

# **QROC bactériologie DCEM1 2011**

*L'indication entre parenthèses en fin de question précise que la réponse est à donner en 2, 5 ou 10 lignes approximativement.*

## **Exposer schématiquement les différences entre bactéries responsables d'infections communautaires et bactéries responsables d'infections nosocomiales (5)**

Les bactéries responsables d'infections nosocomiales ont la capacité de devenir résistantes aux traitements (antibiotiques, antiseptiques), de se fixer sur les surfaces et les matériels. Les infections communautaires sont beaucoup plus sensibles aux traitements et ont beaucoup moins de capacités à devenir résistantes et invasives.

## **Quels sont les 2 groupes majeurs du genre Staphylococcus et qu'est ce qui les différencie ? (3)**

On distingue les Staphylococcus aureus des S. non aureus (lugdunensis, saprophyticus, epidermidis). Ce qui les différencie est la présence ou non d'une coagulase. On parle de S. à coagulase positive (aureus) et de S. à coagulase négative.

## **Expliquer la physiopathologie des infections à Staphylococcus aureus (3)**

Le S. aureus peut sécréter différentes toxines :

- TCST : Toxine de Choc Staphylo-Toxique
- Entérotoxines : elles sont à l'origine de diarrhées violentes, aqueuses avec malaise.
- Toxine Panton-Valentine : rare, mais de très mauvais pronostic.

La présence de la coagulase rend cette souche particulièrement pathogène.

## **Pouvoir pathogène de Staphylococcus aureus (10)**

C'est une bactérie ubiquitaire qui est très invasive et qui donne des infections à point de départ cutané :

- superficielles : furoncles, panaris, pustules, surinfection d'eczéma...
- profondes : endocardites, abcès (notamment cérébraux), etc...

Son pouvoir pathogène est en partie lié aux toxines qu'elle sécrète : TCST, Entérotoxines, Toxine Panton-Valentine.

Elle est responsable d'infections nosocomiales ou communautaires. Elle est potentiellement plus pathogène que les S. à coagulase négative.

## **Expliquer la physiopathologie des infections à staphylocoques coagulase négative (3)**

C'est une bactérie ubiquitaire qui est très invasive et qui donne des infections à point de départ cutané :

- superficielles : furoncles, panaris, pustules, surinfection d'eczéma...
- profondes : endocardites, abcès (notamment cérébraux), etc...

Son pouvoir pathogène est en partie lié aux toxines qu'elle sécrète : TCST, Entérotoxines, Toxine Panton-Valentine.

Elle est responsable d'infections nosocomiales le plus souvent.

## **Pouvoir pathogène staphylocoques coagulase négative (3)**

Staphylococcus lugdunensis : il est très rare mais il a le même pouvoir pathogène que S. aureus.

Staphylococcus saprophyticus : il est essentiellement à l'origine des infections urinaires chez la femme jeune.

Staphylococcus epidermidis : il se fixe sur le matériel médical et est à l'origine d'infections nosocomiales.

### **Infections aiguës à *Streptococcus pyogenes* (Streptocoque A) (5)**

Cutanées : surinfection d'eczéma, dermo-hypodermite, erysipèle, fasciite

ORL : Angine, pharyngite, otite

Scarlatine

### **Complication à distance des infections à *Streptococcus pyogenes* (Streptocoque A) (5)**

RAA, atteinte des valves cardiaques

Glomérulonéphrites

Chorée

### **Infections aiguës à *Streptococcus agalactiae* (Streptocoque B) (3)**

Elle provoque des méningites chez le nouveau-né, et des infections cutanées, urinaires ou génitales chez l'adulte, parfois accompagnées de septicémie. L'infection néonatale est une urgence thérapeutique et le pronostic sévère des méningites néonatales justifie la recherche de portage vaginal de streptocoques du groupe B en fin de grossesse, et un traitement préventif en cas de colonisation.

### **Pouvoir pathogène de *Streptococcus pneumoniae* (5)**

Cause surtout des pathologies respiratoires (pneumonie franche lobaire aiguë, otites, sinusites). Il peut également causer des méningites chez les enfants, les personnes âgées, les immunodéprimés et les porteurs d'une brèche méningée (suite à un trauma). Enfin il peut causer des septicémies.

### **Pouvoir pathogènes des Streptocoques oraux (hors *S. pneumoniae*) (3)**

Selon les espèces, ils sont commensaux de l'oro-pharynx, des muqueuses génitales ou intestinales. C'est à partir de ces portes d'entrée qu'ils vont devenir pathogènes opportunistes et provoquer des pneumopathies avec syndrome de détresse respiratoire chez certains malades neutropéniques, ou des endocardites subaiguës chez des personnes atteintes de valvulopathies cardiaques. Par exemple : *S. mutans* est responsable de caries dentaires.

### **Pouvoir pathogènes du *Streptococcus bovis/gallolyticus* (3)**

On la trouve dans le tube digestif, elle peut causer des endocardites, voire des cancers du colon.

### **Pouvoir pathogènes du genre *Enterococcus* (3)**

Les entérocoques sont commensaux des muqueuses génito-urinaires. Ils peuvent être pathogènes opportunistes et sont alors responsables d'infections urinaires, d'infections abdominales d'origine intestinale, de septicémies ou d'endocardites à porte d'entrée urinaire, génitale ou intestinale.

### **Espèces et pouvoir pathogène des Cocci gram positif apparentes aux Streptocoques (hors *Enterococcus* sp.) (3)**

*Abiotrophia* / *Granulicatella* spp : endocardites, infections osseuses et ophtalmiques

*Aerococcus* spp : endocardites, septicémies, méningites...

*Gemella* spp : endocardites, septicémies, méningites, pneumopathies...

*Alloiococcus* otitidis : pneumopathies, septicémies...

### **Cocci gram positif anaérobies, principaux genre et pouvoir pathogène (3)**

On les trouve essentiellement dans la bouche et le tube digestif, elles ont un faible pouvoir pathogène, elles sont presque toujours à l'origine d'infections polymicrobiennes.

*Peptostreptococcus* spp, *Peptococcus* spp, *Finegaldia*.

### **Bacilles gram positif anaérobies, principaux genre et pouvoir pathogène (3)**

Sporulées : Clostridium spp : C. perfringens, C. botulinum, C. tetani, C. difficile, fort pouvoir pathogène

Non sporulées : Eubacterium spp, Lactobacillus spp, Propiobacterium spp, Bifidobacterium spp, faible pouvoir pathogène

### **Pouvoir pathogène et physiopathologie des infections à Clostridium perfringens (3)**

A partir d'une plaie contaminée (par exemple fracture ouverte ou plaie utérine), l'infection s'étend en 1 à 3 jours. Elle réalise :

- la gangrène gazeuse qui se manifeste comme un phlegmon gazeux avec crépitation et nécrose progressive, fièvre, hémolyse, syndrome toxique, choc, puis la mort survient rapidement. Avant l'apparition des antibiotiques, l'amputation était le seul traitement possible ;
- des appendicites, des entérites gangréneuses ;
- des syndromes septicémiques d'origine puerpérale avec ictère hémolytique et anurie.

Par ailleurs, certaines souches de C. perfringens provoquent des intoxications alimentaires avec diarrhée profuse qui durent de 1 à 3 jours, par un mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine de E.coli.

### **Pouvoir pathogène et physiopathologie des infections à Clostridium botulinum (3)**

Habituellement, elle ne provoque pas d'infection chez l'homme. Le botulisme est une intoxication qui résulte de l'ingestion d'aliments contaminés par des spores de C. botulinum qui ont germé et ont produit de la neurotoxine botulique. Les premiers signes cliniques sont des paralysies de l'accommodation (constantes) et des muscles extrinsèques de l'œil (-> diplopie). Les troubles digestifs (nausées, vomissements, constipation) sont fréquents mais pas au premier plan. La mort peut survenir par paralysie respiratoire et arrêt cardiaque.

### **Pouvoir pathogène et physiopathologie des infections à Clostridium tetani (3)**

Ce n'est pas un germe invasif. Elle est responsable du tétanos. Elle pénètre dans l'organisme par une plaie profonde et sécrète une neurotoxine qui va se fixer sur l'arc réflexe et entraîner une hyper contraction des muscles, y compris respiratoires. Il existe un vaccin.

### **Pouvoir pathogène et physiopathologie des infections à Clostridium difficile (3)**

On la retrouve dans le tube digestif où elle est responsable de diarrhées post-antibiotiques et de colite pseudo membraneuses. Le traitement antibiotique entraîne la sélection d'une population résistante qui va produire des toxines.

### **Pouvoir pathogène du genre Corynebacterium (3)**

C. diphtheriae : responsable de la diphtérie, toxi-infection associant une angine pseudo membraneuse à des signes d'intoxication. Il existe un vaccin.

C. jeikeium : responsable d'infections nosocomiales et opportunistes.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de Listeria monocytogenes (5)**

Présente dans le tube digestif des animaux, elle contamine le lait, la viande et l'environnement. L'infection n'est retrouvée qu'aux âges extrêmes de la vie (sujet âgé et nouveau né) et chez les immunodéprimés. En cas de fièvre chez la femme enceinte, on doit suspecter une infection à L. monocytogenes.

L'infection se traduit par des méningites du tronc cérébral et des rhomboencéphalites.

### **Pouvoir pathogènes des bactéries du genre Bacillus (5)**

*B. anthracis* : responsable de l'anthrax, atteint rarement l'homme. Elle produit une toxine très pathogène entraînant une nécrose importante au niveau du point d'inoculation. L'inhalation de *B. anthracis* entraîne une pneumonie d'évolution rapidement fatale.

*B. cereus* : responsable d'infections opportunistes.

### **Pouvoir pathogènes des bactéries des genres Nocardia et Actinomyces (3)**

*Nocardia* spp : infections chez les patients immunodéprimés. Les manifestations cliniques : atteintes pulmonaires, formes septicémiques, abcès cérébraux.

*Actinomyces* spp : infections de la tête et du cou, en général avec un point d'entrée dentaire. Évolution lente. Le pus est particulier : aspect crémeux type tapioca « actinomycosis ». On aboutit dans certains cas à un réel délabrement tissulaire (fosses nasales et palais plus particulièrement). Peut être à l'origine d'une actinomycose utérine (diagnostic différentiel cancer utérin).

### **Pouvoir pathogène de Tropheryma whipplei (3)**

Vit dans l'environnement et contamine par voie fécale. Il existe une susceptibilité génétique. L'enfant peut la rencontrer et avoir un épisode de diarrhée sans conséquences, ou en présence d'une susceptibilité compliquer la diarrhée en infection. Mauvais pronostic car il y aura des atteintes à distance : des valves cardiaques, articulations et cerveau (maladie de Whipple, pratiquement incurable).

### **Pouvoir pathogène de Mycobacterium tuberculosis (15)**

C'est l'agent de la tuberculose. Contamination par voie aérienne suite à un contact prolongé avec un malade. Atteinte des alvéoles pulmonaires puis réaction des macrophages (qu'on appelle « chancre ») face auxquels la bactérie est résistante. La zone infectée est souvent circonscrite et s'arrête aux ganglions du hile pulmonaire. Ceci correspond à une primo infection, la bactérie se multiplie mais fait peu de dégâts.

Avec le vieillissement on peut avoir une nouvelle multiplication au niveau de l'innoculation (poumon) ou à distance (méninges, testicules, surrénales, cerveau... et autres). On aboutit à des abcès progressifs tuberculeux, les caséums, lésions qui peuvent grossir et se drainer dans la bronche, d'où crachats purulents et un aspect de trou (caverne tuberculeuse), ventilé et infiltré par les bactéries. Il existe une forme grave : Tuberculose Miliaire chez les immunodéprimés donnant une septicémie, disséminée partout dans l'organisme.

### **Epidémiologie et physiopathologie de l'infection a Mycobacterium tuberculosis (5)**

C'est une maladie de la pauvreté et de la promiscuité, il faut être en contact prolongé (théoriquement 8h) avec un tuberculeux bacillifère, c'est aussi encore une infection nosocomiale. Contamination par voie aérienne, atteinte des alvéoles pulmonaires puis réaction des macrophages (qu'on appelle « chancre ») face auxquels la bactérie est résistante. La zone infectée est souvent circonscrite et s'arrête aux ganglions du hile pulmonaire lors de la primo-infection.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie des mycobactéries dites atypiques (5)**

*Mycobacterium leprae* : Elle donne la lèpre, grâce à un mode de contamination qui reste plutôt flou. Lèpre lépromateuse : infiltration dans les tissus et nerfs avec apparition de nodules et destruction des tissus, ou lèpre tuberculoïde avec apparition de nodules mais pas de destruction des tissus.

*Mycobacterium avium* : donne des infections pulmonaires surtout chez les immunodéprimés.

*Mycobacterium xenopi* : vit dans l'eau et est peu pathogène, pas de contamination spontanée.

*Mycobacterium marinum* : Vit dans l'eau salée, douce et se trouve à grande concentration dans les eaux croupies. Elle entre dans la peau au niveau des pieds.

### **Pouvoir pathogène de *Mycoplasma pneumoniae* (3)**

Responsable de pneumonies atypiques ou interstitielles, non systématisées. Se retrouve surtout chez les enfants et les jeunes adultes et s'exprime par une forte fièvre.

### **Pouvoir pathogène de *Fusobacterium necrophorum* (3)**

Peut donner une infection polymicrobienne à point de départ digestif (ex: abcès du foie) ou une Angine de Vincent (atteinte unilatérale de l'amygdale qui est nécrotique et sur laquelle on retrouve un mélange de *necrophorum* et de bactéries spiralées tréponèmes).

### **Pouvoir pathogène des bactéries du genre *Bacteroides* (3)**

*Bacteroides* spp : dans ce genre on parlera seulement de la *Fragilis* qui est la plus pathogène donnant des infections digestives.

*Prevotella* spp : pathologies digestives

*Porphyromonas* spp : rôle dans la gingivite ulcéro-nécrotique accompagnant d'autres bactéries.

### **Pouvoir pathogène des protéobactéries du groupe delta-epsilon (5)**

Bactéries du tube digestif, vivant dans l'environnement sauf :

- *Campylobacter* spp : contamination par les produits laitiers, donnant des diarrhées fréquentes et peut aboutir à un Syndrome de Guillain-Barré.
- *Helicobacter Pylori* : donne des ulcères gastro-duodénaux qui évoluent le plus souvent vers un cancer de l'estomac.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie des Rickettsies du groupe boutonneux (3)**

Se transmettent par piqûre de tiques.

*R. conorii* : la bactérie donne une escarre d'inoculation, le plus souvent au niveau du cuir chevelu. Par la suite on a une éruption généralisée de boutons = Fièvre boutonneuse méditerranéenne.

*R. slovaca* : Donne le syndrome de TIBOLA à l'origine de ganglions très importants. La tique responsable vit plutôt dans les forêts et chez l'enfant, va donner : escarre noirâtre, alopecie, ganglions, fièvre et asthénie.

*R. africae*: Donne une fièvre boutonneuse africaine. On aura plusieurs piqûres avec plusieurs escarres et une éruption vésiculeuse.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie des Rickettsies du groupe typhus (3)**

*R. Typhi* : responsable du typhus murin, se transmet à l'homme par une piqûre de puce venant du rongeur, à l'origine d'un syndrome fébrile.

*R. Prowazekii* : correspond au typhus épidémique transmis par les poux de corps (vit dans les vêtements) et donne une septicémie. Une fois qu'elle a infecté, elle reste quiescente dans l'organisme et si immunodépression on aura une maladie de réactivation : maladie de Brill-Zinsser.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie des bactéries du genre *Bartonella* (3)**

*B. quintana* : responsable de : fièvre quintane, fièvre récurrente à toux, fièvre des tranchées. Transmise par les poux de corps et peut entraîner une endocardite surtout chez les SDF avec des valves saines.

*B. henselae* : quasi identique, la transmission se fait par la puce de chat (présence aussi dans la salive et les griffes) et donne chez les enfants la maladie dite « des griffes du chat » qui peut donner des endocardites sur valves pathologiques.

### **Pouvoir pathogène de *Neisseria gonorrhoeae* (5)**

C'est une infection sexuellement transmissible : chez l'homme donne des urétrites et chez la femme des cervicites plus asymptomatiques. La localisation peut être aussi articulaire : arthrite infectieuse du jeune adulte.

### **Pouvoir pathogène de *Neisseria meningitidis* (5)**

Bactérie à transmission aérienne. On aura un tableau de méningite ou de septicémie comme la CIVD (purpura fulminant).

### **Pouvoir pathogène de *Bordetella pertussis* (3)**

C'est l'agent de la coqueluche, qui sécrète une toxine qui entraîne une toux émétisante (qui fait vomir) et asphyxiante. Il existe un vaccin.

### **Pouvoir pathogène d'*Escherichia coli* (hors infections digestives) (5)**

Infections urinaires, méningites foeto-maternelles (K1), syndrome hémolytique et Urémique (ECEH).

### **Les *Escherichia coli* responsables d'infections digestives (5)**

- ECET (entéro- toxinogène): diarrhées aqueuses, Turista,
- ECEP (entéro- pathogène) : diarrhée, inquiétant chez nourrisson seulement car déshydratation.
- ECEI (entéro-invasif) : comme shigelle, que l'on verra ci dessous.
- ECEH (entéro- hémorragique): contamination par les steaks hachés crus surtout. On aura une ulcération digestive, des saignements et parfois un Syndrome hémolytique et Urémique (amenant à une insuffisance rénale).

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de *Yersinia pestis* (5)**

C'est l'agent de la peste, maladie du rongeur sauvage, ou des poux de corps, donne une ulcération liée à l'inoculation puis drainée elle se dirige vers les ganglions qui se gonflent de pus (« bubons » du fait de leur taille), on aura alors une fièvre et atteinte pulmonaire avec fonte hémorragique, septicémie. Transmission interhumaine par la toux.

### **Espèces principales et pouvoir pathogène des bactéries du genre *Yersinia* (hors *Yersinia pestis*) (3)**

- *Y. Pseudo Tuberculosis* : surtout chez l'enfant donne adénite mésentérique, douleurs abdominales, fièvre, diagnostic différentiel : appendicite.
- *Y. Enterocolitica*
- *Y. Pestis* : c'est l'agent de la peste, maladie du rongeur sauvage, ou des poux de corps.

### **Pouvoir pathogène de *Klebsiella pneumoniae* (3)**

Donne des pneumonies sévères communautaires ou nosocomiales surinfectant en général une grippe ou chez les patients atteints de troubles respiratoires. Cette bactérie donne aussi des infections urinaires nosocomiales, digestives communautaires et des infections des fosses nasales (rhinites crouteuses sanguinolentes). Ces souches sont très résistantes.

### **Pouvoir pathogènes des entérobactéries du groupe III (3)**

*Serratia marcescens* : responsable d'infections nosocomiales (IN) est très résistant notamment aux antiseptiques hospitaliers.

*Enterobacter cloacae* : responsable d'IN et infections osseuses sur fracture ouverte (accidents de la voie publique) obligeant à faire des antibioprofylaxie dans ce type de fracture.

*Enterobacter aerogenes* : responsable d'IN extrêmement résistant.

*Providencia spp* : responsable d'IN

### **Pouvoir pathogène d'*Acinetobacter baumannii* (3)**

Très résistant, infection quasi uniquement hospitalière (cathéter, pneumonie de réanimation). Dans les pays tropicaux, il peut être responsable de pneumonies communautaires.

### **Pouvoir pathogène de *Pseudomonas aeruginosa* (5)**

Très résistante, entraîne essentiellement des IN (infection sur matériel comme cathéter). Parfois infections communautaires : otite CAE douloureux fréquent chez les enfants lors de longues baignades ou ostéite au niveau des métatarses pour ceux qui marchent pieds nus et se rentrent une vis ou un clou dans le pied.

### **Pouvoir pathogène d'*Aeromonas hydrophila* (3)**

Se retrouve chez les noyés (plaies contaminées par de l'eau) et est responsable de pneumopathie ainsi que d'ostéite. Elle se retrouve aussi chez les sangsues utilisées notamment en chirurgie plastique. C'est pour cette raison qu'on utilise des antibiotiques chez ces patients.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de *Vibrio cholerae* (3)**

Fréquent dans les pays en voie de développement. Agent du choléra, il rend incapable l'absorption de l'eau et donc entraîne une déshydratation massive. Le traitement consiste en une réhydratation.

### **Espèces principales et pouvoir pathogène des bactéries du genre *Haemophilus* (3)**

*Haemophilus influenzae* : il existe un sérotype particulier 1B ravageant qui donnait des méningites et des épiglottites pouvant mener à des septicémies (maladies quasiment disparues depuis la vaccination en France). Elle est par ailleurs responsable de pneumonie surinfectant une infection virale et d'atteintes ORL notamment chez l'enfant.

*Haemophilus ducreyi* : sexuellement transmissible entraînant une ulcération des parties génitales douloureuses et inflammatoire retrouvée dans les zones de basse prostitution (comme Macao).

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de *Francisella tularensis* (3)**

Donne essentiellement des adénites. Transmise par des piqûres de tiques.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de *Coxiella burnetii* (3)**

Agent responsable de la fièvre Q, donne des placentites chez le bétail avec une infection lors de l'accouchement. Elle peut être responsable de pneumonies, d'hépatites (guérisons spontanées) avec parfois une fièvre isolée puis endocardite chez les patients atteints de troubles valvulaires.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de *Legionella pneumophila* (5)**

Agent responsable de la maladie des légionnaires. Vit dans l'eau, faiblement contaminante, donne des pneumonies si elle est aérosolisée (climatisations précaires) et touche les immunodéprimés et les alcoolotabagiques.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de Chlamydiophila trachomatis (5)**

Responsable du trachome (conjonctivite sévère aboutissant à la cécité (fréquemment retrouvée en Afrique) : la transmission se fait via certaines mouches.

Responsable aussi d'IST très fréquents (urétrite avec brûlure mictionnelle et pesanteur compliqués de prostatique, orchite / orchi épididymite chez l'homme). Chez la femme parfois donne des inflammations chroniques des trompes (salpingite) aboutissant à une stérilité. Le traitement de ces infections est assez long (une vingtaine de jours).

### **Espèces principales et épidémiologies des Chlamydiales responsables de pneumonies (3)**

Chlamydiophila pneumoniae : Bactérie relativement fréquente qui touche l'Amérique et l'Europe du nord et provoque des pneumonies interstitielles.

Chlamydiophila psittaci : Rare bactérie des oiseaux (perroquets, perruches) contaminant principalement par inhalation des fientes de ces oiseaux.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie de Leptospira interrogans (5)**

Tropisme particulier pour l'arbre urinaire (rein++ ). L'infection se fait par l'eau contaminée par l'urine des animaux (ex :rats). Les égoutiers et les vétérinaires sont donc les principaux exposés. Responsable de syndrome pseudo grippal pour les formes légères voire méningo-encéphalite ou hépatonéphrite pour les formes plus graves.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie des bactéries du genre Borrelia (5)**

- B groupe burgdorferi : responsable d'arthrite, péricardite, méningo-encéphalite.
- B. des fièvre récurrentes à tiques (++) ou à poux.

### **Pouvoir pathogène et épidémiologie des bactéries du genre Treponema (5)**

T. pallidum : responsable de la syphilis, IST en plusieurs phases :

- inoculation
- ganglion peu douloureux, dur, souvent au niveau de l'aîne
- plusieurs années après, syphilis secondaire, éruption cutanée qui apparaît puis disparaît rapidement
- plusieurs années après, atteintes SN : cerveau et cordons postérieurs de la moelle) responsable d'une atteinte proprioceptive (tabès) mais aussi de démence, et d'anévrisme de l'aorte ascendante.

### **Acides nucléiques présents chez les bactéries (5)**

Chromosome(s) de 0,15Mb à 12Mb, en général unique et circulaire, formé d'une double chaîne d'ADN

On retrouve également des ARN, des plasmides et autres éléments mobiles.

### **Les enveloppes des bactéries à gram positif (3)**

De l'extérieur vers l'intérieur :

- Paroi épaisse et résistante constituée de peptidoglycanes
- Membrane cytoplasmique

### **Les enveloppes des bactéries à gram négatif (3)**

De l'extérieur vers l'intérieur :

- Membrane externe fine (phospholipides, lipopolysaccharides toxiques, porines)
- Espace périplasmique
- Fine paroi de peptidoglycanes
- Membrane cytoplasmique

### **Expliquer comment se font les variations génotypiques des bactéries à l'aide d'un exemple (5)**

C'est une modification spontanée ou induite, stable, rare, liée à une modification de l'ADN bactérien.

Le BK peut exister sous deux génotypes principaux dont l'un est sensible à la rifampicine alors que l'autre est sensible à l'isoniazide. Ce n'est pas l'antibiotique qui est à l'origine de la mutation mais il sélectionne un groupe de bacilles en fonction de mutations préexistantes.

### **Quelles sont les caractères des variations phénotypiques des bactéries (5)**

Elle résulte de l'adaptation rapide de la population bactérienne à diverses conditions extérieures conduisant à la régulation de l'expression des gènes qui est inductible, réversible et non transmise à la descendance.

### **Quels sont les différents modes de transfert génétiques existants chez les bactéries (3)**

Transformation, Conjugaison, Transduction, Transposition, Possibilité de recombinaison génétique

### **Expliquer ce qu'est la transformation bactérienne (5)**

- L'ADN est fixé et absorbé par des bactéries compétentes à partir de bactéries dites donatrices
- L'absorption d'ADN est suivie d'une recombinaison génétique avec acquisition de caractères stables
- Limité à quelques espèces bactériennes
- Le transfert est partiel et représente 1 à 2% du génome
- Inductible par électroporation (création de souches recombinantes)
- Intérêt historique : apparition de souches résistantes aux ATB (pneumo et méningocoque)

### **Expliquer ce qu'est la conjugaison bactérienne (5)**

- Processus sexuel strict nécessitant un contact préalable
- Le facteur de sexualité ou de fertilité (F) permet la synthèse de pili chez la bactérie dite mâle
- Le transfert d'ADN chromosomique est à sens unique, orienté, progressif et parfois total
- Le facteur F peut être indépendant du chromosome (unité autonome de répllication et porteuse de gènes : plasmide)
- Plasmide : ADN double brin, généralement circulaire, cytoplasmique (0.5 à 500 kb)
- L'échange d'ADN non chromosomique par l'intermédiaire de plasmides est le principal facteur d'évolution des bactéries

### **Expliquer ce qu'est la transduction bactérienne (5)**

- Transfert partiel d'ADN bactérien par l'intermédiaire de phages
- Le phage est un virus infectant les bactéries qui lors de son encapsidation va emmener des fragments d'ADN bactériens
- Transfert de fragments d'ADN de taille limitée (<50kb)
- La transformation est parfois appelée aussi conversion lysogénique

### **Expliquer ce qu'est la transposition bactérienne (5)**

- Transposition: addition de gènes (transposons) directement dans le chromosome ou dans les plasmides
- Séquences d'ADN capables de changer de localisation dans le génome (séquences d'insertion)
- Pas de réplication autonome : recours à un hôte nécessaire
- Codent pour les déterminants de la transposition ainsi que pour d'autres propriétés (cf. plasmides)
- L'addition se fait en général par l'intermédiaire de séquences d'insertion

### **Quels sont les éléments de base de la taxonomie phénotypique (3)**

- Caractères macroscopiques (cultureux) : température, atmosphère, exigences nutritives, morphologie des colonies, hémolyse, pigments
- Caractères microscopiques : état frais (fond noir, encre de chine), colorations (Gram, Ziehl, fluorescence)
- Métabolisme : recherche d'enzymes, assimilation ou fermentation de sucres, recherche de métabolites

### **Citer et expliquer les caractères cultureux utilisables en taxonomie phénotypique (5)**

- Température : conditions de températures pour la prolifération
- Atmosphère : nécessité d'une aérobie ou anaérobie stricte, ou bien microaérophilie
- Exigences nutritives : sang, sérum, sucres...
- Morphologie des colonies
- Hémolyse : culture sur géloses contenant des hématies
- Pigments : rôle toxique pour les autres bactéries

### **Citer et expliquer les caractères microscopiques utilisables en taxonomie phénotypique (5)**

Etat frais : sur fond noir on peut voir les capsules et la mobilité (trajectoire, vitesse)

Coloration : Gram (positif ou négatif), Ziehl (met en évidence les mycobactéries), fluorescence (met en évidence la morphologie bactérienne)

### **Citer et expliquer les techniques de base actuelles de la taxonomie génotypique (5)**

- HYBRIDATION ADN-ADN :

Technique : on cherche à identifier une bactérie B et on a le génome d'une bactérie A connue, qui contient des nucléotides radio-marqués. On coupe les génomes des deux bactéries en petits bouts, on chauffe (dénaturation), on refroidit (hybridation). On va retrouver des fragments AA, BB mais aussi AB. On recueille le pourcentage d'hybrides AB obtenus. Deux bactéries appartiennent à la même espèce si leurs génomes s'hybrident à plus de 70% et si les hybrides sont stables (delta Tm < 5°C).

- SEQUENCAGE DES GENES :

Technique : PCR et séquençage automatique. Il faut choisir la cible, le plus souvent le gène de l'ARN ribosomique 16S qui comporte des régions constantes et des régions variables qui sont généralement spécifiques du genre mais rarement de l'espèce.

### **Quels sont les principaux modes d'action des antibiotiques (10)**

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne agissent sur des enzymes clef impliquées dans la synthèse de cette paroi (pyruvyl-transferase, transpeptidases, transglycosylases). Les antibiotiques qui agissent sur la membrane plasmique et la membrane extrême agissent comme un détergent en s'insérant dans ces membranes et en désorganisant les lipides membranaires. Les antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique se fixent sur une sous-unité ribosomale de façon réversible ou non, inhibant ainsi l'initiation, l'élongation ou la terminaison de la traduction. Les antibiotiques qui inhibent la synthèse des acides nucléiques se fixent sur des enzymes clef (sous-unité 13 de l'ARN-polymérase ADN dépendant, ADN topo-isomérases II et IV). Autres mécanismes : Certains antibiotiques inhibent la synthèse des folates (acide tétrahydrofolique notamment), ou oxydent l'ADN bactérien.

### **Quels sont les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (3)**

La fosfomycine en inhibant la pyruvyl-transferase, les 13 lactamines céphalosporines, carbapénèmes et monobactames (notamment) et les glycopeptides (vancomycine, teicoplanine).

### **Quelles sont les différences de paroi entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (5)**

Les bactéries Gram+ possèdent un peptidoglycane plus important que les Gram-. En contre-partie, l'espace périplasmique est plus petit. Toutes les 2 possèdent des Protéines Liées aux Pénicillines (PLPs) impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Les bactéries Gram- possèdent une membrane extrême lipidique, qui contient des protéines transmembranaires : les porines.

### **Quelle est la composition du peptidoglycane (10)**

Le peptidoglycane est une structure spécifiquement bactérienne, très réticulée, constituée de longues chaînes polysaccharidiques. Ces dernières sont constituées de répétitions successives de motifs disaccharidiques (acide N-acétyl-muramique + N-acétylglucosamine). Ces chaînes polysaccharidiques sont reliées entre elles par des ponts pentapeptidiques constitués de D-Alanine et L-Alanine, branchés sur l'acide N-acétylmuramique. Ces ponts pentapeptidiques sont reliés entre eux soit directement soit par l'intermédiaire d'autres acides aminés comme la Glycine. La synthèse du peptidoglycane fait intervenir les Protéines Liées aux Pénicillines (PLPs) ainsi que d'autres enzymes telles que la pyruvyl-transferase, des carboxypeptidases, une transglycosylase et une transpeptidase.

### **Quel est le mode d'action de la fosfomycine (3)**

La fosfomycine possède une activité bactéricide en pénétrant dans la cellule bactérienne par transport actif afin d'inhiber l'activité de la pyruvyl-transferase. Elle inhibe ainsi la synthèse des précurseurs du peptidoglycane.

### **Quel est le mode d'action des $\beta$ lactamines et leur variation de spectre d'activité (10)**

Les 13 lactamines (grande famille d'antibiotiques) inhibent l'insertion des unités glycaniques : précurseurs de la paroi. Elles inhibent également la transpeptidation qui fait intervenir les Protéines Liées aux Pénicillines (PLPs) en se fixant sur ces PLPs par analogie de structure avec leur substrat naturel, ce qui leur confère une action bactériostatique. Puis elles agissent par levée d'inhibition des autolysines, responsable d'une activité bactéricide en phase de multiplication. Pour atteindre leurs cibles sur les bactéries Gram-, ces antibiotiques devront passer par les porines de la membrane extrême. Ainsi, les molécules volumineuses et très hydrophobes ne pourront pas agir sur ces bactéries. La vitesse de passage dans l'espace périplasmique sera variable pour les mêmes raisons. Les pénicillines V, G et M n'agiront pas sur les bactéries Gram-, à l'inverse des céphalosporines.

### **Quelles sont les principales $\beta$ lactamines (5)**

Les beta lactamines représentent une très grande famille d'antibiotiques. Parmi elles on distingue :

- les pénicillines (ex : pénicillines V, G et M)
- les céphalosporines
- les carbapénèmes
- les monobactames

### **Quel est le mode d'action des glycopeptides (5)**

Les glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) inhibent la synthèse du peptidoglycane en se fixant sur les motifs dipeptidiques D-Alanine/D-Alanine entraînant un encombrement stérique qui empêche l'action des enzymes transglycosylase et transpeptidase à ces motifs. Ce sont des molécules lentement bactéricides à large spectre sur les bactéries Gram+.

### **Quel est le spectre d'activité de la vancomycine (3)**

La vancomycine est un glycopeptide fortement hydrophile et de grande taille. Elle n'agit donc pas sur les bactéries Gram- car son passage à travers les porines est impossible. Cependant, elle agit sur un large spectre de bactéries Gram+.

### **Quels sont les antibiotiques agissant sur la membrane externe (3)**

Ce sont des polypeptides tels que la polymyxine B et E (= Colistine). Ces antibiotiques agissent comme des détergents au niveau de la membrane externe et possèdent une activité bactéricide.

### **Quel est le mode d'action des polymyxines (5)**

Les polymyxines représentent une famille d'antibiotiques agissant sur la membrane extrême des bactéries. Elles s'insèrent dans cette membrane, désorganisant les lipides membranaires à l'instar d'un détergent. Elles ont un large spectre d'action sur les bactéries Gram-, mais n'agissent pas sur les bactéries Gram+ car elles devraient traverser le peptidoglycane pour exercer leur action sur la membrane plasmique.

### **Quel est le spectre d'activité de la colistine (3)**

La colistine, ou polymyxine E, est un polypeptide agissant comme un détergent sur la membrane extrême des bactéries. Elle a un large spectre d'action sur les bactéries Gram- mais n'agit pas sur les bactéries Gram+. Son spectre d'action est complémentaire de celui des glycopeptides.

### **Quels sont les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique (3)**

Parmi les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique, on distingue : les macrolides et apparentés (lincosamides et streptogramines = synergistines), le chloramphénicol, les aminosides, les cyclines et l'acide fusidique.

### **Quel est le mode d'action des macrolides (3)**

Les macrolides sont des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique. Ils se lient de façon réversible sur la sous-unité 50 S du ribosome bactérien, bloquant ainsi l'élongation de la synthèse protéique par blocage de la translocation.

### **Quel est le mode d'action des synergistines (3)**

Les synergistines, ou streptogramines, sont des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique, apparentés aux macrolides. Ils présentent donc le même mécanisme d'action que ces derniers, à savoir la fixation réversible sur la sous-unité 50 S du ribosome qui bloque l'élongation de la synthèse protéique par blocage de la translocation.

### **Quel est le mode d'action du chloramphenicol (3)**

Le chloramphenicol est un antibiotique inhibiteur de la sous-unité 50 S du ribosome, inhibant ainsi la synthèse protéique. Il empêche la fixation des amino-acyl-ARNt au site A de la sous-unité 50 S du ribosome. Il, bloque de ce fait l'élongation de la synthèse protéique.

### **Quel est le mode d'action des aminosides (5)**

Les aminosides sont des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique. Aires passage à travers la membrane plasmique via des transporteurs, us se lient a la sous-unité 30 S du ribosome et inhibent l'élongation de la chaine polypeptidique en bloquant le complexe d'initiation. Ils entraînent une distorsion du ribosome 30 S/50 S, ce qui bloque la traduction et/ou entraîne la synthèse des protéines membranaires anormales favorisant leur propre entrée dans la bactérie.

### **Quel est le mode d'action de la doxycycline (5)**

La doxycycline est un antibiotique appartenant à la famille des cyclines : antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique. Elle se fixe de façon réversible a la sous-unité 30 S du ribosome empêchant la fixation des amino-acyl-ARNt au site A du ribosome inhibant ainsi l'élongation de la synthèse protéique.

### **Dans quel type d'infection la doxycycline est principalement prescrite (3)**

La doxycycline pénètre facilement à l'intérieur de la cellule infectée. Elle sera donc prescrite en cas d'infections a bactéries intracellulaires telles que Coxiella burnetii, Rickettsia sp, Chlamydia pneumoniae et C. trachomatis.

### **Quel est le mode d'action de l'acide fusidique (5)**

L'acide fusidique est un antibiotique inhibiteur de la synthèse protéique. Il se fixe au facteur EF-G d'élongation de la traduction, empêchant ainsi la fixation de aminoacyl- ARNt. Il est bactériostatique à faible dose et bactéricide a forte dose. Ses propriétés hydrophobes l'empêchent de traverser la membrane extrême des bactéries Gram-. En revanche, il agit bien sur les bactéries Gram+ et notamment sur le staphylocoque.

### **Quels sont les antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques (3)**

Parmi les antibiotiques qui agissent sur la synthèse des acides nucléiques, on peut citer : La rifampicine, les quinolones et fluoroquinolones Les sulfamides et diaminopyridines qui passent par un mécanisme d'action différent.

### **Quel est le mode d'action de la rifampicine (5)**

La rifampicine est un antibiotique inhibiteur de la synthèse des acides nucléiques. Elle se fixe sur la sous-unité 13 (= rpo13) de l'ARN polymérase ADN dépendant, inhibant ainsi la transcription de l'ADN bactérien. Elle a une action bactériostatique puis bactéricide. L'activité bactéricide survient même sur les bactéries au repos.

### **Quel est le mode d'action des fluoroquinolones (5)**

Les fluoroquinolones sont des antibiotiques agissant sur la synthèse des acides nucléiques. Elles inhibent l'activité de l'ADN topoisomérase II (ADN gyrase constituée des sous-unités gyrA et gyrB) et de l'ADN topoisomérase IV (constituée des sous-unités parC et parE), responsables du surenroulement de l'ADN bactérien, indispensable à la réplication. Les fluoroquinolones se fixent sur les sous-unités gyrA et parC ce qui leur confère une activité bactéricide.

### **Quel est le mode d'action des sulfamides (5)**

Les sulfamides (ex : suflaméthoxazole) inhibent la synthèse des folates, et plus particulièrement de l'acide tétrahydrofolique (co-facteur indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques). Le blocage se fait par analogie de structure avec le substrat de l'enzyme dihydroptéroate synthétase.

### **Quel est le mode d'action des diaminopyridines (5)**

Les diaminopyridines (ex : le triméthoprime), inhibent la synthèse des folates et plus particulièrement de l'acide tétrahydrofolique (co-facteur indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques). Le blocage se fait par analogie de structure avec le substrat de l'enzyme dihydrofolate reductase.

### **Quel est le mode d'action du cotrimoxazole (10)**

Le cotrimoxazole est une association de triméthoprime et sulfaméthoxazole. Ces deux antibiotiques inhibent la synthèse des folates, et plus particulièrement de l'acide tétrahydrofolique : cofacteur indispensable à la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. Le triméthoprime va bloquer l'enzyme dihydrofolate reductase, alors que le sulfaméthoxazole va inhiber l'enzyme dihydroptéroate synthétase. Ces deux molécules agissent sur leurs cibles respectives par analogie de structure avec le substrat de l'enzyme concernée. L'inhibition de la synthèse de l'acide tétrahydrofolique entraînera un blocage de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques, qui sera responsable d'une réduction du pool de nucléotides, et donc une inhibition de la synthèse des acides nucléiques.

### **Quel est le mode d'action des nitro-imidazoles (3)**

Les nitro-imidazoles agissent par réduction des groupements nitro (-NO<sub>2</sub>) par des systèmes de transporteurs d'électrons. Ils entraînent une oxydation de l'ADN responsable de coupures et d'une inhibition de la réplication. Ils n'agissent que sur les bactéries anaérobies et certaines ) par des systèmes de bactéries micro-aérobies.

### **Quel est le mode d'action des nitrofuranes (3)**

Les nitrofuranes agissent par réduction des groupements nitro (-NO<sub>2</sub>) par des systèmes de transporteurs d'électrons. Ils entraînent une oxydation de l'ADN responsable de coupures et d'une inhibition de la réplication. Ils agissent sur les bactéries anaérobies et aérobies.

### **Quelle est la définition de la concentration minimale inhibitrice (3)**

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle on n'observe pas de croissance bactérienne après 18h de culture à 37°C. Elle permet d'évaluer l'action bactériostatique d'un antibiotique.

### **Quelle est la définition de la concentration minimale bactéricide (3)**

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle l'inoculum bactérien est inférieur ou égal à 0,01% de l'inoculum de départ après 18h de culture à 37°C. Elle permet d'évaluer l'activité bactéricide d'un antibiotique.

### **Comment est-ce qu'on conclut qu'une bactérie est sensible, intermédiaire ou résistante à un antibiotique (10)**

La sensibilité d'une bactérie à un antibiotique est évaluée par antibiogramme. On détermine la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de l'antibiotique, en gg/ml ou mg/l. La bactérie est dite sensible lorsque les concentrations sanguines obtenues avec des doses standard d'antibiotique sont supérieures à la CMI. La bactérie est dite résistante lorsque les concentrations sanguines obtenues avec des doses standard d'antibiotique sont inférieures à la CMI. Le résultat est intermédiaire lorsque les concentrations sanguines obtenues avec des doses standard d'antibiotique sont inférieures à la CMI, mais dans certains liquides biologiques, si on augmente la dose d'antibiotique, la concentration devient supérieure à la CMI.

### **Comment les concentrations minimales inhibitrices sont déterminées (10)**

La détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices peut se faire En milieu liquide : On réalise une gamme de dilution de l'ATB dans différents tubes contenant du milieu de culture. On ensemence ces tubes avec la bactérie à étudier. Après une incubation de 18h à 37°C, on recherche le tube pour lequel il n'y a pas de croissance bactérienne. Sur milieu gélose, avec la méthode de diffusion des disques, réalisée en routine : On ensemence la surface d'une gélose par inondation avec la souche à tester, puis on dépose des disques en papier buvard imprégnés d'antibiotique à une concentration donnée. Après un temps d'incubation, on mesure le diamètre circulaire d'inhibition de croissance bactérienne que l'on reporte sur la courbe de concordance. Ou par la méthode de l'E-test (plus fine)

### **Quel est le principe de la détermination de la sensibilité aux antibiotiques par méthode de diffusion en milieu gélose (10)**

Non traité en cours !

### **Quel est le principe du E-test (5)**

Ce test se fait sur milieu gélose. On ensemence la surface d'une gélose par inondation avec la souche à tester, puis on dépose une bandelette de papier buvard imprégnée d'antibiotique selon un gradient de concentration. Après un temps d'incubation, on détermine la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui correspond à la valeur de la concentration en antibiotique à partir de laquelle la bactérie ne pousse pas. Cette méthode est peu utilisée en pratique.

### **Quels sont les différentes méthodes de test de la sensibilité aux antibiotiques (5)**

Pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques, on cherchera à déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (en pratique) ou la Concentration Minimale Bactéricide (moins un peu recherchée). Pour cela, on pourra effectuer un antibiogramme selon l'une des méthodes suivantes : En milieu liquide, avec la méthode des tubes à concentration croissante antibiotique ; ou par un test de diffusion en milieu gélose avec la méthode des disques ou encore l'E-test.

### **Quels sont les supports génétiques de la résistance aux antibiotiques (5)**

Parmi les caractéristiques de résistances bactériennes aux antibiotiques, on trouve des résistances naturelles où le support de la résistance est chromosomique (c'est-à-dire inclus dans le génome de la bactérie) ; et des résistances acquises, par modification de l'équipement génétique, dont le support peut être chromosomique (par apparition de mutation dans le génome bactérien) ou extra-chromosomique (plasmides, transposons mobiles).

### **Quels sont les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (10)**

La résistance aux antibiotiques peut répondre à un mécanisme de défaut d'entrée de l'antibiotique dans la bactérie. Par exemple, les molécules volumineuses et/ou trop hydrophobes ne pourront pas pénétrer dans les bactéries Gram- à travers les porines de la membrane extrême. Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides par absence de transporteur membranaire. A l'inverse, on peut avoir une exacerbation de l'excrétion de l'antibiotique par des mécanismes de type efflux (ex : résistances aux cyclines et quinolones). De même les bactéries peuvent sécréter des enzymes désactivant les antibiotiques (ex : les 13 lactamases contre les f3 lactamines). On peut avoir une modification de l'affinité de la cible pour l'antibiotique, ou de la cible elle-même.

### **Quels sont les antibiotiques qu'il faut éviter de prescrire en monothérapie (3)**

Afin d'éviter l'émergence de nouvelles résistances, on évitera les monothérapies de Rifampicine (qu'on associe en général à acide fusidique), de fosfomycine (sauf en cas d'infection urinaire) et de fluoroquinolones (sauf en cas d'infection urinaire également et de gastro-entérites bactériennes).

### **Quelles sont les principales stratégies diagnostiques des maladies bactériennes (5)**

Il existe 2 grandes stratégies diagnostiques des maladies bactériennes : Le diagnostic direct qui permet la mise en évidence de la bactérie elle-même dans le prélèvement par examen microscopique (avec et sans coloration), examen immunologique, détection par biologie moléculaire ou par isolement sur culture axénique, cellulaire ou inoculation. Le diagnostic indirect ou sérologie qui met en évidence la réaction immunologique du patient.

### **Quelles sont les méthodes de diagnostic direct des maladies bactériennes (5)**

Le diagnostic direct des maladies bactériennes peut se faire par examen microscopique (à l'état frais ou après coloration de Gram ou de Ziehl-Neelson par exemple ou microscopie à fond noir), examen immunologique (par agglutination des antigènes solubles, immunofluorescence directe, immunochromatographie sur membrane), détection par biologie moléculaire(PCR),ou par culture sur milieu axénique (gélose ou liquide), xenique (cellulaire) ou après inoculation à l'animal .

### **A quoi correspond le diagnostic indirect des maladies bactériennes (3)**

Le diagnostic indirect des maladies bactériennes consiste à mettre en évidence la réponse immunitaire du patient (anticorps dans le sérum), mise en route après l'infection. C' est la sérologie.

### **Quelles sont les différents types de prélèvement qui peuvent être analysés au laboratoire de bactériologie (5)**

Les prélèvements peuvent provenir d'un site contaminé (prélèvement buccal, vaginal, etc. or il existe une flore commensale naturelle), ou normalement stérile (prélèvement sanguin, LCR, etc. normalement exsangue de micro-organisme commensal). Les grandes catégories de prélèvement sont l'hémoculture, les fluides biologiques, les collections, les biopsies et les prélèvements cutaneo-muqueux.

### **Quel est l'apport de l'analyse au microscope dans le diagnostic des maladies bactériennes (5)**

Cet examen permet de visualiser les bactéries vivantes en suspension, mais aussi des parasites et des levures. Il représente une première étape dans l'identification bactérienne en fonction de la forme (cocci, bacille, cocco-bacille, vibrions, spirilles, fuseaux), de la présence éventuelle d'organe de locomotion (flagelle, cil), de leur regroupement par 2 (diplocoques), en amas (staphylocoques) ou en chainettes (streptocoques). C'est un examen de routine.

### **Quelles sont principales techniques de coloration des bactéries et leurs intérêts (5)**

La coloration de Gram varie en fonction de la paroi de la bactérie notamment de l'épaisseur du peptidoglycane. Elle permet de séparer les bactéries en Gram+ (en violet) et Gram- (en rose). C'est un examen de routine, qui contribue à l'identification de la bactérie. La coloration de Ziehl-Neelson permet la mise en évidence des bacilles acidoalcoolo-résistants qui ne prennent pas la coloration de Gram.

### **Quel test permet le diagnostic rapide des pneumopathies à Legionella pneumophila sérotype 1 (5)**

Le test immunochromatographique sur membrane permet le diagnostic rapide des pneumopathies à L. pneumophila sérotype 1. Des anticorps (Ac) de lapin anti-L. pneumophila sérotype 1 marqués par des particules permettant de visualiser le résultat sont présents sous forme déshydratée sur un support inerte. Une ligne d'Ac sont absorbés sur la membrane au niveau de la ligne patient (sample), une ligne d'Ac est fixée au niveau de la ligne contrôle IgG de chèvre anti-lapin (control)

### **Quelles sont les techniques du diagnostic direct des maladies bactériennes par détection immunologique (5)**

La recherche des antigènes solubles par agglutination en milieu liquide fait appel à des particules de latex sur lesquelles sont fixes des anticorps dirigés contre l'épitope suspecte. L'immunofluorescence directe utilise des anticorps, marqués à la fluorescéine, dirigés contre le germe suspecte. Elle utilise un microscope UV et est lecteur dépendant. Le test immunochromatographique sur membrane permet le diagnostic rapide des pneumopathies à L. pneumophila sérotype 1.

### **Intérêts du diagnostic immunologique direct dans les maladies bactériennes (3)**

Les méthodes immunologiques de diagnostic direct des maladies bactériennes permettent d'obtenir des résultats rapidement (20 minutes à 4 heures). Ceci permet une prise en charge rapide, adaptée et spécifique du patient dans certaines circonstances.

### **Limites du diagnostic immunologique direct dans les maladies bactériennes (5)**

Ces techniques manquent de sensibilité et de spécificité surtout pour la détection par agglutination des antigènes solubles et pour l'immunofluorescence directe. L'immunofluorescence directe par lecture au microscope UV est lecteur dépendant. L'utilisation d'anticorps dans ces différents tests engendre un coût élevé. Ces examens ne sont pas utilisés en routine hors mis l'immunochromatographie sur membrane.

### **Quel est le principe du diagnostic direct par biologie moléculaire (5)**

Le diagnostic direct par biologie moléculaire permet la mise en évidence du matériel génétique de la bactérie. Dans un 1 temps, l'ADN de la bactérie est extrait à partir du prélèvement du patient, et dans un 2<sup>e</sup> temps, on réalise une amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR) en ciblant certains gènes : universels (retrouvés dans toutes les bactéries. Ex : ARNr 16 S) ou spécifiques de certaines bactéries.

### **Quels sont les gènes cibles des réactions de PCR et les méthodes d'identification moléculaire des bactéries (5)**

Les méthodes d'identification par biologie moléculaire visent : soit des gènes universels, présents dans toutes les bactéries. C'est généralement l'ARN 16 S ribosomique, soit des gènes spécifiques d'une souche bactérienne donnée. On utilise pour cela des sondes nucléotidiques spécifiques de ces gènes.

### **Intérêts du diagnostic par biologie moléculaire des maladies bactériennes (5)**

Le diagnostic direct par biologie moléculaire permet :

- D'identifier des bactéries difficilement ou non cultivables
- D'identifier des bactéries impliquées dans des infections décapitées (quand le patient a pris des antibiotiques avant le prélèvement)
- D'être reproductible car automatisable.

### **Limites du diagnostic par biologie moléculaire des maladies bactériennes (5)**

Les limites du diagnostic direct par biologie moléculaire sont : L'étape de PCR qui comporte des risques de contamination, en plus d'un coût élevé. Les résultats sont obtenus assez tardivement, notamment avec la PCR classique. Pour pallier à cela, on utilise la PCR quantitative en temps réel plus rapide, qui permet le diagnostic d'infections bactériennes qui représentent des urgences vitales (ex : méningites bactériennes).

### **Quels sont les principaux milieux de culture disponibles en bactériologie (5)**

En bactériologie, on utilise différents milieux de culture tels que des milieux géloses pour les cultures axéniques sélectives (présence d'antibiotique. Ex: milieu CIN) ou non (ex: gélose chocolat). On peut trouver des cultures cellulaires (généralement sur des fibroblastes) pour les cultures xeniques. Il existe également des cultures par inoculation à l'animal, utiles pour les bactéries non cultivables (ex: *Treponema pallidum*, *Mycobacterium leprae*).

### **Quels sont les objectifs de la culture des prélèvements sur gélose (5)**

La culture sur gélose associée à l'identification par les galeries API permet une identification phénotypique de la bactérie grâce à ses caractéristiques biochimiques. A partir de ces cultures, on peut également réaliser un antibiogramme. On peut aussi évaluer le pouvoir pathogène d'une bactérie en réalisant le compte bactérien. La bactérie joue un rôle pathogène à partir de  $10^5$  UFC/ml pour un prélèvement urinaire par exemple.

### **Quel est le principe de la culture cellulaire (5)**

La culture cellulaire se fait dans des tubes contenant des fibroblastes inoculés avec la bactérie étudiée. Par la suite, on réalise une coloration de Gimenez, ou une immunofluorescence ou une détection par biologie moléculaire (PCR) en ciblant un gène universel : l'ARN 16 S ribosomal. Cette technique nécessite de travailler sous hotte à flux laminaire. L'observation se fait au microscope inverse.

### **Intérêts du diagnostic par culture cellulaire en bactériologie (5)**

La culture cellulaire permet d'isoler et d'identifier des bactéries intracellulaires strictes (ex *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* sp, *Chlamydia* sp) et des bactéries de culture fastidieuse (ex *Brucella* sp, *Francisella tularensis*). Elle permet également d'étudier leur sensibilité ou leur résistance aux antibiotiques.

### **Limites du diagnostic par culture cellulaire en bactériologie (3)**

Le délai d'obtention des résultats du diagnostic par culture cellulaire est long. C'est une technique hautement spécialisée non utilisée en routine, qui concerne des germes très pathogènes, faisant l'objet de bioterrorisme, et nécessitant un laboratoire de niveau de sécurité biologique 3.

### **Intérêts et limites du diagnostic par inoculation animale en bactériologie ?**

Le diagnostic par inoculation à l'animal n'est pas utilisé en routine, et ne concerne que les bactéries non cultivables en milieu axénique ou en culture cellulaire.

Ex: injection intratesticulaire chez le lapin de *Treponema pallidum*

### **Quelles sont les principales techniques de sérologie utilisées dans le diagnostic des maladies bactériennes (3)**

Parmi les techniques diagnostiques indirectes d'infection bactérienne, ou sérologie, on distingue l'immunofluorescence indirecte et la méthode ELISA qui servent au screening ; et la sérologie par Western Blot qui sert pour la confirmation.

### **Que signifie la présence d'IgM et d'IgG lors d'un examen sérologique (3)**

La présence d'IgM lors d'un examen sérologique signe une infection précoce, alors que la présence des IgG persiste plus longtemps dans l'organisme (infection antérieure ou vaccination).

### **Intérêts et limites du diagnostic sérologique en bactériologie (5)**

Au cours d'un diagnostic sérologique, on réalise 2 prélèvements consécutifs à 2 semaines minimum d'intervalle. On peut ainsi rechercher une élévation du taux d'anticorps et/ou une séroconversion. Cependant, cet examen manque de spécificité en raison du risque de réactions croisées entre différentes bactéries qui présentent les mêmes épitopes antigéniques.

### **Quel est le principe de la sérologie par immunofluorescence indirecte (5)**

Le principe de la sérologie par immunofluorescence indirecte repose sur la fixation des anticorps (Ac) des patients sur un épitope bactérien fixe sur une lame. L'ajout d'un second Ac, marqué à la fluorescéine, et dirige contre les immunoglobulines humaines, va se fixer sur les Ac du patient. On observera une fluorescence si le sérum du patient contient bien des Ac dirigés contre l'antigène bactérien utilisé.

### **Quel est le principe de la sérologie par ELISA (5)**

Le principe de la sérologie par ELISA repose sur la fixation des anticorps (Ac) du patient sur un épitope bactérien fixe sur un support. L'ajout d'un second Ac, marqué par une enzyme, dirige contre les immunoglobulines humaines, va se fixer sur les Ac du patient. On ajoute ensuite le substrat de l'enzyme qui entraînera une réaction colorée. Cette coloration sera visible si le sérum du patient contient bien les Ac dirigés contre l'antigène utilisé.

### **Quel est le principe de la sérologie par Western Blot (5)**

Cette technique permet de séparer les antigènes bactériens par électrophorèse selon leur poids moléculaire. Après transfert sur une feuille de nitrocellulose, on incube avec le sérum du patient. Les anticorps (Ac) du patient dirigés contre ces antigènes se fixent. L'ajout d'un second Ac, marqué par une enzyme, dirige contre les immunoglobulines humaines, se fixe sur les Ac du patient. L'ajout du substrat de l'enzyme entraîne une réaction colorée.

### **Intérêts de la sérologie Western Blot en Bactériologie (3)**

Diagnostic sérologique spécifique.

On a recours au Western Blot pour la maladie de Lyme qui est une infection due à la bactérie *Borrelia burgdorferi* où il y a une confirmation systématique du dépistage ELISA par cet examen.