

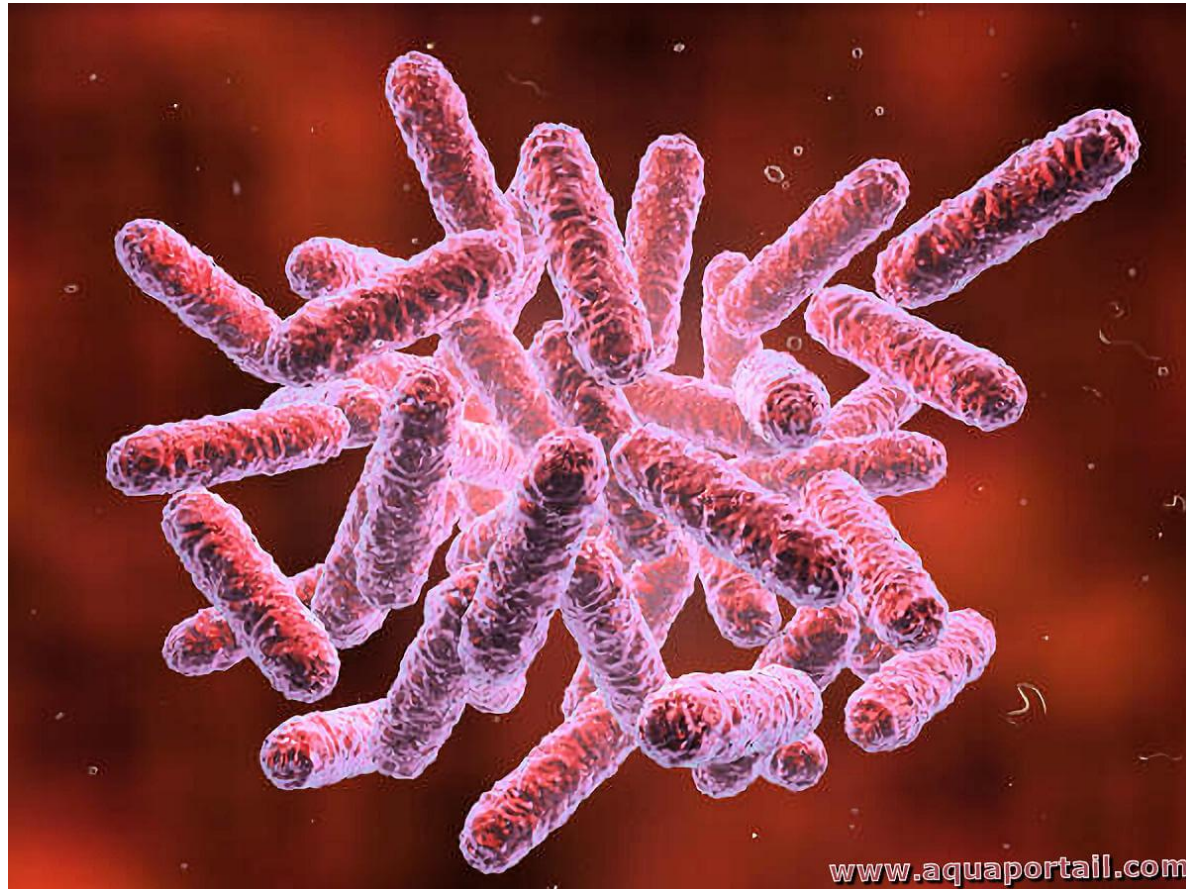
Les bacilles à Gram négatif



Dr khernane.Ch

Laboratoire SADELAOUD.M

Entérobactéries

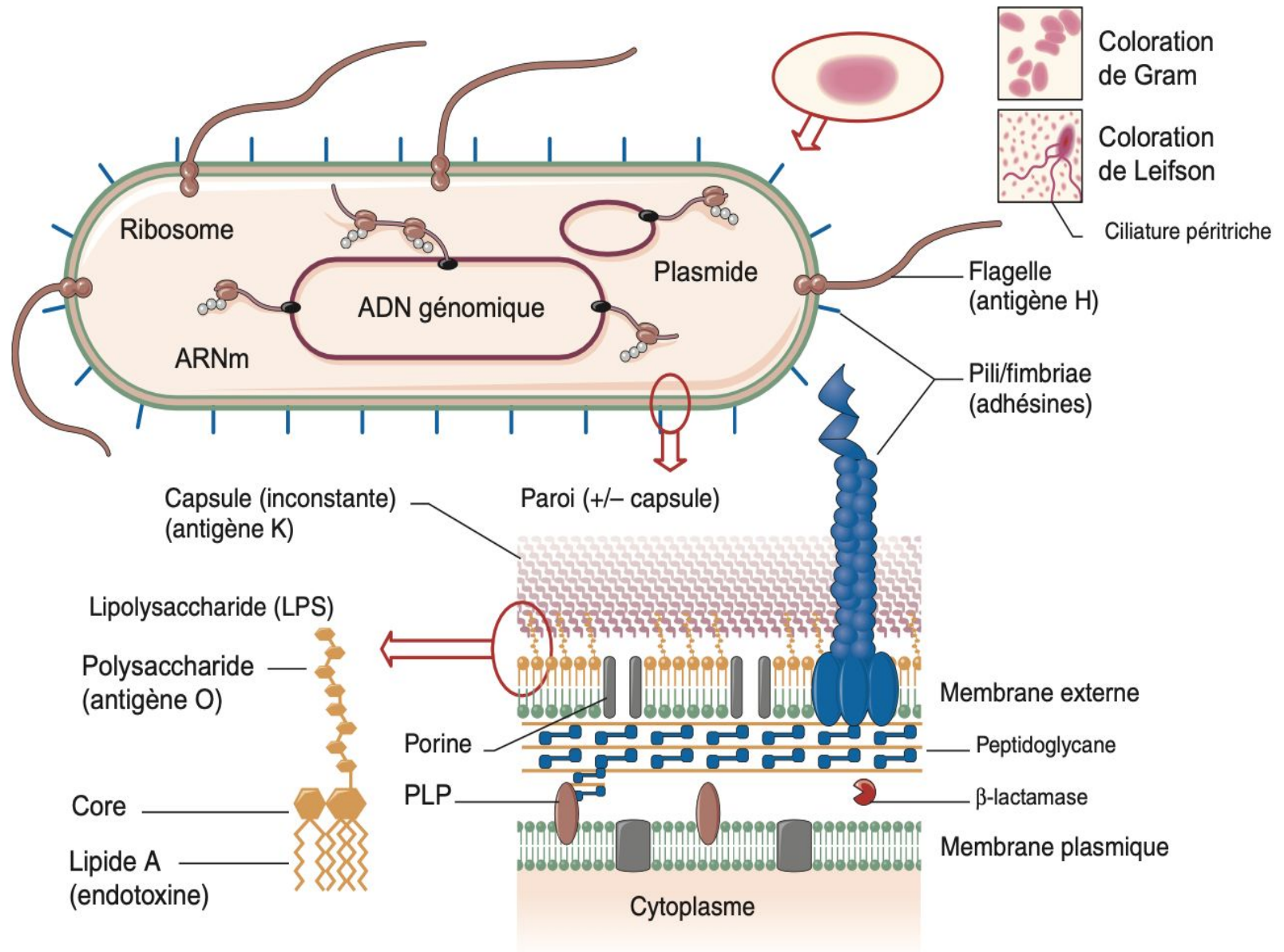


Généralité sur la Famille des Entérobactérie:

-Le nom d'entérobactérie été donné à cette famille du fait que la majorité de ses membres sont des hôtes normaux du tractus digestif.

-Les entérobactéries sont responsables de deux grands types de manifestations pathologiques : une pathologie spécifique (ex: typhoïde avec *Salmonella Typhi*), ou une pathologie opportuniste, notamment dans le cadre d'infections nosocomiales.

- Bacilles à gram négatif.
- Mobiles ou immobiles par ciliature péritriche.
- Aéro-anaérobies facultatifs.
- Dégradent le glucose par voie fermentative.
- Dépourvus d'oxydase à l'exception de *Plesiomonas* nouvellement rattaché à la famille.
- catalase positive (à l'exception de *Shigella dysenteriae* type 1) .
- Nitrate réductase positive.
- Cultivent bien sur milieu usuel.



Structure et aspect microscopique des *Enterobacteriaceae*.

Classification :

La famille se compose de plusieurs genres, chaque genre se subdivise en espèce : parmi les genres les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine nous avons :

- Genre Escherichia.
- Genre Salmonella.
- Genre Shigella.
- Genre Citrobacter
- Genre Klebsiella.
- Genre Enterobacter.
- Genre Serratia.
- Genre Proteus.
- Genre Morganella.
- Genre Providentia.

Caractères bactériologiques

I- Caractères morphologiques

- Bacilles à Gram (-) dont les dimensions varient de 1 à 6 micromètre de long et 0.36 à 1 micromètre de large
- Mobiles par ciliature péritriche ou immobile.
- Non sporulés.
- Capsulés ou non (selon les espèces).
- Pouvant posséder des pili/fimbraie.

II-Caractères cultureux :

- Aéroanaérobies facultatifs.
- Cultivent bien sur milieu usuels (Gélose nutritive)
- La température optimale de croissance est généralement de 35 à 37 °C, certaines ne poussent pas à 37 °C.
- Le temps de division varie de 20 à 40mn si bien qu'après 24h d'incubation on obtient une culture abondante.
- Généralement les colonies de 1 à 3 mm de diamètre généralement bombées, lisses et brillantes, il existe de nombreuses exceptions.

III- Caractères biochimiques communs

- Fermentent le glucose.
- Ne possèdent pas d'oxydase.
- Catalase positive.
- Possèdent une NO₃-R qui réduit le NO₃-au stade de NO₂- à l'exception de certaines souches.

IV- Structure antigénique

- Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes différents :
 - Antigènes O : antigène de paroi constitué de lipopolysaccharide (LPS) thermostable.
 - Antigènes H : antigènes flagellaires (bactéries mobiles) constitués de flagelline thermolabile.
 - Antigènes K : antigène capsulaire (*Klebsiella* et certaines souches d'*E. coli*, *Shigella*, *Citrobacter* et *Salmonella* «antigène Vi») constitué de couches externes de polysaccharides qui peuvent masquer l'antigène O et le rendre inagglutinable.
 - antigènes d'adhésines (*pili*, *fimbriae*).

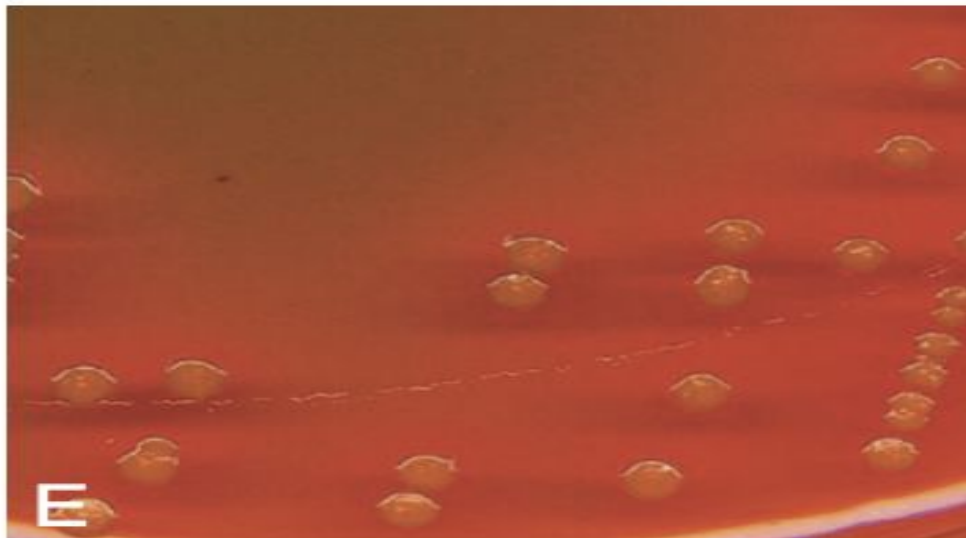
V- RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

- Les entérobactéries opposent une résistance naturelle aux Pénicillines G et M, aux macrolides, à la vancomycine.
- Certaines d'entre elles sont naturellement résistantes à d'autres molécules : les *Proteus* et *Serratia* à la colistine, les *Klebsiella* à l'ampicilline.
- Les aminosides, quinolones et Phénicolés sont normalement actifs contre les entérobactéries mais les résistances acquises sont fréquentes.

VI- *Escherichia coli*

- Habitat: Hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux
- le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales. Les infections à *E. coli* sont de deux types :
 - Infections extra-intestinales : infections urinaires, méningite (N. né par le sérotype K1), infections pulmonaires chez les personnes gravement malades, infections génitales, bactériémies..
 - Infections intestinales à type de diarrhées (gastro-entérites) : plusieurs pathotypes:
 - ✓Enterotoxinogen *Escherichia coli* (ETEC) : responsables de syndromes cholériformes qui touchent principalement les enfants des pays en voie de développement et les voyageurs (« tourista »).

- ✓ Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) : responsable de diarrhées sanglantes liées à la production de toxines (SHU).
- ✓ Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) : ou *Escherichia coli* *Shigella*-like, responsable du syndrome dysentérique.
- ✓ Enteropathogen *Escherichia coli* (EPEC) : responsable de gastro-entérites infantiles (chez l'enfant < 2 ans).

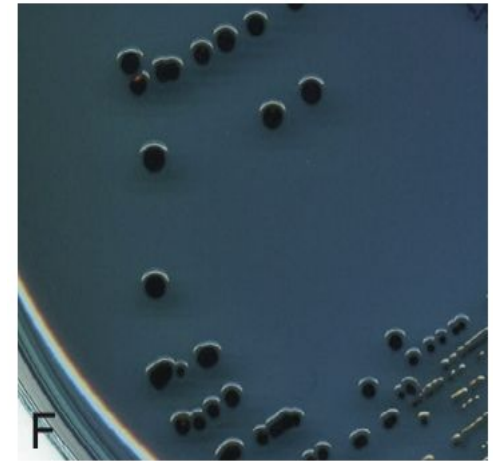


Escherichia coli : gélose Hektoen, colonies lactose positives.

Salmonella

Deux grands groupes à l'intérieur du genre *Salmonella*:

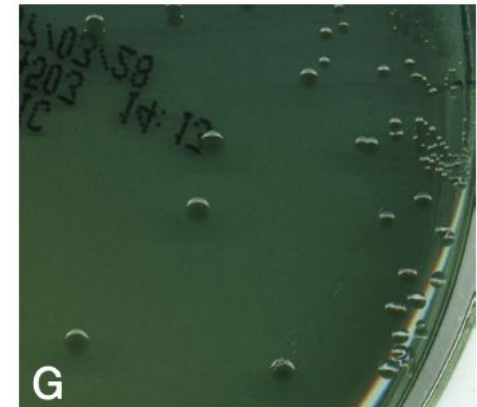
- les salmonelles majeures, agents de fièvres typhoïdes et paratyphoïdes – *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi C*. Ces sérovars sont responsables de septicémies à point de départ lymphatique.
- les autres sérotypes « mineurs » habituellement responsables de toxi-infections alimentaires qui se manifestent par des gastro-entérites avec diarrhées fébriles et vomissements.



Salmonella enteritidis sur Hektoen: colonies lactoses négatives, H₂S positives

Shigella

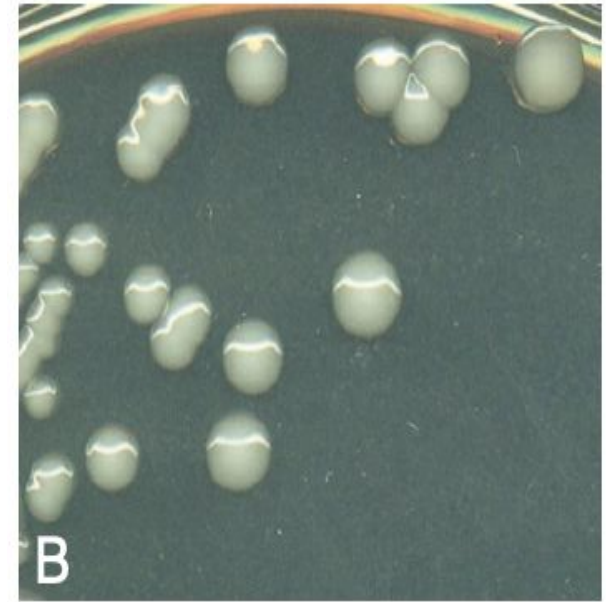
- Ce genre comprend quatre « espèces » ou sous-groupes A, B, C, D pouvant comporter un ou plusieurs sérotypes, *S. dysenteriae* type 1 ou bacille de Shiga est l'agent de la dysenterie bacillaire stricto sensu. Les autres *Shigella* provoquent des syndromes dysentériques. Il existe en fait de grandes variations dans la gravité des infections, la forme la plus grave étant due au bacille de Shiga.



Shigella flexneri : gélose hektoen, colonies lactoses négatives

Klebsiella pneumoniae

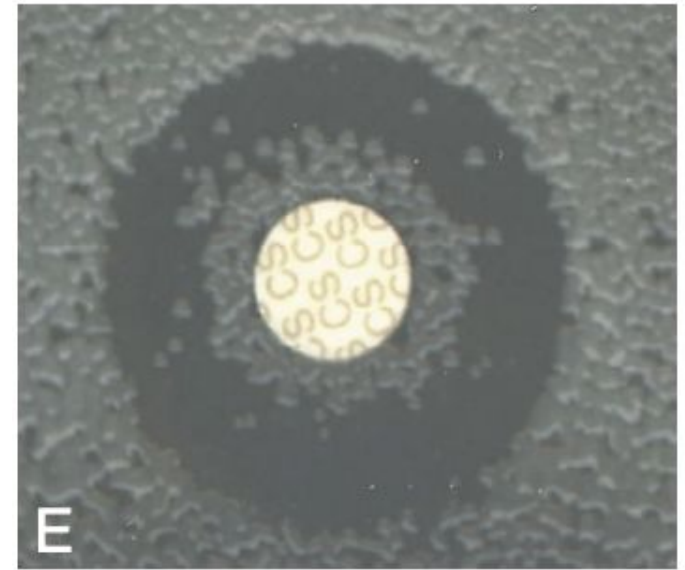
- Habitat: commensale de l'intestin, des voies respiratoires et des animaux.
- sont isolées principalement dans les infections urinaires ou respiratoires parfois compliquées de septicémies, surtout en milieu hospitalier où elles seraient responsables de 10 % des infections nosocomiales.



Klebsiella pneumoniae :
colonies muqueuses

***Serratia marcescens* :**

Ce sont toutes des bactéries du milieu extérieur. Elles se comportent comme des pathogènes opportunistes avec un double tropisme : arbres respiratoire et urinaire. *S. marcescens* est l'espèce la plus fréquente au sein de ce genre.

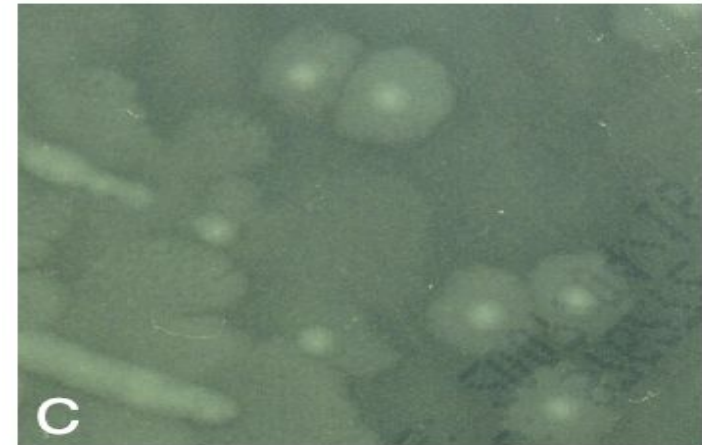


Serratia marcescens : résistance à la colistine avec aspect en «cocarde».

***Proteus, Morganelle, Providencia*:**

- Ce sont toutes des bactéries pathogènes opportunistes,

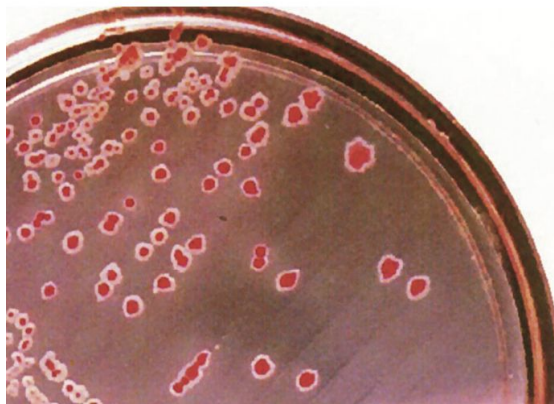
P. mirabilis est souvent isolé d'infections du tractus urinaire chez des malades « ambulatoires », les autres appartiennent aux germes « hospitaliers » mineurs causant souvent de petites épidémies d'infections urinaires sur sonde dans les services de soins intensifs ou de gériatrie.



Proteus mirabilis : isolées (essaimenvahissement de la gélose en voile ou vagues autour des colonies age).

Yersinia spp :

Ce genre comporte actuellement trois espèces pathogènes principales : *Y. pestis* (*responsable de la peste*), *Y. pseudotuberculosis* et *Y. enterocolitica* sont responsables des yersiniooses, infections qui se présentent sous formes digestives, septicémiques sur terrain fragilisé, ou extradigestives.



Aspect des colonies d'*Y. enterocolitica* sur gélose CIN

Vibrionaceae

Définition et classification

La famille des Vibrionaceae comprend:

- ✓ Des bacilles à Gram négatif droits ou incurvés, assez courts, parfois franchement coccobacillaires.
- ✓ Mobiles par ciliature polaire ou immobiles.
- ✓ Aéro-anaérobies.
- ✓ Bactéries non exigeantes poussant sur milieu ordinaire (certaines souches sont halophiles)
- ✓ Réduisant les nitrates en nitrites.
- ✓ Dégradant le glucose par voie fermentative.
- ✓ Oxydase positive.
- ✓ Habituellement catalase positive.

06 genres dans cette famille:

Vibrio, listonella, Photobacterium, Enhydrobacter, Salinivibrio, Allomonas

Genre **VIBRIO**

Le genre Vibrio comprend plusieurs espèces:

- espèce Vibrio cholerae
- espèce Vibrio parahaemolyticus
- espèce Vibrio alginolyticus
- espèce Vibrio Metchnikovii

Espèce *Vibrio cholerae*

- *Vibrio cholerae* groupe O1:

□ **biotype cholerae** appelé: *Vibrio cholerae* ou *Vibrio cholérique* classique

□ **biotype Eltor**

Les deux sont: agents du choléra

- *Vibrio cholerae* groupe non O1 dont le sérovar O139 qui est également reconnu comme agent du choléra.

Caractères bactériologiques

Caractères morphologiques :

- Bacilles très fins à Gram négatif, incurvés (en virgule).
- Mobiles grâce à un seul flagelle polaire ou immobiles.
- Acapsulés, asporulés.

Caractères cultureux :

- Aéro-anaérobies facultatifs.
- La température optimale de croissance est de 37°C.
- Sensibles au PH acide mais se multiplient bien à PH alcalin (06-09).
- Sur milieu liquide (eau peptonée alcaline), ils donnent un trouble homogène avec formation d'un voile en surface riche en vibrions.

- Sur milieu solide (gélose nutritive alcaline biliée GNAB) il donne des colonies de 2-4mm de diamètre à contours régulier plates, transparentes et paraissent légèrement bleutées.





Aspect des colonies de *Vibrio cholerae*
sur milieu TCBS



Aspect typique incurvé de *Vibrio cholerae*

Caractères biochimiques : oxydase+ ce qui les différencie des entérobactéries



V. cholerae sur galerie API



Identification par Vitek2

Examen direct des selles



Caractères antigéniques :

- Ag H : de nature protéique sans intérêt pour le diagnostic
- Ag O : somatique de nature LPS permet de subdiviser l'espèce *V. Cholerae* en 139 groupes :
 - le groupe O1 : V.C biotype Cholerae et Eltor.
 - Les autres groupes allant de 2-139 correspondent aux *V. cholériques* autrefois appelés non agglutinables.

Pouvoir pathogène

- Les souches toxinogènes de *V. cholerae* sont responsables du choléra humain qui peut revêtir différents aspects plus ou moins graves.
- L'incubation après contamination directe ou indirecte dure de quelques heures à 5 jours est généralement dominée par un début brutal avec une diarrhée massive et une émission de selles afécales « eau de riz », pouvant atteindre 10 à 50 selles par jour (3 à 15 litres éliminés par 24 heures), accompagnées fréquemment de vomissements sans fièvre.
- Il existe des formes moins graves et d'autres atypiques.

Mode de transmission :

- le choléra est une infection à transmission hydrique contamination : par l'intermédiaire d'eau contaminée. Ou manu portée ou par des aliments contaminés.
- L'homme est le seul réservoir du germe, l'eau est donc contaminée par les excréments humains: très souvent en milieu urbain contamination de l'eau de canalisation par les eaux d'égouts ; en milieu rural c'est l'eau des puits.
- Les vibron cholerae peuvent survivre plusieurs jours dans l'eau.

Traitement :

- Basé essentiellement sur la réhydratation du malade.
- L'antibiothérapie n'a d'intérêt que pour éviter que le patient ne continue à excréter les germes qui contamineraient l'environnement ou d'autres patients.
- Les antibiotiques utilisés sont les tétracyclines chez l'adulte et les furanes chez l'enfant.
- Il est recommandes de tester la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées vu que des souches multirésistantes ont été isolées.

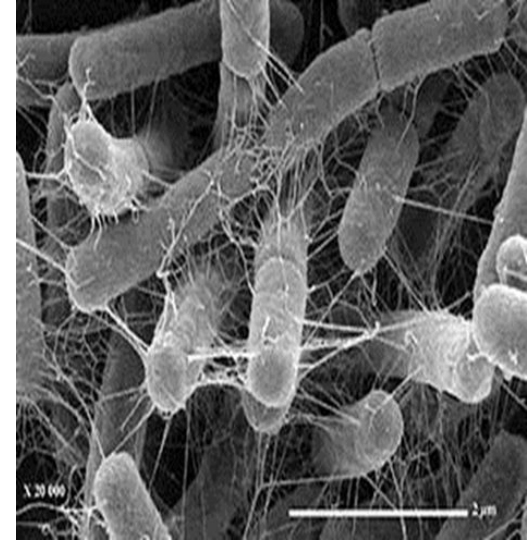
Prophylaxie

- Basée sur l'hygiène individuelle et du milieu ; un contrôle permanent de l'eau utilisée pour la consommation domestique doit être effectué.
- Au cours des épidémies : isoler le malade, rechercher le germe dans les selles de tous les sujets ayant été en contact avec le malade; les cas positifs doivent être traités.
- La vaccination est à l'heure actuelle déconseillée par l'OMS. On dispose d'un vaccin qui a été autrefois largement utilisé,; il protège en moyenne 6 mois mais uniquement dans 50% des cas.

Les Pseudomonas

Caractères morphologiques :

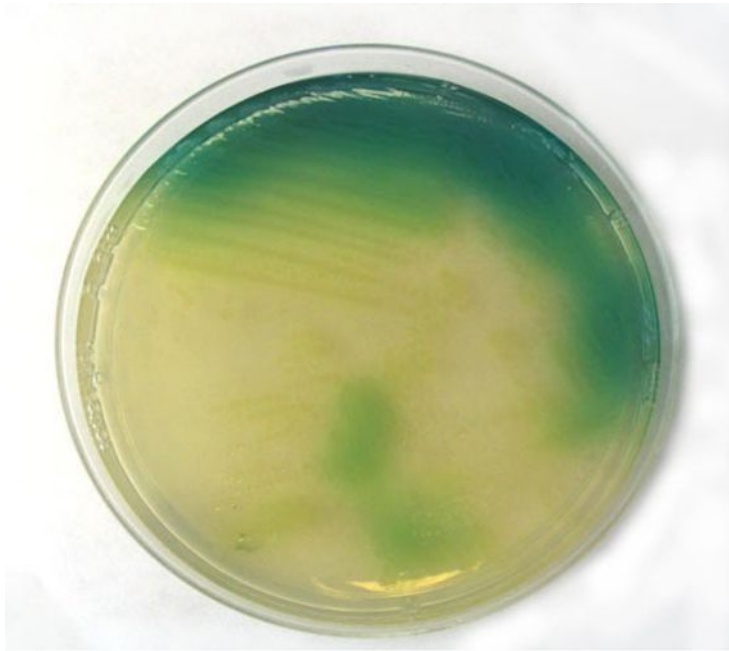
- Bacille Gram négatif.
- Bacille droit ou légèrement incurvés mobile par un flagelle polaire unique avec une mobilité rectiligne.
- Ne possède pas de capsule, Asporulé
- P. aeruginosa* est capable de développer un **biofilm** : les bactéries adhèrent à une surface et secrètent une matrice d'exopolysaccharides d'Alginate.



BIOFILM : microscopie électronique

Caractères cultureux :

- Pseudomonas aeruginosa* cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringa.
- La température optimale de croissance est de 30 °C avec un temps d'incubation de 18-24h.
- Pour les souches pigmentées (95 %), les milieux de King A et King B permettent une identification de *P. aeruginosa* par la mise en évidence de la production de deux pigments : la pyocyanine et la pyoverdine, d'autres pigments hydrosolubles peuvent être produits parfois de manière transitoire.
- À partir de prélèvements polymicrobiens, il est nécessaire d'avoir recours à un milieu sélectif (ex : Hektoen).



Culture positive à *Pseudomonas aeruginosa*



Antibiogramme à *Pseudomonas aeruginosa*

Caractères biochimiques :

- Bactérie aérobie stricte .
- Oxydase positive.
- Catalase positive.
- Nitrate réductase positive.

L'utilisation de galeries API 20NE ou des systèmes automatisés permettent un diagnostic des espèces:



Identification par API 20NE



Identification par Vitek2

Caractères antigénique :

- Lipopolysaccharide de la paroi (LPS) (antigène O) qui a permi de définir 20 sérotypes.
- Les flagelles composent l'antigène H avec au moins 55 antigènes .

Profil antibiotique sauvage

- Le *Pseudomonas* présente une multi résistance naturelle

La résistance naturelle touche : Pénicilline G, M, A, Amoxicilline + acide clavulanique

Céphalosporine 1,2, et certaines de 3 génération (cefotaxime, ceftriaxone) et Cephamycines

Quinolones de 1^{ère} génération, Nitrofuranes, les Sulfamides, Tétracyclines

Glycopeptides ,Rifampicine, Acide fucidique, Kanamycine, Macrolides et apparentés.

Pouvoir pathogène :

-*P. aeruginosa* est la bactérie pathogène opportuniste par excellence.

-Les infections à *P. aeruginosa* surviennent chez des sujets âgés, immunodéprimés (cancéreux), présentant des affections intercurrentes (insuffisance respiratoire, brûlure).

-Cette espèce est principalement responsable d'infections acquises à l'hôpital :

□ **infections de plaies** (brûlures, postchirurgicales),

□ **infections urinaires** (notamment sur sonde),

□ **bactériémies** (notamment chez le patient neutropénique),
pneumonies (notamment sous ventilation mécanique)

□ **méningite postneurochirurgicale.**

-*P. aeruginosa* peut aussi être responsable d'infections communautaires :

□ **infections respiratoires** chez le patient mucoviscidosique ou bronchopathe chronique.

□ **otite maligne externe.**

□ **kératite ulcéreuse et folliculite.**

-Enfin, *P. aeruginosa* peut également être isolé à partir de selles sans que cette présence soit reliée à un rôle pathogène.

Prévention :

C'est les précautions à prendre en milieu hospitalier :

- Lavage des mains.
- Éliminer les plantes dans les services à risque.
- Ménage régulier, insister sur les moins d'eau.
- Donner des conseils pratiques pour les malades qui risque d'être des porteurs, donc des réservoirs.
- Enquête ponctuelle dans les services à risque ou en cas d'épidémie.