

UE9 : Agents infectieux

Vendredi 29/03/2013 à 15h30

RT : LAURENT Valentin

RL : Ludovic

**UE9 ED N°2 : Diagnostic bactériologique des
infections ORL (les streptocoques),
Endocardites et hémocultures**

PLAN

1ère partie : Flore oropharyngée, infections Oto-rhino-laryngologiques (ORL) et streptocoques

- 1/ Les streptocoques
- 2/Sérogroupe de Lancefield : structure des streptocoques
- 3/Epidémiologie bactérienne des Otites Moyennes Aiguës (OMA)
- 4/Analyse d'un pus ORL – J1
- 5/Analyse d'un pus ORL – J2
- 6/Pneumocoque : mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par méthode E-test
- 7/Traitement des OMA
- 8/Etiologie des angines
- 9/Test de diagnostic rapide (TDR) du streptocoque de groupe A (SGA)
- 10/Examen bactériologique d'un écouvillon d'amygdale
- 11/Famille des Streptococcaceae
- 12/Facteurs de virulence du streptocoque β -hémolytique du groupe A (*Streptococcus pyogenes*)
- 13/Maladies poststreptococciques

2ème partie : Bactériémies en endocardites.

- 1/Bactériémie et sepsis, définitions
- 2/Origine des infections bactériémiques.
- 3/Hémoculture : prélèvement
- 4/ Hémoculture : analyse
- 5/Interprétation d'une hémoculture positive
- 6/Endocardites bactériennes
- 7/Endocardite : physiopathologie
- 8/Épidémiologie bactérienne des endocardites
- 9/Diagnostic microbiologique d'une endocardite

- A retenir-

1ère partie : Flore oropharyngée, infections Oto-rhino-laryngologiques (ORL) et streptocoques

- La flore oropharyngée

C'est la plus diverse de l'organisme, on y retrouve les genres principaux que sont Streptococcus et Neisseria, ainsi que Staphylococcus (non responsables d'infections ORL), Corynebacterium (causes de diphtérie), Haemophilus, Actinomyces et Fusobacterium.

Certaines espèces sont dites pathogènes occasionnelles : le pneumocoque, méningocoque, Staphylococcus aureus et streptocoques β -hémolytiques. Ces espèces sont caractérisées par un portage sain transitoire.

1/ Les streptocoques

Ce sont des cocci Gram+ en chaînettes ou diplocoques. En culture, ils ne poussent bien que sur le sang.

On distingue les streptocoques α -hémolytiques de ceux β -hémolytiques.

L' α -hémolyse est plus sombre en culture, c'est une hémolyse incomplète et concerne par exemple les streptocoques α H commensaux et les pneumocoques (responsables de pneumonies, otites et méningites).

La β -hémolyse est plus claire en culture, celle-ci est totale et concerne des espèces plus pathogènes comme le streptocoque du groupe A (responsable de dermo hypodermite) et le streptocoque du groupe B (responsable d'infections néonatales).

2/Sérogroupe de Lancefield : structure des streptocoques

Les streptocoques β -hémolytiques possèdent une couche de polysaccharides C sous leur capsule, il s'agit d'antigènes polysaccharidiques que l'on utilise pour classer les streptocoques β -hémolytiques, ce qui est à la base des sérogroupe de Lancefield (streptocoques du groupe A, streptocoques du groupe B et ainsi de suite jusqu'au groupe V).

Le prof précise que cette technique d'identification des streptocoques disparaît peu à peu au profit de la spectrométrie de masse.

[Cas de Laslo]

Laslo, 2 ans, amené chez le pédiatre pour fièvre et pleurs, il porte également la main à son oreille. A l'examen otoscopique le pédiatre trouve un tympan bombé avec une collection qui a l'air purulente... Il pose le diagnostic d'otite moyenne aiguë purulente (OMA).

3/Epidémiologie bactérienne des Otites Moyennes Aiguës (OMA)

A la base une infection virale cause une inflammation de l'oreille moyenne, puis l'aspiration de germes de la flore oropharyngée cause une surinfection avec des bactéries virulentes dans 2 tiers des cas, c'est ainsi qu'on obtient une OMA.

Les bactéries en question sont :

- Haemophilus Influenzae (bacille Gram-) dont 10 à 30% étant pénicillinase + : 40% des cas
- Streptococcus pneumoniae, n'ont pas de pénicillinase : 30% des cas
- Morexella catarrhalis, dont 90% étant pénicillinase + : 7% des cas

[Laslo]

Laslo est traité par amoxicilline + acide clavulanique (càd l'Augmentin).

Il est cependant toujours fébrile 2 jours après la fin du traitement, en effet l'abcès n'a pas été drainé. Laslo est donc envoyé chez un médecin ORL qui pratique une paracentèse (*incision du tympan après nettoyage du conduit auditif et prélèvement du pus, réalisée après échec de l'antibiothérapie probabiliste*)

On réalise alors l'analyse bactériologique de ce pus.

4/Analyse d'un pus ORL – J1

Avec le prélèvement on réalise :

- D'une part un frottis auquel on applique la coloration de Gram afin de faire l'examen direct au microscope.
- D'autre part on fait un ensemencement sur milieux riches : la gélose au sang (incubation à 37°C en anaérobiose) et la gélose au sang hémolysé = « gélose chocolat » avec des vitamines (incubation à 37°C en atmosphère enrichie à 5% de CO₂)

5/ Analyse d'un pus ORL – J2

On obtient le résultat des cultures, il s'agit alors d'identifier nos bactéries.

Cette étape nécessite différentes techniques en fonction de la bactérie, par exemple pour *Haemophilus Influenzae* sa culture se fait uniquement sur gélose chocolat, hors elle a besoin d'hémine et de NAD pour pousser alors que les autres hémophiles n'ont besoin que de NAD.

*Ici le prof précise que la spectrométrie de masse est aussi capable de différencier l'*Influenzae* des autres hémophiles, seulement il estime important que l'on connaisse les "trucs" utilisés pour reconnaître certaines bactéries.*

Une fois que l'on a identifié notre *Haemophilus Influenzae* on réalise un antibiogramme pour savoir si elle porte une pénicillinase.

Dans le cas de *Streptococcus Pneumoniae* (pneumocoque), la spectrométrie de masse ne fonctionne pas car il incorpore des gènes d'autres bactéries, on a donc notre culture (possible sur les 2 milieux enrichis) qui présente une hémolyse α , sur cette culture on met en évidence le pneumocoque en posant un disque d'optochine sur la culture, ce qui révèle la sensibilité du pneumocoque à l'optochine.

On réalise ensuite un antibiogramme et fait la mesure des CMI aux β -lactamines.

6/Pneumocoque : mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par méthode E-test

Le pneumocoque réalise des échanges de PLP (protéine liant la pénicilline) de moindre affinité avec les β -lactamines avec d'autres bactéries, ce qui engendre une résistance du pneumocoque à ces antibiotiques. C'est pourquoi on applique la bandelette du E-test à une culture de pneumocoque, ce qui nous indique la CMI du pneumocoque en question, par exemple :

CMI < 0,1 mg/L = pneumocoque sensible à la pénicilline

CMI = 0,5 mg/L = pneumocoque de sensibilité diminuée aux pénicillines

7/Traitement des OMA

H. Influenzae, *M. catarrhalis* : ils ont une pénicillinase, on utilise donc soit l'Augmentin (l'acide clavulanique neutralise la pénicillinase), soit une céphalosporine orale.

S. Pneumoniae : les PLP qu'ils acquièrent créent des résistances, on augmente donc les doses d'amoxicilline.

La sensibilité du pneumocoque aux pénicillines est diminuée en France parce qu'on donne trop d'antibiotiques.

[Laslo]

Laslo a maintenant 6 ans, il est amené chez le généraliste pour fièvre et dysphagie. A l'examen de gorge, on trouve une angine érythémato-pultacée, la question qui se pose est alors : faut-il donner un antibiotique?

8/ Etiologie des angines

- Angine érythémateuse (la plus fréquente)/érythémato-pultacée :
Causée chez l'enfant par un streptocoque du groupe A dans 1/3 des cas et à un virus dans 2/3 des cas.
Chez l'adulte c'est un streptocoque dans 10% des cas, un virus dans 90% des cas.
- Angine ulcéreuse de Vincent : elle présente une ulcération très douloureuse dans laquelle on retrouve une association de Fusobacterium (anaérobie) et de Treponema (spirochète) à l'examen au Gram.
- Angines à fausses membranes : autrefois dues à la diphtérie, mais maintenant les gens sont vaccinés contre Corynebacterium diphtheriae et cette angine est surtout causée par mononucléose infectieuse (virus Epstein-Barr=EBV)
- Angines vésiculeuses : causées par virus = herpès ou entérovirus.

Devant une angine comme celle de Laslo on n'est donc pas sûr à 100% que l'antibiotique soit nécessaire, que faire?

9/Test de diagnostic rapide (TDR) du streptocoque de groupe A (SGA)

On réalise ce test pour savoir si une angine a une cause bactérienne ou non.

On fait un grattage de la gorge, on y ajoute le réactif puis la bandelette test et la migration de l'échantillon sur la bandelette nous donne le résultat.

Donc si ce test est positif on peut entamer l'antibiothérapie, s'il est négatif on ne donne pas d'antibiotique.

[Laslo]

Le TDR réalisé est positif, on veut donc lui donner de l'amoxicilline mais sa mère nous dit que Laslo était devenu « tout rouge » la dernière fois qu'il en a reçu... Que faire?

On peut craindre une allergie aux β -lactamines, il faudrait alors donner un macrolide, hors le

pneumocoque de groupe A est toujours sensible aux β -lactamines mais peut être résistant aux macrolides (30 à 40% des souches y sont résistantes).

Il va donc falloir envoyer un autre écouvillon au laboratoire pour réaliser un antibiogramme.

10/Examen bactériologique d'un écouvillon d'amygdale

- Angine érythémateuse : l'examen direct au microscope n'est pas contributif, on fait donc une culture sur gélose au sang à 37°C pour laquelle on obtient une colonie β -hémolytique avec des cocci Gram+, on réalise également un sérogroupage de Lancefield et un antibiogramme.
- Angine de Vincent : à l'examen direct du frottis avec coloration de Gram on a une association fusospirillaire, on n'a pas besoin de faire de culture.

11/Famille des Streptococcaceae

Ce sont tous des cocci Gram+ en chaînette ou diplocoques.

- Streptococcus (flore oropharyngée ou digestive) : ne pousse bien que sur le sang.
Réagit à la pénicilline S et céphalosporine S.
 - Hémolyse α : -> Streptocoques α H. : commensaux (S. mitis, S. oralis...)
-> Pneumocoque (S. pneumoniae) : à capsule, sensible à l'optochine S.
Cause de pneumonie, otite, méningite...
 - Hémolyse β : on fait un sérogroupage de Lancefield :
 - > SGA (S. pyogenes) : cause d'angine, scarlatine, infections cutanées, fièvre puerperale, GNA, RAA
 - > SGB (S. agalactiae) : cause d'infections néonatales, infections urinaires
 - > SGC & G (S. dysgalactiae) : cause d'angine
 - > SGD (S. bovis) non hémolytique : cause d'endocardite
- Enterococcus (flore digestive) : pousse sur milieu hyper-salé
Réagit à la pénicilline S et céphalosporine R.
Cause d'infections urinaires.
Au sérogroupage de Lancefield, on retrouve le groupe D.

[Laslo]

Laslo part jardiner avec sa cousine Rose et son grand-père Gaston...

Sa grand-mère oublie le traitement et deux jours plus tard, Rose présente une éruption cutanée généralisée et Gaston un placard inflammatoire du bras gauche, là où il s'était blessé avec un rosier. Il est emmené par le SAMU aux urgences car son état général se dégrade rapidement.

Rose a en fait la scarlatine, causée par certains types de streptocoque A, et Gaston a un érysypèle.

12/Facteurs de virulence du streptocoque β -hémolytique du groupe A (*Streptococcus pyogenes*)

On appelle également ce streptocoque la « bactérie mangeuse de chair » car elle pénètre de l'épiderme jusqu'à l'hypoderme, pouvant ainsi causer une dermo-hypodermite, voire de la nécrose.

Le pouvoir pathogène du SGA (*S. pyogenes*) est dû à :

- Des antigènes externes : la capsule et la protéine A.
- Des substances élaborées : des enzymes comme la hyaluronidase, la streptokinase ou la streptodornase; ainsi que des toxines comme la streptolysine O (responsable de la β -Hémolyse).

Ces antigènes et substances sont responsables de l'invasion et de la nécrose des tissus mous, ainsi que de la bactériémie.

Des exotoxines participent également au pouvoir pathogène du SGA et provoquent parfois l'éruption cutanée de la scarlatine et/ou un choc toxique.

[Laslo]

Trois semaines plus tard, Rose consulte en néphrologie pour une hématurie et Laslo se plaint de douleurs articulaires des genoux et des coudes. Laslo risque en fait l'endocardite.

13/Maladies poststreptococciques

Le traitement antibiotique des angines à SGA a pour but principal la prévention du rhumatisme articulaire aiguë (RAA) (pas de risque de RAA avec les autres streptocoques).

La protéine M donne des réactions immunologiques croisées pouvant amener au RAA, ce qui fait risquer au patient des lésions de l'endocarde, ou à une glomérulonéphrite aiguë.

On va donc faire le diagnostic sérologique du SGA en utilisant ses enzymes et toxines à l'aide de l'ASK (antistreptokinase), l'ASD (antistreptodornase) et l'ASLO (antistreptolysine O).

2ème partie : Bactériémies en endocardites.

1/Bactériémie et sepsis, définitions

La bactériémie = passage de bactéries dans le sang.

Passage transitoire dans la circulation sanguine de bactéries viables.

A l'état normal, il n'y a pas de bactéries dans le sang circulant : il est stérile.

Mais, on observe des bactériémies physiologiques (sans conséquences cliniques).

Exemple : période post-prandiale, lors du brossage des dents.

Les états septiques = réaction de l'organisme à l'infection

Sepsis : Bactériémies répétées à partir d'un foyer infectieux initial entraînant des signes généraux inflammatoires (fièvre +/-, frissons).

Risque de métastases septiques (foyers infectieux secondaires).

Sepsis sévère : Sepsis + défaillance organe et/ou hypotension.

Choc septique : Hypotension sévère résistante au traitement.

Rôle des exotoxines et/ou de l'endotoxine des bacilles Gram , (Lipide A du LPS).

2/Origine des infections bactériémiques.

- A partir d'un foyer infectieux: Recherche de la porte d'entrée (bactérie concernée) +++ :
 - Urinaire : pyélonéphrite, prostatite à E. coli
 - Cutanée : Staphylococcus aureus, SGA
 - Pulmonaire : pneumocoque
 - Digestive : entérocoques, entérobactéries
 - Matériel infecté : Cathéter, sonde, prothèse...

- Origine lymphatique (translocation digestive):
Salmonella (fièvre typhoïde), Brucella (fièvre de Malte), Listeria....

- Origine circulatoire : endocardite.

[Gaston]

Gaston, 70 ans, est hospitalisé en réanimation

- Il présente un sepsis (fièvre et frissons) avec choc (hypotension et perte de connaissance)
- Il existe une infection purulente et nécrosante des tissus mous au niveau de sa blessure
- Un prélèvement de pus est réalisé ainsi que 6 flacons d'hémoculture

3/Hémoculture : prélèvement

Trois séries de 2 flacons d'hémoculture (aérobie et anaérobie) remplis de bouillon de cultureensemencés directement par l'infirmière avec 10,20 ml de sang (enfant 2 ml). Il faut bien désinfecter le pli du coude et le bouchon du flacon.

- 1 flacon avec oxygène pour les germes aérobies et
- 1 flacon sans oxygène pour les germes anaérobies
(il existe des flacons spéciaux pour les mycobactéries)

Problème : Risque de contamination lors du prélèvement par la flore cutanée : staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries.

4/ Hémoculture : analyse

L'examen direct du sang juste après le prélèvement est inutile car la plupart des bactériémies ont < 10 bactéries/ml de sang.

Culture : Flacons mis en incubation à 37°C dans un automate qui détecte une multiplication bactérienne par hausse de CO₂ dans le flacon.

Si flacon détecté positif : Examen au GRAM du bouillon, appel téléphonique, identification et antibiogramme.

[Gaston]

Le lendemain, un flacon aérobie est détecté positif avec un streptocoque du groupe A (*Streptococcus pyogenes*) et un flacon anaérobie est détecté positif avec un staphylocoque à coagulase négative (*Staphylococcus epidermidis*).

Le streptocoque A est dit strict, on considère ici qu'il est responsable de l'infection. Le staphylocoque est donc considéré comme une contamination.

5/Interprétation d'une hémoculture positive

1-Bactérie pathogène : contamination du flacon d'hémoculture peu probable.
Rechercher le foyer infectieux Geste chirurgical ? ATB et/ou Posologie adaptés?

- Origine alimentaire

- Brucella
- Salmonella

Infections associées possibles : atteinte ostéo-articulaire.

- Origine oropharyngée ou cutanée

- Méningocoque (méningite, purpura fulminans)
- Pneumocoque, *Haemophilus influenzae* (méningite, pneumonie, infection ORL)
- Pasteurella (abcès cutané (morsure))
- *Staphylococcus aureus*, SGA (infection cutanée, ostéo-articulaire, pleuropulmonaire)

- Origine : flore digestive
 - Entérobactéries, Entérocoques (infection urinaire, infection des voies biliaires, péritonite)
 - *Listeria monocytogenes* (méningite selon âge/statut immunitaire)
 - SGB (méningite néonatale, infection ostéo-articulaire)

2-Bactérie peu pathogène : contamination possible

- Flore cutanée :
 - Staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries, *Propionibacterium*
- Flore oro-pharyngée :
 - Streptocoques α -hémolytiques
- Environnement :
 - *Bacillus*

Interpréter selon le terrain, si doute : répéter les hémocultures ++

- Patient immunocompétent, sans facteur de risque : contamination probable

-Grand immunodéprimé, porteur de cathéter/sonde, grand brûlé... : Vigilance!

->Répéter les hémocultures

->Prélever les foyers potentiels (sang au cathéter, urine sur sonde, flore cutanée/digestive...)

- Lésion pré-existante de l'endocarde (Echographie cardiaque):

Possible greffe de germe des flores oropharyngée et cutanée : endocardite

-> Répéter les hémocultures +++

[Laslo]

Laslo, 30 ans, suivi pour une insuffisance mitrale liée a un RAA, est hospitalisé pour une fièvre avec majoration d'un soufflement. L'échographie cardiaque montre une végétation sur une valve mitrale.

Il faut alors redouter une endocardite, on fait donc les hémocultures et on précise bien au labo que l'on suspecte une endocardite car la culture des bactéries responsables de l'endocardite est longue.

6/Endocardites bactériennes

- Infections bactériennes de l'endocarde (valves +++)
- Survenue :
 - ⇒ Généralement sur des lésions valvulaires préexistantes : valvulopathies du coeur gauche (RAA, athérome...)
 - ⇒ Sur prothèse valvulaire (15%) précoce (inoculation per-opératoire) ou tardive.
 - ⇒ Sur coeur apparemment sain (30 à 40 % des cas).
mode de révélation d'une valvulopathie infra-clinique

7/Endocardite : physiopathologie

A la base on a au niveau du coeur une lésion valvulaire avec un dépôt fibrinoplaquettaire.

Un foyer infectieux associé à diverses portes d'entrée telles que des soins dentaires, une blessure ou piqûre, une tumeur ou une lésion entérique mettant en jeu les différentes flores (oropharyngée, digestive, cutanée) provoquent une bactériémie transitoire, ce qui permet une colonisation du dépôt fibrinoplaquettaire et aboutit à des végétations infectées au niveau de l'endocarde.

8/Épidémiologie bactérienne des endocardites

- Staphylocoques (~50%) (flore cutanée)
 - Staphylococcus aureus 30-40 %
 - Staphylocoque a coagulase neg. 10-15 %
- HACCEK 1-5 % (flore oropharyngée)
Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella
= Bacilles Gram négatif de culture lente et difficile
- Streptocoques (~30%) (flore oropharyngée et digestive)
 - Streptocoques α -hémolytiques 15-20 %
 - Streptocoques β -hémolytiques 5 %
 - Streptococcus bovis/gallolyticus 10-15 % (S.G.D)
- Enterocoques (~10%) (flore digestive)
- Autres (enterobactéries, levures, et germes non cultivables)

9/Diagnostic microbiologique d'une endocardite

- Hémocultures +++ (à répéter si première série négative)
 - La bactérie doit être retrouvée dans plusieurs hémocultures pour éliminer une contamination
 - Il faut signaler au laboratoire la suspicion d'endocardite allongement de la durée d'incubation (germes à croissance lente : groupe HACCEK, Brucella, streptocoques déficients, levures)
- Sérodiagnostic des germes non cultivables (Chlamydia, Coxiella burnetii, Bartonella, Mycoplasma) si hémocultures négatives.
- Culture et PCR sur valve cardiaque si résection.

- A RETENIR -

A Retenir - Streptocoques

- Classification des streptocoques :
 - Selon l'hémolyse
 - Serogroupes de Lancefield (polyoside C)
 - Pouvoir pathogène selon le serogroupe
- Pneumocoque :
 - Caractères (capsule, sensibilité à l'optochine)
 - Pouvoir pathogène (ORL, pulmonaire, méningite)
 - Mécanisme de résistance aux β -lactamines (PLP)
- Enterocoques :
 - Flore digestive, résistance aux céphalosporines, pouvoir pathogène (urines, voies biliaires, endocardite)

A Retenir – Infections ORL

- Principaux composants de la flore oropharyngée
 - Streptocoques α -hémolytiques
 - Neisseria (commensales)
 - Autres (staphylocoques, HACCEK, anaérobies)
- Epidémiologie des otites moyennes aiguës (OMA) et mécanismes de résistances des principaux germes :
 - Pneumocoque
 - Haemophilus influenzae
- Epidémiologie des angines érythémateuses
 - Streptocoques β -hémolytiques (SGA++, SGC, SGG)
 - Virus
- Prise en charge d'une angine érythémateuse (TDR du SGA et/ou culture)

A Retenir – Bactériémies

- Réalisation d'une hémoculture
 - Prélèvement
 - Prise en charge au laboratoire
- Interprétation d'une hémoculture
 - Selon le germe isolé
 - Selon le terrain
 - Recherche du foyer infectieux
- Endocardite
 - Diagnostic microbiologique
 - Epidémiologie des germes