

CHAPITRE I: Bactéries asporulées Gram positif

1. Micrococcaceae

1.1. Introduction

Très fréquemment isolés, particulièrement au cours des suppurations, les staphylocoques sont des germes ubiquitaires : on les trouve en effet dans l'air, les sols et les eaux et ils appartiennent à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux.

1.2. Taxonomie

Les staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae qui comprend quatre genres : *Micrococcus* (ce sont presque toujours des contaminants), *Staphylococcus*, *Stomatococcus* (comprend *Stomatococcus mucilaginosus* qui fait partie de la flore buccale) et *Planococcus* (qui comprend des bactéries du milieu marin).

Le genre *Staphylococcus* comprend une trentaine d'espèces : certaines sont des hôtes de l'homme, d'autres des animaux, d'autres sont rencontrées à la fois chez l'homme et l'animal. Les espèces les plus couramment isolées sont :

Staphylococcus aureus, le plus pathogène,

Staphylococcus epidermidis, souvent considéré comme un opportuniste,

Staphylococcus saprophyticus, responsable d'infections urinaires.

Et à une fréquence moindre, *St. haemolyticus*, *St. hominis*, *St. capitis* et *St. auricularis*.

Il faut se garder d'assimiler *St. aureus* à un pathogène obligatoire et *St. epidermidis* à un commensal certain ; l'un comme l'autre sont des hôtes normaux de la peau et des muqueuses et pouvant, de ce fait, contaminer les prélèvements mais l'un et l'autre peuvent aussi être à l'origine d'infections graves. *St. aureus* a néanmoins un potentiel pathogène plus important.

St. aureus exprime des caractères qui le différencient des autres staphylocoques : il possède notamment une coagulase. En pratique bactériologique courante ce caractère permet de faire la distinction entre *Staphylococcus aureus* d'une part et les Staphylocoques coagulase négatifs (SCN) d'autre part.

1.3. *Staphylococcus aureus*

1.3.1. Caractères bactériologiques

1.3.1.1. Morphologie

Staphylococcus aureus est, comme tous les staphylocoques, en forme de coques qui peuvent être parfaitement sphériques à Gram positif d'un diamètre d'environ 1 micromètre apparaissant en amas asymétriques (grappes), à l'examen microscopique, *Staphylococcus aureus* est immobile, non sporulé, capsulé (12 types capsulaires) mais ne présente pas de capsule visible au microscope optique.

1.3.1.2. Caractères de culture

Il se cultive facilement sur milieux ordinaires en aérobiose comme en anaérobiose en formant, sur milieux solides, des colonies lisses, luisantes et bombées, plus ou moins pigmentées en jaune or d'où l'appellation *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque "doré". En milieu liquide, il produit, dans le bouillon, un trouble homogène.

Il n'a pas d'exigences particulières. Si les conditions idéales de croissance sont une température de 37° C et un pH de 7,5, de grandes variations sont tolérées. Comme tous les *Micrococcaceae*, il se multiplie dans des milieux contenant une forte concentration de NaCl (5 à 10 g pour cent).

Il est capable de transformer de nombreux substrats, notamment les sucres, ce qui n'a guère d'intérêt pratique sauf en ce qui concerne le mannitol (un polyalcool) que *St. aureus* peut fermenter.

1.3.1.3. Équipement enzymatique

Outre ceux nécessaires aux fonctions métaboliques décrites ci-dessus, diverses enzymes peuvent être mises en évidence chez *Staphylococcus aureus* : catalase qui existe chez tous les *Micrococacceae*, coagulase, désoxyribonucléase, phosphatase, hyaluronidase, fibrinolysine, lipase et protéolysines qui caractérisent *St. aureus*.

La présence d'une coagulase identifie, en pratique courante l'espèce *aureus*. Il existe une coagulase libre et une coagulase liée. La coagulase libre est une protéine diffusible, réagissant comme la prothrombine et coagulant, en quelques heures, le plasma citraté de l'homme ou du lapin. La forme liée ou clumping factor réagit directement avec le fibrinogène, entraînant l'agglutination des staphylocoques quand on les mélange à un plasma.

L'activité de toutes ces enzymes explique, en partie, la physiopathologie de l'infection staphylococcique ; leur recherche est, par ailleurs, utile pour la classification et le typage des souches.

1.3.1.4. Autres substances élaborées

Le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles :

Hémolysines :

L'hémolysine α ou staphylolysin α est synthétisé par les *Staphylococcus aureus*. Elle est cytotoxique et cytolytique. Elle a un effet nécrotique sur la peau lié à son effet vasoconstricteur. C'est une hémolysine active surtout sur les hématies de lapin (au laboratoire, elle est constatée par l'éclatement des globules rouges et l'apparition d'une zone claire aux tours des colonies).

La staphylolysin α entraîne la production d'anticorps appelés anti-staphylolysines α (ASTA) recherchés dans le sérodiagnostic.

Il existe d'autres hémolysines, β , γ et δ dont le pouvoir toxique est incertain.

Leucocidine :

Cette toxine agit sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles et provoque leur immobilisation puis leur dégranulation et leur lyse.

Entérotoxines :

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* élaborent des toxines protéiques responsables de toxi-infections alimentaires : les entérotoxines staphylococciques, au nombre de cinq : A, B, C, D, E. C'est leur activité de superantigène qui explique les effets toxiques.

La toxine du syndrome de choc toxique :

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* élaborent une toxine pyrogène et létale : la toxine du syndrome de choc toxique ou TSST (toxic-shock syndrom toxin). Elle se comporte aussi comme un superantigène.

Exfoliatines ou épidermolysines :

Certaines souches de *Staphylococcus aureus* élaborent des toxines protéiques A ou B. Elles sont responsables de staphylococcies cutanées bulleuses dues à des lésions histologiques caractérisées par un décollement intra-épidermique donnant lieu au syndrome de la "peau ébouillantée" ou syndrome de Ritter.

1.3.2. Pouvoir antigénique

Il existe des antigènes capsulaires, de nature polysaccharidique et des antigènes pariétaux constitués par le peptidoglycane et les acides teichoïques. La plupart de ces antigènes permettent le sérotypage des souches.

Une protéine de paroi, la protéine A, à la propriété de fixer les immunoglobulines (humaines et de certains animaux) de classe G par leur fragment Fc (fraction cristallisée). Cette propriété est mise à profit, au laboratoire, dans des réactions de "co-agglutinations".

1.3.3. Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est d'abord un germe pyogène responsable de la plupart des infections suppurées de la peau et des muqueuses ; il "surinfecte" souvent les plaies négligées. Les principales staphylococcies cutanées focales sont dues à la pénétration des germes au niveau des annexes de la peau (follicules pilo-sébacés, glandes sudoripares) ou dans les muqueuses à l'occasion d'une plaie, même minime. Elles donnent lieu à des folliculites, panaris, abcès et des inflammations à des localisations variées (mammites, métrites et septicémiques chez les jeunes animaux). Plus rares sont les conjonctivites, angines, phlegmons de l'amygdale, otites ou sinusites chez l'homme.

Ces infections cutanéo-muqueuses sont parfois le point de départ de suppurations profondes ou d'infections générales.

Les infections profondes sont pleuro-pulmonaires (pneumopathies, abcès, pleurésies, pneumonies "bulleuses"), génito-urinaires (abcès rénal, phlegmon périnéphrétique), ostéo-articulaires (ostéomyélite, abcès osseux) cardiaques ou cérébro-méningées.

Staphylococcus aureus est aussi un pathogène à cause des toxines qu'il fabrique.

1.3.4. Épidémiologie

Le principal "réservoir" est la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux malades ou indemnes. C'est une affinité du germe pour l'épithélium narinaire et le pouvoir d'y adhérer durablement qui explique sa prévalence dans les narines. Le portage intestinal est assez fréquent et n'a pas beaucoup de signification pathologique.

1.3.5. Diagnostic biologique

1.3.5.1. Isolement et identification

La morphologie (cocci Gram + en amas) est très évocatrice dès l'examen microscopique.

Pour isoler *St. aureus* des prélèvements plurimicrobiens, on peut utiliser des milieux sélectifs comme le milieu de Chapman qui contient du mannitol et une forte concentration de NaCl. *Staphylococcus aureus* peut être facilement cultivé sur des milieux ordinaires.

Des épreuves enzymatiques simples (oxydase -, catalase +) permettent de reconnaître le genre ; d'autres tests définissent l'espèce (présence d'une coagulase libre ou liée).

1.3.5.2. Diagnostic sérologique

On cherche dans le sang et le lait les anticorps antitoxines α et β .

1.3.6. Traitement (résistance aux antibiotiques)

1.3.6.1. Bétalactamines

La résistance de *Staphylococcus aureus* aux bétalactamines relève de plusieurs mécanismes :

- La production, d'origine plasmidique, de bétalactamases : Les bétalactamases sont des enzymes inactivant l'antibiotique par ouverture du cycle bétalactame. La bétalactamase du staphylocoque est une pénicillinase qui induit une résistance aux pénicillines, les céphalosporines.

Cette pénicillinase staphylococcique est inactivée par des produits dénommés "inhibiteurs de bétalactamases" (acide clavulanique par exemple) qui, associés aux bétalactamines, restaurent leur efficacité.



Figure 1-1 : Ouverture du cycle bétalactame par le bétalactamase.

- La modification de la cible, d'origine chromosomique : La cible des bétalactamines est un ensemble d'enzymes de la membrane cytoplasmique nécessaires à la formation du peptidoglycane de la paroi. Les bétalactamines se fixent d'une manière irréversible à l'une ou l'autre de ces enzymes appelées, pour cette raison, "P.L.P." (Protéine Liant la Pénicilline, en anglais : "P.B.P.") En présence d'une bétalactamine, les bactéries ont de ce fait une paroi fragilisée et sont incapables de résister aux chocs osmotiques.

Les souches résistantes élaborent une "P.L.P. 2a" pour laquelle les bétalactamines n'ont pas d'affinité ou une affinité réduite. La résistance, ainsi induite, ne concerne parfois qu'une partie de la population d'une souche ; elle est, pour cette raison, dénommée "résistance hétérogène".

1.3.6.2. Aminosides

Staphylococcus aureus est normalement sensible aux aminosides mais des résistances sont fréquemment détectées surtout parmi les souches méti-R. Elles sont dues à une inactivation de l'antibiotique par diverses enzymes bactériennes.

Parmi les aminosides, la molécule la plus active est la gentamicine et toute souche résistante à cet antibiotique résiste aux autres aminosides.

1.3.6.3. Macrolides et apparentés

Les macrolides vrais (Erythromycine, Josamycine) et les lincosamines (Lincomycine, Clindamycine) sont efficaces mais on observe des résistances par modification de la cible ribosomale.

Les synergistines sont presque toujours actives et constituent d'excellents antistaphylococciques.

Tous ces produits sont utilisables comme une alternative aux bétalactamines en cas d'allergie à ces dernières.

1.3.6.4. Autres antibiotiques

Les glycopeptides sont très efficaces - il n'existe pas de souche résistante - mais doivent être réservés aux infections sévères.

1.4. Staphylocoques coagulase-négatifs

Longtemps opposés aux "staphylocoques dorés" réputés dangereux, les "staphylocoques blancs" étaient considérés comme de simples commensaux de la peau et des muqueuses car ils sont omniprésents. D'indéniables infections nosocomiales causées par ces staphylocoques "non pathogènes" ont suscité des travaux visant à les identifier et à les classer.

On les désigne sous le nom de "staphylocoques coagulase-négatifs" (SCN) car, contrairement aux *Staphylococcus aureus*, la plupart d'entre eux sont dépourvus de cette enzyme.

1.4.1. Classification et habitat

Vingt-neuf espèces de SCN sont répertoriées ; certaines sont des hôtes de l'homme, d'autres de l'animal et d'autres de l'homme et de l'animal.

Staphylococcus epidermidis domine largement en particulier sur la peau mais sur certains sites on trouve aussi d'autres espèces : *St. capitis* sur le cuir chevelu, *St. auricularis* dans le conduit auditif externe, *St. hominis* ou *haemolyticus* sur les zones sèches... Sur les muqueuses intestinales ou nasales on isole surtout *St. epidermidis* et sur la muqueuse vaginale, *St. epidermidis* et *St. saprophyticus*.

Cette répartition varie légèrement selon l'âge, les habitudes, le mode de vie et une éventuelle antibiothérapie.

1.4.2. Caractères bactériologiques

Ce sont des coques groupées en amas irréguliers, immobiles, asporulés, généralement acapsulés (de très rares souches possèdent une capsule) et ils sont gram positif.

Les SCN sont évidemment reconnus, d'une manière plus pragmatique que scientifique, par l'absence de coagulase ce qui les différencie de *Staphylococcus aureus* (quelques espèces de SCN, animal surtout, possèdent toutefois l'enzyme). De plus, la majorité d'entre eux sont incapables de fermenter le mannitol.

Leur identification plus complète repose sur des caractères bactériologiques classiques (nitratase, phosphatase, ornithine décarboxylase, fermentations sucrées...). Comme cela a déjà été signalé à propos de *St. aureus*, il importe de les distinguer des microcoques. Il existe des galeries miniaturisées spécialement conçues à cette fin (Galerie API 20 Staph).

1.4.3. Pouvoir pathogène

Leur virulence est en rapport avec leur capacité d'adhésion aux matériaux étrangers car ils élaborent une substance polysaccharidique protectrice dénommée "slime" qui facilite cette adhérence.

1.4.4. Traitement

Les SCN forment un groupe hétérogène et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques varie selon les espèces. À l'exception de *St. saprophyticus*, ils sont généralement plus résistants aux antibiotiques que *St. aureus*.

Les mécanismes de résistance aux bétalactamines sont identiques à ceux décrits pour *aureus* : production de pénicillinase et modification des PLP.

Les autres antistaphylococciques (acide Fusidique, Fosfomycine, Rifampicine) sont efficaces. Les glycopeptides sont actifs, même sur les souches polyrésistantes "méti-R".

2. Streptococcaceae

2.1. Introduction

Les infections streptococciques, si diverses dans leurs manifestations cliniques, sont parmi les plus fréquentes et les plus sévères des infections bactériennes.

2.2. Taxonomie

FAMILLE : Streptococcaceae (Comprend plusieurs genres)

Genre : *Streptococcus*

Genre : *Enterococcus*

Genre : *Aerococcus*...

Les bactéries des genres *Streptococcus* et *Enterococcus* sont des cocci à Gram positif, catalase négative, à métabolisme anaérobiose. Le genre *streptococcus* rassemble les *streptocoques* sensu stricto et le *pneumocoque*. Le genre *enterococcus* regroupe les streptocoques du groupe D, sauf *Streptococcus bovis*.

2.3. Historique

En 1879, Pasteur décrit dans le pus d'un abcès chaud des micro-organismes en chapelet de grains. Rosenbach leur donne, en 1884, le nom de streptocoques.

En 1928, Lancefield propose la classification antigénique qui porte son nom et qui remplace les classifications précédentes basées uniquement sur les propriétés hémolytiques. De nombreuses espèces du genre *Streptococcus* possèdent des antigènes spécifiques situés dans la paroi et appelés composants C. Ce sont soit des polysaccharides soit des acides téchoïques et ils permettent de définir des groupes sérologiques. La classification de Lancefield en distingue 17 désignés par des lettres majuscules de A à H, de K à M et de O à T. Certains streptocoques qui ne possèdent pas d'antigène permettant de les classer selon la méthode de Lancefield sont dits « non groupables ». En 1936, l'avènement des sulfamides entraîne une baisse de la mortalité par fièvre puerpérale, complication post-partum souvent causée par les streptocoques.

2.4. Classification et habitat

La classification des streptocoques est basée sur les critères bactériologiques, ces derniers ont pour base les données de la taxonomie moléculaire et trois caractères phénotypiques (Tableau 1-1).

Les streptocoques regroupent de nombreuses espèces. Certaines sont des parasites (streptocoques des groupes A, C et G de Lancefield), d'autres des commensaux de la muqueuse buccale (streptocoques du groupe B et streptocoques non groupables et non hémolytiques) ou de la muqueuse génitale (groupe B) ou de l'intestin (anciens streptocoques du groupe D ou entérocoques considérés maintenant comme faisant partie d'un genre à part, le genre *Enterococcus*). D'autres encore sont des commensaux des animaux ou des saprophytes.

Tableau 1-1 : Classification des streptocoques humain et animal sérologiquement groupales selon Lancefield.

Groupes	Espèces	Hémolyse	Habitat et pouvoir pathogène
A	<i>S. pyogenes</i>	β	Homme: rhinopharynx, peau, intestin
B	<i>S. agalactiae</i>	β	Bovidés (mammites cliniques) Homme : intestin, voies génitales, rhinopharynx
C	<i>S. equissimilis</i> <i>S. zooepidemicus</i> <i>S. equi</i> <i>S. dysgalactiae</i>	β β β α	Homme: rhinopharynx, peau Divers animaux Cheval: Agent de la gourme Vache
D	<i>S. faecalis</i> <i>S. faecium</i> <i>S. durans</i> <i>S. avium</i> <i>S. bovi</i> <i>S. equiinus</i>	β ou NH NH β ou NH α ou NH NH α ou NH	Homme : intestin, voies génitales Volailles et autres animaux Vache, Homme Oiseaux
E	<i>S. uberis</i>	β	Vache
F	<i>S. anginosus</i>	β	Homme : rhino-pharynx, intestins

2.5. Caractères bactériologiques

2.5.1. Morphologie

Microscope : Les streptocoques sont des cocci de taille et de forme irrégulières, à Gram positif, groupés en chaînettes plus ou moins longues et flexueuses, immobiles, généralement capsulés (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus suis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus uberis*), asporulés.

Culture : Les streptocoques sont des germes exigeants qui ne poussent donc pas sur les milieux de culture ordinaires (dans les milieux glucosés, les streptocoques ne survivent pas, seuls les milieux glucosés tamponnées sont utilisés)¹. Ceux-ci doivent être additionnés de sérum ou de sang frais. La température de croissance est comprise entre 20 et 44°C avec un optimum entre 35-37°C.

En bouillon : Les streptocoques poussent en donnant des flocons et un dépôt au fond du tube dû aux longues chaînettes et évoquant de la mie de pain.

Sur gélose au sang : Ils donnent de petites colonies grisâtres, translucides, en grain de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse bêta) pour les streptocoques des groupes A, C, G, tandis que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse alpha) ou pas d'hémolyse du tout. Les souches non hémolytiques donnent des colonies très muqueuses, apparaissant comme des gouttes limpides de mucus.

2.5.2. Caractères biochimiques

Les streptocoques sont des bactéries à métabolisme anaérobiose mais aérobiose tolérants (tolère l'O₂ grâce à un système enzymatique). Ils n'ont pas de catalase (enzyme respiratoire), à l'inverse des staphylocoques.

2.5.3. Structure antigénique

La présence, dans la paroi des streptocoques, d'un composant C spécifique a permis à Lancefield la classification en groupes antigéniques. Chez le streptocoque du groupe A de Lancefield, la protéine M est le principal antigène de la paroi. C'est le facteur majeur de la virulence, par résistance à la phagocytose. La protéine R, présente à la surface de *Streptococcus agalactiae* sous forme de filaments joue un rôle dans la virulence en favorisant la colonisation des épithéliums par un mécanisme différent de l'adhésion.

2.5.4. Substances élaborées par *Streptococcus pyogenes* (A, C et G)

La toxine érythrogène est une exo-enzyme (lysogènes). Elle n'est sécrétée que par les streptocoques des groupes A, C ou G. Les souches de streptocoques responsables de chocs toxiques et de défaillances viscérales multiples produisent une toxine très proche de la toxine érythrogène et appelée Spe (Streptococcal pyogenic exotoxin). Le mode d'action de ces deux toxines est proche de celle de TSST², de *S. aureus* (superantigène, cf. *S. aureus*).

De nombreuses enzymes non toxiques sont sécrétées par les streptocoques :

Les hémolysines O et S sont appelées streptolysines. Elles sont antigéniques et donnent lieu à la formation par l'hôte infecté d'antistreptolysines.

La streptokinase (fibrinolysine), la streptodornase (qui lyse les acides nucléiques) sont également antigéniques. Elles peuvent être dosées au cours des infections à streptocoques. La streptokinase est utilisée dans le traitement médical des embolies (transformation du plasminogène en plasmine). La hyaluronidase est comme celle du staphylocoque un facteur de diffusion du germe et de ses enzymes dans l'organisme (infections cutanées).

Une protéase (A) contribuant à l'échappement à la phagocytose.

Les streptocoques sont, après les staphylocoques, les bactéries pyogènes n° 2. Le plus pathogène d'entre eux est le streptocoque bêta-hémolytique du groupe A de Lancefield, appelé *Streptococcus pyogenes*, qui est responsable de la majorité des affections provoquées par les streptocoques. Les réactions immunologiques de l'hôte infecté par *S. pyogenes* sont beaucoup plus complexes que celles qui s'observent lorsqu'il est infecté par *S. aureus* et peuvent conduire à la formation d'anticorps spécifiques à un taux élevé et d'auto-anticorps.

2.6. Pouvoir pathogène

2.6.1. Maladies provoquées par les streptocoques des groupes A, C et G

Les streptocoques des groupes A, C, G qui sont bêta-hémolytiques (large zone d'hémolyse franche autour des colonies cultivées sur gélose au sang frais), ont un pouvoir pathogène similaire. Ils sont responsables des affections suivantes :

Affections des voies respiratoires supérieures

D'autres infections aiguës : cutanées, muqueuses, septicémiques ou mammaires.

Les bactériémies sont souvent secondaires à une infection locale. C'est le cas de la fièvre puerpérale qui fait suite à une infection génitale du post-partum. Il faut citer aussi les *endocardites aiguës, les méningites*

Des syndromes de choc toxique avec défaillance viscérale multiple, identique à celui observé parfois avec *S. aureus* (cf. Staphylocoques), d'où son nom de TSLS (*Toxic shock like syndrome*).

Des affections auto-immunes, conséquences d'infections à streptocoque A. C'est le cas du rhumatisme articulaire aigu (R.A.A.), de la néphrite post-streptococcique.

2.6.2. Maladies provoquées par les autres streptocoques

Il peut s'agir d'infections aiguës : génitales, qui peuvent se compliquer de fièvre puerpérée, provoquées par les streptocoques du groupe B, néonatales sévères : septicémies, méningite due au streptocoque du groupe B. De diverses localisations (abcès du cerveau, cholécystites, etc). Il peut s'agir d'infections subaiguës dont la plus classique et la plus grave est l'endocardite due à un streptocoque non groupable comme *S. sanguis* ou *S. mitis*, d'un streptocoque du groupe D (*S. bovis*), d'origine intestinale (notamment en cas de cancer colique), ou d'un entérocoque.

2.7. Diagnostic

Le diagnostic de l'infection streptococcique peut se faire par la méthode directe (mise en évidence du germe) et par la méthode indirecte (dosage des anticorps).

2.7.1. Diagnostic direct

Après prélèvement aseptique fait avant le début du traitement antibiotique, l'examen microscopique recherche la présence de cocci à Gram positif, de taille irrégulière, groupés en chaînettes. La culture est faite sur des milieux enrichis type gélose au sang. L'origine du prélèvement et la nature de l'hémolyse sur gélose au sang orientent le diagnostic.

Si le prélèvement provient d'une cavité close (pus d'abcès, liquides d'épanchement, L.C.R., urines) ou s'il s'agit d'une hémoculture, tous les streptocoques isolés peuvent être pathogènes même s'ils ne sont pas bêta-hémolytiques.

S'il s'agit au contraire d'un prélèvement provenant d'une cavité ouverte, seuls les streptocoques bêta-hémolytiques doivent être pris en considération. En plus il faut vérifier qu'ils appartiennent bien au groupes A, C ou G car certains streptocoques commensaux (B ou D) peuvent être bêta-hémolytiques.

En cas de méningite néonatale, l'agglutination de particules de latex portant des anticorps antistreptocoques B permet parfois d'identifier la présence d'antigène dans le LCR.

L'antibiogramme, notamment l'étude de la sensibilité à la pénicilline et à l'érythromycine, viendra toujours compléter le diagnostic direct.

2.7.2. Diagnostic indirect

Il repose sur le dosage dans le sérum (sérodiagnostic) des anticorps contre les enzymes du streptocoque.

2.8. Traitement

Les streptocoques des groupes A, C et G sont extrêmement sensibles à la pénicilline et à l'érythromycine qui sont donc les antibiotiques à choisir pour le traitement des infections qu'ils provoquent. Les autres streptocoques, notamment les streptocoques non groupables et *Streptococcus bovis*, sont de sensibilité intermédiaire ou résistance à la pénicilline. Ils posent par conséquent des problèmes thérapeutiques et obligent souvent à associer de fortes doses de pénicilline à un aminoside (par exemple la gentamicine).

3. Listeria

3.1. Introduction

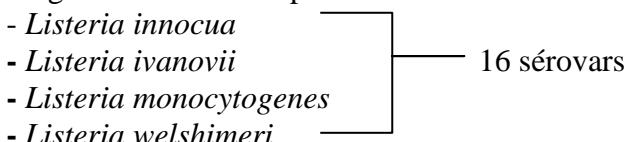
Le genre *Listeria* est constitué de bactéries largement répandues dans le milieu extérieur. Il compte actuellement six espèces dont deux, *Listeria ivanovii* et, surtout, *Listeria monocytogenes* sont responsables d'infections chez l'homme et/ou l'animal. Durant de nombreuses années, les listérioses étaient principalement considérées comme des maladies des animaux même si des cas sporadiques et parfois dramatiques étaient décrits chez l'homme.

3.2. Historique

Dans les années 1979/1980, *Listeria monocytogenes* (espèce type) a été identifiée comme une des bactéries responsables d'infections d'origine alimentaire et, depuis cette époque, les *Listeria sp.* ont suscité de nombreuses inquiétudes chez les consommateurs. Pourtant, l'incidence des infections alimentaires collectives dues à *Listeria monocytogenes* est faible, comparée à l'incidence des infections dues aux salmonelles, aux campylobactéries ou aux *Escherichia coli*.

3.3. Classification

Le genre *Listeria* comporte :

- *Listeria innocua*
 - *Listeria ivanovii*
 - *Listeria monocytogenes*
 - *Listeria welshimeri*
 - *Listeria seeligeri*
 - *Listeria grayi* (comprend *listeria grayi* et *listeria murrayi*)
- 

3.4. Habitat

Les *Listeria* sont des germes ubiquitaires. Les *Listeria sp.* sont des bactéries résistantes dans le milieu extérieur. Elles sont présentes dans les fèces de nombreuses espèces animales. Bien que les *Listeria sp.* et *Listeria monocytogenes* soient des bactéries ubiquistes, la plupart des cas de contamination résultent de l'ingestion d'aliments fortement contaminés.

Éléments d'épidémiologie concernant les listérioses animales :

Lorsque l'ensilage est mal conservé et/ou mal préparé (notamment un tassemement insuffisant), l'acidification à cœur est insuffisante (pH supérieur ou égal à 5) et l'anaérobiose n'est pas totale ce qui permet une prolifération des *Listeria sp.*

Les ensilages ne sont pas seuls en cause et la pratique de l'enrubannage est également impliquée. Dans un enrubannage (balle d'herbe semi-séchée et enveloppée sous plastique), la conservation est assurée par l'action conjointe de la fermentation et de la dessiccation. Le pH d'un enrubannage (de l'ordre de 5,5 à 6) et le taux d'humidité (de l'ordre de 40 p. cent) autorisent la croissance de *Listeria monocytogenes*.

3.5. Caractères bactériologiques

L. monocytogenes est un bacille à Gram positif, non capsulé, non sporulé, mesurant 1-4 μM / 0,5 μM , en chaînes courtes ou petits amas, aéro-anaérobies facultatives mais cultivant mieux en aérobiose et mobiles lorsqu'elles sont cultivées à 20 - 28 °C, immobile à 37°C. La ciliature est de type péritrice avec un nombre de flagelles compris entre 1 et 5 et la mobilité est caractéristique car la bactérie semble tourner sur elle-même. En gélose mobilité ou molle (ensemencement par une strie ou une piqûre centrale) incubée à 25 °C, la mobilité se traduit

par une image typique en sapin renversé (en parapluie) traduisant, outre la mobilité, le caractère aérobiose préférentiel des *Listeria* sp.

Les bactéries cultivent facilement sur milieux ordinaires (GN, la culture est stimulée par l'addition de glucose à la concentration de 0,2 à 1 p. cent et, sur de tels milieux, les cultures dégagent une odeur de beurre rance.), entre 4° C et 45° C (optimum 30-37°C), le pH optimal est un pH de 7. Les *Listeria* sp. présentent une certaine halotolérance et toutes les souches cultivent en présence de 10 p. cent de NaCl et donnent des colonies 1-2mm, lisse, transparentes, à bords réguliers, irisées, β-hémolytiques sur gélose au sang cheval 5% (les colonies de *Listeria ivanovii* et en moindre importance de *Listeria monocytogenes* et de *Listeria seeligeri*). Ces colonies sont catalase +, oxydase - et produisent une lécithinase. C'est une bactérie aéro-anaérobiose, fermentant le glucose et l'esculine sans gaz. Les caractères fermentaires des sucres permettent de distinguer les espèces du genre *Listeria*.

3.6. Caractères antigéniques

La présence de 15 antigènes somatiques (antigènes O) et de 5 antigènes flagellaires (antigènes H) permet de reconnaître au moins 17 sérovars au sein du genre *Listeria*.

3.7. Pouvoir pathogène

Chez les ruminants, les deux espèces les plus fréquentes sont *Listeria monocytogenes* et *Listeria ivanovii*. Chez les autres espèces animales et chez l'homme seule *Listeria monocytogenes* est vraiment importante.

Quelques infections, dues aux autres espèces du genre *Listeria* ont été décrites : *Listeria innocua* (méningo-encéphalites du mouton), *Listeria ivanovii* (bactériémies chez l'homme), *Listeria seeligeri* (méningite purulente).

En médecine vétérinaire, les infections à *Listeria* sp. sont particulièrement importantes chez les ruminants.

3.7.1. Listérose animale

Les mammifères font une maladie proche de la forme humaine, avec méningoencéphalites ("circling disease"). Les ruminants présentent des encéphalites sans méningite (mouton, chèvre, bétail), des mammites chroniques parfois asymptomatiques qui sont à l'origine de contamination du lait et des formes génitales avec avortement. Les septicémies sont principalement observées chez les animaux nouveau-nés et chez les jeunes mais, elles ont également été observées chez des brebis gravides.

Chez les monogastriques, les listéroses sont rares mais des septicémies et des méningo-encéphalites ont été décrites chez plusieurs espèces (chiens, chats, porcelets, poulains et les oiseaux).

3.7.2. Facteurs de pathogénicité

La pathogénie de *Listeria monocytogenes* implique la pénétration dans des cellules phagocytaires et non phagocytaires, une multiplication intracellulaire, un déplacement de la bactérie dans le cytoplasme et une invasion des cellules adjacentes sans libération par les cellules infectées.

Les protéines nécessaires à ces diverses fonctions sont sous la dépendance de gènes dont l'expression est régulée par le gène *inlA* codant pour une protéine (InlA) et Le gène *inlB* code pour la protéine InlB. A basse température, l'expression de *inlA* est réprimée alors qu'elle est maximale à 37 °C. En conséquence, la production des facteurs de virulence est elle-même maximale à 37 °C et faible ou nulle à basse température. *Listeria monocytogenes* est une bactérie capable d'induire sa propre phagocytose dans des cellules phagocytaires et non phagocytaires. Plusieurs protéines de surface sont impliquées dans ce phénomène :

l'internaline A est une protéine nécessaire à l'entrée dans des cellules intestinales animales, la protéine InlB (internaline B) est une protéine de surface qui joue un rôle mineur pour l'entrée dans les cellules épithéliales de l'intestin mais qui est essentielle pour l'invasion des hépatocytes en culture ainsi que pour l'invasion d'autres cellules comme les cellules HeLa.

Après pénétration, *Listeria monocytogenes* est emprisonnée dans une vacuole intracytoplasmique dont elle va s'échapper pour se multiplier dans le cytosol. La destruction de la vacuole est principalement due à la listériolysine O codée par le gène appelé *hlyA*. La listériolysine O est une hémolysine thiol dépendante. Comme toutes les hémolysines thiol dépendantes, elle n'est active que sur les membranes contenant du cholestérol. La listériolysine O possède une activité maximale à pH 5 et elle est inactive à pH 7. Cette propriété expliquerait que cette toxine puisse lyser la vacuole intracytoplasmique (dont le pH est acide) sans altérer la membrane cytoplasmique des cellules.

Le mouvement intracellulaire de *Listeria monocytogenes* s'effectue grâce à la formation d'une queue d'actine filamenteuse associée à un pôle bactérien.

La formation de la queue d'actine est sous la dépendance du gène *actA* qui code pour la protéine ActA. Les mutants incapables de synthétiser ActA sont invasifs, aptes à lyser les vacuoles mais, ils ne se déplacent pas, n'envahissent pas les cellules adjacentes.

La lyse de la double membrane de la vacuole nécessite une phospholipase C codée par le gène *plcB*.

3.8. Diagnostic

3.8.1. Diagnostic bactériologique

Prélèvement : le prélèvement (tissu nerveux et notamment la protubérance bulbaire, foie, avorton entier, liquide stomacal de l'avorton, méconium, placenta, utérus, liquide céphalo-rachidien, lait, éventuellement écouvillonnage naso-pharyngien).

Examen microscopique, isolement et identification en culture : l'identification au genre *Listeria* repose sur les caractères morphologiques, sur la recherche de la catalase, sur la mobilité à 25 °C (étudiée en ensemençant deux bouillons nutritifs incubés pendant environ 4 heures, l'un à 25 °C et l'autre à 37 °C ou étudiée en gélose mobilité ce qui permet d'observer l'image caractéristique en sapin renversé), sur l'hydrolyse de l'esculine (hydrolyse rapide observée en 2 à 3 heures), sur l'acidification du D-glucose, sur une réponse positive aux tests RM et VP et sur l'absence de production d'H₂S.

Le diagnostic de l'espèce peut être réalisé en utilisant des galeries miniaturisées comme la galerie API Listeria qui permet la recherche de 10 caractères.

3.8.2. Diagnostic sérologique

Le diagnostic sérologique par agglutination, fixation du complément ou immunoprécipitation est peu sensible et peu spécifique. La détection des anticorps anti-listériolysine O est plus prometteuse.

3.9. Traitement

In vitro, *Listeria monocytogenes* et les autres *Listeria* sont généralement sensibles à de nombreux antibiotiques (pénicillines (G), aux aminoglycosides (gentamicine), tétracyclines).

Une résistance naturelle est notée vis-à-vis des céphalosporines de 3^{ème} génération.

La résistance à la tétracycline est la résistance acquise la plus fréquemment observée chez *Listeria monocytogenes*.

3.10. Prévention

La listériose nécessite une grande vigilance de la part des vétérinaires.

4. Erysipelothrix rhusiopathiae

La famille des Erysipelotrichaceae comprend les genres *Bulleidia*, *Erysipelothrix*, *Holdemania* et *Solobacterium*.

Le genre *Erysipelothrix* comprend trois espèces, une espèce type appelée *E. rhusiopathiae* et deux autres espèces à pouvoir pathogène minimal : *E. inopinata* et *E. tonsillarum* (rôle pathogène suspecté pour le chien).

4.1. Définition

Erysipelothrix rhusiopathiae est un fin bacille à gram positif, acapsulé, asporulé, immobile, ayant tendance à former de longs filaments. *Erysipelothrix rhusiopathiae* est très répondu dans la nature ; ce bacille est pathogène pour l'homme et pour de nombreuses espèces de mammifères, des oiseaux, des poissons et d'autres animaux aquatiques. Anciennement appelée : bacille du rouget.

4.2. Caractères bactériologiques

Les espèces du genre *Erysipelothrix* sont des bacilles à Gram positif, droits ou légèrement incurvés, ayant tendance à former de longs filaments pouvant atteindre ou dépasser 60 mm de longueur, non sporulés, immobiles. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives.

Classiquement, ces bactéries sont considérées comme non capsulées mais des observations en microscopie électronique révèlent la présence d'une couche superficielle évoquant une capsule et dont l'épaisseur et/ou la structure sont impliquées dans la morphologie des colonies et dans l'intensité du pouvoir pathogène.

Catalase et oxydase négatives, acidifiant sans gaz le glucose ou d'autres sucres.

La croissance est possible entre 5 et 42 °C avec un optimum thermique compris entre 30 et 37 °C. Elle est favorisée par un pH légèrement alcalin et par la présence de glucose.

Les *Erysipelothrix* sp. sont dépourvues d'hémolyse bêta mais sur gélose au sang, les colonies peuvent s'entourer d'une zone d'hémolyse alpha parfois très marquée et pouvant mimer une hémolyse bêta lors d'un examen superficiel.

Sur un milieu à base de gélatine coulé en tube, ensemencé avec une strie centrale et incubé à 22 °C, la croissance se traduit par un aspect en "brosse à bouteille".

4.3. Habitat et pouvoir pathogène

4.3.1. Habitat

Le principal réservoir de *Erysipelothrix rhusiopathiae* est constitué par le porc et 30 à 50 p. cent des animaux sains semblent héberger cette bactérie dans les amygdales ou dans les nœuds lymphatiques ou au niveau de la valvule iléo-caecale. Ces porteurs sains excrètent le germe dans leurs fèces, dans leurs sécrétions orales et dans leurs sécrétions nasales. Cette excrétion conduit à une contamination du milieu environnant.

D'autres espèces animales constituent également un réservoir (rongeurs, oiseaux, reptiles, poissons, crustacés, coquillages et arthropodes). Les bovins sains (amygdales) sont également une source potentielle de contamination pour les animaux et l'homme.

Le rôle du sol en tant que réservoir est encore controversé mais, il semble que la bactérie ne puisse pas s'y multiplier.

4.3.2. Résistance

Erysipelothrix rhusiopathiae fait preuve d'une résistance importante pour une bactérie non sporulée. Elle résiste plusieurs semaines dans l'eau et dans le sol (la survie, plus longue à pH basique et à basse température, n'excède cependant pas 35 jours), plusieurs années dans du fumier de porc, plusieurs mois dans des matières organiques en putréfaction, 9 mois dans les cadavres, 6 mois dans les salaisons. Elle est cependant sensible à tous les désinfectants usuels et détruite par un chauffage de 15 minutes à 55 °C.

4.3.3. Pouvoir pathogène

Certaines souches sont pathogènes pour les mammifères (notamment les porcs et les ovins mais aussi les caprins, les bovins, les équins, les chiens, les visons, les cervidés, les rongeurs, les kangourous, les baleines, les dauphins...) et les oiseaux.

Les principales voies de contamination sont les voies digestive ou cutanée (plaies, lésions minimes). Les farines de poisson ont été mises en cause comme source de contamination des porcs et des oiseaux. L'infection peut également être transmise par des insectes piqueurs et par des tiques.

Chez les ovins : le rouget se traduit principalement par des arthrites et polyarthrites observées chez les agneaux et évoluant souvent vers une ankylose. Les septicémies, les endocardites, les infections cutanées ou les avortements sont possibles mais rares. Un cas de pneumonie a également été décrit chez une brebis. La maladie succède volontiers à une castration, à une caudectomie ou à la tonte.

Chez les volailles : l'infection se traduit par une septicémie entraînant la mort en 24 à 48 h (taux de mortalité de 20 à 50 %).

Chez les autres espèces animales : le rouget provoque des endocardites, des arthrites, des septicémies et chez les mammifères marins des abcès sous-cutanés.

Chez l'homme : il se contamine essentiellement par une inoculation accidentelle. Le rouget humain est donc principalement une zoonose professionnelle.

4.4. Facteurs de pathogénicité (Ils sont encore mal connus)

In vitro, les souches virulentes sont plus adhérentes que les souches avirulentes et cette adhésion est liée à des protéines de surface et notamment aux protéines SpaA (surface protective antigen), RspA (rhusiopathiae surface protein) et RspB.

Erysipelothrix rhusiopathiae est une bactérie intracellulaire facultative et elle ne produit pas de toxine mais elle excrète une hyaluronidase et une neuraminidase.

L'hyaluronidase : l'importance de cette enzyme est controversée (les souches faiblement productrices sont aussi pathogènes que les souches fortement productrices et il en va de même pour des mutants incapables de synthétiser cette enzyme).

La neuraminidase : semble être impliquée dans l'adhésion aux cellules endothéliales.

Les arthrites pourraient résulter de l'activation des macrophages par les lymphocytes T. Les macrophages activés libèrent du TNF-a et de l'IL-1 qui induiraient des phénomènes inflammatoires dont des arthrites.

4.5. Diagnostic

4.5.1. Diagnostic bactériologique

Prélèvement : Chez l'animal mort, les prélèvements sont constitués par les tissus lésés, le foie, les reins et la rate. Chez l'animal vivant, on prélèvera du sang en cas de septicémie ou du liquide synovial en cas d'arthrite.

Isolement : peut se réaliser sur gélose trypticase-soja au sang de mouton, sur gélose Columbia ou sur gélose cœur-cervelle enrichies au sang de cheval. Les boîtes sont incubées à 37 °C dans une atmosphère enrichie en 5 à 10 p. cent de dioxyde de carbone.

En 24 heures, on observe des colonies punctiformes qui après 2 jours d'incubation s'entourent d'une zone de décoloration verdâtre. Ultérieurement, la culture devient diphasique avec présence de colonies de type S (Smooth) et R (Rough). À l'isolement, certaines souches ne cultivent que dans un bouillon comme un bouillon au thioglycolate.

Caractères morphologiques : immobilité, absence de catalase, absence d'hémolyse bêta, présence d'une coagulase, production d'hydrogène sulfuré, absence de pouvoir indologène. Les galeries miniaturisées, comme la galerie API Coryne, la galerie API 32 Strep permettent une bonne identification des souches.

4.5.2. Diagnostic sérologique

Le diagnostic sérologique par des techniques d'agglutination, d'hémagglutination passive, de fixation du complément, d'immunofluorescence ou d'immuno-enzymologie est possible mais il est peu utilisé en pratique.

4.5.3. Diagnostic différentiel

Doit être fait avec d'autres bactéries à Gram positif : Les espèces des genres *Listeria*, sont catalase positive. De plus, les *Listeria sp.* ne coagulent pas le plasma de lapin citraté, elles sont mobiles à 20 °C, esculine positive et sensible à la néomycine. Les souches donnant de petites colonies, se présentant sous la forme de coccobacilles, résistantes à la vancomycine et pyrrolidonyl-arylamidase positive peuvent évoquer une espèce du genre *Enterococcus*.

4.5.4. D'autres techniques de diagnostic peuvent être mises en œuvre

L'immunofluorescence (sensibilité et spécificité insuffisantes). Le test de protection de la souris (confirmer l'identification). Plus récemment, des techniques de PCR ont été mises au point et elles semblent rapides, sensibles et spécifiques.

4.6. Traitement

Les espèces du genre *Erysipelothrix* sont sensibles aux pénicillines et notamment à la pénicilline G qui constitue l'antibiotique de choix pour un traitement, aux céphalosporines, à l'érythromycine. La sensibilité est variable vis-à-vis du chloramphénicol et des tétracyclines. Une résistance est généralement observée pour les aminosides, les polymyxines, l'acide nalidixique, la fluméquine, la novobiocine, la vancomycine et les sulfamides et leurs associations.

4.7. Prophylaxie

- Repose sur l'utilisation de sérum ou de vaccins.
- La manipulation de prélèvements contaminés ou de cultures devra s'effectuer avec précautions (port de gants, manipulation sous postes de sécurité microbiologiques...).