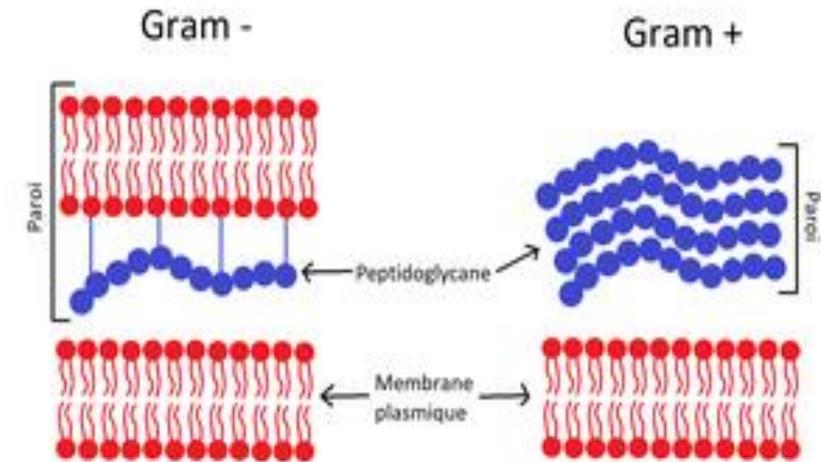
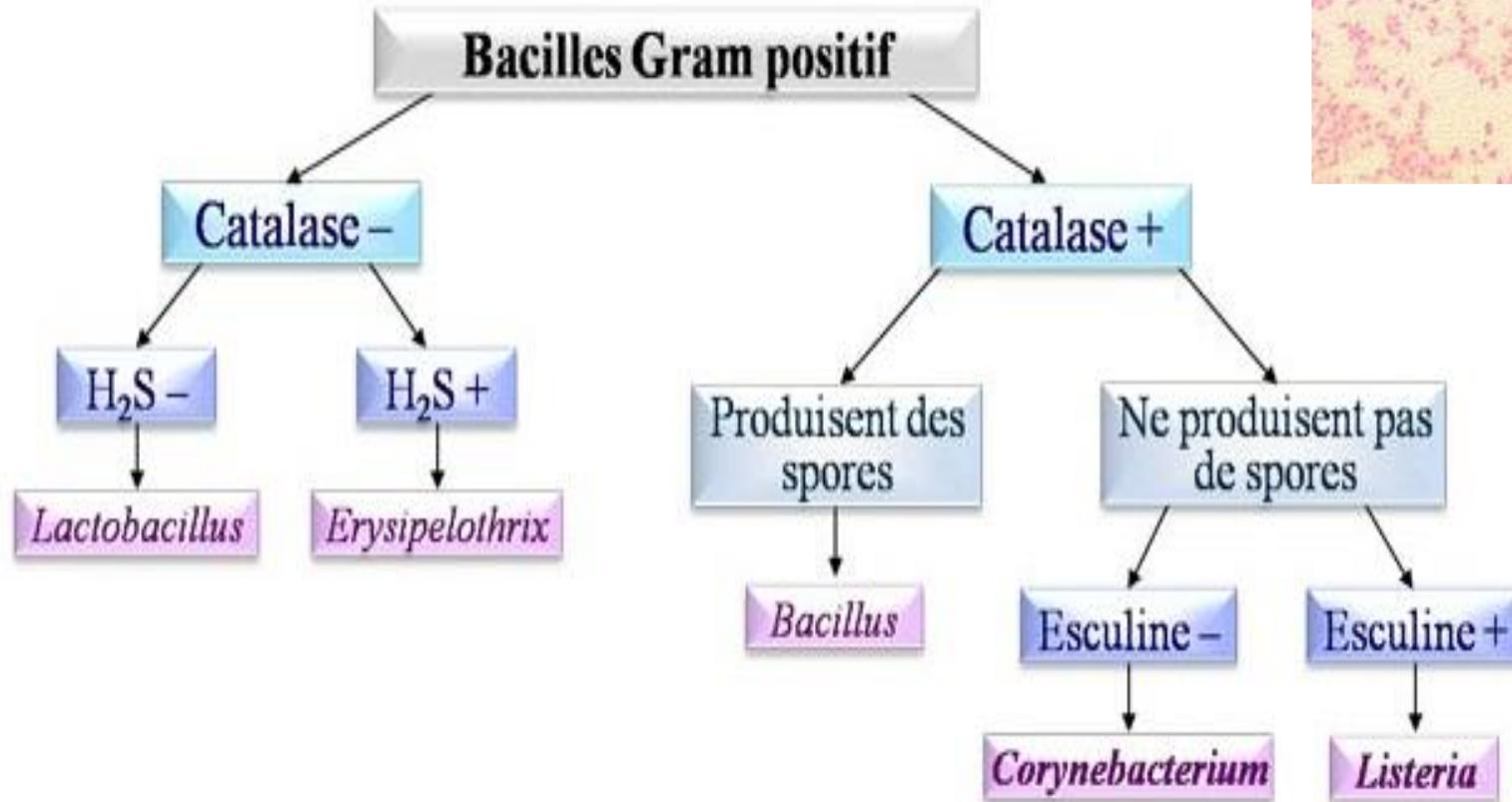
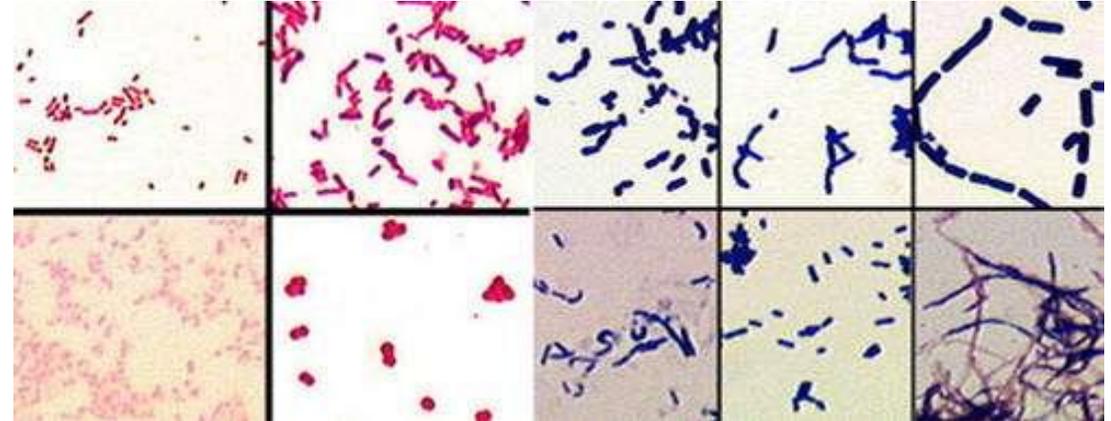


LES BACILLES À GRAM POSITIF



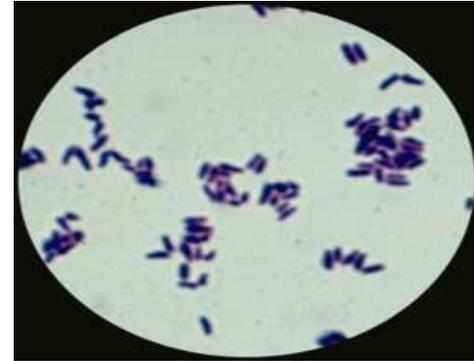
Introduction

Bacilles Gram positif



Structure paroi bactérienne

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

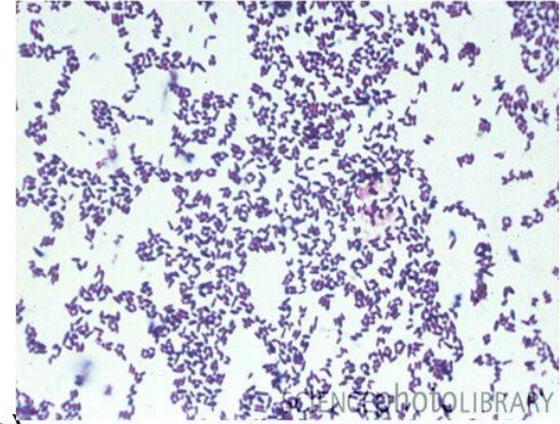


Introduction

- ✓ Le genre **Corynébacterium** appartient à la famille des **corynébacteriaceae**.
- ✓ Il comprend plusieurs espèces, la pluparts étant commensales de l'homme ou des animaux.
- ✓ Très peu d'espèces sont pathogènes ; **Corynébacterium jeikeium** et **C.urealyticum** sont responsables d'infections sur matériel étranger, sur terrain fragilisé, ou après traitements antibiotiques à large spectre.

C. diphtheriae

- Genre corynebacterium
- Bacilles Gram positif « corynéformes »
- Immobile
- Non sporulé
- Non capsulé
- Virulence = toxine (anatoxine diphtérique)



Introduction

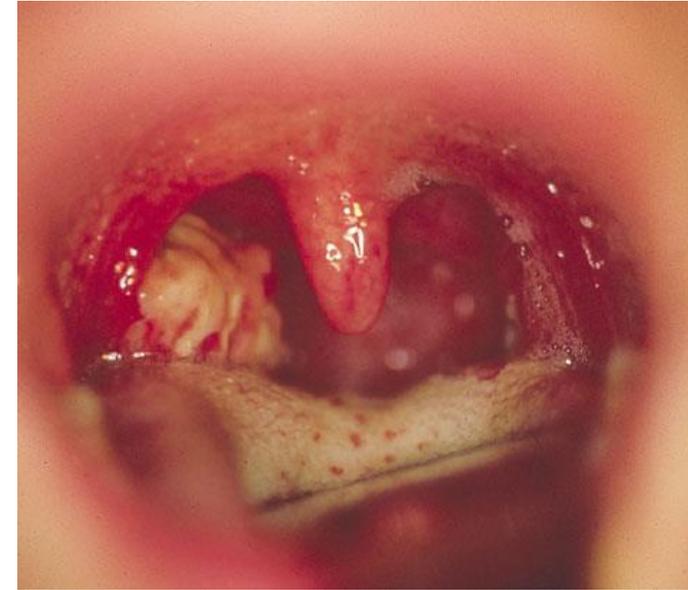
- ✓ *Corynebacterium diphtheriae* est l'espèce type,
- ✓ Elle est responsable de la diphtérie ; Maladie infectieuse contagieuse qui connaît une recrudescence en Europe de l'est, en Asie du sud Est et notamment en Algérie.
- ✓ Les corynébactéries sont des bacilles à **Gram (+)**, non sporulés, immobiles, aéro-anaérobies facultatifs.
- ✓ Ils ont une forme irrégulière avec des renflements à une ou aux deux extrémités, « **forme en massue** » avec un groupement caractéristique en lettre d'alphabet ou en palissade.
- ✓ Au Gram, la coloration est irrégulière à cause des granulations métachromatiques.

Habitat

- ❖ Bactérie strictement humaine, colonise surtout le rhinopharynx.
- ❖ La maladie survient par de petites épidémies, mais la vaccination a diminué son incidence.

La transmission de *C.diphtheriae* d'homme à homme est :

- ✓ Souvent directe par l'intermédiaire des gouttelettes de salive (malades ou porteurs sains)
- ✓ Rarement indirecte par l'intermédiaire d'objets, de poussières ou d'aliments souillés.



Pouvoir pathogène

Deux types de manifestations :

- **Locale** : liées à la multiplication du germe au niveau de la porte d'entrée.
- **Générale** : liées à la toxinogénèse responsables des formes malignes.



Diphthérie commune :

Localisation pharyngée (malaise général; f°;fausses membranes)

Forme laryngée ou croup (dysphonie; dyspnée; asphyxie)

Localisations nasales, conjonctivales, œsophagiennes et vaginales.

Pouvoir pathogène

Diphthérie maligne:

jetage de sang, myocardite et paralysie.



Diphthérie cutanée:

Peut être associée à *S.aureus* et *S.pyogenes*.



Diagnostic bactériologique

A/ Diagnostic direct :

1- Le prélèvement:

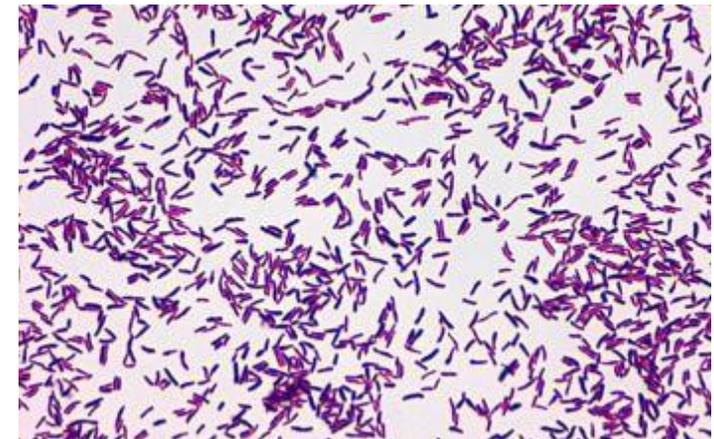
- ✓ Prélever **les fausses membranes** à l'aide d'un écouvillon.
- ✓ Ecouvillonnage à la périphérie de la fausse membrane.
- ✓ Rarement écouvillon nasal, sérosités cutanées.

Acheminement rapide au laboratoire avant dessèchement.



Coloration de Gram:

- ✓ Bacille à Gram (+) droit ou légèrement
- ✓ A extrémité renflée en massue.
- ✓ Groupé en lettres majuscules ,en chiffres romains ou en paquet d'épingles voir en palissade



Diagnostic bactériologique

A/ Diagnostic direct :

La coloration d'Ernest –Neisser:

b)- La coloration d'Ernest –Neisser:

permet de colorer les **granules métachromatiques** contenus dans les extrémités renflées des bacilles

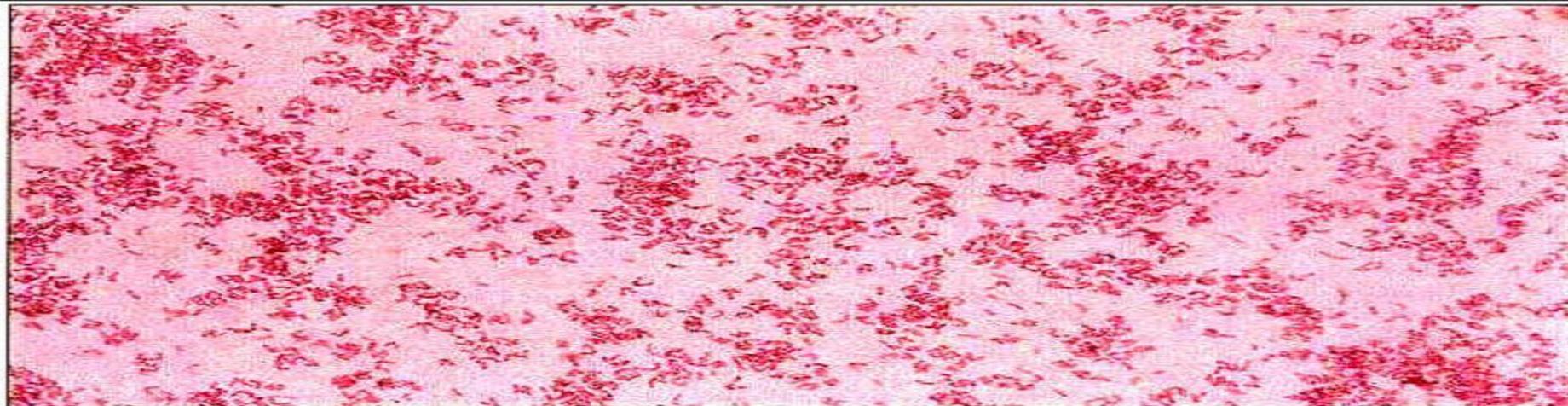


Figure 21:Coloration d'Ernest-Neisser

Diagnostic bactériologique

Culture :

- ✓ Germe aero-anaérobie facultatif.
- ✓ Culture possible sur milieu ordinaire (GN) mais croissance plus rapide sur milieu enrichi (gélose au sang, milieu de Loeffler ou sérum de bœuf coagulé)

on obtient après 12 à 16 h des colonies grisâtres, lisses, crémeuses bêta hémolytiques sur gélose au sang.



[Milieux de culture]

- La culture nécessite de nombreux facteurs de croissance dont le fer
- **Milieu de Loeffler**
 - Milieu classique d'isolement
 - Permet une pousse sélectivement plus rapide (6h) de *C. diphtheriae* que des autres germes de la flore oropharyngée



Milieu de Loeffler
stérile



Milieu de Loeffler
colonies de *C. diphtheriae*

Diagnostic bactériologique

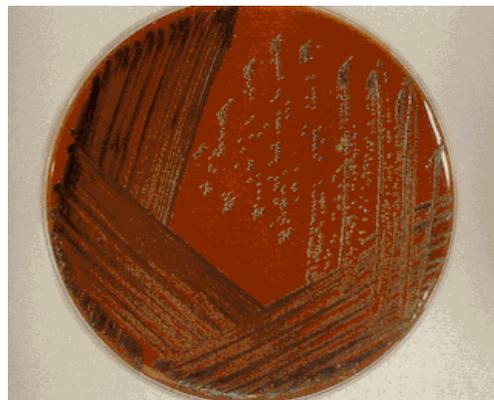
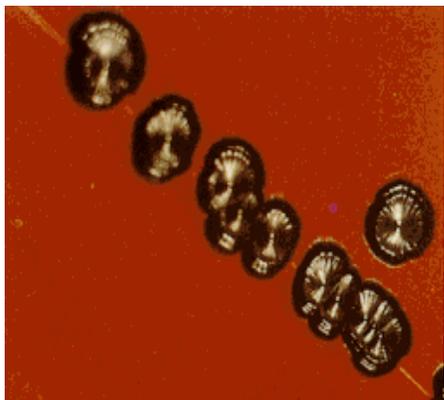
3- Culture :

✓ Sur milieu sélectif :

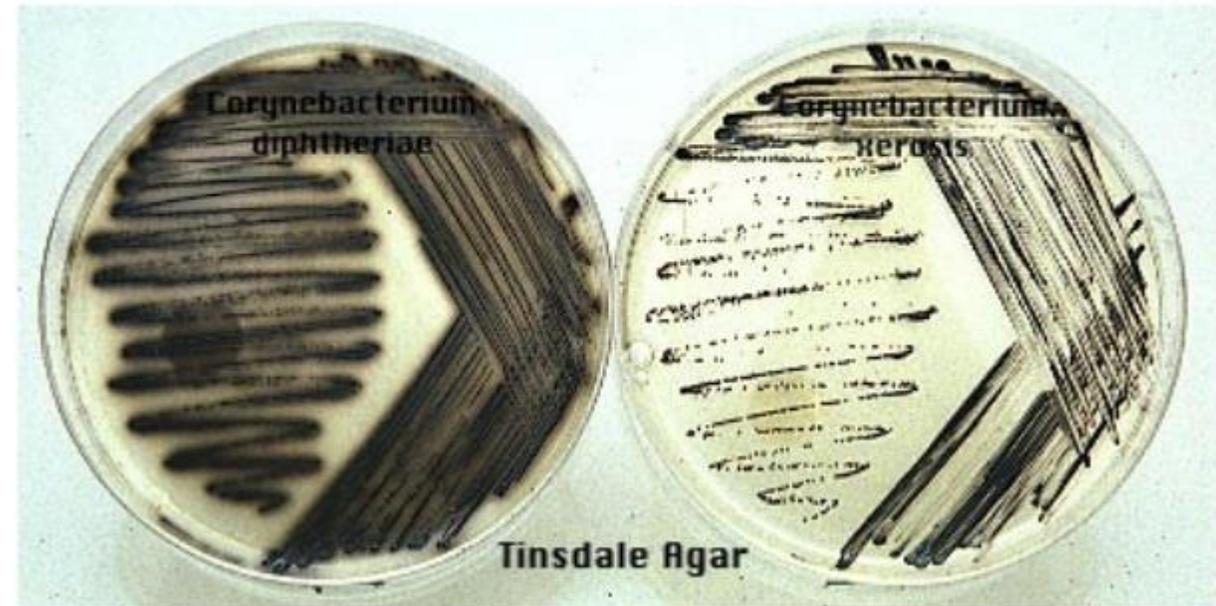
Milieu au téllurite ou milieu de Tinsdale

on obtient après 24 à 48 h des **colonies noires**.

✓ La résistance des Corynébactéries à la Fosfomysine peut être utile pour rendre le milieu sélectif en un disque de Fosfomysine.



[Milieu de Tinsdale]



Diagnostic bactériologique

Recherche de la toxinogénèse

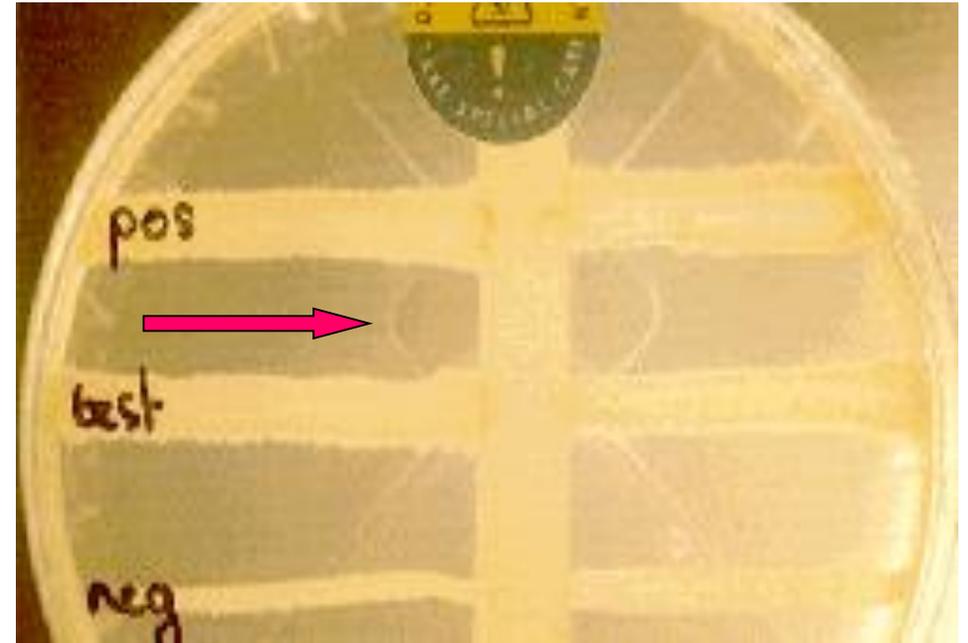
A- In vitro:

Réaction d'immuno-précipitation sur gel « test d'Elek »

➤ Ensemencé parallèlement sur un milieu gélosé la souche à étudier entre 2 souches de référence (Tox+ et Tox-)

B- In vivo :

détermination du pouvoir létale 50%, la DMM, chez le cobaye ou le pouvoir dermonécrotique.



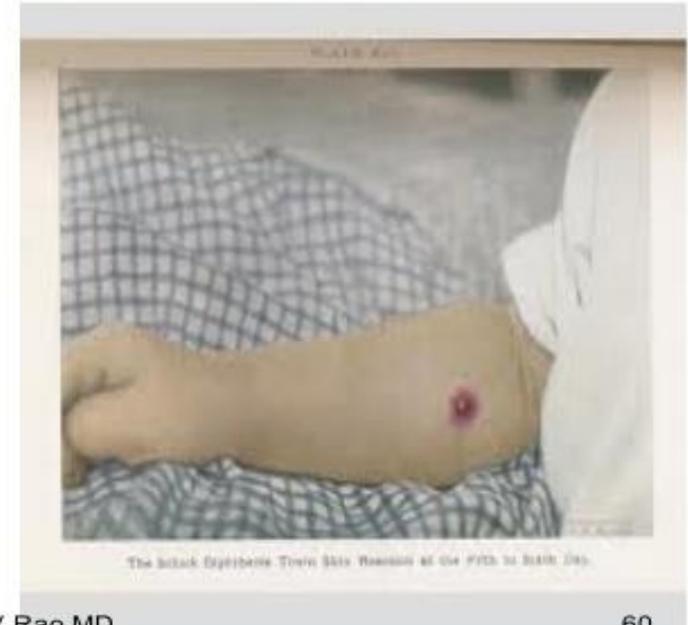
Diagnostic bactériologique

Diagnostic indirect :

- ✓ Dosage de l'antitoxine sérique.
- ✓ Réaction de **Schick** (injection intradermique de toxine diphtérique)

Schick Test

- Injection of toxin I D
- Produces redness/erythematous in 2-4 days
- No reaction – Protective immunity present.



Traitement

A/ Le traitement curatif :

- ✓ Pénicilline G. Si allergie Erythromycine.
- ✓ Sérothérapie pour neutraliser la toxine .

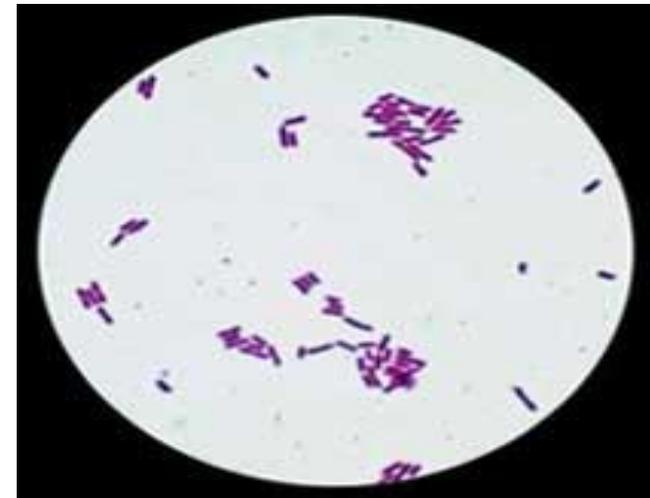
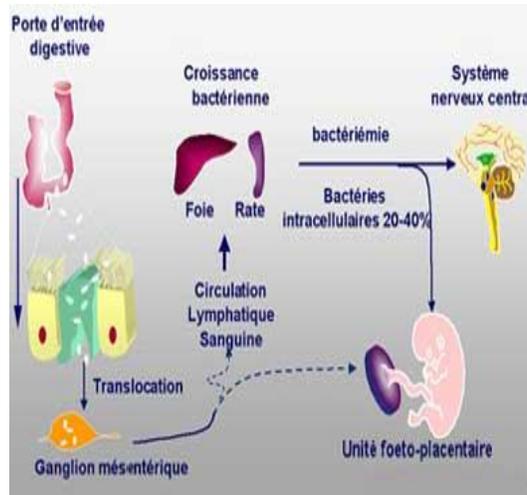
B- Vaccination

la vaccination selon le schéma national.

- ✓ Le DTCoq Hi- HBV: 2 injections (2^{ème} et 4^{ème} mois).
- ✓ Rappel à 12 mois.
- ✓ La maladie n'est pas immunisante



LISTERIA MONOCYTOGENES



Introduction

- Le genre *Listeria* : bactéries largement répandues dans le milieu extérieur.
- Six espèces dont deux, *Listeria ivanovii* et, surtout, *Listeria monocytogenes* sont responsables d'infections chez l'homme et/ou l'animal
- *Listeria monocytogenes* : des bactéries responsables d'infections d'origine alimentaire
- Bactéries résistantes dans le milieu extérieur (survie de 1 à 2 ans dans le sol, 21 mois dans du lait naturellement contaminé)

Epidémiologie

Classiquement, les personnes âgées sont considérées comme faisant partie des sujets à risque .

La contamination des adultes se fait le plus souvent par **voie digestive** et elle résulte soit de l'ingestion d'aliments contaminés soit d'une infection endogène liée à un portage intestinal

Des infections nosocomiales ont également été décrites (transmission par des intubateurs, des couveuses ou des thermomètres)

Elles sont rares et témoignent d'un non-respect des règles d'hygiène.

Pouvoir pathogène

➤ Chez la femme, la contamination durant les 6 premiers mois de **grossesse**:

- Avortement,
- Naissance d'enfants mort-nés ou contaminé.

➤ La contamination de l'amnios est silencieuse mais, un épisode fébrile d'allure pseudogrippal (avant l'avortement ou l'accouchement).

➤ Chez le nouveau-né infecté:

- **Forme septicémique précoce.**
- **Formes méningées plus tardives.**



Chez la mère et de nombreux adultes

Chez le fœtus

Chez le nouveau-né

Chez des adultes immunodéprimés



Pouvoir pathogène

Chez **l'adulte**, la listériose se traduit par:

- **Septicémie** ou
- Infections **du système nerveux central** (méningites, méningo-encéphalites, parfois encéphalites, rarement abcès de cerveau).

D'autres formes ont été décrites :

- Gastro-entérites,
- Endocardites,
- Infections cutanées (papules ou pustules),
- Arthrites,
- Péritonites

Diagnostic bactériologique

Il repose sur l'isolement et l'identification de *L. monocytogenes* à partir des produits pathologiques.

Chez le grand enfant et l'adulte:

- les prélèvements sont orientés par les signes cliniques: hémocultures et ponction lombaire.
- La recherche d'un portage digestif ou vaginal est le plus souvent négative.

Chez la femme enceinte

- Des hémocultures.
- Examen bactériologique du placenta et des lochies est précieux

Chez le nouveau-né:

- Sang
- LCR.
- Liquide gastrique obtenu par aspiration (prélèvement très fiable), du méconium et de la peau

Diagnostic bactériologique

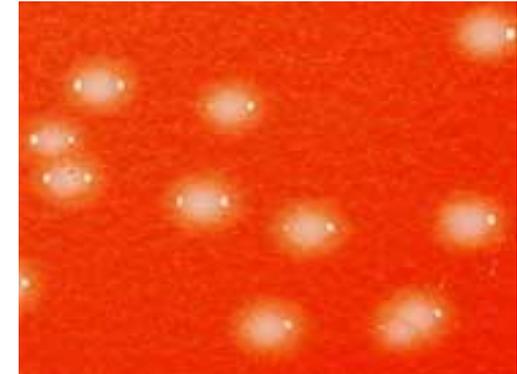
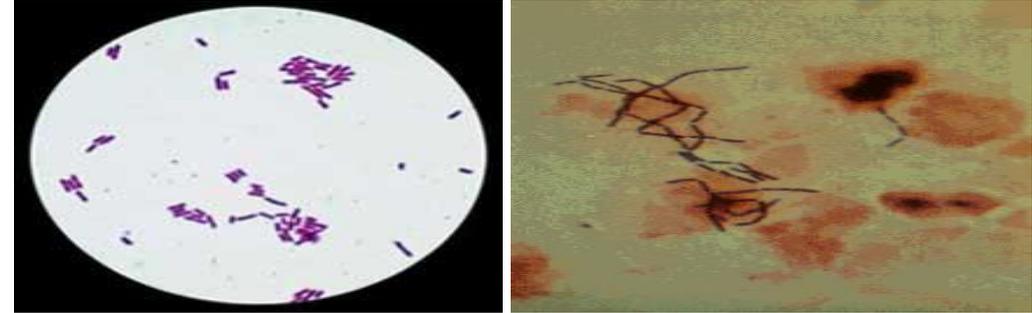
Examen direct :

Petits bacilles à Gram (+) disposés en paire ou en courtes chaînettes.

Après culture en milieu liquide les bacilles peuvent être plus longs et disposés en palissade.

Culture :

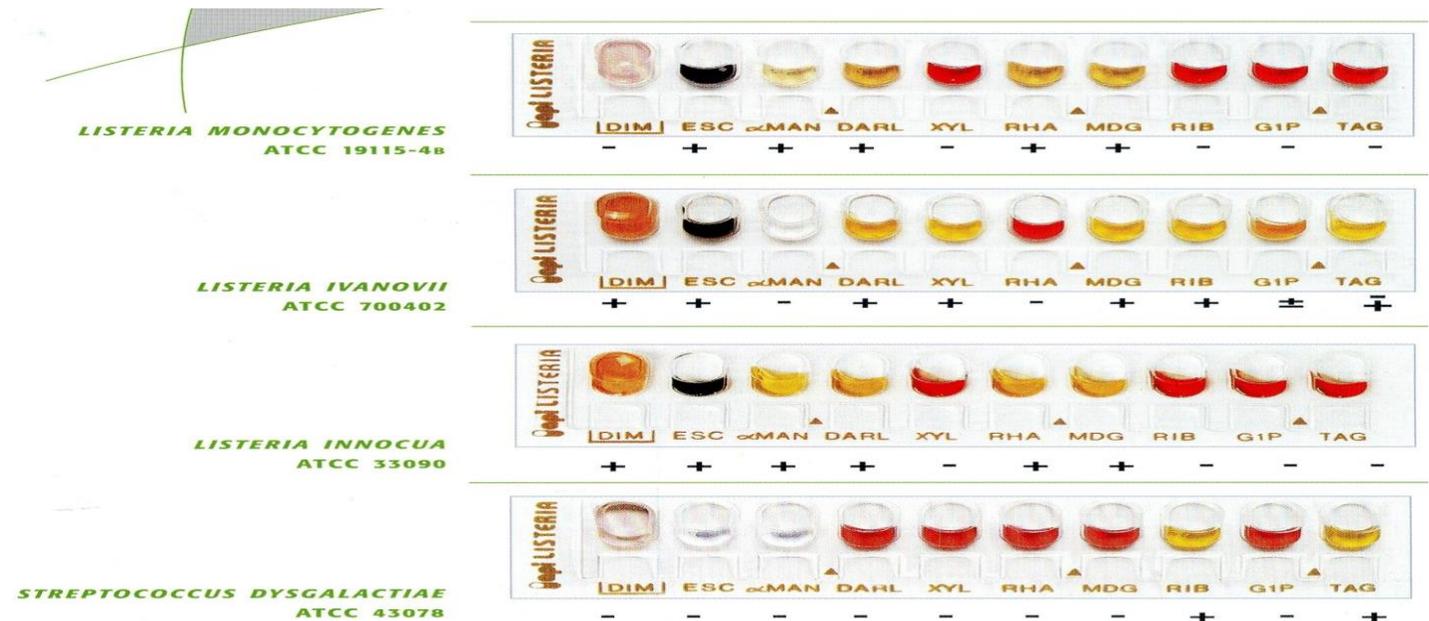
- ✓ Mise en culture immédiate mais si cela est nécessaire la conservation est possible à la température ambiante ou à +4°C.
- ✓ La croissance est obtenue en aérobiose.
- ✓ Après 18 à 36 h d'incubation à 35 °C, les colonies arrondies, lisses, β hémolytiques.



Diagnostic bactériologique

Il est immobile à 37°C, et mobile (péritriche) à 22°C.

Identification biochimique par galerie API



Diagnostic sérologique

Le diagnostic sérologique par :

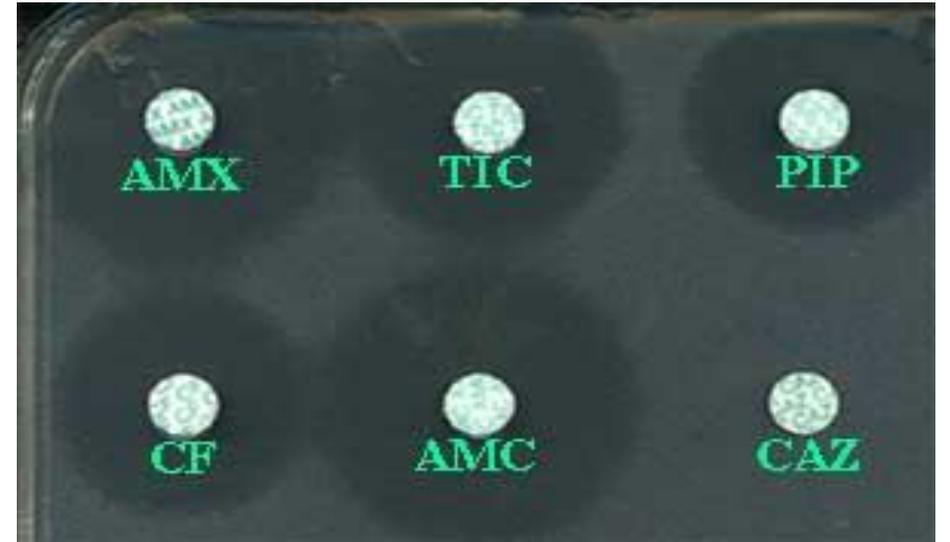
- Agglutination,
- Fixation du complément
- Immuno-précipitation

Peu sensible et peu spécifique.

Traitement

Résistance naturelle est notée vis-à-vis des:

- Céphalosporines (notamment vis-à-vis des céphalosporines de 3ème génération à large spectre comme la céfotaxime ou la céfépime),
- Aztréonam,
- Acide nalidixique,
- Ofloxacine



Traitement

Le traitement de choix demeure l'association Ampicilline + Gentamycine

- ✓ La Vancomycine dans les formes septicémiques .
- ✓ Le Cotrimoxazole dans les infections neuroméningés en cas d'allergie mais problème de résistance.

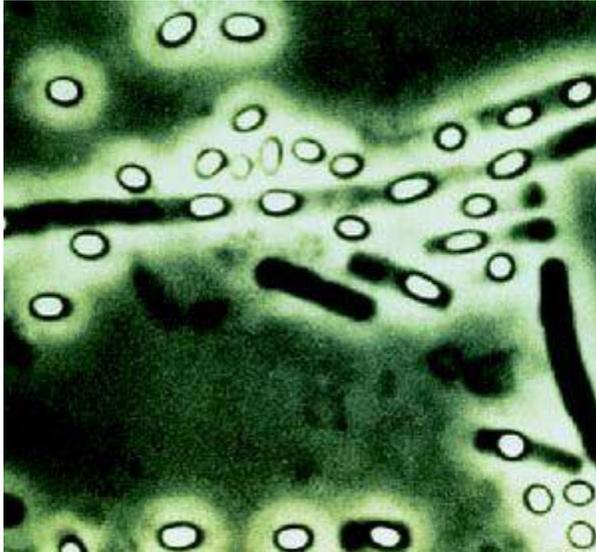
Prévention

Pour prévenir la listériose chez la femme enceinte et l'immunodéprimé, il est recommandé de :

1. Éviter de consommer du lait cru et les produits à base de lait cru (fromage à pâte molle : camembert)
2. Cuire soigneusement les aliments crus d'origine animale.
3. Laver soigneusement les légumes crus et les herbes aromatiques.
4. Se laver les mains et nettoyer les ustensiles de cuisine après manipulation d'aliments crus.
5. Nettoyer fréquemment et désinfecter à l'eau de javel (2 fois par mois)le réfrigérateur.



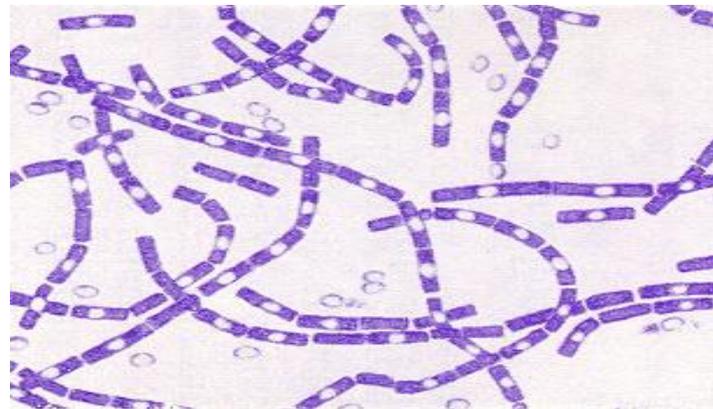
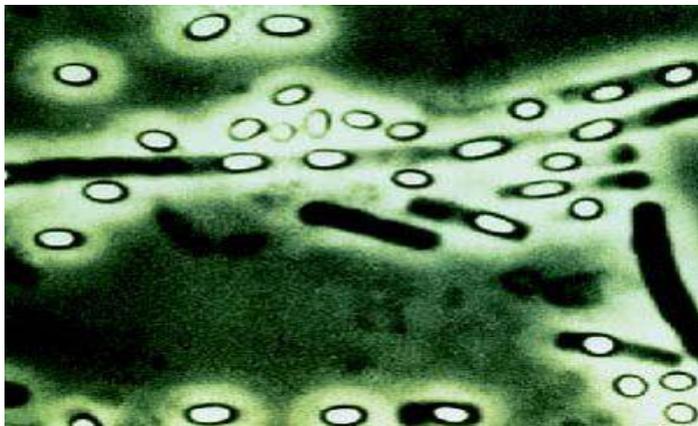
BACILLUS ANTHRACIS



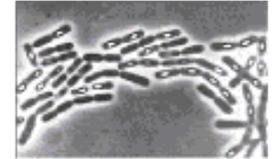
Classification

Le genre *Bacillus* se subdivise en 3 groupes:

- **Groupe I** : Bacille dont la spore n'est pas déformante.
- **Groupe II** : Bacille dont les spores ovales déforment le corps bacillaire.
- **Groupe III** : Bacille dont les spores rondes déforment le corps bacillaire.



Spore centrale non déformante
Exemple : *Bacillus* spp.



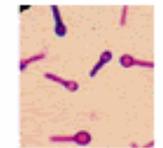
Photographie :
<http://ecbweb.arizona.edu/Grade/hamagham/images/bacillus.gif>

Spore sub-terminale déformante
Exemple : *Clostridium* spp.

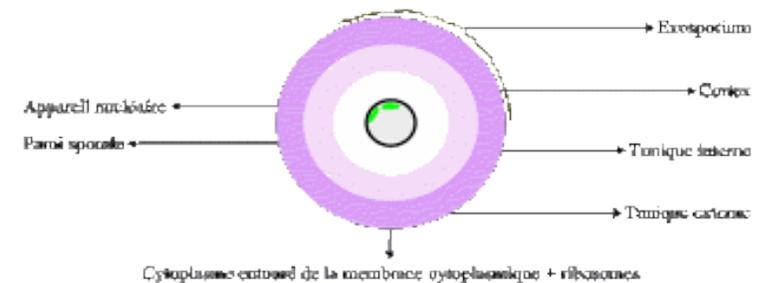


Photographie :
<http://phal.cdc.gov/>

Spore terminale déformante
Exemple : *Clostridium tetani*



Photographie :
<http://www.microbes-edu.org/cuidbank/images/ctbank.jpg>



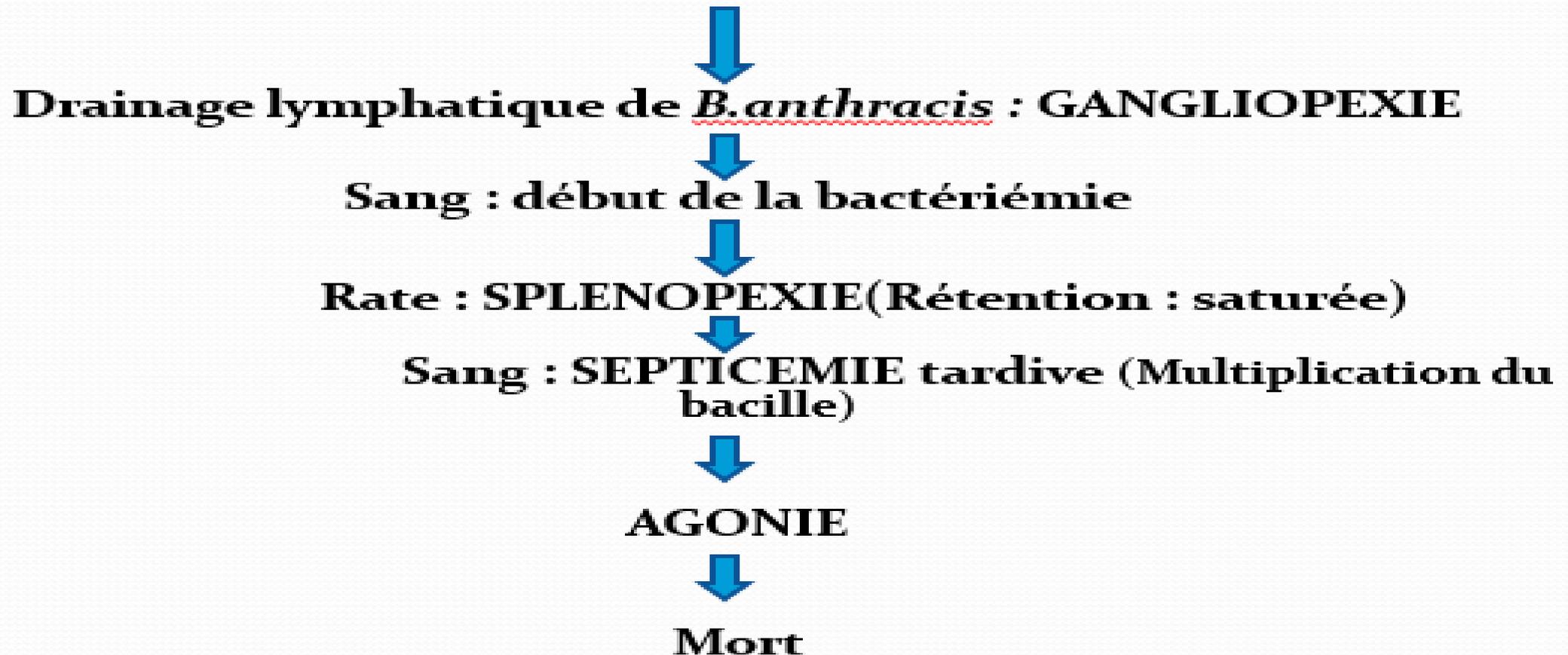
Classification

- Le genre *Bacillus* comprend des bactéries en forme de bâtonnets généralement mobile, sporogène à Gram +
- Au sein de la vingtaine d'espèce qui constituent ce genre, une espèce se détache nettement des autres en raison de l'importance de son pouvoir pathogène :
- *Bacillus anthracis* : Agent pathogène du Charbon (zoonose)
- Maladie touchant les animaux et l'homme .
- La maladie du charbon ou anthrax est une infection bactérienne due à l'espèce : *Bacillus anthracis*



Physiopathologie

Après leur pénétration dans les tissus, les spores germent et donnent naissance à des bacilles qui s'encapsulent puis se multiplient et pénètrent dans les ganglions lymphatiques afférents



Due à l'action de la toxine charbonneuse et non pas par la multiplication bactérienne

Pouvoir pathogène

❖ Animaux :

La pathologie varie selon l'espèce animale et le mode de contagion

Il existe le charbon externe et le charbon interne.

Pour le mouton la pathologie est sub aiguë avec une évolution rapide vers la mort en quelques heures. Pour le cheval et le bœuf la pathologie est aiguë ,elle est fatale en 1 à2 jours .

Pouvoir pathogène

Le charbon externe est plus fréquent

➤ **Charbon externe : charbon cutané**

- L'infection humaine a lieu habituellement au niveau d'une coupure ou d'une éraflure de la peau : Charbon cutané
- L'incubation est de 1 à 15 jours.
- Débuts des signes : Apparition de pustule cutanée qui s'ulcère dite « Escarre » noirâtre entourée d'un bourrelet rouge.
- Symptômes : céphalée, fièvre, nausées.

Remarque : En cas de localisation au cou, cet œdème peut entraîner une asphyxie par compression des voies respiratoires >.



Pouvoir pathogène

Charbon interne

➤ Charbon pulmonaire :

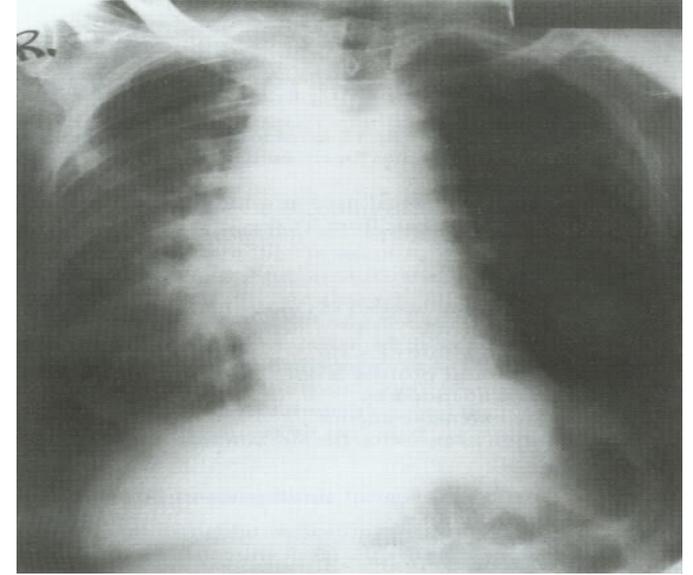
Par inhalation d'endospores à partir de produits contaminés

Incubation : de 10 jours à 6 semaines.

Débuts des signes : fièvre, toux non productive accompagnée de myalgie et de malaises.

Après 1 à 3 jours : la maladie prend un aspect suraigu avec dyspnée, toux stridente et frissons

La mort est rapide après 3 jours (en absence de traitement)



Pouvoir pathogène

➤ **Charbon gastro-intestinale :**

Les symptômes apparaissent de 2-5 jours après l'ingestion de spores contaminant l'aliment (viande)

Grâce à une ulcération de la muqueuse digestive, il y aura une multiplication intense des bactéries entraînant des diarrhées nécrose de la muqueuse associé d'un œdème puis d'une ascite suivie parfois de la mort.

➤ **Autres formes :**

- Oro-pharyngée

- Méningite

- Charbon systémique (héroïnomane ,au laboratoire après une autopsie)

Structure antigénique

➤ **Antigène capsulaire** : polypeptide polymère d'acide glutamique avec liaison en δ

Rôle :

- Dans la virulence : empêchant la phagocytose par les macrophages .
 - Neutralisé le pouvoir bactéricide du sérum
 - Rend le sang inagglutinable
 - Provoque la synthèse d'anticorps anticapsulaire (protège que la souris)
- **Antigène somatique** : polysaccharides provoquant une réaction de précipitation (Réaction d'Ascoli)
- **La Toxine** : entraîne la formation d'anticorps neutralisants jouant un rôle important dans l'immunité anti-charbonneuse

Produits élaborés

Toxine Charbonneuse : de nature protéique

Composée de trois facteurs qui séparément sont non toxiques.

Les 3 facteurs sont :

- Facteur I : Facteur oedématogène (EF)
 - Facteur II : Facteurs immunogène (PA)
 - Facteur III : facteur létal (LF) .
-
- Les facteurs I et II réunis provoquent un œdème chez le lapin du à l'augmentation de l'AMPc
 - L'injection du facteurs III et II : mort de la souris
 - L'action toxique des souches varie selon la production respective de ces 3 facteurs, certaines sont très oedématogène , d'autres le sont peu .
 - La synthèse de la toxine est délicate à contrôler car la toxinogenèse est fugace (entre la 4 ème et la 7 ème heures de culture).

Pouvoir pathogène

Le seul diagnostic de certitude est
bactériologique

**Cette bactérie appartient au groupe de
risque biologique 3.**



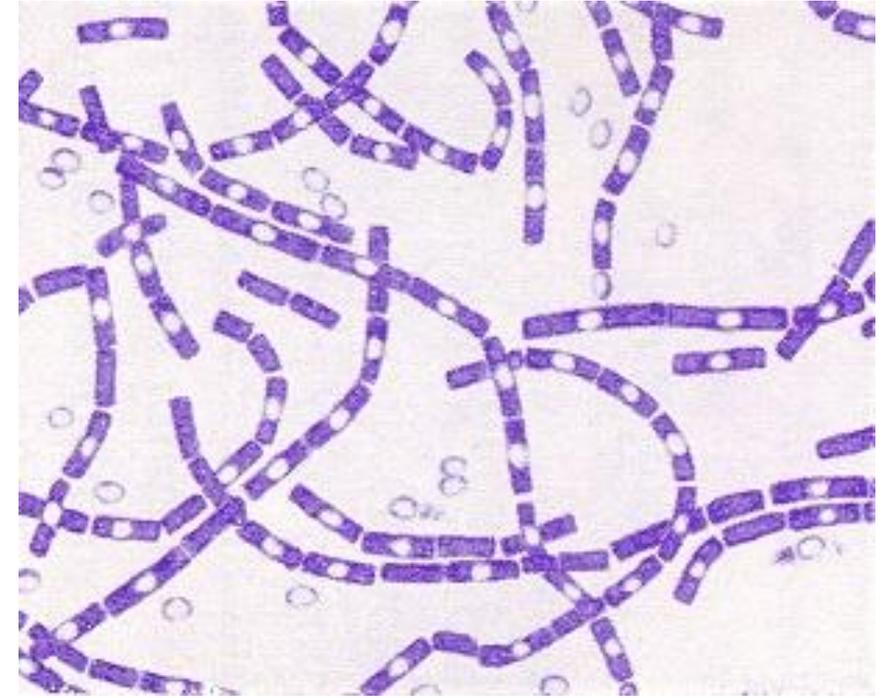
Prélèvements

- **Animaux** : fragments d'organes ou d'un os long (autopsie) ,os broyé , aliment composé et peaux .
- **Homme**: prélèvement à partir de lésions ,sang , LCR.
- **Contamination par la poudre** :prélèvement nasal (écouvillon plongé stérilement dans du sérum physiologique, celui ci sera introduit dans un emballage plastique et adressé au laboratoire
- **Attaque réelle par inhalation** :rechercher la présence de spores sur narine (+++) ,Front :par simple contact de géloses « count-tact » Mains en apposant la pulpe des doigts à la surface d'une GSF.

Pouvoir pathogène

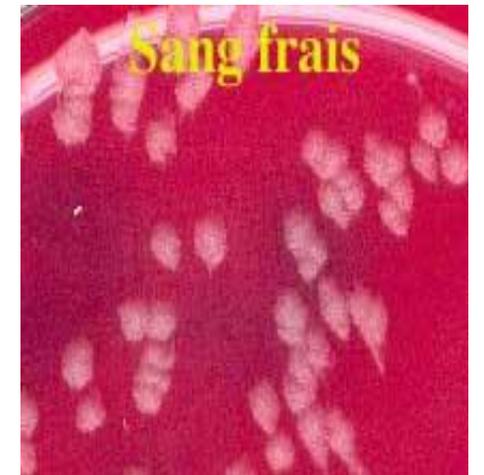
Caractères morphologiques :

- Gros bacille de ($1 \times 2 \mu\text{m}$ - $2 \times 5 \mu\text{m}$) à Gram (+)
- Immobile (contrairement aux autres Bacillus)
- A partir de produits pathologiques : sous forme de courtes chaînettes
- A partir d'une culture : il apparaît sous forme de longues chaînettes de bacille à bout carrés réunis en canne de bambou.



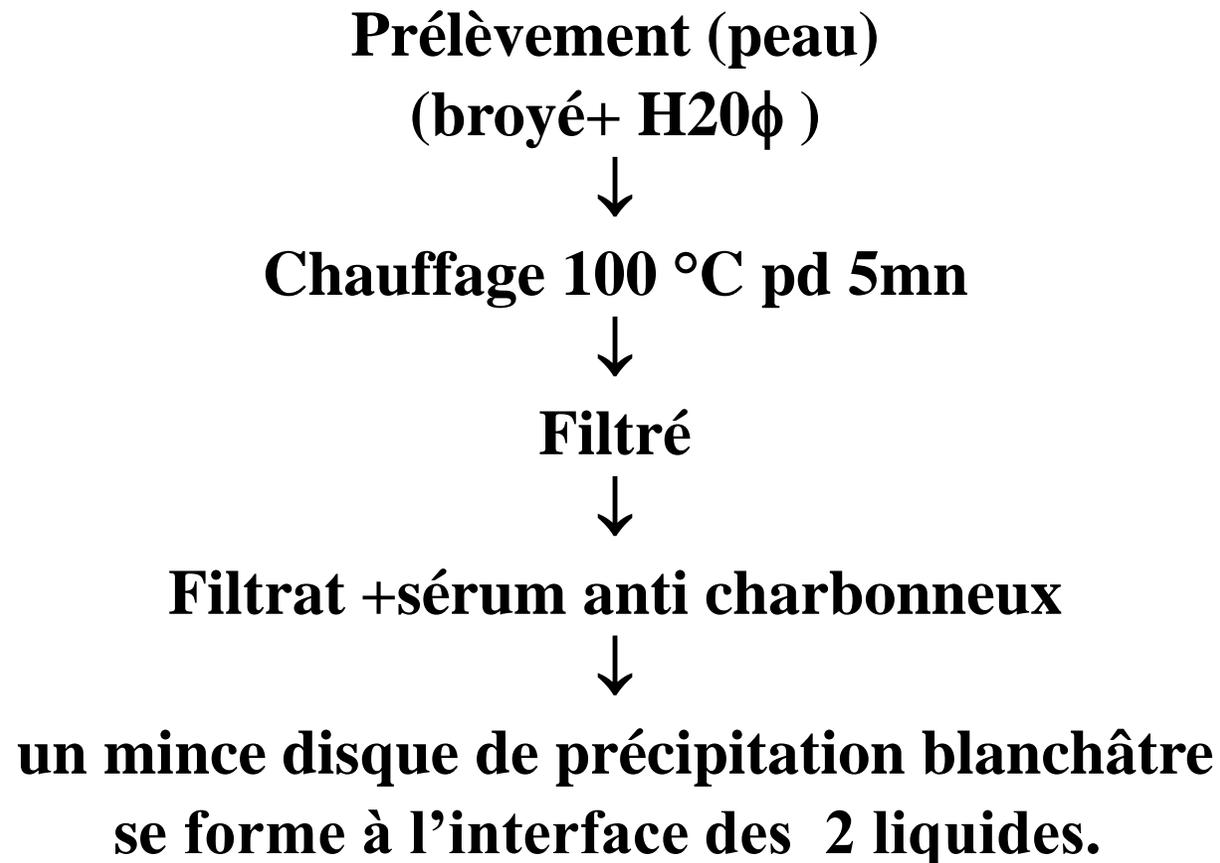
Culture

- *Bacillus anthracis* se développe bien sur milieux usuels à une T° opt 30 à 35 °C avec pH 7-7,4.
- Aéro-anaérobie mais préfère l'anaérobiose.
- **Sur gélose nutritive (GN et MH) les colonies sont :**
 - Blanchâtres à contour découpés irréguliers, surface chagrinées.
- **Sur gélose au sang (GSC et GSF)**
 - Après 6-8 heures d'incubation en aérobiose: les colonies présentent un aspect de type "givrage" .
 - Il s'agit en 18 h, colonies de 2 à 4 mm d'épaisseur à bord découpés, sèches, donc rugueuses. On notera l'absence d'hémolyse ou très faible (après 48 h).
- Identification par galerie API



Diagnostic sérologique

Test d'Ascoli : révèle la présence d'antigènes polysaccharidique somatiques



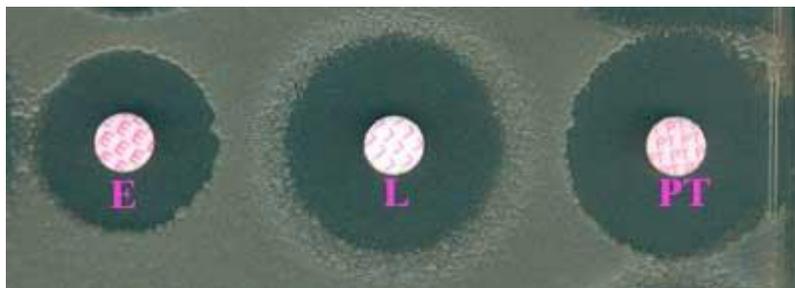
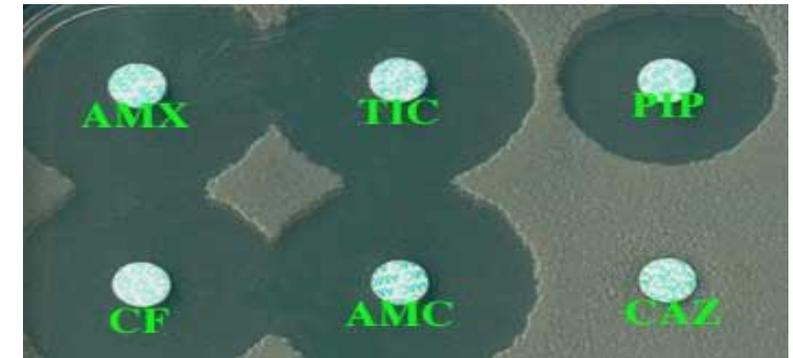
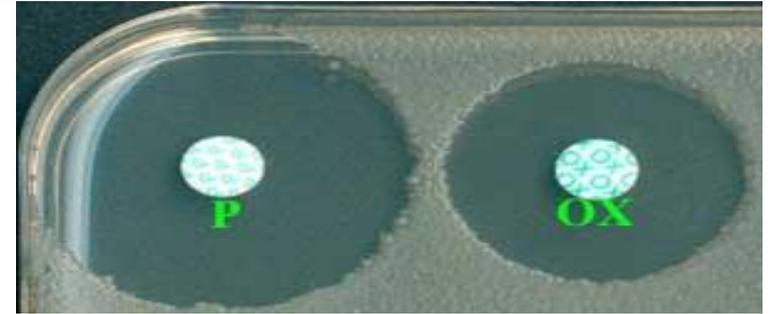
Sensibilité aux antibiotiques

Amoxicilline, Amoxicilline+ac. Clavulanique ,ticarcilline ,céfalotine qui restent sensibles

- Résistance acquise à la pénicilline G liée à la présence de β lactamase
- Résistance naturelle aux C3G.

Sensible aux:

- Aminoglycoside,
- Fluoroquinolones ,
- Macrolides ,
- Tetracyclines
- Glycopeptides.



IDR à l'anthraxine

Le diagnostic allergique (anthrax skin test) mettant en évidence une réaction locale d'hypersensibilité est peu onéreux et permet un diagnostic précoce.

Traitement :

- **Forme pulmonaire** : ciprofloxacine, tetracycline , , doxycycline , erythromycine , clarithromycine , rifampicine et enfin chloramphénicol
- Œdème sévère : corticothérapie:

Prévention

Inhalation de spore : ciprofloxacine (500 mg per os 2 fois par jour) pendant 3j

- Surveillance des animaux
 - Surveillance des produits d'origine animales (région infectée)
 - Destruction des cadavres (incinération ou enfouissement dans une fosse de 2 m de profondeur contenant de la chaux vive .
- Vaccination du cheptel :injection annuelle d'une suspension de spore d'une souches atténuée .
- Vaccination humaine :existe dans certains pays (personne exposée) un vaccin acellulaire (plusieurs injection par voie S/c de 0.5ml répété à 2,4 semaines , 6 mois ,12 et 18 mois)

Après guérison du charbon une immunité solide s'installe .