

BGN exigeants : *Haemophilus*, *Bordetella* , *Brucella*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Légionella*

Cours de Microbiologie

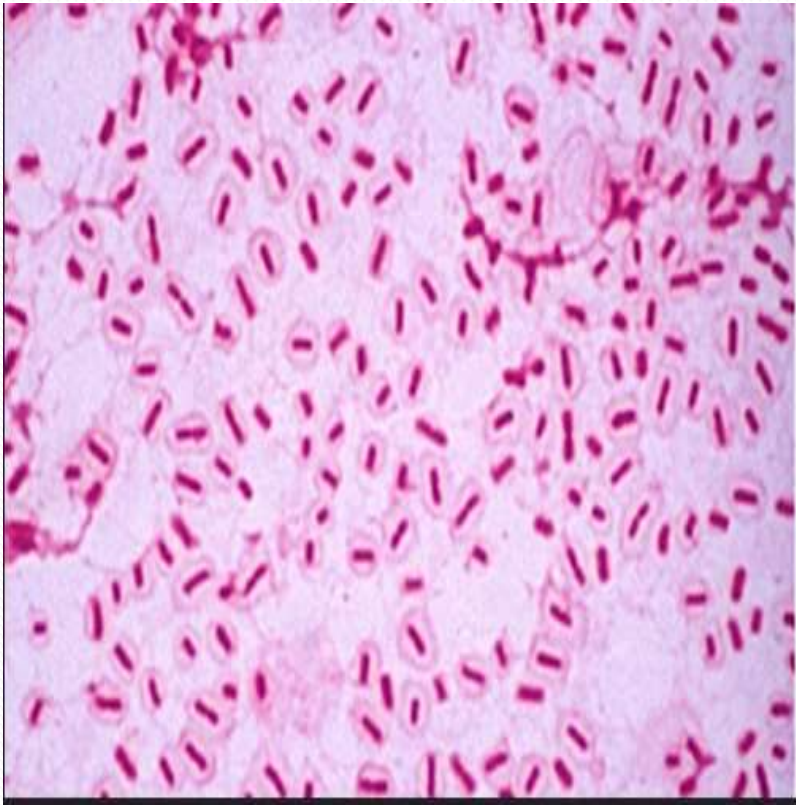
3^{ème} Année Médecine

Année universitaire 2024-2025.

Pr S. BENAMMAR

Microbiologie Médicale

Faculté de Médecine -Batna



Haemophilus



Haemophilus influenzae

- ❑ Genre: *Haemophilus*.
- ❑ Habitat : Flore commensale des muqueuses des voies respiratoires supérieures et de la sphère ORL.
- ❑ Transmission : **Directe++** par le biais de gouttelettes provenant des voies aériennes supérieures
- ❑ Principales Pathologies : localisées et invasives (NRS +++)
Otites, Sinusites , Méningites , Sepsis , Epiglottite, pneumonie , arthrite septique
- ❑ Souches Capsulées → 6 sérotypes : a, b , c, d, e , f.
- ❑ **Sérotype b** (*H.influenzae* de Sérotype b = Hib) → Méningites++
- ❑ Vaccin → **L'épidémiologie des infections invasives à Hib a changé depuis la généralisation de la vaccination contre ce sérotype.**

Remplacement par le sérotype «a » et d'autres sérotypes

Diagnostic au laboratoire

A . Diagnostic direct classique

- Examen direct
- Mise en culture
- Identification
- Antibiogramme

B. Recherche d'Antigènes solubles

- Recherche des antigènes capsulaires « b » d'*H. influenzae*
- **Méningites décapitées**
- LCR+++, sang, urines
- De moins en moins utilisée (peu spécifique et sensible)

C. Biologie moléculaire

- **Recherche du génome de la bactérie par technique PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

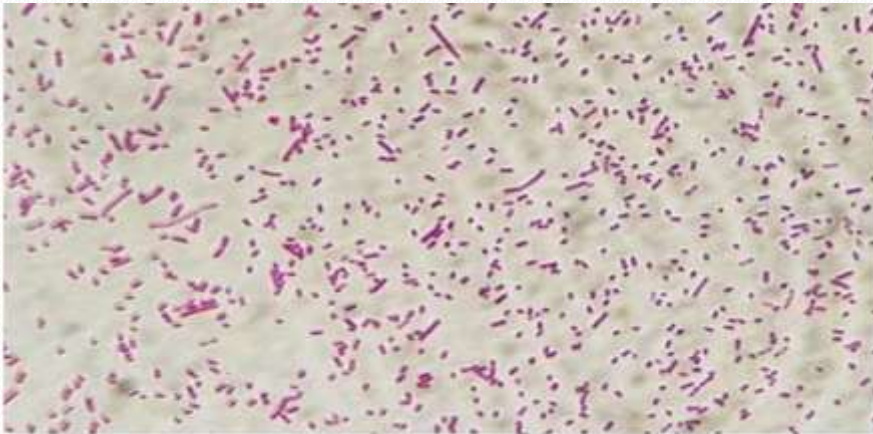
A. Diagnostic classique

1. Prélèvements :

LCS , sang pour hémoculture , pus.
→ **Transport rapide et au chaud**
+ fiche de renseignement ++++,
avant tout traitement antibiotique.

2. Examen direct après coloration de Gram :

BGN polymorphe : souvent
coccobacillaire, parfois long.



Examen direct: bacilles à gram négatif en diplocoque d'aspect polymorphe

3. Mise en culture :

La bactérie est exigeante en
facteurs X (hémine) et V (NAD) →
Ensemencer sur milieu enrichi
telque GSC → 37°C, sous CO2
pendant 24H
→ **Grosses colonies grisâtres**



4. Identification :

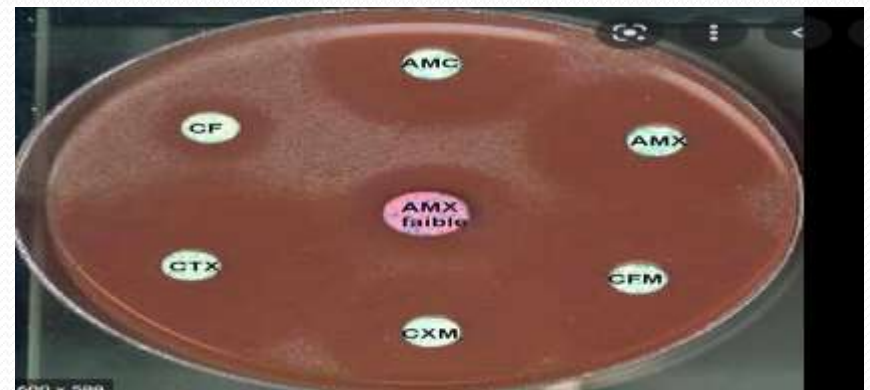
☐ Galerie Api NH

(*Neisseria* – *Haemophilus*).

☐ **Sérotypage des souches capsulées par test**
d'agglutination en utilisant
des sérums monovalents →
6 sérotypes : a, b, c, d, e, f.

5. Antibiogramme.

Haemophilus : galerie API NH



H. Influenzae : Traitement

A. Traitement curatif:

☐ Traitement présomptif : Amoxicilline+ acide clavulanique ou Céphalosporines de 3^{ème} génération (infections invasives ++++).

☐ Adapter le traitement antibiotique après réception de l'antibiogramme.

B. Traitement préventif :

Vaccin conjugué anti *Hib*

(Voir calendrier Vaccinal Algérien)

En Algérie

Calendrier vaccinal 2023

Age Vaccin	Naissance	2mois	3mois	4mois	11mois	12mois	18mois	6ans	11-13ans	16-18ans	Tous les 10ans à partir de 18ans
BCG	BCG										
HBV	HBV										
VPO		VPO		VPO		VPO					
<u>DTCaVPI-</u> <u>Hib-HVB-</u>		<u>DTCaVPI-</u> <u>Hib-HVB-</u>		<u>DTCaVPI-</u> <u>Hib-HVB-</u>		<u>DTCaVPI-</u> <u>Hib-HVB-</u>					
PCV		PCV		PCV		PCV					
ROR					ROR		ROR				
DTCa-VPI								DTCa-VPI			
dT Adulte									dT Adulte	dT Adulte	<u>dT Adulte</u>

BCG: vaccin antituberculeux; **HBV:** vaccin anti-hépatite B; **VPO:** vaccin antipolio oral; **VPI:** vaccin antipolio injectable; **DT:** vaccin antidiphtérique et anti-tétanique; **dT:** vaccin antidiphtérique et antitétanique adulte; **Ca:** vaccin anticoquelucheux acellulaire; **Hib:** vaccin anti-Haemophilus type b; **ROR:** vaccin antirougeole, rubéole et oreillons; **PCV:** vaccin antipneumococcique conjugué



Bordetella

Bordetella pertussis



- ❑ Est une bactérie stricte de l'Homme .
- ❑ Responsable de la coqueluche: **nourrisson +++**, **enfant**
- ❑ Réservoir principal: adolescents et adultes.
- ❑ Épidémique et hautement contagieuse, transmise par voie aérienne.
- ❑ **Toux caractéristique : quinteuse à prédominance nocturne avec reprise inspiratoire difficile (chant du coq).**
- ❑ La gravité tient aux complications broncho-pulmonaires et sa mortalité possible chez le nourrisson.
- ❑ Diagnostic essentiellement clinique
- ❑ La vaccination réduit le taux de morbidité et de mortalité.

Diagnostic au laboratoire

A . Diagnostic direct classique

- - **Gold Standard.**
- -**Etapes :**
- Examen direct
- Mise en culture
- Identification
- Antibiogramme.

B. Diagnostic sérologique

- Diagnostic rétrospectif de la maladie.

C. Biologie moléculaire

- - Recherche du génome de la bactérie par PCR .
- -Plus rapide (2-3h) et plus sensible que la culture

Diagnostic biologique

A. Diagnostic direct classique :

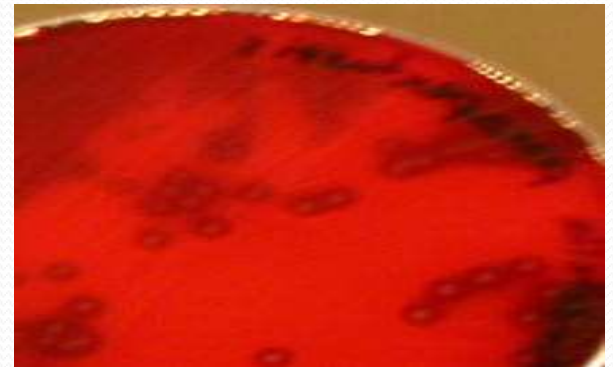
1. Prélèvements :

Sécrétions nasopharyngées.

2. Mise en culture:

- Technique de référence,
- **Milieu spécifique : Bordet et Gengou ou ou de Regan-Lowe enrichis au sang. Incubation : 07 jours à 37°C .**
- **Colonies en gouttelettes de mercure avec zone d'hémolyse**

3-4. Identification-Antibiogramme.



Traitement

A. Traitement curatif :

ATB : érythromycine , azithromycine ou clarithromycine.

Si allergie => Triméthoprim –sulfamethoxazole

B. Traitement préventif :

Vaccin : DTCa

(Diphtérie –Tétanos-Coqueluche acellulaire).



Brucella

Introduction-Habitat

- *Brucella spp* : au moins 12 espèces → **brucellose = Zoonose**
- La brucellose animale → maladie de la reproduction (avortement+++), infection mammaire.
- Bactéries essaimées par l'animal infecté, résistantes dans l'environnement (plusieurs mois).
- Transmission à l'homme qui est un hôte accidentel.
- Les cas de brucellose humaine sont attribués à 4 espèces : *B. melitensis* (Bassin Méditerranéen++) *et B. suis*, *B. abortus* *et B. canis*.
- Maladie professionnelle à déclaration obligatoire
- Brucella = Agent potentiel du bioterrorisme = **agent biologique de la classe 3.**

Espèces	Réservoir ou hôtes préférentiels
<i>B. melitensis</i>	Caprins (chèvres) et ovins (moutons)
<i>B. suis</i>	Suidés (sangliers , porcs)
<i>B. abortus</i>	Bovins (vaches, bœufs)
<i>B. canis</i>	Canins (chiens)
<i>B. ovis</i>	Ovins
<i>B. neotomae</i>	Rongeur du désert
<i>B. ceti</i>	Phoque, dauphins, marsouins
<i>B. pinnipedialis</i>	Phoque, dauphins, marsouins
<i>B. microti</i>	Campagnol des champs
<i>B. inopinata</i>	????
<i>B. papionis</i>	Babouins
<i>B. vulpis</i>	Renard

Pouvoir pathogène chez l'Homme

Contamination

1. Indirecte: digestive

Ingestion **d'aliments crus contaminés non pasteurisés** tels que : lait cru , fromage frais non fermenté....

2. Directe: voie cutané-muqueuse

- Par **contact direct** avec : animaux infectés.
- Par **inhalation** de poussière de litière souillées , d'aérosols contaminés dans un laboratoire ou dans un abattoir.

Professions à risque

(A rechercher dans son interrogatoire) :

Les éleveurs, les fermiers, les vétérinaires, les travailleurs des abattoirs et le personnel de laboratoire.

Pouvoir pathogène chez l'Homme

- **Infection endémique : pourtour méditerranéen, Afrique, moyen orient , Asie et en Amérique du sud ,**
- **Brucella = pathogène intracellulaire facultatif .**
- **Incubation : 1 à 4 semaines.**
- **Classiquement évolue en 3 phases :**
- ✓ **Brucellose Aigue = fièvre nocturne ondulante sudoro-algique de début insidieux .**
- ✓ **Brucellose subaigüe focalisée : foyers ostéoarticulaires+++ , cardiaques, neuro-vasculaires, génito-urinaires...**
- ✓ **Brucellose chronique : symptomatologie générale de type asthénie et/ou polyalgies.**

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

Suspicion de Brucellose

=> il convient de préciser cette recherche au biologiste , car:

- ✓ **il s'agit d'une bactérie de la classe biologique 3, donc potentiellement dangereuse,**
- ✓ **et de croissance plus lente que celle des autres bactéries.**

Manipulation sous hotte à flux laminaire de type 2, masque , lunettes, gants , blouse



Diagnostic au laboratoire

Diagnostic direct :

A. Classique :

- 1) Examen direct
- 2) Mise en culture
- 3) Identification : biochimique, antigénique
- 4) Antibiogramme.

B. Biologie moléculaire =

PCR

Diagnostic indirect :

1- La séroagglutination lente en tube :

Sérodiagnostic de Wright ou séroagglutination (SDW ou SAW) = Technique de référence.

2-Epreuve à l'antigène tamponné (EAT ou ETA) :

Test au rose Bengale → Enquêtes épidémiologiques

3-Autres épreuves sérologiques

- ✓ IFI
- ✓ ELISA

Diagnostic direct

1- Prélèvements :

Doivent être accompagnés d'une fiche de renseignement++++

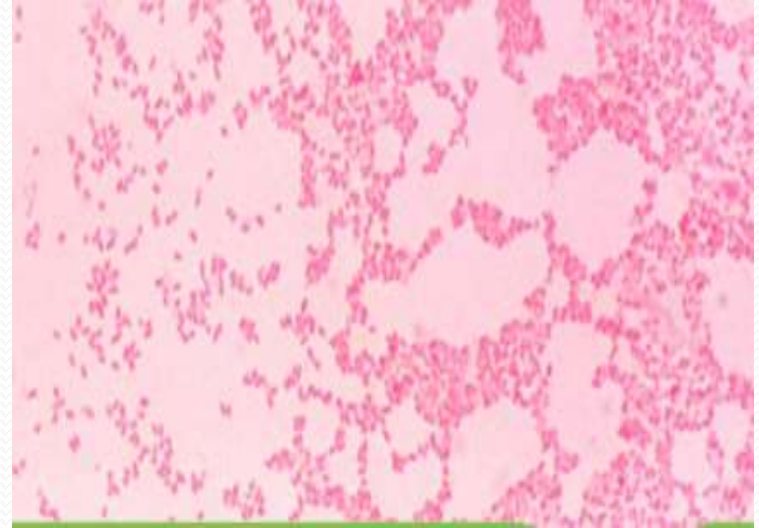
- ✓ Hémocultures .
- ✓ LCR, pus de foyers suppurés , liquide articulaire.....etc

2. Examen direct :

Petits et très fins coccobacilles à Gram négatif.

3. Mise en culture sur milieux riches:

- Incubation des **HC** pendant **3- 4 semaines (2 semaines sur automate)**
 - **Isolement sur** GSF ou GSC, incubés à 35°C, en atmosphère enrichie en CO₂ (5 à 10 %) .
- Les colonies sont très fines et transparentes.



Diagnostic direct

4- Orientation diagnostique rapide du genre :

- ✓ Coccobacilles à Gram-négatif.
- ✓ Culture lente et difficile.
- ✓ L'aspect des colonies en culture (petites, translucides).
- ✓ Aérobie strictes, Catalase + , Oxydase + , Uréase + .



5- Identification antigénique :

Agglutination rapide sur lame

6- Identification d'espèce :

Basée sur plusieurs tests

Intérêt des tests en fonction du stade de la maladie

Méthode	Aigue	B focalisée	Chronique	commentaires
Hémoculture	+++	+	-	Spécificité= 100%
Foyer infectieux	-	++	-	Sensibilité Souvent faible
EAT	+++	+	-	
SAW	+++	+	-	IgM +++++
IF / ELISA	++	++ +	+++	IgM et IgG
PCR	++	+++	-	Sensible , Spécifique



Campylobacter / Helicobacter

Généralités

- ❖ Genres :
 - *Campylobacter*
 - *Helicobacter*
- ❖ Famille: *Campylobacteriaceae*,
- ❖ **Bactéries spiralées du tube digestif**
- ❖ Caractéristiques communes :
 1. Morphologie : BGN de forme spiralée ou incurvée, avec une mobilité vive en vrille
 2. Métabolisme : microaérophile (5%O₂, 10% CO₂)
 3. Ecologie : adaptées à la vie dans le mucus.
- ❖ Le genre *Campylobacter* comporte 20 espèces dont :
 - C. jejuni* , *C. coli* et *C. fetus*.
- ❖ *Helicobacter* → *Helicobacter pylori* : **Uréase +++++.**

Habitat - Epidémiologie

Campylobacter spp.

❖ Niches:

✓ *C. jejuni* = volaille+++

✓ *C. coli* = porc

❖ Transmission :

1. **Alimentaire** = aliments ou eau contaminés .

2. **Contact avec des animaux infectés.**

❖ Gastro-entérites :

→ **diarrhée aqueuse ou sanglante , douleurs abdominales, fièvre.**

Helicobacter pylori

❑ **Bactérie strictement humaine.**

❑ **Transmission :**

➤ **Par le liquide gastrique,**

➤ **La voie féco- orale.**

❑ L'infection à *H. pylori* est l'une des **infections chroniques les plus répandues dans le monde.**

❑ **Gastrite chronique → Maladie ulcéreuse (10%) → Kc gastrique (1%).**

Diagnostic au laboratoire

Campylobacter spp.

1. Prélèvement :

Selles fraîches → Coproculture,

2. Examen direct :

- ❖ BGN spiralés ou incurvés ou en S, disposés en ailes de mouette, mobiles.



3. Mise en culture :

Sur des milieux spéciaux et sélectifs telque le milieu **Butzler**.

4. Identification

- ✓ La morphologie et la mobilité caractéristiques.
- ✓ Le type respiratoire : microaérophilie.
- ✓ Catalase, Oxydase, Nitrate réductase (NR) : positifs
- ✓ L'absence d'utilisation des sucres.
- ✓ Autres tests biochimiques
- ✓ Test d'agglutination au latex.

5. Antibiogramme

La campylobactériose humaine: diagnostic bactériologique



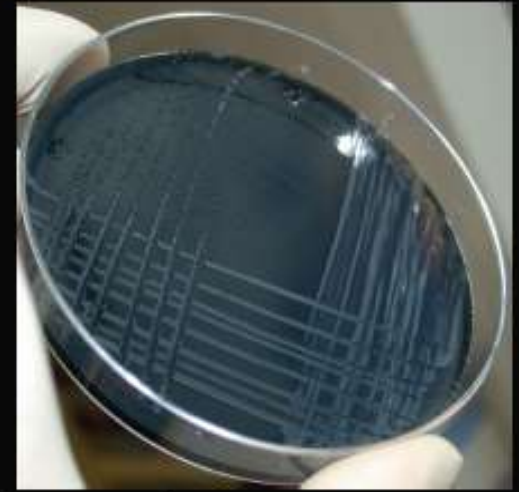
gélose sélective Skirrow

gélose + infusion de cœur, peptone de caséine,
, extrait de levure, NaCl
+ sang de cheval défibriné, lysé
+ triméthoprine, vancomycine, polymyxine B



**gélose sélective de Butzler
(Campylose[®])**

gélose Columbia,
+ sang de mouton
+ céfopérazone, vancomycine, colistine,
amphotéricine B



gélose sélective de Karmali

gélose Columbia
+ charbon actif, hémine, pyruvate
+ céfopérazone, vancomycine, cycloheximide

48-72 h, 37°C, 5% O₂, 10% CO₂



La sensibilité de la coproculture est limitée (60%)...
mais sa spécificité est de 100%

Diagnostic au laboratoire

Helicobacter pylori

A. Les méthodes non invasives :

1. Test respiratoire à l'urée → Examen de dépistage
2. Détection d'antigènes pyloriques dans les selles.
3. Sérologie : ELISA (IgG sériques) + Western-blot.



ImmunoCard STAT!HpSA ®

B. Les méthodes invasives:

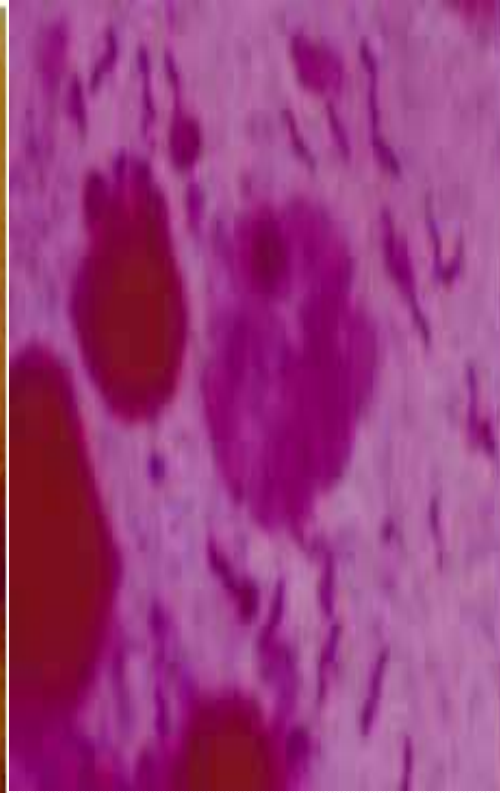
Biopsies gastriques par fibroscopie :



1. Examen histologique.
2. Test à l'uréase.
3. Culture.
4. PCR.

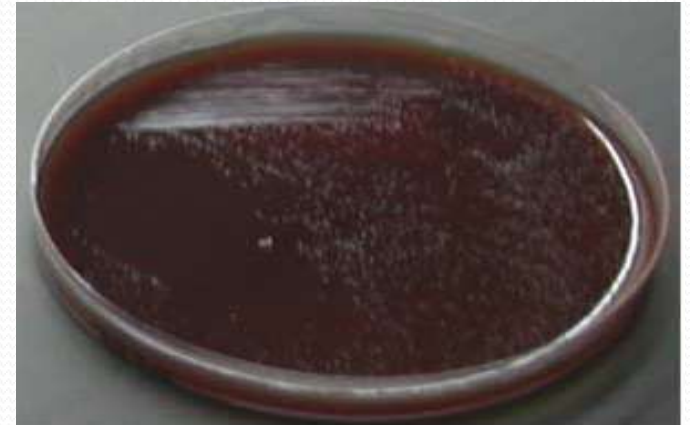
Recherche d'Ag d'*H. pylori* sur des selles

Diagnostic au laboratoire/*H.pylori*



Gélose sélective *Helicobacter pylori* (PYL) ou
Gélose Columbia + sang de
cheval (10%) → Incubation :
15 jours à 37°C, atmosphère
microaérophile .

Bactéries incurvées à la surface de l'épithélium
de la muqueuse, observées après coloration
(Nitrate d'argent et Giemsa)





Légionella

Introduction

- ❑ Les Légionnelles sont des **BGN faiblement colorés**,
- ❑ *L. pneumophila* séro groupe 1 est responsable de la grande majorité des cas de légionelloses.
- ❑ Bactéries de l'environnement, qui trouvent leurs **conditions de croissance idéales dans les environnements chauds et humides** :
Les tours aéroréfrigérantes (TAR), les systèmes de distribution d'eau potable avec stagnation (**bras morts, réservoirs**), les **piscines thermales, la vapeur d'eau chaude des douches.....**
- ❑ L'homme se contamine par inhalation de microgouttelettes d'eau contaminée → Voie aérienne
- ❑ Légionellose = pneumonie aiguë , communautaire ou nosocomiale
- ❑ Maladie à déclaration obligatoire → Enquêtes épidémiologiques

Pathologie

❖ La légionellose est une pneumonie de l'adulte, sporadique ou épidémique (hôtels , restaurants, hôpitaux....).

1. Forme bénigne ou « fièvre de Pontiac » :

Syndrome pseudo-grippal de guérison spontanée en 2 à 5 jours

2. Forme classique = Maladie des légionnaires = Légionellose = Pneumopathie aigue typique grave :

✓ Pneumonie aigue sévère (fièvre élevée, dyspnée), confusion , troubles digestifs et atteinte rénale.

✓ Evolution vers le décès (20%) ou favorable en 8 jours.

Diagnostic au laboratoire

A. Diagnostic direct +++++

A1. Diagnostic direct rapide:

Recherche d'antigènes urinaires

- Cette recherche permet un dépistage simple, rapide et précoce des infections à *L. pneumophila* sérotype 1

A2. Diagnostic par PCR

Sur prélèvements pulmonaires

A3. Diagnostic classique:

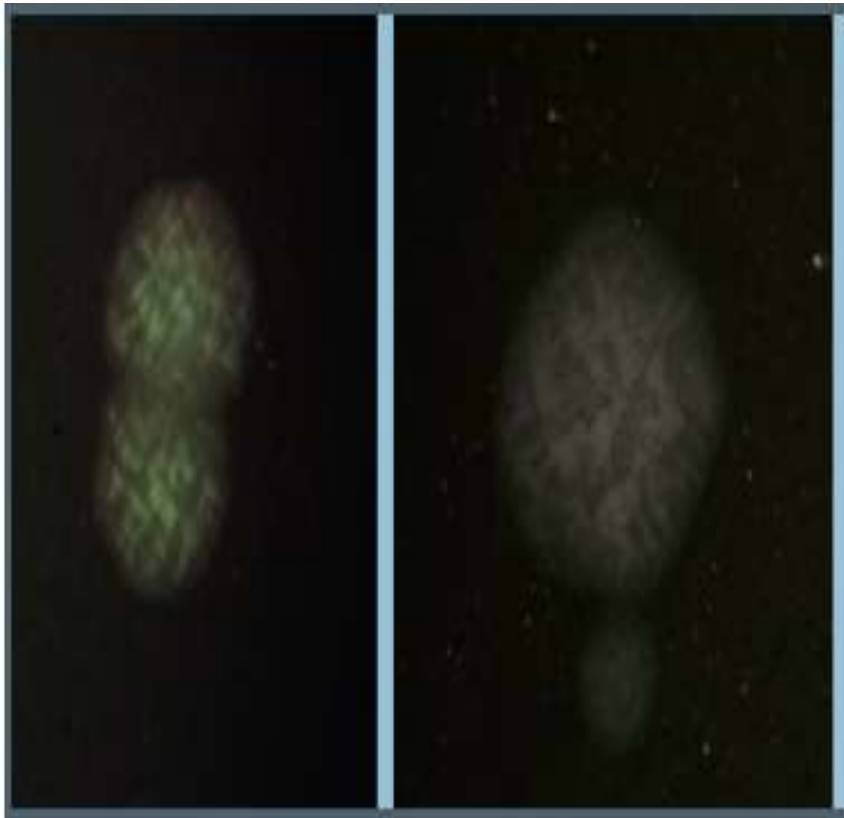
Sur prélèvements respiratoires: crachats, aspiration bronchique, LBA.....

B. Diagnostic indirect

- Diagnostic rétrospectif,
- Son utilisation sera majoritairement limitée aux cas de forte suspicion de légionellose avec antigène urinaire négatif et en cas d'impossibilité d'obtenir un prélèvement pulmonaire du patient.
- **ELISA** : screening car sensible
- **IFI** : test de confirmation car plus spécifique.

Diagnostic au laboratoire

**Aspect des colonies de *Legionella* à la loupe
binoculaire (grossissement $\times 30$) : aspect typique en
« verre fritté ».**



Traitement /Prophylaxie

A. Traitement :

- **Macrolides (Azithromycine++++)**
- **Fluoroquinolones**

B. Prophylaxie :

✓ Surveillance environnementale :

Mise en place d'un programme d'entretien régulier des réseaux (éliminer le tartre), une circulation permanente de l'eau avec élimination des bras morts et une température suffisante de l'eau (60°C au site de production et 50°C aux points d'usage), entretien des tours aéroréfrigérantes.....etc ,

✓ Surveillance des cas d'infections communautaires et nosocomiales.....