par un plasmide peut concerner des antibiotiques appartenant à plusieurs familles si le plasmide porte plusieurs gènes de résistance. La résistance codée par les gènes plasmidiques est souvent liée à la production

d'enzymes qui inactivent les antibiotiques. Par exemple des plasmides de résistance très fréquents chez les staphylocoques portent un gène qui code pour la production d'une pénicillinase qui inactive la pénicilline G et les pénicillines du groupe A (ampicilline) ce qui rend la bactérie résistante à ces pénicillines (idem chez *E.coli*, gonocoque,...). Les gènes peuvent être organisés dans le plasmide au sein de transposons (cf. chapitre « Génétique bactérienne » page 19).

1.2.2.3 Les autres plasmides

Certains plasmides sont responsables de la virulence (ex. : production de toxines), de la résistance aux antiseptiques, du métabolisme de certains composés (lactose, lysine, etc...), et de la dégradation de substances, par exemple le toluène, l'octane et l'acide salicylique.

1.2.3 Le cytoplasme bactérien

La structure du cytoplasme bactérien est beaucoup plus simple que celle du cytoplasme des cellules eucaryotes. Le cytoplasme ne contient pas en effet de mitochondries : les enzymes transporteurs d'électrons sont localisés dans la membrane cytoplasmique. En revanche, il est particulièrement riche en ARN solubles (ARN messager et ARN de transfert) et surtout en ARN particulaire ou ribosomal. Les ribosomes, au nombre de 15000 environ par bactérie, représentent 40 % du poids sec de la bactérie et 90 % de l'ensemble de l'ARN. Les ribosomes sont la cible d'action de nombreux antibiotiques, aminosides, phénicol, cyclines, macrolides (voir tableau 1 page 11). Ils sont constitués de protéines ribosomales et d'ARN (ARNr16S, ARNr23S et ARNr5S). Ils sont classiquement divisés en 2 sous-unités : la sous-unité 30S contient de l'ARNr16S et est la cible des aminosides et des cyclines ; la sous-unité 50S est constituée d'ARNr23S et est la cible des macrolides et apparentés.

L'ensemble des constituants cytoplasmiques sont placés dans un gel colloïdal, qui contient 80 % d'eau et des substances organiques et minérales, à une pression interne considérable (5 à 20 atmosphères).

1.2.4 La membrane cytoplasmique

1.2.4.1 La membrane cytoplasmique, ou membrane interne

Cette membrane est la limitante externe du cytoplasme. Elle est constituée d'une double couche d'unités de phospholipides (35 %) et de protéines qui lui sont associées (65 %). Certaines de ces protéines jouent un rôle dans la synthèse du peptidoglycane et sont appelées protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou penicillin-binding-proteins (PBP) car elles sont également la cible d'action des bêta-lactamines, famille d'antibiotiques à laquelle appartient la pénicilline.

La membrane cytoplasmique des bactéries se distingue de celle des cellules eucaryotes par l'absence de stérols. Elle est caractérisée par son extrême fluidité qui est liée au déplacement et à la rotation des groupements lipidiques.

1.2.4.2 Fonctions principales de la membrane cytoplasmique

Les fonctions principales de la membrane cytoplasmique sont les suivantes :

- perméabilité sélective et transport des substances solubles à l'intérieur de la bactérie : la membrane est à la fois une barrière osmotique et un lieu de transport actif grâce à des perméases ;
- fonction respiratoire par transport d'électrons et phosphorylation oxydative dans les espèces bactériennes aérobies (rôle équivalent à celui des mitochondries des eucaryotes) ;
- excrétion d'enzymes hydrolytiques, qui dégradent les polymères en sous-unités suffisamment petites pour pouvoir traverser la membrane cytoplasmique et être importés dans la bactérie ;
- support d'enzymes et de transporteurs de molécules impliqués dans la biosynthèse de l'ADN, des polymères de la paroi et des lipides membranaires.

1.2.4.3 Certaines substances antibactériennes affectent la membrane cytoplasmique

Les détergents qui contiennent des groupements lipophiles et hydrophiles détruisent la membrane cytoplasmique et tuent les bactéries. Certains antibiotiques, comme les **polymyxines**, agissent sur la membrane cytoplasmique comme de véritables détergents (voir tableau 1 page 11).

1.2.5 La paroi bactérienne

Malgré la forte pression osmotique (5 à 20 atmosphères) qui règne à l'intérieur du cytoplasme bactérien, la bactérie n'éclate pas grâce à l'existence d'une structure rigide, appelée paroi, de nature polymérique. Les polymères et leur mode de liaison varient selon les espèces bactériennes. Toutefois, une substance de base, *spécifique des bactéries*, est partout présente : c'est la muréine, appelée encore peptidoglycane.

1.2.5.1 Structure du peptidoglycane

Le peptidoglycane est un polymère complexe formé de 3 éléments différents :

1. une épine dorsale faite d'une alternance de molécules de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique ;
2. un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques, composées de 4 acides aminés et attachées à l'acide N-acétylmuramique ;
3. un ensemble de « ponts interpeptidiques » identiques.

L'épine dorsale est la même pour toutes les espèces bactériennes tandis que les chaînes latérales de tétrapeptides et les ponts interpeptidiques varient d'une espèce à l'autre.

La plupart des chaînes latérales comportent la L-alanine en position 1 (attachée à l'acide N-acétylmuramique), le D-glutamate en position 2, l'acide diamino-pimélique, la lysine ou un autre acide aminé en position 3, et la D-alanine en position 4.

La figure 1 donne une représentation schématique du peptidoglycane chez *Staphylococcus aureus*. Il faut noter que les ponts interpeptidiques, qui assurent la fermeture de ce véritable « filet » qu'est le peptidoglycane, sont constitués chez *Staphylococcus aureus* d'une chaîne de 5 molécules de glycine entre la D-alanine terminale et la L-lysine en position 3.

1.2.5.2 Différences entre bactéries à Gram positif et à Gram négatif

Chez les bactéries à Gram positif,

il y a de nombreuses couches de peptidoglycane qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne. Celle-ci contient aussi un feutrage (10 à 50 % du poids sec de la paroi) d'acides teichoïques (polymères du glycérol ou du ribitol phosphate) associés étroitement au peptidoglycane et faisant parfois saillie à la surface de la bactérie. Certains, les acides lipoteichoïques, sont placés transversalement, et s'enfoncent jusqu'à la membrane cytoplasmique. En général il n'y a pas ou peu de protéines dans la paroi des bactéries à Gram positif. Parmi les exceptions, notons la protéine A de *Staphylococcus aureus* (cf chapitre « Staphylocoques » page 29).

Chez les bactéries à Gram négatif,

il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne. Mais 3 polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une « membrane externe » qui contient du lipopolysaccharide.

Les lipoprotéines sont le lien entre le peptidoglycane et la « membrane externe » : le composant protéine est un polymère de 15 acides aminés qui forme une liaison peptidique avec le térapeptide des chaînes latérales du peptidoglycane ; le composant lipide est relié à la « membrane externe ».

La « membrane externe » est constituée d'une double couche de phospholipides dans laquelle tout ou partie des phospholipides de la couche la plus externe sont remplacés par des molécules de lipopolysaccharide. Au sein de cette « membrane externe », qui est une mosaïque fluide, se trouvent associés au moins deux types de protéines spécifiques : certaines sont dites protéines de structure car elles consolident la membrane externe (exemple : OMP-A) ; d'autres, appelées « porines » permettent le passage des petites molécules hydrophiles et en particulier, sur le plan médical, des antibiotiques (β -lactamines, tétracyclines, quinolones...).

Sur le plan immunologique, le lipopolysaccharide constitue l'antigène O des bactéries à Gram négatif. Le LPS est un lipide complexe auquel est attaché un polysaccharide qui est responsable de la spécificité antigénique de l'antigène O. Sur le plan physiopathologique, le LPS, extrêmement toxique, représente l'endotoxine des bactéries à Gram négatif.

Tableau 2 Schéma de la paroi d'une bactérie à gram négatif

Protéines de la membrane externe (Outer Membrane Protein = OMP) :

- de structure ; ex. : OMP-A
- porines, ex : OMP-C, OMP-F

Lipoprotéines (LP) qui permettent la cohésion du PG et des phospholipides (PL)

Protéines de la membrane cytoplasmique ou interne :

- de structure (PS)
- enzymes membranaires dont celles qui sont impliquées dans la synthèse du peptidoglycane (PG) et cibles des betalactamines, appelées protéines liant la pénicilline (PLP)
- LPS : lipopolysaccharide (ou antigène 0) qui remplace en tout ou partie les phospholipides de la couche externe de la membrane externe.

1.2.5.3 Rôle de la paroi

- La paroi confère à la bactérie sa morphologie véritable. Elle constitue le squelette externe de la bactérie et représente 25 à 35 % du poids total de la bactérie.
- La paroi contient la pression osmotique interne. Sans paroi, les bactéries prennent une forme sphérique appelée *protoplaste* s'il s'agit d'une bactérie à Gram positif, ou *sphéroplaste* s'il s'agit d'une bactérie à Gram négatif. Les bactéries peuvent survivre sans paroi et même se multiplier (on les appelle alors formes L) à condition d'être placées dans un milieu dont la pression osmotique est équilibrée avec la pression osmotique qui règne à l'intérieur de la bactérie.
- Elle joue un rôle déterminant dans la coloration de Gram. Chez les bactéries à Gram positif, la paroi bloque l'extraction du violet de gentiane et de l'iodure par l'alcool alors qu'elle ne bloque pas cette extraction chez les bactéries à Gram négatif.
- Elle joue un rôle déterminant dans la spécificité antigénique des bactéries.
- Elle est le support de l'action de certains enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) et de certains antibiotiques, notamment les bêtalactamines (pénicillines) qui inhibent la synthèse du peptidoglycane (voir tableau 1 page 11).
- Le lipopolysaccharide (LPS) et le peptidoglycane sont capables d'activer le complément par la voie alterne ce qui libère, entre autre, les fractions C3a et C5a (effet chimiotactique) et C3b (effet opsonisant par les récepteurs des phagocytes pour le C3b) qui jouent un rôle important dans la défense non spécifique contre l'infection.

1.2.6 Structures inconstantes

1.2.6.1 La capsule

La capsule est un enduit excrété par certaines bactéries. Elle est habituellement de nature polysaccharidique, quoique dans le cas de *Bacillus anthracis* (le bacille du charbon) elle consiste en un polypeptide de l'acide D-glutamique.

Chez les espèces bactériennes capsulées, des mutations peuvent affecter la production de capsule : les bactéries sauvages capsulées donnent des colonies lisses (S pour « smooth ») ou muqueuses, tandis que les bactéries mutantes non capsulées donnent des colonies rugueuses (R pour « rough »). Des variations transitoires peuvent également l'affecter puisque la production de capsule est souvent fonction de la présence de fortes concentrations de sucres ou de sérum (variation phénotypique).

La capsule joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de certaines espèces bactériennes (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella*, *E.coli* K1) par son rôle protecteur contre la phagocytose.

1.2.6.2 Cils ou flagelles

Les cils, ou flagelles, sont des structures inconstantes chez les bactéries. Ce sont des appendices filamenteux, composés entièrement de protéines, de 6 à 15 μm de long sur 12 à 30 nanomètres d'épaisseur. Les protéines flagellaires sont appelées **flagellines**.

Antigéniques (elles provoquent la formation d'anticorps que l'on peut mettre en évidence dans certains sérodiagnostics, ex. fièvre typhoïde), elles sont différentes d'une espèce bactérienne à une autre. Les flagelles sont attachés dans le cytoplasme bactérien par une structure complexe. Ils constituent les organes de locomotion pour les bactéries qui en possèdent. Selon la disposition des flagelles, on distingue les bactéries monotriches (un seul flagelle polaire), lophotriches (une touffe de flagelles polaires) ou péritriches (flagelles répartis sur toute la surface de la bactérie).

1.2.6.3 Les pili ou fimbriae

De nombreuses bactéries à Gram négatif (exceptionnellement des bactéries à Gram positif) possèdent des appendices de surface plus courts et plus fins que les flagelles et que l'on appelle pili (de pilus = poil), ou fimbriae (frange). On en distingue deux catégories :

Les pili communs

Les pili communs, sont des structures protéiques filamenteuses, de 2 à 3 μm de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie. Ils sont constitués par la polymérisation d'une même sous-unité polypeptidique, la piline, assemblée à des polypeptides mineurs dont l'adhésine. L'adhésine peut avoir des interactions avec un récepteur cellulaire hydrocarboné (glycolipides ou glycoprotéines) présent à la surface d'une cellule eucaryote. En tant que support d'une adhésine, les pili permettent la fixation de certaines bactéries sur les muqueuses, ce qui conditionne leur pouvoir pathogène (ex. fixation de *Escherichia coli* sur

la muqueuse vésicale, du gonocoque sur la muqueuse de l'urètre, du vibrion du choléra sur les entérocytes...). Les structures génétiques codant pour les complexes pili-adhésine sont des opérons en situation plasmidique ou chromosomique.

Les pili sexuels,

plus longs mais en nombre plus restreint (1 à 4) que les pilis communs sont codés par des plasmides (facteur F). Ils jouent un rôle essentiel dans l'attachement des bactéries entre elles au cours de la conjugaison. Ces pilis sexuels servent également de récepteurs de bactériophages spécifiques.

Chez certaines bactéries à Gram positif, des protéines de surface dépassent largement de la paroi et jouent un rôle dans l'adhérence bactérienne, comme les fimbriae, auxquels on pourrait les assimiler. Il s'agit de la protéine A de *Staphylococcus aureus* et de la protéine M de *Streptococcus pyogenes*.

1.2.6.4 Les spores

Les bactéries appartenant à certains genres, notamment le genre *Bacillus* et le genre *Clostridium*, sont capables de former des endospores. Les bactéries sporulées subissent un cycle de différenciation en réponse aux conditions d'environnement : en l'absence d'aliments, une spore se forme à l'intérieur de chaque bactérie et est libérée lorsque la bactérie s'autolyse. La spore est une cellule bactérienne au repos, hautement résistante à la dessiccation, à la chaleur et aux agents chimiques. Replacée dans des conditions nutritionnelles favorables, la spore germe et redonne une bactérie identique à celle qui lui a donné naissance. La spore est donc une forme de résistance aux conditions défavorables de vie, avec conservation de toutes les aptitudes génétiquement déterminées.

1.2.6.5 Le glycocalyx

Le glycocalyx est un feutrage de fibres polysaccharidiques (exopolymère) présent à la surface des bactéries dans leur milieu naturel. Chez certaines espèces bactériennes des quantités importantes de glycocalyx sont synthétisées (cas de *Pseudomonas aeruginosa* ou de *Streptococcus mutans*) et engluent les cellules bactériennes. Le glycocalyx est alors appelé « slime ».

La production de glycocalyx favorise l'adhésion de la bactérie, par exemple aux matériaux étrangers (prothèse...). Celui qui est produit par *Streptococcus mutans* est responsable de la formation de la plaque dentaire, indirectement responsable des caries.

Chapitre 2

Génétique bactérienne

L'ADN bactérien peut être l'objet de variations qui se traduisent par l'apparition de différences héréditaires dans les structures et/ou les fonctions permanentes des bactéries. Les variations génétiques ou génotypiques (le génotype est l'ensemble des déterminants génétiques portés par une cellule) résultent d'une mutation, d'une transformation, d'une conjugaison, de l'acquisition d'un plasmide, d'une transduction,... en somme d'un changement de nature d'un ou plusieurs gènes. Les variations génétiques doivent être distinguées des variations phénétiques ou phénotypiques (le phénotype est l'ensemble des propriétés observables d'une cellule). Les premières affectent le **génome** bactérien dans sa séquence nucléotidique alors que les secondes affectent le **comportement** de la bactérie.

Les variations phénotypiques qui résultent de l'adaptation de l'ensemble d'une population bactérienne ayant le même génotype à diverses conditions extérieures sont réversibles, non transmissibles à la descendance mais spécifiques (non aléatoires). Leur mécanisme est en relation avec l'activité des gènes qui peut être régulée par des systèmes plus ou moins complexes : induction comme dans l'opéron lactose ; répression comme dans l'opéron tryptophane (Jacob et Monod 1961...).

2.1 Variations génétiques par mutation

La mutation est un changement, spontané ou provoqué par un agent mutagène, héréditaire (stable), brusque (discontinu), rare (10^{-6} à 10^{-9}) et indépendant dans les caractères d'une bactérie, et qui est lié à une modification du génome bactérien (ADN). Il n'y a pas de différence de nature entre la mutation d'une cellule eucaryote et celle d'une cellule procaryote.

2.1.1 Caractères de la mutation bactérienne

Spontanéité (hasard) ou induction. Pour révéler la présence d'un mutant, il est nécessaire d'utiliser un moyen sélectif (par exemple milieu de culture avec un antibiotique, ou milieu minimum additionné d'un seul acide aminé). De ce fait on ne peut distinguer si la mutation est spontanée ou si elle est induite par l'agent sélectif. Le caractère spontané de la mutation a été formellement établi par l'analyse statistique de la distribution des mutants dans des tubes de bouillon de culture ensemencés en parallèle avec une même suspension microbienne (test de fluctuation de Luria et Delbruck, 1943) et par le test des répliques au tampon de velours, sans contact avec l'agent sélecteur (Lederberg et Lederberg, 1952).

- a. *Le test de fluctuation de Luria et Delbruck* (figure 1) concerne la résistance d'*E.coli* à un bactériophage (virus qui infecte les bactéries et entraîne leur lyse). Une culture jeune en milieu liquide est divisée en deux parties égales de 10 ml. Chaque partie contient 1.000 cellules bactériennes. La première partie est gardée telle quelle dans un flacon, tandis que la seconde est subdivisée à parties égales (0,2 ml) en 50 petits tubes. Tous les tubes sont mis à cultiver à 37°C. Après culture, le contenu des tubes est étalé sur des géloses recouvertes de bactériophages : 50 échantillons égaux sont prélevés du flacon et étalés séparément ; le contenu de chacun des 50 petits tubes est aussi étalé séparément.

On observe les faits suivants : le nombre de colonies bactériennes résistant aux bactériophages est à peu près le même, entre 3 et 7 colonies résistantes, sur chacune des cinquante géloses ensemencées à partir du flacon. En revanche, parmi les géloses ensemencées à partir des 50 petits tubes, certaines ne montrent pas de colonies résistantes, d'autres en montrent une centaine.

L'explication du phénomène est la suivante : si les bactériophages induisaient la mutation vers la résistance **après** que les bactéries aient été exposées aux bactériophages, toutes les géloses devraient donner le même nombre de colonies résistant aux bactériophages. Si au contraire, les mutations se produisaient comme des événements survenant au hasard dans les cultures bactériennes **avant** qu'elles ne soient exposées aux bactériophages, quelques-uns des petits tubes pourraient ne pas contenir de mutants, tandis que ceux dans lesquels les mutations seraient survenues tôt au cours de la période de culture devraient en contenir beaucoup. Donc, s'il y avait mutation, le nombre de colonies résistantes aux phages obtenues à partir des cinquante petits tubes devrait présenter un fort degré de *fluctuation* comparé au nombre de colonies résistantes provenant du flacon. C'est exactement ce que l'on observe ! Il s'agit donc d'une mutation spontanée et non d'une « mutation dirigée par les bactériophages ».

- b. *La culture par réplique de Lederberg et Lederberg (1952)*. Un morceau de velours stérile est tendu sur un cylindre de métal ou de bois dont le diamètre est légèrement plus petit qu'une boîte de Pétri. En appuyant légèrement le velours sur une gélose en boîte de Pétri contenant des colonies bactériennes, une fraction de chaque colonie est transférée sur le velours. En appliquant ensuite la surface du velours sur une autre gélose vierge, on obtient d'un seul coup un repiquage colonie par colonie de la première gélose, et, en répétant les « répliques », on peut repiquer l'ensemble des colonies d'une boîte de Petri sur de multiples boîtes.

On peut démontrer par cette technique que les mutations surviennent indépendamment du facteur de sélection (figure 2). Pour cela on étale un grand nombre d'*E.coli* sur une gélose sans antibiotique. Lorsque la culture a poussé en donnant des colonies confluentes, on fait, à partir de cette gélose, des répliques sur d'autres boîtes contenant un antibiotique. Des colonies de mutants résistants à l'antibiotique apparaissent sur ces boîtes repiquées dont quelques unes occupent une position identique sur chaque boîte.

On peut présumer que ceux-ci sont originaires de clones¹ de cellules résistantes qui se trouvaient sur la boîte d'origine.

Un morceau de la surface de la culture est alors prélevé à l'emplacement correspondant sur la boîte d'origine et ensemencé dans un tube de bouillon. Lorsque la culture en bouillon s'est produite, un échantillon est étalé sur une seconde boîte de gélose sans antibiotique et, ensuite, lorsque cette culture a poussé, on repique par la technique du tampon de velours de nouvelles boîtes contenant l'antibiotique. On constate qu'il y a maintenant une plus grande proportion

1. Un clone est une population bactérienne descendant d'une seule bactérie

de colonies résistantes que la première fois. On constate aussi que des colonies de mutants résistants occupent une position identique sur chaque boîte répliquée. Il suffit de prélever à nouveau un fragment de la surface de culture à l'emplacement correspondant sur la boîte d'origine et de porter ce fragment en bouillon.

Si on répète ce processus plusieurs fois, on obtient des cultures de plus en plus riches en colonies résistantes à l'antibiotique. Finalement, en n'ensemencant que 100 cellules bactériennes, on obtient plusieurs colonies résistantes. On peut, sur la culture d'origine, les prélever séparément et vérifier qu'elles sont toutes composées de cellules bactériennes résistantes à l'antibiotiques.

Le fait capital de cette expérience est que, **sans aucun contact direct avec l'antibiotique**, on a pu augmenter la proportion de mutants, à chaque cycle d'étalement, ce qui prouve que la mutation originelle conférant la résistance à l'antibiotique est apparue en l'absence de l'antibiotique qui ne joue dans l'expérience que le rôle d'agent sélecteur.

Discontinuité (caractère brusque)

La mutation ne s'effectue pas à la suite d'une longue période d'adaptation progressive, avec des formes intermédiaires, mais habituellement en une seule étape (loi du tout ou rien). Dans certains cas, cependant, un comportement extrême (par exemple résistance de **haut niveau** aux quinolones chez *E.coli*) apparaît à la suite de mutations successives de plusieurs gènes. On oppose cette résistance par étapes successives (« multiple step » résistance) à celle qui se produit en une seule étape (« one step » résistance).

Stabilité

Même en l'absence de l'agent sélecteur, le caractère acquis par la mutation est transmis à la descendance et se maintient dans les subcultures. La stabilité n'exclut cependant pas la réversibilité de la mutation (« reverse mutation »). Ex. : *E.coli* mutable pour le caractère lactose.

Rareté

La mutation est un phénomène rare qui n'affecte qu'une faible fraction de l'ensemble des cellules bactériennes au sein d'une large population. La proportion des mutants que l'on peut **observer** dans la population bactérienne d'origine dépend de trois paramètres indépendants :

1. la probabilité qu'une cellule bactérienne mute dans une unité de temps donné, correspondant à un certain nombre de générations. Cette probabilité s'appelle le **taux de mutation** ;
2. la distribution dans le temps des événements mutationnels durant la période de culture (cf. le test de fluctuation de Luria et Delbruck), des mutations très précoces produisant de très larges clones de descendants du mutant) ;
3. le taux de croissance du mutant comparé à celui du type parental sauvage (« fitness »).

Bien que rares, les mutants peuvent être sélectionnés au sein d'une population bactérienne, soit **spontanément** (sélection relative) parce qu'ils possèdent un avantage physiologique (ex : vitesse de croissance, taux de létalité, pathogénicité...), soit **artificiellement** (sélection absolue) parce qu'ils sont par exemple résistants à un antibiotique qui « révèle » la mutation (agent sélecteur).

Indépendance et spécificité

La mutation n'affecte habituellement qu'un seul caractère en respectant les autres (ex. :

M.tuberculosis sensible à tous les antibiotiques → *M.tuberculosis* résistant à la streptomycine et sensible à tous les autres antibiotiques). Dans certains cas, lorsque les mutations résultent de la modification d'une séquence de gènes fonctionnant ensemble (un opéron), elles peuvent affecter plusieurs caractères (mutation pléiotrope).

La mutation d'un caractère donné ne modifie pas la probabilité de mutation d'un autre caractère. Il y a indépendance des mutations. Il en résulte que la probabilité de mutation simultanée à l'égard de deux caractères est égale au produit des probabilités individuelles. Si la probabilité de la résistance de *M.tuberculosis* à la streptomycine par mutation est de 10^{-5} et celle de la résistance à l'isoniazide de 10^{-6} , la probabilité de résistance double simultanée à la streptomycine et à l'isoniazide est de 10^{-11} (base de la polychimiothérapie de la tuberculose, du SIDA...).

2.1.2 La mutation à l'échelon moléculaire

Tout changement dans la séquence nucléotidique d'un gène constitue une mutation. La séquence nucléotidique peut changer de deux manières, soit par substitution d'une paire de bases par une autre à la suite d'une erreur durant la réplication, soit par cassures de l'ossature sucre-phosphate de l'ADN avec perte, addition ou inversion d'ADN entre les deux cassures.

- Changement de séquence consécutif à la substitution d'une paire de base* : il peut s'agir d'une transition (ex. : AT est remplacé par GC), ou d'une inversion ou transversion (AT↔TA. La plupart des mutations par substitution d'une paire de bases sont réversibles (mutations réverses). Certaines sont silencieuses (inapparentes), en particulier quand la substitution concerne le 3^e nucléotide du codon car elles ne modifient pas la séquence en acides aminés de la protéine correspondante (dégénérescence du code génétique. D'autres sont au contraire létales, par exemple lorsque la mutation introduit un codon non-sens (protéine tronquée).
- Changement de séquence consécutive à une cassure des liaisons sucre-phosphate* : la mutation affecte en général une séquence de bases plutôt qu'une simple paire. Il y a délétion (perte) d'une séquence (codon) d'ADN, inversion d'une séquence, ou encore insertion d'une séquence. Dans ces cas, la mutation est souvent létale ou non réversible.

2.2 Les variations génétiques par transfert de matériel génétique

La bactérie peut être l'objet de variations génétiques autres que la mutation. Celles-ci peuvent résulter du transfert de matériel génétique d'une bactérie à une autre par des processus aussi différents que la transformation, la transduction et la conjugaison.

2.2.1 La transformation

La transformation est le transfert passif d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, dite en état de compétence. Le transfert, qui est partiel et limité à quelques espèces bactériennes, entraîne l'acquisition par la bactérie réceptrice de nouveaux caractères génétiques stables et transmissibles.

Découverte de la transformation. En 1928, Frederick Griffith démontre que l'inoculation sous-cutanée à la souris d'un mélange de pneumocoques capsulés (virulents) tués par la chaleur et de pneumocoques acapsulés (non virulents) vivants, entraîne une septicémie mortelle à pneumocoques capsulés vivants (figure 3a). Il y a donc eu transformation ou « réversion » des pneumocoques acapsulés (R) en pneumocoques capsulés (S). La transformation est plus facile lorsque les pneumocoques acapsulés vivants et les pneumocoques capsulés tués sont du même sérotype.

En 1944, Avery MacLeod et McCarty démontrent que le « principe transformant » est l'ADN bactérien. Ils réussissent à reproduire *in vitro* la transformation en présence d'ADN fortement polymérisé. L'activité transformante est perdue en présence de désoxyribonucléase.

Caractères de la transformation. La transformation *naturelle* ou physiologique exige l'état de *compétence* qui n'apparaît qu'à certains stades de la division cellulaire et seulement chez une fraction de la population bactérienne. La transformation *artificielle* est précédée du traitement chimique ou enzymatique de la paroi bactérienne avant sa mise en contact avec l'ADN.

La transformation naturelle peut s'observer chez un nombre limité d'espèces bactériennes à Gram positif (*Streptococcus* et *Bacillus*) ou à Gram négatif (*Neisseria*, *Branhamella*, *Acinetobacter*, *Haemophilus*). Elle se produit selon les phases suivantes (figure 3b) :

apparition de l'état de compétence, fixation puis pénétration et intégration de l'ADN donneur dans le génome de la bactérie réceptrice. Chez les bactéries à Gram positif, les différentes phases mettent en jeu un activateur spécifique d'espèce, excrété par la bactérie et qui se fixe à la surface de la bactérie. Il y a ensuite synthèse d'une protéine fixatrice de l'ADN, d'une autolysine et une endonucléase. L'ADN fixé est ensuite partiellement hydrolysé puis converti en un fragment monocaténaire.

Les bactéries transformables sont capables de fixer des ADN de multiples sources mais ne sont capables de former des recombinaisons génétiques que si la bactérie donatrice et la bactérie réceptrice sont génétiquement très proches. Cette relative spécificité est liée au fait que l'appariement qui se produit avant la recombinaison exige une étroite homologie des séquences nucléotidiques endogènes et exogènes.

Chez les bactéries à Gram négatif, l'état de compétence est aussi en relation avec la synthèse d'un activateur de paroi qui est excrété par la bactérie à la phase exponentielle de croissance (*H. influenzae*) ou à la phase stationnaire (*Acinetobacter*).

L'ADN donneur se fixe sur la paroi au niveau de sites récepteurs, dans des conditions strictes de métabolisme cellulaire, de pH, de température et d'osmolarité.

Bien que la transformation ne permette que le transfert d'une petite fraction du génome bactérien (<1 %), soit d'efficacité relative (la fréquence de transfert est de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-6}) et soit limitée à quelques espèces bactériennes, elle est d'un grand intérêt théorique et pratique. Elle a permis de comprendre le mécanisme de la synthèse de la capsule, le contrôle génétique de la résistance aux antibiotiques, l'établissement de cartes génétiques, etc... Elle joue un rôle important dans l'évolution vers la résistance du pneumocoque (β -lactamines). Grâce à la *transfection*, qui est la possibilité d'infecter des bactéries par des ADN ou des ARN viraux, on a pu démontrer l'universalité du code génétique en 1961.

2.2.2 La conjugaison

La conjugaison est un transfert d'ADN entre une bactérie donatrice et une bactérie réceptrice, qui nécessite le contact et l'appariement entre les bactéries, et repose sur la présence dans la bactérie donatrice ou mâle d'un facteur de sexualité ou de fertilité (facteur F). Celui-ci permet la synthèse de pili sexuels et donne la polarité au chromosome. Le transfert d'ADN chromosomique qui est à sens unique, orienté, progressif et quelquefois total, a beaucoup de similitudes avec le transfert d'ADN extrachromosomique (plasmidique) (figure 4).

2.2.2.1 Mise en évidence de la conjugaison

La découverte de la transformation chez le pneumocoque et la possibilité d'obtenir des mutants auxotrophes (incapables de faire la synthèse d'un métabolite essentiel) ont suscité des recherches sur la recombinaison génétique chez les bactéries. L'expérience princeps de Lederberg et Tatum (1946) est à l'origine de la découverte de la conjugaison. Dans un milieu de culture liquide, ces auteurs ont mélangé deux types de mutants auxotrophes d'*E.coli*, d'une part des mutants exigeants seulement en thréonine (T^-) et en leucine (L^-) et, d'autre part, des mutants exigeants seulement en méthionine (M^-) et biotine (B^-). Après plusieurs heures de contact entre les mutants $T^- L^- M^+ B^+$ et les mutants $T^+ L^+ M^- B^-$, Lederberg et Tatum ont isolé des *E.coli* $T^+ L^+ M^+ B^+$ (environ 100 pour 10^8 *E.coli*). La recombinaison s'était produite avec une faible fréquence (10^{-6}) et exigeait en plus le contact entre les deux types de mutants auxotrophes.

2.2.2.2 Caractères de la conjugaison

Spécificité

Le transfert d'ADN chromosomique par conjugaison ne se produit qu'entre bactéries d'une même espèce (*spécificité*), et surtout chez les bactéries à Gram négatif telles que les entérobactéries (*E.coli*, *Salmonella*... et *Pseudomonas aeruginosa*). Le transfert d'ADN extrachromosomique (plasmide) est en revanche plus répandu parmi les espèces bactériennes et est moins spécifique d'espèce.

Différentiation sexuelle

Le transfert, qui est à sens unique (bactérie donatrice-bactérie réceptrice) repose sur la présence chez la bactérie donatrice du facteur sexuel ou facteur de fertilité (F) à laquelle il confère la polarité ou le caractère mâle (F^+). Le facteur sexuel est le premier plasmide connu. L'information génétique qu'il porte code pour la biosynthèse de pili sexuels, pour son insertion possible dans le chromosome bactérien et pour la mobilisation (le transfert) de ce dernier vers des bactéries réceptrices (F^-).

Contact ou appariement

Le transfert chromosomique n'est possible qu'après appariement par couple des bactéries donatrice et réceptrice. Il fait d'abord intervenir les pili sexuels (2 à 3 par bactérie F^+) qui reconnaissent par leurs extrémités les zones de contact à la surface des bactéries F^- et s'y fixent puis se rétractent en rapprochant les deux types de bactéries. Ils permettent ainsi leur contact et la formation d'un pont cytoplasmique de 100 à 300 μm par lequel va s'opérer le transfert chromosomique (figure 4).

Transfert de l'ADN

Le pont cytoplasmique formé, le transfert génétique peut commencer. Il ne porte d'abord que sur un brin d'ADN, ce qui permet de restaurer l'intégrité du génôme de la bactérie donatrice par un processus de réplication asymétrique. Ce processus de réplication asymétrique a lieu tout près du pont cytoplasmique et met en jeu un site réplicateur spécifique. Le transfert du brin d'ADN est à sens unique, orienté, progressif, quelquefois total. Il dure alors une centaine de minutes à 37°C. Son interruption artificielle par agitation mécanique permet de déterminer la séquence des gènes transférés et d'établir la carte chromosomique.

Caractères chromosomiques transférés

Tous les caractères codés par le chromosome (c'est-à-dire tous les gènes) peuvent être transférés. En effet, le facteur F peut être intégré dans le chromosome bactérien à certains sites. Dans cette position il permet le transfert de gènes chromosomiques proches de ces sites d'une bactérie à une autre mais ne transfère que rarement le facteur lui-même.

Le facteur F peut rester autonome dans le cytoplasme. Dans cette position il ne transmet à la bactérie réceptrice que le facteur F mais pas de gène chromosomique. Lors du passage de l'état intégré à l'état autonome, le facteur F peut emporter avec lui des gènes bactériens. Le résultat en est un plasmide F' qui contient ces gènes et capable de les transférer à une bactérie réceptrice de nouveaux gènes : c'est la F-duction ou sex-duction. Si les gènes transférés par le facteur F' s'intègrent dans le chromosome de la bactérie réceptrice, on dit qu'il y a eu recombinaison légitime (chromosomique). S'ils ne s'intègrent pas, ils deviennent de véritables gènes mobiles d'une bactérie à une autre.

Plasmides conjugatifs

Certains plasmides sont capables d'assurer tous seuls leur transfert par conjugaison. On les appelle plasmides conjugatifs (cf. section 2.2.3 page 25).

2.2.2.3 Conclusions

Le transfert de gènes par conjugaison est un facteur majeur d'évolution du patrimoine génétique bactérien, qui joue un rôle essentiel en bactériologie médicale (résistance aux antibiotiques...).

2.2.3 Les plasmides

Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaire, circulaires et cytoplasmiques, de petite taille (5 à 4000 fois plus petit que le chromosome), se répliquant d'une manière autonome et non indispensables au métabolisme normal de cellule-hôte. Leur transmission d'une cellule bactérienne à une autre peut s'effectuer par conjugaison (Tra+) ou transduction.

2.2.3.1 Mise en évidence

Le terme de plasmide a été créé en 1952 par Lederberg pour désigner tout élément génétique cytoplasmique, comme le facteur F. Les plasmides de résistance aux antibiotiques ont été découverts en 1956 au Japon à l'occasion d'une épidémie de dysenterie bacillaire (*Shigella dysenteriae*) à bacilles résistants.

2.2.3.2 Propriétés biologiques portées par les plasmides

Les gènes portés par les plasmides peuvent coder pour la synthèse de protéines qui confèrent des propriétés biologiques diverses : résistance aux antibiotiques (bêta-lactamines, aminosides, phénicol, cyclines, macrolides) chez les bactéries à Gram positif ou négatif ; résistance aux antiseptiques mercuriels, aux métaux lourds (antimoine, argent, bismuth...) ; résistance aux bactériophages. Les plasmides permettent ainsi aux bactéries de s'adapter à un environnement hostile.

La virulence des bactéries peut aussi être à médiation plasmique : pouvoir pathogène des colibacilles entéropathogènes (diarrhées des voyageurs), pouvoir pathogène des staphylocoques dans l'impétigo (exfoliatine).

Les plasmides peuvent également coder pour la synthèse de bactériocines qui inhibent la croissance d'autres bactéries (ex. : colicines létales pour les entérobactéries). Ils peuvent aussi porter les gènes qui codent pour le métabolisme du lactose ou de la lysine chez les *Proteus*, la production de H₂S chez *E.coli*, la dégradation du toluène ou de l'octane chez les *Pseudomonas*...

Les plasmides possèdent des gènes qui assurent leur réplication autonome. Certains plasmides possèdent aussi des gènes qui assurent leur transfert par conjugaison (plasmides conjugatifs). Des classifications de plasmides par classes d'incompatibilité (Inc) ont été établies. Deux plasmides s'excluant mutuellement, c'est-à-dire ne pouvant coexister dans la même bactérie, appartiennent au même groupe d'incompatibilité.

2.2.3.3 Conclusion

Les plasmides confèrent aux bactéries qui les hébergent de nombreux caractères génétiques par un mécanisme d'addition et non par un mécanisme de substitution. Ils représentent un élément essentiel d'adaptation bactérienne. Ils sont responsables d'épidémies de gènes (notamment de résistance aux antibiotiques), qui ont fait découvrir les transposons, appelés encore gènes sauteurs ou mobiles.

2.2.4 La transposition - Les transposons

La transposition est l'intégration directe d'une séquence de gènes (de taille limitée) au sein d'un génome (chromosomique ou plasmidique), en l'absence d'homologie de séquence nucléotique (recombinaison illégitime). Les gènes qui s'ajoutent de cette manière sont dits transposables et s'organisent en structures appelées *transposons* (Tn) qui portent les déterminants de la transposition (excision, intégration, transposition) et des gènes qui codent pour d'autres fonctions, par exemple la résistance aux antibiotiques.

2.2.4.1 Mise en évidence de la transposition

La constatation, en 1971, par N. Datta, du passage (saut) d'un gène de résistance aux bêta-lactamines d'un plasmide à un autre plasmide appartenant à des classes d'incompatibilité différentes au sein d'une même bactérie a fait découvrir l'existence de gènes « sauteurs » ou mobiles. L'acquisition de ces gènes se traduit par une augmentation de taille du plasmide récepteur et l'acquisition de pro-

priétés nouvelles.

2.2.4.2 Propriétés des transposons

Les déterminants génétiques transposables peuvent être la résistance à des antibiotiques très divers (bêta-lactamines, aminosides, phénicol, cyclines, érythromycine, sulfamides et triméthoprime). D'autres marqueurs peuvent être portés par des transposons : la résistance aux sels de métaux lourds, certains caractères métaboliques, etc...

La majorité des transposons identifiés proviennent des plasmides de bacilles à Gram négatif, mais certains proviennent de cocci à Gram positif comme le transposon de résistance à l'érythromycine chez *Staphylococcus aureus*.

2.2.4.3 Structure des transposons

Le transposon (figure 5) est constitué d'un fragment d'ADN limité de part et d'autre par des séquences répétitives inversées (IR) appartenant à des séquences d'insertion (IS). Les séquences d'insertion portent les gènes nécessaires à la transposition (transposase, éléments régulateurs de la transposition) et le fragment central porte les marqueurs spécifiques (exemple : gènes de résistance aux antibiotiques).

2.2.4.4 Conclusion

Le transposition est un mécanisme d'adaptation génétique particulièrement efficace des bactéries à leur environnement.

2.2.5 La transduction

La transduction est le transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire de bactériophages (ou phages). Ceux-ci sont des virus de bactéries, qui existent sous la forme virulente ou tempérée. Les phages virulents se multiplient dans la bactérie (ou mieux sont répliqués par la bactérie) et la lysent. Les phages tempérés s'intègrent dans le chromosome bactérien sans induire la réplication et sont répliqués en même temps que lui. Le bactériophage est alors appelé prophage et la bactérie qui en est porteuse, une bactérie lysogène. Dans une population de bactéries lysogènes, un prophage se libère de temps à autre du chromosome bactérien, devient virulent, se multiplie, provoque la lyse de la bactérie et peut infecter de nouvelles bactéries. Si, au cours de sa libération, le prophage emporte avec lui plusieurs gènes bactériens, il peut y avoir transfert par le bactériophage de gènes bactériens d'une bactérie (lysogène) à une autre (lysogène). C'est la transduction.

2.2.5.1 Caractères de la transduction

Incidence

La transduction est liée à l'existence de bactéries lysogènes, à Gram positif (staphylocoque,

streptocoque, *Bacillus*) ou à Gram négatif (entérobactéries, *Pseudomonas*).

Type de transduction

1. Lorsque les gènes transférés (pas plus de 1 à 2 % du génome de la bactérie lysogène) s'intègrent dans le chromosome de la bactérie réceptrice et que celle-ci les transmet à sa descendance, on dit que la *transduction est complète ou généralisée* (figure 6).
2. Lorsque les gènes transférés ne sont pas intégrés dans le chromosome, ce qui est fréquent, on dit que la *transduction est abortive*. Dans ce cas, les gènes passent de la cellule mère à une seule cellule fille, etc... Il n'y a pas généralisation du caractère transféré à l'ensemble des descendants.
3. *La conversion lysogénique*. Dans certains cas, le génome du bactériophage apporte par lui-même un nouveau caractère très important pour la bactérie réceptrice, par exemple, la sécrétion de la toxine diphtérique, la sécrétion de la toxine érythrogène du streptocoque A (scarlatine) ou la présence de certains facteurs antigéniques. On dit alors qu'il y a eu conversion lysogénique. La conversion et la transduction sont des phénomènes qui font tous deux intervenir un bactériophage. Mais, dans le premier cas, c'est le génome du bactériophage qui est responsable du nouveau caractère acquis par la bactérie ; dans le second cas, le bactériophage a seulement un rôle de vecteur et le génome transféré provient d'une autre bactérie.

2.2.5.2 Conclusions

Le transfert d'ADN bactérien par transduction a été très utilisé par les généticiens en raison de sa faible fréquence (10^{-6}), de son caractère partiel (1-2 % du génome bactérien) et de sa relative non-spécificité. On peut concevoir qu'elle a joué, plus que la transformation mais moins que la conjugaison, un rôle important dans l'évolution bactérienne.

Chapitre 3

Staphylocoques

3.1 Définition

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*. L'espèce *S.aureus* sera prise comme type de description.

3.2 Historique

Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les staphylocoques doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques.

3.3 Habitat

S.aureus est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). 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.

3.4 Pouvoir pathogène

3.4.1 Caractères généraux

— Germe pyogène par excellence, *S.aureus* est le microbe de la suppuration.

- Certaines souches agissent aussi par libération d'une ou de plusieurs toxines (intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique, impetigo).

La fréquence et la gravité des infections à staphylocoques sont liées à trois principaux facteurs :

1. le caractère ubiquitaire du germe,
2. l'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc.,
3. et la fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier.

3.4.2 Infections staphylococciques

- Formes cutanées : atteinte plus ou moins sévère des follicules pilo-sébacés (folliculite, furoncle, anthrax), atteinte péri-onguéale (onyxis, perionyxis, atteinte du tissu sous-cutané (panaris, phlegmons). Certaines formes superficielles (impetigo) peuvent se compliquer de lésions bulleuses graves lorsque la souche de staphylocoque est productrice d'exfoliatine.
- Formes muqueuses : otites, sinusites, mastoïdites, conjonctivites.
- Formes généralisées :
 1. Septicémie succédant à un foyer initial cutané-muqueux : diffusion par atteinte des veines (séquence : phlébite, caillot, embol septique en rapport respectivement avec action de la coagulase, de la fibrinolysine et de l'hyaluronidase). On l'observe principalement chez les sujets ayant des défenses immunitaires affaiblies, traumatisés, sujets soumis à une intervention chirurgicale grave, sujets en unité de soins intensifs, diabétiques, etc..., sujets âgés, nourrissons. Les septicémies à staphylocoques, qui sont de pronostic redoutable (20 à 30 % de mortalité), se compliquent souvent de localisations viscérales, même lorsqu'elles sont peu symptomatiques : pleuro-pulmonaires (abcès bulleux), ostéo-articulaires (ostéomyélites), uro-génitales (phlegmon périnéphrétique), cérébrales (abcès du cerveau), cardiaques (endocardite aiguë).
 2. Formes intestinales : soit intoxication alimentaire par absorption de toxine préformée dans des aliments contaminés par un staphylocoque producteur d'entérotoxines, soit entérocologie aiguë pseudo-membraneuse à staphylocoque, consécutive à une antibiothérapie polyvalente massive et prolongée ayant sélectionné une souche entérotoxique.
 3. Syndrome de choc toxique décrit pour la première fois en 1978 (TODD). Il associe une hypotension artérielle importante avec état de choc, de la fièvre ($> 39^{\circ}\text{C}$), une érythrodermie diffuse, une desquamation des paumes et des plantes une à deux semaines après le début de la maladie et une atteinte pluriviscérale (digestive, musculaire, muqueuse, rénale, hépatique, neurologique, hématologique). Fait important, les hémocultures sont négatives tandis que les prélèvements locaux permettent de cultiver *S.aureus*. La majorité des cas publiés sont associés à l'usage de tampons vaginaux périodiques particuliers, retirés maintenant du marché. Les signes cliniques sont liés à la production d'une exotoxine protéique (Toxic Shock Syndrome Toxin 1 ou TSST-1). D'autres toxines (entérotoxine B ou C) seraient impliquées dans le syndrome de choc toxique. Des syndromes similaires peuvent s'observer au cours d'infections par d'autres bactéries (ex.

Streptococcus A).

3.5 Etude bactériologique

3.5.1 Microscope

Cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, de 0,8 à 1 μ de diamètre (figure 1). La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture.

3.5.2 Culture

Comme tous les germes très répandus dans la nature, *S.aureus* cultive facilement sur les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables. Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles, par exemple en présence de 7 % de ClNa. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de CHAPMAN pour isoler le staphylocoque d'un prélèvement polymicrobien.

En bouillon

S.aureus donne un trouble uniforme en quelques heures

Sur gélose ordinaire

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, et parfois sont non pigmentées

En gélose profonde

S.aureus pousse dans la zone d'aérobiose et dans la zone d'anaérobiose. C'est donc une bactérie aérobie-anaérobie facultative, capable de se multiplier à la surface de la peau, en aérobie et dans les tissus mal oxygénés, plaie profonde par exemple.

3.5.3 Caractères biochimiques

S.aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Il est catalase positive à la différence des bactéries du genre *Streptococcus* qui n'ont pas de métabolisme aérobie. Il est toutefois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à la différence des microcoques. Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de CHAPMAN. La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture.

3.5.4 Facteurs de virulence de physiopathologie

3.5.4.1 Les composants de la paroi

Les composants de la paroi comme le peptidoglycane, les acides teichoïques et lipoteichoïques possèdent des effets biologiques démontrés *in vitro*, notamment la sécrétion de cytokines par les cellules lymphomonocytaires. Alors que le peptidoglycane est peu immunogène, les acides teichoïques (polymères linéaires du ribitol phosphate) donnent naissance à des anticorps que l'on trouve dans le sérum de malades atteints d'infection récente. Ces acides teichoïques sont les récepteurs de bactériophages (lysotypie des staphylocoques).

Des polysaccharides capsulaires sont trouvés chez 90 % des souches. Onze types capsulaires ont été décrits et les types 5 et 8 sont les plus fréquents. Cette capsule permet une meilleure résistance des souches à l'opsonisation et à la phagocytose. Certaines souches produisent un exopolysaccharide (glycocalix) qui entraîne la formation d'un biofilm engluant les bactéries et leur permettant d'adhérer aux surfaces extérieures. *Certaines protéines ou glycoprotéines sont responsables de la spécificité de type. Il existe 14 sérotypes mis en évidence par réaction d'agglutination au moyen d'immunsérums.*

3.5.4.2 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. *S.aureus* se fixe aux cellules par l'intermédiaire de protéines de surface, les adhésines, qui sont ancrées dans le peptidoglycane. Cinq protéines ont été caractérisées :

- La protéine A, élaborée uniquement par les souches d'origine humaine, se lie au fragment 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 de *S.aureus* aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux (cathéters, prothèses) ;
- La protéine de liaison au fibrinogène (clumping factor) qui provoque l'agrégation de bactéries en présence de plasma permettant de transformer directement le fibrinogène en fibrine.
- La protéine de liaison à l'élastine.

Il existe des récepteurs pour d'autres protéines plasmatiques (plasminogènes) ou tissulaires (vitronectine, laminine, sialoprotéines de l'os).

3.5.4.3 Substances élaborées par *S.aureus*

S.aureus élabore des protéines diffusibles douées soit d'activité toxique, soit d'activité seulement enzymatique.

Les toxines

Cinq principales toxines sont décrites chez *S.aureus* :

- *Les hémolysines* ont une action cytotoxique sur de nombreuses cellules eucaryotes, notamment les globules rouges et les plaquettes. L'hémolysine α , sécrétée par la quasi totalité des souches de *S.aureus*, est mise en évidence avec des hématies de mouton ; de bœuf ou de lapin. La perméabilisation membranaire entraîne une fuite osmotique du contenu cellulaire aboutissant à la mort des cellules. La cytolysse de plaquettes et de monocytes libère des cytokines et d'autres médiateurs de la réaction inflammatoire expliquant le choc septique des infections sévères à *S.aureus*. La destruction des cellules endothéliales favorise la dissémination des bactéries et les métastases infectieuses.
- *La leucocidine* est formée de 2 composés, codés par des gènes distincts, agissant en synergie ; elle agit sur les polynucléaires et les macrophages chez lesquels elle provoque la perte de mobilité, la dégranulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire. Cette protéine a rôle important dans la formation du pus.
- *L'exfoliatine* est une protéine thermostable responsable des lésions d'érythrodermie bulleuse que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoques et au cours de l'impetigo. En se fixant à certaines protéines intracellulaires cutanées (profilagrine et filagrine) elle provoque une épidermolyse : décollement intra-épidermique entre le stratum granulosum et le stratum spinosum. Il y a rupture entre les cellules adjacentes suivie de celle des ponts intercytoplasmiques (desmosomes) ce qui entraîne des lésions bulleuses. 80 % des sujets adultes ont des anticorps protecteurs.
- *Les entérotoxines*, dont il existe 7 sérotypes différents (A, B, C1, C2, C3, D, E) sont des protéines thermostables responsables d'intoxications alimentaires (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, rarement un collapsus cardiaque, qui apparaissent 1 à 6 heures après l'ingestion). *De 30 à 60 % des souches de S.aureus* produisent une entérotoxine. Il s'agit d'une protéine thermostable, insensible aux enzymes protéolytiques du suc digestif.
L'entérotoxine A est de loin la plus fréquente.
- *La toxine responsable du choc toxique staphylococcique (TSST-1)* : cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85 % des sujets adultes. Cette toxine, comme les entérotoxines, a un effet pyrogène et est un superantigène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et bêta) responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique.

Les enzymes non toxiques

- **La coagulase-libre** est une exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin. C'est une protéine thermostable, *toujours produite par les souches de S.aureus* (et non produite par *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*). Elle active la prothrombine en thrombine. La thrombine ainsi activée agit sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine.. C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose ; elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées.
- **La fibrinolysine** est caractéristique des souches pathogènes humaines. En activant le plasminogène en plasmine, elle provoque la dislocation des caillots endoveineux qui

libère des micro-embols septiques, facteurs de septicémie et de localisations septiques secondaires.

- **Les désoxyribonucléases** (ou DNAses) sont des facteurs de destruction des noyaux cellulaires. La DNase thermostable est spécifique de *S.aureus*.
- **La hyaluronidase** est une enzyme thermolabile hydrolysant l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif : elle favorise ainsi la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif.
- **La lipase** : 80 % des souches produisent cette enzyme qui semble constituer un facteur de virulence dans les abcès où, en modifiant les lipides bactériens, elles favorisent la survie des staphylocoques.

3.6 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic bactériologique de l'infection staphylococcique est uniquement direct (mise en évidence de la bactérie). Il n'y a pas de diagnostic indirect par recherche des anticorps circulants. Le diagnostic repose sur les principales étapes suivantes :

- Le prélèvement : aseptique (pour être certain que le staphylocoque que l'on va isoler n'est pas un simple commensal de la peau ou des muqueuses) et avant le début du traitement antibiotique.
- L'examen microscopique d'orientation à la recherche de cocci réguliers, à Gram positif, groupés en amas.
- La culture sur gélose ordinaire dans la majorité des cas ou sur milieu de culture sélectif, type milieu de CHAPMAN (qui contient 7 % de ClNa, du mannitol et un indicateur de pH) si le prélèvement est fortement contaminé par d'autres bactéries.

L'identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivants :

catalase (différence avec le streptocoque), *fermentation du glucose en anaérobiose* (différence avec le microcoque), *coagulase* (différence avec *S.epidermidis* et *S.saprophyticus*), *DNase*. thermostable (qui signe l'espèce *S.aureus*).

Le diagnostic sera *toujours* complété par la mesure de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) étant donné la fréquence de la résistance de *S.aureus* aux bêta-lactamines (ex. : pénicilline), aux aminosides (ex. : gentamicine) et à certains macrolides (ex. : érythromycine), notamment chez les souches hospitalières).

3.7 Les bases du traitement

3.7.1 Traitement préventif

Il est capital.

Mesures d'hygiène et d'asepsie individuelle et collective (en particulier dans les hôpitaux).

Surveillance des denrées alimentaires (crèmes glacées, pâtisseries, viandes hachées).

3.7.2 Traitement curatif

- Staphylococcies cutané-muqueuses, localisées : macrolide ou apparenté (par exemple, érythromycine 2 g/jour ou pristinamycine 2 g/jour pendant 10 jours).
- Staphylococcies graves : association de deux antibiotiques bactéricides : bêta-lactamine (pénicilline semi-synthétique non hydrolysée par les pénicillinases : ex. oxacilline) + aminoside (ex. : gentamicine, etc) ou fluoroquinolones (ex. : ofloxacine). En cas de résistance aux pénicillines semi-synthétiques, (souches méthicilline résistantes isolées en milieu hospitalier) le traitement antibiotique sera un glycopeptide (vancomycine ou teicoplanine) seul ou associé à un autre antibiotique actif (aminosides, rifampicine, acide fusidique, fosfomycine).
- Dans tous les cas, la priorité doit être donnée au drainage des collections purulentes.

Chapitre 4

Les streptocoques, entérocoques et pneumocoques

Les bactéries des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont des cocci à Gram positif, catalase négative, à métabolisme anaérobie. Le genre *streptococcus* rassemble les *streptocoques* sensu stricto et le *pneumocoque*. Le genre *enterococcus* regroupe les streptocoques du groupe D, sauf *Streptococcus bovis*.

4.1 Les streptocoques

4.1.1 Historique

En 1879, PASTEUR décrit dans le pus d'un abcès chaud des micro-organismes en chapelet de grains. ROSENBAACH leur donne, en 1884, le nom de streptocoques.

En 1924, DICK démontre que la scarlatine est due au streptocoque.

En 1928, LANCEFIELD propose la classification antigénique qui porte son nom et qui remplace les classifications précédentes basées uniquement sur les propriétés hémolytiques. Avec la méthode de LANCEFIELD on peut classer les streptocoques en sérogroupes de A à T. Certains streptocoques qui ne possèdent pas d'antigène permettant de les classer selon la méthode de LANCEFIELD sont dits « non groupables ».

En 1936, l'avènement des sulfamides entraîne une baisse de la mortalité par fièvre puerpérale, complication post partum souvent causée par les streptocoques.

4.1.2 Habitat

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites de l'espèce humaine (streptocoques des groupes A, C et G de LANCEFIELD), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolyti-

ques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre enterococcus). D'autres encore sont des commensaux des animaux ou des saprophytes.

4.1.3 Pouvoir pathogène

Les streptocoques sont, après les staphylocoques, les bactéries pyogènes n° 2. Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de LANCEFIELD, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les streptocoques. Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S.pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles qui s'observent lorsqu'il est infecté par *S.aureus* et peuvent conduire à la formation d'anticorps spécifiques à un taux élevé et d'auto-anticorps.

4.1.3.1 Maladies provoquées par les streptocoques des groupes A, C, G.

Les streptocoques des groupes A, C, G qui sont bêta-hémolytiques (large zone d'hémolyse franche autour des colonies cultivées sur gélose au sang frais), ont un pouvoir pathogène similaire. Ils sont responsables des affections suivantes :

- *L'angine rouge* ou *érythémato-pultacée* (de pultis = bouillie, en latin), ou est l'affection streptococcique la plus fréquente : elle s'accompagne classiquement de fièvre à 39-40°C, de dysphagie par inflammation amygdalienne et périamygdalienne, d'une adénopathie satellite, de céphalées et d'asthénie.
- *D'autres infections aiguës* : cutanées, muqueuses ou septicémiques. Les unes sont locales, comme l'impétigo (enfant : lésions au niveau du visage et des mains de type vésiculo-pustulaire, puis crouteuses, de contagiosité ++), l'érysipèle (placard rouge surélevé, limité par un bourrelet + signes généraux), ou encore sur les infections des plaies et brûlures.
- Les bactériémies sont souvent secondaires à une infection locale. C'est le cas de la fièvre puerpérale qui fait suite à une infection génitale du post-partum. Il faut citer aussi les endocardites aiguës, les méningites.
- *La scarlatine* associe une angine et la diffusion à partir du foyer angineux d'une toxine érythrogène secrétée par le streptocoque. La réaction de DICK consiste à tester la sensibilité du sujet à l'inoculation intradermique d'une faible dose de toxine érythrogène. Les sujets chez lesquels l'injection de toxine ne provoque pas une réaction érythémateuse sont immunisés contre la scarlatine. Pour l'histoire, la réaction de SCHULTZE et CHARLTON, ou réaction d'extinction, était une épreuve diagnostique qui consistait à injecter par voie intradermique au niveau d'une plaque d'érythème scarlatiniforme un peu de sérum de convalescent de scarlatine. Si l'érythème s'éteignait au point d'injection, c'est qu'il s'agissait d'une scarlatine.
- Des syndromes de choc toxique avec défaillance viscérale multiple, identique à celui observé parfois avec *S.aureus* (cf. chapitre 3 page 29), d'où son nom de TSLs (*Toxic shock like syndrom*).
- *Des affections auto-immunes*, conséquences d'infections à streptocoque A. C'est le cas du rhumatisme articulaire aigu (R.A.A.), de la néphrite post-streptococcique, de la chorée de SYDENHAM (contractions musculaires, involontaires, persistant pendant le repos, gestes

amples et rapides et incoordination des mouvements volontaires). La parenté antigénique entre la paroi du streptocoque et certains tissus humains explique le développement d'auto-anticorps. Elle explique également le traitement des affections auto-immunes : pénicillinothérapie pour éliminer le streptocoque et cortisone pour diminuer la réaction immunitaire.

4.1.3.2 Maladies provoquées par les autres streptocoques

- a. Il peut s'agir d'**infections aiguës** :
- **génitales**, qui peuvent se compliquer de fièvre puerpérale, provoquées par les streptocoques du groupe B,
 - **néonatales sévères** : septicémies, méningite due au streptocoque du groupe B.
 - **de localisations diverses** (abcès du cerveau, cholécystites, etc).
- b. Il peut s'agir d'**infections subaiguës** dont la plus classique et la plus grave est l'endocardite lente d'OSLER. Celle-ci est due à la greffe, sur un endocarde préalablement lésé (anomalie congénitale, séquelle de cardite rhumatismale, etc...) d'un streptocoque non groupable comme *S.sanguis* ou *S.mitis* fréquemment isolé de la plaque dentaire et du sillon gingival, d'un streptocoque du groupe D (*S.bovis*), d'origine intestinale (notamment en cas de cancer colique), ou d'un entérocoque.

4.1.4 Etude bactériologique

4.1.4.1 Microscope

Les streptocoques sont des cocci de taille et de forme irrégulières, à Gram positif, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, acapsulés, asporulés (figure 1).

4.1.4.2 Culture

Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais.

En bouillon

les streptocoques poussent en donnant des flocons et un dépôt au fond du tube dû aux longues chainettes et évoquant de la mie de pain.

Sur gélose au sang

ils donnent de petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse bêta) pour les streptocoques des groupes A, C, G, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse alpha) ou pas d'hémolyse du tout.

4.1.4.3 Caractères biochimiques

Les streptocoques sont des bactéries à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérants. Ils n'ont pas de catalase (enzyme respiratoire), à l'inverse des staphylocoques.

4.1.4.4 Structure antigénique

La présence, dans la paroi des streptocoques, d'un *polyoside C* spécifique a permis à LANCEFIELD la classification en groupes antigéniques. Chez le streptocoque du groupe A de Lancefield, la protéine M est le principal antigène de la paroi. C'est le facteur majeur de la virulence, par résistance à la phagocytose (dégradation de C₃B). Les anticorps anti-M confèrent une immunité durable et protectrice. Il existe plus de 60 types différents d'antigène M ; le type M12 serait plus souvent rencontré dans les néphrites.

4.1.4.5 Substances élaborées par streptococcus pyogènes

1. **La toxine érythrogène**, responsable de la scarlatine, est une exo-enzyme. Elle n'est sécrétée que par les streptocoques des groupes A, C ou G lysogènes, c'est-à-dire qui hébergent un bactériophage tempéré (prophage). La réaction de DICK et celle de SCHULTZE et CHARLTON sont en relation avec cette toxine et les anticorps spécifiques dont elle induit la formation. Les souches de streptocoques responsables de chocs toxiques et de défaillances viscérales multiples produisent une toxine très proche de la toxine érythrogène et appelée Spe (Streptococcal pyogenic exotoxin). Le mode d'action de ces deux toxines est proche de celle de TSST, de *S.aureus* (superantigène, cf. *S.aureus*).
2. **De nombreuses enzymes non toxiques sont sécrétées par les streptocoques :**
 - **Les hémolysines O et S** sont appelées streptolysines. Elles sont antigéniques et donnent lieu à la formation par l'hôte infecté d'antistreptolysines. **L'anti-streptolysine O**, ou AS-LO, se dose au cours des affections chroniques à streptocoques, notamment le R.A.A. Un taux élevé d'ASLO témoigne d'une infection évolutive à streptocoque (normal = • 200 UI/ml).
 - **La streptokinase** (fibrinolysine) (normale = 80 U/ml), **la streptodornase** (qui lyse les acides nucléiques) sont également antigéniques. Elles peuvent être dosées au cours des infections à streptocoques. La streptokinase est utilisée dans le traitement médical des embolies.
 - **La hyaluronidase** est comme celle du staphylocoque un facteur de diffusion du germe et de ses enzymes dans l'organisme humain (infections cutanées).
 - **Une protéase** capable de dégrader C₅A, contribuant à l'échappement à la phagocytose.

4.1.5 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic de l'infection streptococcique peut se faire par la méthode directe (mise en évidence du germe) et par la méthode indirecte (dosage des anticorps).

4.1.5.1 Diagnostic direct

Après prélèvement aseptique fait avant le début du traitement antibiotique, l'examen microscopique recherche la présence de cocci à Gram positif, de taille irrégulière, groupés en chaînettes.

La culture est faite sur des milieux enrichis type gélose au sang. L'origine du prélèvement et la nature de l'hémolyse sur gélose au sang orientent le diagnostic.

- Si le prélèvement provient d'une cavité close (pus d'abcès, liquides d'épanchement, L.C.R., urines) ou s'il s'agit d'une hémoculture, tous les streptocoques isolés peuvent être pathogènes même s'ils ne sont pas bêta-hémolytiques
- S'il s'agit au contraire d'un prélèvement de gorge (angine), seuls les streptocoques bêta-hémolytiques doivent être pris en considération. En plus il faut vérifier qu'ils appartiennent bien au groupes A, C ou G car certains streptocoques commensaux (B ou D) peuvent être bêta-hémolytiques.
- En cas de méningite néonatale, la contre-immunoelectrophorèse ou l'agglutination de particules de latex portant des anticorps antistreptocoques B permet parfois d'identifier la présence d'antigène dans le LCR.
- L'antibiogramme, notamment l'étude de la sensibilité à la pénicilline et à l'érythromycine, viendra toujours compléter le diagnostic direct.

4.1.5.2 Diagnostic indirect

Il repose sur le dosage dans le sérum (sérodiagnostic) des anticorps contre les enzymes du streptocoque. L'anticorps le plus souvent recherché est l'antistreptolysine O (ASLO) dont le taux normal est inférieur ou égal à 200 unités/ml.

4.1.6 Traitement

4.1.6.1 Traitement curatif

Les streptocoques des groupes A, C et G sont extrêmement sensibles à la pénicilline et à l'érythromycine qui sont donc les antibiotiques à choisir pour le traitement des infections qu'ils provoquent. Les autres streptocoques, notamment les streptocoques non groupables et *Streptococcus bovis*, sont de sensibilité intermédiaire ou résistance à la pénicilline. Ils posent par conséquent des problèmes thérapeutiques et obligent souvent à associer de fortes doses de pénicilline ou d'amoxicilline à un aminoside (par exemple la gentamicine).

4.1.6.2 Traitement préventif

Rôle historique d'Ignace Semmelweis qui, à la maternité de Vienne entre 1847 et 1849, puis à celle de Pest (Budapest), a démontré le rôle de l'hygiène des mains des médecins dans la prévention de la fièvre puerpérale.

4.2 Les entérocoques

Les entérocoques sont des cocci à Gram positif, disposés en diplocoques, commensaux du tube digestif. Ils sont responsables d'infections urinaires et d'endocardites. Les plus fréquemment isolés sont *Enterococcus faecalis* et à un moindre degré *Enterococcus faecium*.

Les entérocoques poussent sur milieu ordinaire, sur milieu hostile (NaCl 6,5 %, bile) et appartiennent au groupe D de Lancefield. Ils sont bien moins sensibles aux antibiotiques que les autres streptocoques et en 1986 les premières souches d'entérocoques résistant aux glycopeptides (vancomycine, téicoplanine) ont été isolées.

4.3 Le pneumocoque

4.3.1 Définition

Le pneumocoque, *Streptococcus pneumoniae*, est un diplocoque à Gram positif, *encapsulé*, ayant les propriétés métaboliques des bactéries du genre *Streptococcus*.

4.3.2 Habitat

Le pneumocoque est un *hôte normal* (commensal) de *l'arbre respiratoire supérieur* (rhino-pharynx) de l'homme. On le trouve d'autant plus souvent que le sujet est jeune (40 % de portage chez les enfants fréquentant les crèches).

4.3.3 Pouvoir pathogène naturel

A l'occasion d'une baisse de l'immunité générale ou locale, provoquée par des anomalies du tractus respiratoire, des intoxications (alcool), des troubles circulatoires, la malnutrition, la splénectomie, etc..., le pneumocoque peut se multiplier activement dans l'arbre respiratoire. Il va provoquer :

- *Des affections loco-régionales* : bronchites, trachéobronchites, sinusites, otites, conjonctivites, pneumonies franches lobaires aiguës (accompagnées dans 15 à 25 % des cas de bactériémie), pleurésies. Les pneumonies à pneumocoque représentent 60 à 80 % de toutes les pneumonies bactériennes.
- *Des affections à distance* : péricardites, méningites, péritonites, arthrites. Un caractère important des infections à pneumocoque est à retenir : la fréquence des réactions fibrineuses généralisées de cloisonnements (par exemple pleuraux ou méningés) qui, eux-mêmes, aggravent le pronostic.

4.3.4 Etude bactériologique

4.3.4.1 Microscope

Les pneumocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif, en flamme de bougie, encapsulés, groupés par paire (diplocoque), parfois en courtes chaînettes (figure 3).

4.3.4.2 Culture

La culture du pneumocoque est aussi difficile que celle des streptocoques. Sur gélose au sang en anaérobiose ou sous CO₂, le pneumocoque donne des colonies lisses, transparentes, en goutte de rosée, entourées d'une zone d'hémolyse partielle (alpha). Par repiquages successifs, les colonies deviennent rugueuses et correspondent à des pneumocoques ayant perdu leur capsule.

4.3.4.3 Caractères biochimiques

Comme tous les streptocoques, le pneumocoque est un germe à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérant. Il n'a pas de catalase.

L'adjonction de tensio-actifs (bile, sels biliaires) à une culture de pneumocoque en bouillon entraîne la lyse des capsules du pneumocoque et l'éclaircissement immédiat du bouillon (phénomène de NEUFELD).

A l'inverse des streptocoques, le pneumocoque est sensible à un sel de cuivre, l'éthyl-hydrocupréine (optochine). Cette propriété est utilisée pour l'identification du pneumocoque au laboratoire.

4.3.4.4 Construction chimique et antigénique

Le pneumocoque est caractérisé par la présence d'une *capsule de nature polysaccharidique* dont il existe *84 types immunologiques*. En contact avec un anticorps spécifique, le polysaccharide forme un complexe antigène-anticorps qui se traduit, à l'examen microscopique, par le phénomène du *gonflement de la capsule*. Ce phénomène permet le typage sérologique des pneumocoques et a un grand intérêt épidémiologique.

La capsule du pneumocoque joue un rôle capital dans le pouvoir pathogène du germe en empêchant la phagocytose.

Au cours d'une infection à pneumocoque, le développement d'anticorps anti-capsule entraîne la guérison de l'infection.

Les pneumocoques sans capsule ne peuvent plus se distinguer des streptocoques non groupables. Mis en présence d'ADN extrait de pneumocoques capsulés, ils peuvent être « transformés » en pneumocoques capsulés (transformation, GRIFFITH, 1928).

4.3.4.5 Pouvoir pathogène expérimental

Le pneumocoque est pathogène pour la souris. Injecté par voie intrapéritonéale, il entraîne la plu-

part du temps une septicémie mortelle en 24-28 heures. Cette propriété est parfois employée pour isoler le pneumocoque. Actuellement elle est uniquement utilisée pour la pathologie expérimentale dans les essais thérapeutiques anti-infectieux.

4.3.5 Diagnostique bactériologique

Il n'y a pas de diagnostic sérologique des infections à pneumocoque. Le diagnostic bactériologique repose donc sur la mise en évidence du pneumocoque dans les lésions. Il est relativement aisé lorsque l'infection pneumococcique est une méningite, une pleurésie ou encore lorsque la pneumonie s'accompagne d'une bactériémie. En raison de la présence normale de *S.pneumoniae* dans la flore normale du rhino-pharynx, l'analyse bactériologique des crachats n'est pas un moyen fiable de faire le diagnostic d'une pneumonie à pneumocoques. Chez environ 50 % des sujets ayant une pneumonie à pneumocoque prouvée par hémoculture, les crachats ne permettent pas l'isolement du pneumocoque et, à l'inverse, chez 50 % de sujets pour lesquels le pneumocoque est isolé des crachats il n'existe pas de pneumonie.

Le prélèvement des sécrétions bronchiques doit être fait dans de bonnes conditions (brosses protégées). Dans tous les cas, les prélèvements doivent être effectués avant tout traitement antibiotique (Sang, L.C.R., liquide pleural, sécrétions bronchiques etc...).

Le diagnostic de pneumocoque repose sur la présence :

- à l'examen microscopique, de diplocoques à Gram positif encapsulés et de nombreux polynucléaires altérés, s'il s'agit d'un liquide de séreuse infectée, d'un abcès, etc...
- à la culture sur gélose au sang, de colonies en goutte de rosée, alpha-hémolytiques, sensibles à l'optochine. L'identification peut, si nécessaire, être complétée par la lyse par la bile ou les sels biliaires d'une culture en bouillon et le sérotypage.

On complètera l'isolement et l'identification du pneumocoque par un antibiogramme, en raison de l'apparition de souches de pneumocoques résistantes aux antibiotiques. D'après les résultats publiés en 1997 dans le Bulletin Épidémiologique Annuel par l'Institut National de Veille Sanitaire (2), en moyenne 46 % des souches de pneumocoque sont résistantes à l'érythromycine, 40 % au cotrimoxazole. L'étude de la sensibilité à la pénicilline G montre que 40 % des souches sont de sensibilité diminuée ou résistantes à la pénicilline G. Il faut noter toutefois que le pourcentage de souches résistantes varie en fonction de l'âge du patient. Ainsi, chez les jeunes enfants, 60 % des souches sont résistantes à l'érythromycine mais seulement chez 40 % des sujets adultes. L'apparition des souches de pneumocoques résistantes aux antibiotiques est le résultat de l'augmentation de la consommation des antibiotiques, en particulier chez les jeunes enfants, et la transmission croisée des souches résistantes, surtout dans les collectivités d'enfants (crèches). Des transferts de matériel génétique par transformation ou par transposition peut se faire dans le rhino-pharynx entre les streptocoques commensaux résistant aux antibiotiques et les pneumocoques

- En cas de méningite, la contre immunoélectrophorèse ou l'agglutination de particules de latex portant des anticorps anticapsulaires permet parfois de mettre en évidence des d'antigènes pneumococciques dans le LCR.

4.3.6 Traitement

- Avant l'ère des antibiotiques, la sérothérapie par des sérums spécifiques antipolysaccharide capsulaire était le seul moyen de traiter les sujets infectés.
- L'antibiotique de choix reste la pénicilline, malgré l'apparition de souches fortement résistantes à cet antibiotique.
- Il existe un vaccin qui contient les polysaccharides des 23 types les plus souvent rencontrés aux U.S.A. L'efficacité de ces vaccins, recommandés chez les sujets à immunité déficiente, n'est pas pleinement démontrée. Il est indiqué chez les sujets splénectomisés et les personnes âgées. Un vaccin contenant les antigènes polysaccharidiques de 7 sérotypes (vaccin heptavalent) fréquents chez l'enfant et souvent associés à la résistance aux antibiotiques a fait l'objet aux USA d'un essai portant sur plus de 37.000 enfants, la moitié des enfants recevant le vaccin anti-pneumococcique heptavalent, l'autre moitié un vaccin anti-méningococcique (4). Parmi les enfants vaccinés par le vaccin anti-pneumococcique heptavalent 3 cas d'infections sévères sont identifiés pendant la période de surveillance post-vaccinale alors qu'il y en a eu 49 parmi les autres enfants (efficacité protectrice de 93 %). L'efficacité protectrice sur les otites moyennes aiguës est de 57 %. Ce dernier vaccin, maintenant disponible en France, est administré avant un an et nécessite trois injections.

4.4 Bibliographie

1. Leclercq R, Derlot E, Duval S et al. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. New England J. Med. 1988 ; 319 : 157-161.
2. Bulletin Epidémiologique Annuel. Résistance du pneumocoque aux antibiotiques en France en 1997. 1997 ; 2 : 183-186
3. Schrag SJ, Beall B, Dowel SF. Limiting the spread of resistant pneumococci : biological and epidemiologic evidence for the effectiveness of alternative interventions. Clin. Microbiol. Rev. 2000 ; 13 : 588-601.
4. Abramson JS et coll. 2000 : Technical Reports : prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines and antibiotic prophylaxis. Pediatrics 2000 ; 106 (2) : 367-376.

Chapitre 5

Les neisseria

Les *Neisseria* sont des cocci à Gram négatif, en diplocoques, aérobies stricts, oxydase positive. Certains sont des commensaux des cavités naturelles, tandis que deux espèces *Neisseria meningitidis* et *Neisseria gonorrhoeae* sont des pathogènes.

5.1 Neisseria méningitidis

Le méningocoque, *Neisseria meningitidis*, est l'agent de la méningite cérébro-spinale.

5.1.1 Habitat

Le méningocoque est un *parasite strict de l'espèce humaine*. Le rhino-pharynx est la porte d'entrée du germe dans l'organisme. De nombreux sujets sont porteurs sains et jouent un rôle capital dans l'épidémiologie de la maladie.

5.1.2 Epidémiologie et pouvoir pathogène

Chez certains sujets, notamment les sujets jeunes vivant en collectivité, le méningocoque se multiplie et provoque une rhino-pharyngite contagieuse, épidémique ou sporadique. Celle-ci survient surtout en période hivernale et printanière. Dans un pourcentage très faible des cas (1 %), il peut passer dans le courant sanguin, entraîner une bactériémie (méningococcémie) avec fièvre et rash hémorragique (pétéchies, purpura).

La méningite est la complication la plus fréquente de la méningococcémie. Elle apparaît brutalement et entraîne des céphalées, des vomissements et une raideur de la nuque, et, non traitée, évolue vers le coma en quelques heures.

La complication maligne de la méningococcémie est la septicémie fulminante avec purpura, coagulation intravasculaire disséminée et collapsus circulatoire (syndrome de WATERHOUSE-FRIEDRICHSEN). Exceptionnellement, *N.meningitidis* peut être retrouvé au niveau des organes génitaux.

5.1.3 Etude bactériologique

5.1.3.1 Microscope

Les méningocoques apparaissent comme des cocci réniformes, à Gram négatif, habituellement groupés en diplocoques (figure 1). Dans les produits pathologiques (culot de centrifugation du liquide céphalo-rachidien), ils sont souvent peu nombreux et situés à l'intérieur ou à l'extérieur des polynucléaires (méningite habituellement purulente, avec LCR eau de riz).

5.1.3.2 Culture

- Le méningocoque est un germe moins fragile que le gonocoque. Les échantillons de produit pathologique susceptibles de contenir des méningocoques doivent cependant être ensemencés le plus rapidement possible sur un milieu de culture approprié. Il faut éviter les grands écarts de température lors du transport au laboratoire.
- Le méningocoque ne pousse pas ou mal sur les milieux de culture usuels et à 22 °C (différence avec les *Neisseria* commensales). Il pousse bien sur gélose au sang cuit (gélose chocolat), incubée à 36 °C, en atmosphère enrichie de 5 % de CO₂ (le procédé de la bougie permet d'obtenir une concentration en CO₂ de 3 à 10 %). L'humidité favorise la croissance (figure 2).
- Les cultures sont positives en 18 heures et donnent des colonies grisâtres, opaques, à surface lisse et humide. Les formes capsulées forment des colonies mucoïdes.

5.1.3.3 Caractères biochimiques

Le méningocoque est un aérobie strict, *oxydase positive*, capable d'utiliser le *glucose* et le *maltose* (à la différence du gonocoque). Le méningocoque possède une alpha-glutamyl-transférase, à la différence de *N.gonorrhoeae* qui n'en possède pas.

5.1.3.4 Structure chimique et antigénique

- La paroi du méningocoque, et des *Neisseria* en général, a une structure voisine de celle des bacilles à Gram négatif. Elle contient un lipo-polysaccharide (LPS) ou **endotoxine** qui a un **pouvoir léthal** par injection intraveineuse ou intrapéritonéale à dose élevée et un pouvoir **dermo-nécrotique** par injection intradermique.
- **Des polysaccharides capsulaires** permettent de classer par agglutination les méningocoques en **groupes sérologiques** : A, B, C, D, XYZ, 29E et W135. Les méningocoques du groupe A sont le plus fréquemment rencontrés au cours des épidémies en Afrique, ceux du groupe B en Europe et C en Amérique. Chaque fois qu'il y a une épidémie, il s'agit de méningocoques des groupes A et C, les groupes B se rencontrant plus fréquemment dans les cas sporadiques ou chez les porteurs sains.
- Au cours des méningococcémies graves, des antigènes polysaccharidiques sont libérés en grande quantité dans le sang, le liquide céphalo-rachidien et les autres liquides biologiques. On peut les mettre en évidence par contre-immuno-électrophorèse, agglutination de particu-

- les de latex ou coagglutination.
- Seuls les polysaccharides des méningocoques des groupes A et C donnent naissance à des anticorps immunisants.

5.1.4 Diagnostic bactériologique

En pratique, le diagnostic de l'infection méningococcique est un diagnostic direct.

Prélèvements

Le méningocoque se recherche dans le liquide céphalo-rachidien (ponction lombaire), dans le sang (hémoculture), dans les lésions purpuriques (ponction-aspiration) et dans les prélèvements de gorge (chez les sujets contacts). Etant donné la fragilité du germe, les prélèvements doivent être ensemencés le plus rapidement possible.

L'examen microscopique

notamment celui du L.C.R., permet de noter l'importance de la réaction cellulaire (habituellement intense) et de mettre en évidence des diplocoques à Gram négatif, en général peu nombreux à l'intérieur et à l'extérieur des polynucléaires.

La culture

à partir du sang, du L.C.R. et des lésions purpuriques se fait sur des milieux enrichis spécifiques (gélose chocolat) ou non spécifiques (bouillon pour hémoculture). La culture à partir des prélèvements de gorge doit se faire sur des milieux enrichis et sélectifs pour inhiber la croissance des bactéries commensales de la bouche et ne permettre que la culture des *Neisseria*. Il faut ensuite procéder à l'identification biochimique et antigénique des colonies de *Neisseria* isolées. La recherche des *Neisseria* dans la gorge, qui est longue et relativement difficile, est donc réservée aux enquêtes épidémiologiques.

L'antibiogramme

vient toujours compléter l'isolement de *Neisseria meningitidis*. Il doit comporter le bilan de la sensibilité à la pénicilline (résistance exceptionnelle par sécrétion de β -lactamase, ou sensibilité diminuée par un autre mécanisme)

5.1.5 Traitement

5.1.5.1 Traitement curatif

Le traitement curatif des méningococcies repose sur l'administration, le plus précocément possible, d'antibiotiques : par exemple 30 millions d'unités de pénicilline par 24 heures chez l'adulte, en perfusion intraveineuse continue, pendant 10 jours ; ampicilline, phénicol (chloramphénicol ou mieux thiophénicol) peuvent constituer des alternatives tout aussi efficaces que la pénicilline.

5.1.5.2 Traitement préventif

Le traitement préventif repose sur la chimioprophylaxie et/ou la vaccination.

Chimioprophylaxie

Son but est d'éradiquer les méningocoques chez les porteurs sains. La sulfamido-prophylaxie, qui était autrefois la règle n'est plus possible en raison de l'apparition de nombreux méningocoques résistants aux sulfamides. La chimioprophylaxie par la pénicilline n'est pas efficace. On conseille l'administration de rifampicine pendant 2 jours à raison de 20 mg/kg/jour en 2 prises, à 12 heures d'intervalle. Quand un cas de méningococcie apparaît, la chimioprophylaxie est recommandée chez les contacts familiaux, les enfants des crèches et des écoles maternelles, et chez les sujets vivant dans des communautés closes (pensionnat, colonie de vacances, caserne, etc...).

Vaccination

Les polysaccharides capsulaires purifiés extraits des méningocoques des groupes A et C sont vaccinaux. Leur injection, qui est d'une innocuité totale, entraîne la formation d'anticorps protecteurs qui apparaissent dès le 7^e jour qui suit l'injection et ne persistent que pendant 2 à 3 ans. La vaccination antiméningococcique est donc réservée aux populations exposées et doit être effectuée, au début d'une vague épidémique.

5.2 Neisseria gonorrhoeae

Le gonocoque ou *N. gonorrhoeae*, a été découvert par NEISSER en 1879 dans le pus de blennorragie. Il diffère du méningocoque par l'absence d'utilisation du maltose, l'absence d'alpha-glutamyl-transférase et par sa constitution antigénique.

5.2.1 Habitat

Le gonocoque est un parasite strict de l'espèce humaine.

5.2.2 Pouvoir pathogène

Le gonocoque est l'agent d'une des maladies vénériennes ou maladies sexuellement transmissibles (M.S.T.) les plus répandues, la blennorragie ou gonococcie. Depuis 1960, la gonococcie est en augmentation dans presque tous les pays du monde. Toutefois, dans les pays développés, cette augmentation a été stoppée en 1985 et depuis cette date on note même une diminution sensible du nombre de cas. Sa transmission est principalement le fait des sujets (femmes et hommes) porteurs asymptomatiques de gonocoques.

Chez l'homme

le risque de contamination après un rapport sexuel avec une partenaire infectée est de 35 % en moyenne. La maladie apparaît brutalement 2 à 5 jours plus tard et se traduit le plus souvent par une *affection aiguë* : *urétrite* avec écoulement purulent et brûlures vives à la miction (chaude-pisse). Dans moins de 5 % des cas, l'infection uréthrale est pauci ou asymptomatique.

En se prolongeant, l'infection uréthrale entraîne localement une réaction scléreuse qui peut conduire au rétrécissement uréthral. L'infection peut s'étendre aux glandes uréthrales, à la prostate, aux vésicules séminales et à l'épididyme. Des bactériémies peuvent se produire, entraîner la dissémination du gonocoque dans l'organisme et être responsables de lésions cutanées (papules hémorragiques, pustules), d'arthrites, de ténosynovites (genou, cheville, poignet), etc... Les gonocoques responsables d'infections asymptomatiques sont responsables de la plupart des gonococcies disséminées.

Chez la femme

le risque de contamination après un rapport sexuel avec un partenaire infecté est de 75 à 90 %. L'infection est le plus souvent peu ou pas symptomatique. Elle se traduit par une urétrite, une cervicite, une bartholinite, et peut donner lieu à un écoulement purulent. L'infection peut s'étendre et provoquer une salpingite (avec risque d'oblitération secondaire et de stérilité), une pelvi-péritonite. Il n'est pas rare que ces complications locorégionales soient les premières manifestations de l'infection gonococcique chez la femme.

Les localisations extragénitales (pharyngées, anales et oculaires), les bactériémies, et les localisations à distance sont similaires à celles qui s'observent chez l'homme.

Chez le nouveau-né

l'ophtalmie purulente est acquise au moment de la traversée de la filière génitale lorsque la mère est infectée et non traitée. Elle conduit à la cécité. Pour la prévenir, il y a obligation légale d'instiller dans les yeux des nouveaux-nés un collyre antiseptique (nitrate d'argent à 0,5-1 % : méthode de Credé) ou antibiotique (tétracycline ou érythromycine).

5.2.3 Etude bactériologique

5.2.3.1 Microscope

Comme les méningocoques, les gonocoques sont des cocci réniformes à Gram négatif, habituellement groupés en diplocoques. Dans les produits pathologiques (pus uréthral), les gonocoques apparaissent classiquement en amas plus ou moins importants à l'intérieur de polynucléaires altérés.

5.2.3.2 Culture

Les gonocoques sont des germes fragiles (très sensibles à la dessiccation) et exigeants. Au sortir de l'organisme, on les cultive à 36°C sur gélose chocolat, enrichie de supplément vitaminique et additionnée d'un mélange d'antibiotiques (vancomycine, colistine et nystatine ou V.C.N.) pour inhiber la croissance des bactéries commensales. Une certaine proportion des souches est cependant sensible à la vancomycine, d'où l'utilité d'ensemencer aussi sur milieu non inhibiteur en parallèle.

Une atmosphère humide, enrichie de CO₂ (5-10 %) est indispensable pour la croissance. Les colonies, plus petites que celles des méningocoques, apparaissent en 18h habituellement mais parfois en 48 h. Elles sont petites, bombées, opaques ou translucides, brillantes, de moins de 1mm de diamètre, à bords réguliers, nets (T1) ou d'un diamètre légèrement supérieur (T2). Après repiquages multiples, elles changent d'aspect, cessent d'être virulentes (perte des pili) et sont plates, granuleuses, à contours crénelés, de 2 à 3 mm de diamètre (T3 et T4).

5.2.3.3 Caractères biochimiques

Le gonocoque est aérobic strict, oxydase positif, glucose positif mais maltose négatif (différence avec le méningocoque). Les souches responsables des gonococcies asymptomatiques et disséminées sont auxotrophes à l'égard de l'arginine, l'hypoxanthine et l'uracile.

5.2.3.4 Structure chimique et antigénique

Il faut distinguer :

- L'endotoxine de la paroi, de nature glucido-lipido-polypeptidique, similaire à celle de toutes les bactéries à Gram négatif (cf. section 5.1 page 47).
- Des polysaccharides capsulaires à partir desquels on n'a pas encore réussi à préparer un vaccin comme à partir des polysaccharides des méningocoques A et C.
- Des pili qui, avec d'autres substances, permettent aux gonocoques de se fixer sur les cellules du tractus génito-urinaire et sur les spermatozoïdes. Facteurs de pathogénicité, ils ne sont présents que chez les souches virulentes. De nature protéique très variée, ils donnent naissance à des anticorps anti-pili qui protègent contre la souche autologue seulement.
- Des antigènes protéiques de surface, génétiquement indépendants des pili, qui protégeraient les gonocoques virulents de la phagocytose et de l'action bactéricide des IgA sécrétoires.
- Enfin, les gonocoques auxotrophes, responsables d'infections asymptomatiques et disséminées, sont résistants *in vitro* à certaines immunoglobulines M (IgM) de sérum humain. Leur présence a une étroite relation avec un déficit à métaboliser le fer *in situ*. A l'inverse, les gonocoques qui donnent des infections localisées, symptomatiques, sont tués par ces IgM.

5.2.4 Diagnostic bactériologique

5.2.4.1 Diagnostic direct

- a. Les prélèvements doivent être faits au laboratoire, le matin avant émission d'urine ou toilette génito-urinaire. On prélèvera le pus et les sécrétions à partir de l'urèthre, col, prostate, muqueuse rectale, pharynx et, éventuellement, le liquide synovial et le sang.
- b. L'examen microscopique, après coloration de Gram, est fondamental car la mise en évidence de nombreux diplocoques à Gram négatif à l'intérieur des polynucléaires altérés permet le diagnostic à la phase aiguë de la maladie (urétrite purulente). Dans les autres localisations (pha-

- rynx, anus, col), l'examen microscopique est moins évocateur.
- c. *La culture est faite immédiatement après le prélèvement*, sur milieu riche et sélectif : gélose chocolat + supplément vitaminique + V.C.N. à 36°C + 5-10 % CO₂ + humidité. Elle seule permet un diagnostic de certitude et de faire ensuite un antibiogramme. Elle est indispensable au diagnostic chez la femme et dans les localisations pharyngée, anale, etc...
 - d. L'antibiogramme avec recherche de la production de β -lactamase est d'importance capitale depuis qu'en 1976 on a isolé des gonocoques résistants à la pénicilline par sécrétion d'une bêta-lactamase plasmido-dépendante (PPNG). Le pourcentage de souches PPNG a augmenté régulièrement depuis cette date. En 1989, il a été isolé pour la première fois des souches résistantes aux tétracyclines plasmido-dépendantes (TRNG).

5.2.4.2 Diagnostic indirect

Chez les sujets infectés il existe des anticorps anti-pili et contre les protéines de surface. Ceux-ci peuvent être mis en évidence par diverses épreuves sérologiques. Mais aucune d'entre elles (hé-magglutination, immunofluorescence indirecte et Elisa) n'est sensible ni spécifique en cas d'infections localisées. Elles sont franchement positives en cas de gonococcie compliquée (disséminée, inflammation pelvienne, etc...).

5.2.5 Traitement

5.2.5.1 Traitement curatif

Le traitement de la gonococcie, qui repose sur une antibiothérapie précoce et stérilisante, doit répondre à plusieurs impératifs :

- Traiter à coup sûr l'infection pour rendre le malade non contagieux, en une prise unique (traitement minute), seule garantie d'une bonne observance.
- Traiter une autre éventuelle infection sexuellement transmise (syphilis, chlamydiae, etc...) qui a pu être contractée en même temps que la gonococcie.
- S'adresser non seulement aux malades mais aussi à leurs partenaires pour éviter la réinfection (ping-pong) et la contamination d'autres personnes.

En pratique, deux types de traitement sont disponibles, le traitement « minute » (à dose unique) indiqué en cas d'infections aiguës, localisées, non compliquées, et le traitement standard réservé aux seules formes compliquées.

- **Traitement « minute »** : classiquement, *dose unique* de 4,8 millions d'unités (M.U.) de pénicilline-procaïne (pénicilline moyen retard) en injection intramusculaire ou de 3,5 g d'ampicilline, associée à 1 g de probénécide (Bénévide[®]) par voie orale (pour ralentir l'excrétion urinaire des pénicillines). Ces traitements sont capables de traiter une syphilis en incubation.
- **Traitement standard** : *pendant 15 jours*, injections quotidiennes de 1 M.U. de pénicilline ou administration orale de 4 g d'ampicilline, ou de 1 g d'amoxicilline (2x0,5 g), ou de 2 g de té-

tracycline, etc... **Dans tous les cas, les partenaires doivent être traités en même temps et de la même manière que le malade.**

- Devant l'augmentation constante du pourcentage de souches résistantes à la pénicilline, il est préférable d'utiliser une céphalosporine de 3ème génération (ceftriaxone 500 mg en injection IM) ou une fluoroquinolone (norfloxacin, 800 mg per os, ou rosoxacin, 300 mg per os) ou la spectinomycine (2 g en injection IM).

5.2.5.2 Prévention

L'ophtalmie purulente du nouveau-né est prévenue par l'instillation conjonctivale systématique d'un collyre à l'érythromycine à 0,5 % ou à la tétracycline à 1 %.

Pour les autres infections à gonocoque, en l'absence de vaccin efficace, la seule prévention est la maîtrise sexuelle : hygiène sexuelle et responsabilité à l'égard des partenaires, prévention mécanique (préservatifs), emploi de contraceptifs chimiques, éducation sexuelle permettant le traitement précoce des malades et de leurs partenaires, etc...

5.3 Références

LAGA M, PLUMMER FA, PIOT P, DATTA P, NAMAARA W, NDINGA-ACHOLA JO, NZANGE H, MAITHA G, RONALD AR, PAMBA HO and BRUNHAM RC. Prophylaxis of gonococcal and chlamydial ophtalmia neonatorum : a comparison of silver nitrate and tetracycline. N Engl J Med 1988 ; 318 : 653-57.

Chapitre 6

Les bacilles à gram positif non sporules

6.1 *Corynebactérium diphtheriae*

Les corynébactéries sont des bacilles à Gram positif, immobiles et asporulés, souvent granuleux et à extrémités élargies. Leur groupement en palissades ou en lettres de l'alphabet est souvent caractéristique. De nombreuses espèces font partie de la flore normale de l'arbre respiratoire, des autres muqueuses et de la peau. *Corynebacterium diphtheriae* sécrète une toxine qui est responsable de la diphtérie.

6.1.1 Historique

En 1883, à une époque où la diphtérie tuait encore 60 000 personnes par an en France, KLEBS découvre le bacille dans les fausses membranes de l'angine diphtérique.

En 1884, LOEFFLER le cultive et reproduit la maladie locale et générale chez l'animal. Il constate que le bacille reste au point d'inoculation.

En 1888, ROUX et YERSIN reproduisent expérimentalement la diphtérie par inoculation d'un filtrat de bouillon de culture. La toxine diphtérique était découverte.

En 1890, BEHRING et KITASATO immunisent l'animal avec des doses faibles de toxine et obtiennent un sérum antitoxique utilisé pour le traitement des malades.

En 1913, SCHICK met au point un test d'immunité par injection intradermique de toxine.

En 1923, RAMON transforme la toxine en anatoxine et produit le premier vaccin antidiphtérique.

6.1.2 Habitat

Corynebacterium diphtheriae est un parasite strict de l'espèce humaine. Il se transmet directement d'individu à individu par voie respiratoire. Les agents de contamination sont les malades ou les porteurs sains.

6.1.3 Pouvoir pathogène

6.1.3.1 Physiopathologie

Chez les sujets réceptifs, *C. diphtheriae* se multiplie sur les muqueuses respiratoires (habituellement du rhinopharynx, parfois du larynx) et commence à sécréter de la toxine. Celle-ci est absorbée par les muqueuses, détruit l'épithélium et provoque une réaction inflammatoire. L'épithélium nécrosé se recouvre d'un exsudat fibrineux riche en hématies et en globules blancs, la « fausse membrane ». Celle-ci siège classiquement sur les amygdales, le pharynx ou le larynx (croup • asphyxie). Elle est adhérente et toute tentative de prélèvement fait saigner. Il y a une importante réaction ganglionnaire cervicale. Dans la fausse membrane, *C. diphtheriae* continue à produire sa toxine qui diffuse dans tout l'organisme où elle bloque les synthèses cellulaires. Elle provoque ainsi une dégénérescence parenchymateuse, une infiltration graisseuse, des lésions nécrotiques, cardiaques, hépatiques, rénales, surrénaliennes, parfois accompagnées d'hémorragies. La toxine peut aussi entraîner des lésions neurologiques qui se traduisent par des paralysies du voile du palais, des muscles oculaires et des extrémités.

6.1.3.2 Clinique

La maladie commence par une angine fébrile à fausses membranes située habituellement sur les piliers du voile avec une importante réaction ganglionnaire (dit cou « proconsulaire »). Les signes de toxicité apparaissent rapidement et conduisent à la prostration. Ils peuvent être accompagnés de dyspnée liée à l'obstruction des voies aériennes supérieures (larynx et trachée) par la fausse membrane (croup). En dehors du croup, les complications cardiaques (myocardite) et nerveuses (dysphagie et paralysie) dominent le pronostic. Chez le sujet vacciné, la diphtérie se manifeste par une angine banale ou à fausses membranes mais sans signes généraux.

6.1.4 Bactériologie

6.1.4.1 Microscope

Bacille à Gram positif, immobile, sans spore ni capsule. Il est légèrement incurvé, avec des extrémités arrondies, en massue, en haltères, et donne des groupements caractéristiques en paquets d'épingles, en palissades, en lettres chinoises. La coloration met en évidence des granulations mé-tachromatiques, de siège polaire (figure 1).

6.1.4.2 Culture

Corynebacterium diphtheriae pousse sur la majorité des milieux de culture usuels. Mais la culture est favorisée par la présence de sang ou de sérum. Sur le milieu de LOEFFLER, au sérum coagulé, il pousse plus rapidement que les autres bactéries en donnant de petites colonies grisâtres granu-

leuses, à bord irrégulier.

6.1.4.3 Caractères biochimiques

C.diphtheriae est aérobie-anaérobie facultatif. Ses caractères biochimiques sont sans intérêt dans la mesure où seule la production de toxine a valeur diagnostique.

6.1.4.4 Structure antigénique et substances élaborées

Le seul antigène important de *C.diphtheriae* est la toxine. Celle-ci est commune à tous les bacilles diphtériques et donne donc naissance à un seul type d'anticorps neutralisants. C'est une exotoxine sécrétée par *C.diphtheriae* durant sa phase de croissance (figure 2). C'est une protéine de 535 acides aminés. Sa sécrétion est génétiquement liée à la lysogénie par un prophage et se produit quand il y a une faible concentration en fer. Une partie de la protéine se lie à la protéine réceptrice (Heparin binding epidermal growth factor ou HB-EGF) très abondante dans les nerfs et le cœur.

L'autre partie se sépare et pénètre dans le cytoplasme de la cellule dont le fonctionnement est inhibé par ADP ribosylation.

Sous l'action combinée du formol (0,3 %) et de la chaleur (37°C), la toxine est transformée en un produit stable, non toxique mais ayant gardé ses propriétés antigéniques que l'on appelle anatoxine (cf. traitement préventif, section 6.1.6.2 page 58).

6.1.5 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic bactériologique a pour but de confirmer l'impression clinique et a beaucoup d'importance épidémiologique. Mais il ne doit jamais faire retarder le traitement si le tableau clinique est très évocateur de diphtérie.

L'examen microscopique du prélèvement de gorge et de la fausse membrane peut montrer des formes bacillaires granuleuses caractéristiques. La culture sur sérum de bœuf coagulé permettra d'isoler en 18 heures des colonies suspectes dont il faudra montrer qu'elles sont productrices de toxine. L'inoculation au cobaye et l'immuno-diffusion en gel (test d'ELEK) sont les deux méthodes de choix pour révéler la production de toxine.

6.1.6 Traitement

6.1.6.1 Traitement curatif

Il repose principalement sur l'injection aussi précoce que possible de sérum antitoxique purifié (de cheval habituellement). Pour limiter les lésions cellulaires, on injecte habituellement par voie intramusculaire 20 000 à 100 000 unités antitoxiques, une ampoule de 10 ml de sérum antidiphtérique titre 100 000 unités, après avoir vérifié (par une injection intradermique) que le sujet n'est pas hypersensible au sérum animal. Mais les risques de la sérothérapie d'origine animale sont tels (choc

anaphylactique, maladie sérique) que l'on a de plus en plus souvent recours au sérum de sujets humains immunisés ou mieux à la fraction gammaglobulinique de ces sérums. Un traitement antibiotique complémentaire à base de pénicilline ou d'érythromycine est entrepris pour arrêter la production de toxine et éliminer *C.diphtheriae*.

Le repos prolongé au lit est nécessaire en raison des risques cardiaques.

La vaccination est aussi réalisée pour permettre un relais de la sérothérapie.

6.1.6.2 Traitement préventif

C'est la vaccination obligatoire, par l'anatoxine purifiée, durant la première année de la vie. Associée à la vaccination antitétanique et anticoquelucheuse (D.T. Coq.), elle consiste en trois injections sous-cutanées à 1 mois d'intervalle avec rappel 1 et 5 ans plus tard. Elle est efficace à 100 %. La diphtérie est devenue très rare en Europe du fait de cette vaccination obligatoire.

Cependant, une recrudescence formidable de la diphtérie s'est produite dans l'ex URSS à partir de 1991 (moins de 1 000 cas par an en 1988-89 et plus de 20 000 cas en 1993-94 en Russie) par suite de la diminution de la couverture vaccinale. Cette recrudescence a été stoppée par un programme intensif de vaccination.

6.2 Listéria monocytogènes

Les bactéries du genre *Listeria* sont des petits *bacilles* à *Gram positif*, à extrémités arrondies, asporulés, non acido-alcoolo-résistant, mobiles à 20-25°C. Il existe 7 espèces, mais seule l'espèce *L.monocytogenes* joue un rôle en pathologie humaine.

6.2.1 Habitat

Les *Listeria* sont des germes ubiquitaires que l'on trouve dans le sol, sur les plantes et dans les eaux (saprophytes). Elles sont très résistantes au milieu extérieur (plusieurs années à + 4 °C). Elles sont aussi des hôtes des êtres vivants (portage intestinal asymptotique de *Listeria* chez les animaux et l'homme). Ce sont enfin des bactéries des aliments : *Listeria* est fréquente dans les produits laitiers, lait cru ou fromage (croute). La pasteurisation correctement réalisée détruit les *Listeria*. On la trouve aussi dans les produits carnés, dans les produits de la mer, dans les légumes. C'est une bactérie psychrophile se développant à des températures > 4 °C, ce qui pose des problèmes pour la conservation prolongée des aliments.

La listériose peut survenir par épidémies liées à des lots d'aliments contaminés (épidémie d'environ 300 cas dont 50 mortels en 1992 en France).

6.2.2 Facteurs de virulence et physiopathologie

La survenue d'une infection à *L.monocytogenes* dépend de plusieurs facteurs : virulence particulière de certaines souches, contamination par un inoculum massif, état immunitaire de l'hôte. Compte-tenu du mode de contamination alimentaire de l'homme, le site principal d'entrée de la bactérie est l'intestin (entérocytes et plaques de Peyer). C'est une protéine de surface de 80 kD qui déclenche l'adhésion et la pénétration dans la cellule en induisant la phagocytose (internaline). Les bactéries se multiplient dans le cytoplasme des macrophages et des cellules épithéliales grâce à leur facteur de virulence, la listérollysine O (les mutants sans listérollysine ne sont pas pathogènes) qui est active à pH acide, dans le phagolysosome. La membrane du phagolysosome est lysée, ce qui permet la libération dans le cytoplasme cellulaire où *Listeria* se multiplie. Le mouvement intracellulaire et le passage de cellule à cellule de *L.monocytogenes* requièrent la polymérisation de l'actine qui est induite par une protéine bactérienne de surface et une phospholipase. Par voie sanguine et lymphatique, les bactéries atteignent le foie et la rate. Au niveau du foie, elles sont phagocytées par les cellules de Kuppfer et 90 % de l'inoculum est détruit. Les bactéries survivantes infectent les hépatocytes. La lyse des hépatocytes libère les bactéries qui peuvent y être phagocytées par les polynucléaires neutrophiles ou les macrophages. Certains macrophages permettent la multiplication de *L.monocytogenes* alors que d'autres sont listéricides. La suite du processus infectieux dépend de l'état immunitaire de l'hôte : si toutes les bactéries n'ont pas été détruites, les survivants peuvent alors atteindre par voie sanguine le cerveau ou le placenta. La listériose provoque une réponse immunitaire thymodépendante sans intervention des anticorps dans le processus de défense.

6.2.3 Pouvoir pathogène

6.2.3.1 Pouvoir pathogène naturel

L.monocytogenes est une bactérie opportuniste responsable par diffusion hématogène de trois types d'infections chez l'homme :

- *Listériose de l'adulte et de l'enfant* : méningites, méningo-encéphalites, encéphalites, septicémie. La grande majorité de ces infections se produisent chez des malades porteurs de tares viscérales (cirrhose, cancers, etc...). La listériose de l'adulte atteint essentiellement les personnes âgées et immunodéprimées.
- *Listériose de la femme enceinte* : infection bénigne pour la femme, se traduisant souvent par une simple fièvre mais grave pour le fœtus, pouvant provoquer un avortement, la mort in utero ou l'accouchement prématuré.
- *Listériose néonatale* : septicémie, méningite secondaires à la contamination dans les jours qui précèdent l'accouchement ou au moment de l'accouchement.

6.2.3.2 Pouvoir pathogène expérimental

De nombreuses espèces animales sont sensibles à l'infection expérimentale (ex. : conjonctivite expérimentale du cobaye ou test d'ANTON).

6.2.4 Caractères bactériologiques et antigéniques

Petit bacille immobile à 37°C, mobile à 22-25°C, *L.monocytogenes* est aérobie-anaérobie facultatif. Il pousse bien sur milieux usuels à des températures allant de +4° à 45°C et des pH de 5,6 à 9,6. Sa culture et son identification au laboratoire sont faciles (hémolyse sur gélose au sang, catalase positive, esculine positive).

La présence de 15 antigènes somatiques et 5 antigènes flagellaires permet d'individualiser 17 sérotypes. La plupart des souches isolées en France appartiennent au sérotype 4b et 1/2a. Ces sérotypes peuvent être divisés en lysotypes.

6.2.5 Diagnostic bactériologique

Il repose sur l'isolement et l'identification de la bactérie. L'intérêt du diagnostic sérologique par séro-agglutination (taux critique 1/320) est discuté.

Prélèvements : sang, LCR, placenta, lésions diverses. Examen microscopique et techniques de culture habituels. Possibilité d'enrichissement des produits pathologiques polymicrobiens par la méthode de GRAY (culture à +4°C).

6.2.6 Traitement

Sensibilité de *L.monocytogenes* à pénicilline G, amoxicilline et aminosides, mais résistance aux céphalosporines et aux fluoroquinolones. Le traitement de base des infections à *L.monocytogenes* repose sur l'association amoxicilline-gentamicine.

Chapitre 7

Entérobactéries et autres bacilles à gram négatif non exigeants

7.1 Les entérobactéries

7.1.1 Caractères généraux et classification des entérobactéries

7.1.1.1 Définition des entérobactéries

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- 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,
- poussant sur milieux de culture ordinaires,
- aérobies - anaérobies facultatifs,
- fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- réduisant les nitrates en nitrites,
- oxydase négatif.

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*).

7.1.1.2 Répartition en genres

Au sein des entérobactéries, on distingue de nombreux genres (*Shigella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, etc...). La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimiques dont les plus importants sont : fermentation du lactose, production d'indole, production d'uréase, production d'acétoïne (réaction dite VP+), utilisation du citrate, désamination du tryptophane.

7.1.1.3 Caractérisation des espèces

Au sein de chaque genre, on individualise des *espèces*, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (« somatiques ») ou antigènes O. Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K.

a. Antigène O

L'antigène O est l'endotoxine des bactéries à Gram négatif. Il est composé de *lipopolysaccharides* (LPS) complexes, *très toxiques*, capables de provoquer dans l'organisme humain fièvre, leucopénie, bradycardie, hypotension et choc, coagulation intra-vasculaire disséminée et mort (la dose létale pour la souris est de 200 mcg).

L'antigène O est constitué d'une mosaïque d'antigènes dont certains sont des constituants communs à toutes les entérobactéries et germes apparentés, et d'autres, des constituants spécifiques de chaque espèce. On peut identifier ces antigènes par plusieurs techniques dont la plus courante est l'agglutination sur lame avec des sérums spécifiques : la présence d'une agglutination indique qu'il y a correspondance entre le sérum utilisé et un antigène de la souche étudiée.

Au cours des infections systémiques à entérobactéries, il y a lyse bactérienne et libération d'antigène O. En raison de sa toxicité, celui-ci entraîne un certain nombre d'*effets physiopathologiques* (cf. anatomie fonctionnelle). Etant antigénique, il entraîne aussi la formation d'anticorps spécifiques anti-O qui peuvent être dosés dans certains cas fournir un moyen *indirect* de faire le diagnostic de la maladie, comme par exemple le *séro-diagnostic* de WIDAL et FELIX dans le cas des fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

b. Antigène H

L'antigène H n'est pas toxique. De nature protéique, il est constitué comme l'antigène O d'une mosaïque d'antigènes avec des constituants communs à toutes les entérobactéries mobiles et des constituants spécifiques à chaque espèce. On peut les mettre en évidence par agglutination sur lame avec des sérums spécifiques. Au cours des infections systémiques à entérobactéries, il y a formation d'anticorps anti H. Ces anticorps qui ne sont pas neutralisants (c'est-à-dire qui n'ont pas d'effet protecteur) peuvent être dosés et permettre alors, avec les anticorps anti-O, de faire le *séro-diagnostic* des infections à entérobactéries.

c. Antigène K

L'antigène K qui entoure la paroi de certaines entérobactéries peut masquer l'antigène O (ex. antigène Vi, pour virulence, de *Salmonella typhi*).

7.1.2 Salmonella

7.1.2.1 Définition et habitat

Les Salmonella sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase. Les Salmonella sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n° 1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (maladies à déclaration obligatoire n° 12).

Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S.typhi* surtout), des aliments (ex. produits laitiers, œufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs (tortues).

7.1.2.2 Classification

Les travaux récents de taxonomie, en particulier par hybridation de l'ADN, ont permis de conclure que le genre *Salmonella* ne comportait qu'une seule espèce, *Salmonella enterica*. Cette espèce comprend 7 sous-espèces différenciées par leurs biotypes. Les sous-espèces sont subdivisées en près de 2 000 sérovars sur la base de leurs antigènes O, H et de capsule. Les sérovars étaient auparavant considérés comme des espèces distinctes.

7.1.2.3 Pouvoir pathogène naturel

A. Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes

a. *Etiologie*

Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella*, strictement humains, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire : *S.Typhi*, *S.Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*. Ces salmonella sont dites majeures en raison de la gravité de la pathologie qu'elles provoquent.

b. *Physio-pathologie*

Les Salmonella sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (coquillages). La dose infectante serait de l'ordre de 10^5 bactéries. Elles traversent sans la léser la paroi intestinale et gagnent les ganglions mésentériques satellites où elles vont se multiplier. Une partie des Salmonella se lysent et libèrent leur endotoxine. Celle-ci provoque des signes cliniques (fièvre, tymphos, bradycardie) et biologiques (leucopénie) et une irritation des plaques de PEYER qui peut entraîner des hémorragies intestinales et des perforations. A partir des ganglions mésentériques, par le canal thoracique, des Salmonella gagnent le courant sanguin (*hémoculture positive*), et disséminent dans tous les organes (reins, foie, vésicule biliaire) et sont excrétées en faible nombre et de manière intermittente dans les selles (*coproculture positive*). Finalement, l'organisme infecté produit des anticorps contre les antigènes bactériens (*sérodiagnostic positif*), qui contribuent à la guérison spontanée de la maladie. Sans traitement, la mortalité est d'environ 20 %.

c. *Diagnostic biologique*

Il repose sur la mise en évidence de la *Salmonella* responsable (diagnostic direct) par hémoculture et/ou par coproculture, et/ou sur la mise en évidence d'anticorps spécifiques par le sérodiagnostic (diagnostic indirect).

— **Mise en évidence de la *Salmonella***

- *L'hémoculture* est le moyen essentiel de faire le diagnostic d'une fièvre typhoïde.

Comme il y a peu de *Salmonella* dans le courant sanguin, les hémocultures doivent être répétées. En l'absence de traitement antibiotique elles sont positives :

- dans 90 % des cas durant la première semaine de la maladie (1^{er} septennaire)
- dans 75 % des cas durant la deuxième semaine de la maladie (2^e septennaire)
- dans 40 % des cas durant la troisième semaine de la maladie (3^e septennaire)
- dans 10 % des cas durant la quatrième semaine de la maladie (4^e septennaire).

La bactérie isolée sera identifiée comme *Salmonella* par ses caractères biochimiques.

L'espèce en cause sera ensuite précisée par ses caractères antigéniques (voir tableau 1). Malgré la rareté de la résistance acquise aux antibiotiques chez ces espèces un antibiogramme viendra compléter l'examen (sensibilité au chloramphénicol, à l'ampicilline, au cotrimoxazole, etc...).

- *La coproculture* se fait sur milieu sélectif, avant et après préculture sur milieux d'enrichissement. Etant donné le faible nombre de *Salmonella* excrétées dans les selles, cet examen doit être répété mais cependant reste souvent négatif. La coproculture n'est donc pas un le meilleur moyen de faire le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde. En revanche, à la fin du traitement, elle est un bon moyen de s'assurer que le malade n'est pas devenu porteur chronique de *Salmonella* et donc qu'il ne constitue pas une source de contamination pour son entourage.

— **Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde**

Le sérodiagnostic de WIDAL et FELIX permet de détecter la présence dans le sang d'anticorps dirigés contre les constituants des *Salmonella* :

- Les anticorps anti-O apparaissent vers le 7-8^e jour, atteignent leur maximum vers le 14^e jour, restent ensuite en plateau jusqu'à la 4^e semaine puis disparaissent rapidement. Ils n'atteignent jamais un taux plus élevé que 1/200^e à 1/400^e.
- Les anticorps anti-H apparaissent vers le 10^e jour, montent rapidement pour atteindre un maximum de 1/800^e à 1/1600^e vers le 14^e jour, restent en plateau jusqu'à la 4^e semaine et diminuent ensuite. Mais à l'inverse des anticorps anti O, ils ne disparaissent pas complètement. Ils persistent toute la vie à un taux

de l'ordre de 1/200^e.

L'interprétation des résultats du sérodiagnostic peut être délicate :

- Si un sujet atteint de fièvre typhoïde reçoit des antibiotiques très précocement, les anticorps anti-O peuvent ne pas apparaître et les anticorps anti-H n'atteindre qu'un taux faible. Parfois, ni les anticorps anti-O ni les anticorps anti-H n'apparaissent.
- Chez certains sujets atteints de fièvre typhoïde véritable et qui n'ont pas été traités précocement, les anticorps anti-O et anti-H peuvent ne pas apparaître.
- Des récidives de fièvre typhoïde peuvent s'observer même chez des sujets porteurs de taux élevés d'anticorps anti-O et anti-H (la présence d'anticorps n'assure pas toujours l'immunité).
- La vaccination par le vaccin TAB (antityphoïde et antiparatyphoïde A et B) laisse persister des anticorps anti TH, AH et BH. Cette signature sérologique ne doit pas en imposer pour un sérodiagnostic positif.

Au total, le sérodiagnostic de WIDAL et FELIX n'est pas le meilleur moyen de faire le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde.

d. *Traitement*

- *Le traitement curatif* repose sur l'antibiothérapie. Le chloramphénicol a été longtemps l'antibiotique de choix et a été remplacé par les fluoroquinolones et le cotrimoxazole.
- *Le traitement préventif* repose surtout sur l'hygiène générale (qualité de l'eau potable, entretien du réseau d'égout, stations d'épuration, hygiène alimentaire, etc...) et sur la vaccination TAB (*S. typhi*, *paratyphi* A et B) des populations spécialement exposées (militaires, personnel hospitalier, etc...). Un vaccin acellulaire spécifique de la fièvre typhoïde (TYPHIM) est disponible depuis 1988. Il est constitué de l'antigène capsulaire purifié de *S.typhi*.

B. **Gastro-entérites à Salmonella**

Les Salmonella dites « mineures » (*Salmonella typhi* murium, enteritidis, dublin etc...), ubiquitaires, sont ingérées avec une boisson ou un aliment contaminé (cas sporadiques) ou après contamination fécale-orale, souvent par les mains sales (épidémies de collectivités d'enfants). Il peut s'ensuivre des infections purement digestives, les gastro-entérites. Celles-ci se traduisent par de la *diarrhée*, des *vomissements* et de la *fièvre*. Leur évolution est en général bénigne. Certains sujets restent porteurs sains de Salmonella dans leur tube digestif et peuvent dans certaines circonstances (profession de l'alimentation) disséminer leur souche. Le diagnostic biologique des gastro-entérites repose sur l'isolement de la Salmonella par *coproculture*. Les hémocultures et le sérodiagnostic sont négatifs, la Salmonella restant purement digestive.

Chez le nouveau-né, le jeune enfant, le sujet âgé, l'immuno-déprimé (ex. SIDA), les Salmonella mineures sont susceptibles de franchir la barrière intestinale et de provoquer un syndrome septicémique de type typhoïdique avec hémocultures positives. Le traitement des gastro-entérites à Salmonella repose essentiellement sur la réhydratation. L'antibiothérapie per os (fluoroquinolones, cotrimoxazole) est indiquée dans les formes sévères. Le traitement antibiotique des porteurs sains de Salmonella est décevant. Le traitement préventif repose sur

l'hygiène générale : hygiène alimentaire, hygiène des collectivités.

C. **Toxi-infections alimentaires collectives à Salmonella**

La consommation simultanée par plusieurs personnes d'un aliment massivement contaminé par des *Salmonella* mineures entraîne un tableau de gastro-entérite, qui, simulant un véritable empoisonnement, est appelé toxi-infection alimentaire collective (TIAC). La période d'incubation est de 10 à 18 heures. Les troubles durent en général 2 à 5 jours. Les complications sont rares sauf chez les sujets à faibles moyens de défense (cf. gastro-entérites). L'aliment responsable est identifié par enquête épidémiologique (enquête cas-témoin). Le diagnostic se fait par recherche de la *Salmonella* dans les selles des malades et dans l'aliment incriminé (s'il est encore accessible). Le traitement est le même que celui des gastro-entérites. La prévention repose essentiellement sur l'hygiène des cuisines collectives (détection des porteurs sains, techniques de préparation, techniques de conservation : « chaîne du chaud » ou « chaîne du froid », etc...).

7.1.3 Shigella

7.1.3.1 Définition

Les shigella sont des entérobactéries immobiles extrêmement proches de *Escherichia coli* mais qui ne fermentent pas le lactose. Elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas de gaz. Elles sont parasites de l'homme et entraînent une colite infectieuse endémo-épidémique, la dysenterie bacillaire (shigellose).

7.1.3.2 Le pouvoir pathogène

1. *Physio-pathologie*

Après pénétration par voie orale (la dose infectante serait de l'ordre de 10^2 bactéries) les *Shigella* envahissent la muqueuse de la partie terminale de l'iléon et du gros intestin. Elles y forment des micro-abcès qui donnent naissance à des ulcérations superficielles qui saignent et se recouvrent d'une pseudo-membrane faite de mucus, de débris cellulaires, de leucocytes et de *Shigella*. La virulence est liée à la présence de grands plasmides (120 à 140 MDa) codant pour des protéines nécessaires à la phagocytose par les cellules M des plaques de Peyer et à la multiplication intracellulaire, et au passage de cellule à cellule. Certaines souches de *Shigella* produisent aussi une toxine à activité entérotoxique et neurotoxique, responsable du syndrome hémolytique urémique (SHU).

2. *Clinique*

Les sujets atteints de shigellose se plaignent de douleurs intestinales paroxystiques (coliques), de diarrhée et de fièvre. Les selles sont liquides et contiennent du mucus, du pus et du sang.

7.1.3.3 Etude bactériologique

Les *Shigella* sont *immobiles*. Elles sont classées en 4 espèces elles-mêmes divisés en sérotypes se-

lon leurs caractères antigéniques.

— **Groupe A : S.dysenteriae**

Il en existe 10 sérotypes différents, dont le type 1 s'appelle le bacille de Shiga. Celui-ci produit aussi une exotoxine protéique qui provoque des troubles paralytiques chez les sujets atteints.

— **Groupe B : S.flexneri**

Il en existe 6 sérotypes qui sont responsables de 20 % des shigelloses observées en France.

— **Groupe C : S. boydii**

Il en existe 15 sérotypes qui sont très répandus en Afrique mais ne se rencontrent pas en France sauf s'il s'agit de cas importés.

— **Groupe D : S.sonnei**

Il existe un seul type, responsable de 80 % des shigelloses observées en France.

7.1.3.4 Diagnostic bactériologique

Dans les infections à Shigella il est très rare qu'il y ait passage de bactéries dans le sang ; les hémocultures sont donc le plus souvent négatives et le diagnostic repose sur l'isolement de Shigella par coproculture.

L'examen macroscopique et microscopique des selles fournit souvent des éléments de présomption : présence de mucus, de sang et de pus.

La coproculture se fait selon des techniques et sur des milieux sélectifs identiques à ceux qui sont employés pour la recherche des Salmonella. L'identification de la Shigella est complétée par un antibiogramme en raison de la fréquence de la résistance acquise aux antibiotiques chez ces bactéries (les plasmides de résistance aux antibiotiques ont été découverts chez les Shigella).

7.1.3.5 Traitement

1. *Traitement curatif*

Il repose sur l'administration d'antibiotiques (ampicilline, cotrimoxazole, fluoroquinolones) et, si besoin, sur la réhydratation.

2. *Traitement préventif*

C'est le plus important. La dysenterie bacillaire est par excellence une maladie de transmission fécale-orale : **mains** (« maladie des mains sales »), **aliments, eau**. Ce sont les mesures d'hygiène publique qui sont les plus importantes : contrôle de l'eau potable, des aliments ; entretien des réseaux d'égouts ; isolement des malades et désinfection des excréta ; détection des porteurs sains, en particulier chez les professionnels de l'alimentation. Il n'y a pas encore de vaccin disponible.

7.1.4 Yersinia

Définition : entérobactéries immobiles, cultivant lentement, produisant une uréase très active (base de l'identification) mais pas de tryptophane désaminase, à la différence des Proteus qui sont aussi uréase +.

7.1.4.1 *Yersinia pestis*

A. **Habitat**

Yersinia pestis est un parasite des animaux et de l'homme, agent de la peste animale et humaine. Le réservoir est constitué par les rongeurs sauvages (peste sauvage ou silvatique, endémique). Chez les rats domestiques, la maladie occasionne des épizooties massives qui sont à l'origine des épidémies humaines. L'agent vecteur est la puce du rat qui contamine animaux et hommes par piqûre. Il peut exister une transmission interhumaine par la puce de l'homme, ou par voie aérienne en cas de forme pulmonaire.

B. **Pouvoir pathogène naturel**

Physiopathologie

Le bacille se multiplie au point d'inoculation (vésico-pustule), se propage par voie lymphatique et se multiplie dans le ganglion lymphatique satellite (adénopathie suppurée : le bubon). L'évolution peut se faire vers la septicémie. La forme septicémique peut être à l'origine d'une localisation pulmonaire secondaire qui à son tour, par transmission aérienne, peut être à l'origine de cas de peste pulmonaire primitive. Le bacille se multiplie dans les macrophages.

Maladie

La peste bubonique se présente comme l'association d'un syndrome infectieux sévère, d'un syndrome toxique (endotoxine) et du bubon douloureux, dur, de la taille d'une noisette. La peste pulmonaire qui se présente comme l'association d'un syndrome infectieux sévère et de signes respiratoires très intenses (dyspnée, cyanose) est rapidement mortelle.

C. **Diagnostic**

En cas d'épidémie, le diagnostic est essentiellement clinique. En période d'endémie, le diagnostic repose sur la mise en évidence du bacille par culture du produit de ponction du bubon et par hémoculture.

D. **Traitement**

Préventif

Lutte contre les rats, sulfamidoprophylaxie collective en cas de risque épidémique.

Curatif

Antibiothérapie par streptomycine, tétracycline, chloramphénicol.

7.1.4.2 *Yersinia entérocolitica* et *pseudotuberculosis*

A. **Habitat**

Yersinia enterocolitica et *Y.pseudotuberculosis*, trouvées chez l'animal (maladie des rongeurs) et dans l'environnement (sol, eaux), sont surtout les agents d'infections animales et rarement d'infections humaines.

B. **Pouvoir pathogène naturel**

Physiopathologie

Le bacille pénètre par voie digestive et se multiplie dans les ganglions mésentériques. Chez le sujet fragilisé, l'évolution peut se faire vers la septicémie.

Maladie

La forme la plus habituelle est l'adénite mésentérique à *Y.pseudotuberculosis* du sujet jeune à symptomatologie pseudo-appendiculaire. A l'intervention, l'appendice est normal mais on trouve un ou plusieurs ganglions congestifs. L'entérocolite à *Y.enterocolitica* est plus

particulière : elle est à début brutal et associe diarrhée intense, vomissements, douleurs abdominales et fièvre.

C. **Diagnostic**

Il repose sur la mise en évidence du bacille dans les ganglions mésentériques ou les selles en cas de diarrhée. Il existe un sérodiagnostic par agglutination.

D. **Traitement**

La streptomycine semble l'antibiotique de choix, avec la tétracycline et le chloramphénicol.

7.1.5 Escherichia coli

7.1.5.1 Définition

Escherichia coli (colibacille) est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole.

7.1.5.2 Habitat

E.coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne **aérobie** de l'intestin (espèce aérobie **dominante**) à raison de 10^8 par gramme de fécès (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme).

7.1.5.3 Pouvoir pathogène

1. Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) :
 - **par pénétration par voie urétrale ascendante** (contiguïté) dans l'arbre urinaire, à l'origine de cystite (infection limitée à la vessie, sans fièvre) et de pyélonéphrite (infection du rein avec fièvre et bactériémie). La *pénétration* des colibacilles dans l'arbre urinaire est favorisée chez la femme par la brièveté de l'urètre. Leur persistance est favorisée par (1) la présence de pili ou fimbriae (adhésine) à la surface des bactéries pour lesquels il existe des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires et (2) toute anomalie fonctionnelle de l'arbre urinaire (stase, obstacle, reflux...).
 - E.coli* est responsable des trois-quarts des infections urinaires spontanées en pratique de ville.
 - **par essaimage à point de départ digestif** : cholécystite suppurée, péritonite, septicémie.
2. Certaines souches de colibacilles ont un pouvoir entéropathogène intrinsèque par acquisition de gènes de pathogénicité :
 - a. *Par sécrétion d'entérotoxine* (ETEC), ils peuvent provoquer des diarrhées aiguës, « cholera-like ». La sécrétion d'entérotoxine est codée par un **plasmide**. La **toxine** est le

plus souvent une toxine thermolabile ou LT (très voisine de celle du vibron cholérique), mais parfois **thermostable** ou ST. LT entraîne la cascade d'événements suivants, (a) l'activation de l'adénylcyclase, (b) l'augmentation de l'AMP-cyclique, (c) l'activation de kinases AMP-cyclique dépendantes, (d) la phosphorylation de protéines membranaires, et enfin (e) une hypersécrétion intestinale d'eau et de chlorures, un hyperpéristaltisme intestinal et une diarrhée explosive, qui durent de 1 à 3 jours. Les plasmides en cause portent aussi des gènes responsables de la production de **pili** ou fimbriae (adhésines) qui permettent l'attachement des *E.coli* à la muqueuse intestinale. Les ETEC sont une des causes les plus fréquentes des diarrhées de l'enfant dans les pays en voie de développement et des voyageurs arrivant dans les zones endémiques (« diarrhée de Mexico »). La moitié des cas de diarrhée du voyageur sont causés par des ETEC.

- b. *Par fixation sur la surface des cellules de la muqueuse, abrasion de la bordure en brosse des villosités intestinales et production de cytotoxines* (EHEC), les EHEC provoquent une diarrhée aiguë, acqueuse, puis hémorragique (« all blood, no stool »), sans pus ni fièvre. Le sérotype 0157 : H7 est le plus fréquent. Les EHEC produisent de puissantes cytotoxines, dites vérotoxines et appelées SLT car elles ressemblent à la toxine de *S.dysenteriae*. Elles sont produites sous le contrôle de bactériophages en situation chromosomique (intégrés) convertisseurs. Les SLT disséminent par voie sanguine et inhibent la synthèse protéique par hydrolyse de l'ARN ribosomal. Les EHEC hébergent un plasmide codant pour une adhésine.

Les EHEC se propagent sous forme épidémique à partir d'aliments contaminés (« maladie du hamburger ») et provoquent jusqu'à plusieurs centaines ou milliers de cas à la fois. Ils peuvent aussi provoquer une complication redoutable : le syndrome hémolytique et urémique (SHU), dans 5 à 10 % des cas.

- c. *Par invasion de la muqueuse colique*, certains colibacilles (EIEC) provoquent des **diarrhées aiguës**, « **dysenterie-like** », avec présence de mucus, sang et leucocytes dans les selles. Ces *E.coli* ont été isolés dans quelques cas sporadiques de diarrhée aiguë. La virulence des EIEC est liée à la présence d'un plasmide très proche de celui connu chez *Shigella* (cf. *Shigella*, section 7.1.3 page 66).
- d. Enfin, certaines souches d'*E.coli* sont associées à des diarrhées et sont clairement entéropathogènes (EPEC) grâce à des propriétés d'adhésion particulières. Elles ne sont ni sécrétrices d'entérotoxine, ni entéro-invasives. Elles forment des pili, codés par des plasmides, qui forment des « faisceaux » (« bundle ») qui se fixent sur les villosités des entérocytes. Les villosités sont progressivement détruites (« attachement-effacement »). Le cytosquelette des entérocytes est altéré et il se produit très rapidement une fuite hydrique dont le mécanisme biochimique n'est pas complètement élucidé.

7.1.5.4 Diagnostic bactériologique

1. *Dans les infections urinaires*, le diagnostic bactériologique repose sur la mise en évidence à l'examen microscopique d'une réaction cellulaire de défense contre l'infection (présence de polynucléaires) et en culture d'un nombre élevé d'*E.coli*. Une concentration de 10^3 - 10^4 /ml est suffisante pour établir le diagnostic d'infection urinaire basse *symptomatique* à *E.coli* (il en est de même pour les autres entérobactéries possiblement responsables comme *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*) en cas de symptômes évocateurs, alors qu'une concentration $=10^5$ /ml

permet d'établir le diagnostic d'infection asymptomatique. Lors d'une pyélonéphrite des concentrations très élevées (10^6 /ml) sont trouvées. Aucun sérotype n'est plus particulièrement en cause.

2. *Dans les infections locales* autres qu'urinaires (péritonites...), le diagnostic est fait selon les procédés habituels : prélèvements aseptiques, examen microscopique à la recherche d'une réaction inflammatoire et de bacilles à Gram négatif, culture, identification et antibiogramme.
3. *Dans les diarrhées aiguës*, la difficulté est d'individualiser les *E.coli* « entéropathogènes » au sein des *E.coli* commensaux qui provoquent jusqu'à plusieurs centaines ou milliers de cas à la fois, et peuvent provoquer une complication redoutable : le syndrome hémolytique et urémique (SHU), dans 5 à 10 % des cas.
 - A l'heure actuelle l'entérotoxine ne peut être mise en évidence par des méthodes de routine. L'avenir est sans doute aux sondes d'ADN permettant par hybridation de rechercher soit chez les bactéries isolées des selles, soit dans les selles elles-mêmes, la présence de gènes codant pour les toxines ou de gènes d'invasivité.
 - L'adhérence se met en évidence par incubation sur culture cellulaire (impraticable en routine).
 - Les sérotypes d'*E.coli* des G.E.I. (EPEC) se mettent en évidence par agglutination sur lame avec des anticorps de collection.
 - Le sérotype 0157-H7 (EHEC) se met en évidence par son caractère sorbitol - (milieu spécifique).
4. Les colibacilles étant excrétés en quantité abondante dans les matières fécales, leur présence dans l'eau ou les aliments est *le témoin d'une contamination fécale* (indicateur) et du risque que ceux-ci puissent également contenir des bactéries (salmonella, shigella, vibrions cholériques) ou des virus (poliomyélite, hépatite) pathogènes d'origine fécale. C'est pourquoi la numération des colibacilles fait partie de toute analyse de bactériologie alimentaire.

7.1.5.5 Traitement

1. *Traitement curatif*
Celui des infections urinaires et biliaires repose sur l'antibiothérapie et la correction des facteurs favorisants (anatomiques, calculs...). Le traitement curatif des diarrhées aiguës à colibacilles repose surtout sur la réhydratation. Le traitement des infections péritonéales repose sur le drainage et l'antibiothérapie.
2. *Traitement préventif*
Le traitement préventif fait surtout appel aux mesures d'hygiène générale notamment alimentaire et aux mesures d'hygiène individuelle.

7.1.6 Autres entérobactéries commensales

7.1.6.1 Proteus mirabilis

Ce sont des bactéries très mobiles (pouvant envahir les milieux de culture) qui se distinguent faci-

lement des autres entérobactéries par leurs caractères biochimiques (uréase +, tryptophane désaminase +) et leur résistance naturelle à la colistine. C'est un commensal du tube digestif.

Proteus mirabilis vient au second rang, après *E.coli*, dans l'étiologie des infections urinaires de ville (10 % des cas). C'est une espèce bactérienne habituellement sensible aux antibiotiques.

7.1.6.2 Klebsiella

Ce sont des entérobactéries qui ont un métabolisme fermentaire particulier, c'est-à-dire qui produisent de l'acétoïne (elles sont dites V.P+, c'est-à-dire réaction de Voges-Proskauer positive). Espèce commensales des voies aériennes supérieures et du tube digestif, *Klebsiella* provoque des infections urinaires (5 % des infections en ville) et des surinfections des bronches chez les bronchitiques chroniques, voire des abcès du poumon. *Klebsiella* est naturellement résistante à l'ampicilline par production de pénicillinase chromosomique.

7.1.7 Entérobactéries saprophytes

Les autres entérobactéries sont des bactéries occasionnelles et transitoires du tube digestif, mais sont surtout des bactéries saprophytes (environnement). Dénuées de pouvoir pathogène propre, elles jouent surtout le rôle de bactéries opportunistes lors d'infections nosocomiales (urologie, réanimation).

Ce sont essentiellement *Enterobacter* et *Serratia* (qui comme les *Klebsiella* sont VP +), *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia*. Toutes ces espèces sont naturellement résistantes à l'ampicilline et aux céphalosporines de 1^{ère} génération par production de céphalosporinase chromosomique inductible.

7.2 Les autres bacilles à gram négatif aerobies non exigeants

7.2.1 Les bacilles à gram négatif des genres pseudomonas et acinetobacter

Bacilles à Gram négatif des genres **Pseudomonas** et **Acinetobacter** ont beaucoup de points communs avec les entérobactéries. Ces espèces jouent un rôle important dans les infections nosocomiales et sont volontiers multirésistantes aux antibiotiques (résistance naturelle et acquise), ce qui en rend le traitement difficile.

7.2.1.1 Pseudomonas

Les *Pseudomonas* sont *aérobies stricts*, *oxydase positif*, mobiles, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistants à de très nombreux antibiotiques.

Saprophytes, on les trouve essentiellement dans l'eau. Ils peuvent contaminer des solutés pour perfusion, des solutions antiseptiques, des préparations médicamenteuses liquides.

L'espèce principale, *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique), a les caractères suivants :

- protéolytique,
- production de deux pigments : la pyocyanine (pigment bleu), qui est spécifique de *Pseudomonas aeruginosa*, et la pyoverdine ou fluorescéine qui est présente chez d'autres *Pseudomonas*.
- production d'une exotoxine nécrosante par certaines souches.

Pseudomonas aeruginosa exprime son potentiel pathogène lorsqu'il est introduit dans des zones aux défenses immunitaires diminuées. Opportuniste majeur, il est ainsi responsable :

- des suppurations à « pus bleu » des blessures et des brûlures,
- d'infections locales iatrogènes après manœuvre instrumentale : urinaires après cathétérisme, broncho-pulmonaires chez des sujets sous respirateurs, oculaires sur lentille de contact,
- de septicémies chez les brûlés, les granulopéniques (aplasies toxiques ou thérapeutiques),
- de surinfection des bronches dans la mucoviscidose, grâce à la production d'élastase.

7.2.1.2 Acinetobacter

Les *Acinetobacter* sont des bacilles immobiles, souvent groupés en diplobacilles courts, aérobies stricts, oxydase négatif, habituellement saprophytes. Ils jouent un rôle d'opportuniste mineur en milieu hospitalier.

7.2.2 Vibrio cholerae

7.2.2.1 Définition

Les vibrions sont des bacilles à Gram négatif, incurvés, aérobies-anaérobies facultatifs, mobiles par un seul cil polaire. *Vibrio cholerae*, responsable du choléra, a été découvert en 1854 par PACINI à Florence et cultivé en 1883 par R. KOCH au Caire.

7.2.2.2 Habitat

Vibrio cholerae se trouve dans les selles des malades et de certains sujets (porteurs sains). Il survit dans les eaux polluées ainsi que sur les objets contaminés.

7.2.2.3 Pouvoir pathogène

Physiopathologie : après ingestion (dose infectante importante de l'ordre de 10^8 bactéries), *Vibrio cholerae* se multiplie dans l'intestin grêle sans traverser la paroi intestinale. Il libère une exotoxine thermolabile protéique (entérotoxine) dont l'action déjà décrite chez *E.coli* (ETEC) entraîne une hypersécrétion d'eau et de chlorures dans la lumière intestinale et inhibe la réabsorption du sodium.

Maladie : après une incubation de 1 à 4 jours, le début est brutal et marqué par des nausées, des vomissements, une diarrhée profuse et des crampes abdominales. Les selles ressemblent à de l'eau de riz et contiennent du mucus, des cellules épithéliales et beaucoup de vibrions. Les pertes en eau (plusieurs litres d'eau par jour) et en électrolytes entraînent déshydratation, collapsus circulatoire et anurie. En l'absence de traitement, la mort survient en 2 à 5 jours dans 50 % des cas environ.

Le choléra évolue souvent sous une forme mineure (simple entérite) et il y a de nombreux porteurs sains de vibrions cholériques en zone endémique.

7.2.2.4 Bactériologie

— *Microscopie*

Bâtonnet en virgule (*Vibrio comma* de Robert KOCH), fin et très mobile, à Gram négatif.

— *Culture*

Se fait sur milieux usuels, elle peut même s'effectuer sur milieux alcalins (pH 8,5 à 9,2) et hypersalés à 30 % de NaCl. Cette propriété est mise à profit pour la préparation de milieux sélectifs et d'enrichissement (repiquages successifs). Les colonies sont rondes, bleutées, transparentes.

— *Biochimie*

Vibrio cholerae est aérobie-anaérobie facultatif, oxydase positive, nitrate positif et indole positif.

— *Structure antigénique*

— *Vibrio cholerae* possède un antigène de paroi de nature lipopolysaccharidique (endotoxine). Au sein de l'espèce *Vibrio cholerae*, on distingue trois sérotypes distincts dits INA-BA, OGAWA et HIKOJIMA, ce qui aide au typage épidémiologique des souches.

— L'antigène flagellaire H est commun à tous les vibrions (vibrions cholériques et vibrions non cholériques).

— *Toxines et enzymes*

— L'entérotoxine majeure, appelée choléragène (CT), n'existe que sous un seul type antigénique. Elle donne naissance à des anticorps dont le rôle protecteur n'est pas clairement établi. CT est active à des doses très faibles, $< 1 \mu\text{g}$ sur l'anse ligaturée de lapin. CT est une holoprotéine de 84 kDa (unités A_1 et A_2 + 5 unités B). CT agit comme la toxine LT de *E.coli*.

— *V.cholerae* produit aussi une entérotoxine mineure.

— La ou les *mucinases* produites par *V.cholerae* semblent digérer le revêtement de mucus intestinal et assurer le contact de la bactérie avec les cellules de la muqueuse.

7.2.2.5 Diagnostic microbiologique

En zone d'endémie (Inde, Sud-Est Asiatique) ou au cours des épidémies, le diagnostic du choléra ne pose pas de problème (clinique). Toutefois les cas sporadiques ou mineurs sont facilement confondus avec les autres maladies diarrhéiques.

La coproculture sur milieux sélectifs à pH 8,5 permet habituellement l'isolement de colonies suspectes qui sont identifiées par l'aspect microscopique des bacilles, l'oxydase positive et l'agglutination sur lame avec les sérums spécifiques.

7.2.2.6 Traitement

Traitement curatif

La réhydratation et le remplacement des électrolytes constituent l'essentiel du traitement. Celui-ci est d'autant plus efficace qu'il est plus précoce. L'administration orale de cyclines raccourcit la période d'excrétion des vibrions et diminue la diarrhée.

Traitement préventif

La prophylaxie repose surtout sur l'hygiène générale : adduction d'eau potable, réseau d'égouts, etc...

Chapitre 8

Les bacilles a gram positif sporules

8.1 Bacilles aerobies sporules

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des grands bacilles à Gram positif, groupés en chaînettes. La plupart sont des saprophytes du sol, de l'eau, de l'air et des plantes, comme *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. Certains sont pathogènes pour les insectes. *Bacillus cereus* peut se multiplier dans les aliments et y produire une entérotoxine qui provoque des diarrhées par un mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine d'*E.coli*. Mais ces bactéries ne produisent que rarement une infection chez l'homme. *Bacillus anthracis* (Bactéridie charbonneuse de PASTEUR) est le seul pathogène du genre *Bacillus*.

8.1.1 Bacillus anthracis

8.1.1.1 Pouvoir pathogène naturel de B.anthraxis

Le charbon est surtout une maladie des moutons, des bovidés, et des chevaux.

L'homme n'est que rarement atteint. L'infection est habituellement consécutive à la pénétration de spores par des blessures de la peau et des muqueuses, plus rarement par inhalation. Chez l'animal, la porte d'entrée est la bouche et le tube digestif. La pénétration des spores est facilitée par l'absorption de végétaux épineux ou irritants.

Chez l'homme, la pénétration cutanée est facilitée par les égratignures.

Les spores germent au point d'inoculation. La multiplication des bacilles entraîne ensuite une inflammation locale avec œdème. Par voie lymphatique, les bacilles gagnent la grande circulation. Leur multiplication dans le sang et les tissus entraîne rapidement la mort de l'animal.

Chez l'homme, la multiplication du bacille du charbon au niveau de la porte d'entrée cutanée conduit à la formation de la *pustule maligne* : une papule apparaît en 12 à 36 h, puis une vésicule, ensuite une pustule et finalement une ulcération nécrotique noirâtre à partir de laquelle l'infection peut essaimer et entraîner une septicémie.

L'inhalation de spores provenant de poussières de laine, peaux et poils entraîne une pneumonie

d'évolution rapidement fatale.

8.1.1.2 Bactériologie

1. Morphologie

Bacillus anthracis est un gros bacille à Gram positif de 1×3 à 4μ , à extrémités carrées, groupé en longues chaînettes. Il est immobile et entouré d'une capsule. Sa spore est centrale et non déformante (figure 1).

2. Culture

Facile sur les milieux usuels. Sur gélose au sang, les colonies sont aplaties, à bords irréguliers, à surface rugueuse, et habituellement non hémolytiques.

3. L'étude de la fermentation des sucres n'est pas utile. En revanche, l'étude de l'activité protéolytique est importante : *B.anthraxis* liquéfie la gélatine.

4. Structure antigénique

La capsule de *B.anthraxis* est un polypeptide composé d'acide D-glutamique. C'est un haptène. La paroi contient une protéine et un polysaccharide, tous deux antigéniques.

La toxine charbonneuse, de nature protéique, induit la formation d'anticorps neutralisants qui jouent un rôle important dans l'immunité anticharbonneuse.

5. Pouvoir pathogène expérimental

L'injection sous-cutanée d'une culture de *B.anthraxis* entraîne la formation d'un œdème local typique et tue la souris et le cobaye en deux à trois jours.

8.1.1.3 Diagnostic

Il est fait dans un contexte de contact avec un animal malade ou mort, ou professionnel (cf. section 8.1.1.4 page 78).

1. Prélèvements

Sérosité ou pus de la lésion locale, mais aussi sang et éventuellement crachats si signes d'infection pulmonaire. Les prélèvements post mortem sont possibles car *B.anthraxis* provoque une hypocoagulabilité du sang.

2. Examen microscopique

Il montre des gros bacilles immobiles, à Gram positif, à extrémités carrées, très évocateurs.

3. Culture sur gélose au sang et inoculation à l'animal

Elles permettent d'affirmer le diagnostic.

8.1.1.4 Traitement

1. Curatif

De nombreux antibiotiques, notamment la pénicilline et les cyclines, sont actifs sur *B.anthraxis* mais le traitement doit être commencé précocement. Le pronostic des pneumonies par inhalation de spores reste très mauvais.

2. Préventif

Les carcasses d'animaux morts du charbon contaminent le sol. Les spores peuvent rester via-

bles pendant des décennies. Les animaux qui pâturent dans les zones infestées de spores, dits « champs maudits », s'infectent et perpétuent la chaîne d'infection. Le contact avec les animaux infectés, leurs peaux, leurs poils et leurs soies est la source d'infection pour l'homme. Le charbon est une maladie professionnelle chez les travailleurs de la fourrure, de la laine, des peaux et des cuirs. C'est pourquoi il faut (1) brûler les carcasses d'animaux ou les enterrer profondément dans la chaux vive, (2) décontaminer par l'autoclave les produits contaminés, (3) manipuler les produits animaux potentiellement infectés avec des gants et des blouses de protection, (4) vacciner éventuellement les animaux et les personnes exposées.

La vaccination contre le charbon a été mise au point par Louis PASTEUR en 1881 : des cultures de *B.anthraxis* en bouillon placées à l'étuve entre 42 et 52°C perdent progressivement leur virulence. Lorsqu'on les injecte à l'animal, elles peuvent immuniser l'animal. Malheureusement, l'efficacité de la vaccination est variable et souvent la protection n'est ni complète ni de longue durée, malgré la fameuse démonstration de Pasteur à Pouilly-le-Fort en 1881 qui a assuré la réputation de Pasteur !

8.2 Bacilles anaérobies sporules

Les bacilles anaérobies sporulés appartiennent tous au genre *Clostridium*. La plupart d'entre eux décomposent les protéines ou produisent des toxines, et certaines font les deux. Leur habitat naturel est le sol ou le tube digestif des animaux et de l'homme. La plupart des espèces sont des saprophytes. Parmi les pathogènes, les principaux sont les clostridia botulisme, du tétanos et de la gangrène gazeuse.

8.2.1 Caractères généraux des bactéries du genre clostridium

Toutes les bactéries du genre *Clostridium* sont de gros bacilles à Gram positif qui peuvent donner des spores plus larges que le diamètre des bacilles. La plupart des espèces sont mobiles et possèdent des flagelles péritriches.

Les bactéries du genre *Clostridium* ne poussent qu'en anaérobiose, soit sur boîtes de Petri placées dans des enceintes anaérobies (jarres anaérobies), soit dans des bouillons contenant des agents réducteurs. Dans ce dernier cas, la culture ne se fait qu'en profondeur.

Sur gélose au sang, placée en anaérobiose, certaines espèces donnent de grandes, d'autres de petites colonies. La plupart des colonies sont *hémolytiques*.

La caractéristique principale des bacilles anaérobies est non seulement leur incapacité à utiliser l'oxygène comme accepteur final d'hydrogène mais encore leur incapacité à se multiplier en présence d'oxygène. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène : les bacilles anaérobies n'ayant pas de catalase, le peroxyde d'hydrogène, qui est toxique, s'accumule dans leur cytoplasme en présence d'oxygène ; ou encore, n'ayant pas de superoxyde dismutase, le superoxyde s'accumule et devient toxique. On a suggéré aussi que les réactions métaboliques ne pouvaient avoir lieu qu'à un potentiel d'oxydo-réduction négatif.

8.2.2 Clostridium botulinum

Clostridium botulinum est l'agent du botulisme.

8.2.2.1 Habitat

Clostridium botulinum est une bactérie tellurique que l'on peut trouver occasionnellement dans l'intestin des animaux. Ses spores peuvent contaminer les légumes, les fruits et d'autres produits. Actuellement, le principal danger réside dans les conserves familiales, notamment de haricots verts, petits pois, les poissons fumés, les poissons frais gardés sous vide et le jambon cru. Entre 1971 et 1978 (J.O.), 567 cas de botulisme ont été déclarés en France dont 15 mortels. On considère qu'il y a en moyenne 20 à 50 cas déclarés par an.

8.2.2.2 Pouvoir pathogène naturel

C. botulinum ne provoque pas habituellement d'infection chez l'homme bien qu'il ait été exceptionnellement impliqué dans l'infection de plaies et apparition ultérieure de botulisme. Le botulisme est une intoxication qui résulte de l'ingestion d'aliments contaminés par des spores de *C. botulinum* qui ont germé et ont produit de la toxine.

L'ingestion des aliments entraîne l'ingestion d'une quantité plus ou moins importante de toxine. L'incubation de la maladie est courte, 18 à 96 heures, et d'autant plus courte que la quantité de toxine absorbée est plus importante.

Les signes cliniques sont essentiellement neurologiques : ce sont des paralysies flasques bilatérales et symétriques :

- de l'accommodation (constantes) et des muscles extrinsèques de l'œil,
- des muscles bucco-pharyngés, entraînant une dysphagie, une paralysie de la déglutition et des difficultés d'élocution.

Les troubles digestifs - nausées, vomissements, constipation - sont fréquents mais pas au premier plan.

Selon la quantité de toxine ingérée, il y a des formes frustes et des formes mortelles.

Dans ces dernières, les signes de paralysie bulbaire sont progressifs, le malade restant parfaitement conscient, et la mort survient par paralysie respiratoire et arrêt cardiaque.

Dans les formes non mortelles, l'évolution dure en général 4 semaines, la régression des signes paralytiques se faisant dans l'ordre inverse de leur apparition et ne laissant pas de séquelles. Les malades qui guérissent n'ont pas d'anticorps sériques anti-toxine botulinique (maladie non immunisante).

8.2.2.3 Caractères bactériologiques

- Bacille mobile, jamais isolé chez l'homme (il s'agit d'une intoxication), parfois dans l'aliment. Il est très protéolytique et très glucidolytique.
- La spore a une thermo-résistance élevée. Elle résiste 3 à 5 heures au chauffage à 100°C et il

faut chauffer au moins 15 minutes à 120°C pour la détruire (ce qui est fondamental dans l'industrie des conserves alimentaires).

8.2.2.4 La toxine botulinique

- Il y a 6 variétés antigéniquement distinctes de toxines : A, B, C, D, E et F. Les variétés A, B et E sont les plus couramment associées à la maladie humaine. On devrait dire les toxines botuliniques et non pas la toxine botulinique.
- Les toxines botuliniques sont parmi les substances les plus toxiques connues : 1 mg contient plus de 20 millions de doses minima mortelles (D.M.M.) pour la souris. Ce sont des neurotoxines qui agissent en inhibant la synthèse ou la libération d'acétyl-choline au niveau des synapses et des plaques neuro-musculaires, d'où la paralysie flasque.
- Les toxines botuliniques sont de nature protéique. Elles sont antigéniques, peuvent être transformées en anatoxines et être neutralisées par des immunosérums (anti-toxines). Elles sont détruites par un chauffage de 10 minutes à 100°C.
- La toxine botulinique est synthétisée par la bactérie au cours de sa croissance sous forme inactive. Lors de la mort bactérienne, elle subit une protéolyse qui la met sous forme active.

8.2.2.5 Diagnostic

Le diagnostic clinique repose sur les troubles paralytiques (vision) et la notion de contamination (parfois collective) après consommation d'un même aliment.

Le diagnostic biologique repose sur la recherche de la toxine dans l'aliment incriminé (méthode des souris protégées avec des immuno-sérums spécifiques) et dans le sérum des malades. Cette recherche se fait dans des laboratoires spécialisés.

8.2.2.6 Traitement

Curatif

Puis que la variété de toxine botulinique responsable n'est habituellement pas connue, du sérum bivalent (A + B) ou trivalent (A + B + E) est administré par voie intraveineuse. Le traitement est complété par l'administration sous-cutanée d'anatoxine botulinique. Du chlorhydrate de guanidine (anti-cholinestérasique) est souvent utilisé comme adjuvant au traitement. Une assistance respiratoire artificielle peut être nécessaire dans les cas graves.

Préventif

Il repose surtout sur les mesures légales concernant la préparation industrielle des conserves alimentaires et l'abattage des animaux ainsi que sur les précautions à prendre pour la préparation familiale des conserves. Toutes les conserves suspectes doivent être jetées sinon chauffées à 100°C pendant au moins 10 minutes avant d'être consommées.

8.2.3 Clostridium tétani

Clostridium tetani est l'agent du tétanos.

8.2.3.1 Habitat

Clostridium tetani, découvert en 1885 par NICOLAÏER, se retrouve partout dans le sol où il survit sous sa forme sporulée. Commensal du tube digestif de plusieurs espèces animales (cheval, bovins, ovins), il est éliminé par les selles et sporule sur le sol. Il est particulièrement abondant dans les zones de pacage des animaux et à l'emplacement des anciennes écuries.

8.2.3.2 Pouvoir pathogène naturel

Clostridium tetani n'est pas un germe invasif. L'infection reste strictement limitée dans les tissus dévitalisés (blessure, brûlure, cordon ombilical ligaturé, suture chirurgicale) où les spores ont été introduites. Le volume de tissu infecté est petit, et la maladie est presque uniquement une toxémie. La germination de la spore et la multiplication des formes végétatives qui vont produire la toxine tétanique nécessitent :

- des tissus nécrosés, c'est-à-dire l'anaérobiose,
- présence d'un corps étranger,
- la présence de bactéries pyogènes qui doivent vraisemblablement aider à maintenir un potentiel d'oxydoréduction bas.

L'incubation dure de 4-5 jours à plusieurs semaines. La toxine formée pénètre dans l'axone et gagne le système nerveux central par voie rétrograde en suivant le tissu périneural ou bien par voie lymphatique ou sanguine. Elle se fixe sur les gangliosides de la moelle épinière et du cerveau, où elle empêche la libération d'un inhibiteur des synapses des neurones moteurs. Il en résulte des réactions exagérées et des spasmes violents des muscles en réponse à toute stimulation.

La maladie clinique commence souvent par des spasmes musculaires de la zone blessée et par des contractures douloureuses des masseters (*trismus*) de sorte que le sujet ne peut plus ouvrir la bouche. Progressivement, les autres muscles de la musculature volontaire sont atteints. Des contractures douloureuses plus ou moins généralisées peuvent se produire. Le malade reste conscient, sa température est élevée. La mort survient souvent par asphyxie aiguë au cours d'un spasme laryngé.

8.2.3.3 Caractères bactériologiques

Bacille mobile à Gram positif. La spore est terminale, déformante et donne au bacille un aspect en clou ou en baguette de tambour (figure 2).

8.2.3.4 La toxine tétanique

Bien qu'il existe plusieurs variétés de *Clostridium tetani*, toutes produisent la même toxine. Celle-

ci est produite par le germe durant sa croissance mais est aussi libérée par l'autolyse du corps bactérien.

La toxine est une protéine, antigénique, qui contient deux facteurs : (1) la tétanolysine responsable de l'hémolyse, de la nécrose et qui est cardiotoxique, (2) la tétanospasmine (composée du fragment alpha qui est toxique et du fragment beta qui est antigénique) qui est le facteur essentiel de la toxicité neurologique. Comme la toxine diphtérique, la toxine tétanique peut être transformée en anatoxine par l'action combinée du formol et de la chaleur (Ramon).

8.2.3.5 Diagnostic

Le diagnostic clinique repose sur la constatation des contractures et la notion de blessure antérieure. On peut éventuellement rechercher *Clostridium tetani* dans les tissus contaminés mais cette recherche n'a aucun intérêt diagnostique ou thérapeutique.

8.2.3.6 Traitement

Préventif

Le traitement curatif du tétanos étant très difficile, le plus important est la prévention du tétanos. Celle-ci repose sur 4 moyens :

- Immunisation active des sujets par la vaccination avec l'anatoxine tétanique (souvent couplée avec la vaccination diphtérique et anticoquelucheuse chez les enfants). La vaccination comporte 3 injections sous-cutanées à 1 mois d'intervalle avec rappel 1an plus tard. Des injections de rappel doivent être faites tous les 5 à 10 ans.
- Nettoyage minutieux des plaies souillées de terre. Le débridement chirurgical permet seul d'enlever les tissus nécrosés.
- Emploi préventif du sérum antitétanique ou antitoxine (gammaglobulines humaines ou tetaglobulines qui doit s'accompagner d'une injection de rappel d'anatoxine tétanique. C'est la *séro-anatoxine prévention* .
- Administration de pénicilline.

Curatif

Le traitement du tétanos repose sur des mesures spécifiques et non spécifiques. Les mesures spécifiques comprennent l'administration de sérum antitétanique, d'anatoxine, et de pénicilline. Malheureusement, le sérum antitétanique ne neutralise que la toxine non encore fixée. Son efficacité thérapeutique est par conséquent mise en doute sauf dans le tétanos néonatal. De toute façon, si du sérum antitétanique est injecté, on s'efforcera d'utiliser du sérum humain et non du sérum animal (risque de réaction d'hypersensibilité). L'intérêt d'injecter de l'anatoxine tétanique est de provoquer une immunisation active. Quant à la pénicilline, elle inhibe la multiplication de *C.tetani* et arrête par conséquent toute nouvelle production de toxine.

Les mesures non spécifiques comprennent l'administration de myorelaxants et de sédatifs ainsi que la respiration assistée.

Malgré la vaccination obligatoire, près de 100 cas de tétanos sont recensés chaque année en France avec une mortalité encore élevée. Ces cas ne devraient pas se produire si la vac-

ination était correctement faite et les rappels de vaccination régulièrement effectués.

8.2.4 Clostridia de la gangrène gazeuse

La gangrène gazeuse est une infection grave consécutive à l'introduction dans une plaie de terre ou de matières fécales souillées de spores de Clostridium. Le principal *Clostridium* qui provoque la gangrène gazeuse est *C.perfringens*.

8.2.4.1 Habitat de Clostridium perfringens

C.perfringens est présent dans le sol, dans le tube digestif de l'homme et des animaux. On le trouve dans les voies génitales féminines dans 5 % des cas.

8.2.4.2 Pouvoir pathogène naturel de C.perfringens

A partir d'une plaie contaminée (par exemple fracture ouverte ou plaie utérine), l'infection s'étend en 1 à 3 jours. Elle réalise :

- la gangrène gazeuse qui se manifeste comme un phlegmon gazeux avec crépitation et nécrose progressive, fièvre, hémolyse, syndrome toxique, choc, puis la mort survient rapidement. Avant l'apparition des antibiotiques, l'amputation était le seul traitement possible ;
- des appendicites, des entérites gangréneuses ;
- des syndromes septicémiques d'origine puerpérale avec ictère hémolytique et anurie. Par ailleurs, certaines souches de *C.perfringens* provoquent des intoxications alimentaires avec diarrhée profuse qui durent de 1 à 3 jours, par un mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine de *E.coli*.

8.2.4.3 Caractères bactériologiques de C.perfringens

C.perfringens se distingue des autres Clostridia par son *immobilité* et l'existence d'une *capsule*. En culture, il est fortement hémolytique et produit une quantité importante de gaz par fermentation (gangrène gazeuse !).

Il secrète une exotoxine protéique qui est une phospholipase (lécithinase) qui désorganise les membranes cellulaires, en particulier musculaires. Cette toxine est aussi une hémolysine. Elle est antigénique.

C.perfringens secrète également une désoxyribonucléase (DNase), une hyaluronidase et une collagénase dont l'action favorise l'extension de l'infection à *C.perfringens*.

Enfin, certaines souches, responsables d'intoxication alimentaire, secrètent une entérotoxine, thermolabile, voisine de l'entérotoxine d'*E.coli*.

8.2.4.4 Diagnostic

Prélèvements de tissu, de pus et de sérosités au niveau de la plaie. Hémocultures au cours des syndromes septicémiques.

Examen microscopique : la présence de grands bacilles à Gram positif, éventuellement sporulés, est très évocatrice.

Culture sur gélose au sang placée en atmosphère anaérobie et sur bouillon anaérobie. L'hémolyse, la production importante de gaz et l'inhibition de l'effet de la lécithinase (observés lors de culture sur gélose au jaune d'œuf) par le sérum spécifique rendent le diagnostic bactériologique aisé.

8.2.4.5 Traitement

Le débridement des plaies souillées, l'excision des tissus dévitalisés et l'administration de pénicilline sont les moyens thérapeutiques spécifiques des infections à *C.perfringens* et aux autres Clostridia des gangrènes gazeuses. Tous les moyens modernes de réanimation (oxygénothérapie hyperbare) peuvent être nécessaires pour compléter le traitement spécifique.

8.2.5 Les colites pseudomembraneuses provoquées par les clostridia

Après l'administration prolongée de certains antibiotiques (beta-lactamines, lincosamines), certains sujets font des colites pseudomembraneuses. Celles-ci sont consécutives à la sélection par les antibiotiques de *Clostridium difficile* qui est naturellement résistant aux antibiotiques et qui, en proliférant dans le colon, produit une toxine nécrosante. L'évolution peut être mortelle si on n'arrête pas immédiatement l'antibiothérapie et si on n'administre pas, *par voie orale*, un antibiotique actif sur *C.difficile* : soit le métronidazole, soit la vancomycine (0,5 g toutes les 6 heures). Le diagnostic étiologique est apporté par la recherche de la toxine de *C.difficile* dans les selles. Certaines souches ne produisant pas de toxine, la mise en évidence de *C.difficile* dans les selles par culture n'est pas suffisante pour faire le diagnostic.

Chapitre 9

Les bacilles à gram négatif hémophiles ou exigeants

Les bactéries hémophiles forment un groupe hétérogène de petits bacilles qui ne cultivent que sur des milieux enrichis en sang ou en extraits sanguins. Certaines appartiennent à la flore normale des muqueuses ; d'autres, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis*, sont des pathogènes.

9.1 Genre géemophilus

9.1.1 Caractères généraux

Les Haemophilus sont de petits bacilles à Gram négatif, aérobies-anaérobies facultatifs, immobiles, non sporulés, qui exigent pour leur croissance un ou deux facteurs présents dans le sang et dans les tissus animaux :

- Le facteur « V » (lettre « v » majuscule), thermolabile est le coenzyme 1 ou Nicotinamide-Adénine-Dinucléotide (N.A.D.).
- Le facteur « X » (lettre « x » majuscule) ou hémine, thermostable est une ferroporphyrine.

Plusieurs *Haemophilus* sont pathogènes pour l'homme. Le principal est *Haemophilus influenzae*.

9.1.2 Haémophilus influenzae

9.1.2.1 Habitat

Découvert en 1892 par PFEIFFER qui pensait avoir trouvé l'agent de la grippe, *H.influenzae* est un commensal de l'arbre respiratoire supérieur, au moins sous sa forme non capsulée. *La forme capsulée de type b*, la plus pathogène, pourrait être parasite strict de l'espèce humaine et transmise par voie respiratoire.

9.1.2.2 Pouvoir pathogène

a. **Chez le jeune enfant :**

H.influenzae provoque des rhinopharyngites qui peuvent se compliquer de sinusites et d'otites (*H.influenzae* est l'agent le plus fréquent des otites moyennes, immédiatement suivi par le pneumocoque). Par voie hématogène, il peut atteindre les méninges et provoquer une méningite (enfant de moins de 3 ans). Occasionnellement il peut être responsable de laryngite et de laryngo-trachéite et d'épiglottite.

b. **Chez les sujets à moyens de défense diminués :**

Il peut être responsable de bronchites (chez les bronchitiques chroniques), de pneumonies, d'arthrites (plus rarement d'endocardites).

9.1.2.3 Etude bactériologique

1. **Microscope**

Dans les produits pathologiques, *H.influenzae* se présente sous la forme de tout petits bacilles à Gram négatif, d'aspect coccobacillaire, groupés en amas, en courtes chaînettes. Les souches virulentes sont capsulées (comme pour le pneumocoque).

2. **Culture**

H.influenzae exige pour sa croissance les facteurs X et V qui sont présents dans la gélose au sang cuit (gélose chocolat) ou dans la gélose ordinaire additionnée d'extrait globulaire. Les colonies apparaissent en 24-48 heures.

3. **Caractères biochimiques**

L'étude des caractères biochimiques n'a pas d'intérêt pour le diagnostic mais un intérêt épidémiologique pour différencier les biotypes. Celui-ci repose sur l'exigence en facteurs X et V, et sur la mise en évidence des caractères antigéniques.

4. **Structure antigénique**

Lorsque *H.influenzae* est capsulé, la capsule est de nature polysaccharidique. Il existe, en fonction de la structure antigénique de la capsule, 6 types : a, b, c, d, e et f. Comme pour *S.pneumoniae*, le sérotypage de *H.influenzae* à l'aide d'immunoserums spécifiques se fait par le phénomène du gonflement de la capsule. *Le type b est de loin le plus pathogène.*

9.1.2.4 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic est uniquement direct. Les prélèvements consistent en sécrétions bronchiques prélevées par brosse bronchique protégée, pus, sang, liquide céphalo-rachidien.

1. L'examen microscopique est souvent très évocateur. Les bacilles peuvent être identifiés directement sur le frottis par immunofluorescence. En cas de méningite, la contre-immunoelectrophorèse ou l'agglutination de particules de Latex portant des anticorps anticapsulaires de type b permet d'identifier la présence d'antigène dans le liquide céphalo-rachidien.
2. La culture se fait sur gélose chocolat et l'identification ultérieure des colonies, par l'exigence en facteurs X et V, et par la mise en évidence de l'antigène capsulaire. Elle sera toujours complétée par une recherche de la sensibilité aux antibiotiques, notamment à l'ampicilline (existence ou non d'une betalactamase) et au chloramphénicol.

9.1.2.5 Traitement

Le problème thérapeutique est surtout celui des méningites car 10 à 20 % des souches de *H.influenzae* sont résistantes à l'ampicilline, par production de bêtalactamase d'origine plasmidique. Le traitement de première intention, en attendant les résultats du laboratoire, repose soit sur le chloramphénicol soit sur une céphalosporine non inactivée par la bêtalactamase de la bactérie, par exemple une céphalosporine de 3^e génération comme le céfotaxime.

Maintenant, une vaccination anti-Haemophilus efficace est disponible. L'antigène vaccinal est constitué de polysaccharide de *H.influenzae* de type b. Le but de la vaccination est de protéger les enfants de la forme la plus grave de l'infection à *H.influenzae*, la méningite. Il est nécessaire de vacciner les enfants avant 6 mois pour qu'ils aient une protection immunitaire efficace pendant la période de risque maximal située entre 6 et 11 mois. Parce qu'avant 6 mois le système immunitaire n'est pas complètement mature, plusieurs injections sont nécessaires pour obtenir des réponses immunitaires satisfaisantes.

Depuis la généralisation de la vaccination en France, l'incidence annuelle des manifestations invasives (méningites, épiglottites) dues à *Haemophilus influenzae* de sérotype b est passée de 21-25 pour 100.000 enfants âgés de 0 à 4 ans à moins de 4 pour 100.000. L'incidence annuelle des méningites à *H.influenzae* de sérotype b pour l'ensemble de la France est maintenant de 2 pour 100.000 enfants de la même tranche d'âge (Peltola, Clin. Microbiol. Rev. 2000 ; 13 : 302-317).

9.1.3 Autres haemophilus

- *H.ducreyi* est l'agent du chancre mou, une maladie sexuellement transmise, qui après une incubation d'une semaine en moyenne se traduit par une ulcération génitale, profonde, inflammatoire et douloureuse et des adénopathies satellites également douloureuses le plus souvent unilatérales (classique bubon). Pour sa culture in vitro, le bacille exige le facteur X seulement. Le chancre mou qui avait presque disparu de France est réapparu en 1973. A Paris, depuis cette date, près de 2000 cas ont été signalés : traitement par l'association sulfaméthoxazole-triméthoprim (Bactrim) pendant 3 semaines (MOREL P., CASIN I., GANDIOL C., VALLET C., et CIVATTE J. Epidémie de Chancre mou : traitement de 587 malades. La Nouv. Presse Médicale 1982, 11,655-656).
- *H.aegyptus* ou bacille de KOCH-WEEKS est l'agent de conjonctivite épidémique dans les régions tropicales. Il exige les facteurs X et V.
- *H.parainfluenzae* est un commensal du rhinopharynx. Il peut être responsable d'endocardite infectieuse. Il exige le facteur V seulement.
- *H.haemolyticus* et *parahaemolyticus* sont des commensaux du rhinopharynx. Ils peuvent être associés à des infections de l'arbre respiratoire supérieur. Comme leur nom l'indique, ils sont hémolytiques sur gélose au sang.

9.2 Genre bordetella

Les Bordetella sont de petits bacilles à Gram négatif, aérobies stricts qui comprennent trois espèces : d'une part, *B.pertussis* qui est responsable de la coqueluche, d'autre part, *B.parapertussis* et *B.bronchiseptica* qui sont habituellement sans pouvoir pathogène pour l'homme.

9.2.1 Bordetella pertussis

9.2.1.1 Habitat

Découvert par BORDET et GENGOU en 1900, *B.pertussis* est un parasite strict de l'espèce humaine. Il se transmet directement d'individu à individu par voie aérienne.

Les malades sont les sources principales de contamination mais il peut y avoir des porteurs sains.

9.2.1.2 Pouvoir pathogène

1. Physiopathologie

Après pénétration par voie aérienne, *B.pertussis* adhère à la surface de l'épithélium trachéo-bronchique et s'y multiplie rapidement. Il n'y a pas de diffusion sanguine. La lyse bactérienne libère « une toxine » qui irrite les cellules superficielles (catarrhe) et provoque la lymphocytose. Plus tardivement il y a nécrose de l'épithélium avec infiltration de polynucléaires, inflammation péribronchique et pneumonie interstitielle. La surinfection secondaire par *Staphylococcus aureus* ou *Haemophilus influenzae* peut conduire à la pneumonie. L'obstruction des petites bronches par des bouchons muqueux est responsable d'atélectasie.

2. Clinique

L'incubation silencieuse dure 2 semaines. Elle est suivie d'une *période dite catarrhale* qui dure 1 à 2 semaines. Elle est marquée par une fièvre modérée à 37,5-38 °C., une toux sèche. Le malade est très contagieux. Vient enfin la *période des quintes* qui dure 3 à 6 semaines. Elle est caractérisée par des épisodes de toux spasmodique, suivie d'apnée et d'inspiration bruyante (chant du coq). Ces épisodes qui fatiguent considérablement le malade, peuvent être associés à des vomissements, de la cyanose et des convulsions. C'est une infection grave chez le nourrisson et le sujet âgé. Il y a une hyperlymphocytose (16 000 à 30000 par mm³). La convalescence est longue.

9.2.1.3 Etude bactériologique

1. Microscope

Petit bacilles à Gram négatif d'aspect coccobacillaire, *B.pertussis* ressemble à *H.influenzae*. Les souches virulentes sont capsulées.

2. Culture

L'isolement de *B.pertussi* nécessite des milieux complexes, très enrichis. Le milieu de culture

le plus employé est le milieu de BORDET-GENGOU (pomme de terre-sang-glycérine). Les colonies n'apparaissent qu'en 2 à 3 jours seulement. Elles sont petites, « en gouttes de mercure », entourées d'une petite zone d'hémolyse. Après repiquages, les colonies deviennent rugueuses, les bacilles perdent leur capsule et leur virulence.

3. **Caractères biochimiques**

B.pertussis est un aérobie strict qui ne nécessite ni facteur X ni facteur V.

4. **Les substances élaborées**

Deux substances jouent un rôle important dans la physiopathologie :

- La toxine pertussique (Ptx) qui permet la fixation (rôle d'adhésine) aux cellules ciliées de l'arbre respiratoire et provoque la transformation de l'ADP en AMP cyclique (rôle de la toxine), ce qui entraîne une hypersécrétion de mucine et la mort cellulaire.
- L'adénylate cyclase qui renforce l'action de la Ptx.

Deux substances jouent un rôle dans l'adhérence aux cellules de l'arbre respiratoire : Ptx (cf. plus haut) et l'hémagglutinine filamenteuse (FHA).

9.2.1.4 Diagnostic bactériologique

L'isolement de *B.pertussis* est difficile parce que le diagnostic n'est suspecté qu'à la période des quintes où il y a peu de bacilles, et parce que *B.pertussis* pousse difficilement.

Les prélèvements consistent (1) en mucosités bronchiques émises au moment de la toux et qui sont recueillies directement sur le milieu de culture devant la bouche du malade, (2) en écouvillonnage nasal ou (3) en aspiration des mucosités bronchiques. La culture se fait sur milieu de BORDET-GENGOU et les colonies isolées sont identifiées par agglutination sur lame.

En pratique, le diagnostic est clinique (quintes + lymphocytose) et épidémiologique (notion de contagé).

9.2.1.5 Traitement

1. **Traitement curatif**

B.pertussis est sensible à de nombreux antibiotiques (érythromycine). Malheureusement, l'antibiothérapie n'influence pas l'évolution clinique de la maladie, vraisemblablement parce qu'elle est commencée trop tard. Elle pourrait avoir un effet préventif sur les complications infectieuses et sur la transmission du germe à l'entourage.

2. **Traitement préventif**

- *Vaccin à germes entiers* :

Le vaccin anticoquelucheux à germes entiers est une suspension tuée de *B.pertussis* capsulé virulent.

- *Vaccins acellulaires* : contiennent au moins les antigènes Ptx et FHA.

Le vaccin à germes entiers est administré en primo-vaccination dès le 3^{ème} mois de la vie en association avec les anatoxines diphtérique et tétanique en 3 injections à 1 mois d'intervalle. La vaccination est efficace. Elle donne lieu, dans un faible pourcentage de cas, à des réactions neurologiques parfois graves (encéphalopathies). Le vaccin acellulaire est administré lors des rappels.

9.3 Genre brucella

9.3.1 Définition

Les Brucella sont de petits bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, *oxydase* positifs qui comprennent trois espèces principales *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, qui sont responsables d'une maladie animale transmissible à l'homme, la brucellose (Fièvre de Malte).

9.3.2 Habitat

Les Brucella sont des parasites des mammifères. *Brucella melitensis* infecte principalement ovins et caprins, *B.abortus*, les bovins et *B.suis*, les porcs. La transmission interanimale se fait par voie digestive, aérienne, génitale. La transmission par voie digestive, cutanée, aérienne à l'homme est accidentelle (maladie rurale et professionnelle).

9.3.3 Pouvoir pathogène naturel

9.3.3.1 Chez l'animal

Les *Brucella* sont responsables d'infections génitales avec avortement chez les femelles et lésions testiculaires chez le mâle. Il existe de nombreuses formes inapparentes.

9.3.3.2 Chez l'homme

Les *Brucella* sont responsables de septicémie subaiguë (fièvre ondulante sudoro-algique) avec localisations viscérales multiples (articulaires, neuro-méningées, etc...).

9.3.4 Diagnostic

9.3.4.1 Le diagnostic direct

Il repose sur l'isolement du germe par hémoculture à la phase septicémique de la maladie, par ponction ganglionnaire etc... La culture est souvent très lente.

9.3.4.2 Le diagnostic indirect

Il repose sur le sérodiagnostic de Wright : recherche d'anticorps agglutinants dans le sérum des malades. Un taux supérieur à 1/40 est significatif. Il est également possible de rechercher l'existence d'une hypersensibilité cutanée à la mélitine (filtrat de culture de *B.melitensis*) par intradermo-réaction. Celle-ci est positive en 24-48 h chez les sujets qui ont été exposés aux Brucella.

9.3.5 Traitement

9.3.5.1 Le traitement préventif

Il consiste en un dépistage sérologique par les vétérinaires des animaux infectés et l'abattage de ces animaux.

9.3.5.2 Le traitement curatif

(Chez l'homme) repose sur l'administration de tétracycline employée seule ou en association avec soit la streptomycine soit la rifampicine. Le traitement doit être suffisamment prolongé (4 à 6 semaines) pour éradiquer les bacilles persistants intracellulaires.

Chapitre 10

La flore microbienne normale de l'organisme

La flore bactérienne commensale

De nombreuses bactéries sont normalement présentes sur la peau et les muqueuses des sujets sains. Elles constituent les flores commensales résidentes. Celles-ci participent activement au maintien de la santé. Par exemple, la flore intestinale synthétise de la vitamine K, aide à l'absorption des aliments, prévient par son équilibre la prolifération de bactéries commensales potentiellement dangereuses (*Clostridium difficile*) et gêne la colonisation par des bactéries pathogènes.

Les bactéries commensales peuvent être réparties en 4 flores principales (cutanée, respiratoire, génitale et digestive).

1. **La flore cutanée** est variable en qualité et en quantité (10^2 à $10^6/\text{cm}^2$) selon la topographie.
 - *La flore résidente* est formée de germes Gram + potentiellement peu pathogènes
 - Staphylocoques à coagulase négative
 - Corynébactéries
 - *La flore transitoire* est plus polymorphe et peut comporter des germes potentiellement pathogènes, provenant du tube digestif ou du rhinopharynx :
 - Entérobactéries
 - Staphylocoque doré.

Les mains portent souvent une flore transitoire abondante (rôle dans la transmission croisée).

2. **La flore de l'arbre respiratoire supérieur** est très variable et abondante au niveau du rhinopharynx ($10^8/\text{ml}$ de sécrétion pharyngée). Elle contient de nombreux opportunistes majeurs :
 - Staphylocoque doré (orifices narinaux en particulier)
 - Streptocoques (groupables ou non, dont *S.pneumoniae*)
 - Haemophilus
 - Neisseria (éventuellement *Neisseria meningitidis* dont le portage est transitoire)
 - *Branhamella catarrhalis*
 - Anaérobies, corynébactéries, lactobacilles.

Au niveau de la trachée, la flore est minime et activement combattue par le mucus, les cils, les macrophages, etc... L'arbre respiratoire inférieur est stérile.

3. **La flore génitale** joue un rôle de protection, essentiel chez la femme. Les lactobacilles acidophiles ou bacilles de Döderlein, par leur sécrétion d'acide lactique entretiennent un pH bas qui limite la flore commensale. Cette flore commensale est réduite à :

- Streptocoque (Streptocoque B essentiellement)
- Corynébactéries
- Bifidobacterium.

Après la ménopause, les anaérobies et entérobactéries sont plus abondantes.

4. **La flore digestive** est la plus abondante et la plus importante. Elle varie en fonction des différents étages du tube digestif. Au niveau de la bouche peuvent se trouver la plupart des germes présents dans le rhinopharynx avec comme particularité l'abondance des streptocoques surtout non groupables, la présence éventuelle d'entérobactéries et d'anaérobies. Les streptocoques jouent un rôle important dans la genèse de la plaque dentaire et, s'ils essaient, dans le développement des endocardites. On dénombre habituellement 10^8 à 10^9 germes par ml de salive.

L'estomac possède une flore très pauvre du fait de son acidité. L'intestin grêle possède aussi une flore pauvre en raison du péristaltisme et de l'abondance des sécrétions. Les germes présents sont essentiellement des streptocoques, staphylocoques et lactobacilles.

La flore colique est en revanche extrêmement variée et abondante. Elle comprend 10^{11} - 10^{12} bactéries/gr avec une nette prédominance des anaérobies stricts (99,9 %), surtout Bactéroïdes ($\approx 10^{11}$ par gramme de selle), Bifidobactérium, Clostridium. Viennent ensuite les Entérobactéries (E.coli, 10^8 /gr, Proteus, Klebsielle...), Entérocoques et Staphylocoques. Cette flore est habituellement stable et limite l'implantation d'espèces pathogènes telles que Salmonelle, Shigelle ou Campylobacter et le développement de bactéries commensales potentiellement dangereuses.

Chapitre 11

Les spirochetes

Les spirochètes sont des micro-organismes spiralés (hélicoïdaux), flexibles, à parois très minces. Ils se déplacent par ondulations du filament axial qui est constitué par deux ou trois touffes de flagelles polaires (les fibrilles) situées entre la membrane cytoplasmique et la paroi cellulaire (figure 1).

Les spirochètes sont des bactéries très répandues. Certains sont des commensaux des muqueuses humaines, notamment des muqueuses buccales, digestives et génitales. D'autres, qui sont pathogènes, sont rangés dans les genres *Treponema*, *Borrelia* et *Leptospira*.

11.1 Genre *treponema*

Quatre types de tréponèmes sont pathogènes pour l'homme. *Treponema pallidum* est l'agent de la syphilis, probablement introduite en Europe au 15^e siècle par les marins de Christophe COLOMB. Il est mis en évidence pour la première fois en 1905 par SCHAUDINN et HOFFMANN, tandis qu'en 1906 WASSERMANN applique au sérodiagnostic de la syphilis, la réaction de fixation du complément décrite par BORDET.

Treponema pertenue est l'agent du pian, responsable de lésions cutané-osseuses chez les enfants, dans les régions tropicales humides (aux Antilles par exemple).

Treponema carateum est l'agent de la pinta, ou maladie cutanée qui frappe les enfants et adolescents des régions tropicales d'Amérique Centrale et du Sud.

Treponema pallidum, variété endémique, est responsable du Bégel, ou maladie cutané-muqueuse qui touche les enfants et adultes des régions désertiques.

11.1.1 La maladie syphilitique

Comme toutes les tréponématoses (pian, pinta, bégel), elle présente deux stades :

- Un stade précoce qui couvre la période initiale d'évolution de deux ans,
- Un stade tardif qui groupe les accidents survenant après deux ans d'évolution.

La syphilis est une maladie strictement humaine. L'infection humaine est habituellement transmise par contact sexuel et, dans la plupart des cas, la lésion infectante siège sur la peau ou la muqueuse des organes génitaux. Toutefois, dans 10 % des cas, la lésion primaire est extragénitale (buccale, rectale).

11.1.1.1 L'incubation

Elle est de 3 semaines en moyenne (2 à 10 semaines). Les tréponèmes se multiplient au point d'inoculation mais certains d'entre eux essaient jusqu'aux ganglions lymphatiques, d'où ils gagnent ensuite la grande circulation.

11.1.1.2 La lésion primaire

Elle est appelée *chancre syphilitique*. C'est une papule qui donne rapidement naissance à 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. Non traité le chancre guérit spontanément en 3 à 6 semaines, les adénopathies un peu plus tard.

11.1.1.3 Lésions secondaires

Elles apparaissent 2 à 10 semaines plus tard (en moyenne 2 mois après le contagage). Elles consistent surtout en une *éruption maculopapuleuse rosée* qui peut siéger n'importe où sur le corps (roséole, syphilides papuleuses) et l'apparition de papules plus pâles siégeant dans la région ano-génitale, le creux axillaire et la bouche (*plaques muqueuses*). On peut aussi observer des signes de méningite, chorio-rétinite, hépatite, néphrite et périostite. Toutes les lésions secondaires sont riches en tréponèmes, donc contagieuses. Elles accompagnent une importante septicémie tréponémique. Elles guérissent spontanément mais des rechutes peuvent se produire pendant 3 à 5 ans. Les phases primaire, secondaire et de latence constituent la phase précoce ou bactériologique de la maladie.

11.1.1.4 Evolution

Dans environ 30 % des cas, la syphilis guérit spontanément. Dans 30 %, malgré l'absence de traitement, elle va rester latente et se traduire uniquement par une sérologie positive. Dans les autres cas, la maladie va évoluer d'une manière asymptomatique vers un *stade tertiaire* caractérisé par le développement de lésions granulomateuses - les *gomes* - de la peau, des os et du foie, et des *lésions dégénératives* du système nerveux central (paralysie générale, tabès) ou du système cardiovasculaire (aortite avec parfois formation d'anévrysme, insuffisance aortique).

Une splénomégalie est possible. Dans toutes les lésions tertiaires, les tréponèmes sont rares. Les lésions tissulaires sont attribuées à un état d'hypersensibilité à l'égard du tréponème. Il s'agit de la phase tardive de l'infection syphilitique.

11.1.1.5 La syphilis congénitale

C'est la syphilis acquise intra-utero. Elle peut entraîner l'avortement, la mort du fœtus, ou encore, si l'enfant est vivant, des lésions de syphilis congénitale qui peuvent être du type précoce (bulles, ragades, floraison) ou d'emblée de type tardif : kératite, malformations dentaire et nasale, périostite et des anomalies du système nerveux central. Des IgM antitréponémiques apparaissent dans son

sérum.

11.1.2 Bactériologie

11.1.2.1 Morphologie

Treponema pallidum a de 5 à 15 microns de long sur 0,2 micron de large. Ses spires sont régulièrement espacées les une des autres de 1 micron. Sa mobilité est caractéristique : rotation et flexion sinusoïdales. *Treponema pallidum* ne se colore pas bien par les colorants habituels. On l'observe habituellement à l'état frais au microscope à fond noir, ou après coloration spéciale (immunofluorescence, imprégnation argentique).

11.1.2.2 Culture

Treponema pallidum, comme tous les tréponèmes pathogènes, n'a pas encore été cultivé sur milieu artificiel. Seuls existent actuellement des milieux de survie. Considérés longtemps comme anaérobies stricts, il est prouvé qu'ils peuvent fixer l'oxygène grâce à une chaîne de transport d'électrons. Ce sont des microaérophiles.

11.1.2.3 Structure antigénique

En l'absence de culture, la structure antigénique de *Treponema pallidum* est peu connue. Toutefois, *Treponema pallidum* stimule le développement, chez l'homme, d'anticorps capables de colorer *Treponema pallidum* par immunofluorescence indirecte, d'immobiliser et de tuer *Treponema pallidum* vivant, et de fixer le complément en présence de suspension de *Treponema pallidum* ou de spirochètes voisins.

Treponema pallidum déclenche aussi la formation d'un anticorps - appelé *réagine* - qui positive des réactions de fixation du complément et des réactions de micro-agglutination avec des suspensions aqueuses de lipides extraits de tissus animaux (*cardiolipide*) fixés sur des cristaux de cholestérol.

11.1.2.4 Pouvoir pathogène expérimental

Le lapin peut être expérimentalement inoculé par voie cutanée, oculaire et testiculaire avec *Treponema pallidum*. L'animal fait un chancre riche en tréponèmes. Les tréponèmes vont persister pendant toute la vie de l'animal dans les ganglions lymphatiques, la rate et la moelle osseuse.

Le singe fait expérimentalement des lésions primaires et secondaires très semblables à celles de l'homme ; il est le seul animal sensible à l'infection par *Treponema carateum*.

11.1.3 Diagnostic biologique

11.1.3.1 Les prélèvements

Les prélèvements à faire sont des frottis de la sérosité dermique du chancre et des lésions secondaires provoquées par grattage des lésions avec un vaccinostyle pour recherche microscopique du germe, et des prélèvements de sang pour recherche des anticorps (sérodiagnostic).

11.1.3.2 La recherche du tréponème

La recherche du tréponème se fait soit par examen au *microscope à fond noir*, soit par *immunofluorescence*.

Dans le premier cas, une goutte de sérosité dermique est placée sur une lame puis recouverte d'une lamelle. Examinée à l'objectif à immersion, la préparation permet de mettre en évidence des tréponèmes typiques, mobiles. Cette observation doit être faite immédiatement après le prélèvement qui doit être effectué au laboratoire.

Dans le deuxième cas, la sérosité dermique est étalée sur une lame, séchée, fixée et colorée par un sérum antitréponémique marqué par la fluorescéine. Examinée au microscope à fluorescence, la préparation permet de mettre en évidence des tréponèmes colorés en vert, non déformés mais bien entendu immobiles.

Il faut noter que les tréponèmes disparaissent des lésions quelques heures après le début du traitement antibiotique. Au total, l'examen microscopique est peu sensible mais très spécifique.

11.1.3.3 Le sérodiagnostic

Pour le diagnostic sérologique de la syphilis on emploie des antigènes non tréponémiques et des antigènes tréponémiques.

a. Les antigènes non tréponémiques sont des lipides extraits de tissus normaux de mammifères. On utilise le *cardiolipide* qui est un extrait de cœur de bœuf. Il réagit avec une substance présente dans le sérum des sujets atteints de syphilis et que l'on appelle pour cela la « réagine ». La réagine est un mélange d'IgM et d'IgA dirigés contre des antigènes présents dans des tissus normaux. Elle apparaît dans le sérum des syphilitiques 1 à 2 semaines après le début du chancre et dans le L.C.R., 4 à 8 semaines après le début du chancre. Deux types de réactions sérologiques sont couramment employées pour mettre en évidence la réagine :

- Des réactions dites de floculation ou d'agglutination, type KAHN, VDRL, KLINE ;
- Des réactions de fixation du complément ou de BORDET-WASSERMANN (B.W.).

Toutes les réactions utilisant des antigènes non tréponémiques peuvent donner des résultats faussement positifs. Les faux-positifs sont dus à la présence de réagine dans de nombreuses infections (paludisme, lèpre, rougeole, mononucléose infectieuse, etc...), à des vaccinations, des maladies du collagène, etc...

b. Les antigènes tréponémiques sont des suspensions ou des extraits de *T. pallidum*. Ils permet-

tent de mettre en évidence des anticorps spécifiques anti-tréponèmes. Trois réactions sérologiques peuvent être employées :

- *La réaction d'immunofluorescence (FTA-abs)* est une réaction d'immunofluorescence indirecte (des *T.pallidum* tués + le sérum du malade + des gammaglobulines antihumaines marquées à la fluorescéine). Cette réaction est spécifique et sensible à condition que le sérum du malade ait été absorbé (Abs) au préalable par un sonicat de tréponèmes (suspension de tréponèmes soumis aux ultrasons) cultivables. La réaction d'immunofluorescence est la première à devenir positive dans la syphilis. Elle est positive dans les jours qui suivent l'apparition du chancre syphilitique et le reste durant de nombreuses années, malgré des traitements antibiotiques efficaces. Cette réaction ne peut donc être utilisée pour juger de l'efficacité du traitement. La présence d'IgM-FTA dans le sang de nouveaux-nés est un bon signe d'infection in utero (syphilis congénitale).
- *La réaction d'hémagglutination passive* des tréponèmes (TPHA) utilise comme antigène des globules rouges de mouton, tannés et formolés, sur lesquels a été fixé un sonicat de *Treponema pallidum*. Cette réaction est aussi sensible et spécifique que le FTA mais devient positive un peu plus tardivement.
- *La réaction d'immobilisation* des tréponèmes (ou TPI ou encore test de NELSON) utilise comme antigène *Treponema pallidum* vivant mis en suspension dans un milieu de survie, à 37°C, en présence de 95 % d'Azote, 5 % de CO₂ et du complément. Si le sérum mis en contact avec la suspension de tréponème contient des anticorps spécifiques, les tréponèmes sont immobilisés, sinon ils restent normalement mobiles.
Parce que cette réaction nécessite des tréponèmes vivants entretenus chez l'animal, elle est difficile à réaliser en routine. Elle est toutefois très spécifique, mais ne devient positive que 2 mois après le début de la maladie (figure 2).

11.1.4 Traitement

La syphilis est une maladie à déclaration obligatoire (n°33) et à traitement obligatoire.

Le traitement repose sur l'administration de 2,4 MU de benzathine-pénicilline en injection I.M. unique au stade précoce de la maladie (primo-secondaire), ou 1 injection hebdomadaire pendant 3 semaines consécutives de 2,4 MU de benzathine-pénicilline (soit une dose totale de 7,2 millions d'unités) pour les stades tardifs. Ce traitement doit s'adresser simultanément aux malades et à leurs partenaires sexuels (alternative en cas d'allergie : érythromycine).

La réaction de Jarisch-Herxheimer peut s'observer lors du traitement de la syphilis par la pénicilline G. Elle résulte de la libération d'une exotoxine (LPS) par les tréponèmes lysés. Elle survient 6 à 8 h après l'administration et se manifeste pendant 12 à 24 h sous forme de frissons, malaise, fièvre, yalgies et exacerbation des lésions syphilitiques existantes.

La prophylaxie de la syphilis repose sur (1) le dépistage systématique obligatoire (mariage, grossesse), (2) le traitement adéquat et précoce des malades connus et de leur(s) partenaire(s), (3) l'hygiène sexuelle individuelle (le « vagabondage sexuel » est bien évidemment une source de risque) et (4) la prophylaxie mécanique (préservatif) au moment de l'exposition. Aucun vaccin n'est actuellement disponible.

Il faut enfin souligner que plusieurs maladies vénériennes peuvent être acquises simultanément. Par exemple un sujet atteint de gonococcie peut avoir contracté en même temps la syphilis ou avoir

été infecté par le VIH et ne pas encore en avoir les signes. Le traitement de la première maladie risque de décapiter la syphilis (absence de lésions primaires ou secondaires) sans la guérir complètement. Il faut donc traiter la première maladie soit par des antibiotiques actifs sur *T. pallidum* et capables de guérir une syphilis en incubation, soit alors par des antibiotiques inactifs sur *T. pallidum*.

Une personne atteinte de syphilis a une *immunité de surinfection* contre *T. pallidum*. Toutefois, si la syphilis est traitée précocement et guérie, cette personne peut à nouveau contracter la syphilis.

11.2 Borrelia

1. Les Borrelia sont des bactéries irrégulièrement spiralées responsables des Fièvres récurrentes (ou borrélioses). Les rongeurs sauvages sont les réservoirs de virus et les pous ou les tiques, les agents de transmission. La maladie se traduit par une septicémie à rechutes avec tymphos, arthralgies, signes méningées et parfois hépato-spléniques et rénaux. La courbe thermique traduit un état fébrile brutal et intense, faisant se succéder des phases fébriles et des phases d'apyrexie.

Le diagnostic de la maladie se fait par la mise en évidence du germe à l'examen microscopique du sang (centrifugation, goutte épaisse). Pas de sérodiagnostic.

Le traitement est basé sur l'administration d'ampicilline, de tétracycline ou de chloramphénicol. La prophylaxie repose sur la lutte contre les vecteurs (hygiène corporelle, vestimentaire et de l'habitat, insecticides).

2. Une forme récemment reconnue (1983) de borreliose, due à *B. burgdorferi*, transmise par une tique et dont le réservoir du germe est constitué de mammifères sauvages ou domestiques, est la *maladie de LYME*. Cette maladie est caractérisée par des manifestations cutanées (erythema chronicum migrans), articulaires (oligoarthrites touchant les grosses articulations), neurologiques (méningite lymphocytaire) et cardiaques (troubles de la conduction) évoluant par poussées successives. Le diagnostic biologique repose sur le sérodiagnostic et le traitement sur l'administration de tétracycline ou de β -lactamine (ceftriaxone pour les formes méningées).

11.3 Les leptospira

Le leptospira sont de fins spirochètes responsables de la leptospirose ictéro-hémorragique (Maladie à déclaration obligatoire n° 18). Les réservoirs de germes sont les rongeurs (rat, souris), mais aussi les chiens, les porcs et les bovidés qui éliminent le germe dans leurs urines. La contamination humaine se fait par absorption d'eau ou d'aliments contaminés, ou par voie muqueuse ou cutanée (maladie des égoutiers). La maladie se traduit par une hépato-néphrite avec atteinte méningée. Son diagnostic biologique est surtout sérologique (sérodiagnostic de Martin et Petit). Son traitement curatif repose sur l'administration de pénicilline.

Chapitre 12

Mycobactéries

Les bactéries du genre *Mycobacterium* sont des bacilles qui ne se colorent pas facilement mais qui, une fois colorés, résistent à la décoloration par l'acide et l'alcool et sont de ce fait dits « acido-alcool-résistants ». Le genre comprend de nombreuses espèces saprophytes ou commensales et des espèces pathogènes dont les deux principales sont : *Mycobacterium tuberculosis*, agent de la tuberculose, et *Mycobacterium leprae*, agent de la lèpre.

12.1 *Mycobacterium tuberculosis*

12.1.1 Historique

Au début du XIX^e siècle, LAENNEC individualise la tuberculose. En 1865, VILLEMIN montre qu'il s'agit d'une maladie inoculable à l'animal et transmissible d'un animal à l'autre. Robert KOCH découvre et cultive en 1882 le bacille responsable. Entre 1908 à 1920, CALMETTE et GUERIN préparent le B.C.G., la première vaccination ayant lieu en 1921. WAKSMAN découvre en 1944 la streptomycine, premier antibiotique actif sur *M.tuberculosis*. En 1952 arrive l'isoniazide et, en 1967, la rifampicine. Malgré ces découvertes, la tuberculose est encore un des plus grands fléaux de l'humanité qui entraîne en l'an 2000 près de 10 millions de nouveaux cas et plus de trois millions de morts chaque année dans le monde. L'épidémiologie et la gravité de la maladie sont aggravées par l'épidémie de SIDA.

12.1.2 Habitat

M.tuberculosis est un parasite strict de l'espèce humaine. La transmission interhumaine est habituellement directe et se fait par voie aérienne. Les animaux familiers de l'homme peuvent occasionnellement être contaminés.

12.1.3 Pouvoir pathogène

12.1.3.1 Physiopathologie

Emis par une source d'infection, le plus souvent un tuberculeux pulmonaire, dans les gouttelettes de FLUGGE, *M.tuberculosis* est inhalé et atteint l'alvéole pulmonaire. La maladie résulte de la multiplication du bacille et de ses interactions avec l'hôte infecté (immunité à médiation cellulaire, activation des lymphocytes T et des macrophages). *M.tuberculosis* ne produit pas de toxine.

12.1.3.2 Clinique

La pénétration du bacille dans l'organisme ne conduit à la maladie que dans 10 % des cas en moyenne. Dans 90 % des cas, la multiplication des bacilles s'arrête rapidement. C'est la primo-infection simple qui se traduit par le développement de l'hypersensibilité tuberculinique et de l'immunité de surinfection. Le sujet n'est pas malade, il est simplement infecté.

La maladie tuberculeuse est habituellement provoquée par la multiplication des bacilles de la primo-infection soit immédiatement soit après un temps de latence, les bacilles ayant survécu dans les lésions primaires (réinfection endogène). Plus rarement, elle l'est par de nouveaux bacilles inhalés d'une nouvelle source de contamination (réinfection exogène).

Deux types de localisation peuvent s'observer. Les localisations pulmonaires sont les plus fréquentes (90 % des cas environ) et les plus dangereuses épidémiologiquement car ce sont elles (notamment les cavernes) qui permettent la transmission du bacille. Les localisations extra-pulmonaires sont généralement pauvres en bacilles mais invalidantes (ostéo-arthrite) ou gravissimes (méningite).

Le substratum anatomique des lésions est le même ; c'est le granulome et surtout la caséification. Chez les sujets infectés par le virus du SIDA (VIH), l'infection par le BK mène très fréquemment à la tuberculose qui est souvent généralisée et se traduit dans près de 50 % des cas par des localisations multiples, pulmonaires et extrapulmonaires.

12.1.4 Etude bactériologique

12.1.4.1 Microscope

M.tuberculosis est un bacille immobile sans capsule et sans spore. Après coloration de ZIEHL-NEELSEN (fuchsine phéniquée à chaud, décoloration par acide-alcool, recoloration par le bleu de méthylène), il apparaît comme un bacille rouge de 0,2 à 0,3 micron de large sur 3 à 5 microns de long, légèrement incurvé, à extrémités arrondies.

12.1.4.2 Culture

M.tuberculosis ne pousse pas sur les milieux usuels. Il nécessite des milieux très enrichis. Le plus

employé est un milieu à l'œuf, le milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN. Sur ce milieu il donne des colonies de teinte crème-beige, sèches, à surface rugueuse, en chou-fleur, tout à fait caractéristiques. Fait important, les colonies n'apparaissent qu'en 21 jours en moyenne (temps de division de *M.tuberculosis* = 20 heures).

12.1.4.3 Caractères biochimiques

M.tuberculosis est aérobic strict. Il est catalase positive, nitrate positif. Au cours de sa croissance il synthétise une quantité importante d'acide nicotinique ou niacine qui peut être mise en évidence par une épreuve biochimique, le test de KONNO ou *niacine-test*. La positivité de cette épreuve est spécifique de *M.tuberculosis*.

12.1.4.4 Constitution chimique et antigénique

M.tuberculosis est très riche en lipides. Ceux-ci représentent 20 à 45 % de l'ensemble de la bactérie. Surtout concentrés dans la paroi qu'ils rendent peu perméable aux substances hydrophiles, ce sont des acides gras complexes. Parmi ceux-ci les acides mycoliques jouent un rôle important dans l'acido-alcool-résistance et dans la structure très particulière de la paroi des mycobactéries, caractérisée par trois couches successives de constituants liés par des liaisons covalentes : le peptidoglycane, l'arabinogalactane et les acides mycoliques.

Les constituants protéiniques sont les éléments importants de l'activité de la tuberculine qui est un mélange complexe. Les techniques de génie génétique ont permis d'obtenir plusieurs protéines purifiées à partir de la paroi.

Les constituants de *M.tuberculosis* provoquent la formation de nombreux anticorps qui n'ont pas de rôle protecteur et sont de médiocres outils diagnostiques de la tuberculose.. Dans la tuberculose, l'immunité est à médiation cellulaire et non humorale.

12.1.4.5 Génétique

Jusqu'à présent aucun plasmide n'a été mis en évidence chez *M.tuberculosis* et la résistance aux antibiotiques antituberculeux est le résultat de la sélection de mutants résistants. Le support génétique de la résistance a été récemment identifié pour la plupart des antituberculeux et ouvre des perspectives prometteuses pour un diagnostic rapide de la résistance.

Des séquences d'ADN spécifiques et répétées en plusieurs endroits du chromosome (IS6110...) ont été isolées. Leur hybridation avec des sondes d'ADN permet de caractériser les souches isolées et fournit ainsi un outil précieux à l'étude épidémiologique de la tuberculose (empreinte digitale génomique).

12.1.4.6 Résistance aux agents physiques et chimiques

M.tuberculosis est très sensible à la chaleur, aux rayons ultra-violet et aux rayons X. En revanche, il résiste au froid et à la dessiccation. La lyophilisation est d'ailleurs un excellent moyen de conservation.

Détruit par l'alcool en 5 minutes, *M.tuberculosis* résiste plus que les autres bactéries aux acides dilués, aux antiseptiques et aux détergents.

12.1.5 Pouvoir pathogène expérimental. Le phénomène de Koch

1. *M.tuberculosis* est pathogène pour de nombreux animaux de laboratoire mais il n'est pas pathogène pour les bovidés. L'animal le plus sensible est le cobaye. Quelle que soit la voie d'inoculation et le nombre de bacilles inoculés, il fait une tuberculose progressivement mortelle : 15 jours à 3 semaines après l'inoculation d'un million de bacilles, un nodule se forme au point d'inoculation. Ce nodule s'ulcère et laisse sourdre un pus blanchâtre, homogène, que l'on appelle caseum, caractéristique des nécroses caséuses. L'ulcération va persister jusqu'à la mort de l'animal. Celle-ci survient par essaimage lymphatique des bacilles et atteinte des principaux viscères (rate, foie, poumons).
2. En 1890, Robert KOCH constate que la réinoculation de bacilles à un cobaye déjà inoculé n'est pas suivie des mêmes lésions que la primo-inoculation. C'est le phénomène de KOCH qui se traduit de la manière suivante : d'abord une ulcération nécrotique se forme en 2 à 3 jours au point d'inoculation alors qu'elle se forme en 3 à 4 semaines après la primo-inoculation ; ensuite, l'ulcération nécrotique guérit spontanément alors que l'ulcération de la primo-inoculation persiste jusqu'à la mort de l'animal.

Du phénomène de KOCH on peut tirer les déductions suivantes :

- Parce qu'il réagit plus vite à la réinoculation qu'à la primo-inoculation, le cobaye déjà inoculé est hypersensible aux constituants du bacille de KOCH : c'est l'*hypersensibilité* ou l'allergie tuberculeuse qui signe la primo-infection. Pour mettre en évidence l'état d'hypersensibilité il n'est pas nécessaire d'injecter des bacilles entiers vivants ou morts. Il suffit d'injecter un extrait protéinique de bacille, la *tuberculine*. Chez l'homme, l'hypersensibilité à la tuberculine se recherche par intradermoréaction de Mantoux, seule méthode satisfaisante, ou par cuti-réaction, timbre et bague tuberculinique.
- Parce que la lésion de réinoculation guérit spontanément alors que la lésion de primo-infection persiste jusqu'à la mort, le cobaye déjà inoculé a une *immunité de surinfection*. On peut reproduire artificiellement l'état d'immunité de surinfection en inoculant au cobaye et à l'homme une mycobactérie vivante et atténuée, le *B.C.G.*

12.1.6 Diagnostic bactériologique

12.1.6.1 Diagnostic direct

Le diagnostic de certitude de la tuberculose repose sur la mise en évidence de *Mycobacterium tuberculosis* dans les prélèvements pathologiques : crachats et tubages gastriques pour la tuberculose pulmonaire ; urines, liquides de ponction des séreuses, etc... pour les autres localisations tuberculeuses.

L'examen microscopique des frottis colorés par la méthode de ZIEHL-NEELSEN permet de mettre en évidence des bacilles acido-alcool-résistants (b.a.a.r.). Lorsqu'il est positif il permet un diagnostic de forte *présomption* de tuberculose.

- La culture permet l'identification biochimique et l'antibiogramme des bacilles isolés. Elle seule permet le diagnostic de *certitude* de la tuberculose. Etant donné la lenteur de multiplication du bacille de la tuberculose et la pousse rapide des autres germes sur le milieu de LOEWENSTEIN-JENSEN, les produits pathologiques contenant une flore associée doivent être décontaminés avant d'être ensemencés. La décontamination se fait par des antiseptiques (soude ou acide) auxquels le bacille de la tuberculose est moins sensible que les autres germes.
- Une sonde à ADN correspondant à une séquence ribonucléotidique spécifique (ARN ribosomal) du complexe tuberculosis est aujourd'hui disponible. Elle permet d'identifier en quelques heures les bacilles de la tuberculose isolés en culture.
- L'amplification génique (« PCR ») qui devait théoriquement permettre de détecter dans un produit pathologique quelques bacilles en quelques heures seulement est pour l'instant plutôt décevante.

12.1.6.2 Diagnostic indirect

- L'intradermoréaction à 10 unités de tuberculine injectées par voie intradermique sous le volume de 0,1 ml, lue à la 72^e heure, permet uniquement de savoir si le sujet a ou non déjà été infecté soit d'une manière spontanée (primo-infection par *M.tuberculosis*), soit d'une manière artificielle (vaccination par le B.C.G.).
- Il n'y a pas actuellement de sérodiagnostic fiable de la tuberculose.

12.1.7 Traitement

12.1.7.1 Traitement curatif

Le traitement curatif de la tuberculose repose presque uniquement sur l'administration quotidienne pendant 6 mois d'une association antibiotique (2 mois d'isoniazide + rifampicine + pyrazinamide et éthambutol suivi de 4 mois d'isoniazide + rifampicine). L'association d'antibiotiques est indispensable pour éviter la sélection de mutants résistants (cf chapitre « Génétique bactérienne » page 19) et la prolongation du traitement pendant 6 mois pour éviter les rechutes.

12.1.7.2 Traitement préventif

Le traitement préventif repose (1) sur la vaccination B.C.G. (souche de *M.bovis* ayant perdu sa virulence par repiquages successifs) qui donne 80 % de protection et (2) sur la chimioprophylaxie par l'isoniazide de certains groupes de sujets infectés (nourrissons, adolescents, immuno-déprimés).

12.2 *Mycobacterium bovis*

Agent de la tuberculose bovine, *M.bovis* est aussi pathogène pour l'homme que *M.tuberculosis*. La contamination se fait par voie aérienne au contact des animaux malades ou par absorption de lait de vache contaminé. Agent rare en France, il est plus fréquent dans les pays où la surveillance du bétail est insuffisante (Maghreb...).

M.bovis se distingue aisément de *M.tuberculosis* par ses caractères cultureux (colonies minuscules, blanches, à surface lisse, qui apparaissent en plus d'un mois à l'isolement) et ses caractères biochimiques (micro-aérophile, niacine négative, nitrate négatif).

Le diagnostic et le traitement des infections à *M.bovis* sont similaires à ceux des infections à *M.tuberculosis*.

La prévention contre l'infection par *M.bovis* repose sur la pasteurisation obligatoire du lait et l'abattage obligatoire des bovidés réagissant positivement à la tuberculine.

12.3 *Mycobacterium africanum*

En Afrique de l'Ouest et en Afrique Centrale, on trouve dans une proportion importante de cas (20 à 50 %) une variété de bacilles de la tuberculose dont les caractères cultureux et biochimiques sont intermédiaires entre ceux de *M.tuberculosis* et ceux de *M.bovis*. Cette variété d'intérêt épidémiologique a été dénommée *M.africanum*.

12.4 Mycobactéries atypiques

Il existe dans la nature de nombreuses mycobactéries autres que celles de la tuberculose humaine ou bovine et dont les caractères cultureux et biochimiques sont tout à fait particuliers. Ces mycobactéries ont été appelées *mycobactéries atypiques*.

Certaines sont parasites des animaux (*M.avium*, *M.marinum*...), d'autres sont saprophytes (*M.gordonae*, *M.chelonae*, *M.flavescens*...). Elles sont habituellement isolées en tant que contaminant des cultures mais, à des degrés divers, toutes sont susceptibles de se multiplier chez l'homme et de provoquer des maladies simulant la tuberculose que l'on appelle *mycobactérioses*. Celles-ci apparaissent essentiellement chez les sujets présentant un déficit immunitaire local (lésions cavitaires pulmonaires résiduelles) ou général de nature thérapeutique (greffés) ou pathologique (cancer, SIDA). Leur diagnostic est purement bactériologique. *M.avium* est la mycobactérie atypique la plus souvent isolée chez les malades atteints de Sida chez lesquels elle est à l'origine d'infections généralisées septicémiques. L'hémoculture est alors le meilleur moyen de faire le diagnostic. Le traitement des mycobactérioses est très difficile en raison de l'habituelle résistance naturelle des mycobactéries atypiques aux antibiotiques antituberculeux. La clarithromycine, un nouveau macrolide proche de l'érythromycine, est cependant actif sur *M.avium*.

12.5 Mycobactérium leprae

Considérée souvent comme une maladie du Moyen-Age qui aurait maintenant disparu, la lèpre est une maladie d'actualité dans les pays en développement avec 600 000 à 800 000 nouveaux-cas chaque année.

L'agent responsable de la lèpre, *M.leprae*, est une mycobactérie non cultivable sur les milieux de culture artificiels mais seulement in vivo dans le coussinet plantaire de la souris. Le diagnostic de la lèpre est clinique et le rôle du laboratoire est de mettre en évidence le bacille après l'examen microscopique des prélèvements cutanés, de la cultiver et de mesurer sa sensibilité aux antibiotiques chez la souris.

Il n'y a pas de sérodiagnostic fiable de la lèpre.

Chapitre 13

Les rickettsia et bactéries voisines

13.1 Définition

Les rickettsia sont un ensemble de bactéries de petite taille, non cultivables sur milieux inertes, responsables des rickettsioses qui se traduisent par un syndrome infectieux évoquant la typhoïde (tuphos = typhus ; typhoïde) s'accompagnant d'un *exanthème*, sont transmises par un insecte vecteur, et ont comme réservoirs des rongeurs sauvages.

13.2 Historique

- 1900, transmissibilité du typhus d'homme à homme.
- 1909, NICOLLE transmission du typhus par le pou.
- 1910, RICKETTS aux USA découvre les rickettsies dans le sang d'un malade atteint de fièvre pourprée.
- 1913, VON PROWAZEK découvre les rickettsies dans les poux.

13.3 Bactériologie

13.3.1 Les rickettsia : classification

Tableau 3 Les principales rickettsies

Maladies	Espèces	Vecteur	Hôte naturel	Lieu
I. Groupe des typhus				
Typhus épidémique	R. prowazeki	pou	homme	Afrique Asie Amérique
Typhus murin	R. typhi	puce	rat	Afrique du Nord
II. Groupe des fièvres pourprées				
Fièvre boutonneuse	R. conori	tique	chien	Côte méditerranéenne
Fièvre pourprée des montagnes rocheuses	R. rickettsi	tique	rongeurs	U.S.A
Fièvre varicelliforme (très bénigne)	R. akari	acarien	souris	Villes USA-URSS
III. Groupe des typhus : tropicaux (Scrub typhus)				
Typhus oriental (tsutsugamushi)	R. rochalimae			Extrême Orient
	R. orientalis	aoûtats	rongeurs	
IV. Groupe des Fièvres : des tranchées (ou fièvre des 5 jours)				
	Bartonella ex. Rochalimaea quintana	pou	pou	Guerre de 1914-1918
V. Fièvre Q (Query-Fever)				
	Cox. burneti Coxiella	aérosol	bétail	Monde Entier
VI. Infections à Ehrlichia				
	E. sennetsu E. canis	tique	rongeurs	Japon Malaisie Etats-Unis

- Plusieurs espèces voisines bien qu'antigéniquement différentes.
R. prowazeki = typhus épidémique
R. typhi = typhus murin
R. conori, R. rickettsi, R. akari = groupe des fièvres pourprées.
R. orientalis = typhus oriental (ou Scrub typhus)
- Bartonella (Rochalimaea) *quintana* = Fièvre des tranchées ou Fièvre des cinq jours.
- Coxiella burneti = Fièvre Q (Query Fever).

A côté des Rickettsia, il y a un autre groupe de bactéries à multiplication intraleucocytaire qui infectent l'homme et les animaux domestiques et sauvages. Ces bactéries appartiennent au genre EHRLICHIA au sein de la famille des Rickettsiaceae. *E. Sennetsu* (Japon 1954) et *E. canis* (Etats-

Unis 1987) sont pathogènes pour l'homme.

13.3.2 Les caractères généraux des rickettsies

13.3.2.1 Ce sont des bactéries

En effet :

division par scissiparité, paroi qui contient de l'acide muramique, DNA et RNA, sensibilité aux antibiotiques.

Cependant, ces bactéries sont incapables de se multiplier en dehors des cellules vivantes, comme les virus.

13.3.2.2 Morphologie

- On peut observer la morphologie des rickettsies dans les cellules des animaux infectés (rongeurs), dans les cellules du sac vitellin des œufs infectés, dans les cellules intestinales des arthropodes vecteurs (poux).
- Coloration : bactéries à Gram négatif, mais coloration non utilisée. Les colorations usuelles sont la coloration de Giemsa et surtout celle de Macchiavello et Stamp (coloration par la fuchsine 5 mn, décoloration par l'acide citrique à 0,5 % quelques secondes, recoloration par le bleu de méthylène 30 secondes).
- Forme : bacilles de 0,5 μ de long, parfois des formes enrubannées, sphériques. (grand polymorphisme).
- Microscopie électronique : pas de flagelle, ni de capsule ni de spore.

13.3.2.3 Constitution chimique

Pas de particularité notable.

13.3.2.4 Vitalité, résistance

Sensibilité à chaleur - antiseptiques.

Résistance à congélation et *dessication* (crottes de poux desséchées, poussière).

13.3.2.5 Structure antigénique

- *Antigène thermostable*, somatique, spécifique → anticorps qui sont :
 - séro neutralisants
 - agglutinant
 - fixant le complément +++

— immunofluorescents+++

- *Antigène thermosensible*, peu spécifique.

13.3.2.6 Culture

Sur animal : endothelium pulmonaire des petits rongeurs et du lapin par inondation de l'arbre respiratoire sous anesthésie. En 4-5 jours, pneumonie rickettsienne.

in ovo : embryon de poulet de 6 à 8 jours, à 36°C : multiplication dans la paroi du sac vitellin avec récolte au 3^e jour.

Sur cultures cellulaires.

Dans tous les cas, contrairement aux virus, la cellule ne participe pas directement à la biosynthèse des rickettsies mais fournit les éléments indispensables, de nature pour l'instant inconnue.

13.4 Pouvoir pathogène chez l'homme

13.4.1 Bases du pouvoir pathogène

- Toxine(s) rickettsienne(s) : par injection intraveineuse, toxicité par atteinte de l'endothelium des capillaires. Par voie intradermique, elles sont dermo-nécrotiques.
- Virulence : les rickettsies *se multiplient dans les cellules endothéliales des capillaires et des artérioles* et entraînent des périartériolites qui constituent les nodules de FRAENKEL (polynucléaires, macrophages, lymphocytes) caractéristiques des typhus. Les périartériolites sont généralisées mais prédominent dans le derme et le cerveau.
Les lésions capillaires expliquent le *purpura* ; les périvasculaires expliquent les atteintes viscérales, nerveuses en particulier.

13.4.2 Les différentes rickettsioses humaines

13.4.2.1 Groupe du typhus épidémique

Typhus historique.

Réservoir : l'homme ; *agent vecteur* : le pou du corps par ses déjections et non par sa piqûre (inoculation par les lésions de grattage).

Aux Etats-Unis une petite épidémie de typhus à *R.prowazeki* en rapport avec des écureuils « volants » a été rapportée. L'homme pourrait donc ne pas être le réservoir *unique* de *R.prowazeki*.

Clinique

incubation : 15 jours, début brutal, pseudogrippal, fièvre à 40°C, typhus *sans dissociation du pouls et de la température*.

Au 5e jour = éruption : exanthème maculeux rosé du tronc et des membres mais respectant le visage, la paume des mains et la plante des pieds ; énanthème pharyngé.

Biologie : déshydratation, hyperurémie, protéinurie, discrète leucopénie. Parfois discrète réaction méningée de type lymphocytaire.

Mortalité 30 %.

Complications cardio-vasculaires (myocardites), nerveuses (encéphalites), rénales, pulmonaires, etc.

Typhus murin.

Agent vecteur : puce du rat (piqûre). *Réservoir* : rongeurs sauvages (rats, mulots, etc...). Etat endémique en Afrique du Nord et dans de nombreux autres Pays du Monde.

Tableau plus bénin : incubation plus courte 8-12 jours.

éruption peut atteindre plante et paumes.

évolution habituellement favorable.

13.4.2.2 Groupe des fièvres pourprées

Fièvre boutonneuse méditerranéenne.

Agent vecteur et réservoir = tique du chien. *Réservoir* : chien

Maladie fréquente (≈ 50 cas/100.000 habitants chaque année) au pourtour du bassin méditerranéen, saisonnière (estivale : 90 % des cas entre Juillet et Septembre), à connaître.

Incubation : 4-15 ours (moyenne 6 jours).

Début brutal : fièvre à 40°C sans dissociation du pouls et de la température (? typhoïde), manifestations douloureuses (céphalées, myalgies).

Eruption au 4e jour évoluant par vagues successives atteignant le tronc, la face, les membres, la paume des mains et la plante des pieds : macules rosées non confluentes, qui deviennent des papules brunes et cuivrées avant de disparaître.

L'escarre d'inoculation (au début de la maladie), typique, est une petite *tache noire* (croûte) recouvrant une petite ulcération indolore entourée d'une auréole rouge avec parfois adénopathie satellite : « *le bouton* ».

Sans traitement, guérison en 12 jours avec asthénie.

Diagnostic : sérologique.

Fièvre pourprée des montagnes rocheuses (Etats-Unis seulement).

Agent vecteur = tique (*réservoir* = rongeurs sauvages)

Incubation : 3-12 jours.

Début brutal : syndrome grippal sévère avec fièvre en plateau, déshydratation, signes neurologiques. L'exanthème apparaît au 4^e jour et est constitué de taches rosées qui apparaissent aux extrémités et sur le tronc : extensif, maculo-papuleux, purpurique (placard ecchymotique). L'escarre d'inoculation est inconstante.

Pronostic sévère (50 % de mortalité).

Fièvre vésiculeuse ou varicelliforme (R.akari)

Se caractérise par son vecteur (acarien), par son éruption vésiculeuse, la présence constante de l'escarre d'inoculation et son évolution favorable. Sévit dans les villes USA-URSS

13.4.2.3 Groupe des typhus tropicaux

Le groupe des typhus tropicaux est représenté par la *fièvre fluviale du Japon* et le *typhus des broussailles*.

Agent vecteur : larve hexapode de moustiques.

Réservoirs : rongeurs sauvages.

Le tableau infectieux associe une fièvre oscillant entre 38 et 40°C, des troubles cardiaques (myocardite) et des signes pulmonaires.

Exanthème ± généralisé, maculeux, escarre noirâtre, maladie *grave*.

13.4.2.4 Autres infections proches des rickettsioses

Fièvre des 5 jours ou fièvre des tranchées (Fièvre de Volkynee)

Individualisée durant la première guerre mondiale, la fièvre des tranchées a touché près d'un million de soldats. Elle s'est aussi manifestée sur une moindre échelle durant la deuxième guerre mondiale. Transmise par les déjections du pou du corps, elle se caractérise par un début brutal avec fièvre, malaise, céphalées, douleurs osseuses et fréquemment un rash maculaire transitoire. Parfois épisode fébrile unique, parfois fièvre en plateau pendant 5-7 jours, parfois fièvre récurrente tous les 5 jours (Quintana).

La période d'incubation irait de 5 à 20 jours et serait fonction de la taille de l'inoculum.

Récemment, aussi bien en France qu'aux Etats-Unis, des cas de fièvre des tranchées viennent d'être décrits, notamment chez des sujets HIV positifs et d'autres sujets immunodéprimés, alcooliques, sans-abris. L'agent responsable, *Bartonella quintana*, a été isolé par hémoculture et identifié par biologie moléculaire (séquençage du gène de l'ARN 16S). Il a provoqué des endocardites chez un certain pourcentage de malades.

Fièvre Q ou Query Fever

L'agent responsable est *Coxiella burneti*. L'infection est principalement bronchopulmonaire, *sans éruption*. Infection fréquente, répandue dans tous les pays.

Transmission facultative par arthropode, la contamination se faisant principalement par voie respiratoire à partir d'un réservoir animal (bovidés, moutons) : *population rurale exposée*.

Incubation (10 jours), pneumopathie atypique avec troubles respiratoires, fièvre, arthralgies, céphalées, faisant penser à une virose.

Diagnostic sérologique.

13.4.2.5 Les infections humaines à Ehrlichia

La particularité des bactéries du genre Ehrlichia est de se multiplier dans les leucocytes. Celle du syndrome clinique qu'elles provoquent est de ne pas comporter d'éruption.

Infection à Ehrlichia sennetsu

Isolée pour la première fois au Japon en 1954, *E.sennetsu* provoque un syndrome infectieux simulant la mononucléose infectieuse. Depuis la maladie a été observée au Japon et en Malaisie.

Infection à Ehrlichia canis

Décrite pour la première fois aux Etats-Unis en 1987 (KOICHI MAEDA et al. Human Infection with Ehrlichia canis, a leucocytic rickettsia. N. Engl. J. Med. 1987 ; **316** : 853-856), chez un homme avec un syndrome infectieux grave simultant la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses mais *sans éruption*, *E.canis* avait été jusque là isolée uniquement des canidés. Chez le malade atteint, présence d'une à 4 inclusions intracytoplasmiques dans 1 à 2 % des lymphocytes, polynucléaires neutrophiles et monocytes. Les inclusions correspondent à l'examen au microscope électronique à environ 40 micro-organisms. La sérologie anti-rickettsienne est négative.

13.5 Diagnostic des rickettsioses

1. Données *cliniques* et surtout *épidémiologiques* (saison, séjour en zone d'endémie, chien, profession).
2. *Isolement* et identification du germe sont difficiles, ne se font pas en routine. Pourraient se faire avant l'éruption par l'inoculation du sang sur :
 - cultures cellulaires,
 - sac vitellin de l'œuf embryonné,
 - cobaye,
 - souris,
 - milieu de culture riche (*Bartonella quintana*).Possibilité de mise en évidence des rickettsies par immunofluorescence directe d'une biopsie cutanée ou chez un insecte vecteur.
3. *Anticorps* +++
 - apparaissent vers le 10^e jour,
 - antigènes spécifiques de chaque forme de typhus qui permettent par conséquent le séro-diagnostic des rickettsioses.

Méthodes :

- fixation du complément
- immunofluorescence-IgM plus précoce

A faire sur 2 sérums prélevés à 10 jours d'intervalle. Se méfier des sérologies positives sur un seul sérum en zone d'endémie, qui peuvent traduire une cicatrice sérologique.

13.6 Traitement des rickettsioses

- Préventif : chimioprophylaxie : doxycycline 100 mg/1 j sur 7, épouillage. Rôle favorisant de l'immunodépression, l'alcoolisme, l'exclusion sociale.
- Curatif : doxycycline 200 mg/jour jusqu'à deux jours après la guérison clinique (en moyenne

une semaine). Ce traitement s'applique aux infections à Rickettsia et Ehrlichia.

Chapitre 14

Les chlamydia

Les bactéries du genre chlamydia sont des bactéries de petite taille incapables de faire la synthèse de leurs propres constituants et, de ce fait, *parasites intracellulaires obligatoires*. Elles sont représentées par trois espèces principales : *C.trachomatis* qui est responsable du trachome épidémique, d'infections génitales et oculo-génitales, et de la maladie de Nicolas et Favre ou lymphogranulomatose vénérienne ; *C.psittaci*, agent de l'ornithose-psittacose, dont les réservoirs de germes sont les oiseaux (pigeon, perroquet, perruche) et certains mammifères (ovins, bovins, chat), qui est responsable d'infections respiratoires chez l'homme, et *C.pneumoniae*, dont le réservoir de germe est l'homme, qui est responsable d'infections respiratoires chez l'homme.

14.1 Caractères généraux des chlamydia

Petite bactérie arrondie de $0,3 \mu$ de diamètre, la forme virulente des chlamydia est le *corps élémentaire*. Celui-ci est adapté à la survie dans le milieu extérieur, sans possibilité de multiplication mais avec l'aptitude de pénétrer par phagocytose à l'intérieur de la cellule-hôte. Dans la vacuole de phagocytose, le corps élémentaire se transforme en 6 à 8 heures en *corps réticulé*, élément plus grand dont l'ADN est réticulé, qui est responsable de la multiplication des *Chlamydia*. En 18 à 24 h, le corps réticulé augmente de volume, se transforme en *inclusion intracytoplasmique* contenant de nombreux corps réticulés qui vont ensuite évoluer en corps élémentaires. La cellule-hôte va ensuite éclater et libérer les corps élémentaires qui, à leur tour, vont recommencer un nouveau cycle de multiplication intracellulaire.

Les *Chlamydia* possèdent des *antigènes de genre* communs à toutes les espèces, des *antigènes d'espèce* différents chez *C.trachomatis*, *C.psittaci* et *C.pneumoniae*, et des *antigènes de type* permettant de distinguer parmi l'espèce *C.trachomatis* les types A, B, C du trachome, D à K des infections génitales et le type L de la lymphogranulomatose vénérienne. L'étude des anticorps spécifiques est intéressant pour le diagnostic sérologique de l'infection par chlamydia, quoique la positivité du sérodiagnostic puisse traduire l'infection passée et non pas l'activité actuelle du processus infectieux.

14.2 Chlamydia trachomatis

Le réservoir de germe de *C.trachomatis* est l'homme. La transmission d'homme à homme est as-

surée par contact direct (sexuel, main, linge souillé) ou indirect (mouche • trachome).

14.2.1 Le trachome

Maladie endémique largement répandue dans les zones intertropicales, le trachome touche 500 millions de personnes. Dues aux sous-types A, B et C de *C. trachomatis* il se traduit par une kérato-conjonctivite franche avec altération conjonctivale (papilles rouges et *follicules translucides*, pathognomoniques) et cornéenne (pannus = néovascularisation) qui évolue vers la cécité par surinfection bactérienne, complications mécaniques et ulcération cornéenne.

14.2.2 Les infections génitales ou sexuellement transmissibles

D'incidence croissante, les infections génitales à *Chlamydia trachomatis* des sous-types D à K provoquent chez l'homme des urétrites mucopurulentes trainantes, et chez la femme, des cervicites souvent latentes pouvant se compliquer de salpingite et de stérilité. Le nouveau-né peut se contaminer au passage de la filière génitale et peut faire une conjonctivite généralement bénigne et plus tardivement une pneumonie interstitielle.

Le syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter (arthrite + conjonctivite + urétrite) pourrait être dû à *C. trachomatis*.

14.2.3 Lymphogranulomatose vénérienne ou maladie de Nicolas et Favre

Dûe aux sous-types sérologiques L, la maladie de Nicolas et Favre est une maladie sexuellement transmise. Après 3 à 30 jours d'incubation, un micro-chancres apparaît au point d'inoculation (gland, vagin, anus) qui s'accompagne quelques jours plus tard d'une polyadénopathie inguinale. Celle-ci va ensuite donner lieu à de multiples fistules en pomme d'arrosoir. Des localisations extragénitales peuvent survenir (neurologiques, articulaires, oculaires).

14.2.4 Diagnostic bactériologique

- a. Examen microscopique des cellules lésionnelles prélevées par grattage :
 - Coloration de Giemsa : inclusions. Méthode peu sensible pour les formes génitales.
 - Immunofluorescence avec anticorps monoclonaux : met en évidence les corps élémentaires. C'est une méthode sensible (90 % de positivité dans les cas à culture +) et spécifique mais sujette à des variations individuelles (difficulté habituelle de l'interprétation microscopique de la fluorescence !).
 - Hybridation avec des sondes spécifiques : méthode sensible, spécifique et robuste.

- b. Culture sensible et spécifique sur culture cellulaire (cellules McCoy ou Hela) dont la positivité est révélée par immunofluorescence.
- c. Sérologie : micro-immunofluorescente (titre significatif > 64) intéressante pour le diagnostic de la maladie de Nicolas et Favre.

14.2.5 Traitement

Préventif : hygiène +++ pour le trachome

Ciuratif : antibiotiques : cyclines, macrolides, fluoroquinolones.

14.3 Chlamydia psittaci

14.3.1 Le réservoir de germes

Oiseaux (pigeon, perroquet, perruche) et mammifères. Distribution mondiale.

14.3.2 Le pouvoir pathogène

Après une période d'incubation de 1 à 2 semaines, les Chlamydia se multiplient dans le poumon et entraînent une pneumonie à la localisation radiologique *atypique*, fébrile qui peut se compliquer de myocardite, glomérulonéphrite et méningo-encéphalite.

14.3.3 Diagnostique bactériologique

Surtout indirect, par réaction de fixation du complément, spécifique de genre, ou par immunofluorescence, ou technique ELISA, spécifiques d'espèce (titre significatif > 64).

14.3.4 Traitement

Règlements d'hygiène publique (pigeons) et d'importation des oiseaux d'agrément.

Antibiotiques : cyclines et macrolides.

14.4 Chlamydia pneumoniae

14.4.1 Réservoir de germes

Homme avec transmission exclusivement interhumaine.

14.4.2 Pouvoir pathogène

Pneumonie atypique, bronchite, sinusite, pharyngite.
Rôle dans la genèse de l'athérosclérose en cours d'éclaircissement.

14.4.3 Diagnostic bactériologique

Direct : immunofluorescence directe sur frottis d'écouvillonnage pharyngé avec anticorps monoclonal. La culture est difficile

Indirect : par micro-immunofluorescence, les anticorps spécifiques apparaissent 3 semaines après la primo-infection (titre significatif > 512).

14.4.4 Traitement

Cyclines, macrolides.