

STAPHYLOCOQUES(TD)

(Etude Bactériologiques et Virulence)

5 - Etude bactériologique

5.1 Microscope

Cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, de 0,8 à 1 μ de diamètre (figure 1). La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture.

5.2 Culture

Comme tous les germes très répandus dans la nature, S. Aureus cultive facilement sur les milieux usuels, à des conditions de pH et de température variables. Il est même capable de pousser dans des conditions hostiles, par exemple en présence de 7 % de NaCl. Ce caractère est mis à profit dans le milieu de culture sélectif hypersalé de CHAPMAN pour isoler le staphylocoque d'un prélèvement poly microbien.

- **En bouillon**

S. Aureus donne un trouble uniforme en quelques heures

- **Sur gélose ordinaire**

les colonies sont lisses, rondes, bombées, brillantes, opaques, de 1 mm de diamètre. Elles se pigmentent habituellement en jaune doré (aureus), parfois en jaune citron, et parfois sont non pigmentées

- **En gélose profonde**

S. Aureus pousse dans la zone d'aérobiose et dans la zone d'anaérobiose. C'est donc une bactérie aérobie-anaérobie facultative, capable de se multiplier à la surface de la peau, en aérobiose et dans les tissus mal oxygénés, plaie profonde par exemple.

5.3 Caractères biochimiques :

S. Aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif.

Il est catalase positive à la différence des bactéries du genre Streptococcus qui n'ont pas de métabolisme aérobie.

Il est toutefois capable de fermenter le glucose (métabolisme anaérobie) à la différence des microcoques.

Il est habituellement capable de fermenter le mannitol. Ce caractère est souvent présent, mais pas obligatoirement, associé à la pathogénicité. Il est utilisé dans le milieu de CHAPMAN.

La fermentation se traduit par le virage au jaune du milieu de culture.

5.4 Facteurs de virulence de physiopathologie

5.4.1 Les composants de la paroi

Les composants de la paroi comme le peptidoglycane, les acides teichoïques et lipoteichoïques possèdent des effets biologiques démontrés in vitro, notamment la sécrétion de cytokines par les cellules lymphomonocytaires.

Le peptidoglycane est peu immunogène, par contre les acides teichoïques (polymères linéaires du ribitol phosphate) donnent naissance à des anticorps que l'on trouve dans le sérum de malades atteints d'infection récente. Ces acides teichoïques sont les récepteurs de bactériophages (lysotypie des staphylocoques).

Il existe 14 sérotypes mis en évidence par réaction d'agglutination au moyen d'immun sérums.

5.4.2 Facteurs d'invasion et d'adhésion

S. Aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. S. Aureus se fixe aux cellules par l'intermédiaire de protéines de surface, les adhésines, qui sont ancrées dans le peptidoglycane. Cinq protéines ont été caractérisées :

- ✓ *La protéine A, élaborée uniquement par les souches d'origine humaine, se lie au fragment des immunoglobulines.*
- ✓ *La protéine de liaison au collagène permet l'adhésion de S. Aureus au cartilage ;*
- ✓ *La protéine de liaison à la fibronectine permet l'adhésion de S. Aureus aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux (cathéters, prothèses) ;*
- ✓ *La protéine de liaison au fibrinogène (clumping factor) qui provoque l'agrégation de bactéries en présence de plasma permettant de transformer directement le fibrinogène en fibrine.*
- ✓ *La protéine de liaison à l'élastine.*

5.4.3 Substances élaborées par S. Aureus

S. Aureus élabore des protéines diffusibles douées soit d'activité toxique, soit d'activité seulement enzymatique.

a) Les toxines :

Cinq principales toxines sont décrites chez S. Aureus :

- *Les hémolysines ont une action cytotoxique sur de nombreuses cellules eucaryotes, notamment les globules rouges et les plaquettes*

- *La leucocidine est formée de 2 composés, agissant en synergie ; elle agit sur les polynucléaires et les macrophages. Cette protéine a rôle important dans la formation du pus.*
- *L'exfoliatine est une protéine thermostable responsable des lésions d'érythrodermie bulleuse que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoques et au cours de l'impétigo.*
- *Les entérotoxines, dont il existe 7 sérotypes différents (A, B, C1, C2, C3, D, E) sont des protéines thermostables responsables d'intoxications alimentaires (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, rarement un collapsus cardiaque, qui apparaissent 1 à 6 heures après l'ingestion). De 30 à 60 % des souches de S. Aureus produisent des entérotoxines. Il s'agit d'une protéine thermostable, insensible aux enzymes protéolytiques du suc digestif. L'entérotoxine A est de loin la plus fréquente.*
- *La toxine responsable du choc toxique staphylococcique (TSST-1) : cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs présents chez 85 % des sujets adultes. Cette toxine, a un effet pyrogène qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et bêta) responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique.*

b) Les enzymes non toxiques :

- *La coagulase-libre : est une exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin. C'est une protéine thermostable, toujours produite par les souches de S. Aureus (et non produite par S.epidermidis et S.saprophyticus). Elle active la prothrombine en thrombine. La thrombine ainsi activée agit sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. Cette dernière va coaguler le plasma autour des coques en les protégeant de la phagocytose ; elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées.*
- *La fibrinolysine est caractéristique des souches pathogènes humaines. En activant le plasminogène en plasmine, elle provoque la dislocation des caillots endoveineux qui libère des micro-emboles septiques, facteurs de septicémie et de localisations septiques secondaires.*
- *Les désoxyribonucléases (ou DNases) sont des facteurs de destruction des noyaux cellulaires. La DNase thermostable est spécifique de S. Aureus.*
- *La hyaluronidase est une enzyme thermolabile hydrolysant l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif : elle favorise ainsi la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif.*

- *La lipase : 80 % des souches produisent cette enzyme qui semble constituer un facteur de virulence dans les abcès où, en modifiant les lipides bactériens, elles favorisent la survie des staphylocoques.*

6 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic bactériologique de l'infection staphylococcique est uniquement direct (mise en évidence de la bactérie). Il n'y a pas de diagnostic indirect par recherche des anticorps circulants.

Le diagnostic repose sur les principales étapes suivantes :

Le prélèvement : aseptique (pour être certain que le staphylocoque que l'on va isoler n'est pas un simple commensal de la peau ou des muqueuses) et avant le début du traitement antibiotique.

L'examen microscopique d'orientation à la recherche de cocci réguliers, à Gram positif, groupés en amas.

La culture sur gélose ordinaire dans la majorité des cas ou si le prélèvement est fortement contaminé par d'autres bactéries on utilise un milieu de culture sélectif, type milieu de CHAPMAN (qui contient 7 % de NaCl, du mannitol et un indicateur de pH)

L'identification de la bactérie repose sur la mise en évidence des caractères suivants :

- *catalase (différence avec le streptocoque),*
- *fermentation du glucose en anaérobiose (différence avec le microcoque)*
- *coagulase (différence avec S.epidermidis et S.saprophyticus),*
- *DNase.*
- *thermostable (qui signe l'espèce S. Aureus).*

Le diagnostic sera toujours complété par la mesure de la sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme) étant donné la fréquence de la résistance de S. Aureus aux bêta-lactamines (ex. : pénicilline), aux aminosides (ex. : gentamicine) et à certains macrolides (ex. : érythromycine), notamment chez les souches hospitalières).

7 Les bases du traitement

7.1 Traitement préventif

Il est capital.

Mesures d'hygiène et d'asepsie individuelle et collective (en particulier dans les hôpitaux).

Surveillance des denrées alimentaires (crèmes glacées, pâtisseries, viandes hachées).

7.2 Traitement curatif

Staphylococcies cutané-muqueuses, localisées : macrolide ou apparenté (par exemple, érythromycine 2 g/jour ou pristnamycine 2 g/jour pendant 10 jours).

Staphylococcies graves : association de deux antibiotiques bactéricides : bêta-lactamines (pénicilline semi-synthétique non hydrolysée par les pénicillinases : ex. oxacilline) + aminoside (ex. : gentamicine, etc.) ou fluoroquinolones (ex. : ofloxacin).

En cas de résistance aux pénicillines semi-synthétiques, (souches méthicilline résistantes isolées en milieu hospitalier) le traitement antibiotique sera un glycopeptide (vancomycine ou teicoplanine) seul ou associé à un autre antibiotique actif (aminosides, rifampicine, acide fusidique, fosfomycine).

Dans tous les cas, la priorité doit être donnée au drainage des collections purulentes.

FIN