

Les principaux groupes de germes en pathologie humaine
(Cocci à Gram Positif et à Gram négatif)

Plan

Cocci à Gram positif

A/ Les staphylocoques

- I. Introduction
- II. Habitat
- III. Transmission
- IV. Substance élaborées
- V. Pouvoir pathogène
 1. *S.aureus*
 2. Les staphylocoques à coagulase négative
- VI. Diagnostic bactériologique
 1. Prélèvement.
 2. Examen direct
 3. Culture:
 4. Identification:
- VII. Sensibilité aux antibiotiques
 1. Les β -lactamines
 3. Les autres antibiotiques
 2. Les glycopeptides

B/ Les streptocoques

- I. Introduction
- II. Classification et caractères d'identification des streptocoques
- III. Pouvoir pathogène
 1. Streptocoque β hémolytique du groupe A
 2. Streptocoque du groupe B
 3. Streptocoques non groupables
 4. Streptocoque du groupe D
 5. *S.Pneumoniae* (pneumocoque)
 6. entérocoques
- V. Sensibilité aux antibiotiques
 1. aminosides.
 2. β -lactamines.

Cocci à Gram négatif

A/*Neisseria meningitidis* ou Méningocoque

I.Habitat-épidémiologie

II. Physiopathologie :

B/*Neisseria gonorrhoeae* ou Gonocoque

I.Habitat-épidémiologie:

II. Pouvoir pathogène:

1. La blennorragie:

2. Complications et formes rares extra-génitales:

C. Diagnostic bactériologique

I. Prélèvement

1. *N.gonorrhoeae*:

2.*N.meningitidis*

II.Examen microscopique

III. Recherche d'antigènes solubles

IV.Culture

V. Identification

VII.Diagnostic moléculaire de *N.gonorrhoeae*

VI. Sérogroupage de *N.meningitidis*

D.Traitement

I-Traitement curatif:

1. *N.gonorrhoeae*:

2. Gonocoque

II.Traitement préventif

1. Méningocoque :

2. *N.meningitidis*

Cocci à Gram positif

A/Les staphylocoques

I. Introduction

Les staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. En 1883 Ogston a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées. Actuellement, on distingue plus de 44 espèces. L'espèce *Staphylococcus aureus* (plus communément appelé staphylocoque doré) se distingue généralement des autres staphylocoques appelés staphylocoques à coagulase négative (SCN) par la présence d'une coagulase.

II. Habitat

Les staphylocoques sont bactéries très résistantes retrouvées dans l'environnement. L'habitat préférentiel de *S.aureus* chez l'homme est la muqueuse nasale :

- 50% des individus hébergent une souche de *S.aureus* de façon transitoire
- 20% sont des non porteurs
- 30% hébergent *S.aureus* de façon permanente

A partir des sites de portage, *S. aureus* colonise les territoires cutanés en particulier, les zones humides (aisselles, périnée) et les mains.

Les SCN représentent les principaux commensaux de la peau avec les corynébactéries et les propionibactéries.

III. Transmission

- Directe (essentiellement)

Intra (auto-infestation) ou inter-humaine, elle s'opère généralement par contact direct (manuportage)

- indirect(+rare)

A partir d'une source environnementale: vêtements, draps, matériels médicaux, aliments.

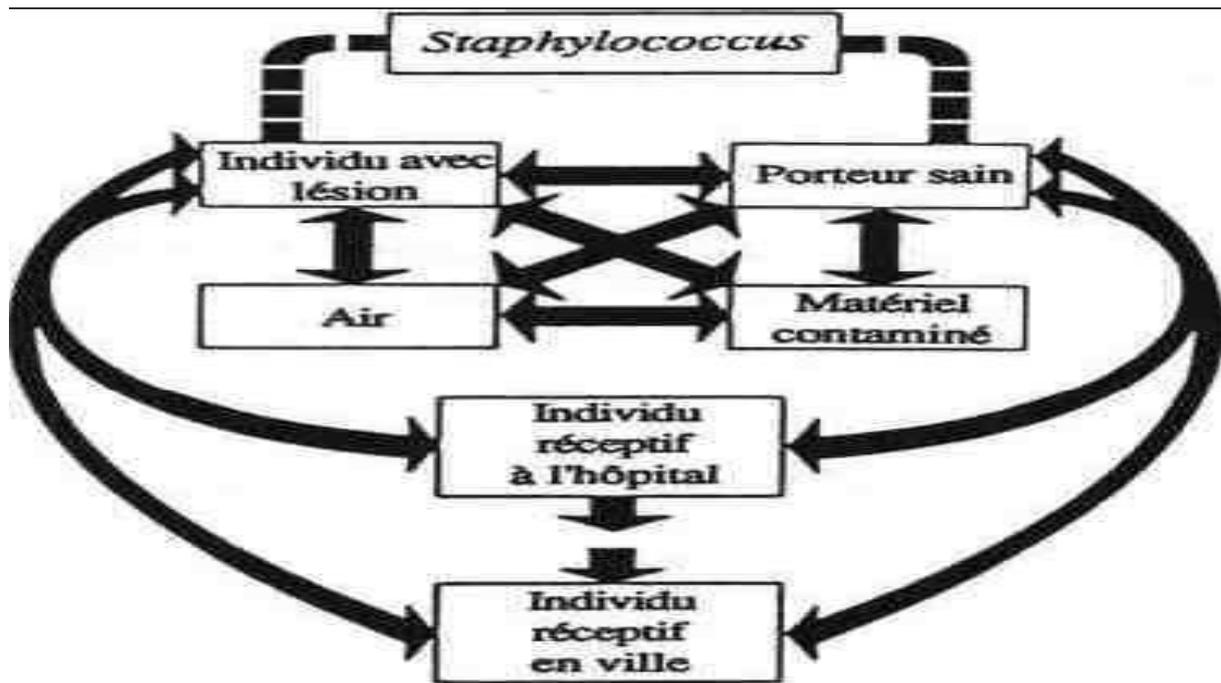


Figure1: voies de transmission des staphylocoques

IV. Substance élaborées

S.aureus produit de nombreuses substances (toxines, enzymes et protéines de surface) impliquées dans la virulence du germe.

- **Envahissement locale:** hyaluronidase, exfoliatines.
- **Nécrose cellulaire et extension locale:** protéases, estérases, lipases, Dnase, phosphatase, toxines $\alpha, \beta, \gamma, \delta$.
- **Diminution des défenses locales:** leucocidines, la capsule, Pr A **Foyer de thrombophlébite régionale:** la coagulase.
- **Embols septiques diffusion hématogène:** fibrinolysine

V. Pouvoir pathogène

1. *S.aureus*:

Est une bactérie avec un potentiel de pathogénicité très important, responsable d'une grande variété d'infections communautaires et nosocomiales (voir figure 2).

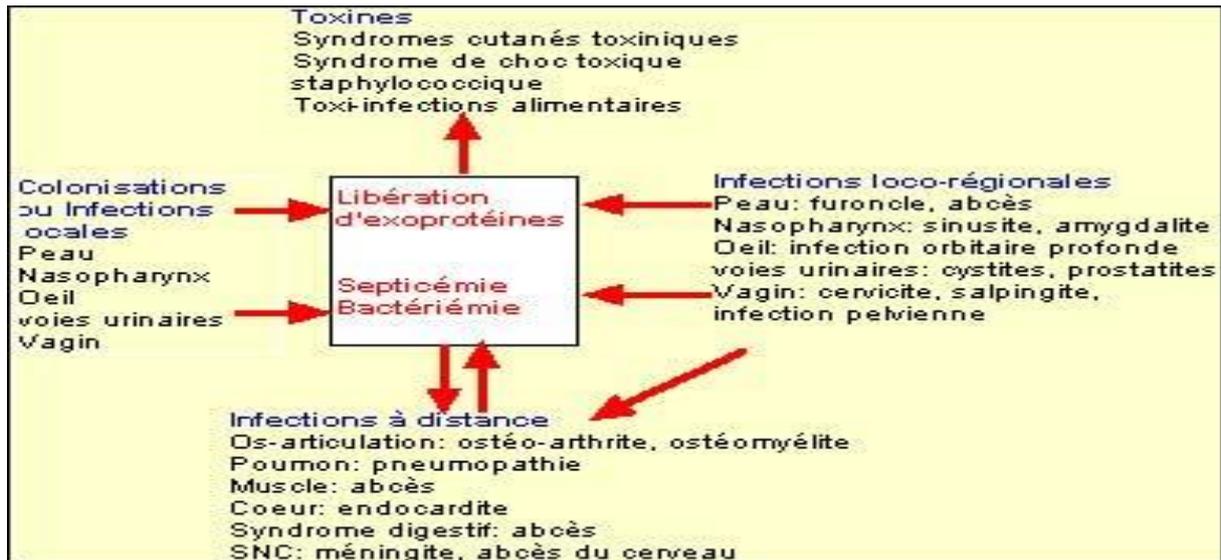


Figure 2: pouvoir pathogène de *S.aureus*

2. Les staphylocoques à coagulase négative (SNC) :

Ces espèces ont un pouvoir pathogène moindre mais peuvent être impliquées dans les infections nosocomiales ou êtres de simples contaminants.

VI. Diagnostic bactériologique

1. Prélèvement.

Le prélèvement doit être effectué avant toute antibiothérapie et avec asepsie rigoureuse, afin d'éviter la contamination du produit pathologique par les SCN souvent présents sur la peau .L échantillon pathologique doit être accompagné d'une fiche de renseignements.

2. Examen direct:

- **Coloration de Gram:** les staphylocoques sont des cocci à Gram positif disposés en amas ou grappes de raisin.

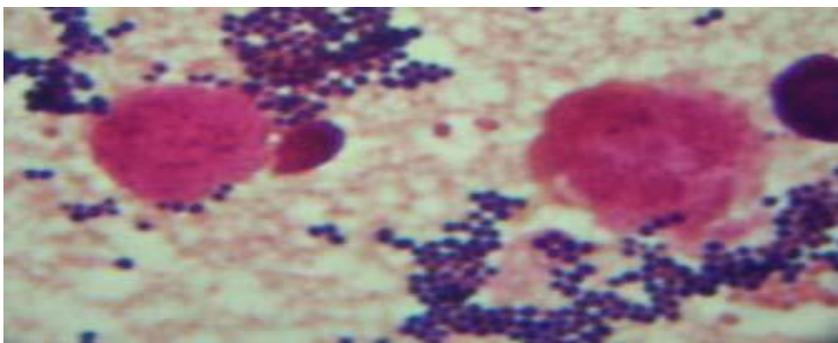


Figure3: coloration de Gram (*Staphylococcus aureus*)

- **Coloration au bleu de méthylène:** permet de voir les PN, l'association de cocci Gram positif et de polynucléaires dans un prélèvement évoque fortement une infection à staphylocoque.

3. Culture:

Germes peu exigeants, poussent en 18 à 24 H à 37 °C (culture possible entre 10 et 45°) poussent en présence de concentrations salines élevées (milieu sélectif de Chapman contenant 7,5% de NaCl) . Les colonies de *S.aureus* produisent un pigment jaune orangé.

4. Identification:

- **La catalase:** permet de différencier les staphylocoques (catalase +) des streptocoques (catalase-).
- **La coagulase:** principal test caractérisant *S.aureus*, test positif chez 99% de souches de *S.aureus* (aptitude des bactéries à coaguler le plasma).

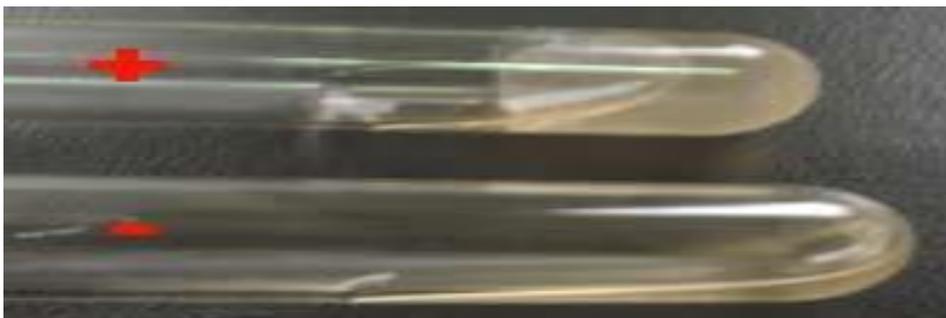


Figure 4: test de coagulase

- **Recherche de La protéine A:** détectable chez plus de 90% des souches de *S.aureus*. (fixe le fragment Fc des Ig de l'homme et du lapin).

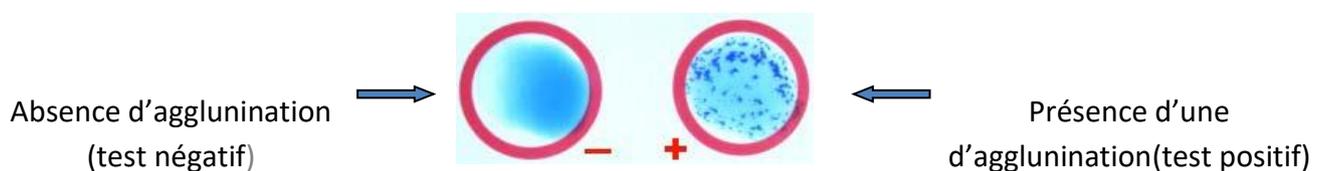


Figure5: test d'agglutination (mise en évidence de la protéine A de *S.aureus*)

- **Identification biochimique:**

Des galeries biochimiques ou des automates d'identification (tests d'acidification ou d'assimilation des sucres et des tests enzymatique)

- ✓ **api staph** :identification correcte dans 90%des cas ,20 tests biochimiques
- ✓ **ID (32) staph**: identifie 24 espèces de staphylocoque
- ✓ **Système Vitek2**:identifie un nombre plus important d'espèces
- ✓ **Système BD phoenix**: identifie un nombre plus important d'espèces

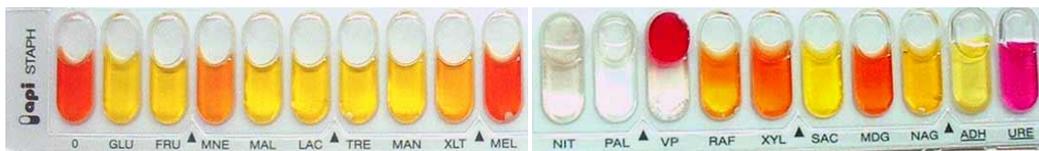


Figure 6: galerie biochimique

VII. Sensibilité aux antibiotiques

1. Les β -lactamines

a. Production de pénicillinase:

Plus de 90% des souches de *S.aureus* résistent à la pénicilline G par production d'une Pénicillinase.

- ✓ Hydrolyse: pénicilline G, Ampicille ,ticarcilline et pipéracille
- ✓ N'hydrolyse pas: l'oxacilline , les cephalosporines et l'imipénème
- ✓ Les souches restent sensibles aux inhibiteurs de pénicillinases (IBL) comme Amoxicilline+ac clavulanique, tazocilline et sulbactam.

b. Souches Borderline(BORSA) : hyper production de pénicillinase qui diminue l'activité de l'oxacilline(résistance de bas niveau à l'oxacilline).

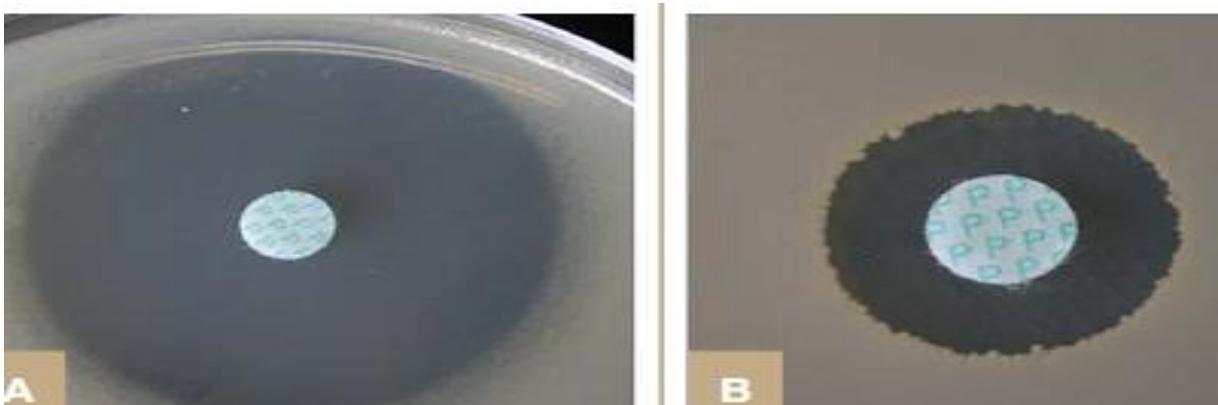


Figure7: souche de *S.aureus* non productrice de Pnase (A) , souche productrice de Pnase (B)

c. Modification de la cible:

c.1-acquisition d'une PLP additionnelle exogène de faible affinité pour les β -lactamines.

la PLP2a codée par le gène *mecA* est responsable de la résistance à toutes les β -lactamines.

Les souches sont dites MRSA ou SARM (20 à 40% des SARM sont hospitaliers).

Les SARM communautaires qui sécrètent la PLV sont le plus souvent responsables d'infections cutanées chez l'enfant.

c.2- modification des PLP endogènes: « MODSA »

Décrite chez les BORSA présentant CMI de l'oxacilline légèrement élevées, mais ne possédant pas le gène *mecA*: MODified S.A. La résistance est relative au type de PLP modifiée: PLP4++.

2. Les glycopeptides (Vancomycine et teicoplanine).

Antibiotique de dernier recours pour le traitement des infections à SARM. Mais des souches de sensibilité diminuée sont apparues en 1997: VISA et GISA.

Rare souches VRSA (franchement résistantes aux GP), ayant acquis l'opéron VanA.

3. Les autres antibiotiques.

Les SAMR sont généralement résistants aux antibiotiques (aminosides, macrolides, fluoroquinolones). Les taux de résistance aux antibiotiques sont plus élevés chez les SCN qui sont souvent responsables d'infections nosocomiales.

B/ Les streptocoques

I. Introduction:

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif disposés le plus souvent

En chainettes, à métabolisme fermentatif.



Figure 8: streptocoque en chainettes (coloration de Gram)

II. Classification et caractères d'identification des streptocoques:

- **Morphologie et le groupement des cocci**

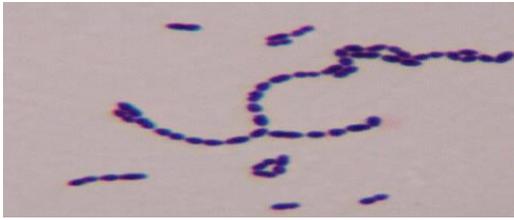


Figure 9: streptocoque en courtes et longues chainettes (coloration de Gram)

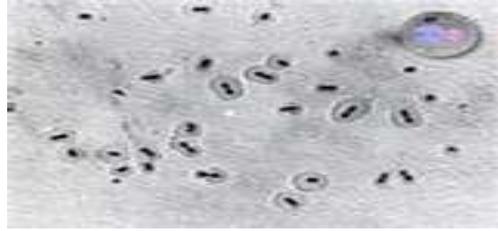


Figure 10: Pneumocoque en diplocoque capsulé (coloration à l'encre de chine)

- **type d'hémolyse** (β , α ou absence d'hémolyse)

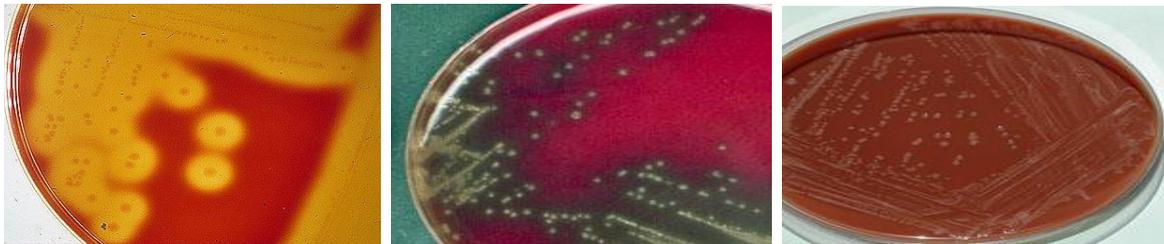


Figure 11: hémolyse β

hémolyse α

absence d' hémolyse

- **Caractères antigéniques** (Ag polysaccharidique spécifique de groupe).

Classification de Lancefield permet de distinguer 18 groupes de A à H et de K à V

Les streptocoques qui n'ont pas d'Ag de groupe sont appelés les streptocoques non groupables.

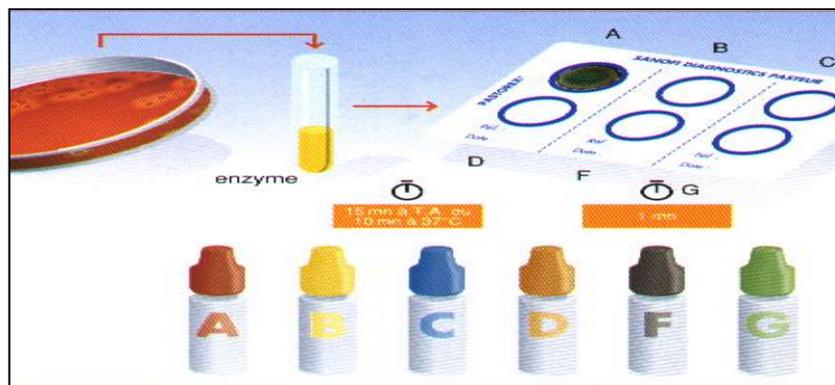


Figure 12: technique d'agglutination (sérogroupage des streptocoques)

- **Caractères biochimiques :**

Permettent de déterminer l'espèce et au sein des streptocoques groupables et non groupables



Figure13: Galerie d'identification des streptocoques

- **Techniques de biologie moléculaire:**

le GC%, des séquences nucleotidiques du gène de l'ARN ribosomique 16S, hybridation des acides nucleiques AND-AND ont permis de redéfinir le genre *streptococcus*, de créer de nouveaux genres et de différencier de nouvelles espèces. Plus de 160 espèces de streptocoques et de bactéries apparentés sont regroupées en plus de 20 genres différents.



Figure14: séquençage de l'ARN 16S

III. Pouvoir pathogène

1. Streptocoque β hémolytique du groupe A:

- **Infections suppuratives:** angines erythemateuses, otites, sinusites, cellulites, surinfections des plaies et des brûlures, fasciites nécrosantes, septicémies et syndrome du choc toxique.
- **Infections non suppuratives:** RAA et la GNA.

2. Streptocoque du groupe B:

- Infections néonatales graves (septicémies et méningites).
- chez l'adulte (en particulier ID) des ITU, Arthrites, pneumonie, et ostéomyélite.

3. Streptocoques non groupables:

- Sont responsables d'endocardites infectieuses(EI).

4. Streptocoque du groupe D:

- *S.Bovis* est responsable de septicémie et d'endocardite à point de départ des gastro-intestinales.

5. *S.Pneumoniae* (pneumocoque):

- Infection de la sphère ORL, la PFLA, d'arthrite et méningites.

6. Entérocoques :

- Bactéries peu virulentes responsables surtout d'infections nosocomiales (ITU, bactériémies, surinfections des plaies chirurgicales).

V. Sensibilité aux antibiotiques

1. aminosides.

Tous les streptocoques sont naturellement résistants aux aminosides. Cette résistance de bas niveau (RBN) est due à un défaut de pénétration de l'antibiotique. La résistance de haut niveau (RHN) est la conséquence d'une modification de l'antibiotique par des enzymes. Lors d'Infections graves comme par exemple les endocardites infectieuses, si la souche isolée est résistante de bas niveau aux aminosides ; l'association d'une β -lactamines et d'un aminoside est synergique par contre cette association n'est plus synergique si la souche montre un haut niveau de résistance aux aminosides.

RQ : Cette résistance est recherchée grâce à des disques fortement chargés.

2. β -lactamines.

- **Le Streptocoque β hémolytique du groupe A :**

Présente une constante sensibilité à la peni G qui représente le Traitement de référence selon OMS

- **Les autres streptocoques :**

La majorité sont sensibles à la pénicilline G cependant certaines espèces de streptocoques non groupables (oraux) sont de sensibilité diminuée ou franchement résistantes d'où la nécessité de contrôler la sensibilité de la souche par l'étude des CMI surtout en cas d'endocardites.

- ***S.pneumoniae*** :

Les pneumocoques ont développé une résistance aux **β -lactamines**. par synthèse de nouvelles PLP dont l'affinité est diminuée pour ces molécules. Les PLP modifiées ont acquis des segments d'ADN de streptocoques oraux résistants à la pénicilline par transformation. Cette résistance est croisée entre les β -lactamines à des degrés variables. Si la souche est isolée au cours d'une méningite, il faut faire la CMI plusieurs β -lactamines (pénicilline, amoxicilline, cefotaxime, imipénème).

Tableau 1: valeurs critiques des CMI ($\mu\text{g/ml}$) de *S.pneumoniae* selon le CLSI.

Interprétation ATB	S	I	R	ATCC 49619
Péni parentérale ($\mu\text{g/ml}$) -Méningite -Autres que méningite	$\leq 0,06$ ≤ 2	- 4	$\geq 0,12$ ≥ 8	0.25-1
Péni orale (péni V) ($\mu\text{g/ml}$)	$\leq 0,06$	0,12 - 1	≥ 2	0.25-1
AMX LCR excépté	≤ 2	4	≥ 8	0.03-0.12
CTX/CRO Méningite autres	$\leq 0,5$ ≤ 1	1 2	≥ 2 ≥ 4	0.03-0.12
IPM	≤ 0.12	0.25-0.5	≥ 1	0.03-0.12

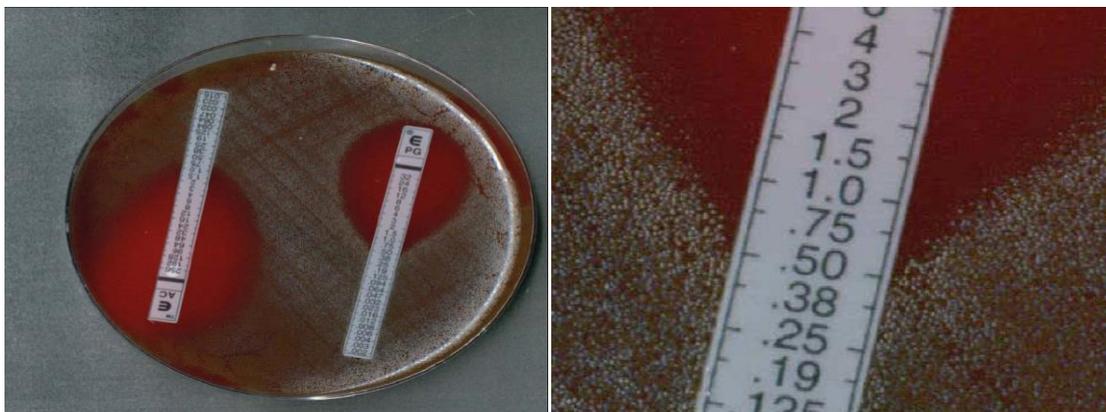


Figure15: valeurs des CMI par la technique de E-test

- ***Enterococcus***

Plus de 20 espèces dont 2 sont les plus fréquemment retrouvées en pathologie *E.faecalis* (80 à 85%) et *E.faecium* (5à10%). Les entérocoques sont caractérisés par une résistance naturelle à toutes les céphalosporines. L'ampicilline ou la vancomycine

associés aux aminosides représentent les molécules de choix pour le traitement.

Cependant des souches *E.faecalis* productrices de pénicillinases sont retrouvées dans certains pays (Amérique latine, USA, Liban) et des souches *E.faecium* hautement résistantes aux glycopeptides sont signalées dans plusieurs pays y compris le notre.

Cocci à Gram négatif

A/Neisseria meningitidis ou Méningocoque

I.Habitat-épidémiologie:

- Bactérie strictement humaine qui ne survit pas dans l'environnement
- Le réservoir est le rhinopharynx de l'homme et 5 à 15% de la population en est porteur sain.
- Transmission aérienne (contacts répétés et rapprochés < 1 m)
- Collectivités (casernes, école, pèlerinage...etc.)
- Cas isolés ou petites épidémies
- Le portage asymptomatique ne conduit que très rarement à une infection invasive à méningocoque (IIM) .
- *N. meningitidis* est capsulée.
- Les polysides permettent de distinguer 12 sérogroupes: A,B,C,E,H,I, K,L, Y W,X,Z dont six sont responsables de la grande majorité des IIM (**A,B,C, Y, W,X**)

✿ **En Afrique:**

- Ceinture de la méningite qui s'étend de du Sénégal à l'ouest à l'Éthiopie à l'est
- Vaste épidémie pendant la saison sèche
- Bouffées épidémiques survenant principalement en saison sèche.
- Séro groupe A prédominant mais d'autres groupes y sont retrouvés récemment comme par exemple le W135.

✿ **Europe, Amérique du nord et Océanie**

- Les serogroupes B et C sont majoritaires



Figure 1: ceinture de la méningite

II. Physiopathologie :

La physiopathologie d'une infection invasive à méningocoque comporte les étapes suivantes.

- Colonisation de la muqueuse rhinopharyngée, facilité par les pili et translocation vers le sang(souche virulente).
- Résistance aux défenses de l'organisme et multiplication dans le sang grâce à La présence d'une capsule et des les protéines de la membrane externe.
- Colonisation des cellules endothéliales des vaisseaux cebebraux, traversée de la barrière hémato-méningée et multiplication dans le liquide cephalo-rachidien (LCR).

Les Infections invasives à méningocoque (IIM) débutent par un processus infectieux inaugural. Sur le plan clinique, elles sont dominées par les méningites et méningococcémies qui peuvent se compliquées de purpura fulminans et de choc septique mortel. Les autres formes cliniques sont rares et représentées par les arthrites, les péricardites, des endophtalmies et des pneumonies.

B/ *Neisseria gonorrhoeae* ou Gonocoque :

I.Habitat-épidémiologie:

- Parasite strict des muqueuses des vois génitales.
- Transmission presque exclusivement sexuelle.
- Morbidité élevée et séquelles pouvant conduire à une stérilité.

- Augmentation de la résistance aux antibiotiques (pénicilline, Tétracycline, Spectinomycine et même les quinolones).
- Sur le plan épidémiologique: problème de porteurs asymptomatiques de souches virulentes qui représentent le réservoir du germe (beaucoup plus chez les femmes++) donc de diagnostic difficile.
- Sexe ratio: homme > femme (10/1)
- Facteurs favorisants : Bas niveau socio-économique, voyages...etc.

II. Pouvoir pathogène:

1. La blennorragie:

- ✓ Chez l'homme: Urétrite aigue bruyante avec écoulement de pus et dysurie « chaude pisse »

Complications : infections ascendantes (prostatites, orchites) ou lors d'infections répétées : rétrécissement urétral.

- ✓ Chez la femme: Urétrite, Cervicite (leucorrhée ou asymptomatique)
Complications : infections ascendantes (pyosalpynx)
- ✓ Chez l'homosexuel: Ano-rectite ou pharyngite.

2. Complications et formes rares extra-génitales:

- ✓ Chez le nouveau-né: Ophtalmie purulente pouvant entraîner la cécité.
- ✓ Dissémination sanguine: Septicémie, Arthrite, méningite, endocardite et formes cutanées.

C. Diagnostic bactériologique

I. Prélèvement

1. *N.gonorrhoeae*:

- **Homme**: écouvillon urétral en alginate de calcium ou Dacron (Gonocoque inhibé par les écouvillons en coton) de préférence le matin avant toute miction.
- **Femme**: Col utérin, urètre.
- **Autres prélèvements chez les 2 sexes** : écouvillon anal, liquide articulaire, biopsie cutanée, pharynx, hémocultures.

N.B : Germe fragile d'où la nécessité de milieu de transport : milieu de Stuart au thioglycolate et au charbon activé.

2. *N.meningitidis*: LCR, Hémoculture, biopsie des lésions cutanées de purpura, Liquide pleural, péricardique, articulaire, Prélèvement de gorge (si TRT préalable ou en cas de portage).

N.B : Bactérie fragile, le prélèvement doit être transporté immédiatement au laboratoire

II.Examen microscopique:

Examen très important à cause de sa rapidité (15mn), il permet de noter l'importance de la réaction cellulaire et de mettre en évidence la présence des diplocoques à Gram négatif en « grain de café »

III. Recherche d'antigènes solubles:

dans le LCR (liquide céphalorachidien) et urines *N.meningitidis* +++ (examen rapide)

IV.Culture:

- les *Neisseria*, et particulièrement le gonocoque, sont des germes qui exigent des milieux enrichis (Gélose chocolat + Poly vitamines), les milieux enrichis et sélectifs de type VCF (Vancomycine, colistine, fungizone) sont utilisés en cas de prélèvement de gorge ou génital
- Incubation à 37°C et 5 à 10% de CO₂.
- Colonies en 24 ou 48h:qui sont oxydase (+) et catalase (+)

V. Identification

Tableau1 : Caracteres d'identification des principales especes de *Neisseria*

C.Biochimiques Espèces	Glucose	Maltose	Gamma-glutamyl- transférase (γGT)
<i>N.meningitidis</i>	+	+	+
<i>N.gonorrhoeae</i>	+	-	-
<i>N.lactamica</i>	+	+	-
<i>N.polysaccharea</i>	+	+	-

VI. Sérogroupage de *N.meningitidis*:

Par agglutination sur lame avec des particules de latex sensibilisées. Intérêt pour la mise en place de prophylaxie spécifique et surveillance des souches qui circulent dans une région.

VII. Diagnostic moléculaire de *N.gonorrhoeae* et détection conjointe de *Chlamydia trachomatis* par PCR

D.Traitement

I-Traitement curatif:

1. *N.gonorrhoeae*:

Du fait de l'existence des souches productrices de β -lactamase type TEM-1 plasmidique

- Traitement minute: Spectinomycine, ceftriaxone ou ciprofloxacine
- Traiter le ou les partenaires et rechercher et traiter les autres MST.

2. *N.meningitidis*:

- Céphalosporines de 3^{ème} génération (céfotaxime, ceftriaxone).
- Ampicilline si la souche est sensible.

II.Traitement préventif:

1. Méningocoque :

Chimio prophylaxie:

- par voie orale Rifampicine pendant 2 jours ou spiramycine pendant 5 jours
- Vaccination : vaccin tetra valent ACYW135,

Indications :

Entourage proche du malade, Vaccination de masse lors d'épidémies, Voyage aux zones à risques.

2. Gonocoque :

- L'ophtalmie purulente du nouveau-né est prévenue par l'instillation conjonctivale systématique d'un collyre à l'érythromycine ou à la tétracycline.
- prévention mécanique (préservatifs), traitement précoce des malades et leurs partenaires.