

**Formation des
Correspondants en Hygiène
16 novembre 2017**

Microbiologie et IAS

*Dr I. MARTIN – C. GOCKO
Unité d'Hygiène Inter-Hospitalière
CHU Saint-Etienne*



Les agents infectieux



Rappels

- Une infection est la pénétration puis le développement de micro-organismes dans un être vivant avec déclenchement d'une réaction immunitaire → Maladies infectieuses
- Ces organismes vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu, sont aussi appelés germes, “microbes”, agents infectieux ou pathogènes :
 - Bactéries (de l'ordre du micromètre)
 - Virus (de l'ordre du nanomètre) : hépatites, HIV, grippe, rotavirus, VRS Virus Respiratoire Syncytial ...
 - Champignons : levures, moisissures
 - Parasites : gale, poux
 - Prions : Maladie de Creutzfeldt-Jacob

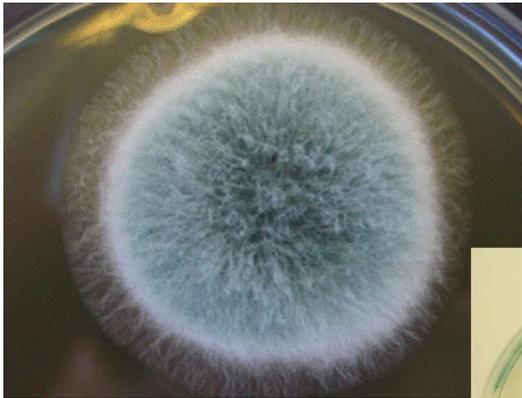
Les champignons

Levures rondes

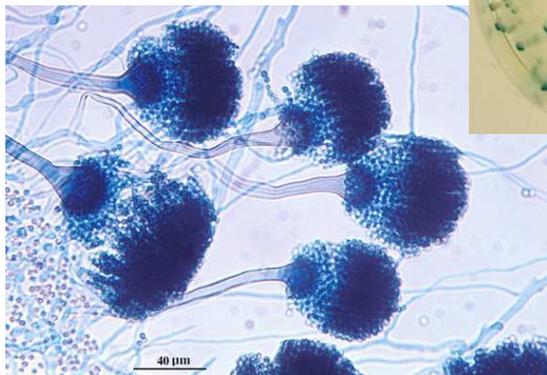


Candida albicans

Moisissures



Aspergillus



Les parasites



Acariens : ex. *sarcoptes scabiei* de la gale

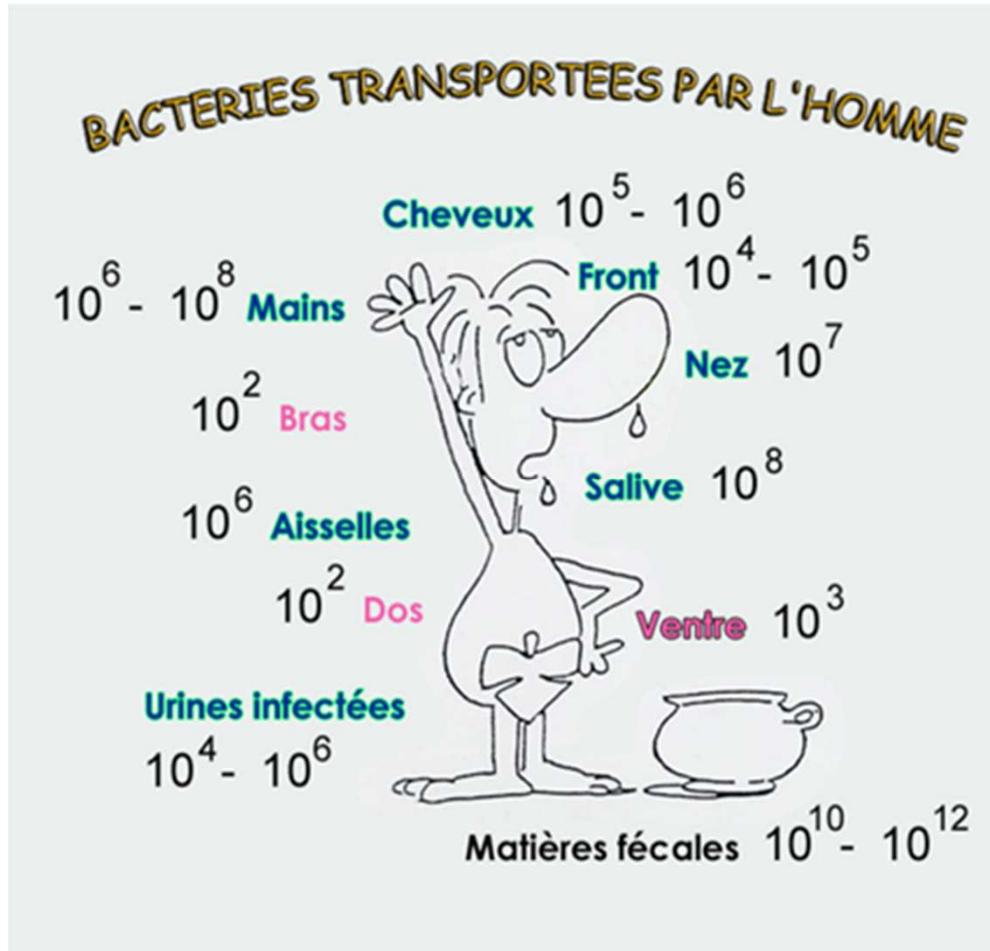


Ver : ex. *tænia*



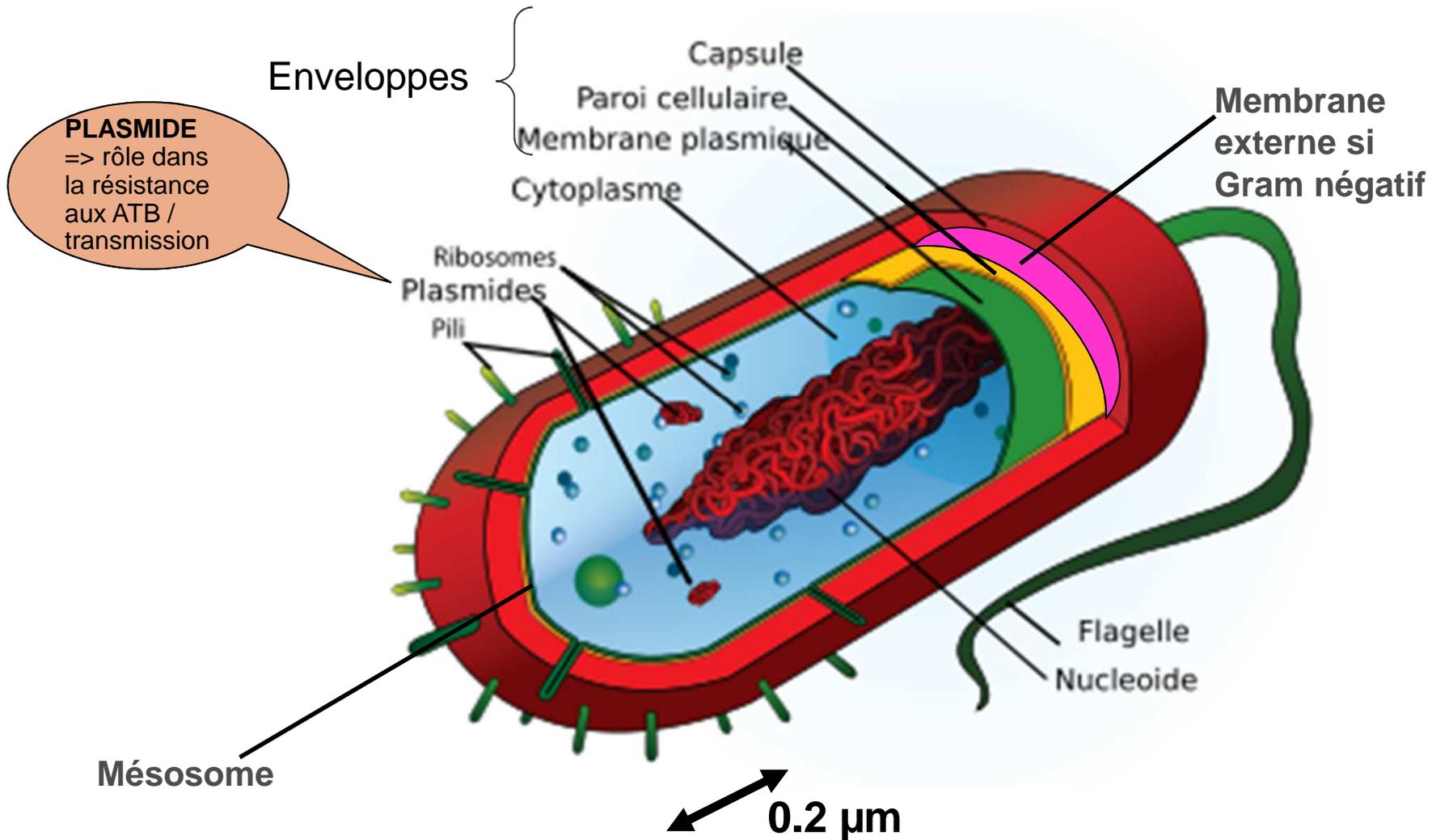
Insectes : ex. *poux et lentes*

Les bactéries



Manuportage 80 %

Structure bactérienne



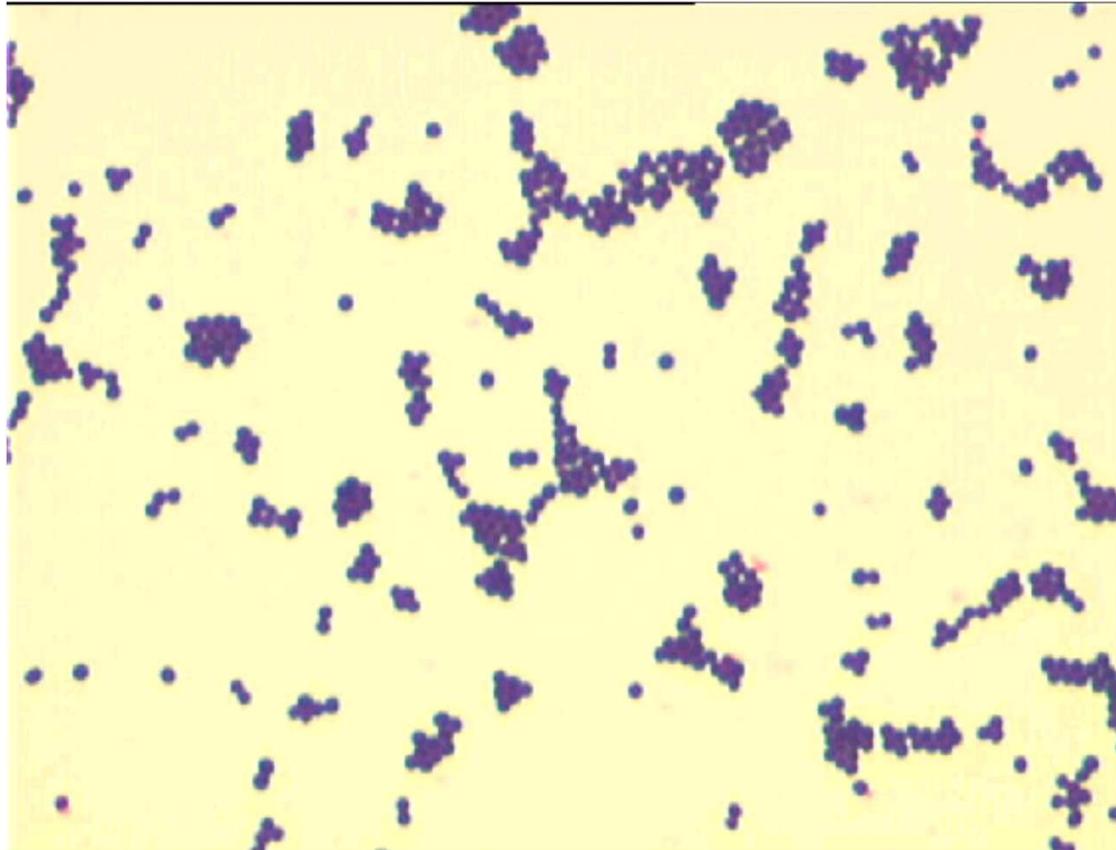
Mise en évidence des bactéries

- Prélèvements biologiques : sang (hémocultures), sécrétions pulmonaires (LBA), liquide céphalo-rachidien (PL) / urines, selles, plaie ...
- 3 types de formes : bacille / coque / spirale
- Coloration de GRAM → Ex. direct au microscope optique
 - **Gram positif « violet »** = paroi de peptidoglycane épaisse → Les **cocci** sont le plus souvent à Gram **positif**
 - **Gram négatif « rose »** = paroi fine + membrane externe de lipopolysaccharide percée de porines → Les **bacilles** sont le plus souvent à Gram **négatif**
- Mise en culture sur géloses enrichies → Glucides (énergie), lipides et protéines (aliments constitutifs) - facteurs de croissance (sang, sel) - à 37°C - à pH 7 - en présence d'air (aérobies) ou non (anaérobies)

Cocci à Gram Positif

- Staphylocoques : en amas, “grappe de raisin ”
 - *Staphylococcus aureus* = doré
 - Staph. Coagulase Négative : *Staph. épidermidis*, *Staph. capitis*, *Staph. saprophyticus* ...
- Streptocoques :
 - En “chainette” : *S. pyogenes* (= A / angines), *S. agalactiae* (= B / voies génitales) ...
 - Oraux : *S. pneumoniae* (= Pneumocoque), *S. oralis* ...
 - Enterocoques (D → digestifs) : *E. faecalis*, *E. faecium* ...
- Microcoques

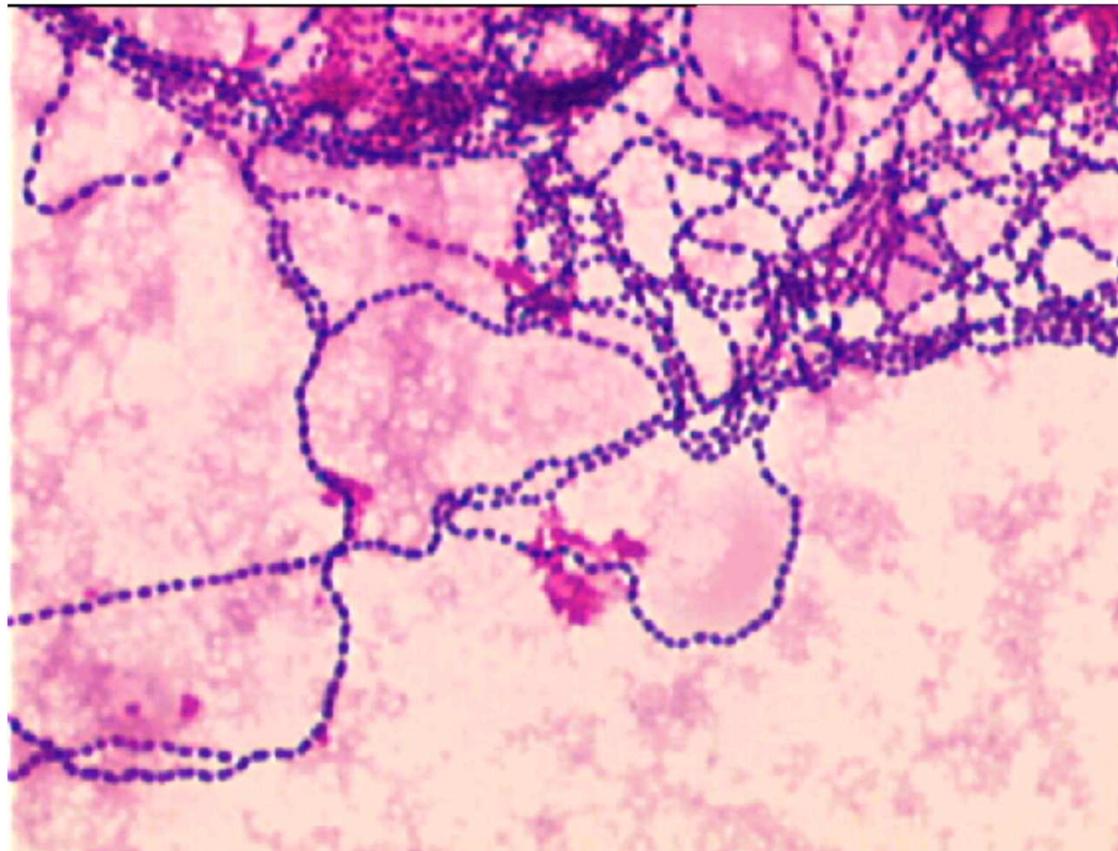
Staphylocoque



Aspect en grappe de raisin



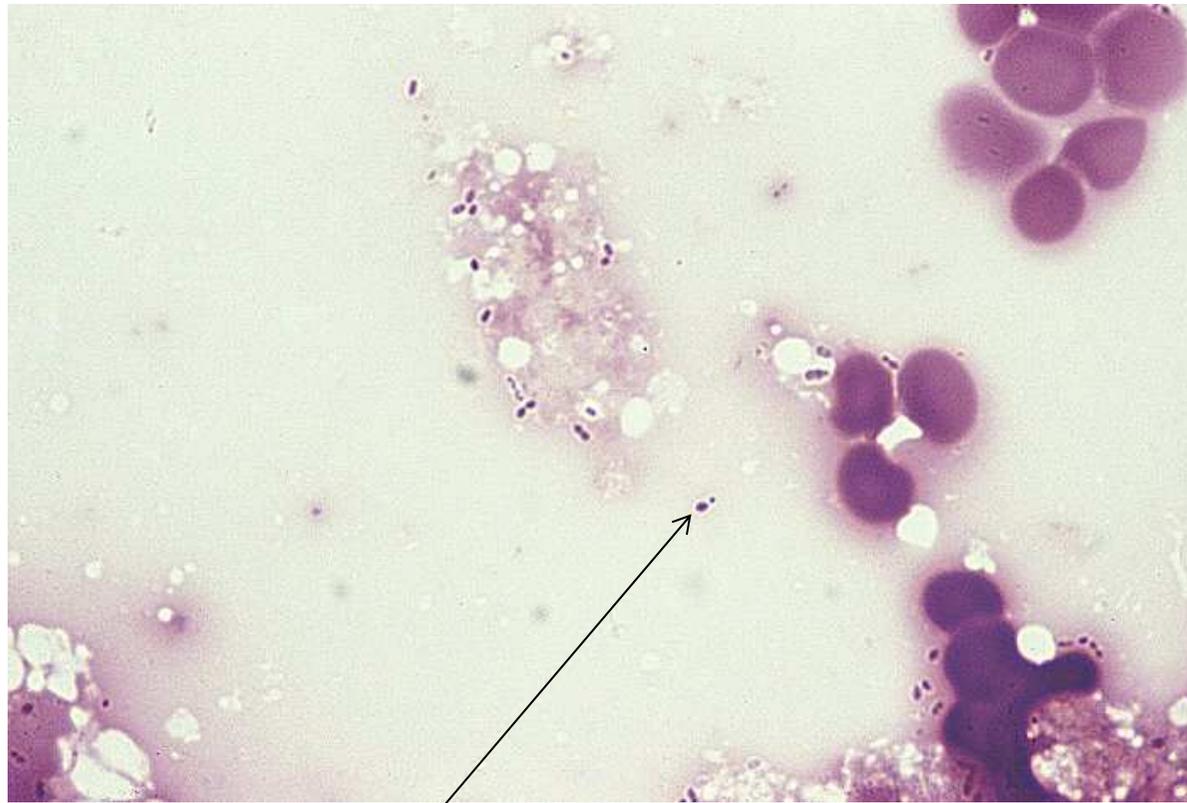
Streptocoque



Aspect en chaînette



Pneumocoque



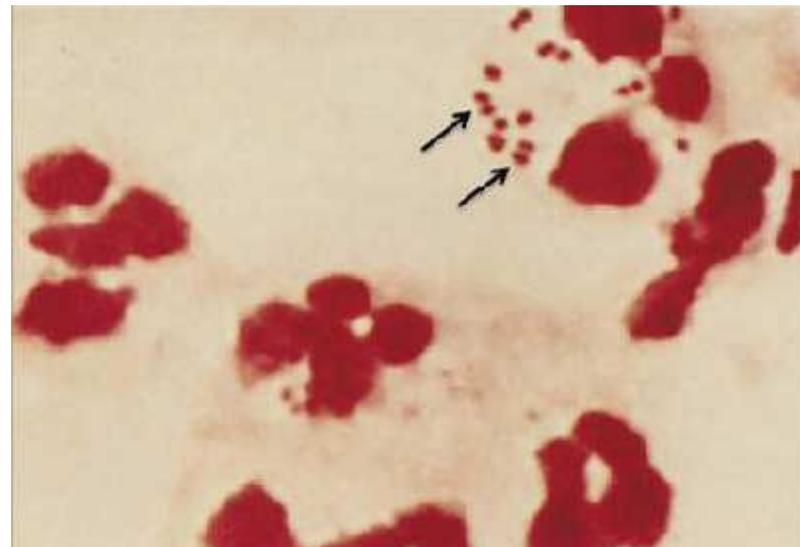
Diplocoque



EXCEPTIONS : Cocci à Gram Négatif

- *Neisseria meningitidis* = Méningocoque (méningite très grave et contagieuse)
- *Neisseria gonorrhoeae* = Gonocoque (Infection Sexuellement Transmissible)
- *Moraxella* (= *Branhamella*) *catarrhalis*

Méningocoque
Aspect en grain de café



Bacilles à Gram négatif

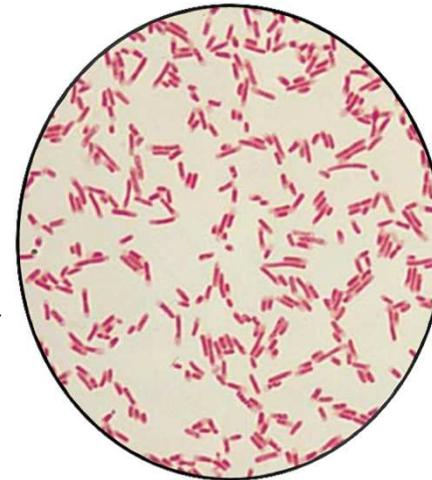


- Entérobactéries : famille de différentes bactéries
 - Pseudomonas
 - Haemophilus
 - Bordella pertussis (coqueluche)
 - Légionella (réseaux d'eau chaude)
 - Pasteurella
 - Brucella
 - Acinetobacter
 - Helicobacter pylori (ulcère)
- Etc ...

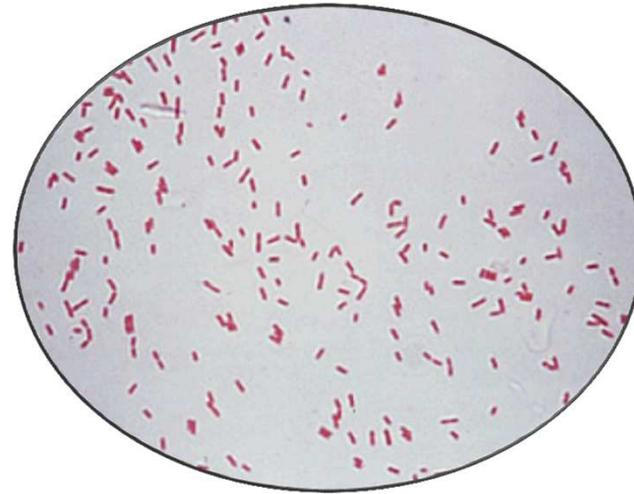


Enterobactéries

- *Escherichia coli* = « colibacille » (cystite) →
- *Klebsiella pneumoniae, oxytoca*
- *Serratia marcescens*
- *Salmonella enterica typhi* (typhoïde) et *paratyphi*, mais il existe d'autres sérotypes (TIAC)
- *Shigella*
- *Enterobacter aerogenes, cloacae*
- *Citrobacter freundii*
- *Proteus mirabilis, vulgaris*
- *Morganella morganii*
- *Providencia*
- *Yersinia enterocolitica, pseudotuberculosis, pestis ...*



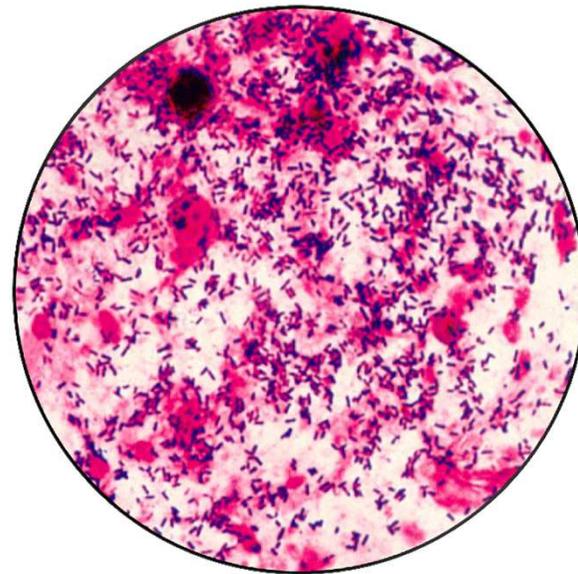
Pseudomonas



- Bacille gram négatif (mais ce n'est pas une enterobactérie)
- *Pseudomonas aeruginosa* = « pyo » = « bacille pyocyanique »
- Autres pseudomonas :
 - *Pseudomonas mallei* et *pseudomallei*
 - Pseudomonas de l'environnement / eau

EXCEPTIONS : Bacilles Gram Positif

- *Listeria monocytogenes* →
- Corynébactéries
- Clostridium



Autres bactéries

- Bactéries atypiques :
 - *Mycoplasma pneumoniae, hominis ...*
 - *Chlamydia trachomatis, pneumoniae, psittaci* (perruches)...
 - *Rickettsia* (tiques, puces) ...
- Bactéries anaérobies strictes :
 - *Prevotella*
 - *Propionibacterium acnes*
 - *Clostridium difficile* (diarrhées liquides sous antibiotiques),
Clostridium tetanii (tétanos)...
- Spirochètes : *leptospira, treponema pallidum* (syphilis) ...
- Mycobactéries :
 - *Mycobacterium tuberculosis* = Bacille de Koch BK = Tuberculose
 - *Mycobacterium leprae* = Bacille de Hansen = Lèpre

Nomenclature bactérienne

Ex.1 : *Salmonella enterica typhi*

- (Famille → Entérobactéries)
 - Genre ou espèce → *Salmonella*
 - Sous - espèce → *enterica*
 - Sérotype → *typhi*

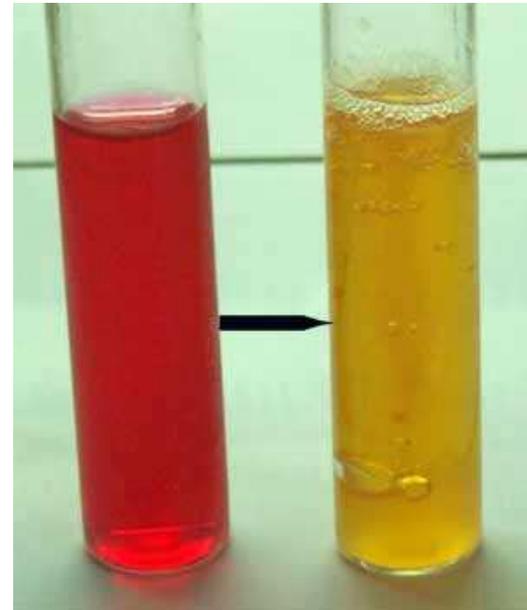
Ex. 2 : *Streptococcus pneumoniae* (= pneumocoque)

- (Famille → *Streptococcaceae*)
 - Genre ou espèce → *Streptococcus*
 - Sous - espèce → *pneumoniae*

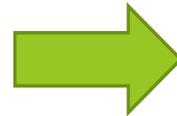
Géloses



Bouillon de culture



Ensemencement et culture sur gélose



Identification biochimique

- **Galerie API®** : test biochimiques miniaturisés

Galerie API 20E d'E. coli



Autres techniques

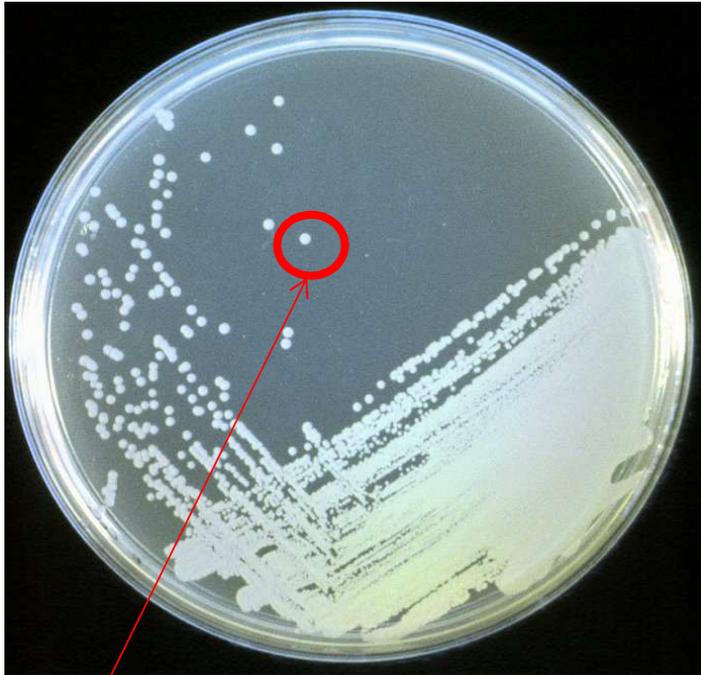
- **Sérologies** : recherche les Ac spécifiques dans le serum (Ac = produit par l'agressé) ex. virus HIV – hépatites ...
- **Antigénémie** : recherche Ag (Ag = porté par l'agresseur)
- **TDR** : Test de Diagnostic Rapide par réaction immunologique [Ag- Ac]
→ Recherche spécifique d'un germe précis : Ex. Streptocoque A en cas d'angine sévère, grippe
- **PCR** : Réaction en Chaine par Polymerase → Technique de biologie moléculaire qui permet de détecter de l'ADN d'une bactérie donc de mettre en évidence sa présence (mais aussi de virus, d'OGM ...)
- **Cas particulier pour le BK** : recherche spécifique BAAR Bacille Acido-Alcool Résistant à l'examen direct des crachats (= contagiosité) puis mise en culture et PCR pour confirmation

BAAR = *Mycobacterium tuberculosis* (BK)



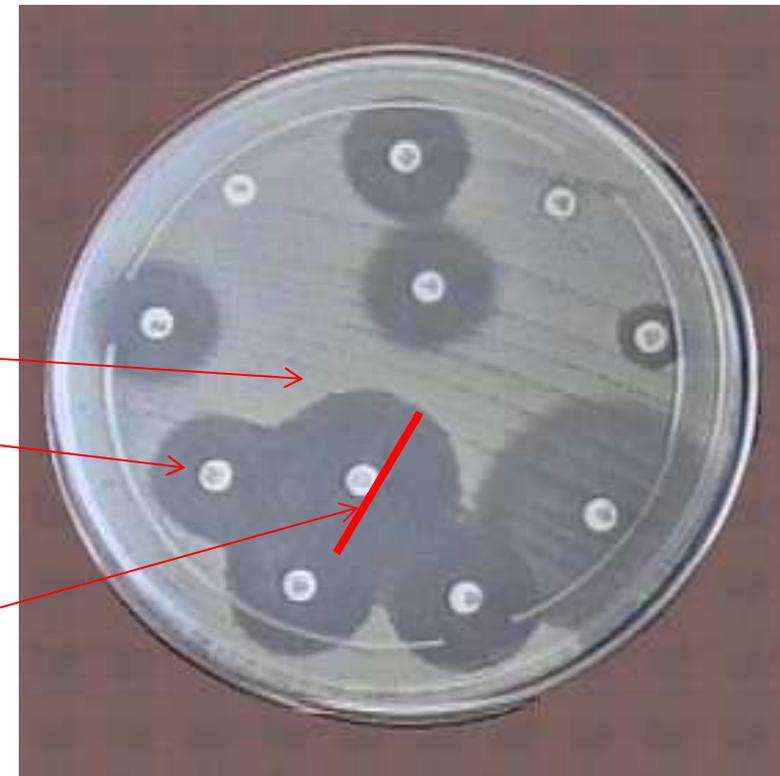
Culture et antibiogramme sur gelose

« Repiquage » d'1 colonie + disques imprégnés de divers ATB → 24 – 48H :



UFC : unité formant colonie

Antibiogramme



Développement bactérien

Disque d'ATB

**Concentration Minimale
Inhibitrice CMI**

= zone où la bactérie ne
pousse plus = couronne
d'efficacité de l'ATB

Antibiogramme E-Test[®]

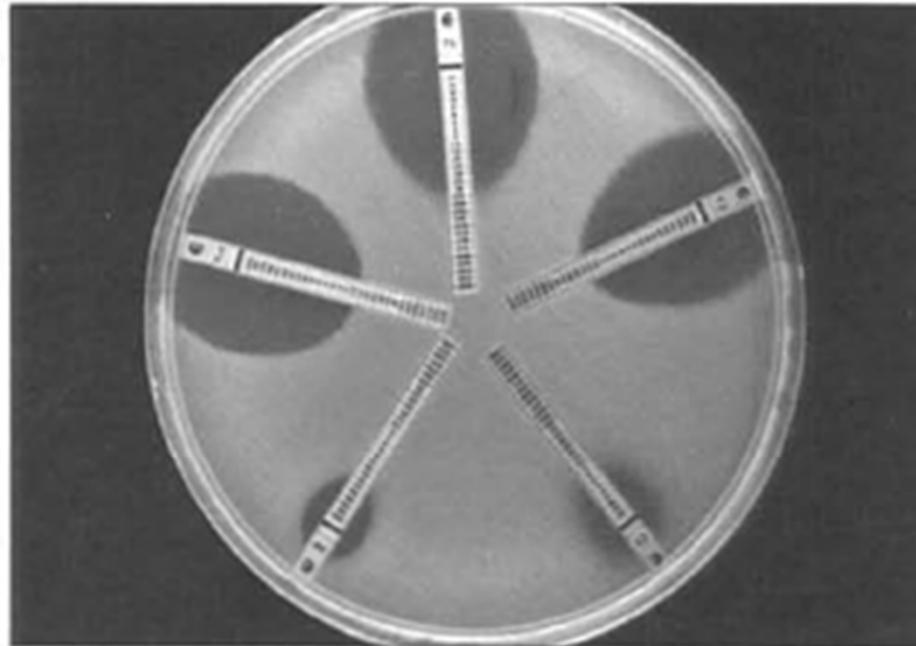


Figure 1-Photograph of a 15 centimeter long Mueller-Hinton plate with five E tests strips (ciprofloxacin, ceftazidime, piperacillin, ticarcillin/clavulanic acid and trimethoprim/sulfamethoxazole. The microorganism being tested was *Xanthoma maltophilia*.

Antibiogramme automatisé



Résistances aux antibiotiques

1. Résistance naturelle = constitutionnelle X → Phénotype sauvage

Résistance qui touche toutes les bactéries d'une même espèce.

Ces résistances définissent les spectres d'activité des antibiotiques :

- BGN R aux Glycopeptides

≠

2. Résistance acquise → Pression de sélection

Survenue dans une espèce naturellement sensible aux antibiotiques d'une souche résistante :

- S. aureus normalement S à la Penicilline M mais devenu R
- E. coli normalement S à la Penicilline A mais devenu R

Risque : échec thérapeutique → Il faut limiter leur diffusion !

Bactéries Multi-Résistantes BMR

- *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline SARM
- Les entérobactéries produisant des beta-lactamases à spectre étendu E-BLSE
- *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistants aux antibiotiques (bactéries saprophytes non commensales du tube digestif, peu de risque de diffusion communautaire, diffusion dans les services à risque)
- *Enterococcus faecalis* résistant aux glycopeptides (rarement impliqué dans les épidémies)
- Cas particulier : *Mycobacterium tuberculosis* multirésistant

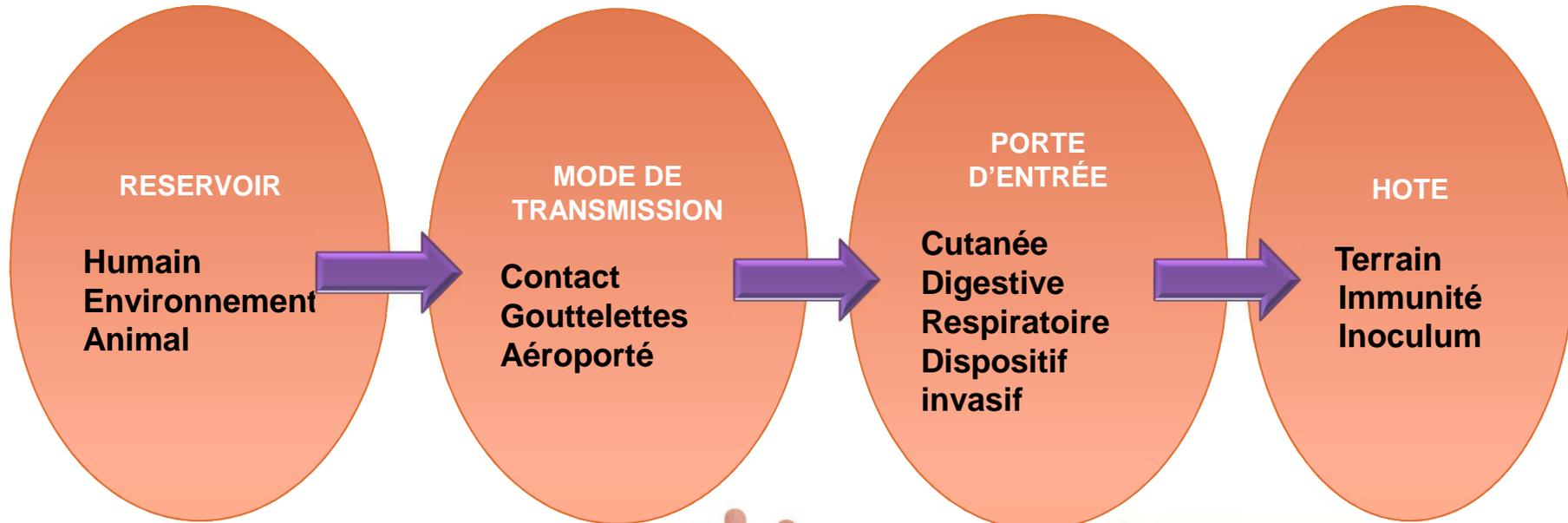
Bactéries Hautement Résistantes émergentes BHRe

- *Enterococcus faecium* R aux Glycopeptides (Vanco.) ERV
- Entérobactéries Productrices de Carbapénèmase EPC qui sont résistantes aux Carbapénèmes (ex. type OXA 48)
 - Bactéries commensales du tube digestif, résistantes à de nombreux antibiotiques, avec des mécanismes de résistance transférables entre bactéries et n'ayant, à ce jour, diffusé en France que sur un mode sporadique ou épidémique limité
 - Pas de liste des pays à haut risque d'importation de ces BHRe : il faut considérer **tout rapatriement sanitaire ou antécédent d'hospitalisation à l'étranger dans l'année précédente** comme à risque potentiel. Les patients concernés sont alors soumis à un dépistage (écouvillonnage rectal) avec mise en place de mesures complémentaires d'hygiène spécifiques en cas de BHRe mise en évidence

Infections Associées aux Soins



Chaîne de transmission



Infection nosocomiale (1)

Une Infection Nosocomiale = **IN** est une infection contractée dans un établissement de soins (hôpital, clinique, maison de retraite, cure...). Elle peut apparaître :

- soit pendant le séjour du patient hospitalisé, au bout de **48 heures** (à moduler selon le délai d'incubation)
- soit au retour du patient à son domicile avec un délai de **30 jours après une opération et d'1 an s'il y a eu pose de prothèse/implant** (ex. prothèse de hanche, prothèse artérielle en vasculaire, implant esthétique...)

Infection nosocomiale (2)

- L'IN est une **Infection Associée aux Soins = IAS**
 - soit à l'**Acte de soins = IAA**
 - soit à l'**Environnement de soins = IAE**
- Elle s'oppose à l'infection dite **communautaire** c'est-à-dire présente chez un individu avant son admission dans un établissement de soins et qui peut être la cause de cette admission

→ Le risque 0 n'existe pas !

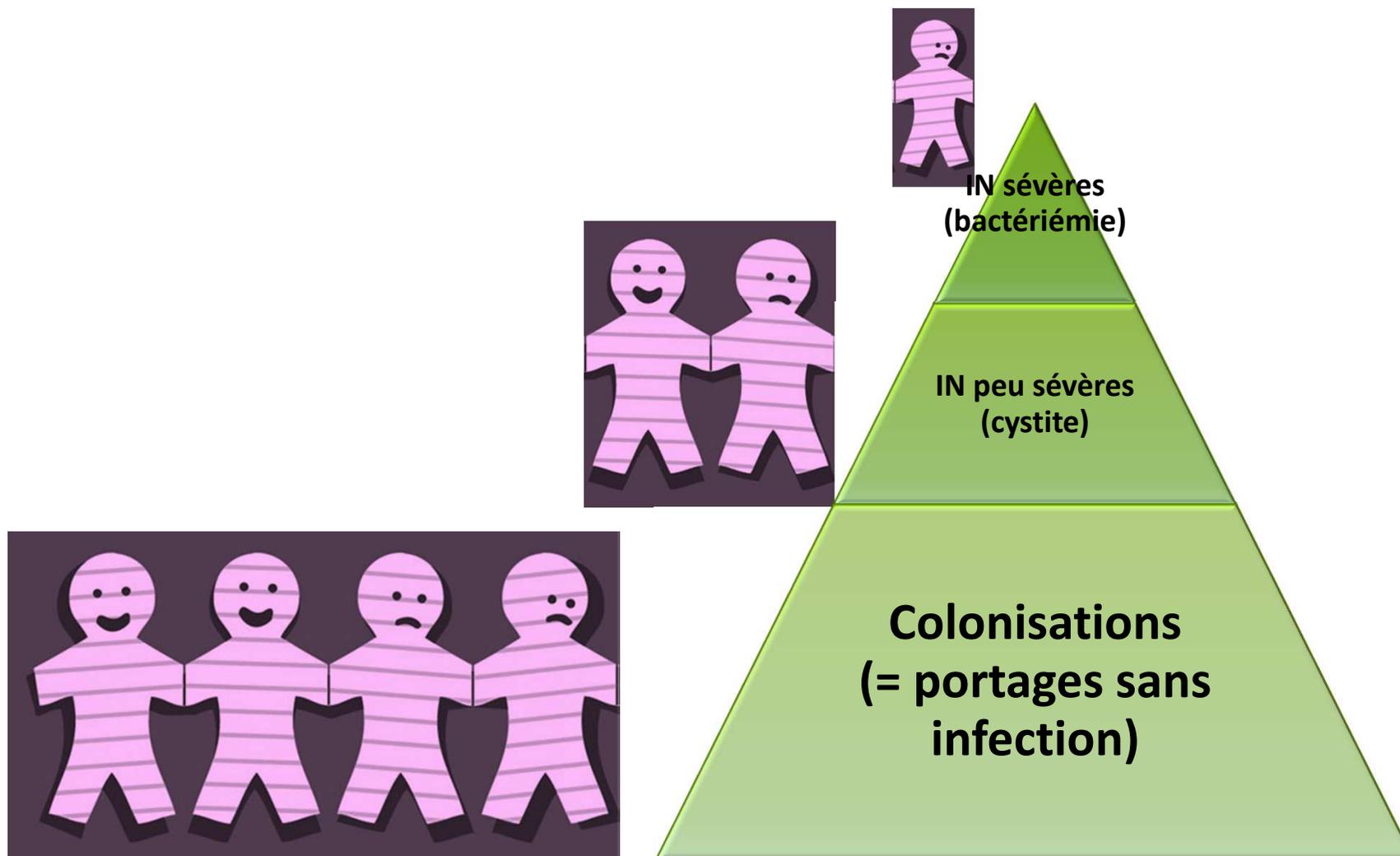
Principaux types d'IN

1. Infections urinaires (sonde urinaire)
2. Infections pulmonaires (ventilation assistée, grippe, fausses routes...)
3. Infections du Site Opératoire = ISO (chirurgie « propre » ou prothèse versus septicémie d'emblée)
4. Infections cutanées (gale, escarre...)
5. Infections sur cathéters et bactériémies (1 sur 3 est liée à un cathéter)

■ Etc ...

→ Enquête Nationale de Prévalence des IN tous les 6 ans
→ entre 4 et 6 % d'IAS acquises dans les établissements de santé

Iceberg de la pathologie nosocomiale



Merci de votre attention

