

Généralités sur les bactéries

DIU pathologies infectieuses :
Prévention, vaccination, traitement
2024-2025

Prof. Alban LE MONNIER

Université Paris-Saclay

Département D4 Sémiologie - Biologie Médicale

Institut Micalis, UMR 1319 Université Paris Saclay,
INRAe, AgroParisTech, Bactéries Pathogènes et Santé

alban.le-monnier@universite-paris-saclay.fr

Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph

Service de Microbiologie Clinique

Plateforme de de dosages des anti-infectieux

alemonnier@ghpsj.fr

Plan du cours

- Historique
- Généralités sur les bactéries
- Morphologie et anatomie
- Structures
 - Éléments constants : paroi , chromosome, ribosomes,
 - Éléments inconstants : capsule, flagelle, pili, plasmide,
- Taxonomie et classifications bactériennes
- Habitat et écosystèmes
- Interactions avec d'autres organismes
 - Du commensalisme à la pathologie
 - Pouvoir pathogène et virulence
- Démarche générale du diagnostic bactériologique

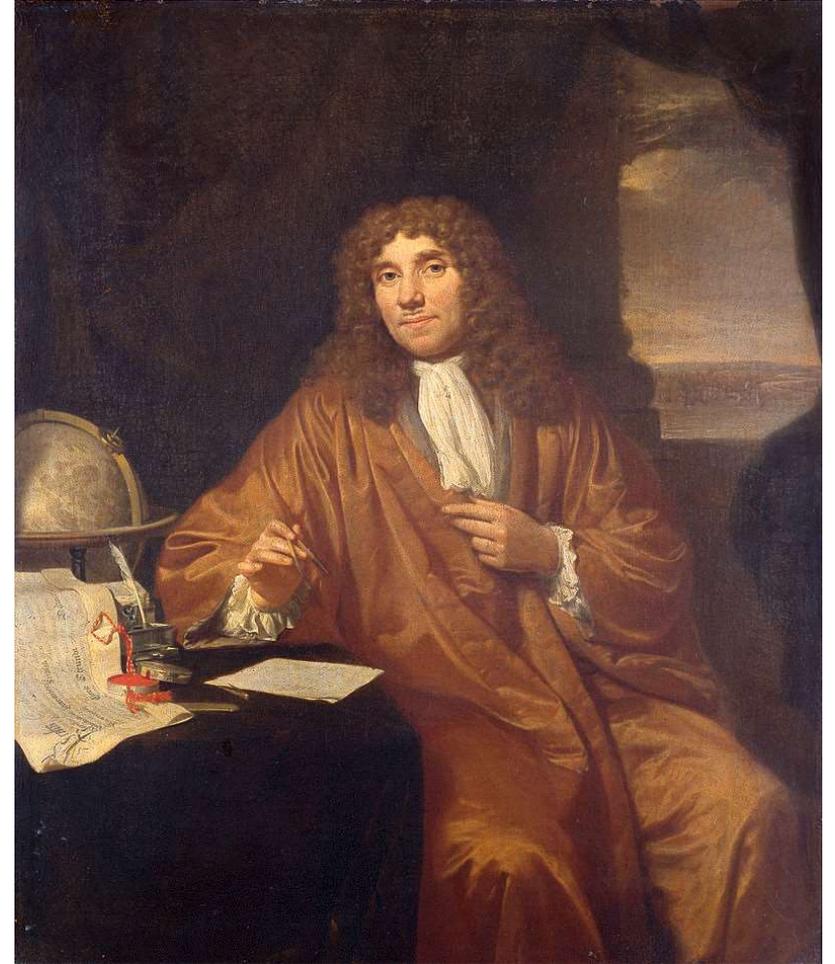
Historique

Être unicellulaire probablement vieux comme le monde
(nos ancêtres procaryote !?)

Antoine van Leeuwenhoek (1632-1723)

Commerçant néerlandais

le premier à observer des bactéries
en 1668
grâce à un microscope de sa
fabrication :
les « animalcules »



=> première naissance de la microbiologie

Louis Pasteur (1822-1895)

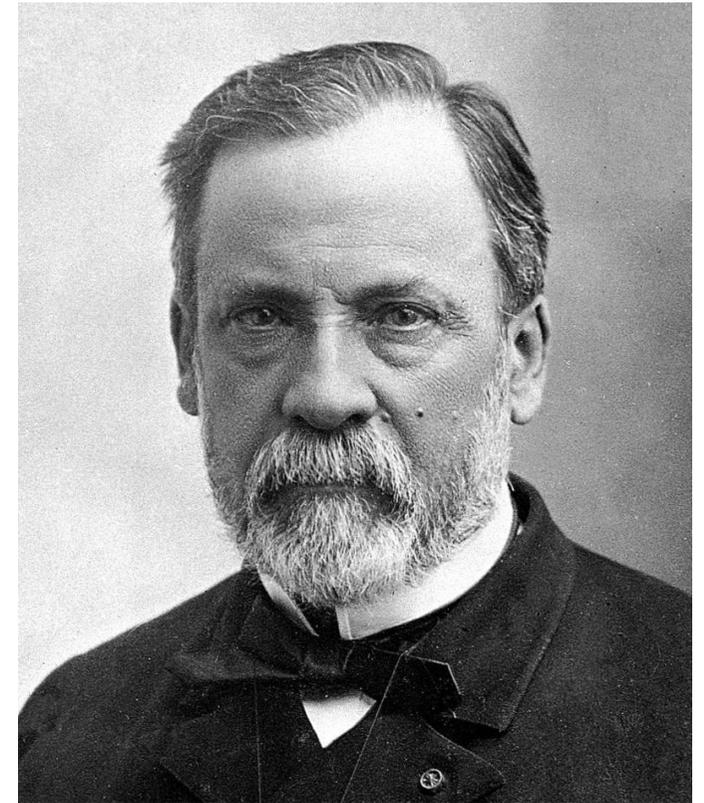
Scientifique français

Révolutionne la bactériologie en démontrant :

- les processus de fermentation sont causés par des microorganismes (1859)
- la croissance des bactéries n'est pas due à la génération spontanée
- le rôle des microorganismes comme agents infectieux

Il est à l'origine

- des premiers milieux de culture,
- des procédés de destruction des microorganismes comme l'autoclave et la pasteurisation
- de la mise au point du vaccin contre la Rage, la maladie du Charbon, ...



Robert Koch (1843-1910)

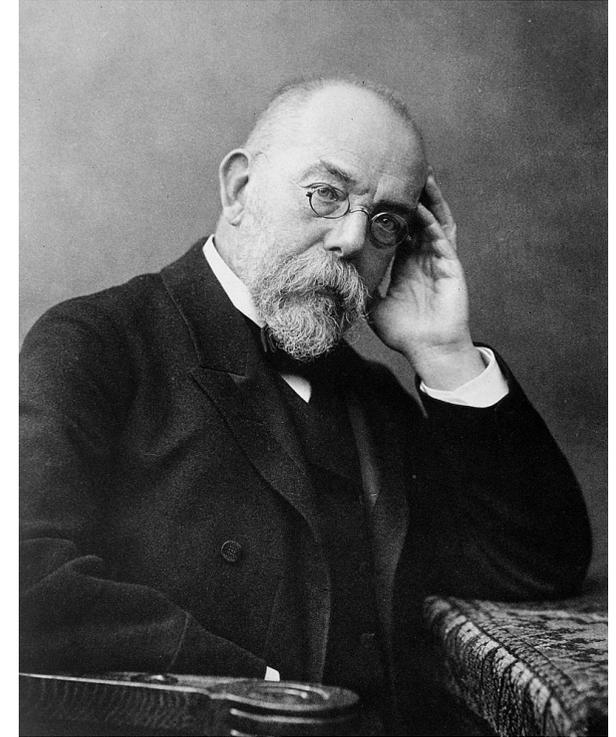
Médecin allemand

Mise au point les techniques de culture des bactéries sur milieu solide.

Découverte de la bactérie responsable de la tuberculose qui porte son nom : « bacille de Koch »

Pionnier de la **microbiologie médicale**, il a travaillé sur le choléra, la maladie du charbon (anthrax) et la tuberculose.

Il démontra de façon claire qu'une bactérie pouvait être l'agent responsable d'une maladie infectieuse confirmant le rôle étiologique d'un microorganisme dans une maladie (**les postulats de Koch**)



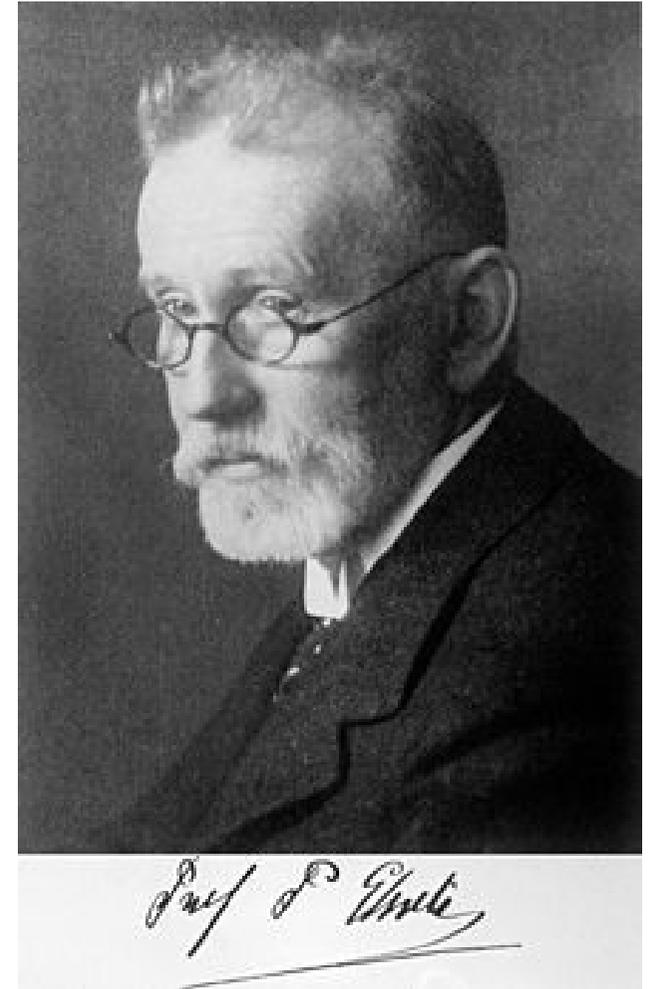
prix Nobel de
physiologie ou
médecine en 1905

Paul Ehrlich (1864-1915)

Scientifique allemand

En 1909, Paul Ehrlich mit au point **un traitement contre la syphilis** bien avant l'utilisation de la pénicilline en thérapeutique

pionnier de l'usage de colorants pour détecter et identifier les bactéries, son travail étant la base de la **coloration de Gram** et de la **coloration de Ziehl-Neelsen**



prix Nobel de physiologie
ou médecine en 1908

Découvertes de quelques bactéries pathogènes

Charbon	<i>Bacillus anthracis</i>	Koch	1876
Blennorragie	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Neisser	1879
Fièvre typhoïde	<i>Salmonella Typhi</i>	Eberth	1880
Tuberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Koch	1882
Choléra	<i>Vibrio cholerae</i>	Koch	1883
Diphthérie	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Klebs/Loeffler	1883
Tétanos	<i>Clostridium tetani</i>	Nicolaier	1885
Diarrhée	<i>Escherichia coli</i>	Escherich	1885
Pneumonie	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Fraenkel	1886
Méningite	<i>Neisseria meningitidis</i>	Weischselbaum	1887
Fièvre ondulante	<i>Brucella sp.</i>	Bruce	1887
Gangrène gazeuse	<i>Clostridium perfringens</i>	Welch et Nuttal	1892
Peste	<i>Yersinia pestis</i>	Yersin/Kitasato	1894
Botulisme	<i>Clostridium botulinum</i>	Van Ermengem	1896
Dysenterie	<i>Shigella dysenteriae</i>	Shiga	1898
Syphilis	<i>Treponema pallidum</i>	Schaudin/Hoffmann	1905
Coqueluche	<i>Bordetella pertussis</i>	Bordet et Gengou	1906
Méningite	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Ricketts	1909

Le 20ème siècle bactériologique

- **Lysozyme** : Fleming, 1926
- **Transformation bactérienne** : Griffith, 1928
- **Pénicilline G** : Fleming, 1929
- **Sulfamides** : Domagk, 1935
- **ADN support de l'hérédité** : Avery, 1944
- **Streptomycine** : Waksman, 1944
- **Conjugaison bactérienne** : Lederberg et Tatum, 1946
- **Phages et lysogénie** : Lwoff, 1950
- **Transduction bactérienne** : Zinder et Lederberg, 1952
- **Structure hélicoïdale de l'ADN** : Watson et Crick
- **Opéron lactose** : Jacob et Monod, 1961
- **Acide nalidixique** : 1962
- **Maladie des légionnaires (*Legionella pneumophila*)** : MacDade, 1977
- **Génie génétique et biotechnologies** : années 80 ...

Généralités

Généralités

Définition

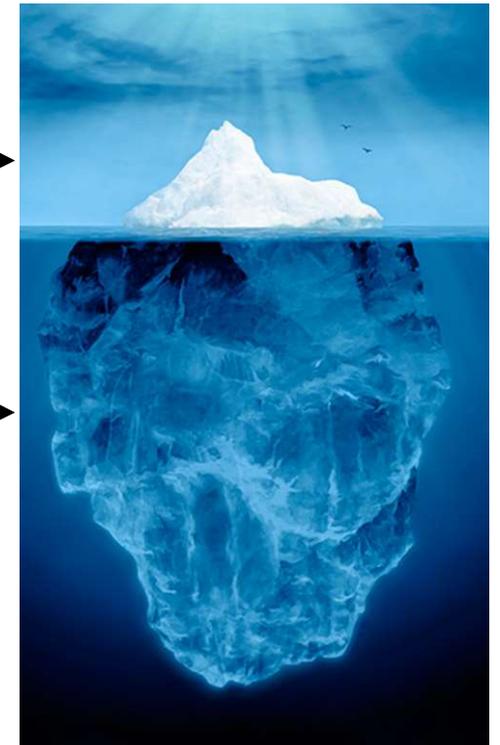
Le terme bactérie est un nom vernaculaire qui désigne certains micro-organismes vivants **unicellulaires** microscopiques et **procaryotes** présents dans tous les milieux.

Nombre d'espèces connues

Il existe environ **10 000 espèces décrites** à ce jour
La diversité réelle des bactéries est probablement supérieure
Certaines sont observables mais non cultivables

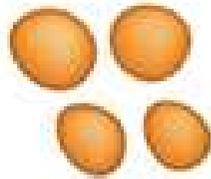
L'estimation du nombre des espèces oscillerait
entre 5 et 10 millions

L'étude des bactéries est la **bactériologie**,
une branche de la microbiologie

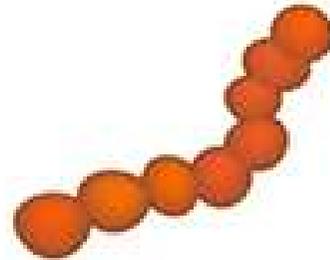


Morphologie et anatomie

Morphologie bactérienne



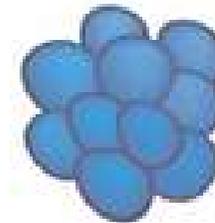
COCCI



COCCI EN CHAÎNE
(streptocoque)



DIPLOCOQUES
(pneumocoque)



COCCI EN AMAS
(staphylocoque)



COCCOBACILLE



BACILLE



BACILLE FUSIFORME



VIBRIONS



SPIRILLE



BORRELIA



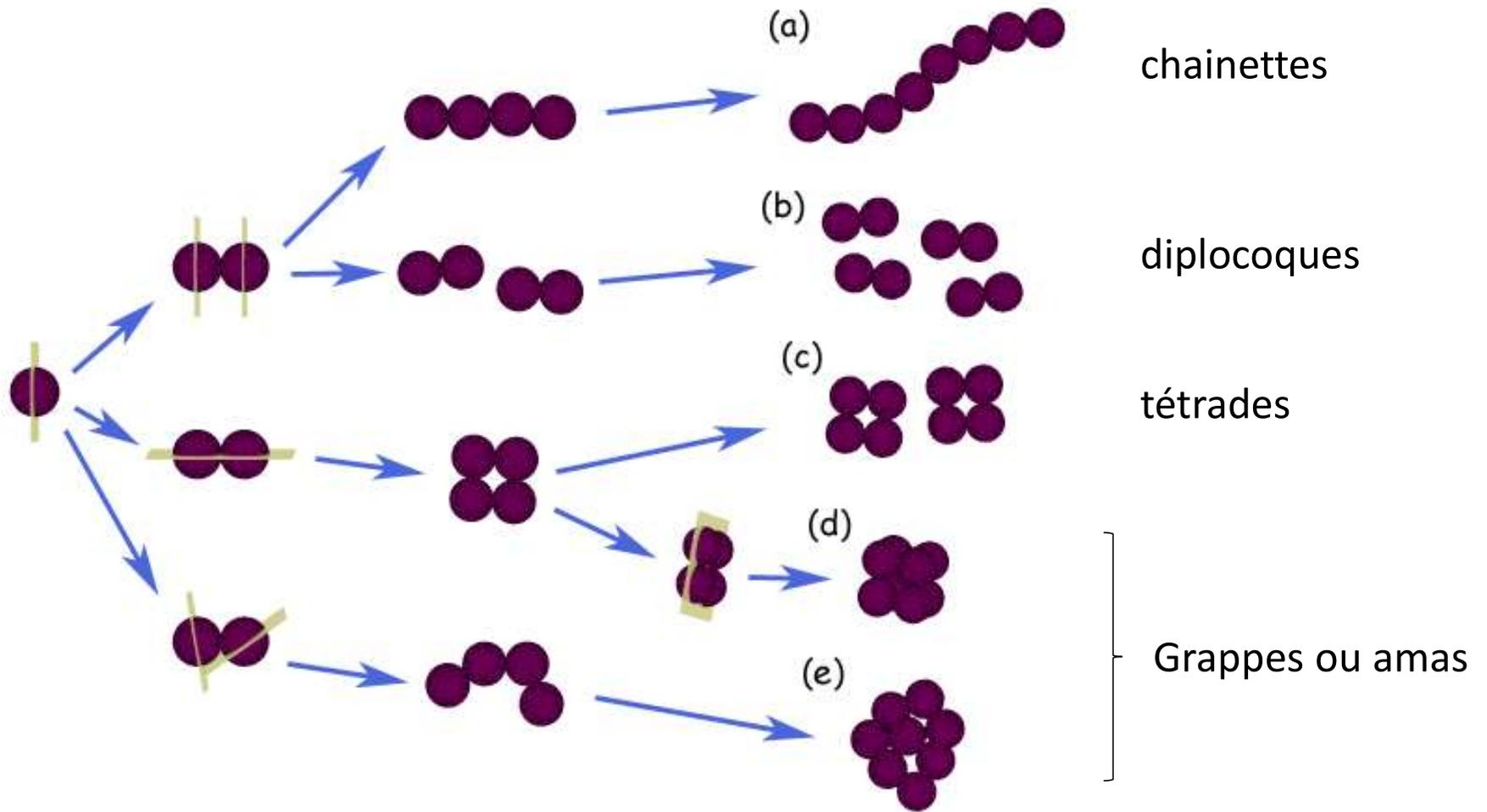
TREPONEME



LEPTOSPIRE

Morphologie bactérienne

Division des cocci

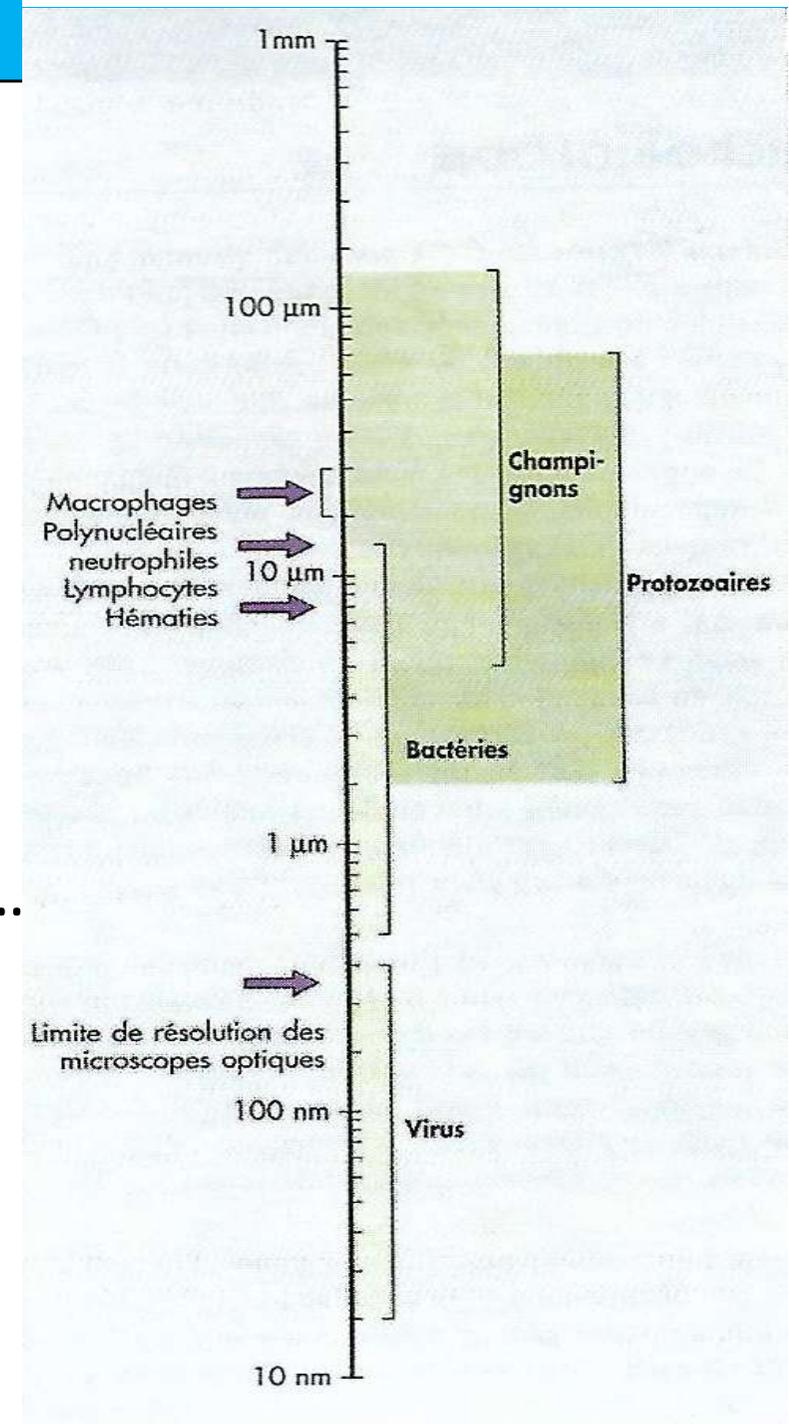


Taille des bactéries

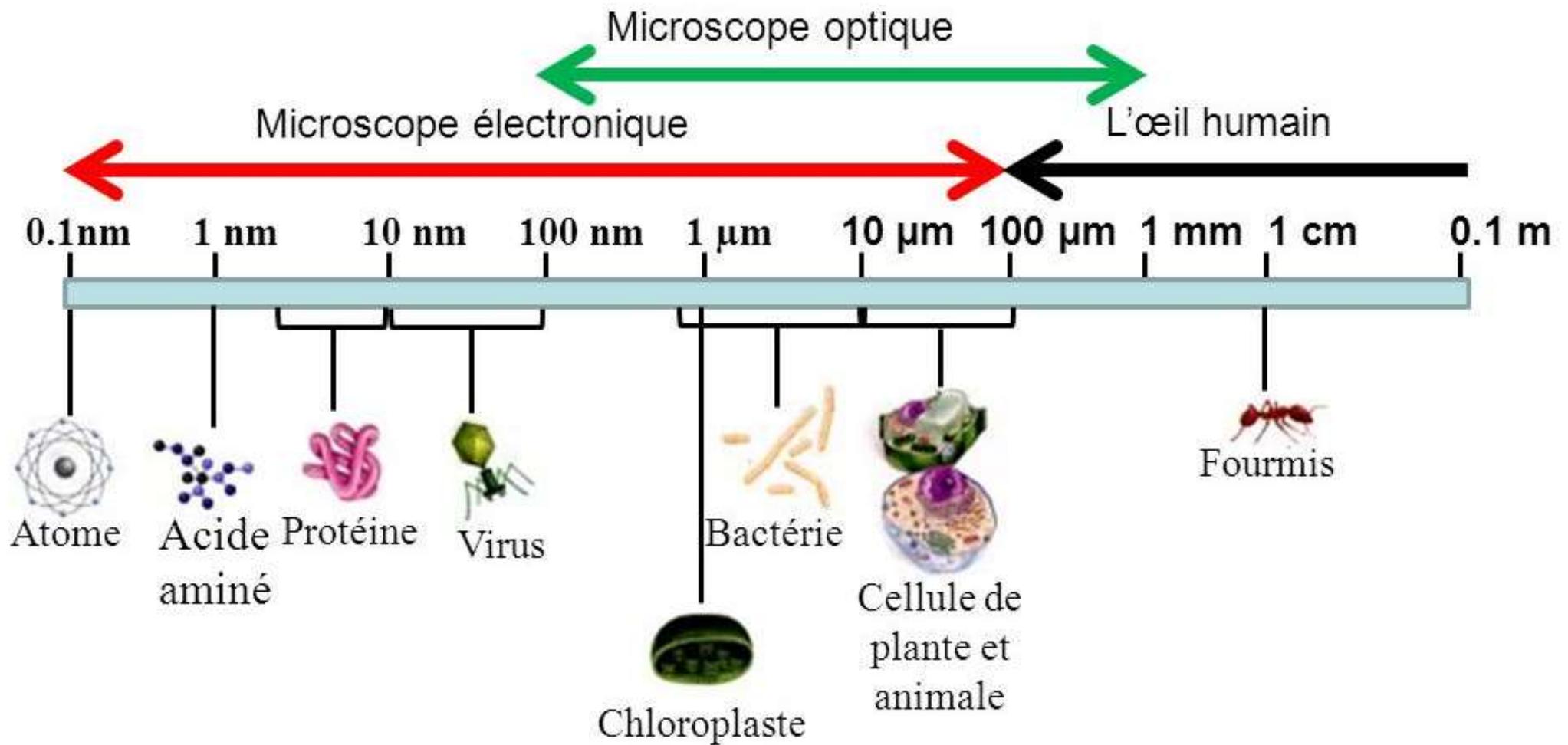
Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2 μm et jusqu'à 10 à 15 μm

Les bactéries les plus petites mesurent 0,2 μm (mycoplasmes) et peut-être moins ...

Tailles relatives des principaux micro-organismes



Domaine du visible



Structure

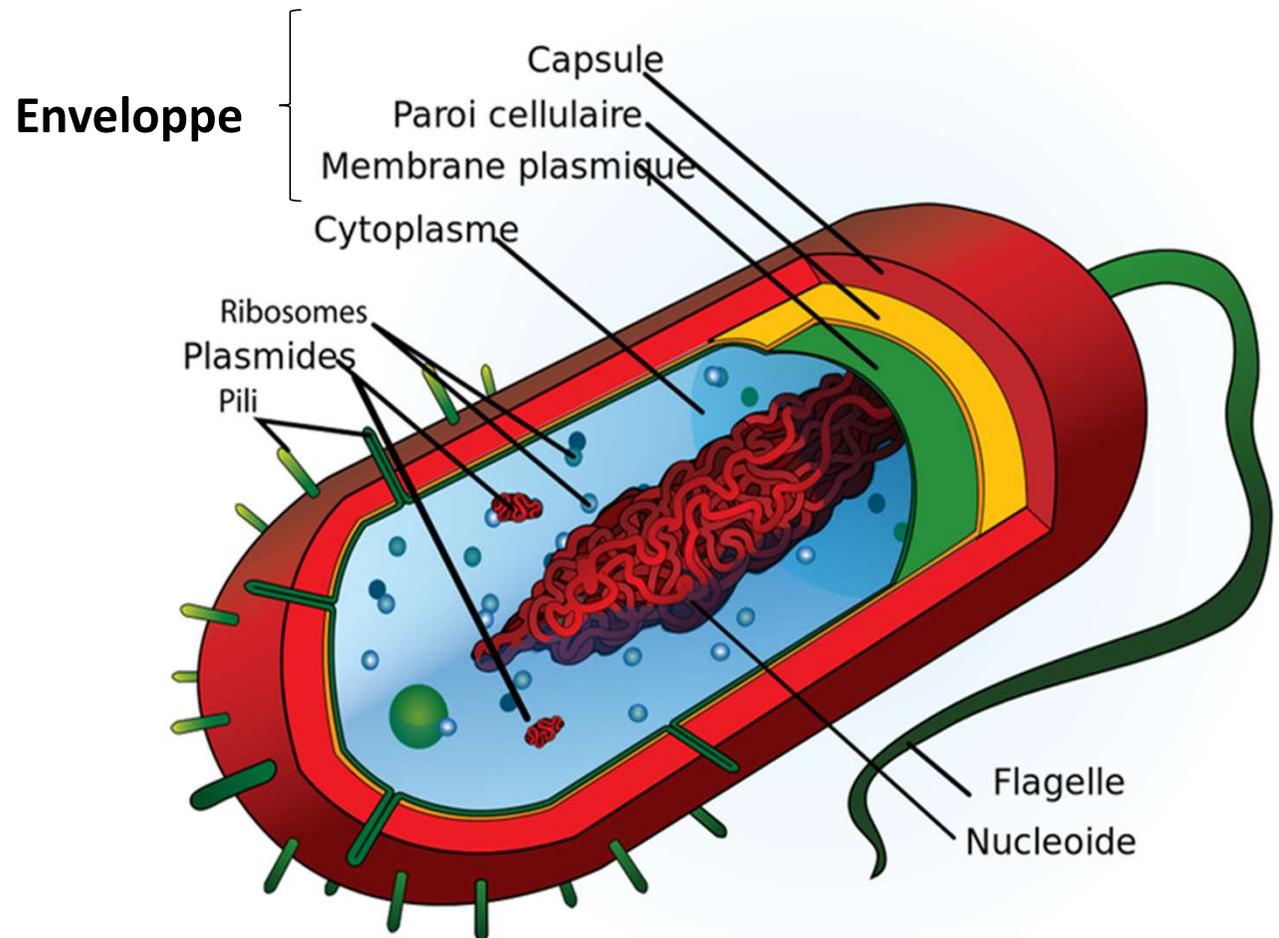
Structures bactériennes

Éléments constants

- Chromosome d'ADN circulaire sans noyau
- Cytoplasme (cytosol)
- Membrane cytoplasmique
- Ribosomes
- Paroi

Éléments inconstants

- Plasmide
- Spore
- Capsule, glycocalyx
- Flagelle et pili



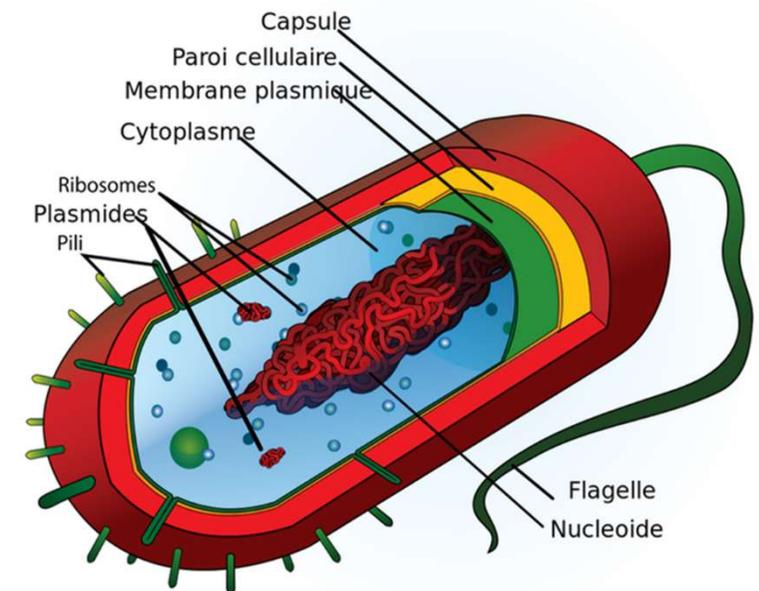
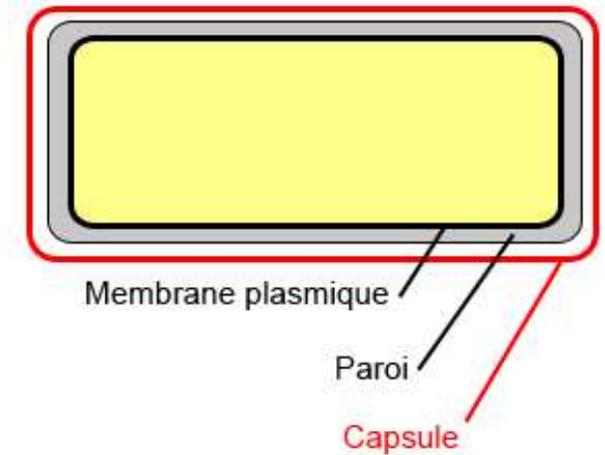
=> Ces structures sont autant de cibles pour les antibiotiques et les vaccins

Enveloppe bactérienne

Les bactéries sont des procaryotes: 10-20 μm .

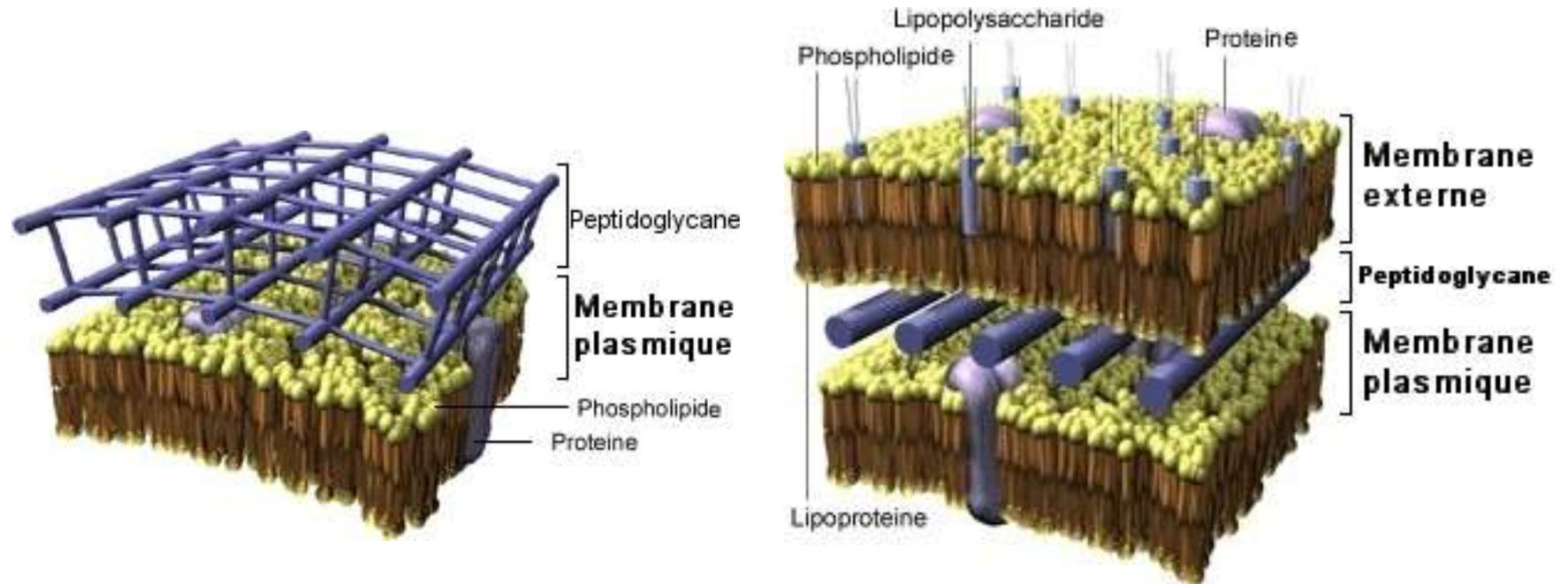
Elles ont une enveloppe :

- Première structure vue par le système immunitaire,
- Elle peut être adhérente (pili, protéines de surface, flagelle)
- Elle peut comporter une capsule
- Rôle de perméabilité (nutrition) et de protection (contre des toxines et les antibiotiques)
- Permet d'identifier et classier les bactéries

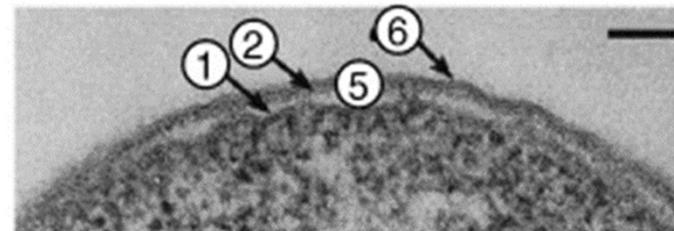
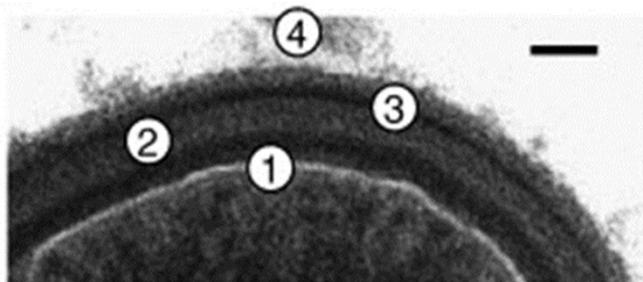


Les enveloppes bactériennes

- Une membrane cytoplasmique bi-lipidique
- Une paroi constituée :
 - un espace périplasmique (lieu de stockage d'enzymes et de nutriments)
 - Couche de peptidoglycane spécifique des bactéries plus ou moins épaisse
 - *+ facultativement une membrane externe bi-lipidique, portant un lipopolysaccharide (LPS)*



Peptidoglycane
épais jusqu'à 90%
de l'enveloppe

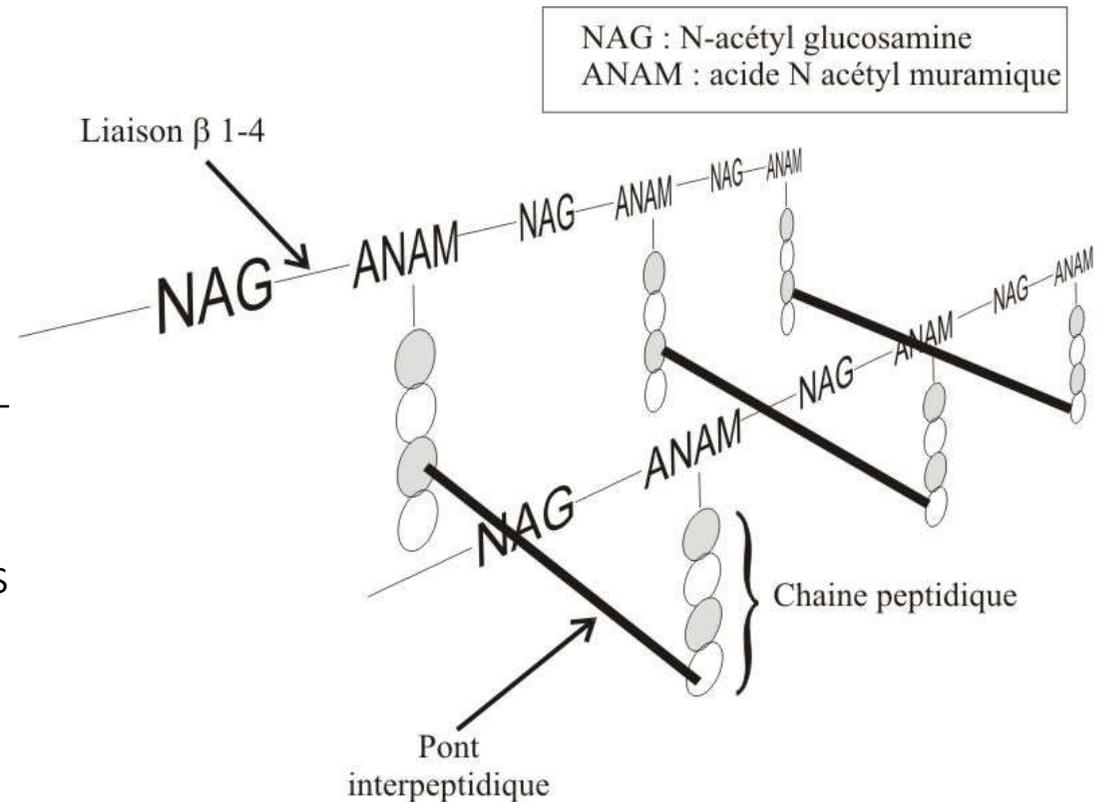


Peptidoglycane
fin jusqu'à
seulement 10 %
de l'enveloppe

Structure moléculaire du peptidoglycane

Élément commun structural spécifique : **peptidoglycane** ou **muréine** ou **mucopeptide**
(de très grande taille qui entoure toute la bactérie)

- polymère de chaînes linéaires de sucres N-acétyl glucosamine (NAG) et d'acide N acétyl muramique (ANAM)
- chaînes liées entre elles par de courtes chaînes peptidiques : tetrapeptides (L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala) au niveau de NAM
- tetrapeptides reliés entre eux par des ponts interpeptidiques grâce à l'action de **transpeptidases** (PLP = Protéines liant la Pénicilline)
- Remaniements par des autolysines
- Synthèse en 3 étapes sur 3 compartiments cellulaires différents



Etapes de la biosynthèse du peptidoglycane

Cytoplasmique

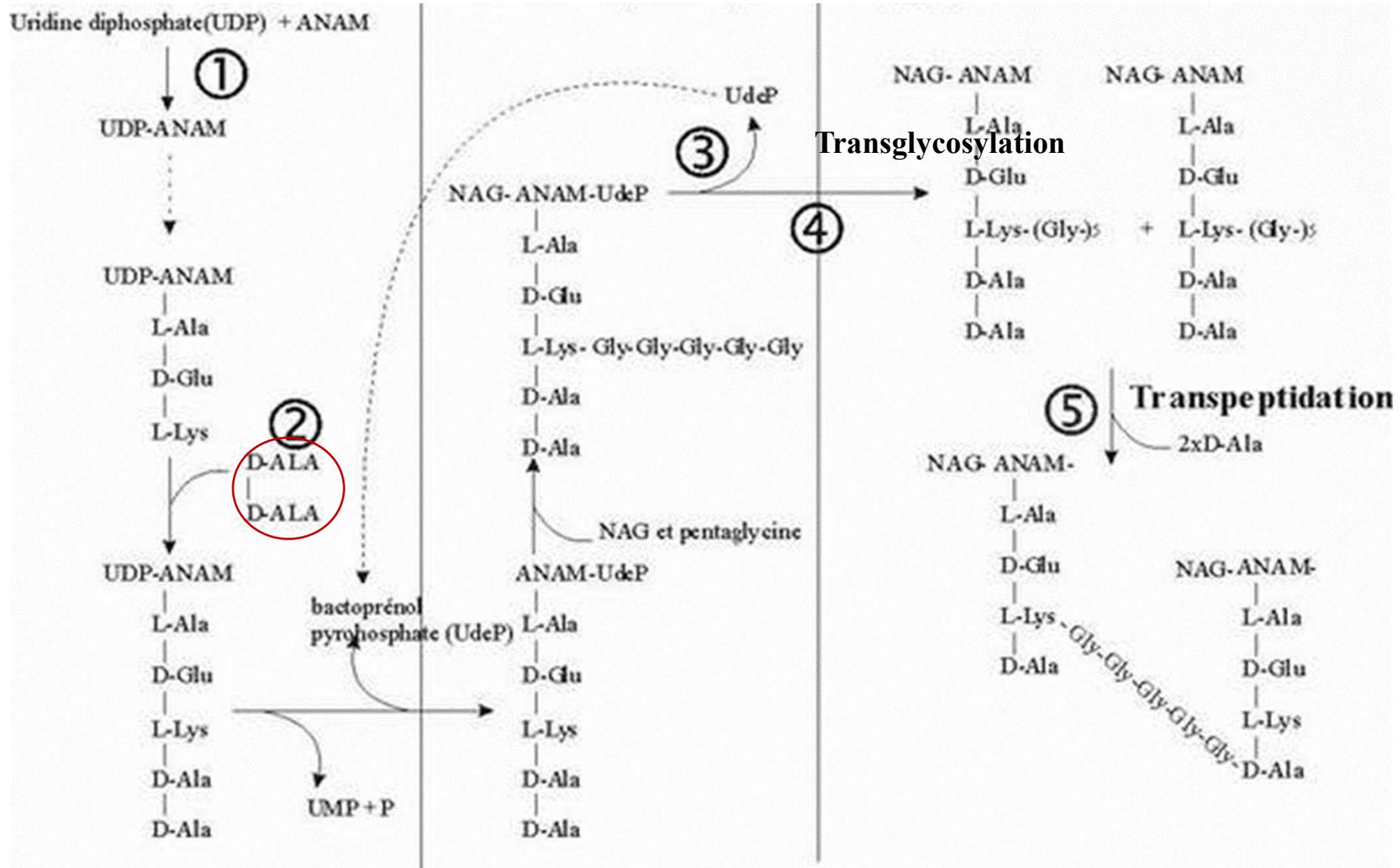
Synthèse des précurseurs

Membranaire

Transport des précurseurs

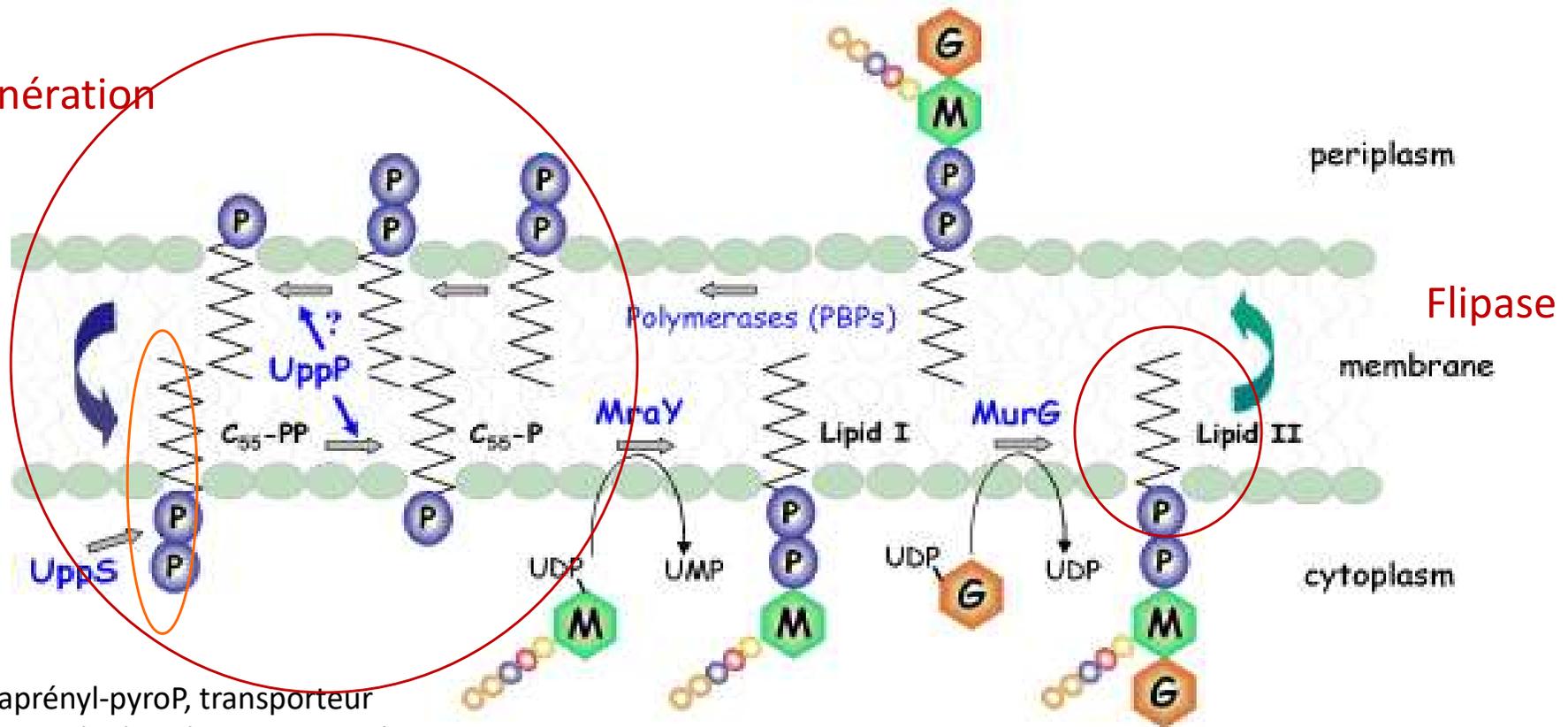
Périplasmique et pariétale

Polymérisation du PG



Biosynthèse du peptidoglycane : étapes membranaires

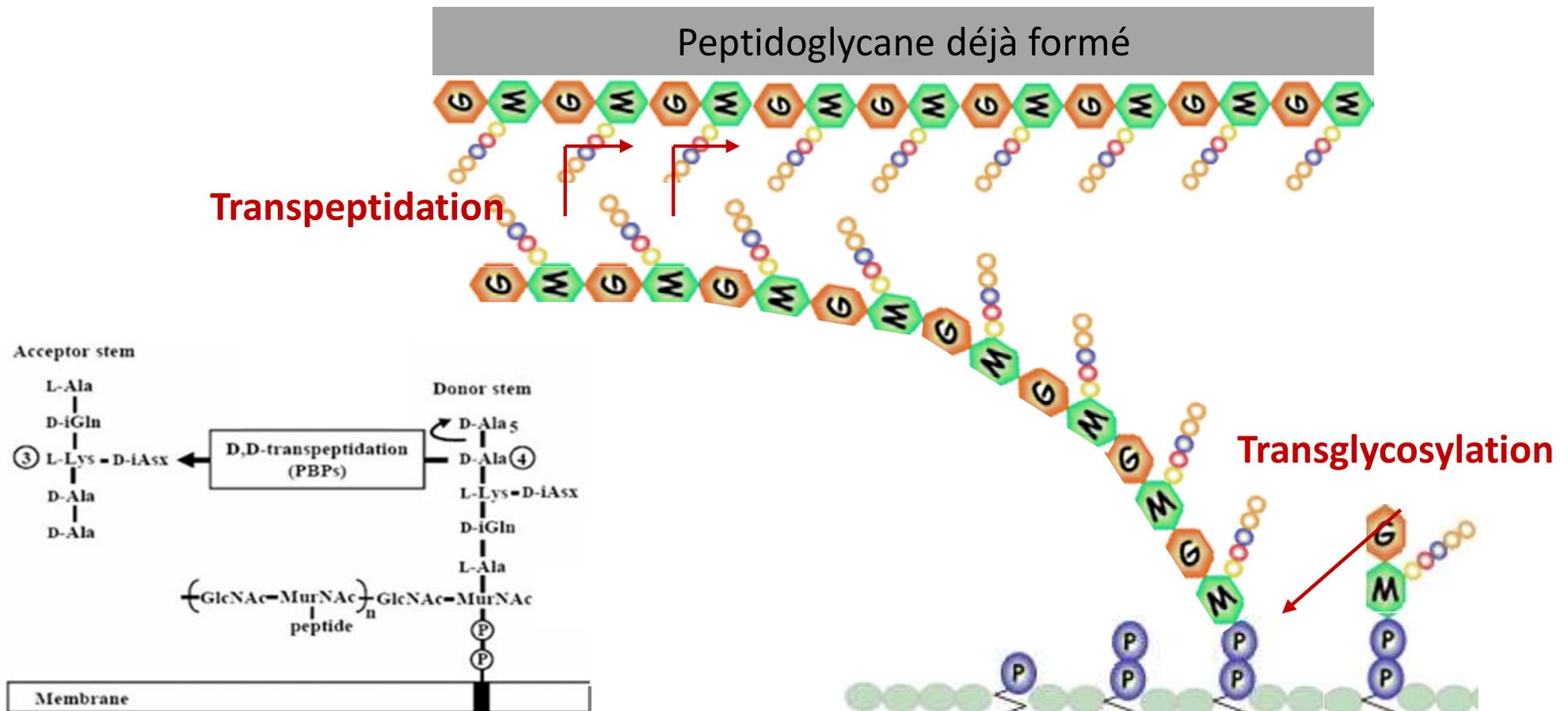
Régénération



Undecaprényl-pyrop, transporteur membranaire du dioside-pentapeptide

Biosynthèse du peptidoglycane : étapes périplasmiques

Réticulation du Peptidoglycane par des ponts peptidiques de nature covalente



Biosynthèse du peptidoglycane : étapes périplasmiques

Activités enzymatiques portées par les « Penicillin Binding Protein » (PBP ou PLP)

- Protéines associées à la face externe de la membrane cytoplasmique
- Nombre et type de PLP variable en fonction des bactéries
- PLP de bas poids moléculaire : peptidases
- PLP de haut poids moléculaire : enzymes bifonctionnelles, transpeptidase, transglycosidase

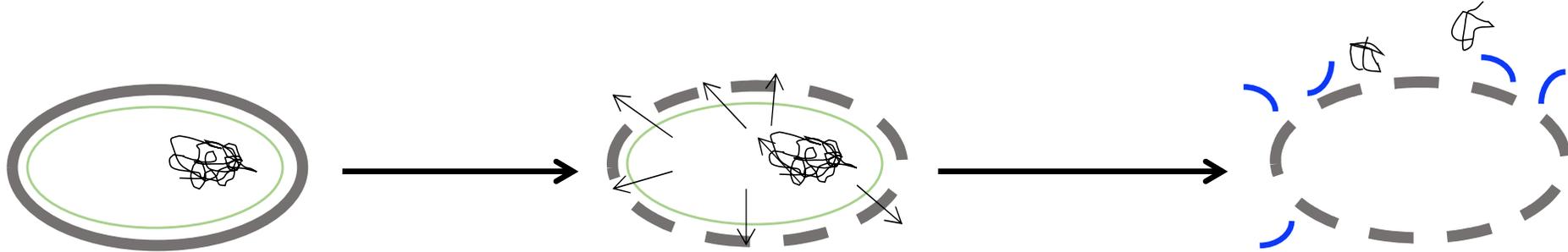


Cycle du peptidoglycane

Structure dynamique soumise à un renouvellement constant

- **Équilibre** entre l'apport de nouveaux précurseurs disaccharides-pentapeptides à la surface interne de la paroi et l'hydrolyse partielle du PG à sa surface externe
- **En cas de déséquilibre : lyse bactérienne**

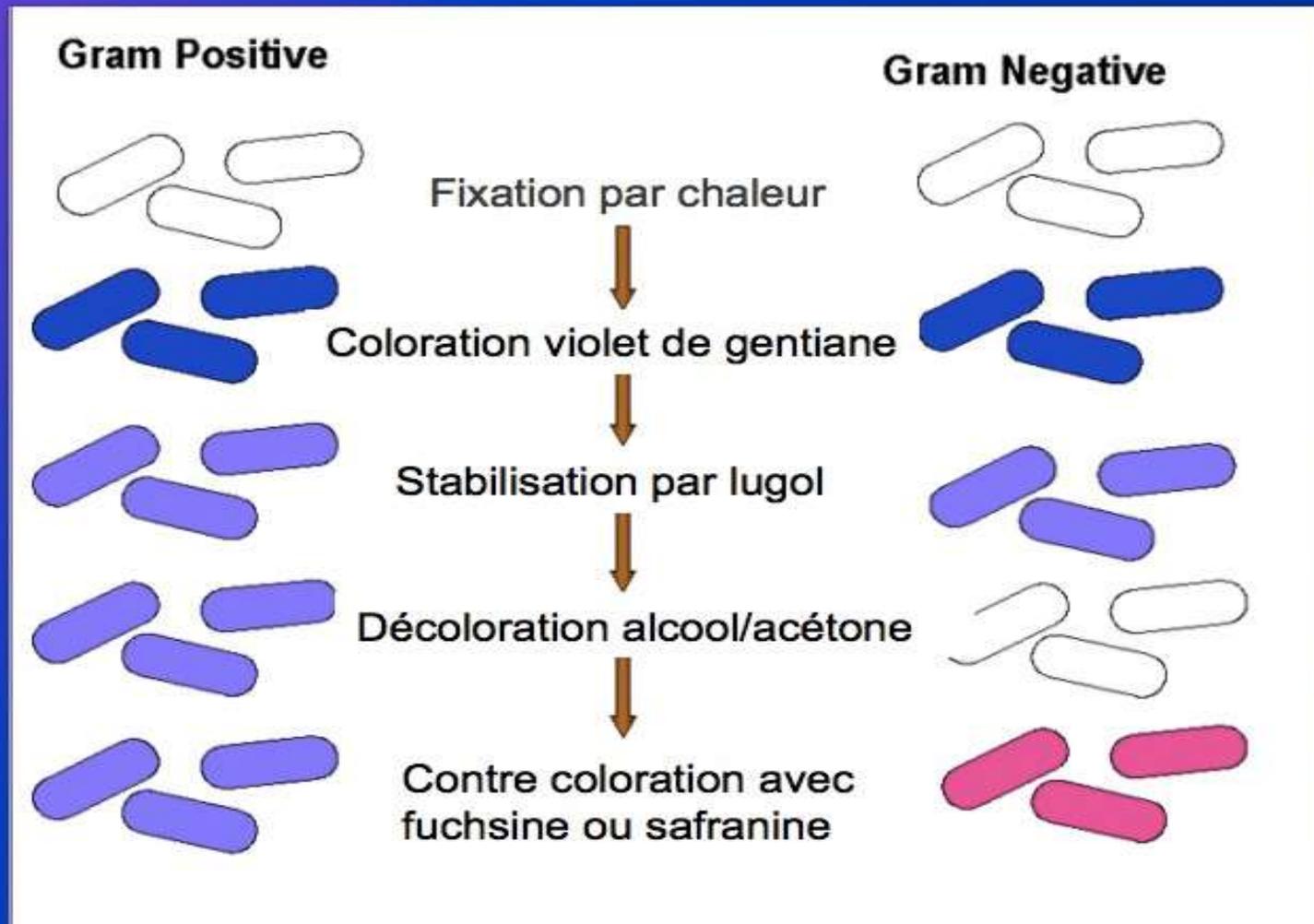
Dégradation excessive du PG ou inhibition de sa synthèse



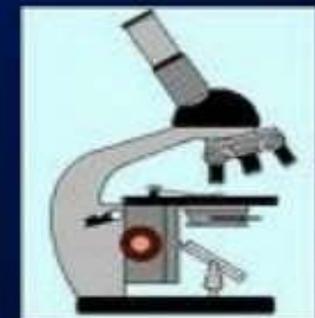
- **Peptidoglycane hydrolases (glycosidases, amidases, endopeptidases)**
Enzymes capables d'hydrolyser certaines liaisons du PG

Relation Gram/structure de la paroi bactérienne

La coloration de Gram

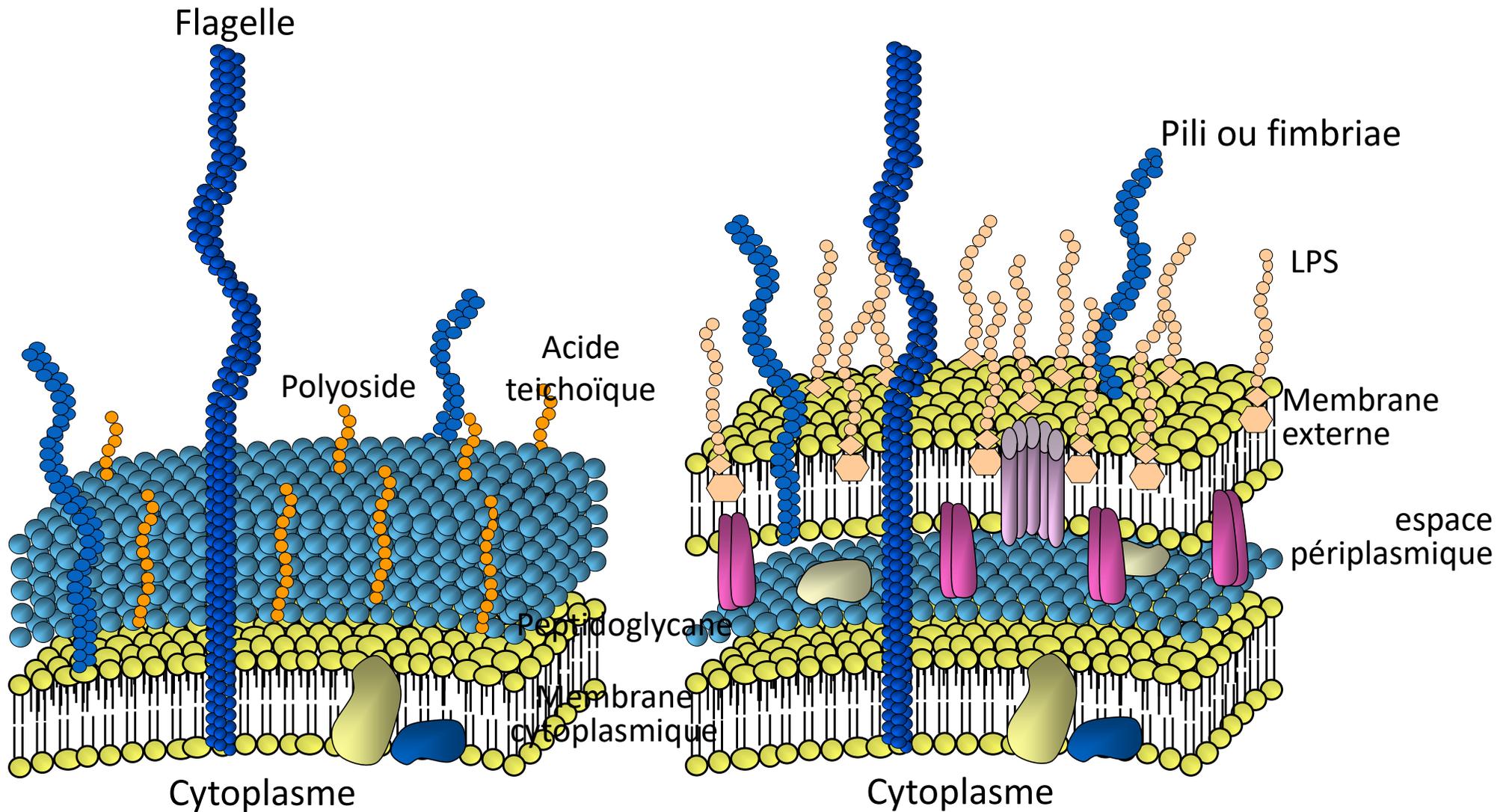


Hans Christian Gram
1853-1938



X 1000

Différences structurales de paroi bactéries Gram + / -



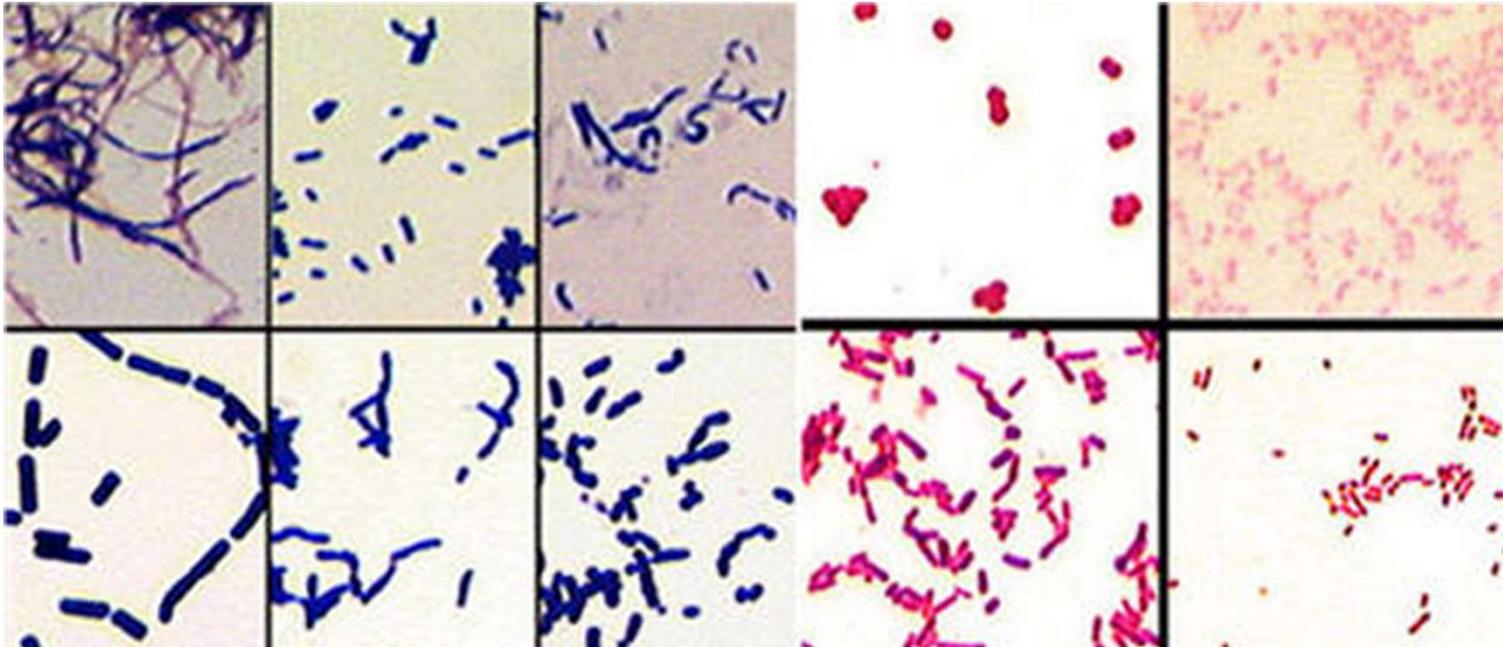
Paroi de Gram positif

Paroi de Gram négatif

Quelques exemples de bactéries Gram + et Gram -

Gram positif (violet)

Gram négatif (rose)



Staphylococcus
Streptococcus
Enterococcus
Listeria
Bacillus
Clostridium

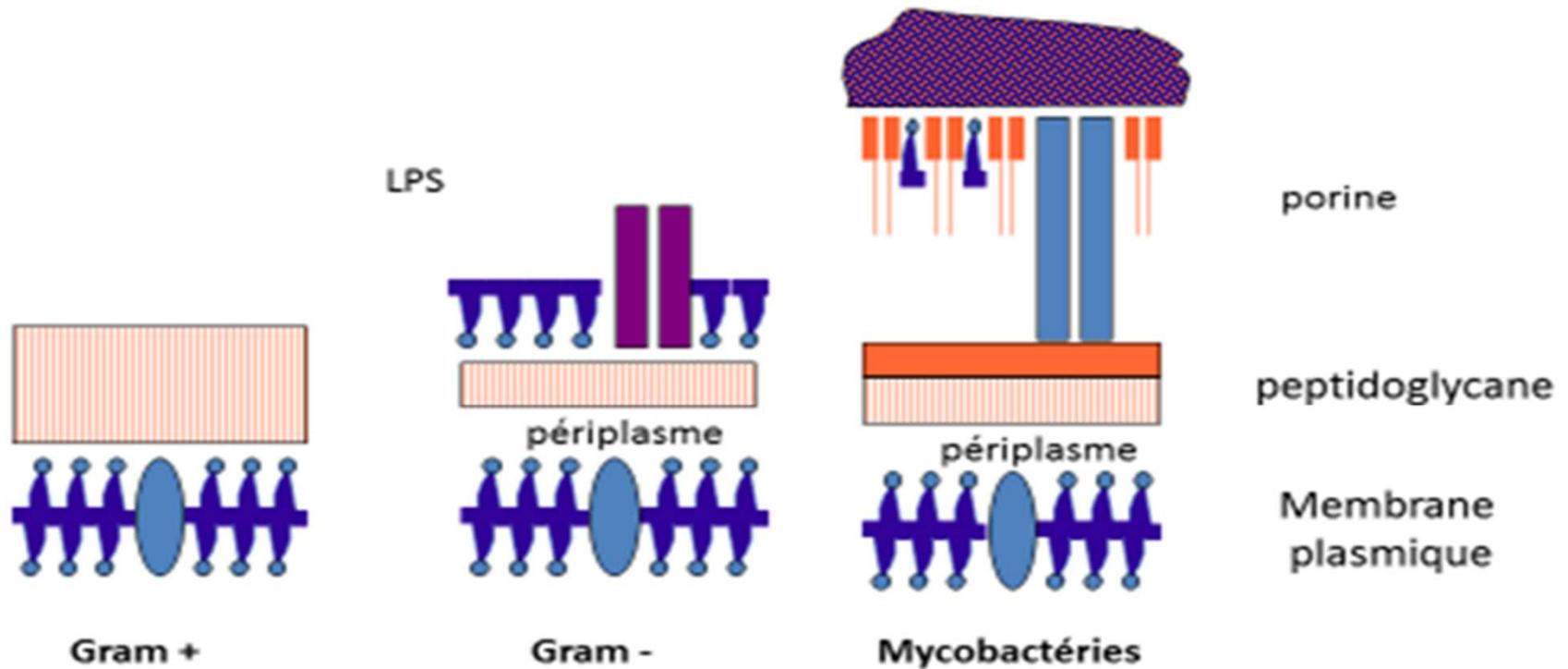
Entérobactéries
Pseudomonas
Haemophilus
Neisseria

Candida à la
coloration de Gram



Particularités

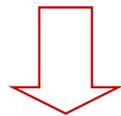
Enveloppes bactériennes



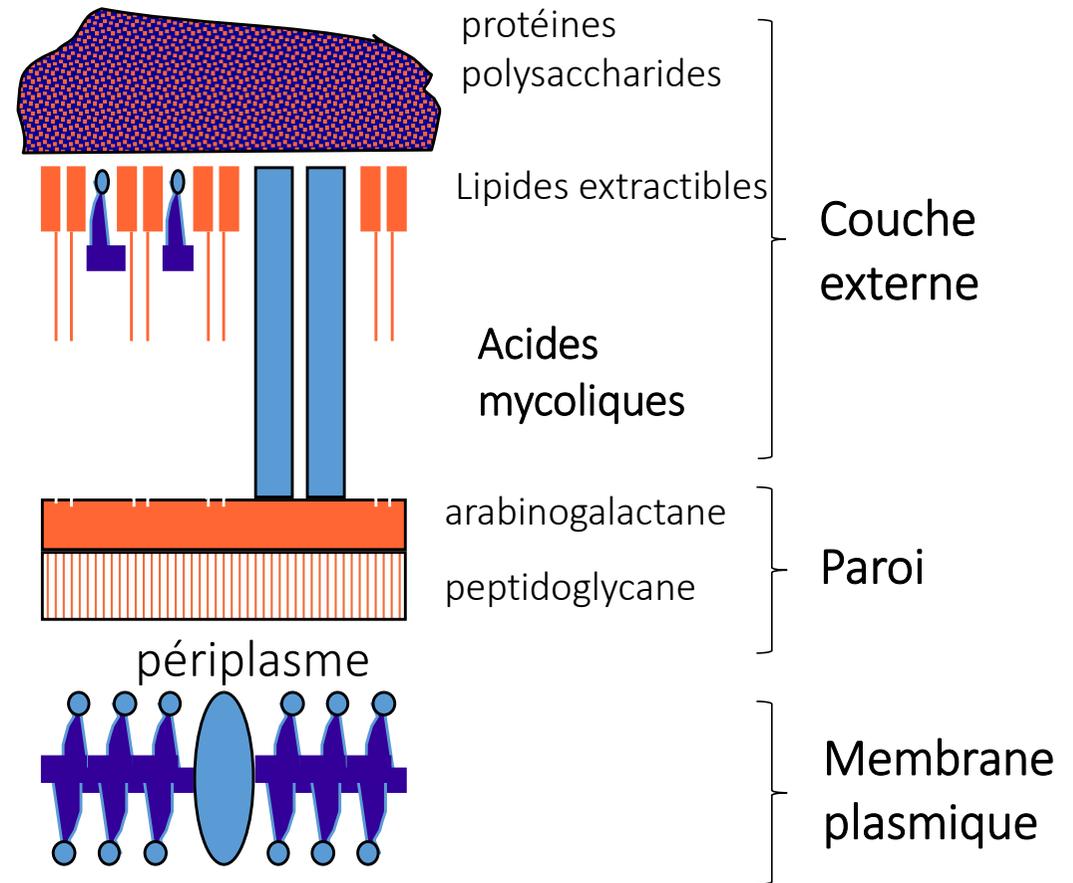
Enveloppe et paroi des mycobactéries

- Composition originale
- Interface mycobactéries / cellule hôte
- Différences avec les non pathogènes
- Biosynthèses = Cibles d'antituberculeux

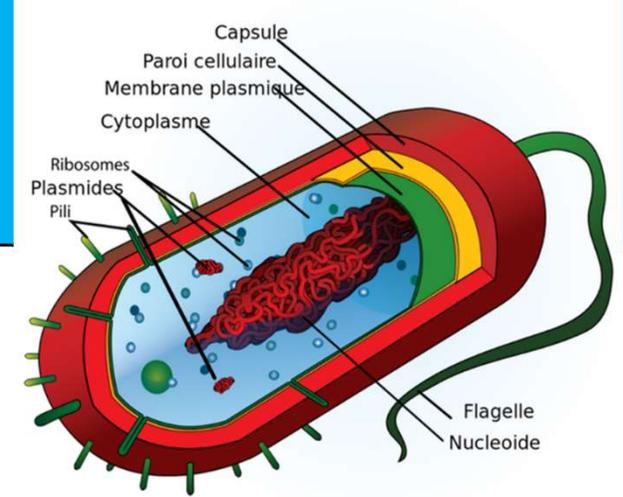
Constituants



- Multiplication intracellulaire
- Résistance aux ATB (perméabilité)
- Résistance à la phagocytose



Support de l'information génétique



Chromosome

ADN unique et circulaire sans noyau (procaryote) situé dans le cytoplasme

Plasmides

- petites sections d'ADN additionnel extra-chromosomique, circulaire, libre,
- portent certains gènes ayant des fonctions particulières (résistance à un antibiotique, facteur de virulence, adaptation physiologique au milieu, etc.),
- matériel génétique mobile échangeable (plasmide, transposon, intégron, ...) par transfert horizontal (ex : conjugaison bactérienne)

La capsule bactérienne

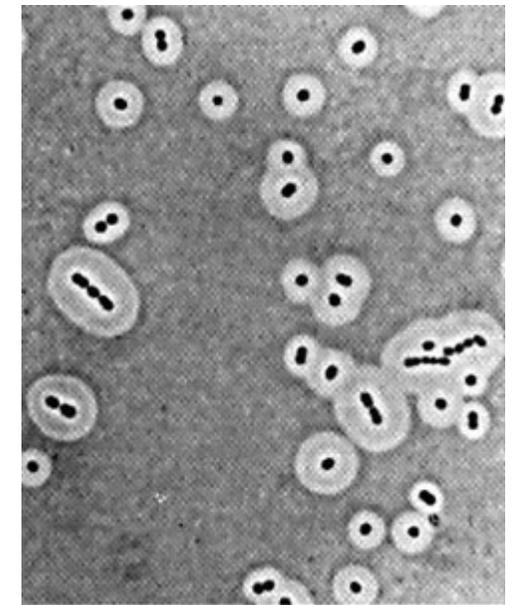
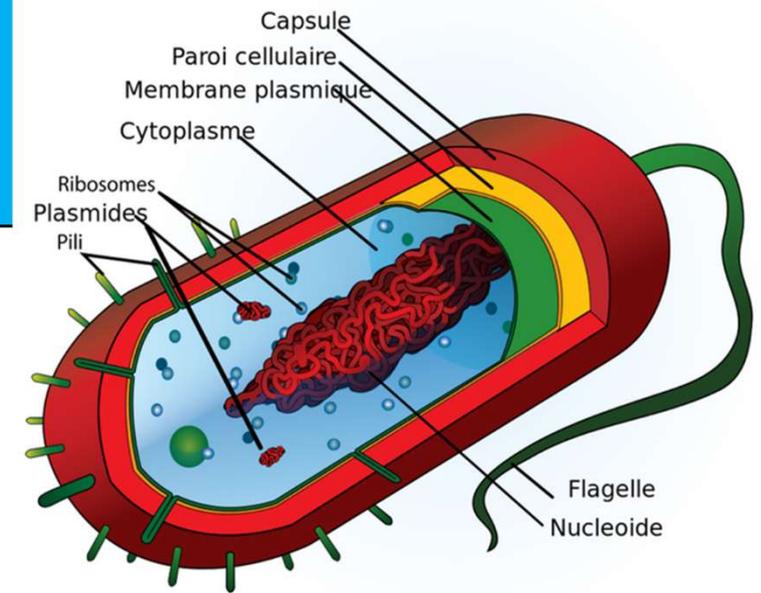
Mise en évidence

Non colorée par les techniques bactériologiques habituelles (coloration de Gram),

Visualisée sous la forme d'un halo clair et réfringent à la coloration à l'**encre de Chine**

Conséquences pour la bactérie

- facteur de résistance et de virulence (par exemple d' *Escherichia coli* K1),
- protègent la bactérie de la phagocytose par chimiotactisme négatif,
- rôle antigénique (antigènes capsulaires K),
- rôle dans l'adhérence aux cellules de l'hôte,
- contribuent à la résistance des biofilms,
- protègent les bactéries des UV, des désinfectants médicaux ou domestiques et industriels tels que l'eau de Javel,
- réponse pro-inflammatoire
- sa présence peut freiner ou inhiber la production de fimbriae et d'adhésines (Ex : *Klebsiella pneumoniae*),

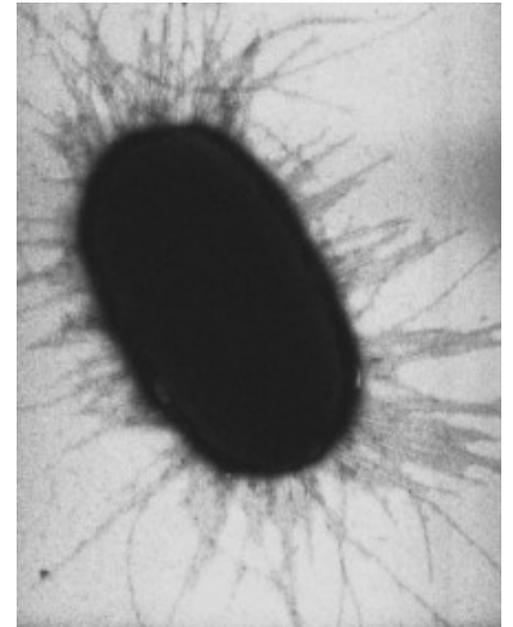
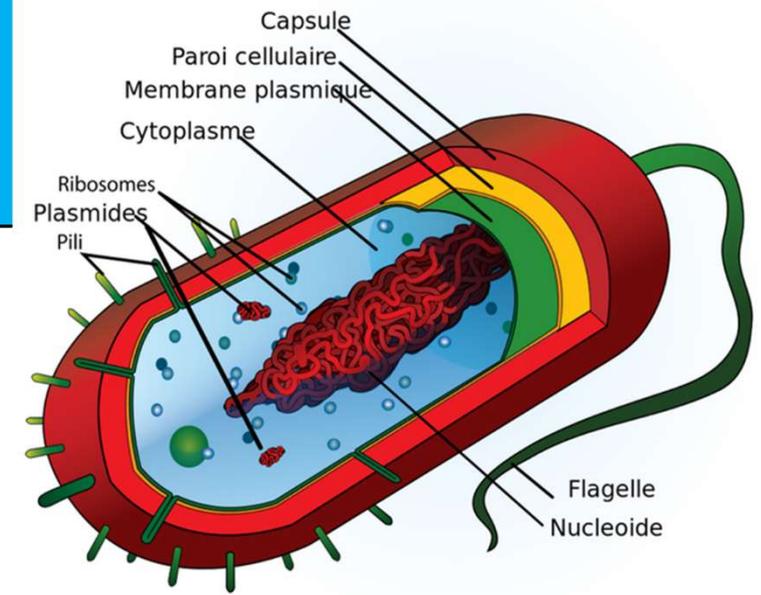


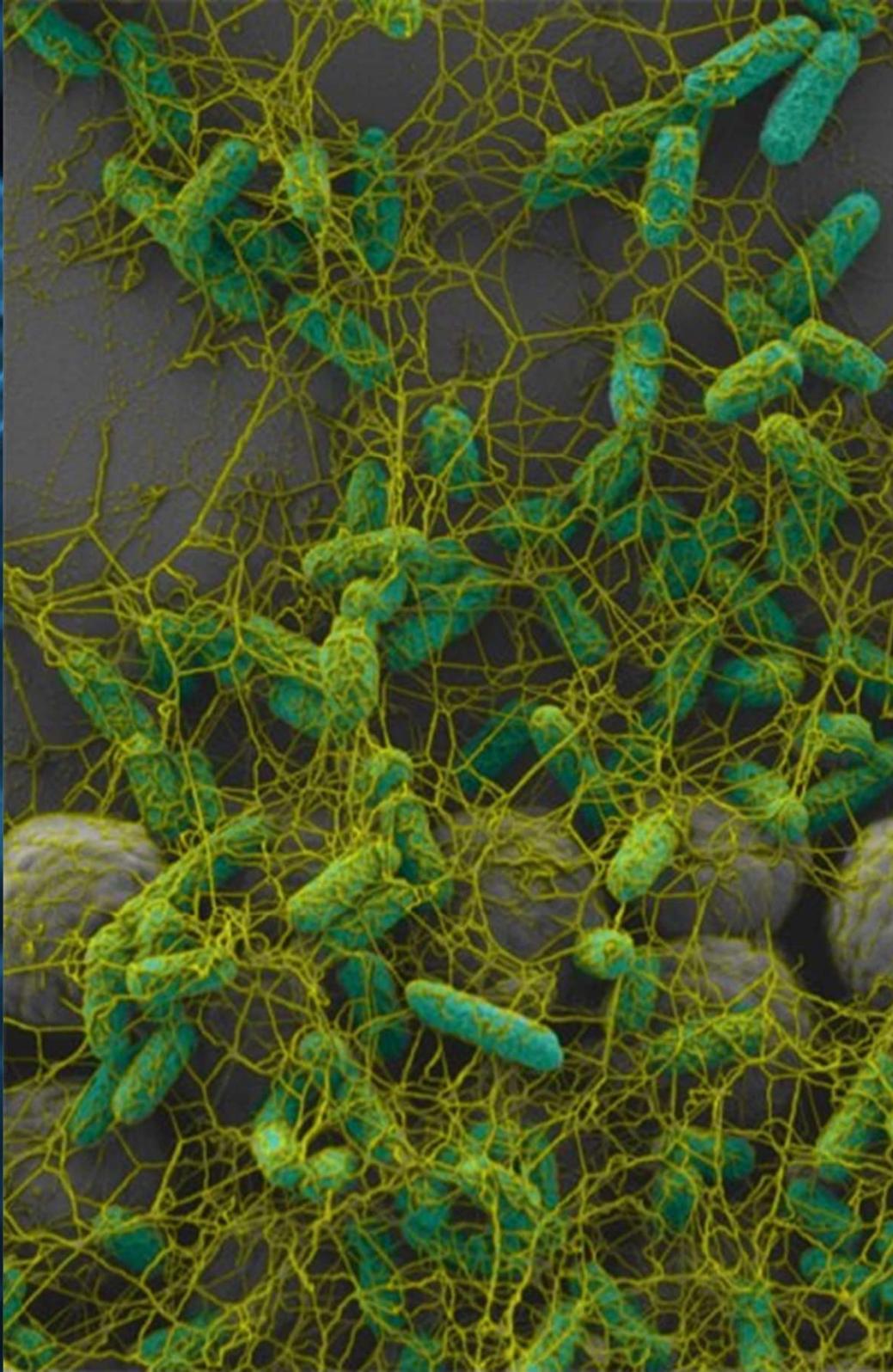
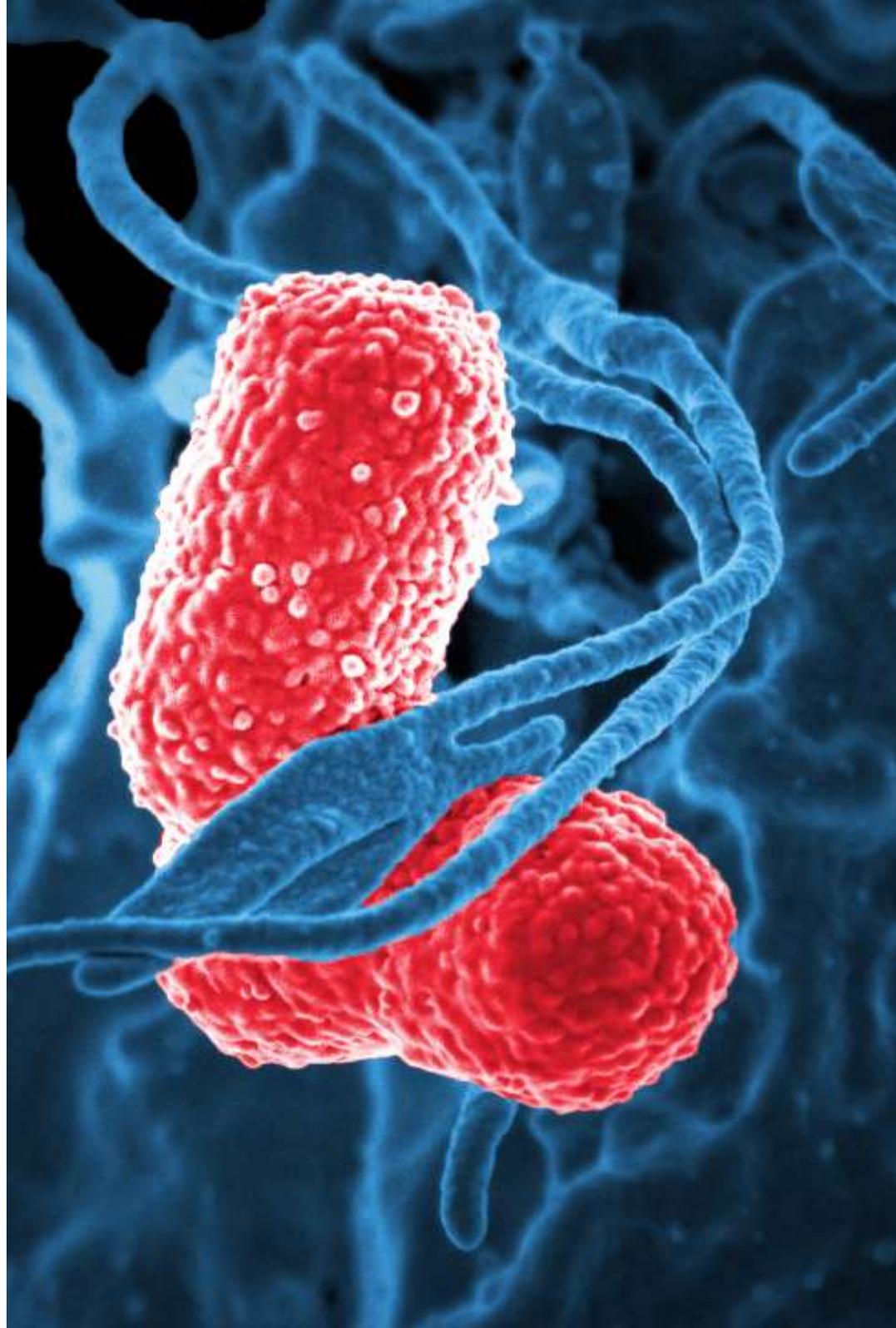
Les pili ou fimbriae

- Excroissance de la membrane externe
- Constitués de protéines adhésives (piline)
- Nombreux voire très nombreux
- Courts (microscopie électronique)
- Incapable de rotation

Rôles

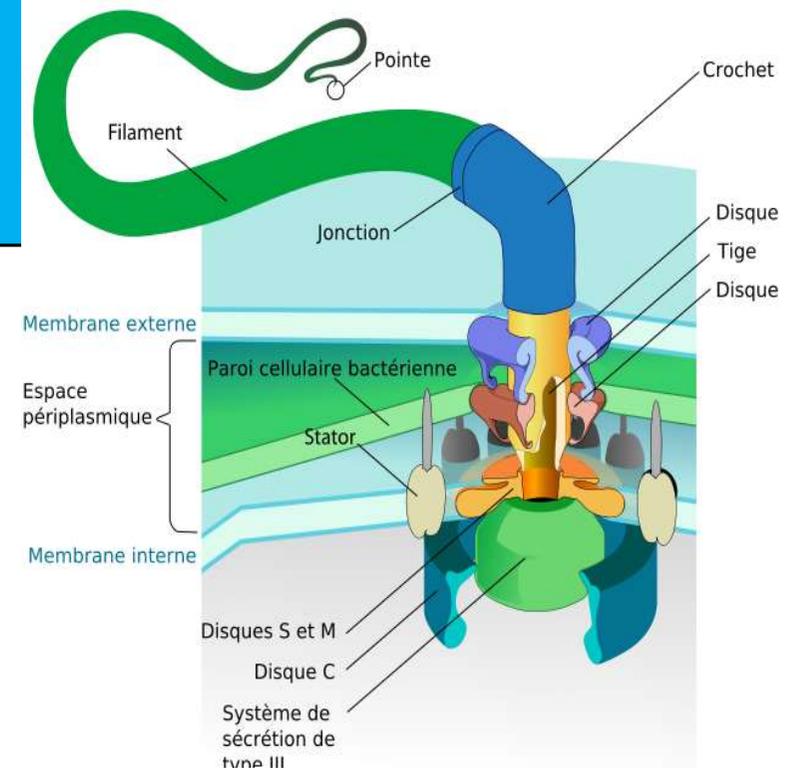
- Reproduction sexuelle (conjugaison bactérienne)
- Agrégation bactérienne et formation de biofilm bactériens,
- Adhésion et interactions aux surfaces des cellules de l'hôte,
- Virulence (ex : fimbriae d'*E. coli* uropathogènes)



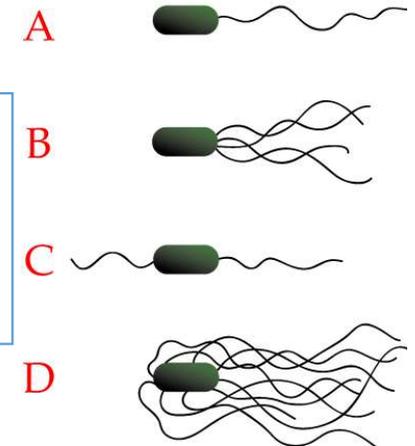


Les flagelles

- structures semi-rigides
- ancrées dans la membrane plasmique
- Embase constituée par un moteur moléculaire qui assure sa rotation
- capables de mouvements périodiques induisant le déplacement de la cellule dans un milieu liquide, ou du milieu liquide autour de la cellule
- ~40 gènes nécessaires et très coûteux en énergie pour la bactérie



un seul flagelle polaire => ciliature **monotriche** A (déplacement fléchant)
plusieurs flagelles polaires => ciliature **lophotriche** B (déplacement fléchant + oscillant)
un flagelle à chaque pôle => ciliature **amphitriche** C (déplacement oscillant)
flagelles entourant la cellule => ciliature **péritriche** D (déplacement fléchant hélicoïdal)



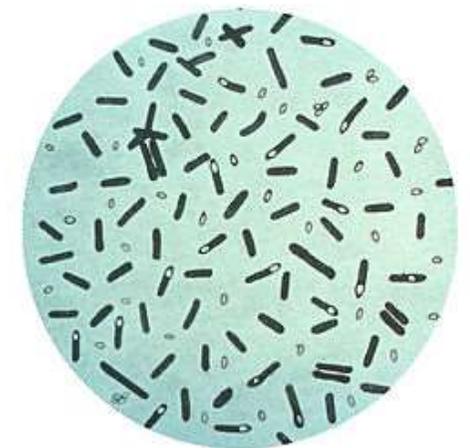
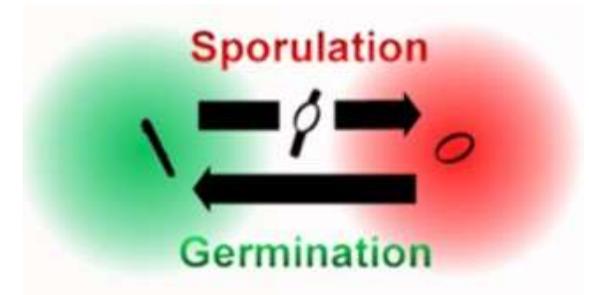
Rôles

- Mobilité (procaryotes et eucaryotes)
- Adhésion et interactions aux surfaces des cellules de l'hôte

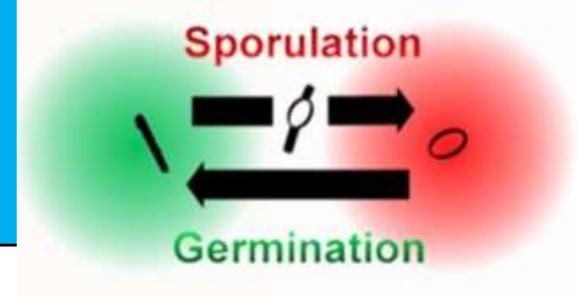


Spore bactérienne

- forme de résistance de la bactérie
- cycle sporulation-germination selon les conditions favorable)
- La thermorésistance de la spore est en partie due à sa déshydratation (forme végétative = 80 % d'eau, et spore = entre 10 et 20 % d'eau).
- seuls trois genres bactériens sont concernés
 - ✓ genre *Bacillus* (bactéries aérobie à bacilles Gram +),
 - ✓ le genre *Clostridium* (bactéries anaérobies à bacilles Gram +),
 - ✓ le genre *Sporosarcina*
- pas considérée comme une forme de reproduction, car une seule spore est produite par cellule.
- La spore est réfringente aux colorations simples (les colorants ne pénètrent pas dans la spore)



Sporulation bactérienne



La sporulation dure de sept à dix heures

1. Formation de la pré-spore :

- Dédoublément du chromosome bactérien et arrangement du matériel nucléaire en forme de bâtonnet axial.
- Formation d'un septum transversal asymétrique à partir de la membrane plasmique (la plus grande partie est appelée sporange)

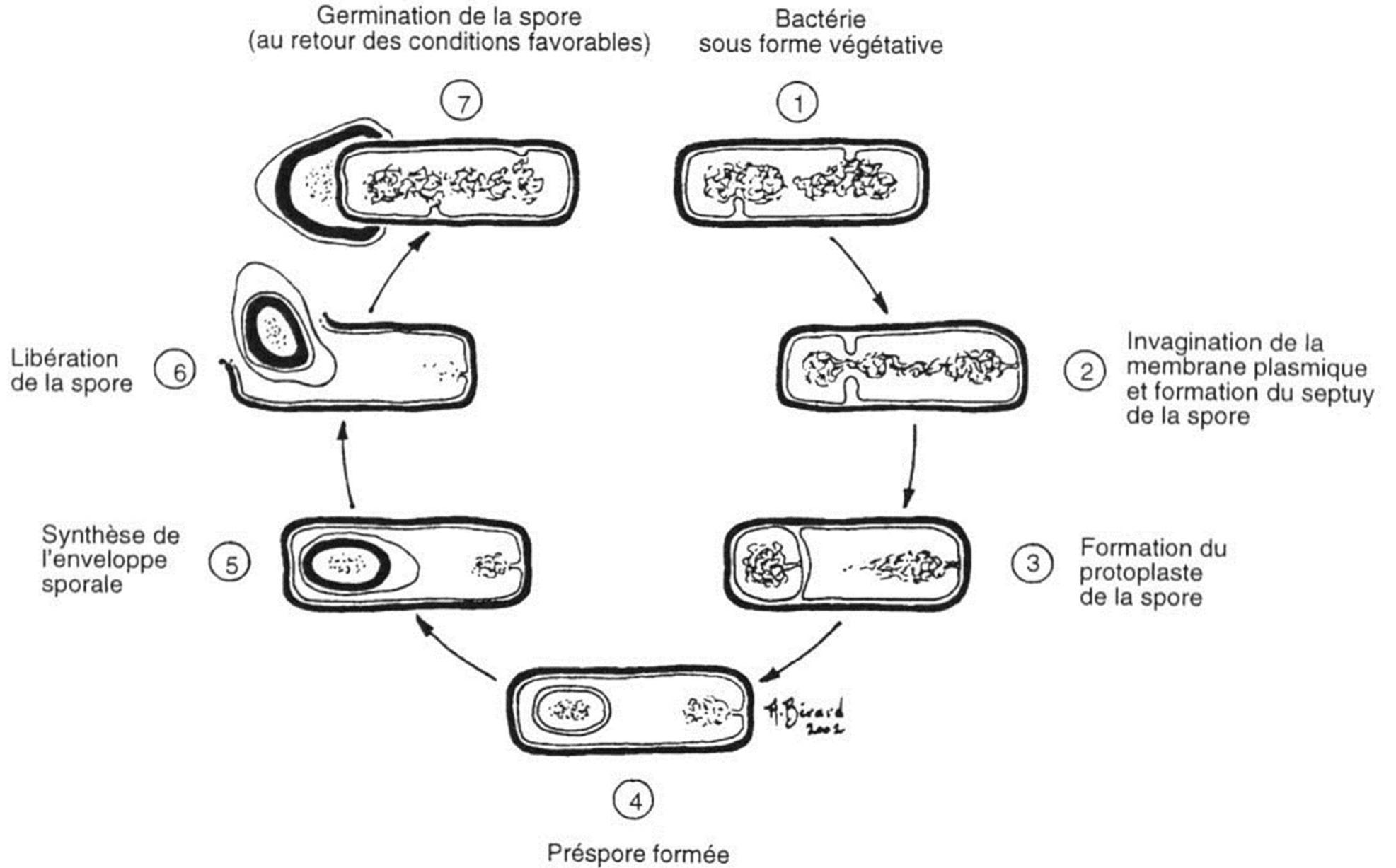
2. Maturation :

- Formation du cortex à partir du feuillet interne.
- Apparition des tuniques.
- La spore termine sa maturation. On obtient alors une spore mûre et incluse

3. Libération de la spore :

- La spore se libère par lyse de la cellule mère

Cycle sporale



Taxonomie et classifications bactériennes

Taxonomie et nomenclature

Taxonomie ou systématique = science du classement des individus

Groupes ou taxons d'un niveau hiérarchique

Règne	Protistes	Animal
Embranchement	Procaryote	Vertébrés
Classe	Schizomycètes	Mammifères
Ordre	<i>Micrococcales</i>	Carnassiers
Famille	<i>Micrococcaceae</i>	Félidés
Genre	<i>Staphylococcus</i>	<i>Felis</i>
Espèce	<i>aureus</i>	<i>domesticus</i>
Nom vernaculaire	Staphylocoque doré	chat
Individu	souche	minou....

Principaux niveaux de classification des êtres vivants

Taxonomie et nomenclature bactérienne

Espèce bactérienne et nomenclature internationale

En pratique courante le genre et l'espèce suffisent pour caractériser une souche bactérienne

Utilisation du latin (imprimé en caractères italiques ou soulignés)

Nom de Genre

Commence par une Majuscule et le reste du nom est en minuscule

Terminaison du nom de genre en « us », « er » (masculin) ou « a » (féminin)

Nom d'espèce :

Unité fondamentale de la classification

Début par en minuscule et le reste du nom est en minuscule

Quelques exemples :

Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Enterobacter cloacae

Exceptions : *Salmonella Enteritidis* !!!

Taxonomie et nomenclature bactérienne

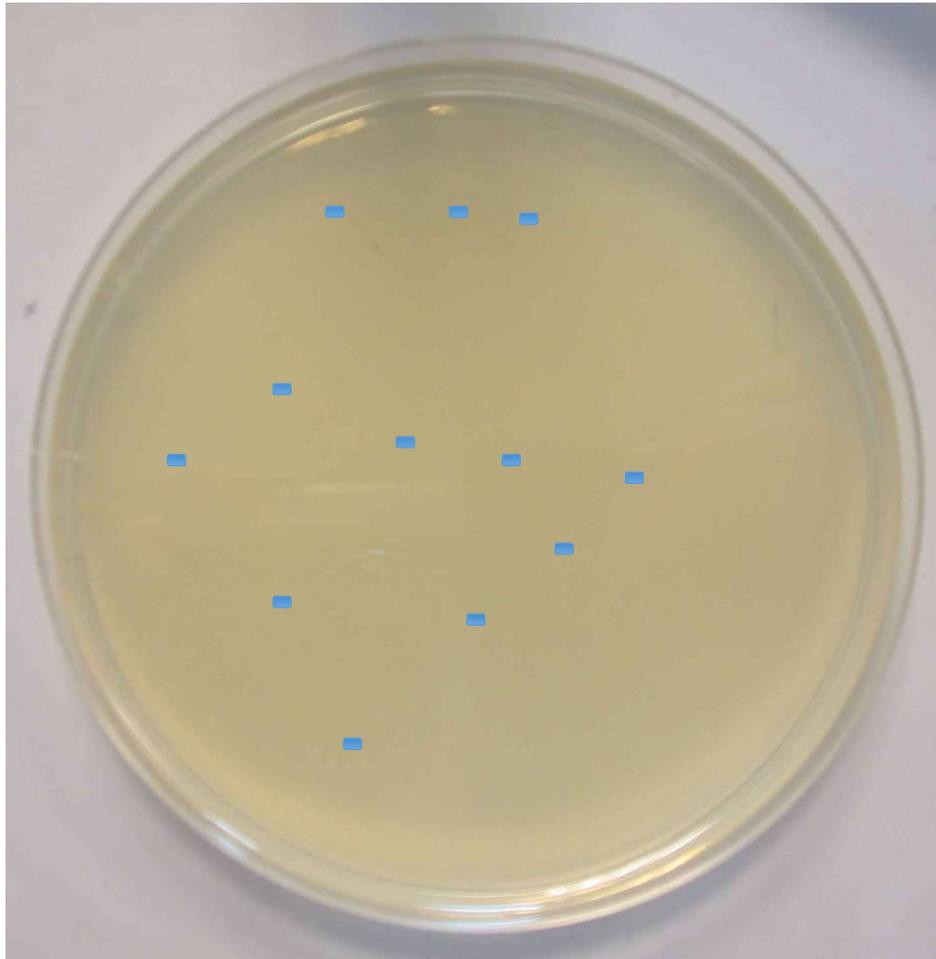
Notion de clones, souches, colonies

A l'intérieur d'une **population** d'une espèce bactérienne il existe des individus

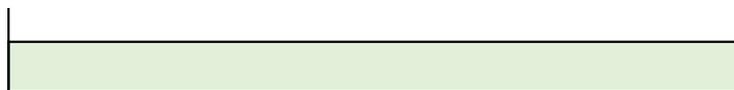
La descendance d'une même cellule bactérienne forme un **clone** provenant d'une même **souche**

La **colonie** est l'agglomérat de bactérie observable à l'oeil nu après culture sur milieu solide (le dénombrement quantitatif utilise le terme d'**unité formant colonie ou UFC**)

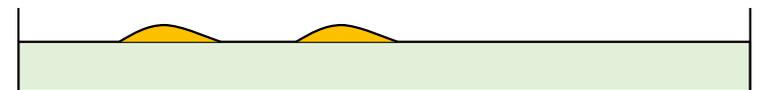
Colonies et unité formant colonies (UFC)



J0 ensemencement du prélèvement



J1



1 colonie > 100 millions bactéries

Taxonomie et nomenclature bactérienne

Variétés à l'intérieur d'une espèce

A l'intérieur d'une espèce bactérienne, il existe des **variants** se différenciant de l'espèce type par des **caractères mineurs et stables** n'entrant pas dans la définition de l'espèce

biochimique

=> définissant un **biovar** ou **biotype**

antigéniques

=> définissant un **sérovar** ou **sérotype**

pathogéniques

=> définissant un **pathovar**

isotypie d'enzymes

=> définissant un **zymovar**

de sensibilité à des bactériophages

=> définissant un **lysovar** ou **lysotype**

de sensibilité aux antibiotiques

=> définissant un **antibiotype**

Taxonomie numérique et moléculaire

la structure chimique de la bactérie (chimiotaxonomie) ciblant les ribosome, la membrane, protéines,...

la structure de l'ADN

- GC%
- Electrophorèse en champs pulsé
- Hybridation ADN- ADN
- Séquençage rARN, génome

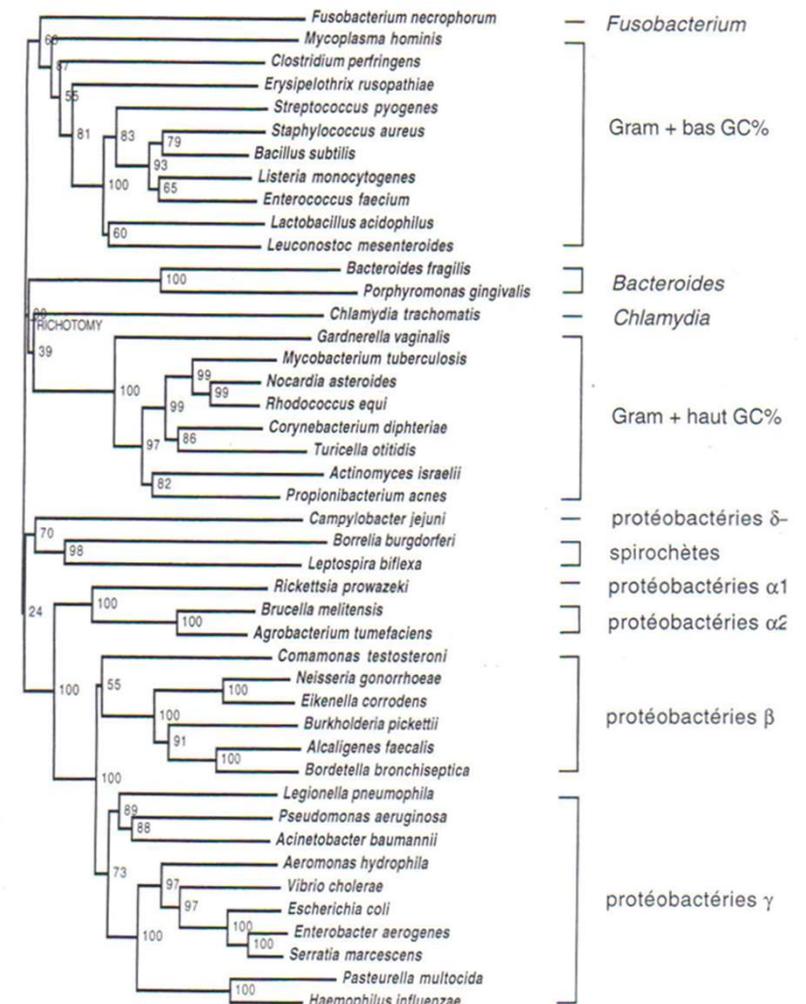
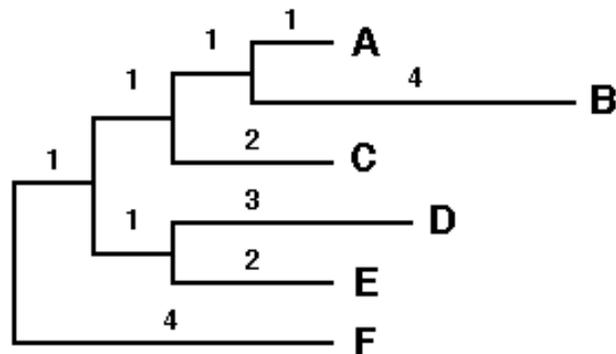
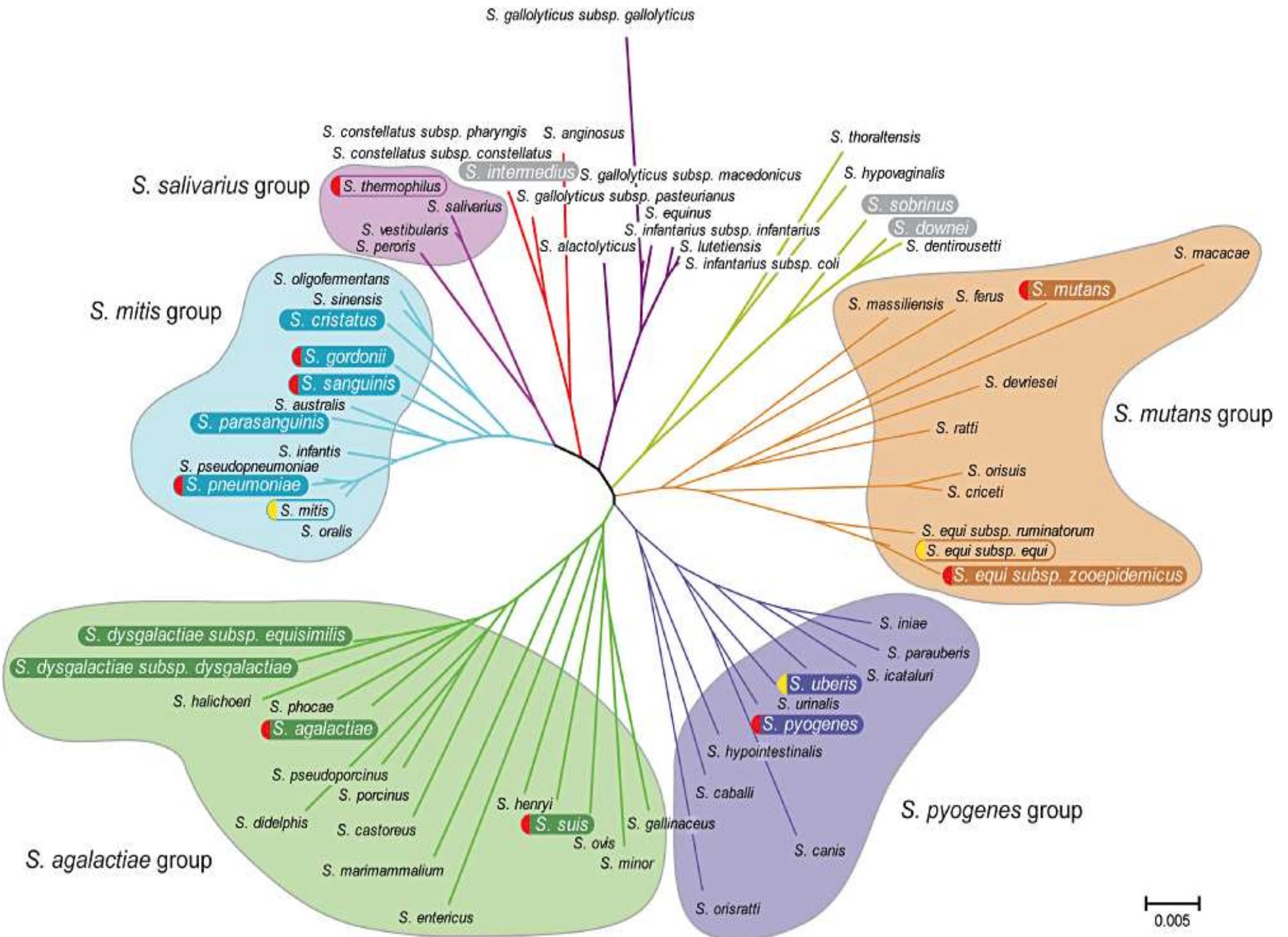


Figure 5. Neighbor joining et bootstrap. Phylogramme des principales bactéries isolées en bactériologie clinique. (séquences du 16S rDNA)

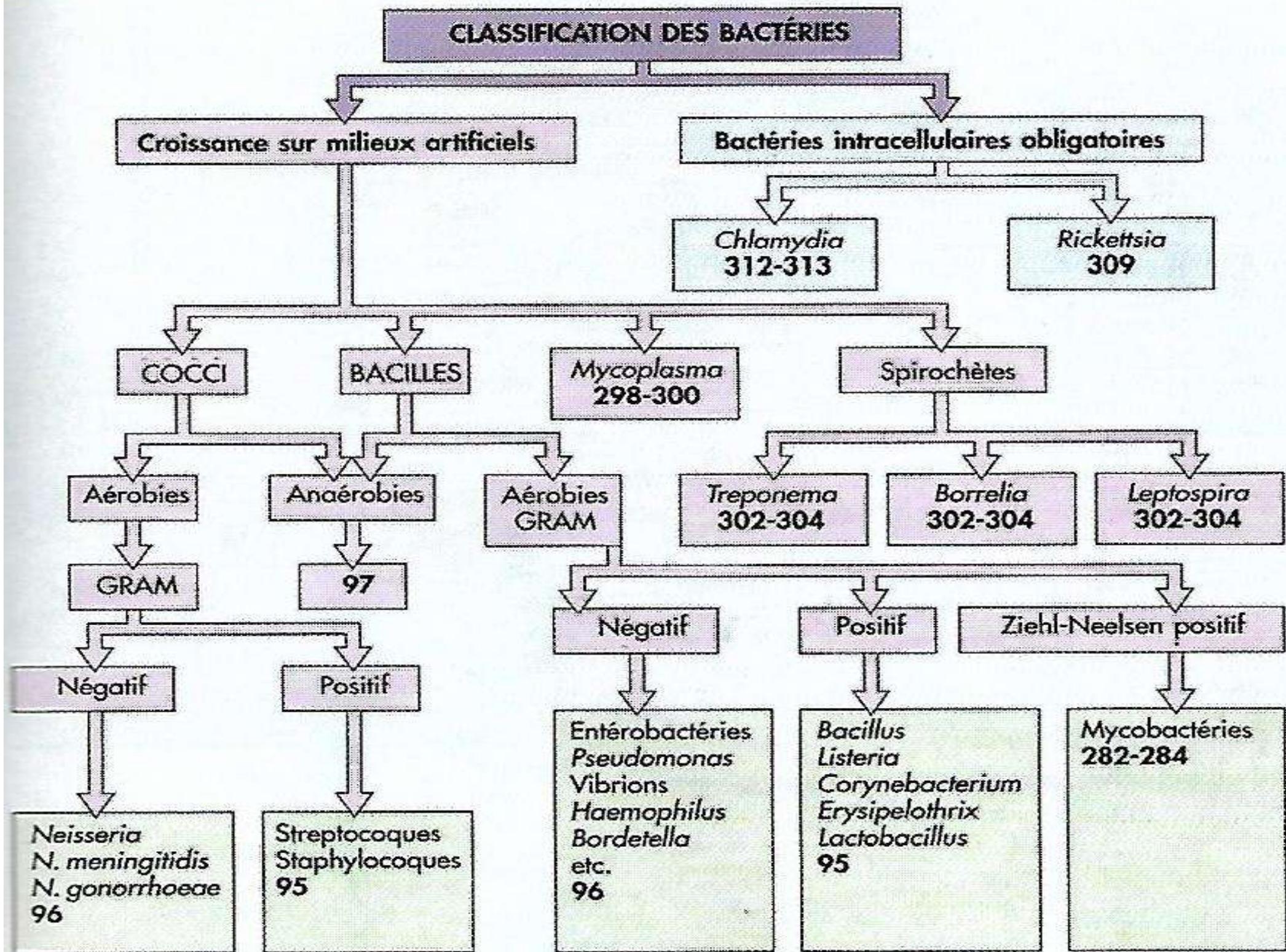


Les classifications bactériennes

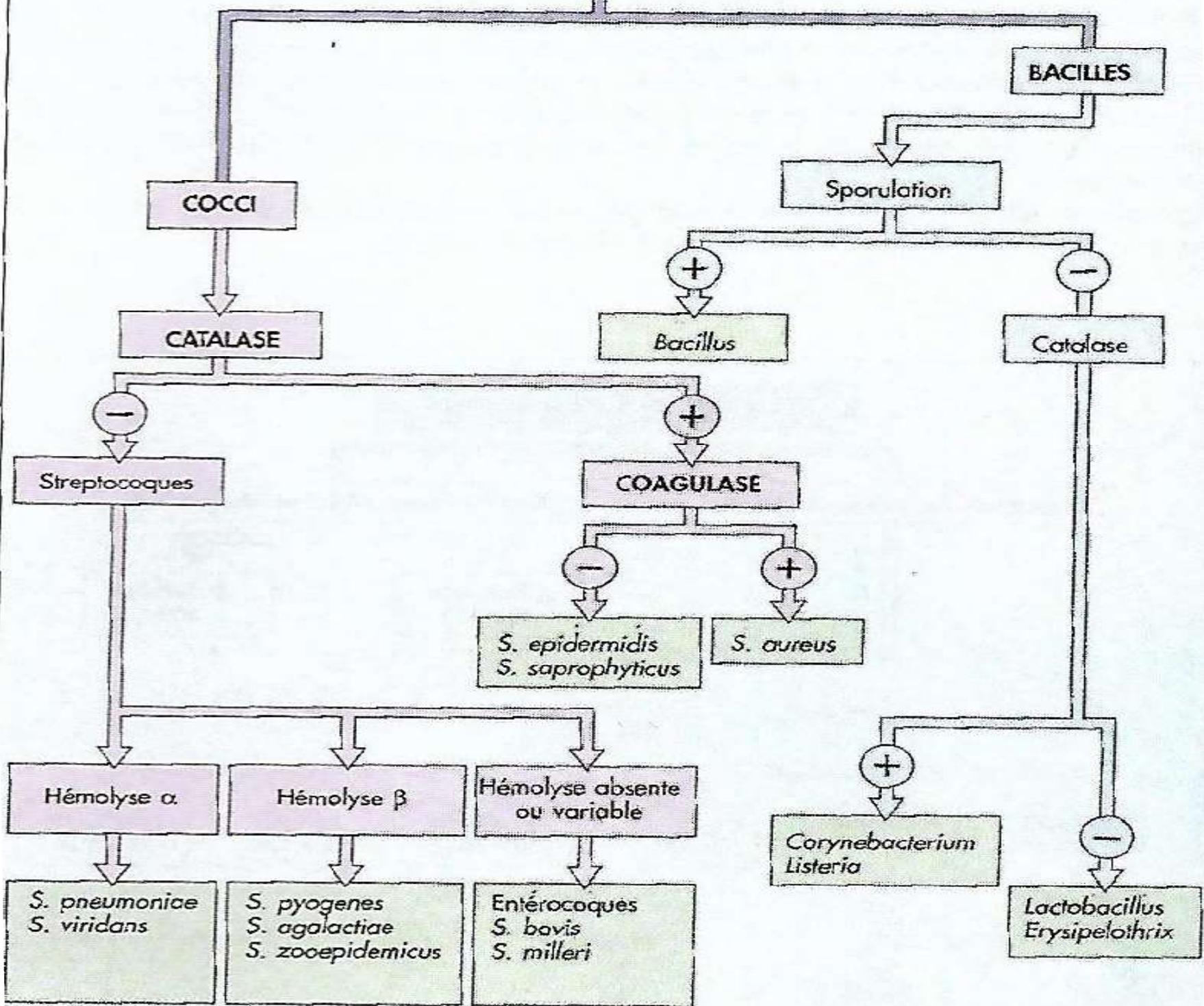
La classification de Linné permet de distinguer différents niveaux : le règne, l'embranchement, la famille, le genre et l'espèce

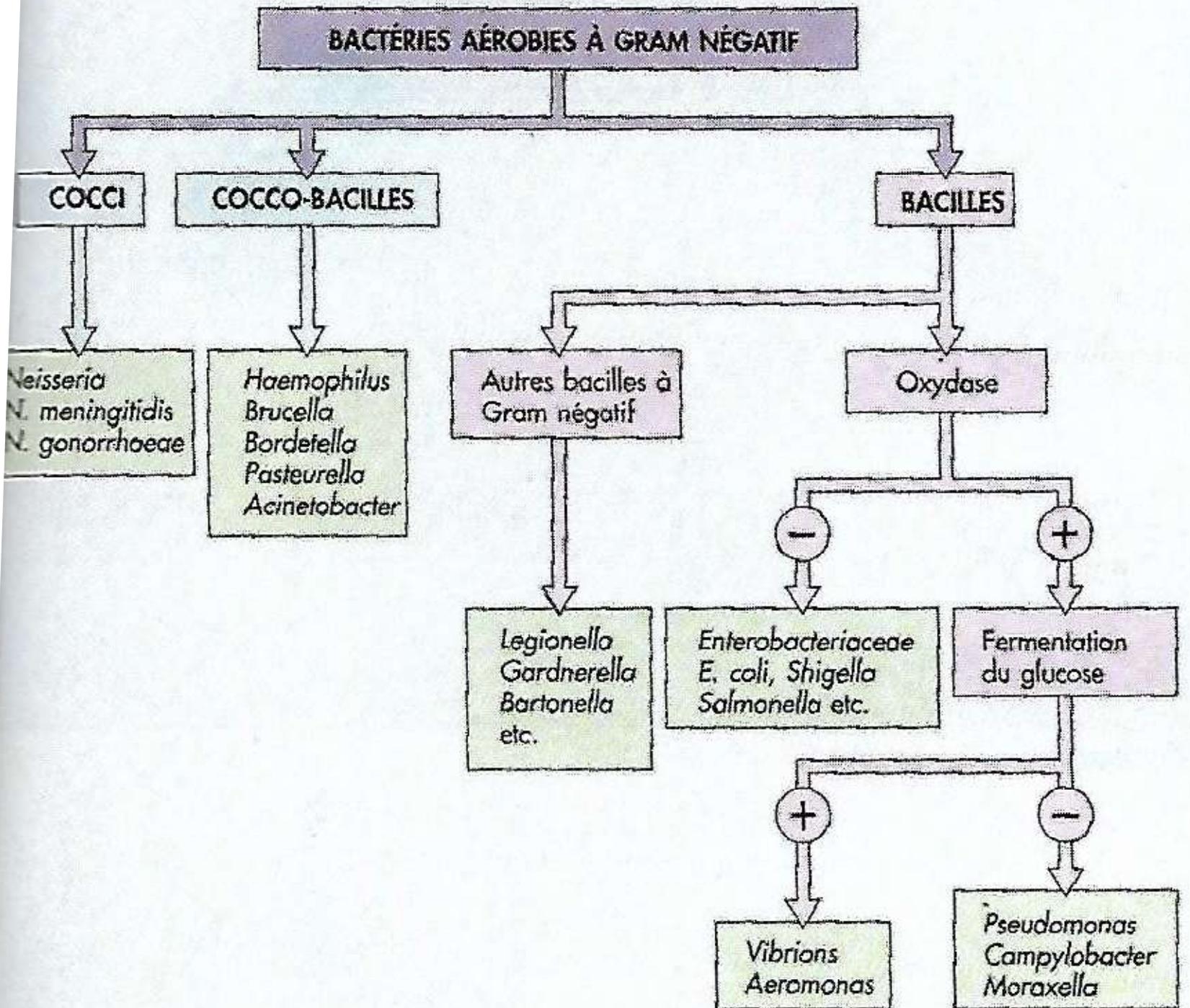
- selon les **caractéristiques métaboliques**,
- selon les **caractéristiques morphologiques** (cocci, bacille, ...)
- Selon la réaction à la **coloration de Gram** (fréquemment utilisée)
- Selon les **caractères respiratoires** et les **besoins en oxygène** (bactéries aérobies ou en bactéries anaérobies)
- Selon les besoins nutritionnels, les conditions optimales et extrêmes de croissance (température, pH),
- Selon leur **pouvoir pathogène** ou non.

CLASSIFICATION DES BACTÉRIES



BACTÉRIES AÉROBIES À GRAM POSITIF





BACTÉRIES ANAÉROBES

BACILLES

COCCI

Gram positif

Gram négatif

Gram positif

Gram négatif

Clostridium
C. perfringens
C. tetani
C. botulinum
C. difficile
Propionibacterium

Bacteroides
Prevotella
Fusobacterium

Peptostreptococcus

Veillonella

Habitats et écosystèmes

Bactéries ubiquitaires

Les bactéries sont très répandues dans l'environnement dans tous les types de biotopes rencontrés sur Terre

Les bactéries ont une importance considérable dans les cycles biogéochimiques comme le cycle du carbone et la fixation de l'azote de l'atmosphère

- Milieux hydriques (eaux douces, marines ou saumâtres des)
- Air,
- Sols, plantes et déchets végétaux,
- Milieux extrêmes :
 - déchets radioactifs
 - profondeurs des océans
 - croûte terrestre
 - Séjour dans l'espace, recherche de bactéries extraterrestre

=> microbiologie de l'environnement et d'écologie microbienne

Importance des bactéries dans l'industrie et les technologies

Biorestauration = nettoyage des milieux pollués par des micro-organismes,

- élimination des polluants du sol, de l'eau, de l'air,
- traitements des eaux usées : station épuration et fosses septiques,
- nettoyage des marées noires

Agroalimentaire

- engrais,
- boissons alcoolisées,
- élaboration d'aliments fermentés (fromages, yaourts, bière, vin, sauce de soja, vinaigre, choucroute, pain, ...)

Production industrielle

- composés chimiques,
- produits pharmaceutiques (bactéries génétiquement modifiées),
- insuline, hormone de croissance, certains vaccins, interférons... antibiotiques

Autre

La Taq polymérase utilisée dans les réactions de polymérisation en chaîne (PCR) pour l'amplification de l'ADN provient d'une bactérie thermophile *Thermus aquaticus*.

Bactéries ubiquitaires

Les bactéries sont très répandues chez l'homme et l'animal

Souvent été considérées comme des agents pathogènes et agressifs, responsables de maladies plus ou moins graves

La plupart de ces bactéries sont pourtant inoffensives ou bénéfiques pour l'organisme

Capable de coloniser l'animal et l'homme : la « **flore commensale** » (différence / virus)

- au niveau cutanéomuqueux (peau, oropharyngé, vaginal)
- au niveau du système digestif
 - biomasse énorme dont toutes les espèces ne sont pas cultivables ,
 - microbiote intestinal (notre «deuxième génome »),
 - impliqué dans les processus de digestion et de défense de l'organisme

=> microbiologie clinique et écologie microbienne

Nose

Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Corynebacterium species

Throat

Streptococcus species
Branhamella catarrhalis
Corynebacterium species
Haemophilus species
Neisseria species
Mycoplasma species

Large Intestine

Bacteroides fragilis
Escherichia coli
Proteus mirabilis
Enterobacter species
Klebsiella species
Lactobacillus species
Streptococcus species
Candida albicans
Clostridium species
Pseudomonas aeruginosa

Urethra

Streptococcus species
Mycobacterium species
Escherichia coli
Bacteroides species

Mouth

Streptococcus species
Fusobacterium species
Actinomyces species
Leptotrichia species
Veillonella species

Skin

Staphylococcus epidermidis
Propionibacterium acnes
Pityrosporum ovale

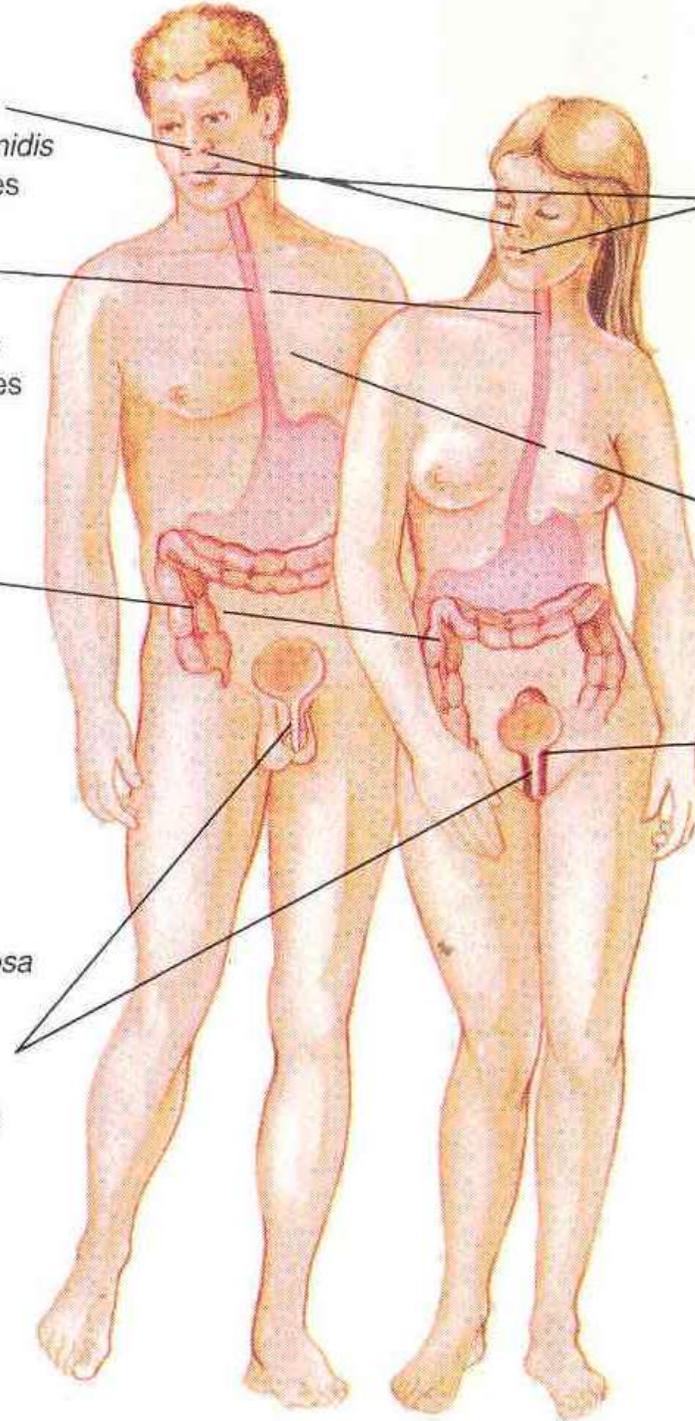
Vagina

Lactobacillus species
Streptococcus species
Candida albicans
Gardnerella vaginalis

10¹⁰ bactéries colonisent la bouche

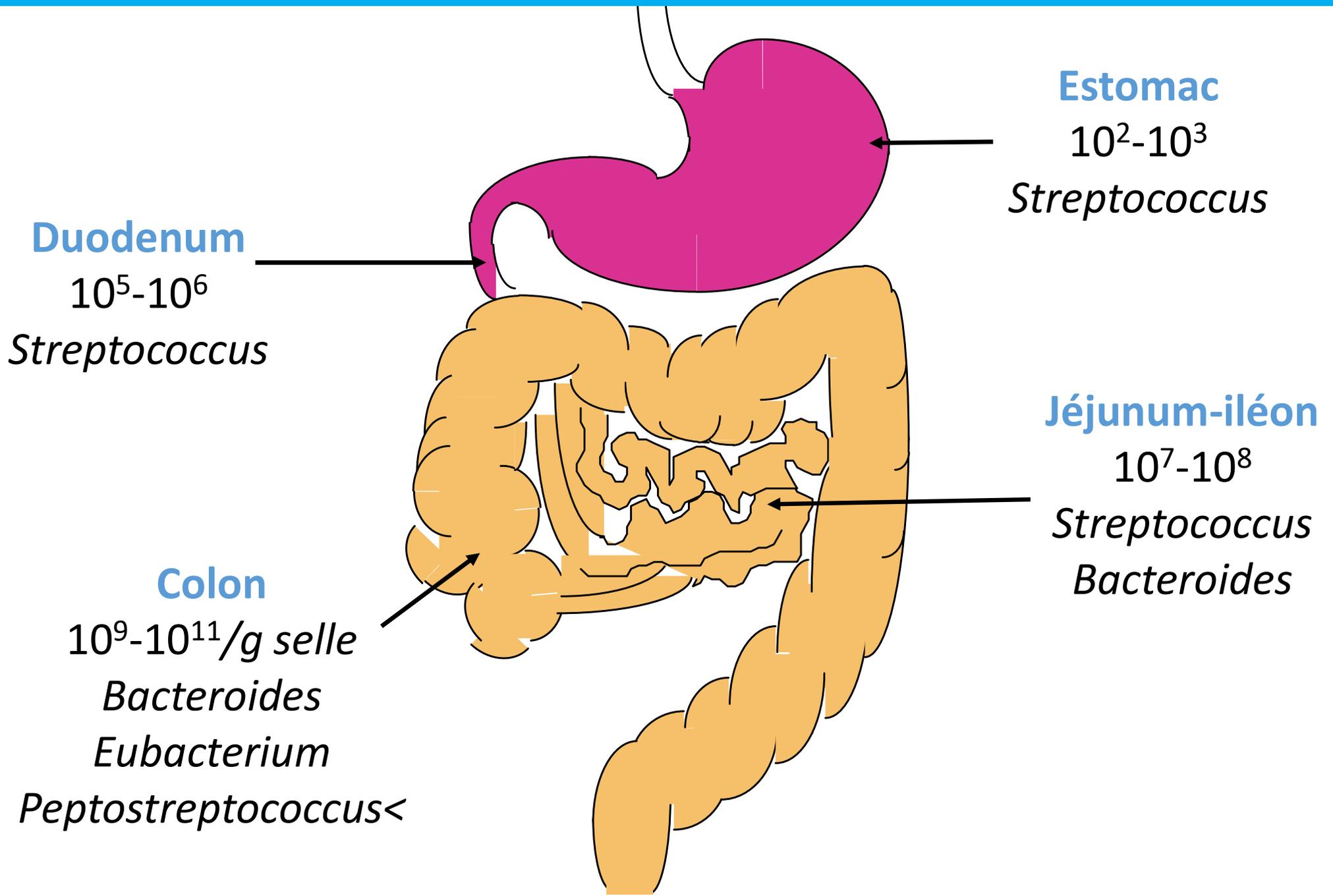
10¹² bactéries colonisent la peau

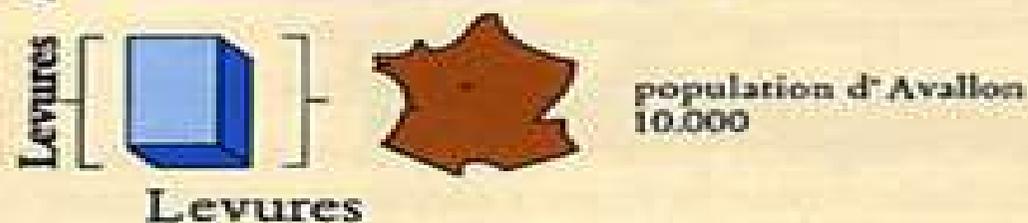
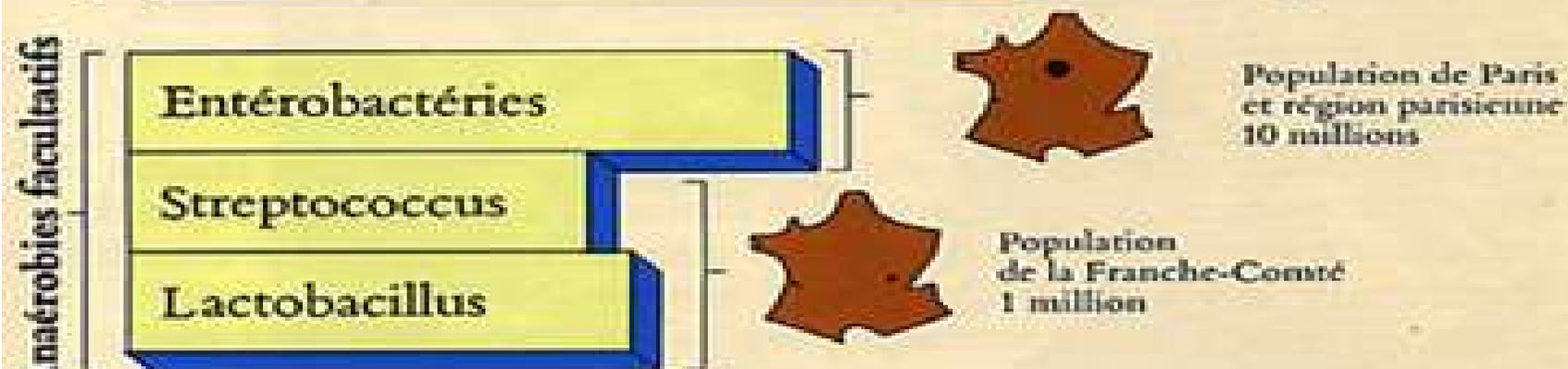
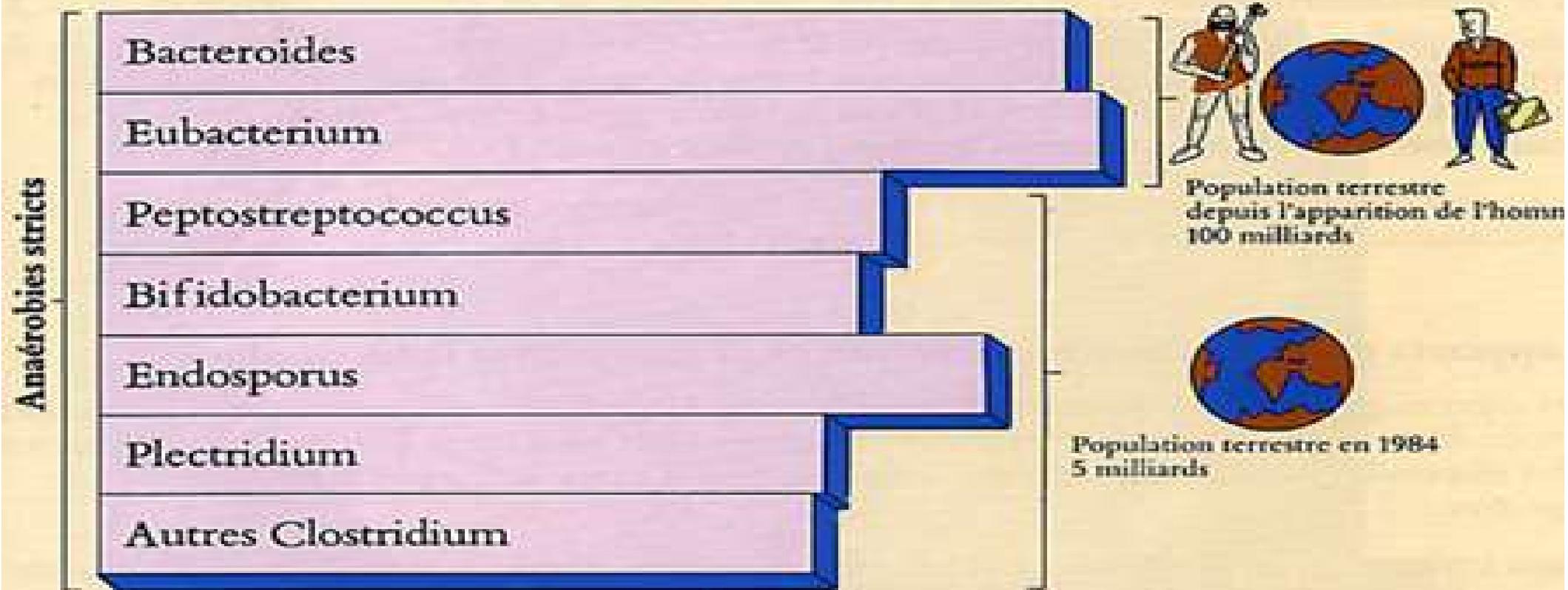
10¹⁴ bactéries habitent dans l'intestin



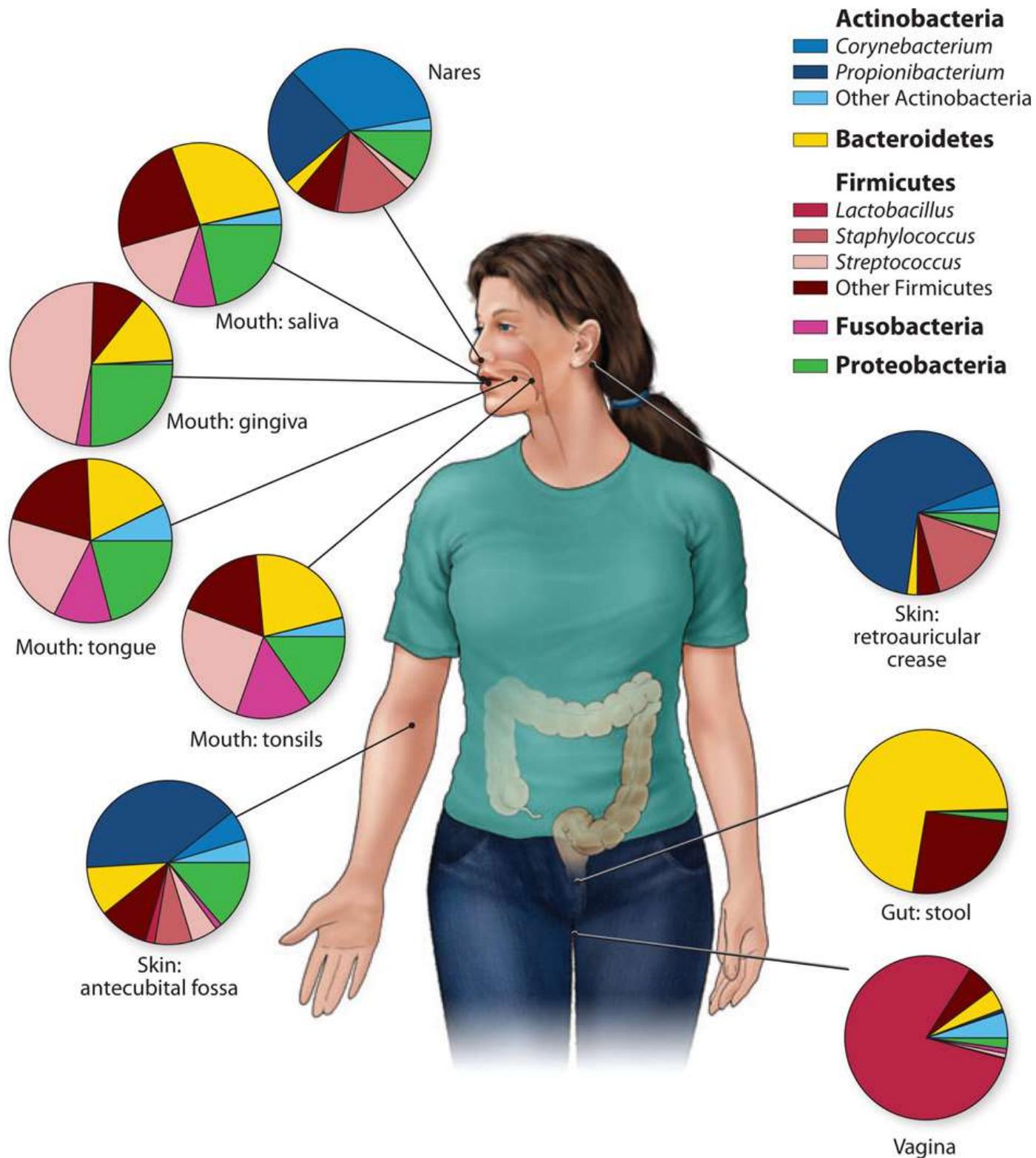
=> dix fois plus de cellules bactériennes que de cellules humaines dans le corps humain

Microbiote intestinale totale = 10^{14} bactéries





10^3 10^4 10^5 10^6 10^7 10^8 10^9 10^{10} 10^{11} N germes/g de fèces



Interactions
bactéries
et autres organismes

Interactions avec d'autres organismes

Relations symbiotiques ou mutualistes

- Luciférase et bioluminescence (plantes, poissons),
- Digestion : synthèse et transformation d'éléments nutritifs indispensables (vitamines K, biotine, acide folique)
- Digestion de la cellulose chez les herbivores
- Communautés microbiennes du sol et de l'eau et les relations entre ces microorganismes

Nombreuses stratégies d'échappement et de survie

- Résistance à la phagocytose (amibes hydriques, macrophages)
- Parasitisme intracellulaire
- Variations antigéniques
- Mutation et acquisition de gènes de résistances aux antibiotiques
- Acquisition de facteurs de virulence (toxine, adhésine, invasine, capsule, protéase)
- Constitution de biofilms

Du commensalisme à la pathologie infectieuse (Homme, animal, plantes)

- Zoonose, anthroozoonose, maladies vectorielles, ...
- Pathogènes opportunistes,
- Pathogènes stricts (=> choléra, syphilis, peste, anthrax, tuberculose, ...)

Pouvoir pathogène et virulence

La virulence est une notion quantitative alors que le pouvoir pathogène est une notion qualitative

la première étape du pouvoir pathogène est la **colonisation** de l'hôte au niveau de la porte d'entrée.

Une fois la porte d'entrée colonisée, plusieurs types de pouvoir pathogène peuvent s'exprimer

- Le pouvoir pathogène est du à la diffusion d'une **toxine** à distance de la porte d'entrée
- Le pouvoir pathogène résulte d'une **inflammation** au niveau de la porte d'entrée secondaire à la multiplication bactérienne
- Le pouvoir pathogène résulte d'une **dissémination** du microorganisme à partir de la porte d'entrée

Facteurs de pathogénicité ou de virulence

- Capsule (résistance à la phagocytose),
- Adhésines (pili, flagelles),
- Invasines (bactéries intracellulaires),
- Toxines bactériennes,
- Enzymes hydrolytiques et protéolytiques (hémolysine, leucocidine, coagulase, estérase, DNase, hyaluronidase, lipase, ...)
- Super antigène

Pathologies infectieuses

L'infection est une maladie provoquée par des agents pathogènes vivants

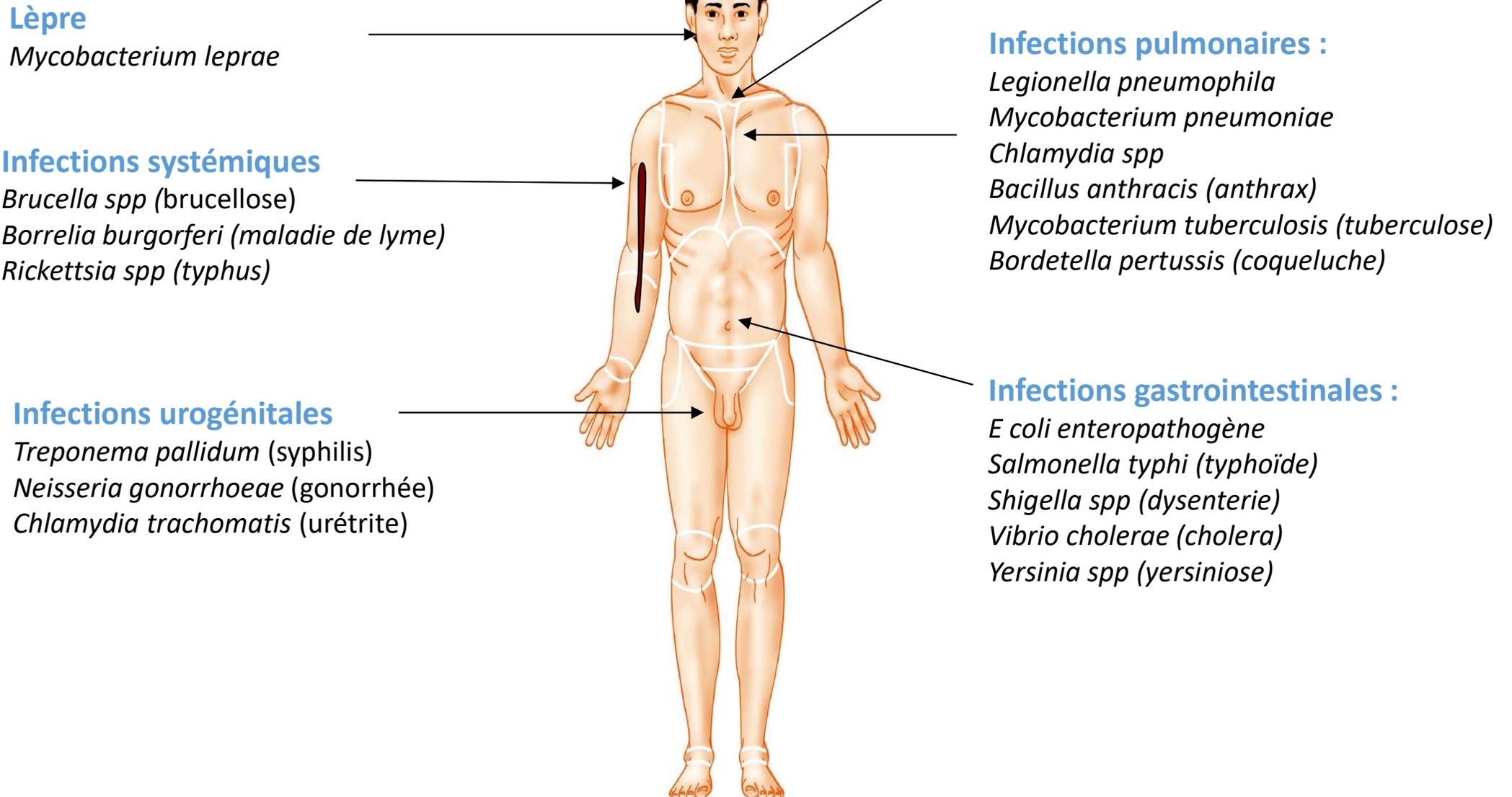
○ Les bactéries pathogènes (strictes)

- bactéries responsables d'une maladie même chez le sujet " sain " (ex typhoïde, choléra, tuberculose, méningite...)
- appartiennent (pneumocoque, *Haemophilus*, méningocoque..) ou non (*Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*..) à la flore humaine commensale

○ Les bactéries opportunistes

- ne donnent habituellement pas de maladie chez les sujets sains,
- peuvent devenir pathogène chez les sujets aux défenses immunitaires altérées (immunodépression, antibiothérapie, contre-sélectionnées et proliférer leur donnant ainsi un avantage sélectif)
- bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme
- le type de maladie en général, monomorphe : colonisation de la porte d'entrée avec développement d'une inflammation non spécifique à ce niveau (pneumonie, infection urinaire, infection sur cathéter,..), éventuellement suivie d'une généralisation avec des localisations secondaires possibles

Exemples de pathologies infectieuses causées par des bactéries pathogènes strictes



Exemples de pathologies infectieuses causées par des bactéries pathogènes opportunistes

Méningite

Streptococcus pneumoniae
Neisseria meningitidis
Haemophilus influenzae

Infections oculaires

Staphylococcus aureus
Haemophilus influenzae

Pneumonie

Streptococcus pneumoniae
Haemophilus influenzae

Infection de la peau

Streptococcus pyogenes
Staphylococcus aureus
Propionibacterium acnes

Gangrène

Clostridium perfringens

Otites

Streptococcus pneumoniae
Haemophilus influenzae

Caries

Streptococcus mutans

Pharyngite

Streptococcus pyogenes

Endocardite

Streptococcus sanguis

Gastrite/ Cancer gastrique

Helicobacter pylori

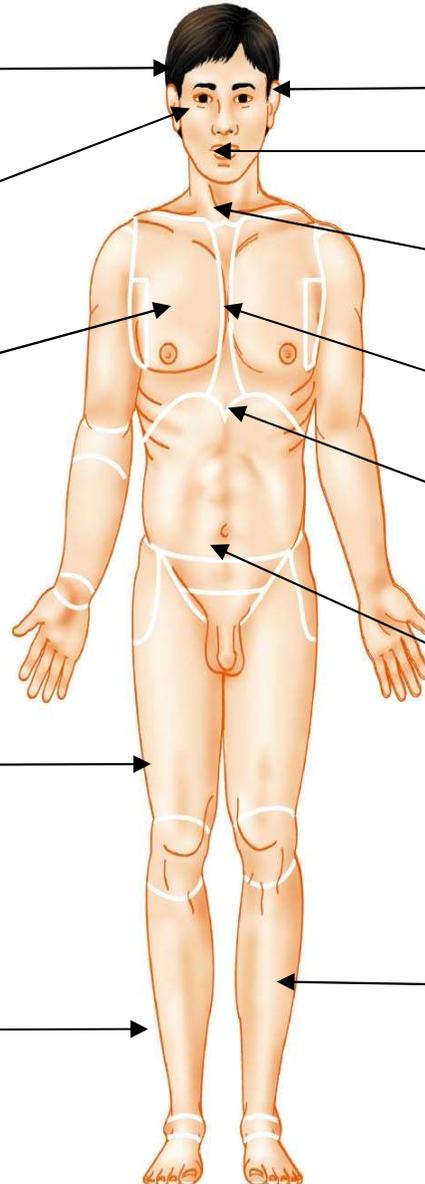
Infection urinaire

Escherichia coli

Ostéomyélite

(inflammation des os) :

Staphylococcus aureus



Toutes ces bactéries sont retrouvés sur personnes saines : infections par des bactéries opportunistes

Overview of Bacterial infections

- Bacterial meningitis**
- *Streptococcus pneumoniae*
 - *Neisseria meningitidis*
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Streptococcus agalactiae*
 - *Listeria monocytogenes*

- Otitis media**
- *Streptococcus pneumoniae*

- Pneumonia**
- Community-acquired:
- *Streptococcus pneumoniae*
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Staphylococcus aureus*
- Atypical:
- *Mycoplasma pneumoniae*
 - *Chlamydia pneumoniae*
 - *Legionella pneumophila*
- Tuberculosis
- *Mycobacterium tuberculosis*

- Skin infections**
- *Staphylococcus aureus*
 - *Streptococcus pyogenes*
 - *Pseudomonas aeruginosa*

- Sexually transmitted diseases**
- *Chlamydia trachomatis*
 - *Neisseria gonorrhoeae*
 - *Treponema pallidum*
 - *Ureaplasma urealyticum*
 - *Haemophilus ducreyi*

- Eye infections**
- *Staphylococcus aureus*
 - *Neisseria gonorrhoeae*
 - *Chlamydia trachomatis*

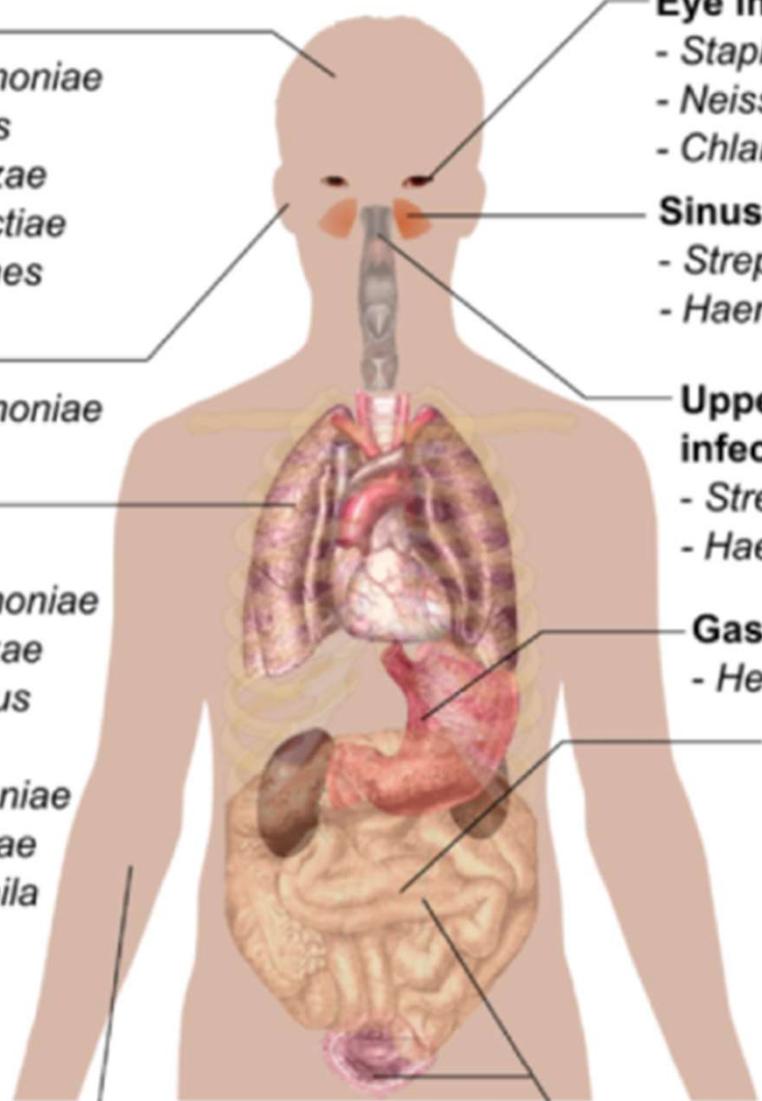
- Sinusitis**
- *Streptococcus pneumoniae*
 - *Haemophilus influenzae*

- Upper respiratory tract infection**
- *Streptococcus pyogenes*
 - *Haemophilus influenzae*

- Gastritis**
- *Helicobacter pylori*

- Food poisoning**
- *Campylobacter jejuni*
 - *Salmonella*
 - *Shigella*
 - *Clostridium*
 - *Staphylococcus aureus*
 - *Escherichia coli*

- Urinary tract infections**
- *Escherichia coli*
 - Other Enterobacteriaceae
 - *Staphylococcus saprophyticus*
 - *Pseudomonas aeruginosa*



Tête d'épingle



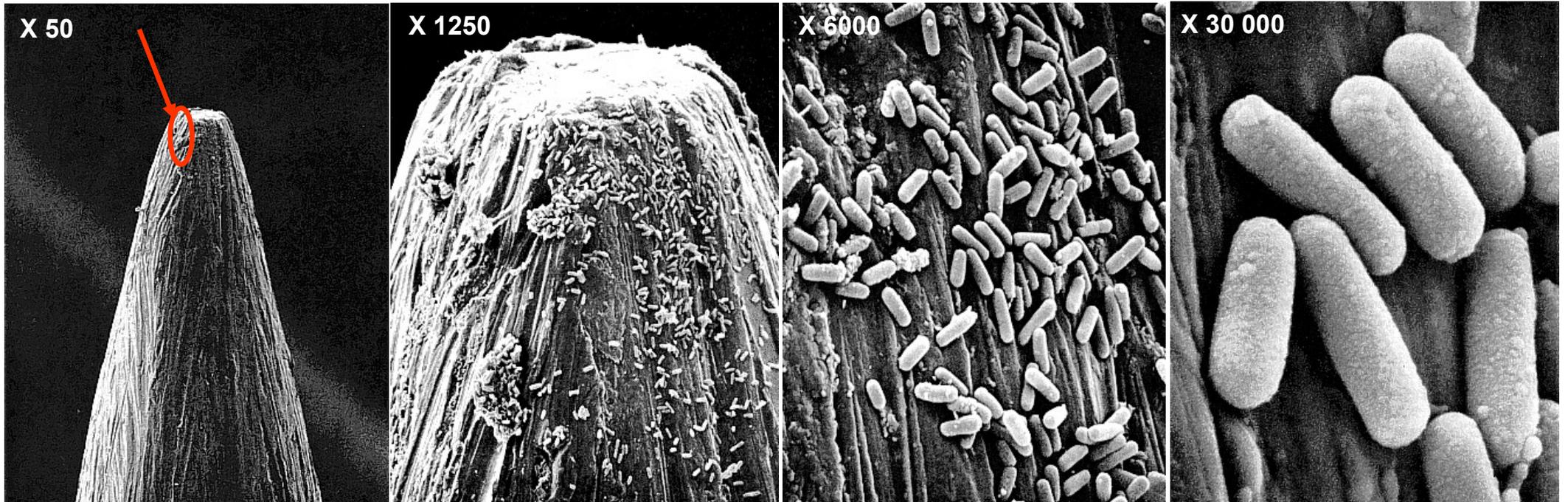
Poil de brosse à dents



Planche à découper:

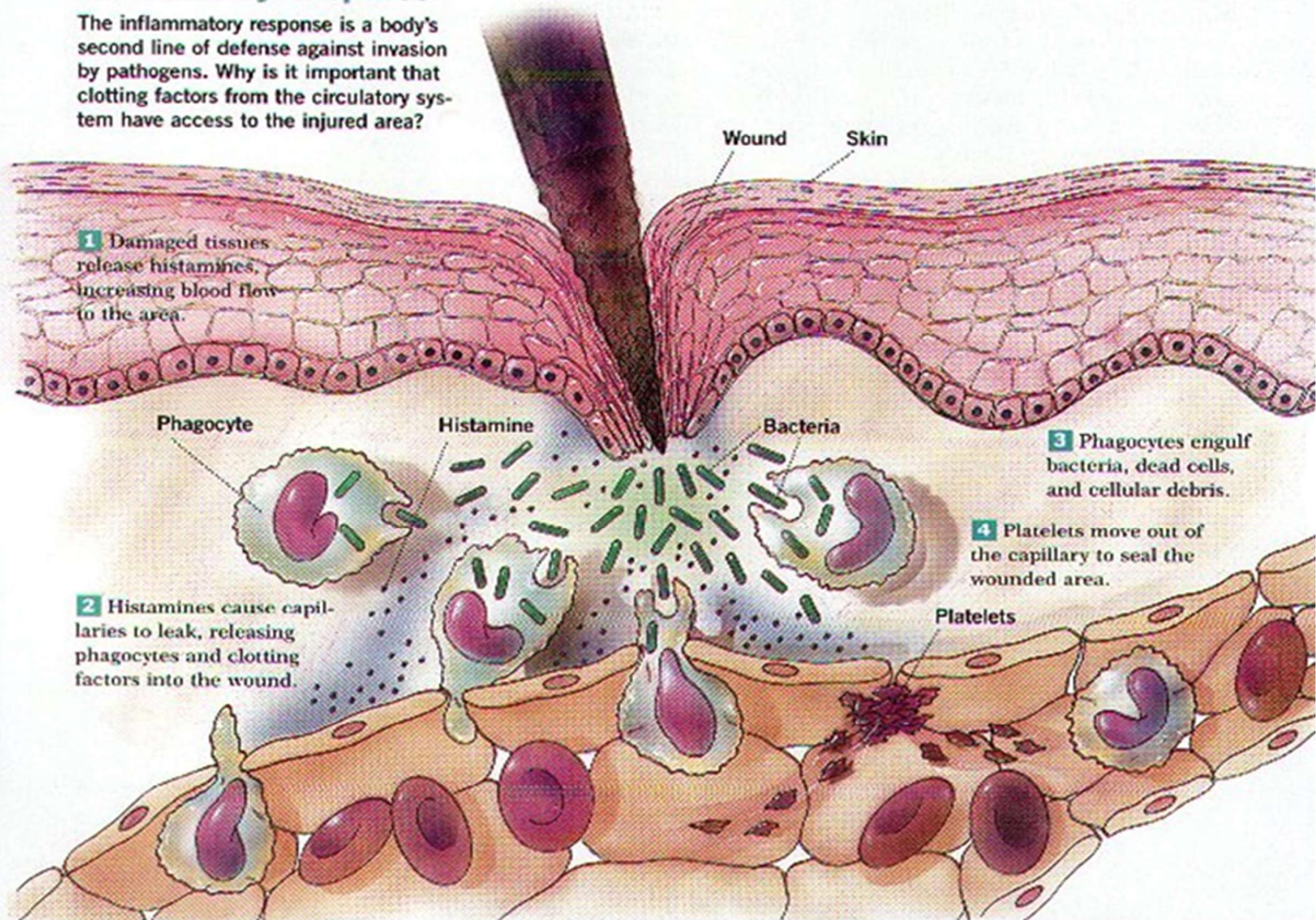
- En rose des champignons
- En vert des bactéries type bacille
- En violet des bactéries de type coccus

Zoom sur une tête d'épingle



Steps of the Inflammatory Response

The inflammatory response is a body's second line of defense against invasion by pathogens. Why is it important that clotting factors from the circulatory system have access to the injured area?



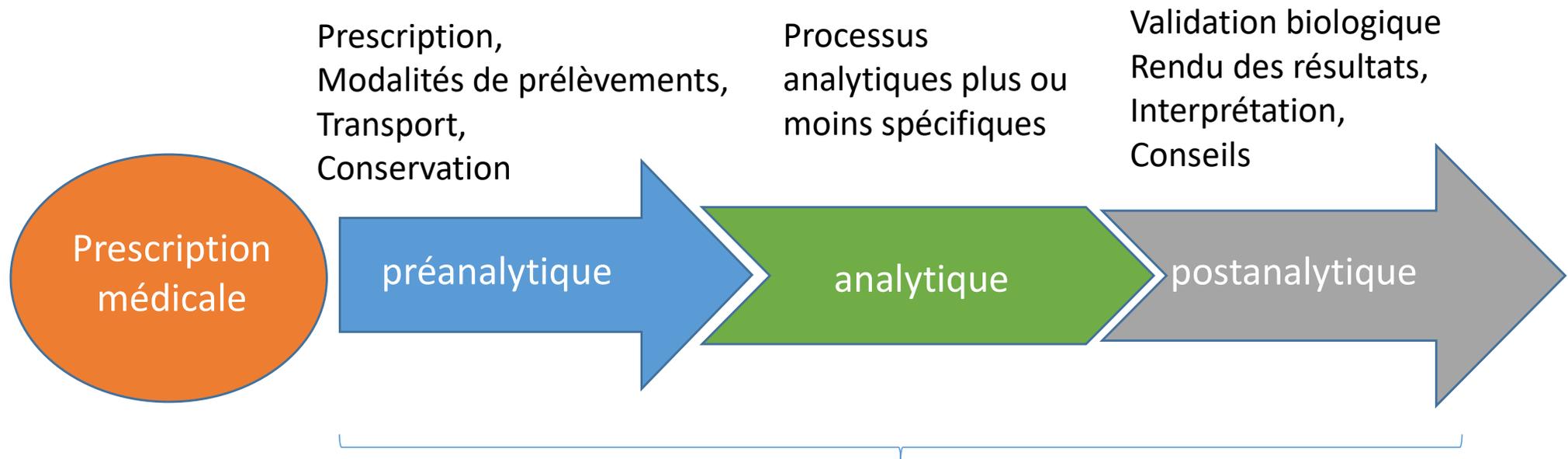


Démarche du diagnostique bactériologique

Examens de laboratoires

Missions du biologiste médical

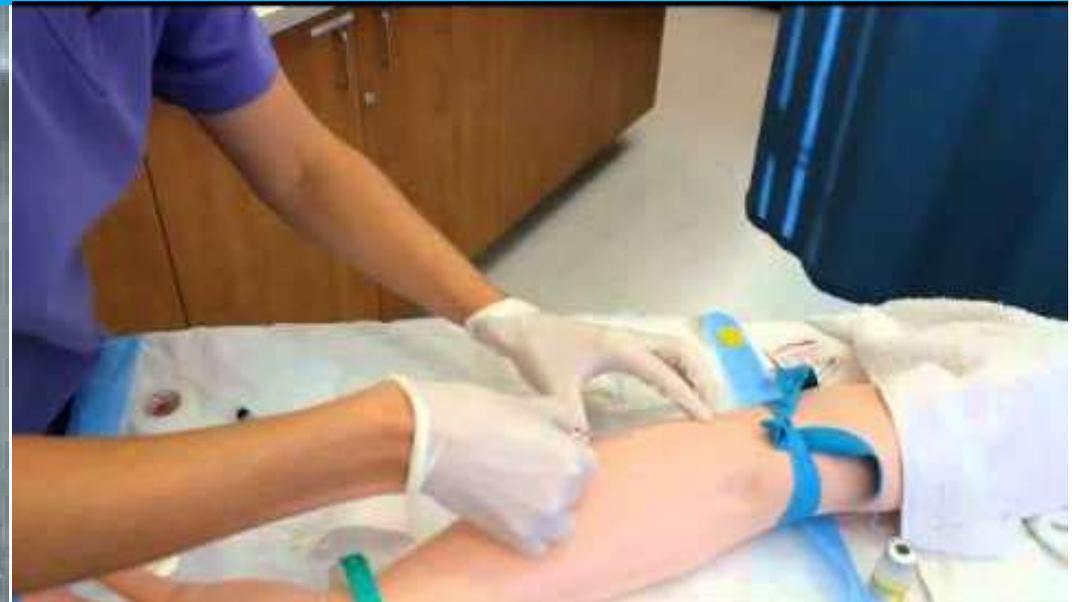
Spécialiste des analyses biologiques : du prélèvement au conseil et à l'interprétation des résultats



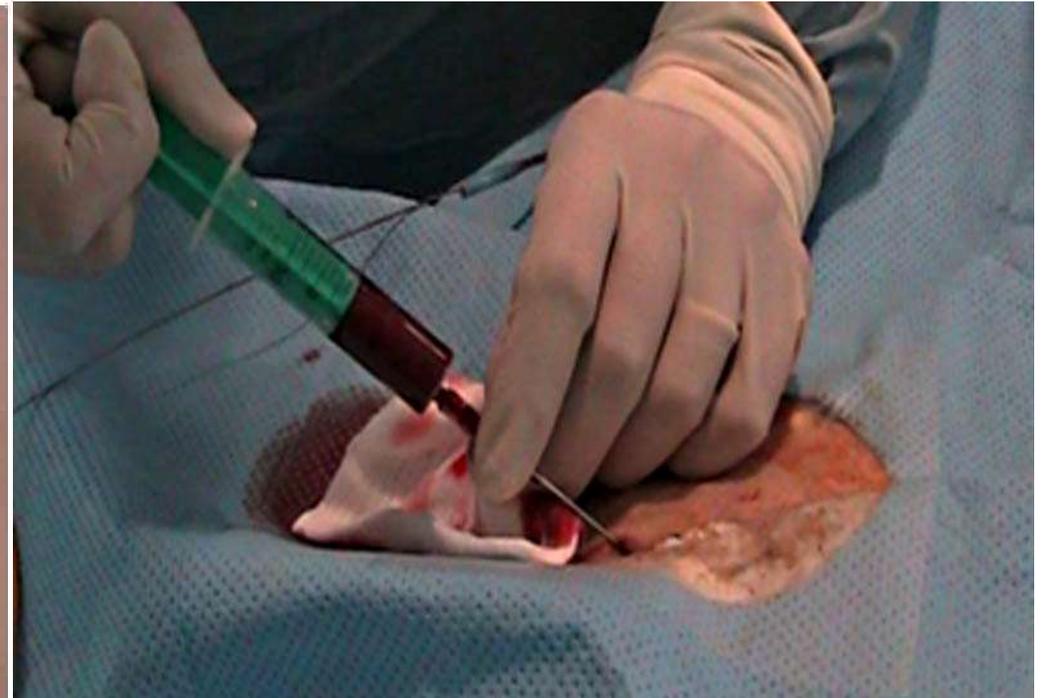
Sous la responsabilité des biologistes médicaux
avec délégation aux cadres de santé
(Ordonnance du 13 Janvier 2010 sur l'accréditation
des laboratoires)

Bonne réalisation des prélèvements

Le plus souvent déléguée aux soignants



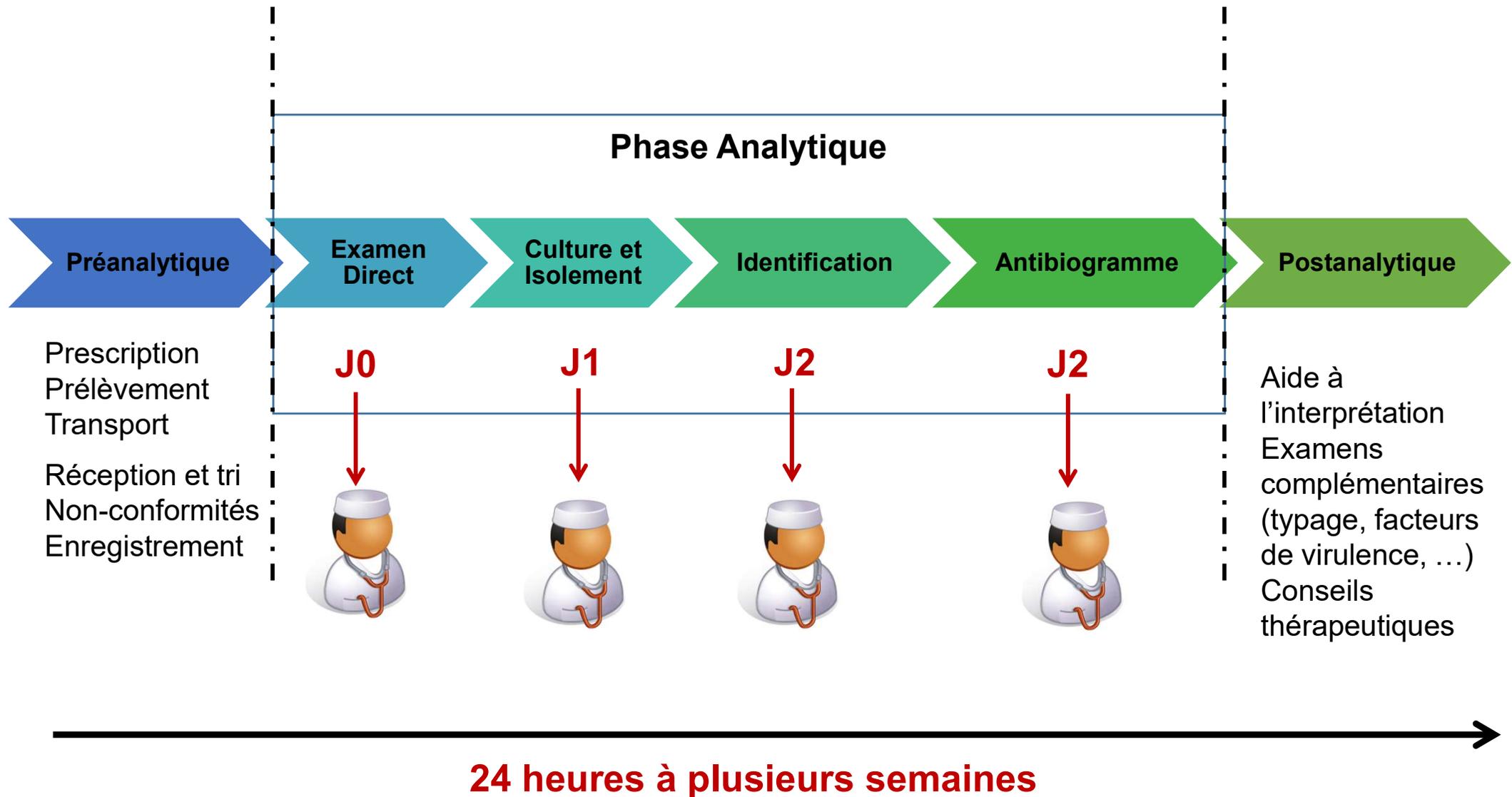
- Bonne indication (quelle question)
- Bon moment
- Bon endroit
- Bonnes conditions
- Bon contenants
- Bonne conservation



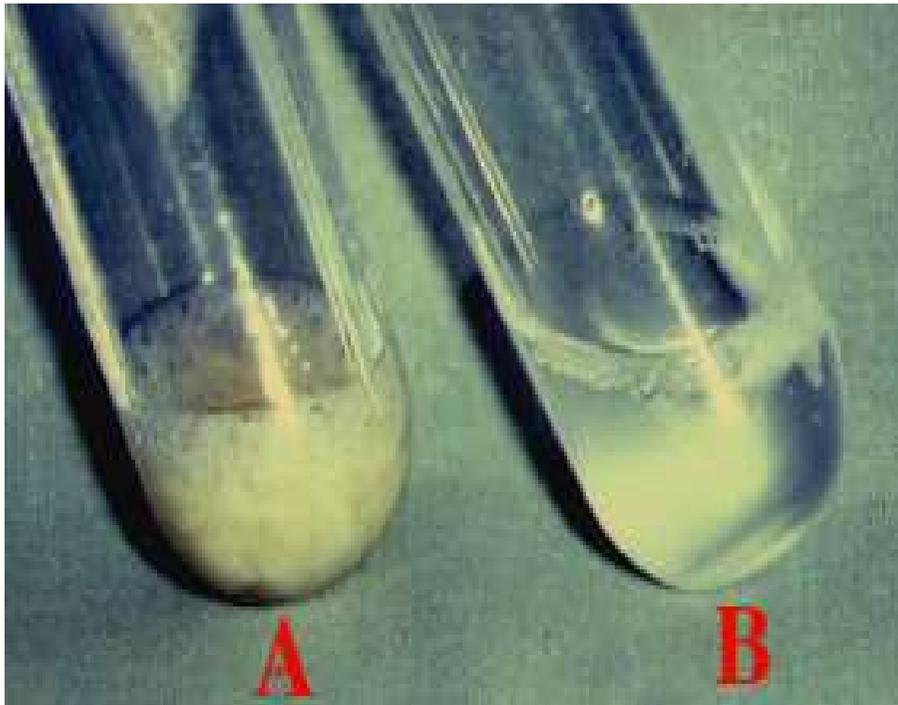
Etapes du diagnostic microbiologique

- ❑ ***Examen direct** (macroscopique et microscopique (état frais et coloration spécifique : Gram, Ziehl ...))*
- ❑ ***Mise en culture** et isolement sur milieu adaptés*
- ❑ ***Identification** (principaux critères de famille puis de genre puis d'espèce voire de clones pathogènes)*
- ❑ ***Détermination de la sensibilité** aux antibiotiques ou antibiogramme*

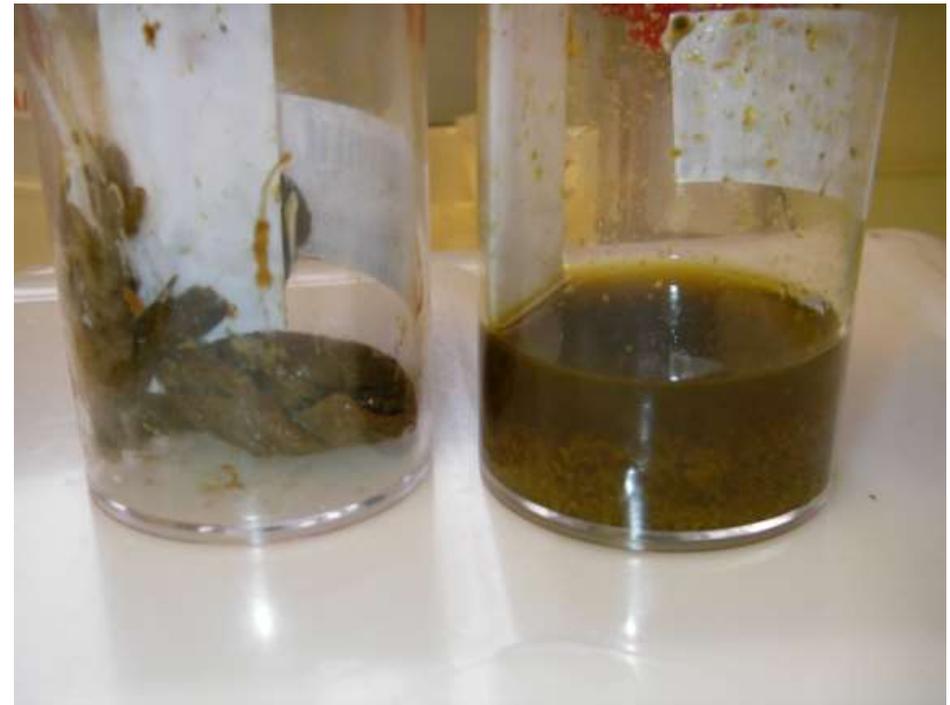
Détails de la démarche du diagnostic microbiologique



Examen macroscopique (J0)



Examen cyto bactériologique des crachats (ECBC) : purulent ou salivaire ?



Coproculture

Quelles indications pour la coproculture et quelle définition pour la diarrhée ?

Examen macroscopique (J0)

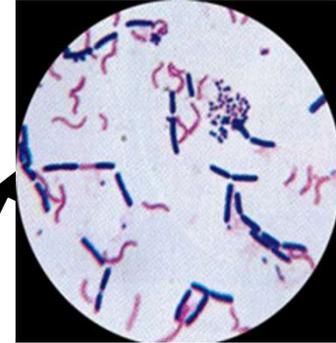


Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :
trouble, limpide, hématuriques, cristaux de lithiase, ...

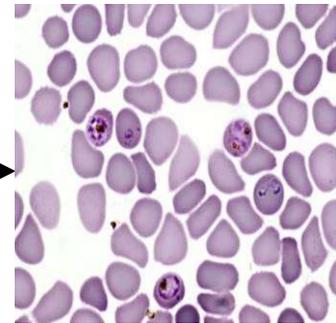
Examens directs microscopiques



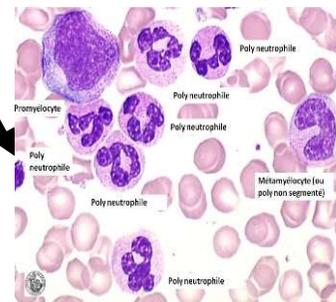
Bactériologie



Parasitologie

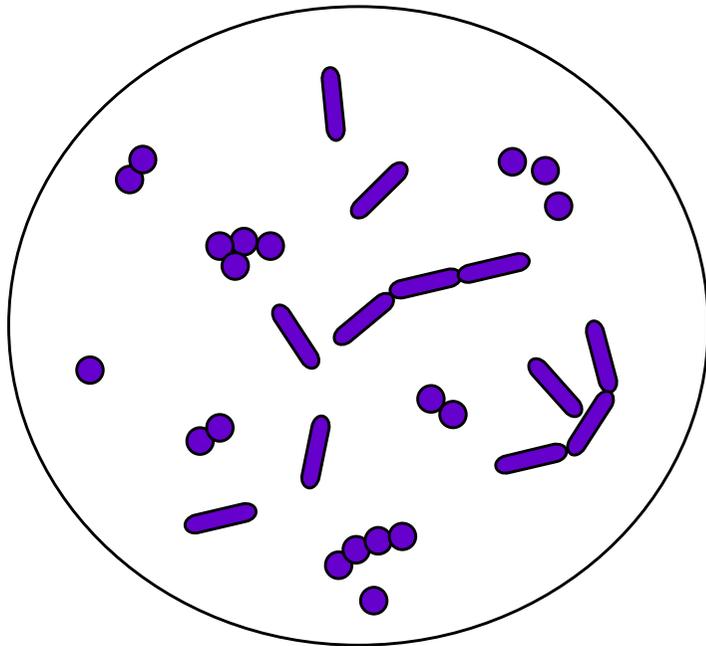


Hématologie

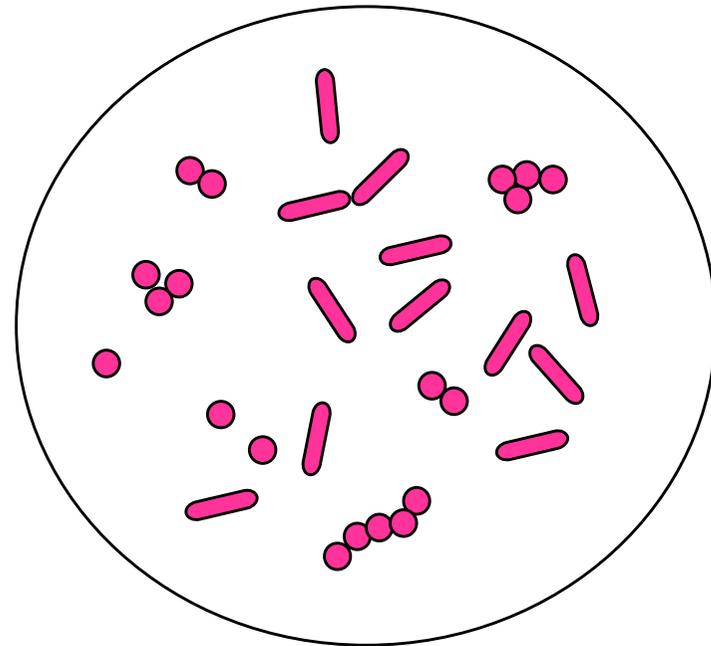


Morphologie et coloration de Gram

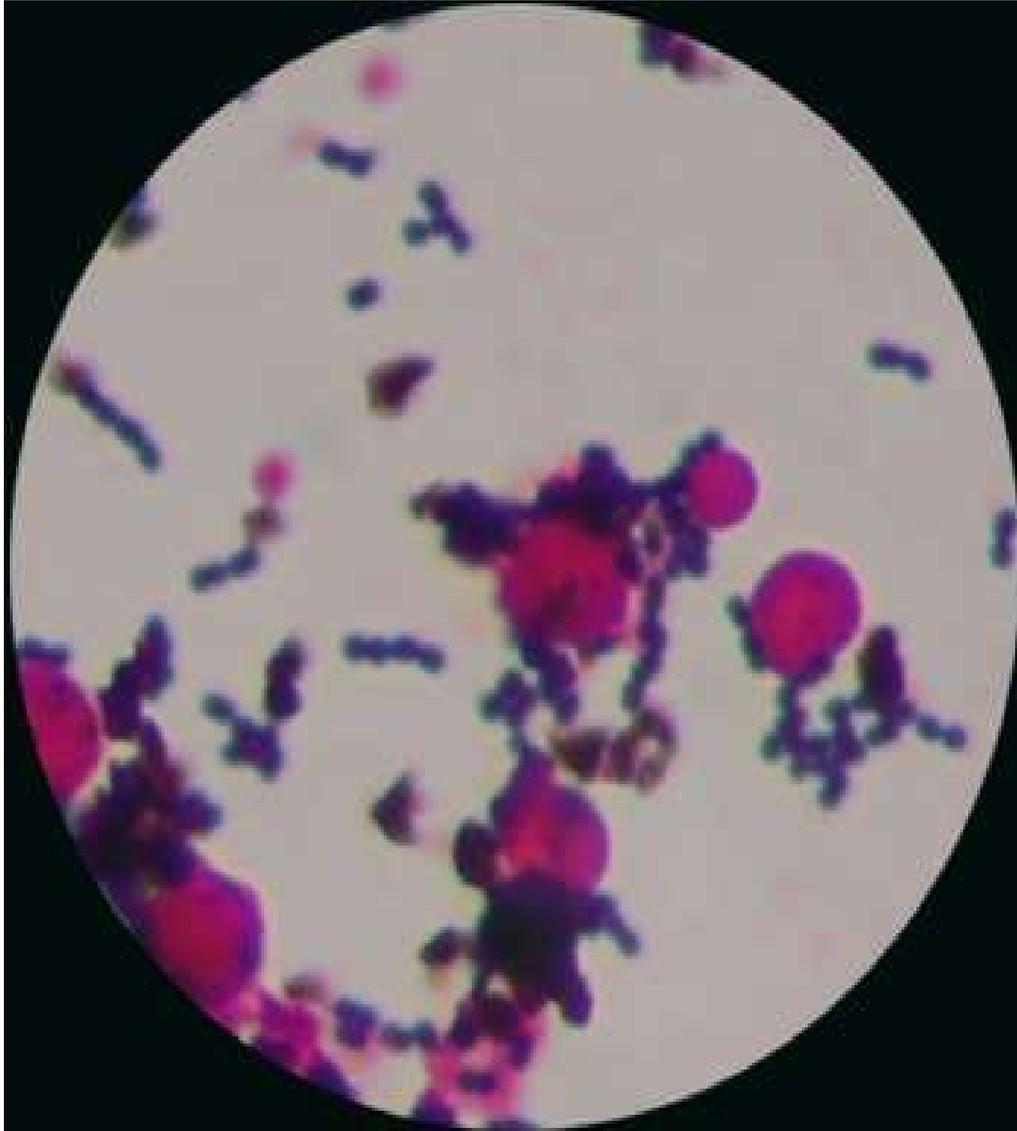
**Cocci/bacilles
à Gram positif**



**Cocci/bacilles
à Gram négatif**

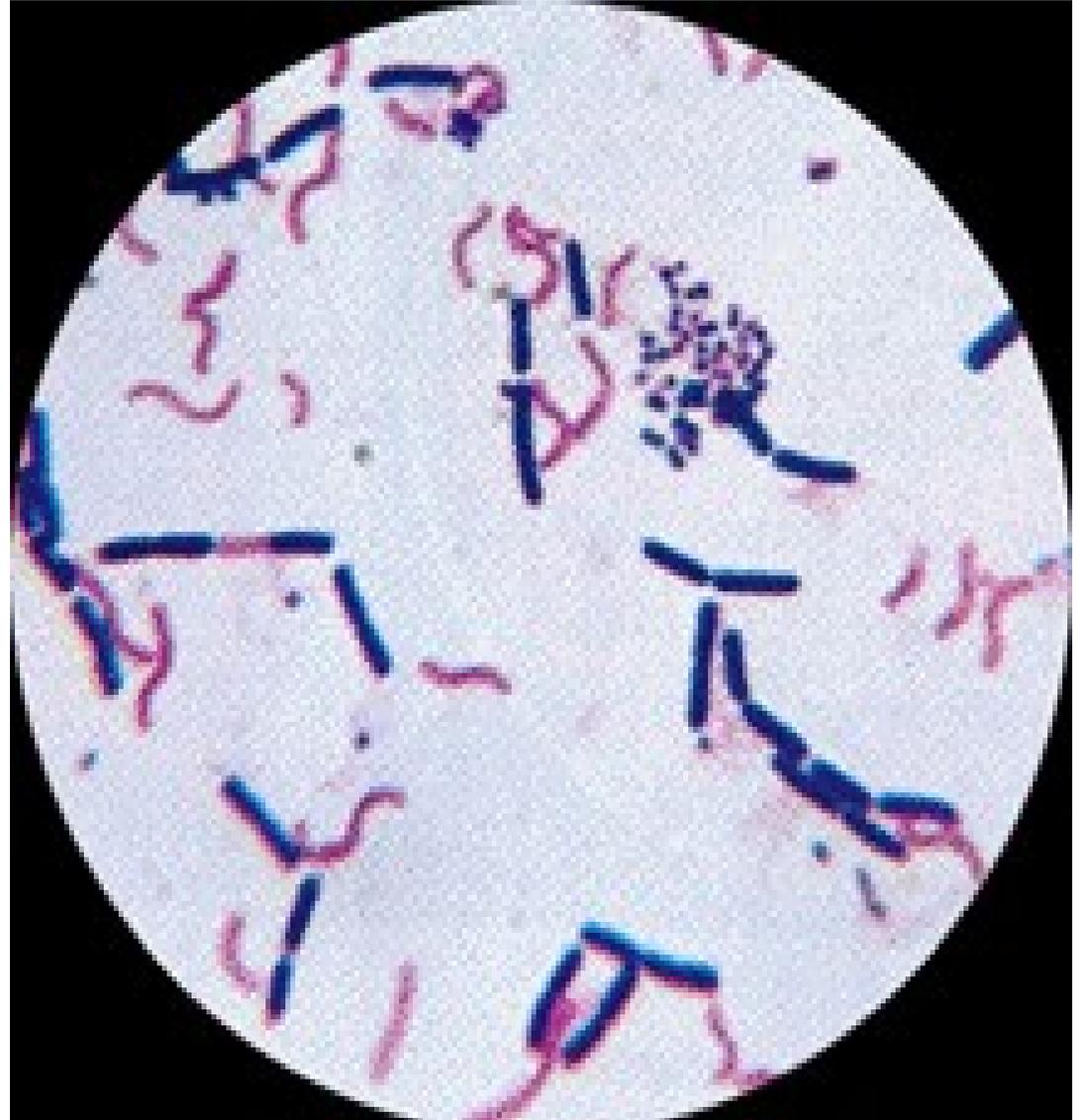


Examen microscopique après coloration (J0)



Hémoculture

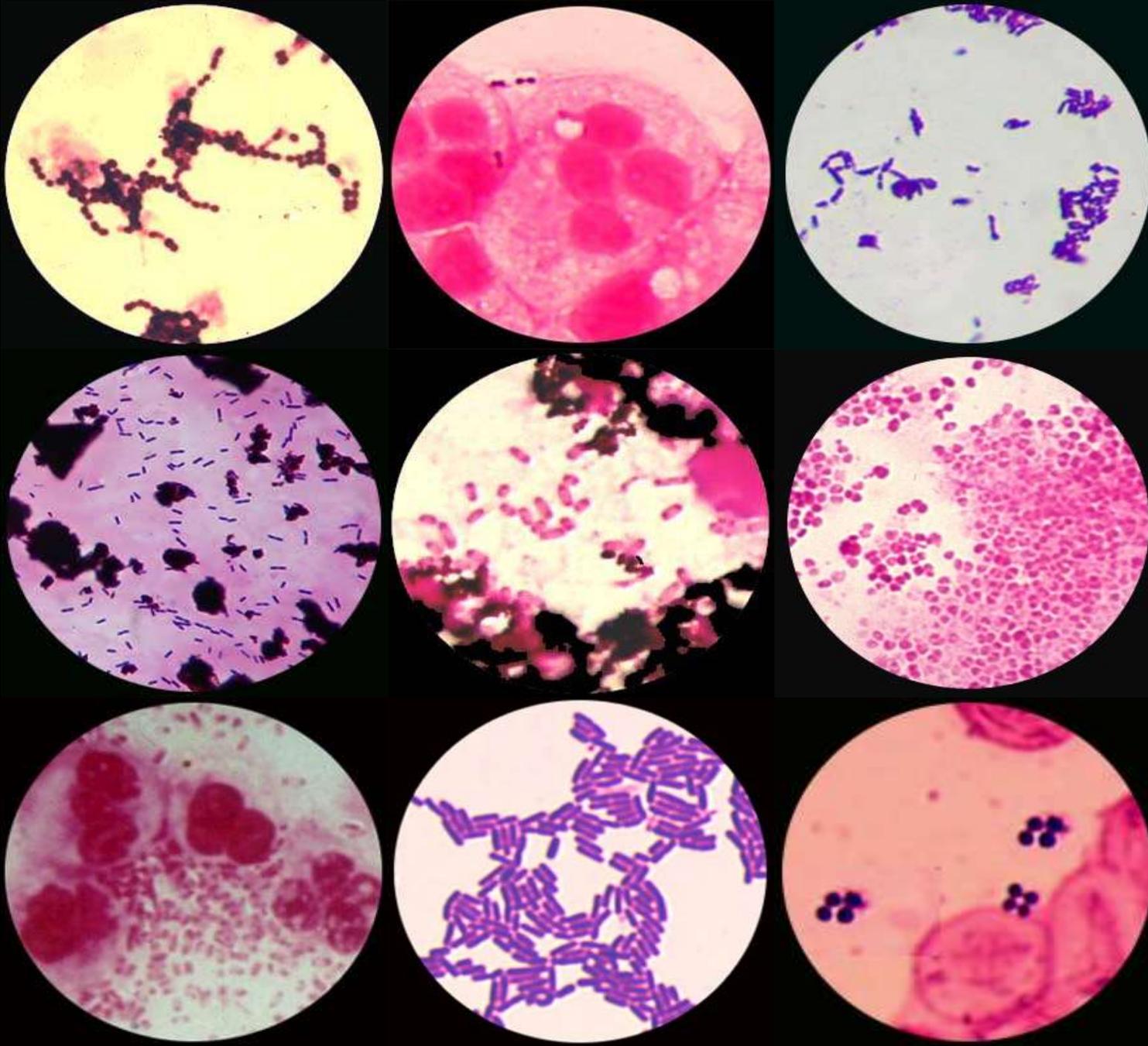
le sang est normalement stérile



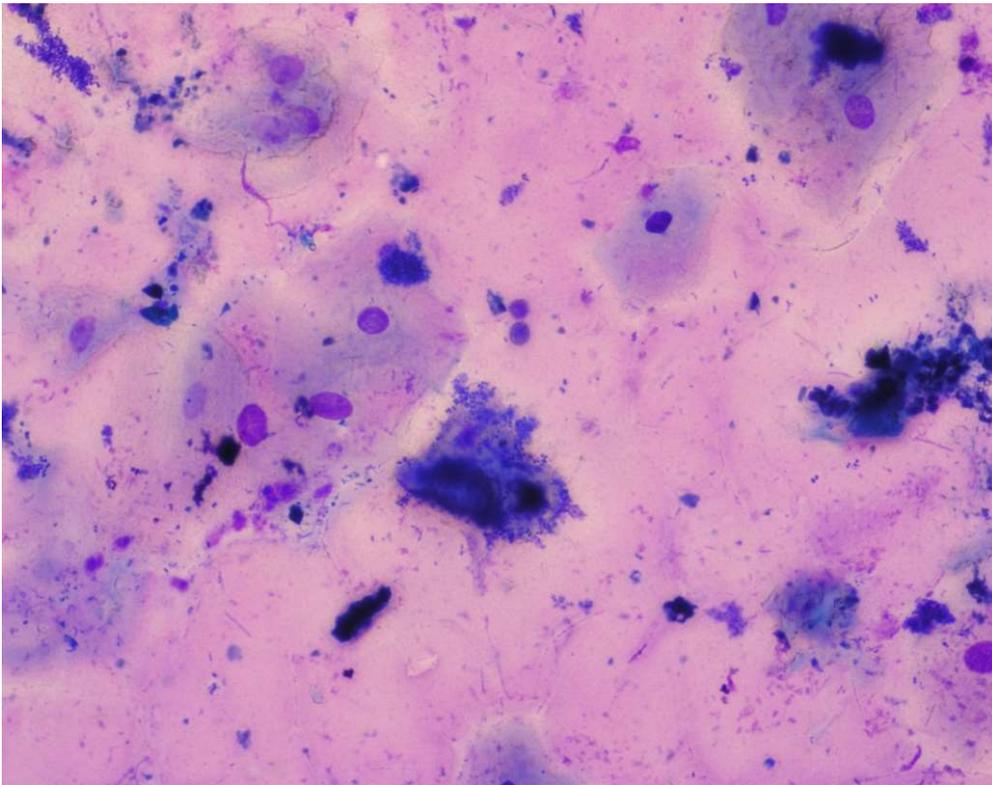
Coproculture

prélèvement polymicrobien : flore dans laquelle il faut identifier un éventuel pathogène

Examen direct après colorations de Gram

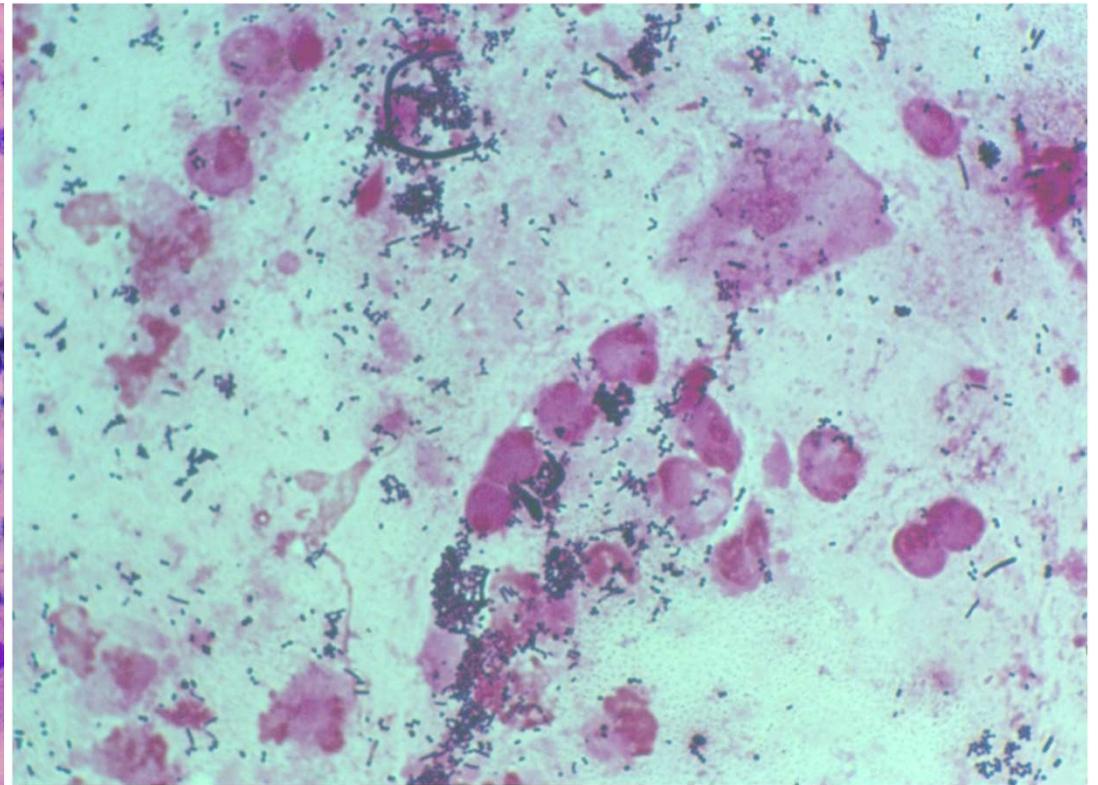


Examen microscopique après coloration (J0)



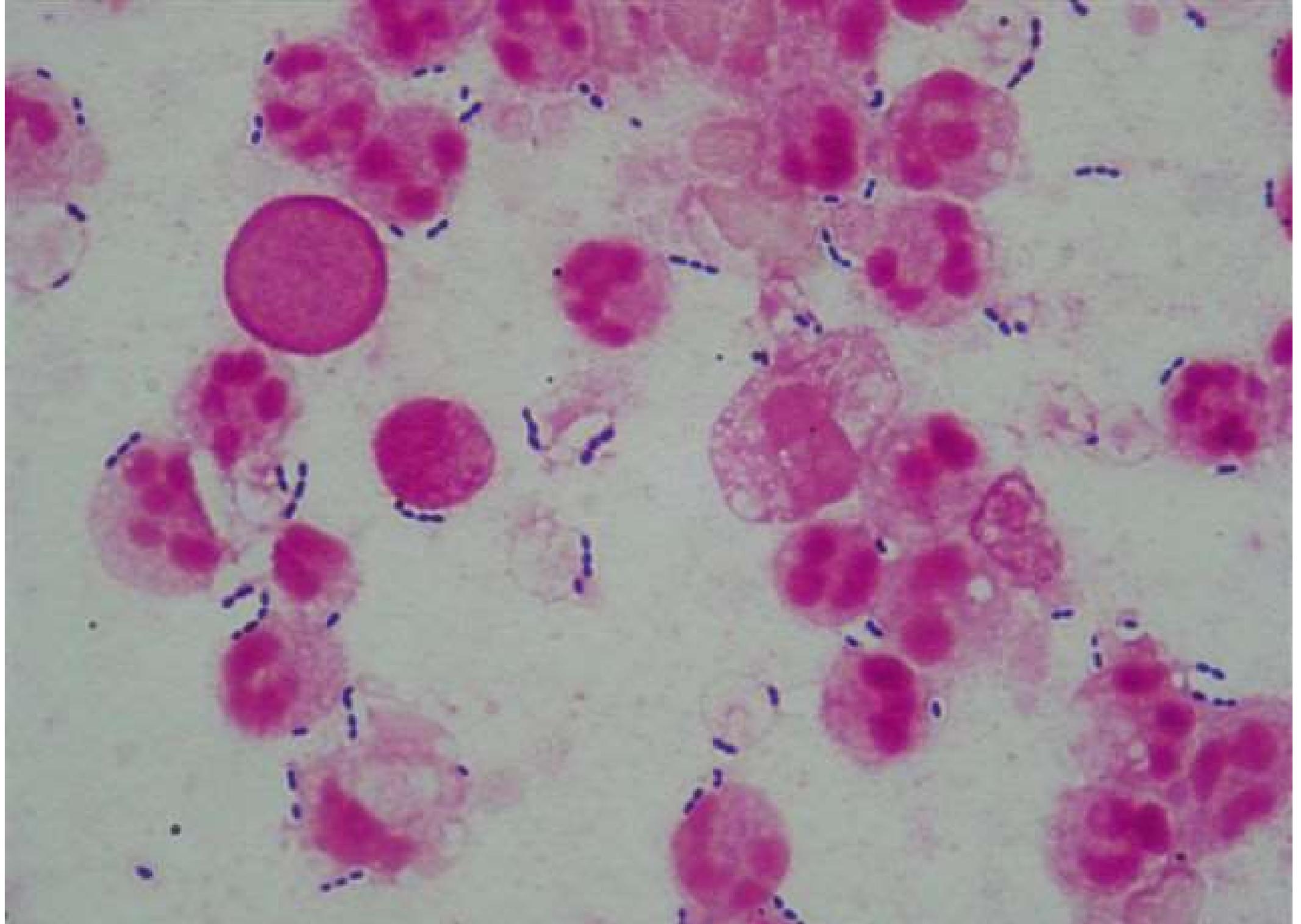
Coloration de MGG

examen cyto bactériologique des crachats
(ECBC)



Coloration de Gram

examen cyto bactériologique des crachats
(ECBC)

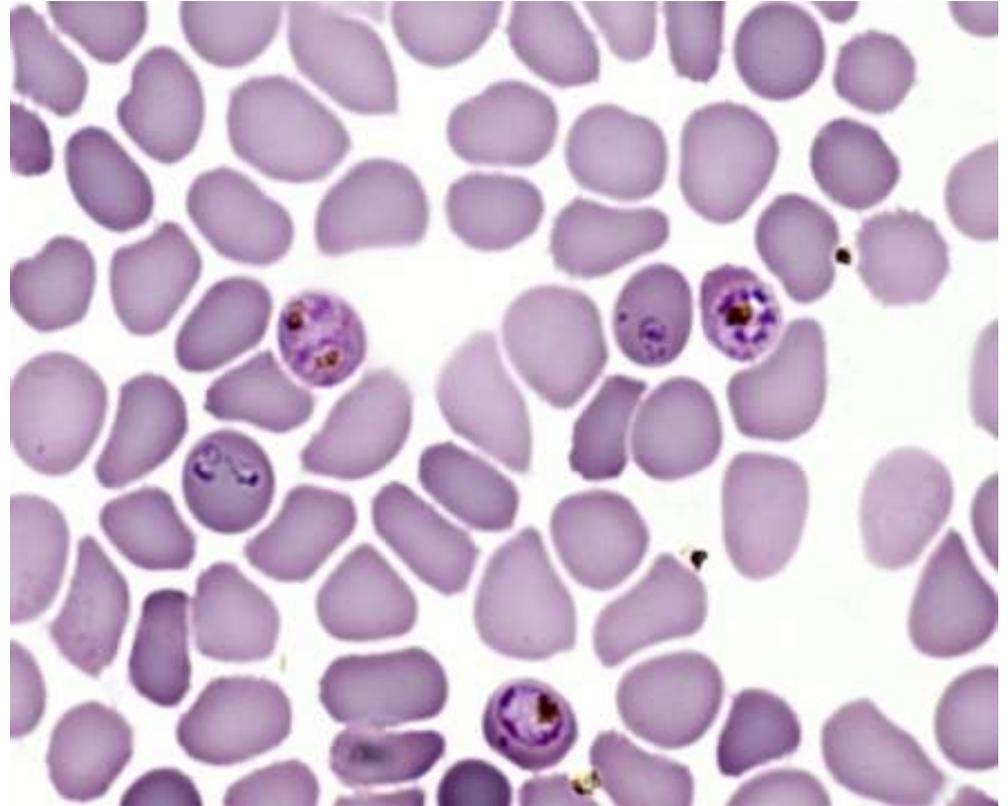


Coloration de Gram (Pneumocoque capsulé dans une hémoculture)

Choix des colorations

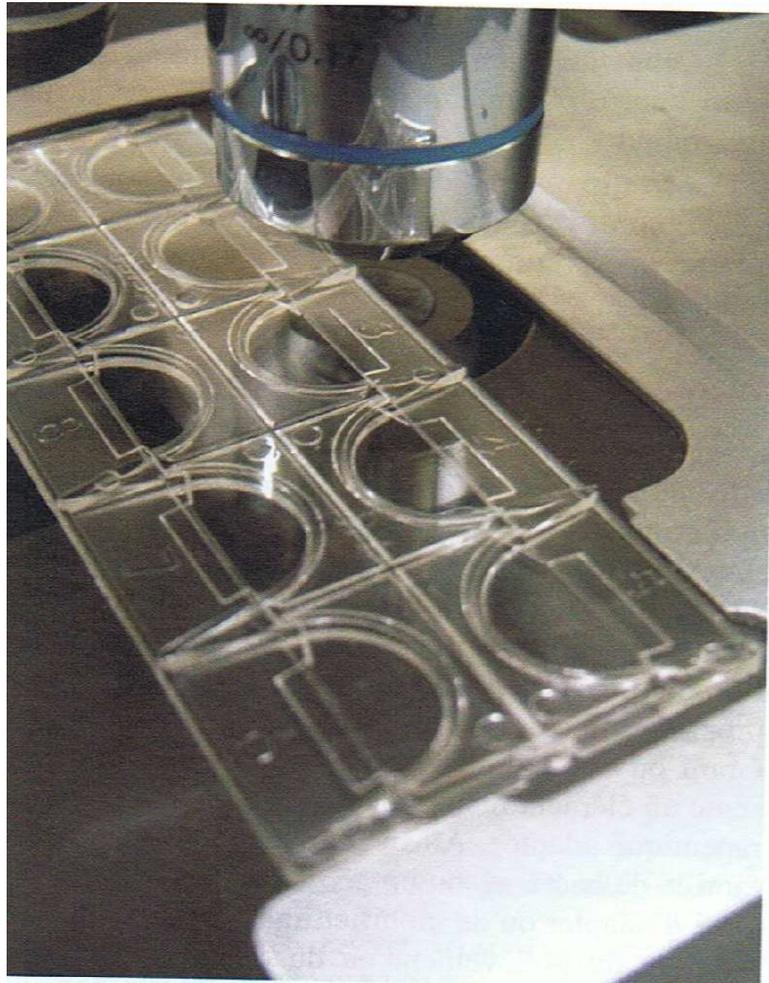


Coloration de Ziehl
(BAAR → Mycobactéries)



Coloration de MGG
(Plasmodium → Paludisme)

*Etat frais, cytologie,
parasitologie, ... (J0)*



Cellule kovaslide



1 petit carre = $n \times 10 \times 10^3 = \dots$ /ml

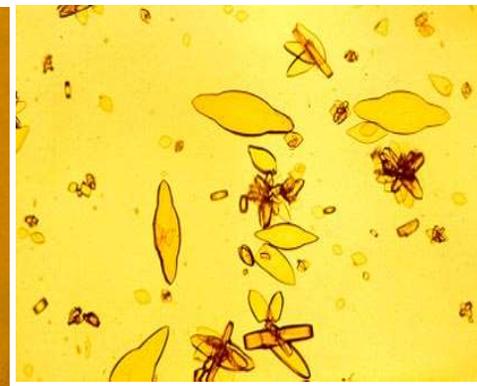
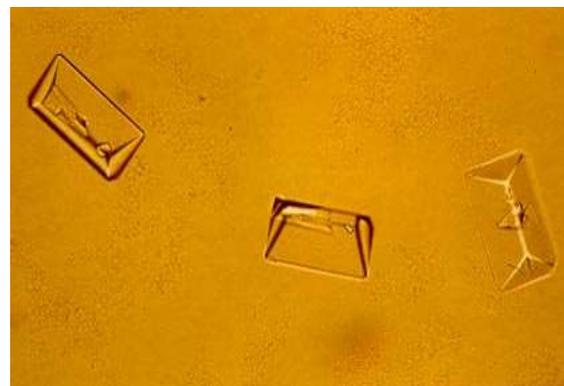


Examen direct à l'état frais

Parasitologie et recherche de cristaux

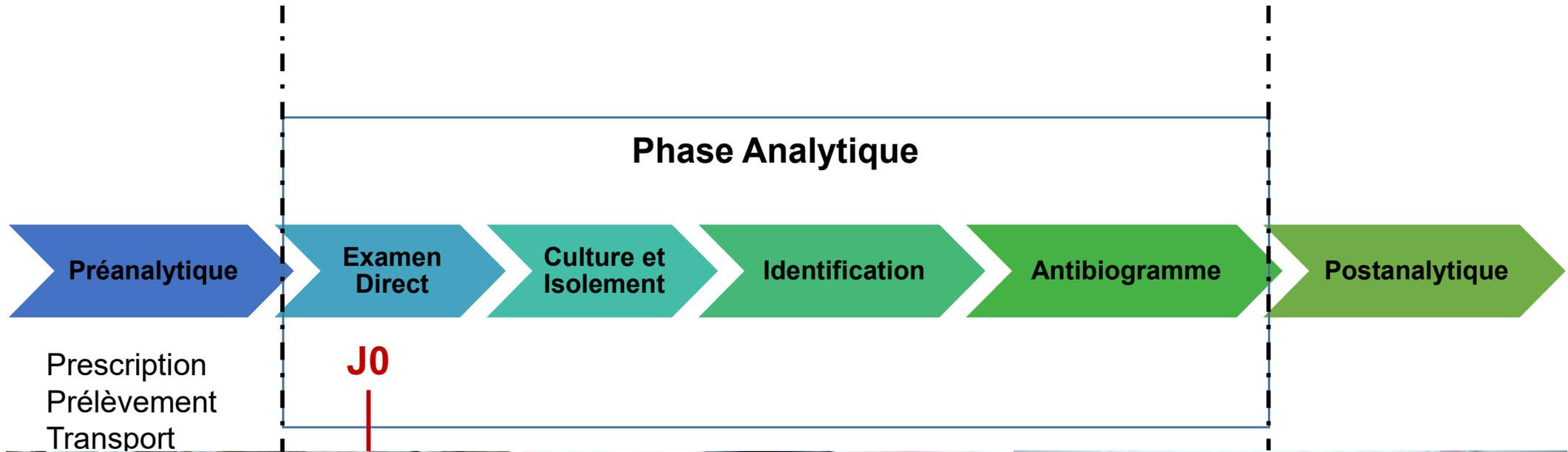


Oxalate de calcium et urolithiase



Acide urique, ne se trouvant que dans des urines acides

Détails de la démarche du diagnostic microbiologique : mise en culture



Poste de Sécurité Microbiologique de type II



Classement des agents biologiques infectieux

Groupes	Pathogénicité chez l'homme	Danger pour le travailleur	Propagation dans la collectivité	Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace
1	non	-	-	-
2	oui	oui	peu probable	oui
3	oui	oui	possible	oui
4	oui	oui	élevée	non

Conditions de travail en laboratoire NSB3 ou P3 pour les agents de classe 3



Incubation des cultures (respect des conditions respiratoires) (J0)

Génération d'anaérobiose

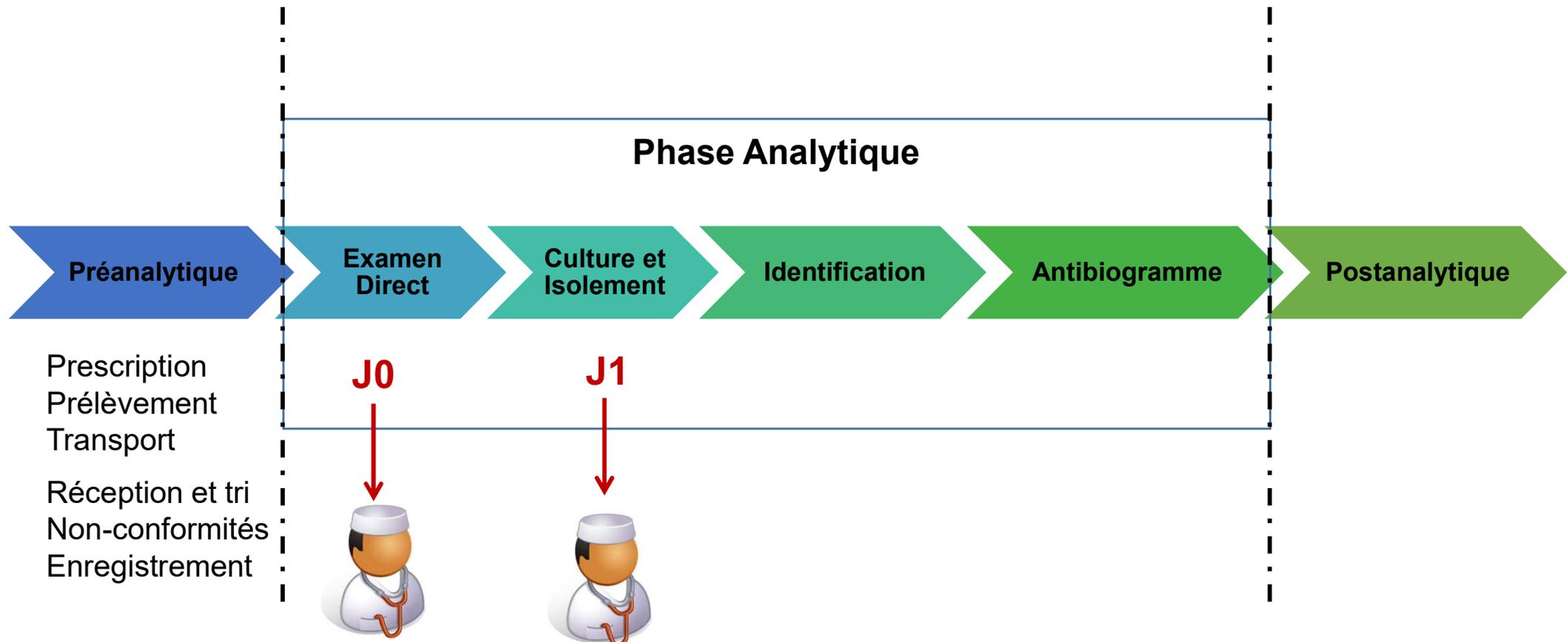


Chambre de Freter

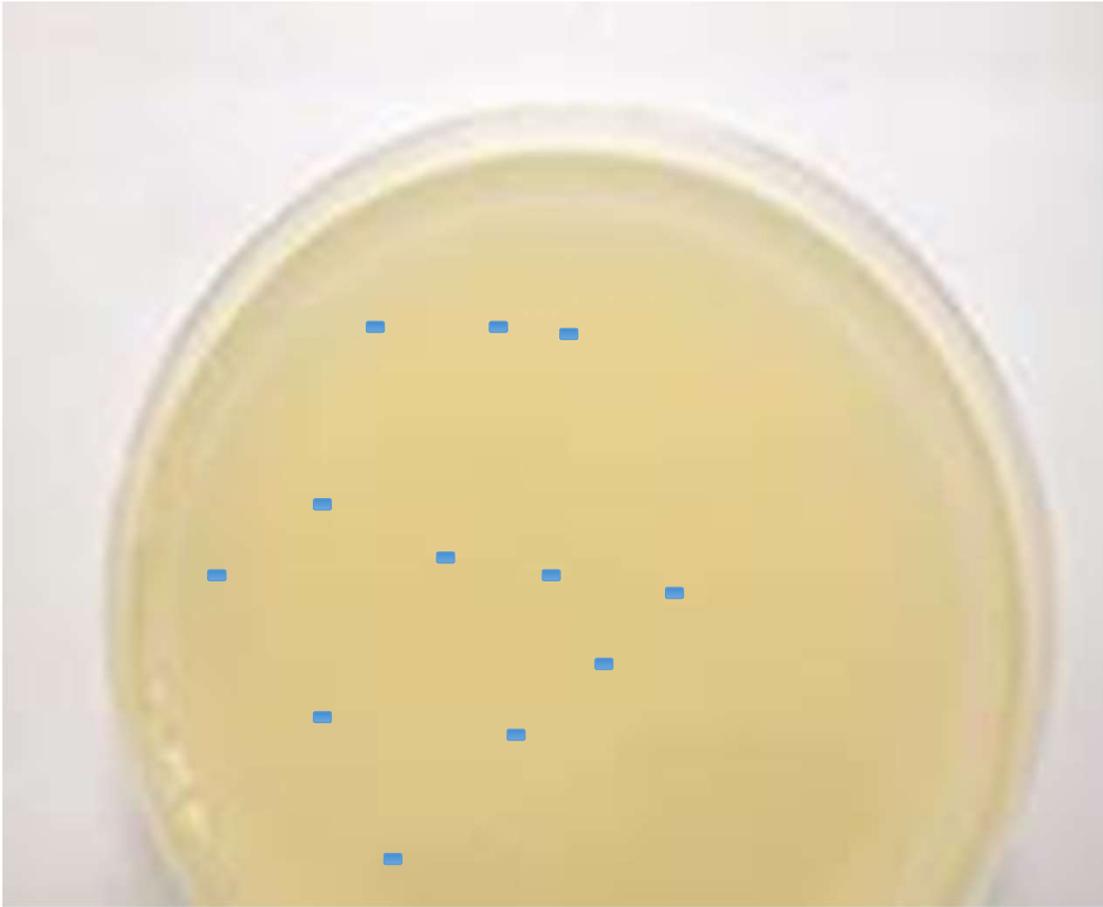
Bactéries anaérobies strictes



Détails de la démarche du diagnostic microbiologique : isolement et identification



Isolement sur milieux de cultures (J1)



J0 ensemencement du prélèvement



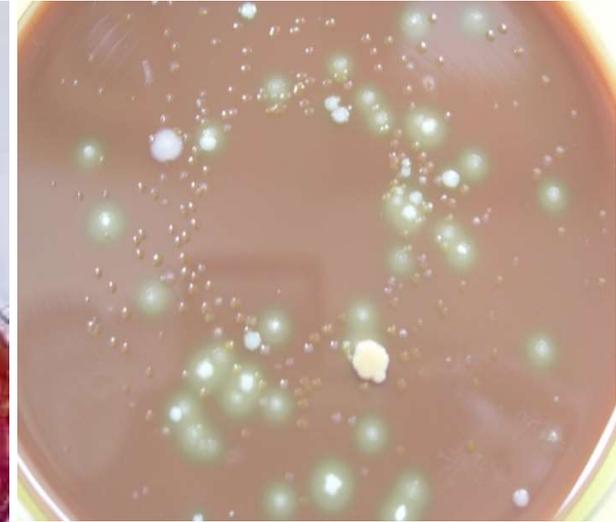
J1



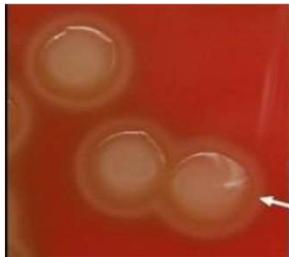
1 colonie > 100 millions bactéries

Isolement sur milieux de cultures

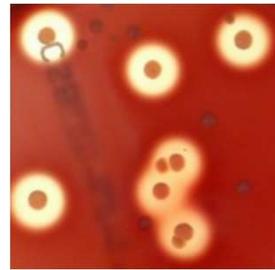
Tri en fonction des renseignements cliniques



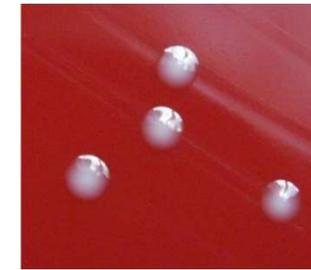
Type d'hémolyses sur gélose au sang



Streptocoque alpha-hémolytique

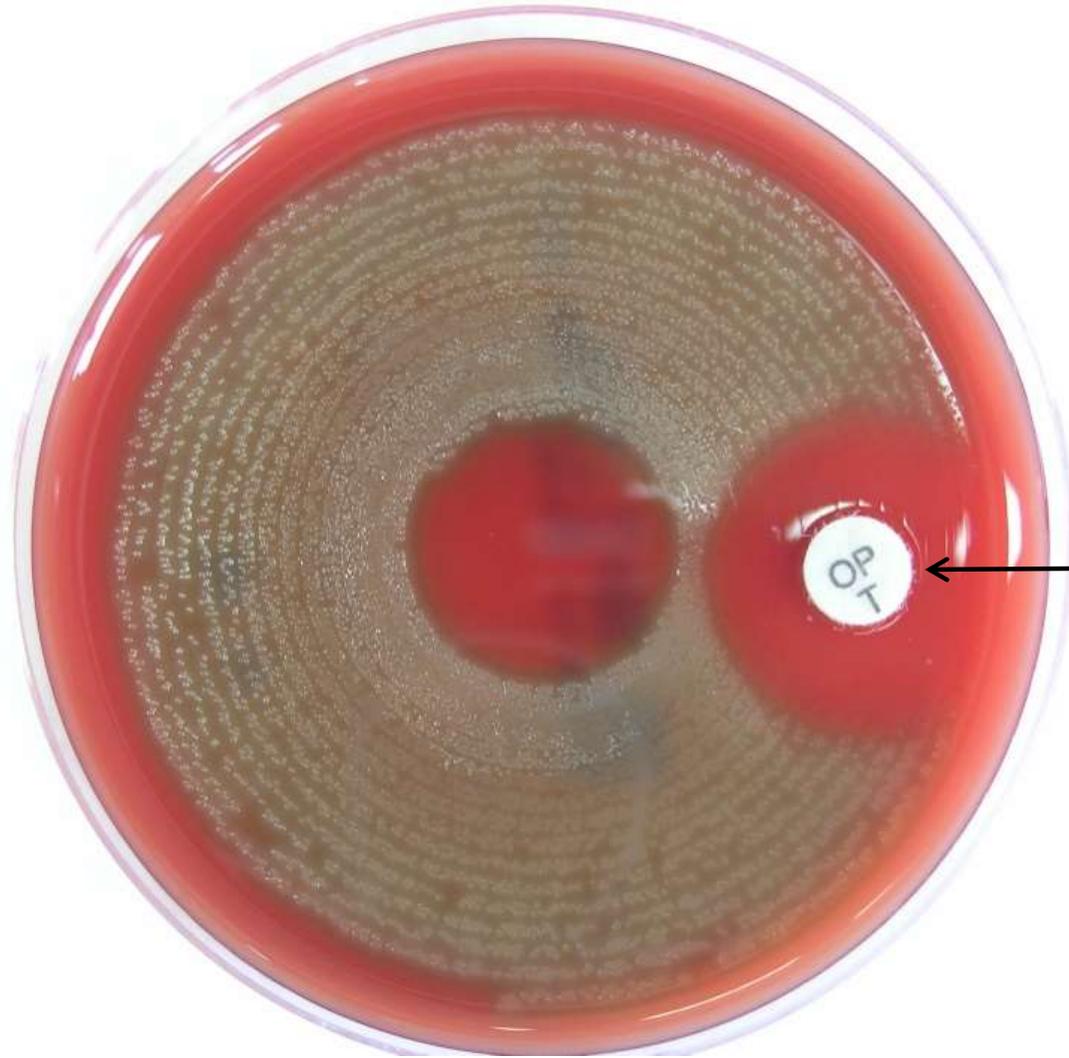


Streptocoque bêta-hémolytique



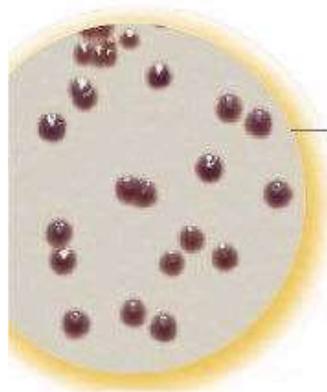
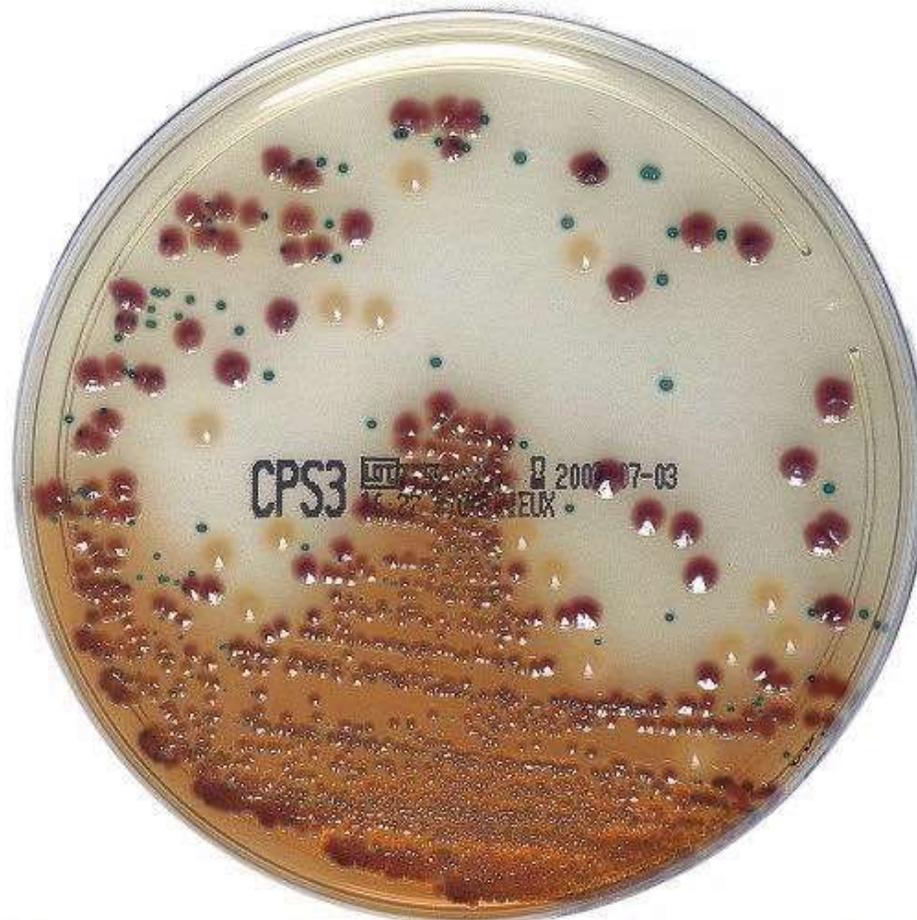
Streptocoque non-hémolytique

Isolement semi-quantitatif automatisé (ECBC)

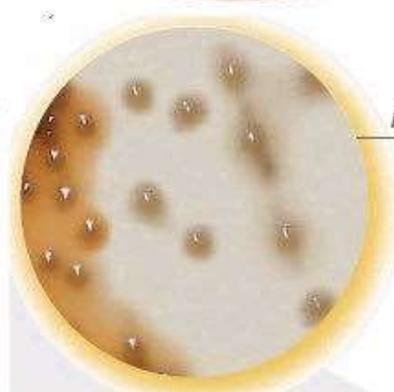


Utilisation
d'idenbiotiques
(optochine,
bacitracine, ...)

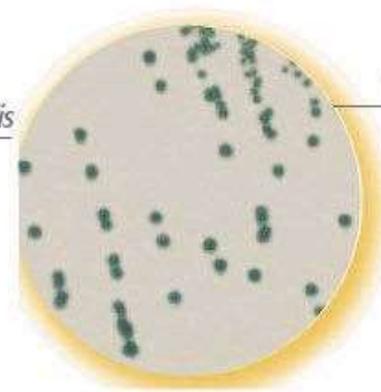
Isolement semi-quantitatif sur milieux chromogènes (ECBU)



E.coli



P.mirabilis



Enterococci



Particularités des hémocultures pour le diagnostic des bactériémies

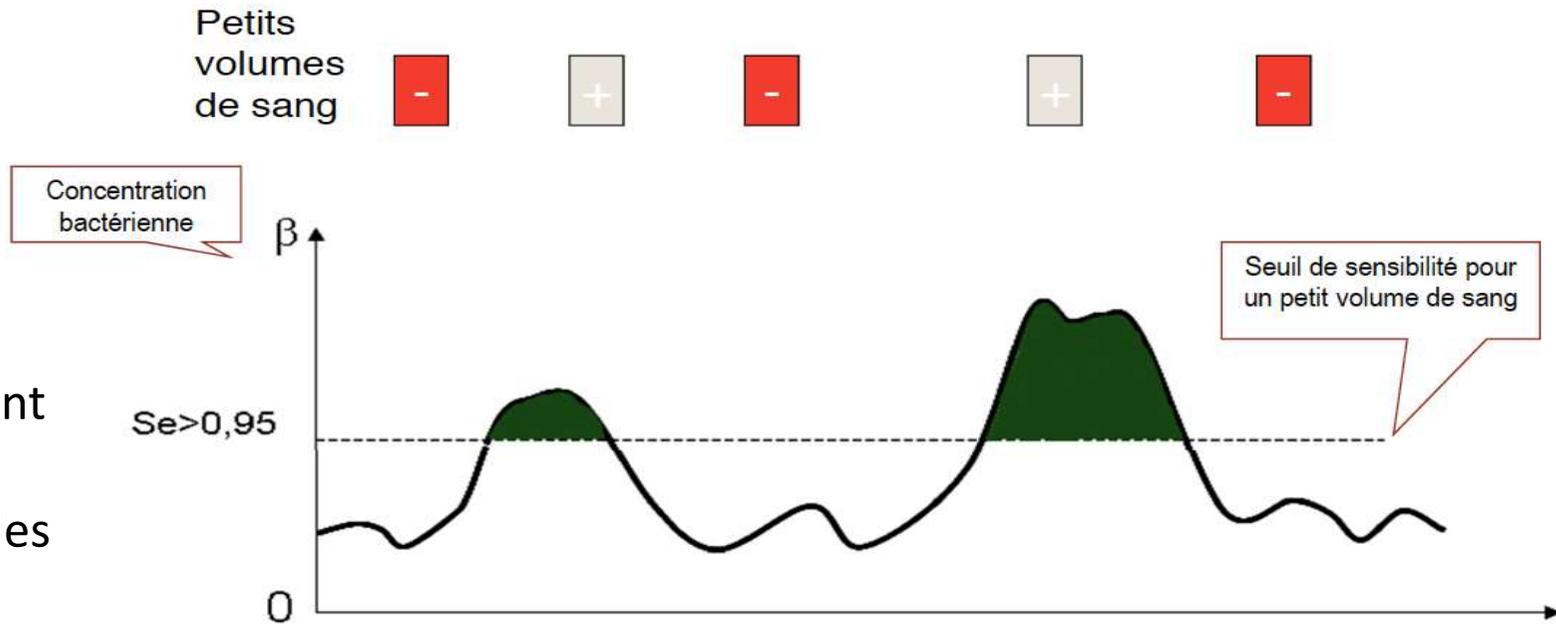
Diagnostic de bactériémie - fongémie

- Bactériémie et fongémie => faible prévalence mais grave (sepsis) ;
- Sang normalement stérile et milieu complexe et hostile, incompatible avec la prolifération bactérienne ;
- Faible densité en microorganismes : médiane 1 UFC/ml [0,01-100 bactéries/ml] ;
- Bactériémie intermittente exceptionnelle (cas particulier des endocardites) ;
- Bactériémie continue avec quantité faible et variable de microorganismes dans le temps ;
- Moment optimal de prélèvement : en pratique pic fébrile et frissons mais non spécifique et peu discriminant ;
- Seule recommandation consensuelle : « avant tout traitement antibiotique » !

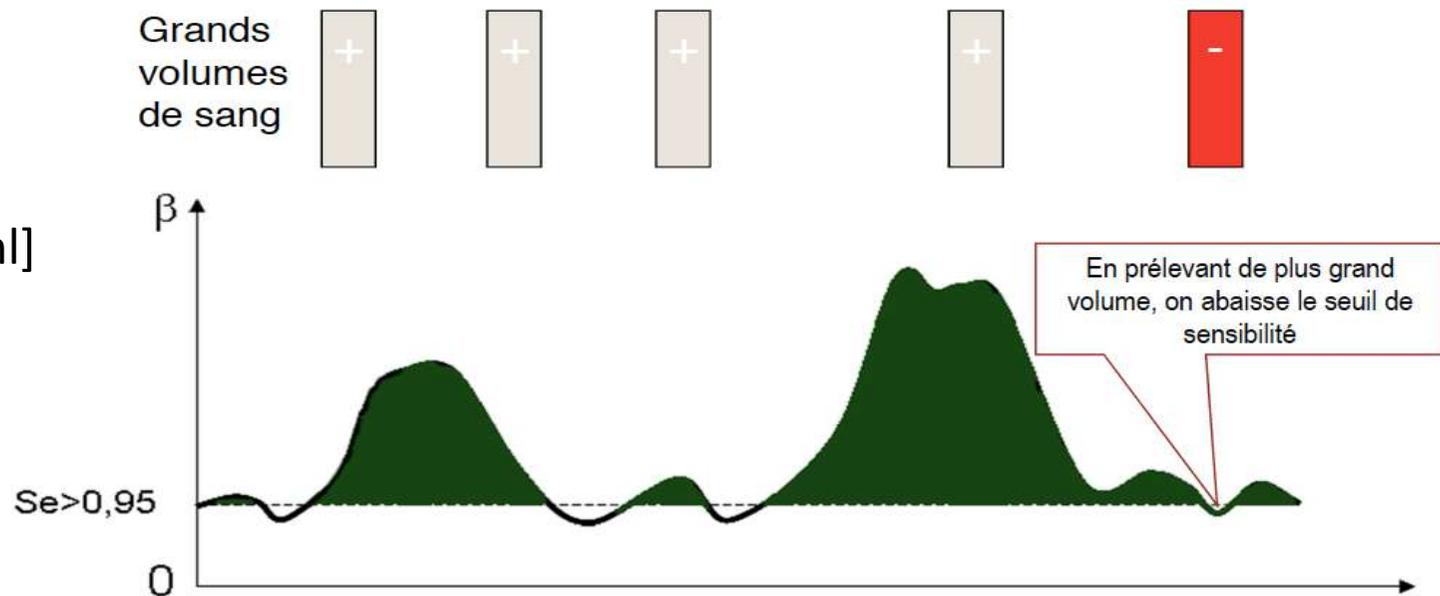


Sensibilité de la détection d'une bactériémie

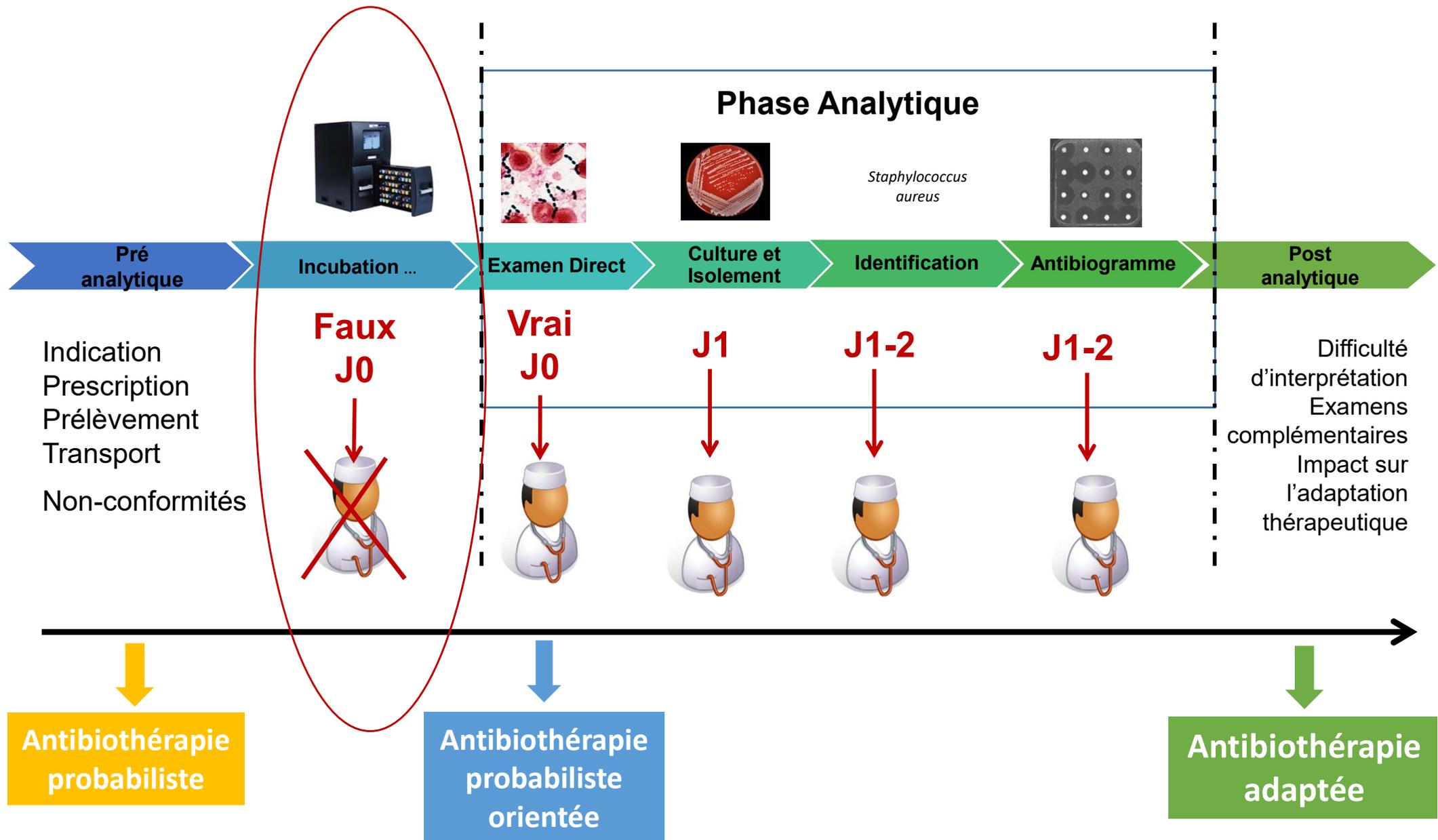
Bactériémie intermittente sont exceptionnelles (cas particulier des endocardites)



Faible densité en microorganismes : médiane 1 UFC/ml [0,01-100 bactéries/ml]

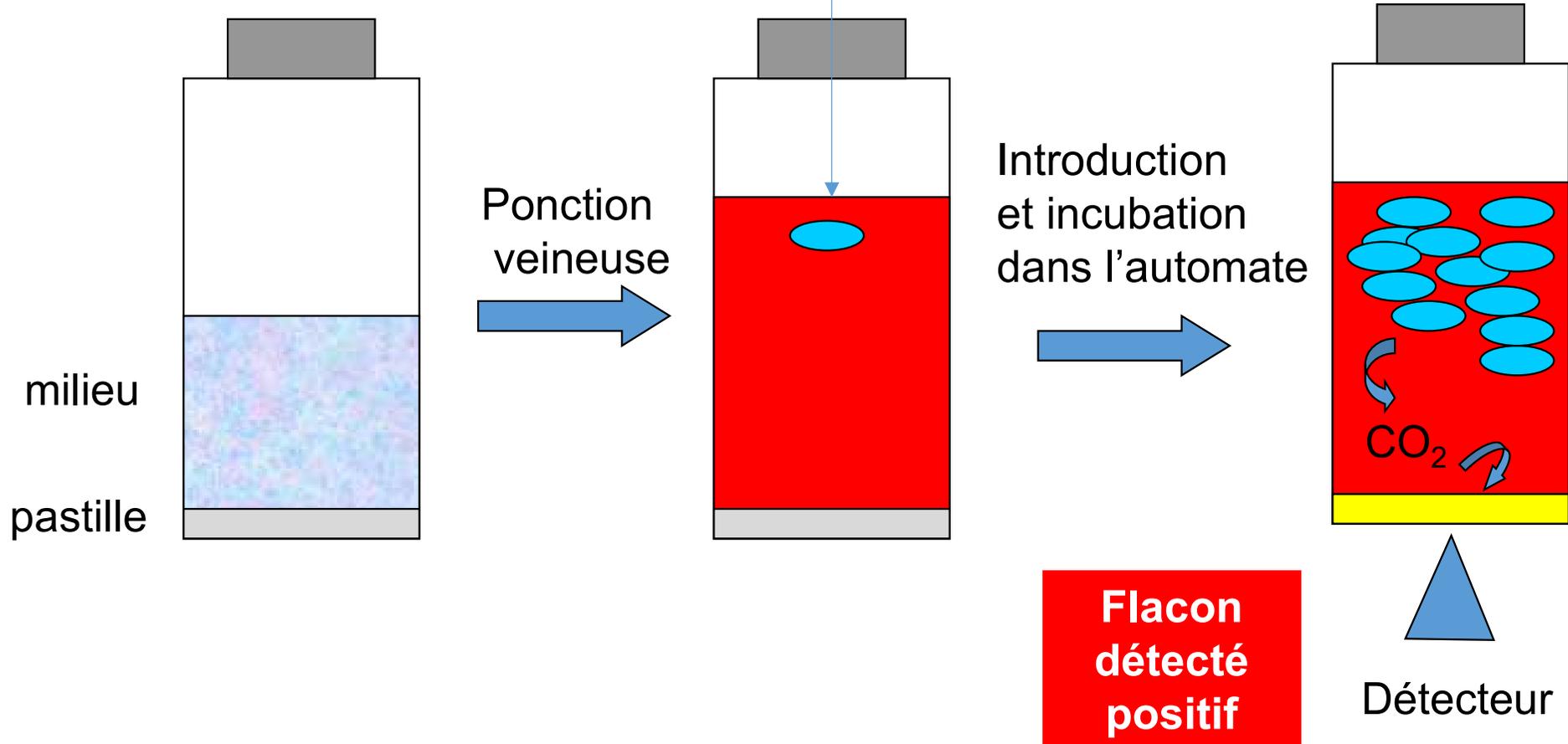


Démarche du diagnostic microbiologique



Principe de détection des hémocultures

bactérie introduite dans le flacon
du fait d'une bactériémie ou d'une
contamination lors de la ponction



Particularité de l'hémoculture

Mise en évidence de bactéries dans le sang

- Prélèvement sanguin (≥ 30 ml/épisodes)
- Inoculer 10 ml de sang directement en flacon contenant 40 mL de milieu de culture



- Incubation des flacons 5-7 jours à 37°C (automate BacT/alert3D ou Virtuo).
- Mesure automatique toutes les 10 min de la production de CO₂ (reflet de la croissance bactérienne)

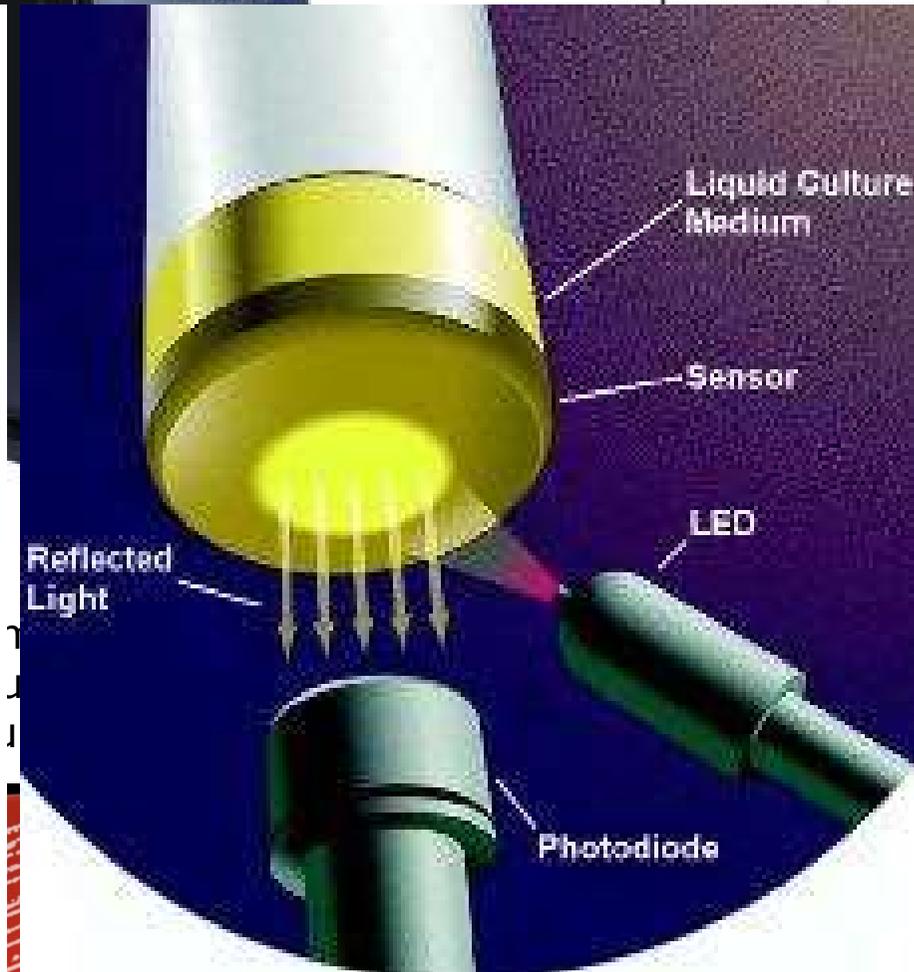
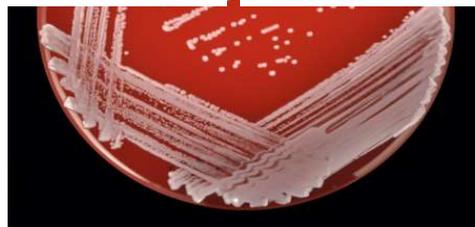
Particularité de l'hémoculture

Détection
d'une

1. Examen
frais (contenu)



Visualisation des positifs
par colorimétrie.



Ponction multiple

Multiplication des temps de prélèvements



Conséquences de la multiplication des prélèvements

- Inconfort pour la patient (prélèvements multiples) ;
- Consommateur de temps pour les IDE ;
- Retard à la mise sous traitement ATB probabiliste ;
- Risque accru de contamination à germes cutanés (interprétation difficile, retardant ou empêchant l'isolement du vrai pathogène)
- Risque d'hémoculture solitaire (~30%)

Ponction unique

“un seul prélèvement ... mais bien fait”

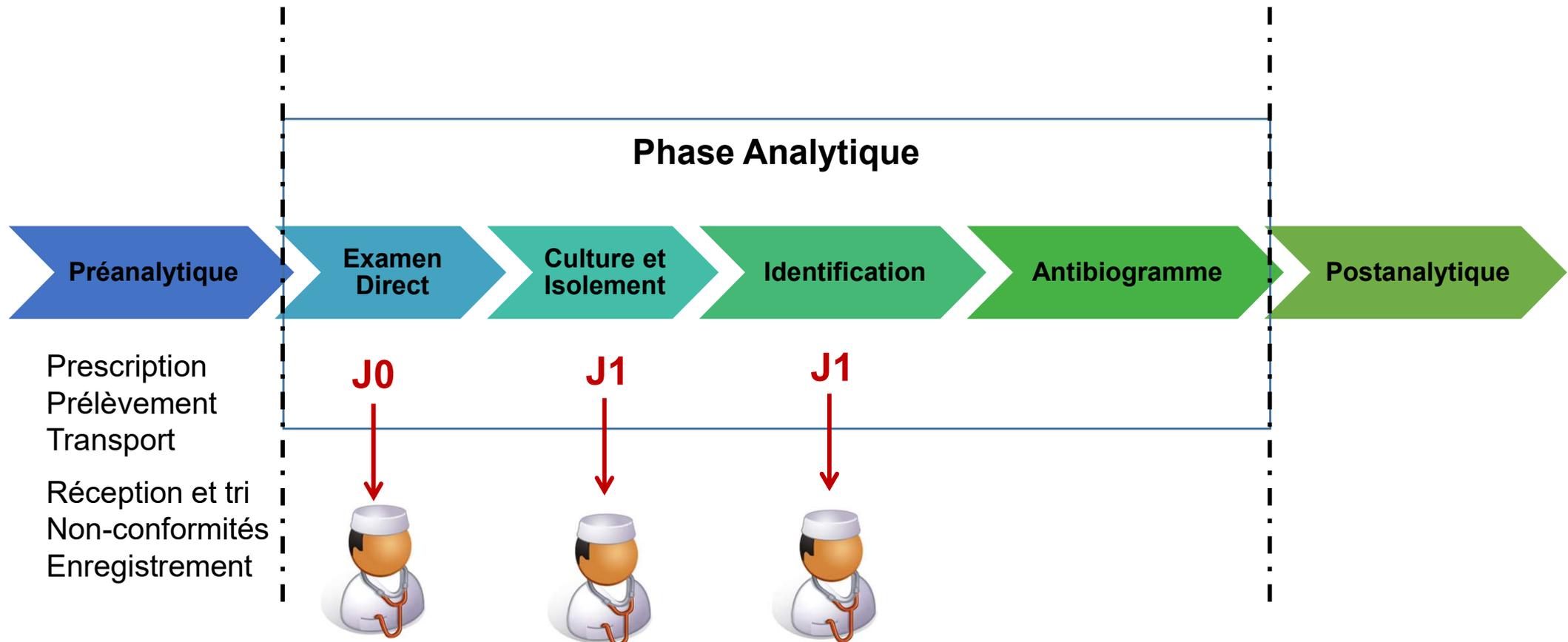


Un seul prélèvement

- de 4 flacons correctement remplis avec 10 ml de sang chacun
- pour assurer 30 à 40 ml en une seule ponction /24h
- => Diminution du nombre de ponctions = confort pour le patient ;
- => Gain de temps pour les IDE = plus de confort pour le personnel soignant ;
- => Diminution des contaminants ;
- => Mise en route de l'antibiothérapie plus rapidement si nécessaire ;

Exceptions : suspicion d'endocardite et pédiatrie

Détails de la démarche du diagnostic microbiologique : isolement et identification



Identification bactérienne

Comment identifier les bactéries ?

Identification phénotypique



Caractères morphologiques
Caractères cultureux
Caractères biochimiques
Caractères immunologiques

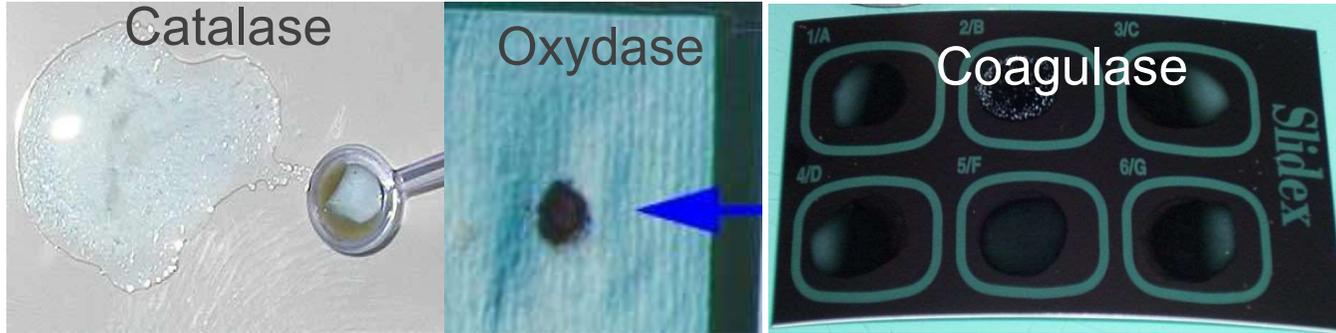
Identification moléculaire



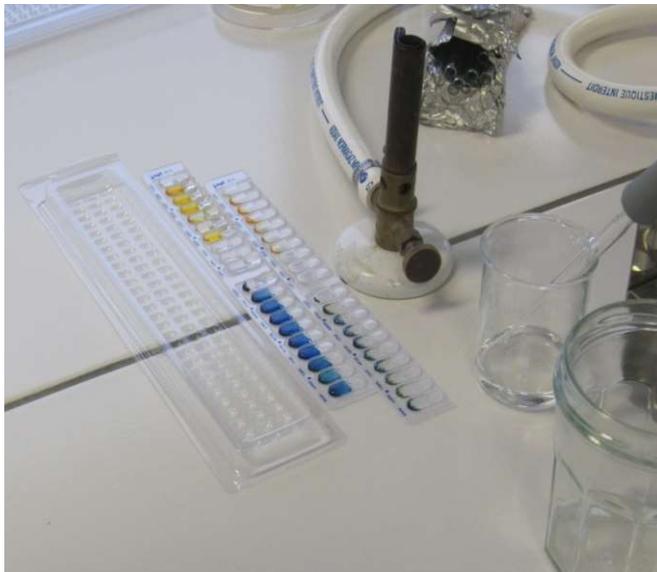
Caractéristiques génétiques

Identification bactérienne

Caractères biochimiques



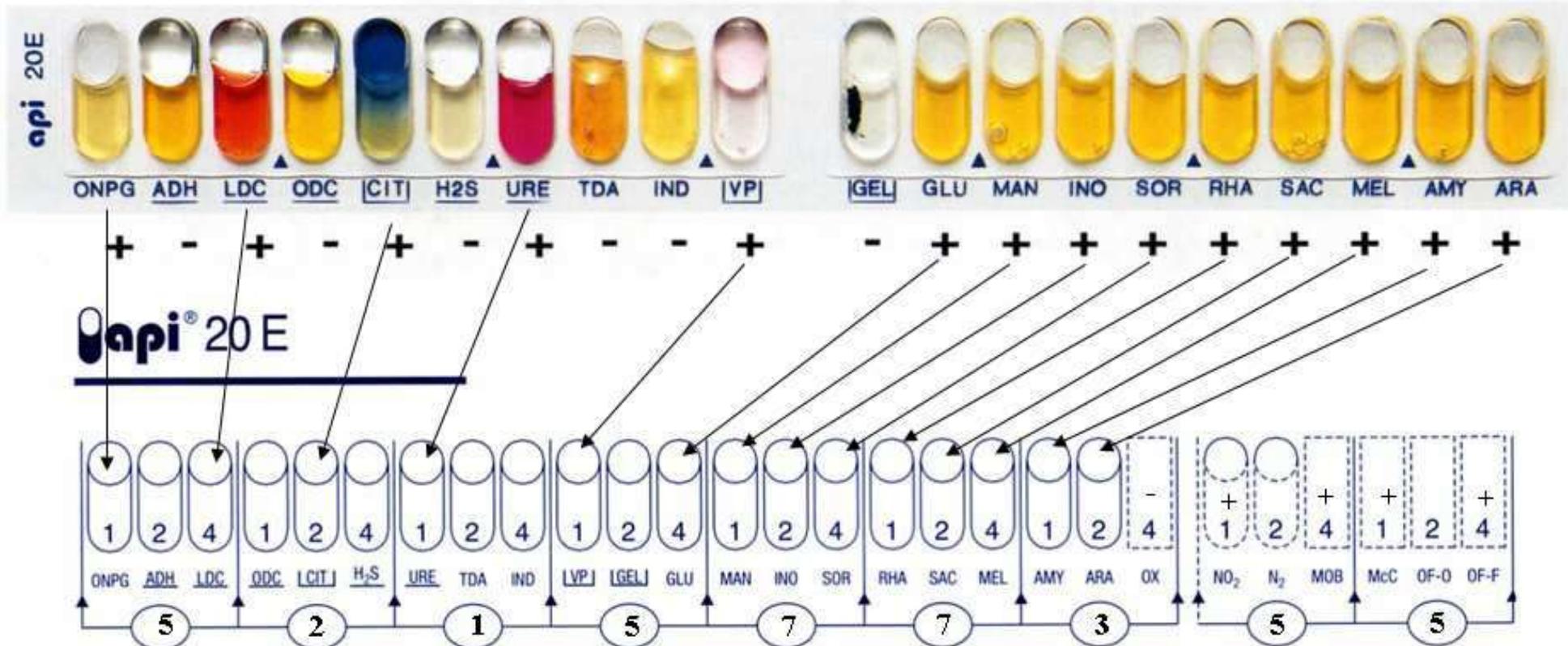
quelques minutes



au moins 24 h

Identification bactérienne

Caractères biochimiques



Résultats reportés sur la fiche d'identification

Code n°: 5 215 773 (55)	Ident.
-------------------------	--------

Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code

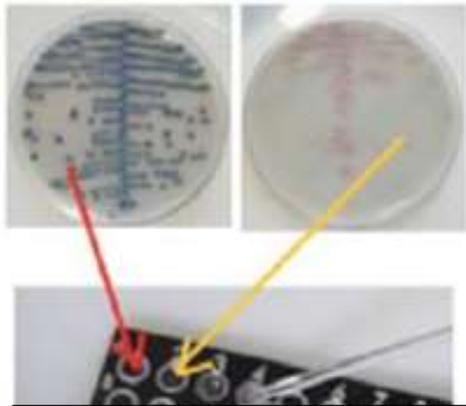
*Nouvelle génération d'automates
réponses identification et antibiogramme entre 6h et 24h*



MATRIX ASSISTED LASER DESORPTION/IONISATION- TIME OF FLIGHT (MALDI-TOF-MS) Pour l'identification bactérienne

Dépôt des échantillons

J1



Acquisition des spectres



Analyse des spectres

Banque de données



Temps analyse ~ 1 minute → gain de temps ≥ 24 h
Coût au test ~0,10€ → économie (3,5 € /identification)

Transfert des données au
système informatique du laboratoire

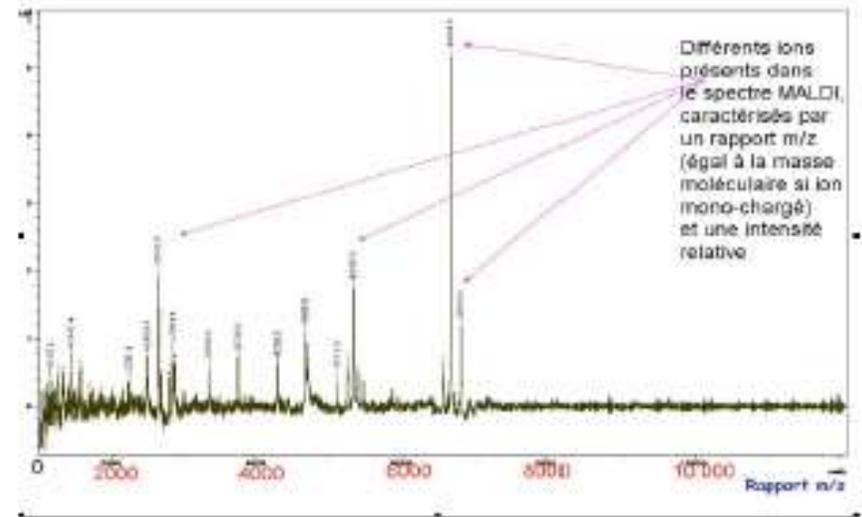
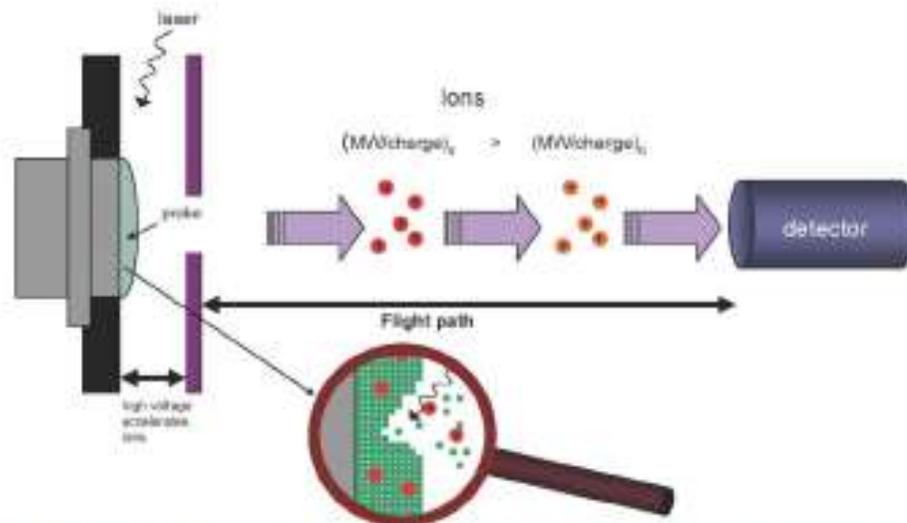


Identification

A1 : *Klebsiella pneumoniae*
A2 : *Staphylococcus saprophyticus*
A3 : etc.....

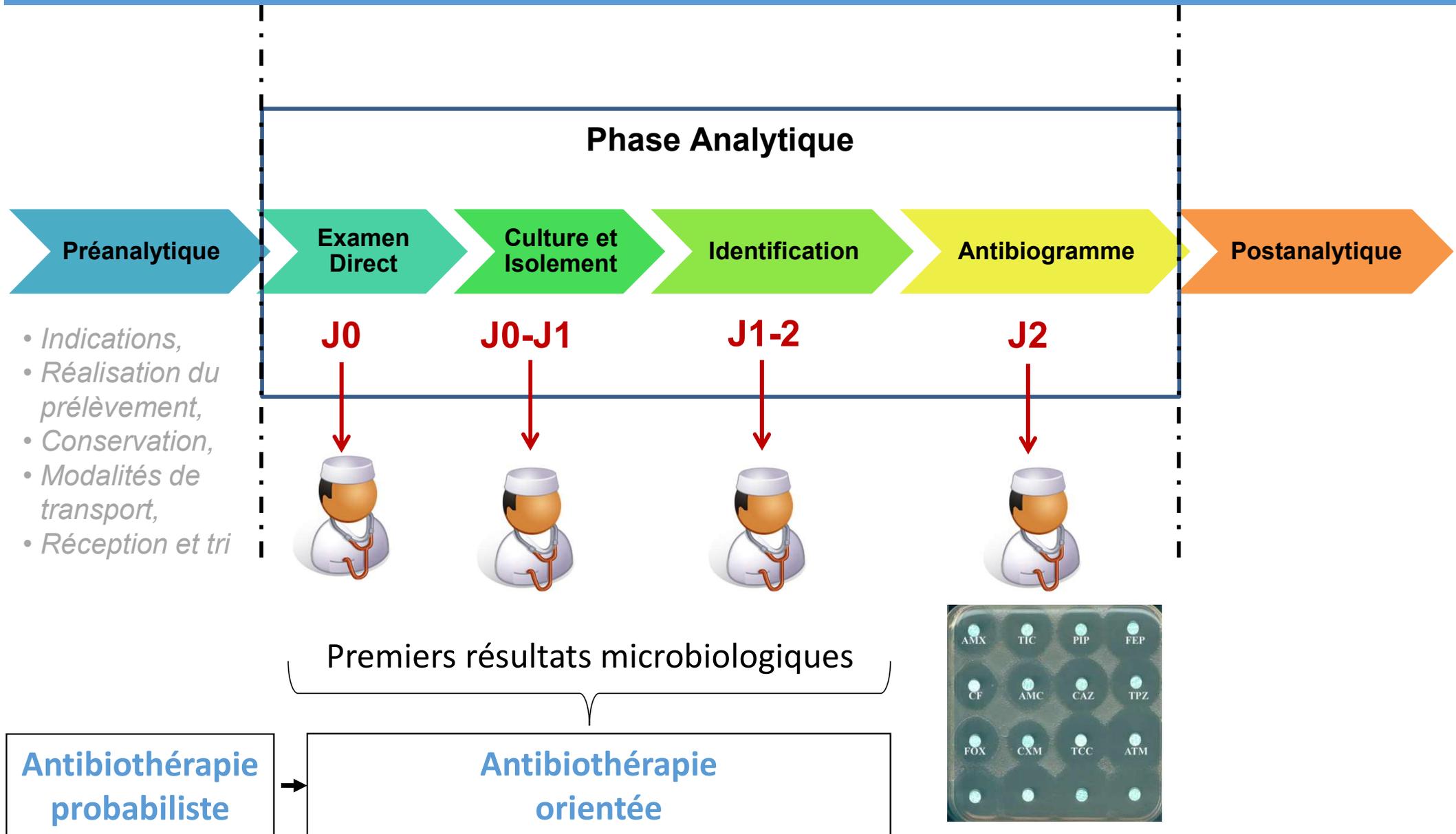
←
Comparaison à une Base de données
(bactériennes, dermatophytes, champignons
filamenteux)

Technique de spectrométrie MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time Of Flight) et identification bactérienne



- 1° étape: la formation d'un cristal entre l'échantillon à analyser (une colonie de l'espèce de pathogène) et une matrice organique sur une surface métallique;
- 2° étape: la surface du cristal est irradiée avec un faisceau laser;
- La 3° étape: Les pics dominants sont extraits.

Démarche du diagnostic microbiologique



ORELOX
Cefpodoxone
Voie orale / Oral route
10 Comprimés pelliculés / 10 film-coated tablets
100 mg
Aventis

GNR
AMOXICILLINE -
ACIDE CLAVULANIQUE GNR®
500 mg / 62,5 mg
Adulte
8 PRISSES
16 Comprimés
Laboratoire GNR Pharma

AUGMENTIN
RAPPORT AMOXICILLINE/ACIDE CLAVULANIQUE 500/62,5 mg par ml
ENFANT

PYOSTACINE
500 mg
16 Comprimés pelliculés striés / 16 film-coated scored tablets
Aventis

AUGMENTIN
ADU
500 mg / 62,5 mg
Comprimé
24 Comprimés pelliculés
Laboratoire GNR Pharma

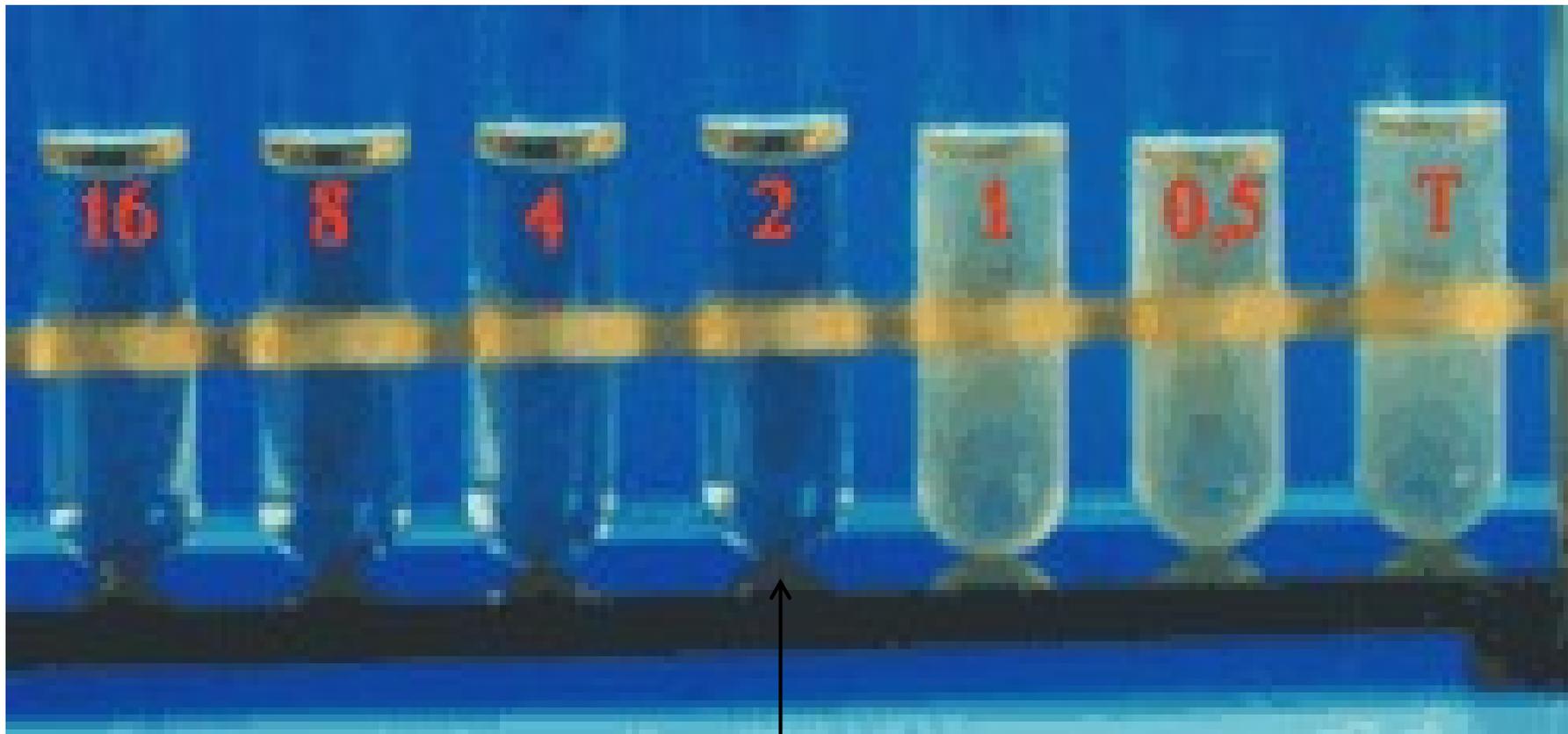
Amoxicilline-ratiopharm 500 mg
Amoxicilline
12 Gélules
ratiopharm

Clamoxyl
500 mg
500
12 gélules
Laboratoire GNR Pharma



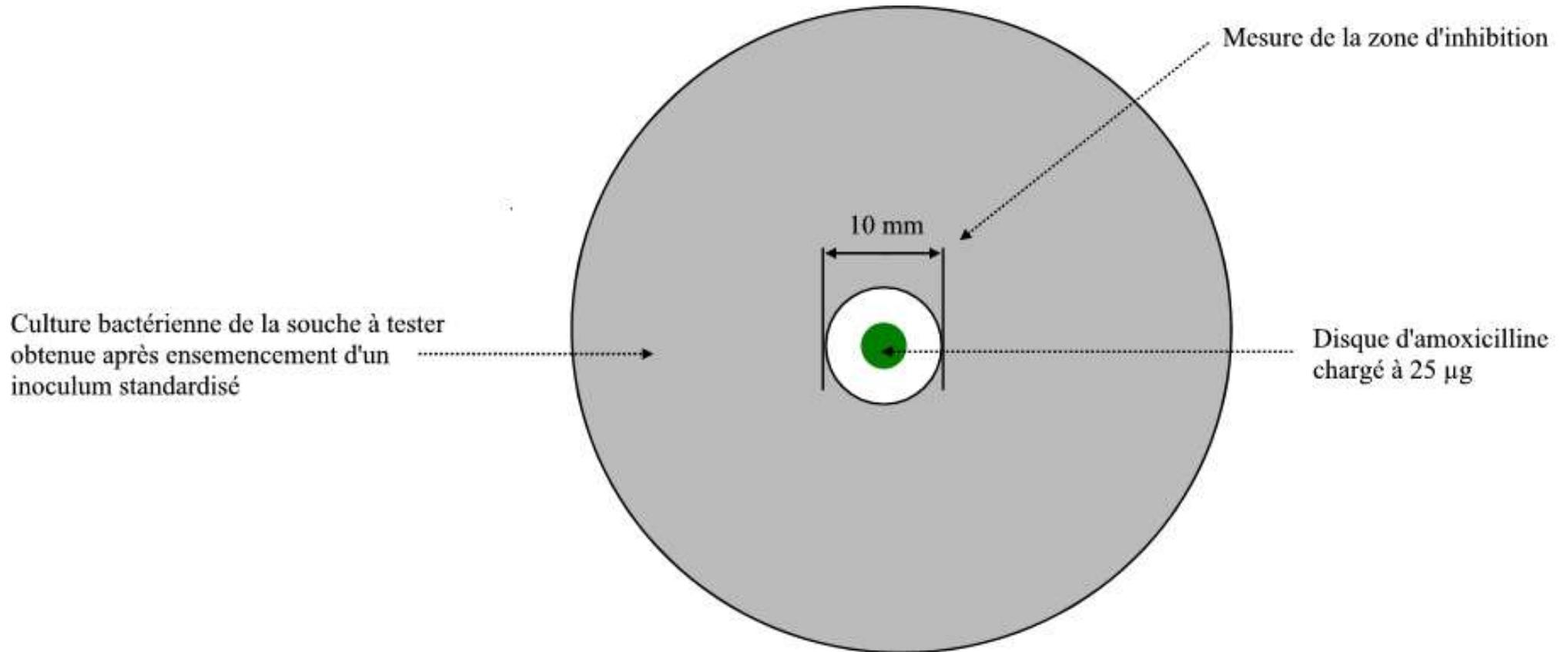
Détermination de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

Détermination des CMI par dilution en milieu liquide (méthode de référence)



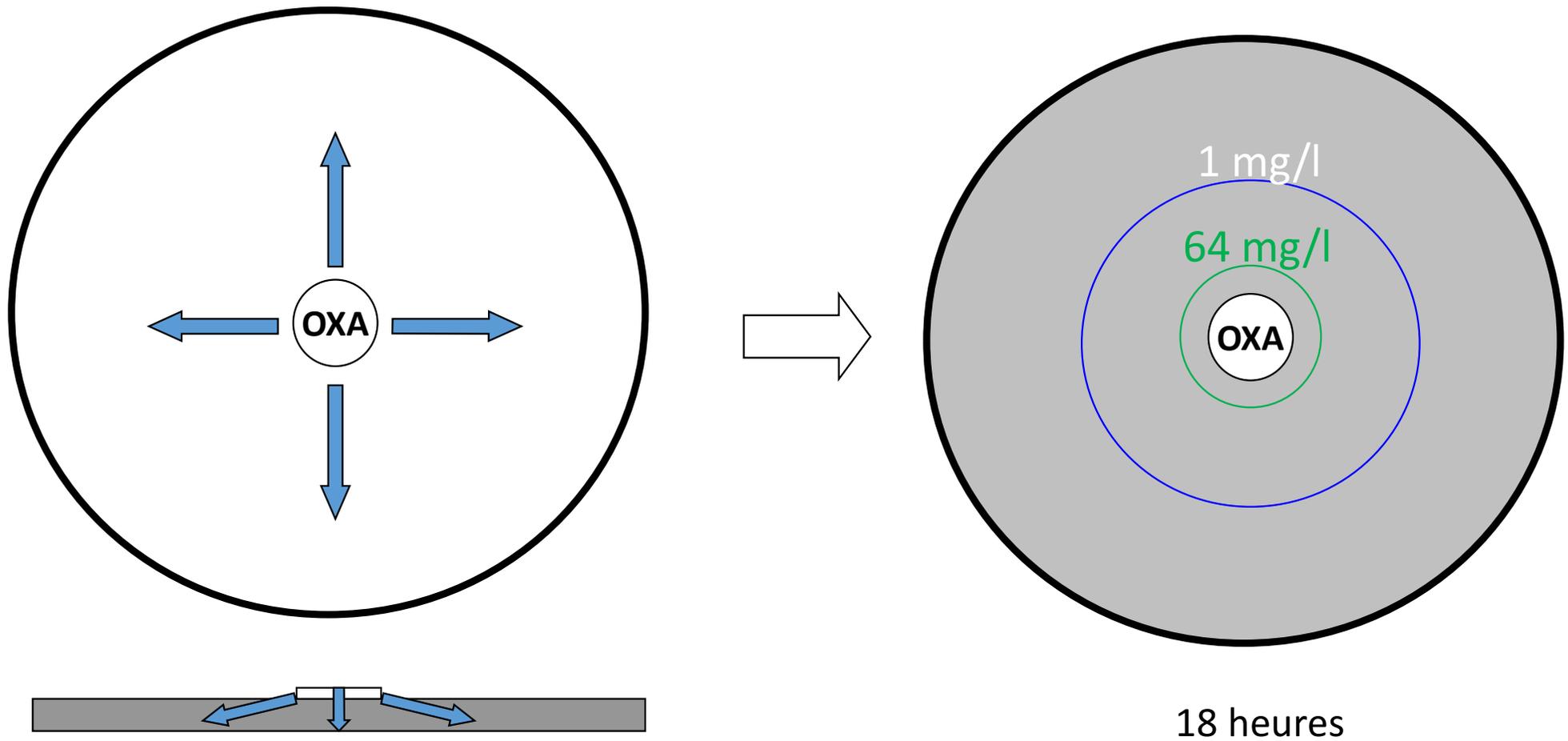
Concentration
minimale inhibitrice

Principe de l'antibiogramme



Principe de l'antibiogramme

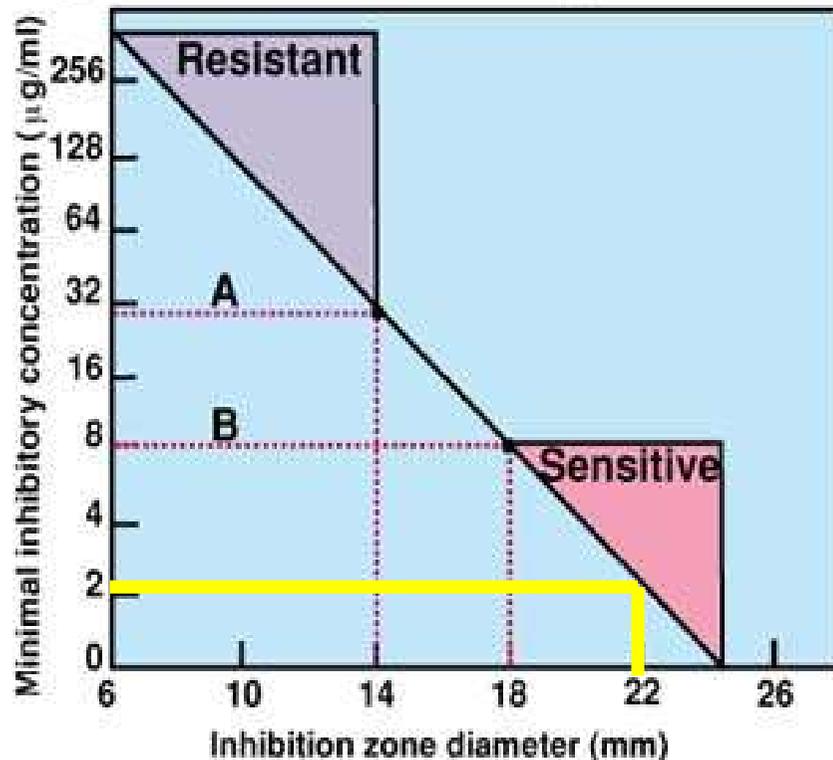
Méthode par diffusion en milieu gélosé



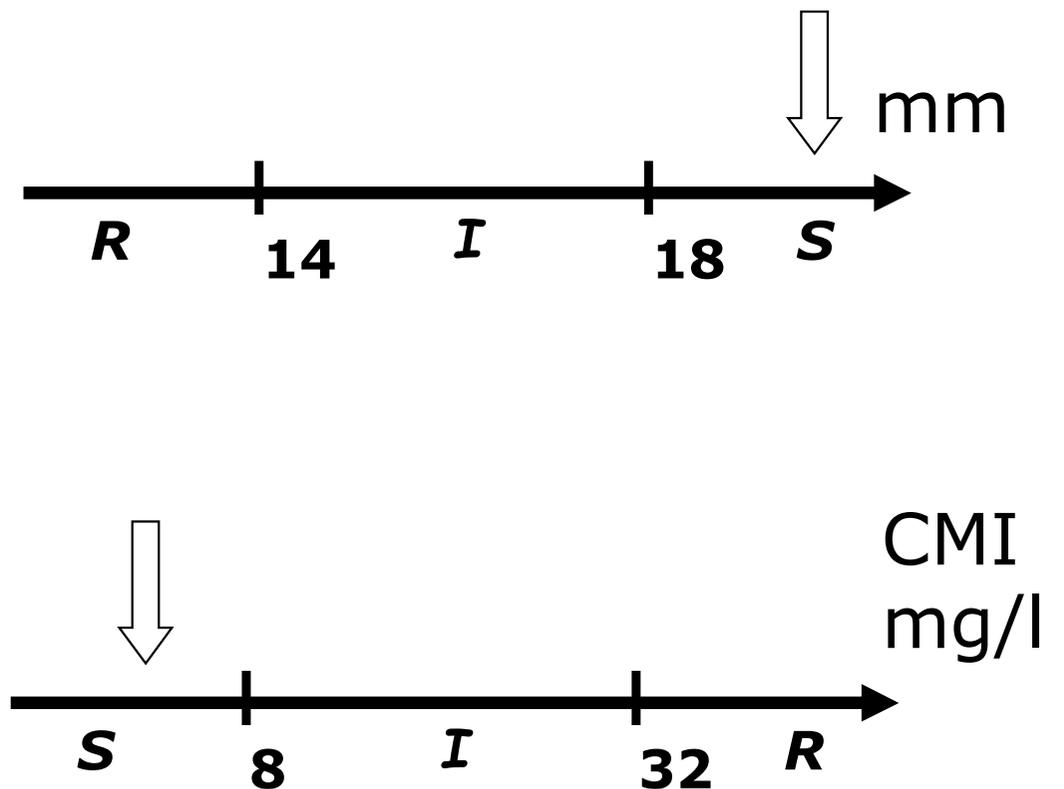
L'antibiogramme

Droite de concordance pour chaque couple antibiotique-bactérie

Kirby-Bauer Test results: Interpretation



- A:** Any pathogen with a zone of inhibition less than 14mm in diameter will have an MIC value greater than 30₁g/ml and will be resistant to drug treatment.
- B:** A pathogen with a zone of inhibition greater than 18mm in diameter will have an MIC value greater than 8₁g/ml and will be sensitive to the drug.



Des recommandations : aussi pour faire de la microbiologie clinique ...

 **SFM** Société Française de Microbiologie

 **EUCAST** EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

**Comité de l'antibiogramme
de la
Société Française de
Microbiologie**

Recommandations 2019
V.2.0 Avril

Coordonnateur :
François JEHL
Hôpitaux Universitaires de Strasbourg
Tél : 03 69 55 14 54 (Hôp.);
03 68 85 37 81 (Fac.)
E-mail : jehl@unistra.fr;
francois.jehl@chru-strasbourg.fr

Secrétaire :
Christian CATTOEN
Centre Hospitalier de Valenciennes
Tél : 03 27 14 33 86 (Hôp.)
E-mail : cattoen-c@ch-valenciennes.fr

Membres :
Richard BONNET, Jean-Pierre BRU, François CARON,
Vincent CATTOIR, Patrice COURVALIN, Luc DUBREUIL,
Vincent JARLIER, Gérard LINA, Audrey MERENS,
Patrick PLESIAT, Marie-Cécile PLOY,
Claude-James SOUSSY, Emmanuelle VARON,
Philippe WEBER

Rémic

Référentiel
en microbiologie
médicale

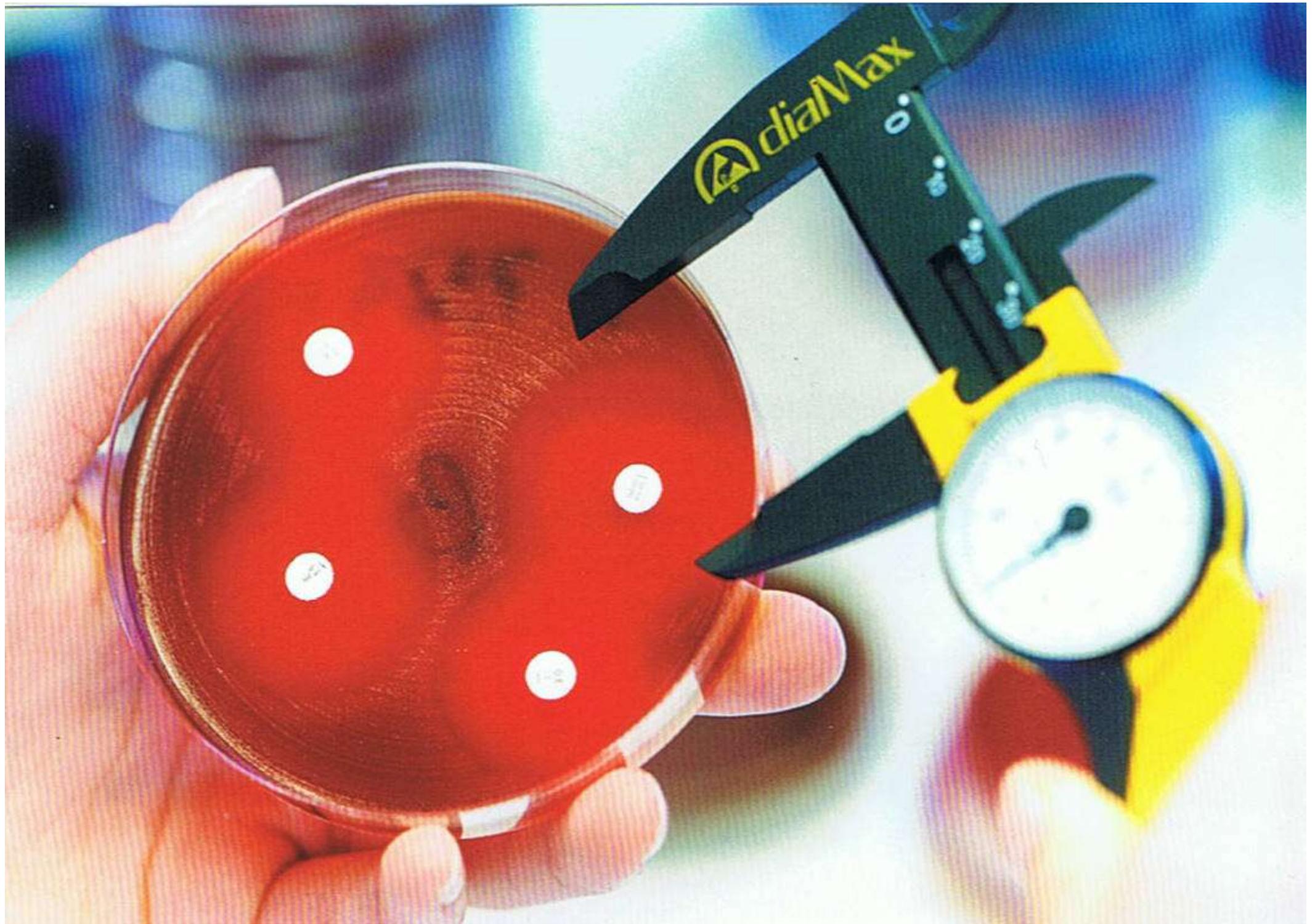
6^{ème} édition 2018

6.1

 **SFM** Société Française de Microbiologie

 **SFMM** Société Française de Microbiologie Médicale





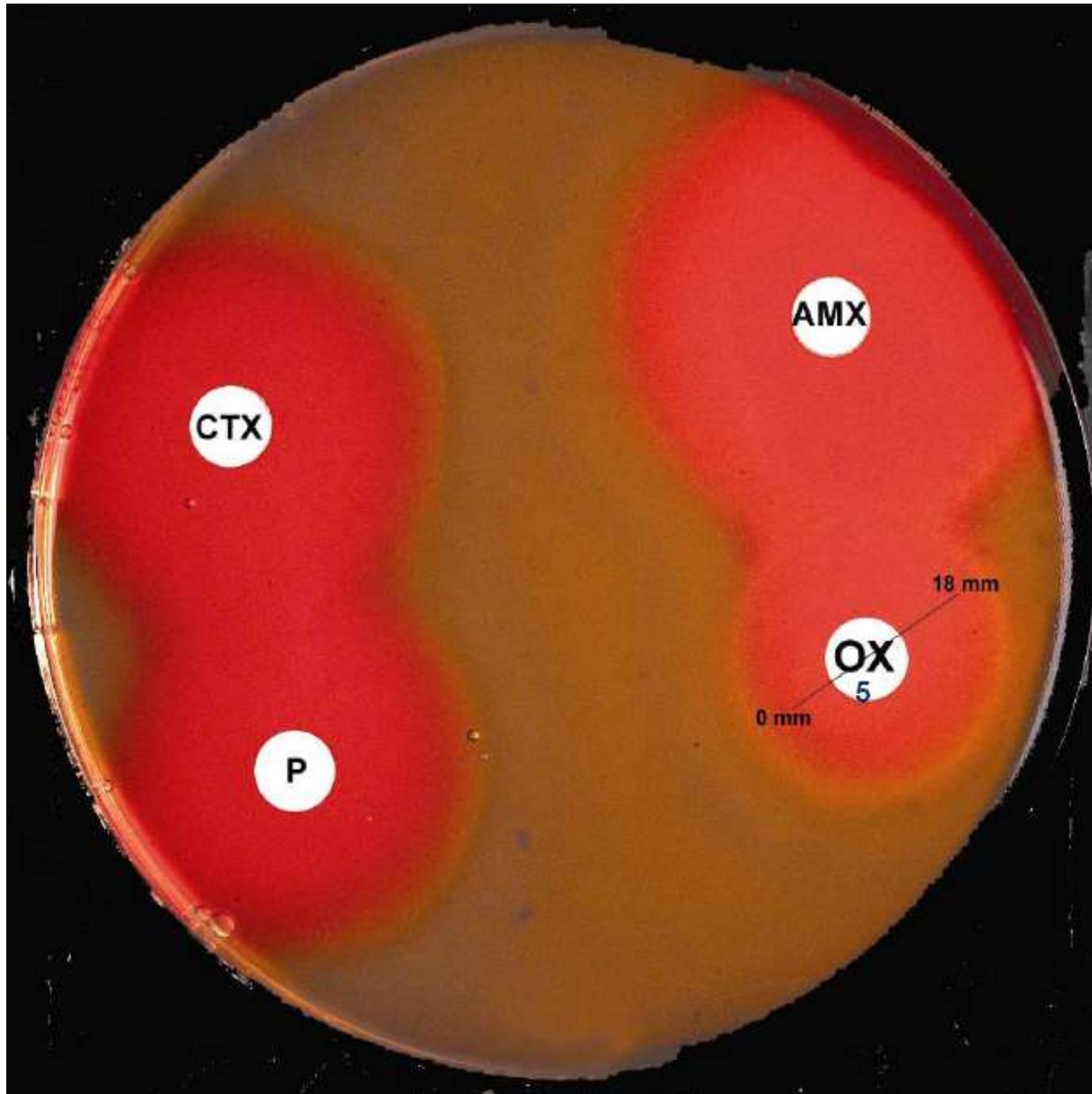
Exemple antibiogramme

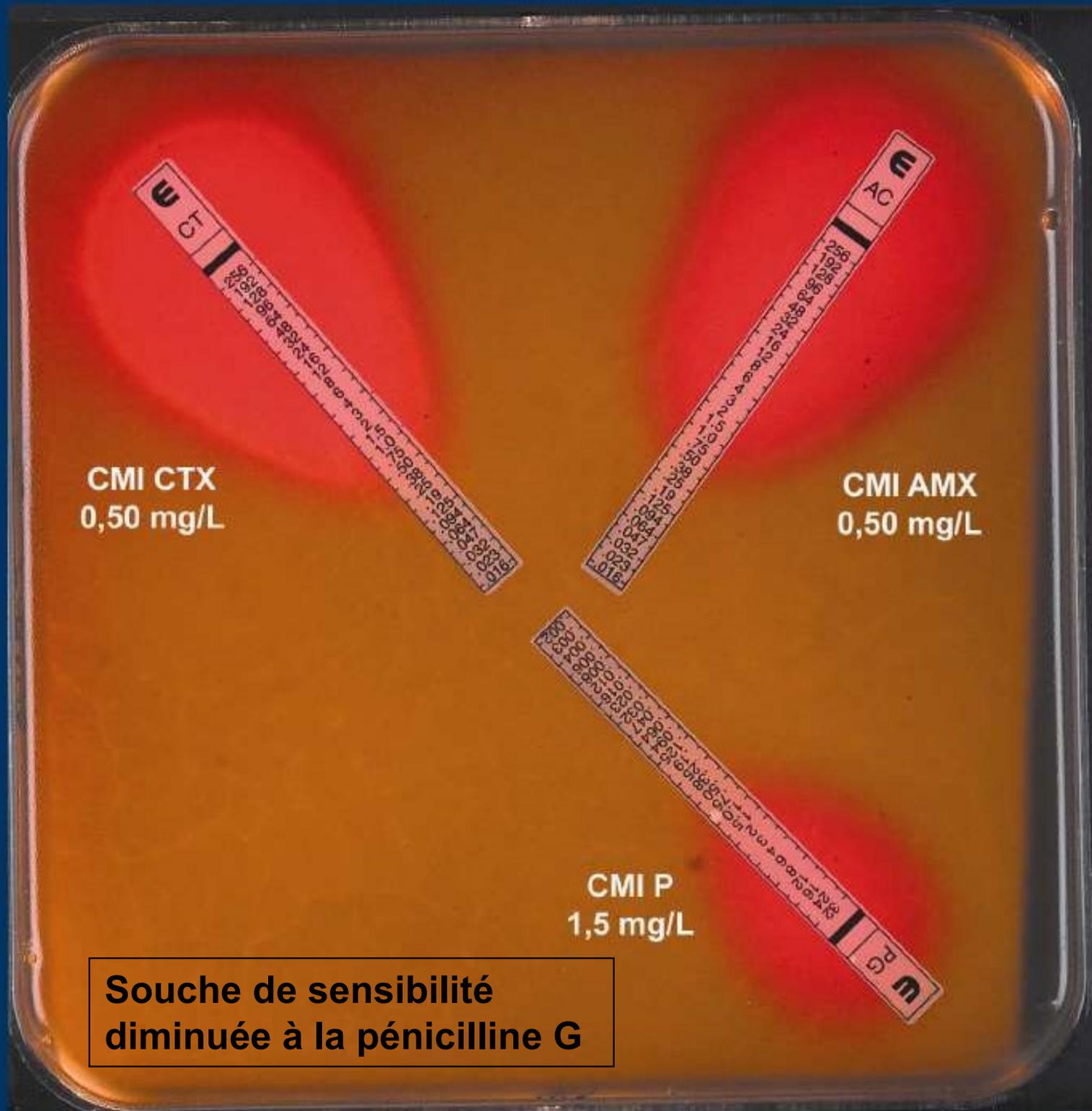


Pseudomonas aeruginosa
(Muller Hinton)



Streptococcus pneumoniae
(Mueller Hinton au sang)





CMI CTX
0,50 mg/L

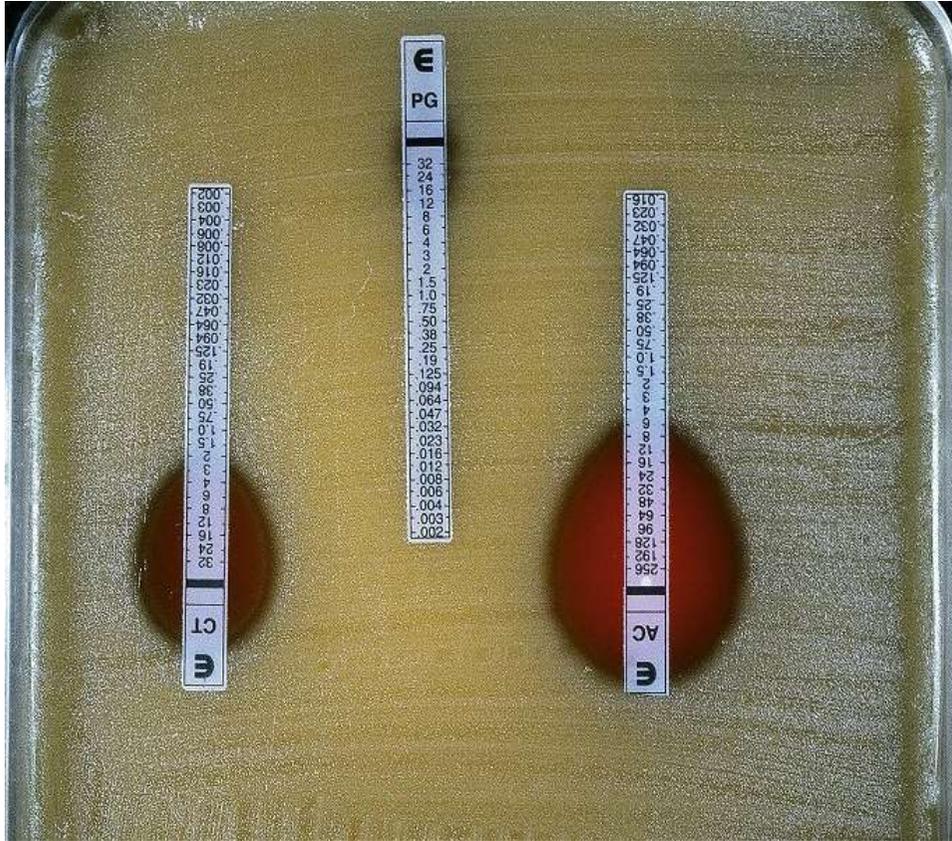
CMI AMX
0,50 mg/L

CMI P
1,5 mg/L

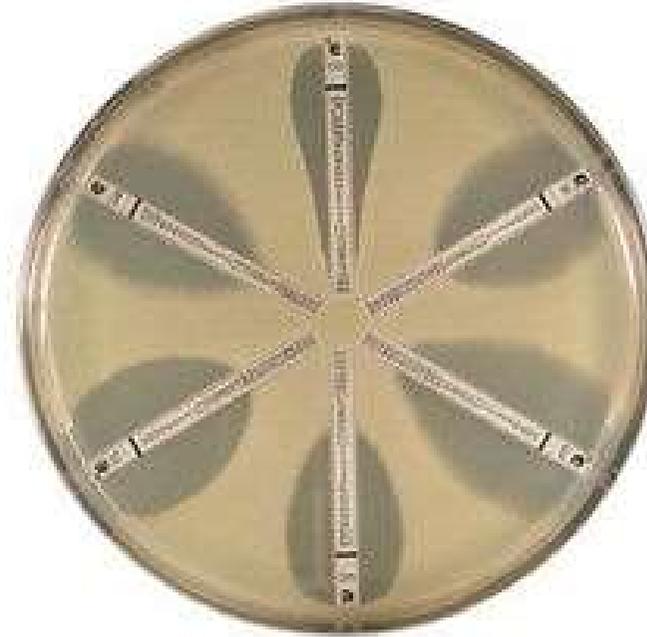
Souche de sensibilité
diminuée à la pénicilline G

Méthode de détermination des CMI

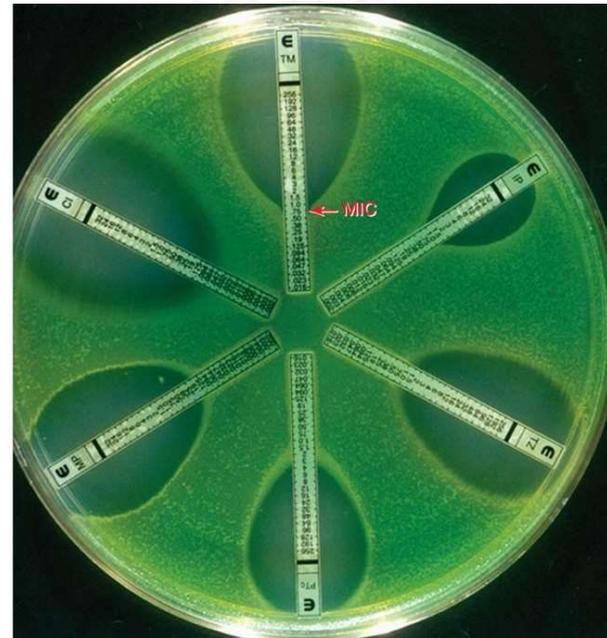
techniques des E-test et en milieu liquide (new)



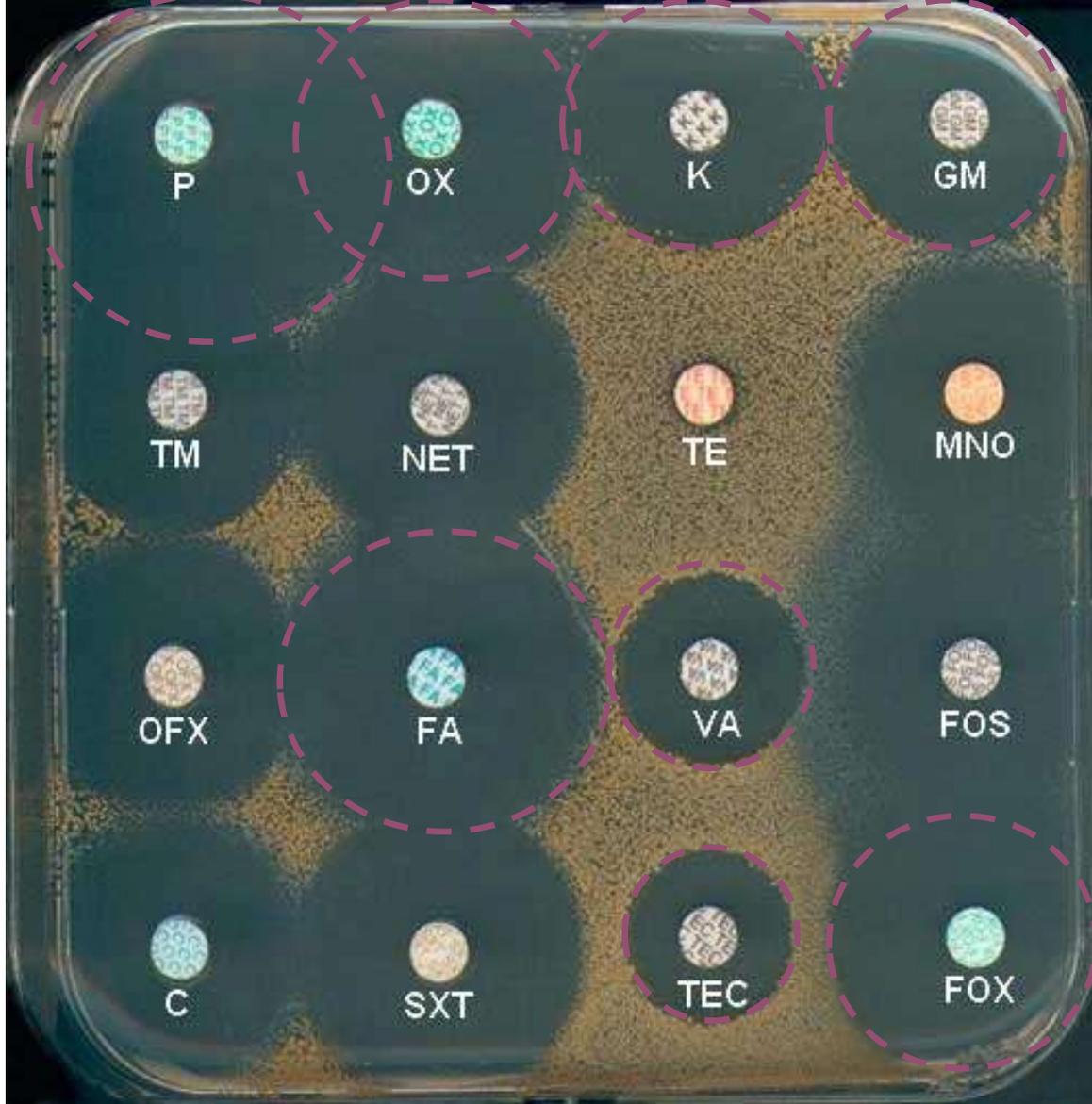
Streptococcus pneumoniae



Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa



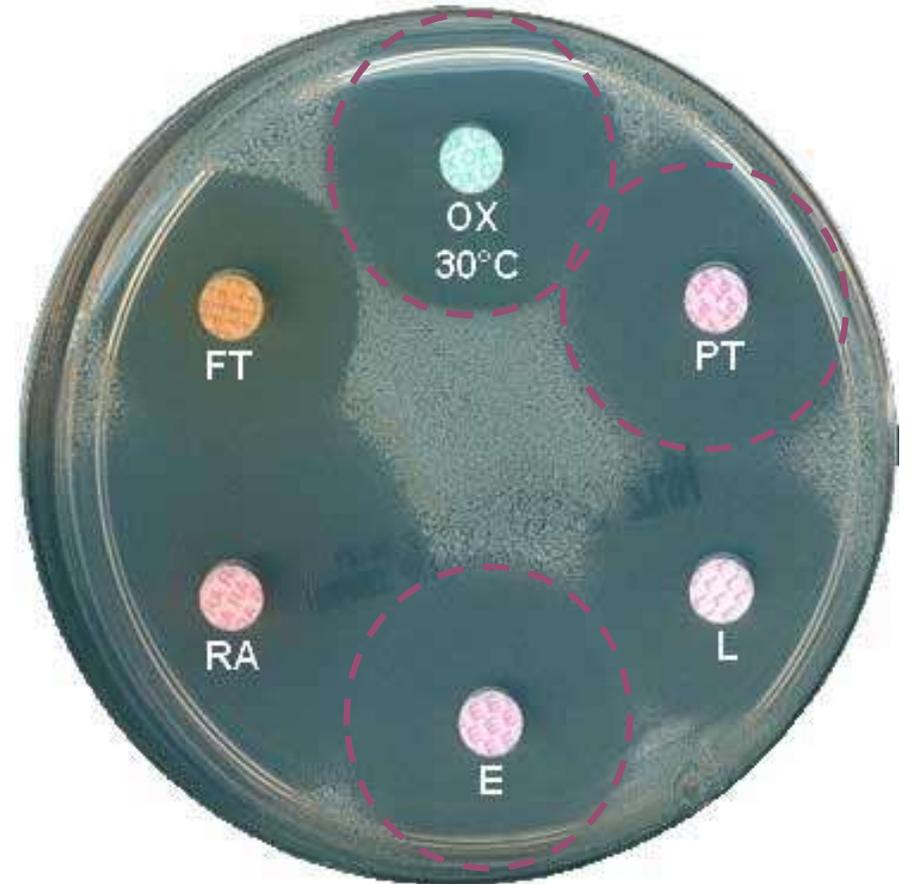
Staphylococcus aureus



P : penicilline G	OX : oxacilline
K : kanamycine	GM : gentamicine
FA : acide fusidique	VA : vancomycine
TEC : teichoplanine	FOX : céfoxitine
PT : pristinamycine	

Phénotype sauvage

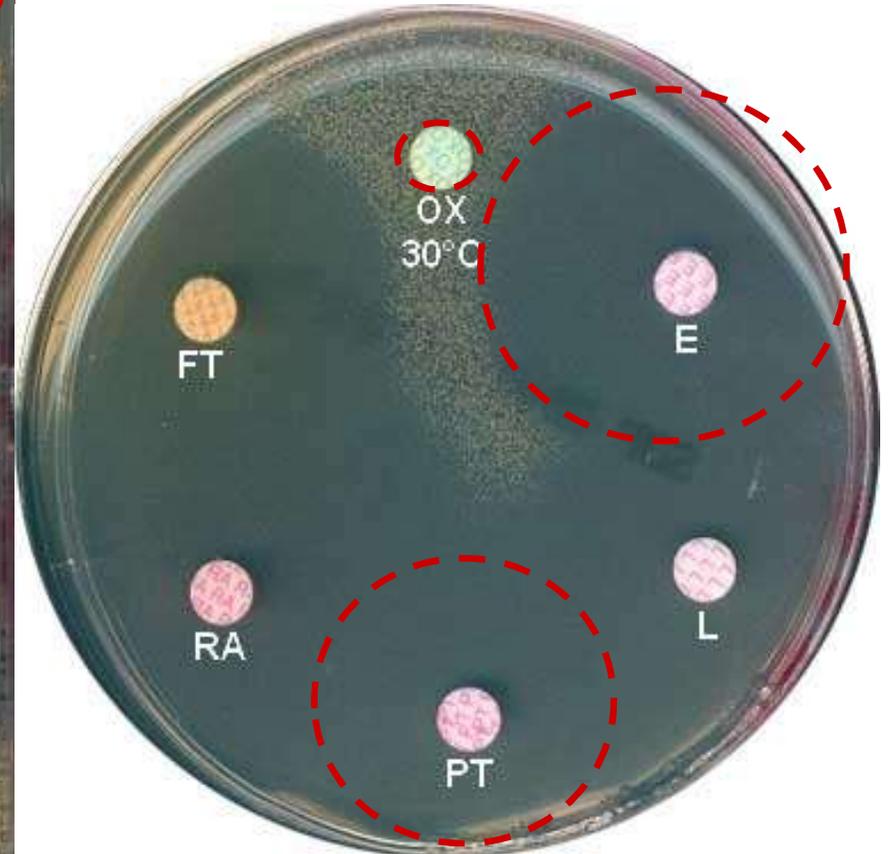
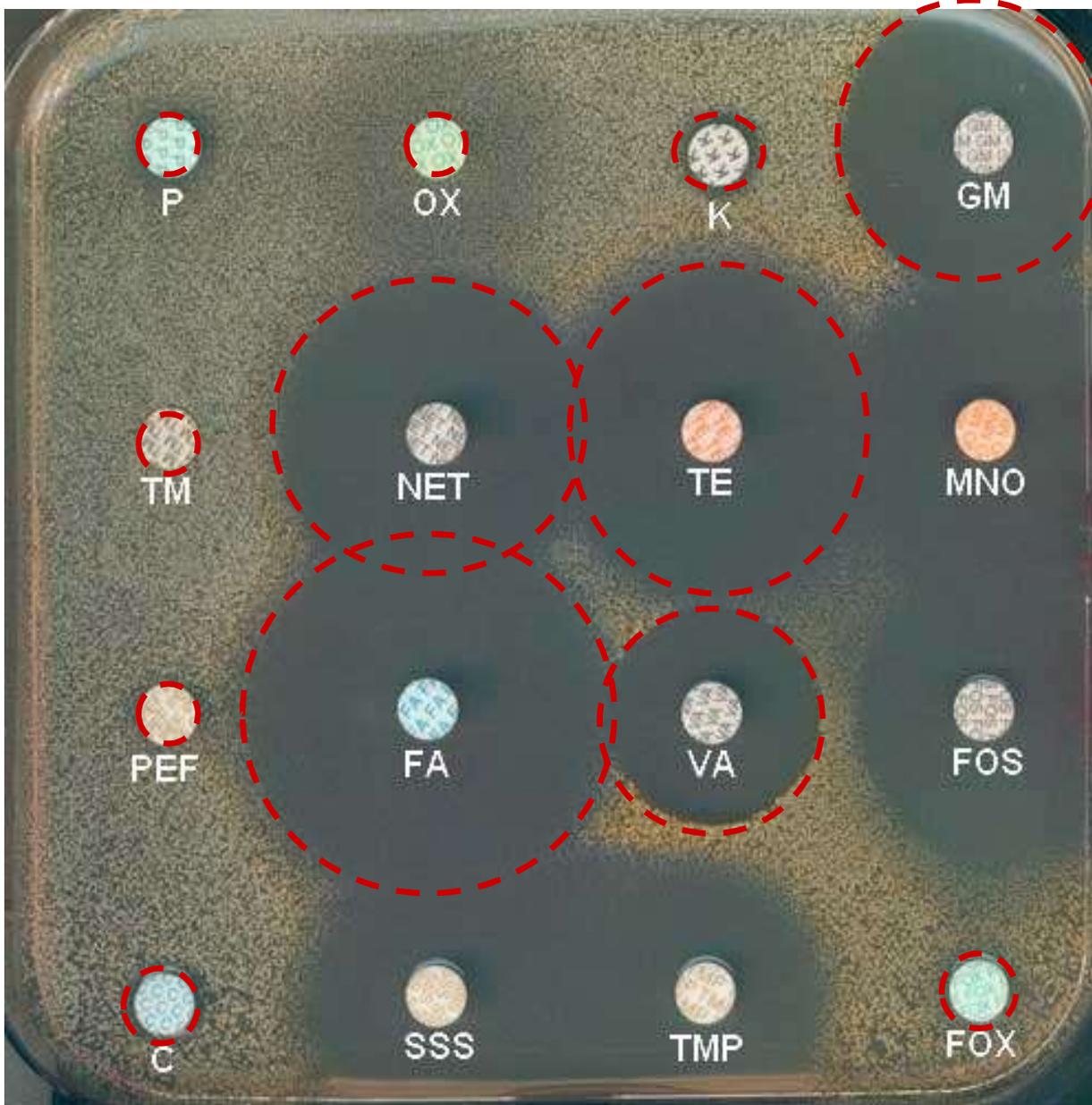
Staphylococcus aureus



TE : tétracycline
PEF : péfloxacine
E : érythromycine

Production d'une pénicillinase

Staphylococcus aureus

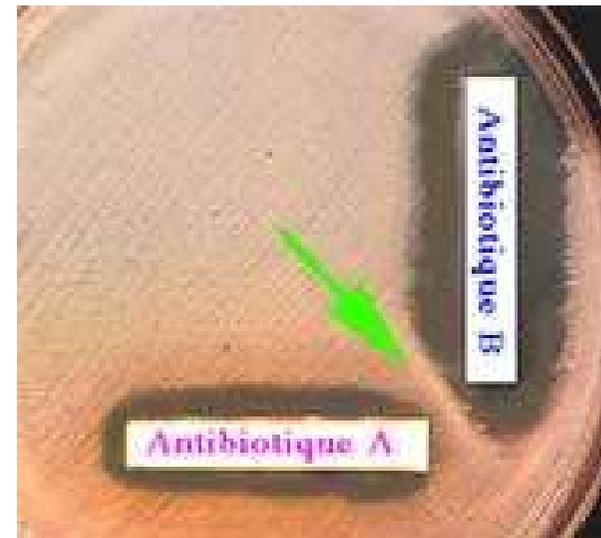
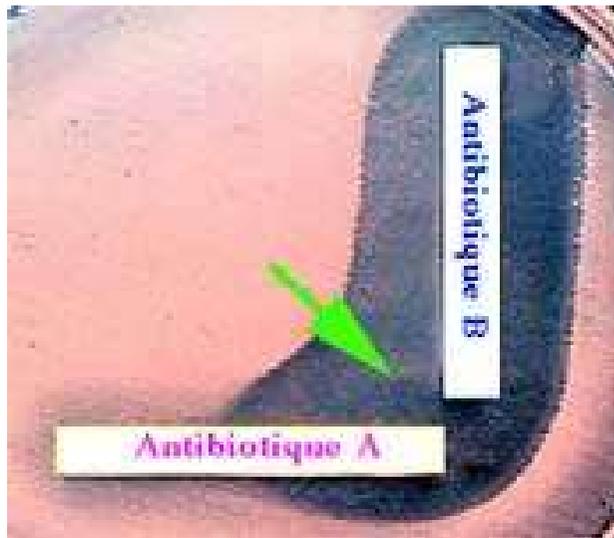
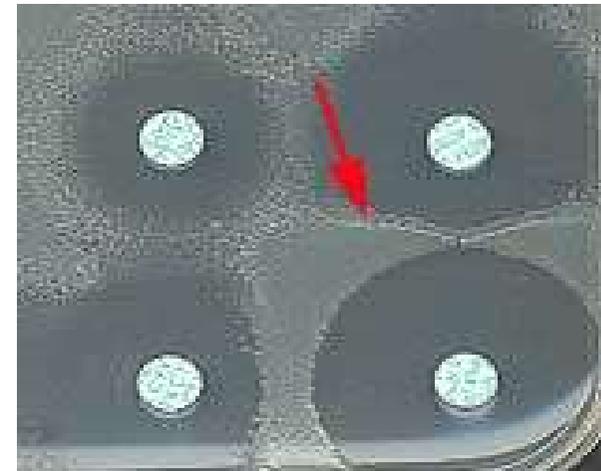
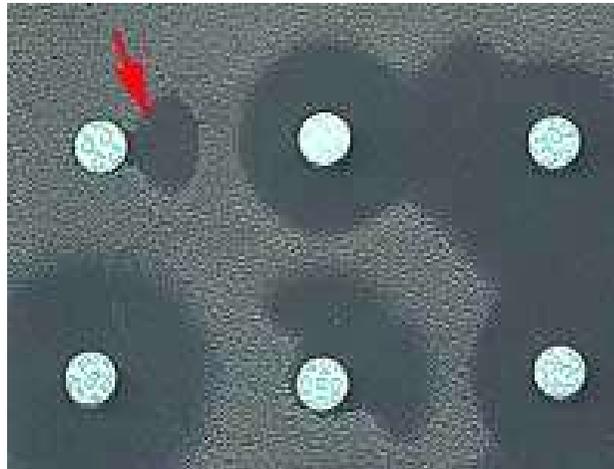


Souche multi-résistante

TM : tobramycine
C : chloramphénicol
E : érythromycine

- méticilline-résistance (homogène)
- résistance kana-tobramycine, fluoroquinolones, chloramphénicol

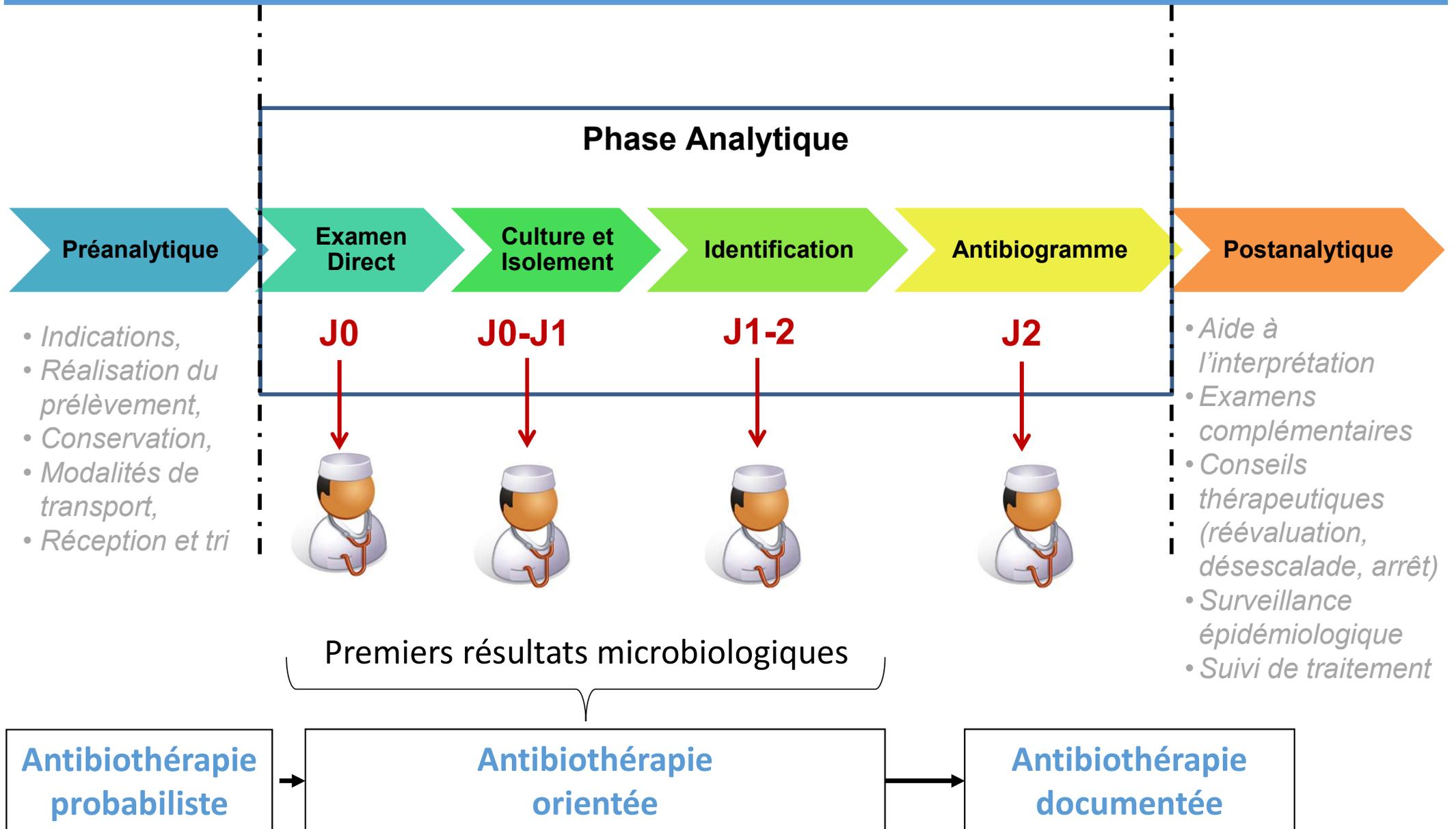
Images d'interaction et association des antibiotiques



Synergie

Induction-antagonisme

Démarche du diagnostic microbiologique



A detailed 3D rendering of a bacterial community. The scene is filled with numerous rod-shaped bacteria of varying sizes and orientations. Some are in sharp focus, showing their textured surface and internal structures, while others are blurred in the background, creating a sense of depth. The color palette is warm, dominated by shades of brown, orange, and red, giving the impression of a dense, organic environment.

A suivre

- Cibles et mécanisme d'action des antibiotiques
- Principes d'antibiothérapie
- Mécanismes de résistances aux antibiotiques