

Questions de bactériologie (BH / TAB)

1. Questions de cours

1.1. Généralités et systématique

1.1.1. Présenter, sous forme de schéma, deux types de ciliature observés chez les bacilles à Gram négatif. Donner un exemple pour chacun.

1.1.2. Faire un schéma précis et légendé de la paroi d'une bactérie à Gram négatif. Par analogie avec d'autres bactéries à Gram négatif, indiquer le constituant de la paroi qui permet de définir différents sérotypes au sein d'une espèce. Justifier la réponse.

1.1.3. Les septicémies provoquées par des bacilles à Gram négatif sont redoutables par le choc endotoxinique qu'elles peuvent provoquer à la suite de la lyse massive des bactéries.

- a) Donner le nom de la molécule responsable du choc et préciser sa localisation cellulaire.
- b) Faire un schéma simplifié de cette molécule montrant ses principaux éléments structuraux.

1.1.4. A quel type trophique les bactéries rencontrées en bactériologie médicale appartiennent-elles ? Expliquer le terme.

1.1.5. La gélose chocolat additionnée d'un supplément polyvitaminique est utilisée pour l'isolement de germes exigeants en facteurs de croissance.

- a) Donner la définition d'un facteur de croissance. Indiquer trois groupes de facteurs de croissance.
- b) Citer une espèce bactérienne souvent isolée sur gélose chocolat supplémentée et préciser ses exigences.

1.1.6. Définir les termes « épidémie », « communautaires » et « incidence ».

1.1.7. Définir une infection nosocomiale. Citer quatre facteurs favorisant l'installation d'une infection nosocomiale.

1.1.8. Les Spirochètes

Indiquer les particularités morphologiques et structurales des spirochètes. La réponse peut être illustrée à l'aide de schéma(s).

1.1.9. Les Mycoplasmes

- a) Indiquer les particularités structurales des mycoplasmes.
- b) Citer les deux principales pathologies humaines dues à des mycoplasmes.

1.1.10. Les *Chlamydia*

- Présenter leur cycle de multiplication.
- Préciser les conséquences de ce type de multiplication sur le choix de l'antibiotique utilisé pour le traitement.

1.1.11. *Legionella*

Le diagnostic de légionellose peut être confirmé par l'isolement de *Legionella* dans un LBA. On utilise le milieu BCYE dont la composition est donnée ci-dessous. Ce milieu répond aux exigences de culture de la bactérie.

Composition du milieu BCYE (Buffered Charcoal Yeast Extract)

extrait de levure 10,0 g	charbon activé 2,0 g
L-Cystéine chlorhydrate 0,4 g	agar 17,0 g
alpha-cétoglutarate 1,0 g	KOH 1 mol.L ⁻¹ 40 mL
pyrophosphate de fer III 0,25 g	Eau distillée 1000 mL
tampon ACES/ hydroxyde 10 g	pH 6,9 +/- 0,05

- La L-cystéine est un « facteur de croissance » pour *Legionella*. Définir ce terme. Indiquer quel constituant apporte la L-cystéine dans le milieu. Donner le type trophique des bactéries exigeantes en facteur de croissance.
- Les légionelles ne possèdent pas de sidérophore. Indiquer le rôle des sidérophores dans le pouvoir pathogène des bactéries. Citer le constituant du milieu BCYE permettant de combler ce déficit.

1.2. Antibiotiques et résistances

1.2.1. Un traitement associe la rifampicine à une quinolone, antibiotiques à spectre large et à effet bactéricide.

- Donner la définition du spectre d'activité d'un antibiotique.
- Définir la bactéricidie.
- Citer la cible des antibiotiques de la famille des quinolones.

1.2.2. Quels sont les problèmes posés par le traitement des infections à staphylocoque par les bêtalactamines ?

1.2.3. Les mycoplasmes sont des germes présentant une résistance naturelle aux céphalosporines.

- Définir la résistance naturelle.
- Expliquer la résistance naturelle des mycoplasmes aux céphalosporines.

1.2.4. Les angines sont souvent traitées par les β -lactamines.

- Quelle est la particularité structurale de ces antibiotiques ?
- Présenter une classification succincte des β -lactamines.
- Certains antibiotiques de cette famille sont sensibles à l'action d'enzymes bactériennes. Comment appelle-t-on ces enzymes ? Quel est leur mode d'action ?
- Comment contourner l'action de telles enzymes lors d'un traitement utilisant une β -lactamine ? Illustrer à l'aide d'un exemple.

1.2.5. Les souches d'*E. coli* possédant une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) sont de plus en plus fréquentes. Le gène codant pour cette protéine est porté par un plasmide.

- Définir et préciser l'activité d'une BLSE.
- Définir un plasmide. Nommer et décrire brièvement le mécanisme permettant la transmission du gène codant pour la BLSE.

1.2.6. La prophylaxie des infections des infections conjonctivales néonatales est obligatoire par instillation, dès la naissance, de collyre à base de pénicilline ou d'aminosides. On constate une augmentation de la fréquence des souches présentant une résistance acquise par une β -lactamase dite de type TEM-1. Répandue aussi chez les entérobactéries et *Haemophilus influenzae*, cette résistance s'exprime à haut niveau.

- Définir une β -lactamase. Définir une β -lactamase à spectre élargi (BLSE).
- Le même type d'enzyme (TEM-1) est retrouvé chez *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus influenzae*. Des homologies génétiques existent entre les plasmides des deux espèces. Il s'agit en fait d'un même transposon (Tn3) porteur de ce gène. Donner la définition d'un transposon. Indiquer la différence entre transposon et plasmide.

1.2.7. Les colonisations par *Pseudomonas aeruginosa* doivent être traitées le plus rapidement possible par association d'une β -lactamine et d'un aminoside.

- Citer un antibiotique de chacune de ces deux familles. Préciser leur mode d'action et l'effet recherché lors de cette association.
- Définir les termes « bactériostase » et « bactéricidie ».

1.2.8. Le traitement des infections à streptocoque B nécessite généralement l'utilisation d'une association d'antibiotiques.

- Indiquer les intérêts des associations d'antibiotiques.
- Définir « pouvoir bactériostatique » et « pouvoir bactéricide ».

1.2.9. Les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales s'avèrent très souvent multirésistantes aux antibiotiques.

- Citer quatre espèces bactériennes fréquemment rencontrées dans ce type d'infection.
- Quels sont les phénomènes à l'origine de cette multirésistance ?

1.3. Pouvoir pathogène des bactéries

1.3.1. Indiquer les facteurs de virulence d'un *Escherichia coli* uropathogène.

1.3.2. Décrire les mécanismes physiopathologiques des diarrhées provoquées respectivement par *Shigella dysenteriae* et *Vibrio cholerae*.

1.3.3. Comparer succinctement les mécanismes physiopathologiques de diarrhées dues à *E. coli* entéroinvasif et à *E. coli* entérotoxique.

1.3.4. De façon générale, quels sont les staphylocoques les plus souvent rencontrés en pathologie ?

1.3.5. Quel est le rôle de la coagulase libre dans le mécanisme des infections provoquées par *S. aureus* ?

1.3.6. D'après leur aspect clinique, présenter les trois grandes catégories d'angines en précisant pour chacune les principaux agents infectieux.

1.3.7. Donner la nature chimique de la capsule de *Streptococcus pneumoniae* et préciser son rôle dans le pouvoir pathogène de cette bactérie.

1.3.8. Décrire le mécanisme physiopathologique d'une septicémie d'origine thrombo-embolique. Le processus de formation des foyers secondaires n'est pas demandé.

1.3.9. Lors de certaines infections, les bactéries responsables pénètrent dans les cellules – épithéliales par exemple – bien que ces cellules soient dépourvues de capacité de phagocytose. Citer deux espèces bactériennes responsables de telles infections et préciser pour chacune le type de cellules infectées.

1.3.10. Le pouvoir pathogène des légionelles repose en particulier sur leur capacité à survivre et à se multiplier dans les macrophages et les monocytes humains. Citer un mécanisme permettant à une bactérie de survivre à l'intérieur d'un phagocyte.

1.3.11. Infections néonatales à streptocoque B

Streptococcus agalactiae peut être responsable d'infections néonatales graves. Le taux de mortalité élevé (20 à 30 %) constitue une urgence pédiatrique justifiant une hémoculture.

- Indiquer l'origine la plus probable de la contamination du nouveau né.
- Citer les deux pathologies les plus fréquemment observées chez celui-ci.

1.3.12. Malnutrition

Un petit garçon de 10 mois, originaire d'un pays d'Afrique, où sévit la famine, est hospitalisé dans un état de dénutrition important. Il souffre également depuis 3 semaines de diarrhée chronique qui en est la conséquence inéluctable. Depuis l'arrêt de l'allaitement maternel, il a perdu environ 20 % de son poids.

Lors de son hospitalisation, il a été mis en oeuvre une réalimentation progressive de l'enfant.

Au moment de l'introduction d'un régime plus riche en protéines et plus riche sur le plan énergétique, les troubles digestifs réapparaissent avec diarrhées et vomissements, associés à des troubles de la respiration et du rythme cardiaque ainsi que de la fièvre. Le volume de la rate et du foie augmente.

Ces signes cliniques font soupçonner un début de septicémie, confirmée par des hémocultures positives.

- Expliquer succinctement quelles conditions de terrain ont favorisé chez cet enfant le passage d'une bactérie dans le sang.
- Citer un facteur de virulence de *Klebsiella pneumoniae*.
- Les septicémies provoquées par des bacilles à Gram négatif sont redoutables par le choc endotoxinique qu'elles peuvent provoquer à la suite de la lyse massive des bactéries.
 - Indiquer la localisation de la molécule responsable de ce choc et en donner les principaux composants.
 - Citer quelques effets importants de cette molécule sur l'organisme.

1.3.13. Hémodialyse

- L'eau de dilution des concentrés pour hémodialyse est purifiée afin de ne contenir ni bactérie ni endotoxine.
 - Citer une méthode permettant d'éliminer les bactéries de cette eau.
 - Définir une endotoxine. Donner deux exemples parmi ses activités biologiques.

- Lors de l'hémodialyse péritonéale, dans laquelle le péritoine sert de membrane de dialyse, on observe fréquemment des infections. Les principaux microorganismes responsables sont, dans l'ordre de fréquence décroissante, les staphylocoques à coagulase négative, puis *Staphylococcus aureus*.
 - Indiquer l'origine possible de ces staphylocoques.
 - Expliquer le rôle de la coagulase dans une infection à *Staphylococcus aureus*.

1.3.14. Prévention et traitement du tétanos

La vaccination antitétanique se fait par deux injections sous-cutanées d'anatoxine à un mois d'intervalle, un rappel au bout d'un an, puis tous les dix ans. Après une blessure à risque chez un sujet présentant une vaccination incomplète, il faut lui injecter, dans les plus brefs délais, des gammaglobulines antitétaniques.

- Donner la définition d'une anatoxine.
- Présenter le mécanisme physiopathologique du tétanos.
- Expliquer pourquoi les gammaglobulines antitétaniques permettent de limiter l'évolution de la maladie. Pourquoi est-il urgent de les injecter en cas de blessure à risque ?

1.3.15. Infections nosocomiales lors des greffes

Les traitements immunosuppresseurs entrepris lors des allogreffes exposent à des risques d'infection nosocomiale.

- Donner la définition d'une infection nosocomiale.
- Citer les principales caractéristiques des espèces bactériennes responsables d'infections nosocomiales.
- Les infections systémiques à *Pseudomonas aeruginosa* sont particulièrement redoutées. La virulence de cette espèce repose en partie sur la sécrétion de l'exotoxine A. Le mode d'action de cette toxine est analogue à celui de la toxine diphtérique.

Indiquer ce mode d'action.

1.3.16. Mucoviscidose

La mucoviscidose (ou fibrose kystique du pancréas) est la plus fréquente des maladies génétiques. Le gène responsable est localisé au niveau de la 7^e paire de chromosomes. Cette maladie touche le système exocrine (appareil respiratoire, tube digestif, glandes sudoripares, tractus génital) et se caractérise par la production d'un mucus abondant et visqueux et de sueur salée. Les localisations et l'intensité des signes cliniques sont variables. On observe des troubles nutritionnels et des manifestations digestives et pulmonaires. *Pseudomonas aeruginosa* est la bactérie qui colonise le plus souvent l'arbre trachéo-bronchique et qui conditionne le pronostic de la maladie.

- Le mode d'action de l'exotoxine A est comparable à celui de la toxine diphtérique, entraînant notamment une nécrose du foie, du rein et des hémorragies pulmonaires. Sachant que cette toxine est thermolabile, en déduire sa nature chimique ainsi que ses principales caractéristiques.
- Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans le cadre d'une mucoviscidose ont fréquemment un « LPS déficient » qui leur permet d'échapper au système immunitaire dans la mesure où la fraction responsable de la spécificité antigénique est modifiée.

Préciser la localisation de cette fonction.

c) Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées d'expectorations de patients atteints de mucoviscidose donnent des colonies très mucoïdes. Ce caractère mucoïde est lié à la présence d'une couche d'un acide polyuronique, l'acide alginique. Cette couche d'acide alginique est un des facteurs de virulence les plus importants de ces souches : on lui attribue entre autres un rôle dans l'adhésion bactérienne.

Préciser l'importance des phénomènes d'adhésion bactérienne dans l'apparition d'une infection (on pourra citer un exemple d'infection concernant un autre appareil).

1.4. Questions d'immunologie en relation avec la bactériologie

1.4.1. Citer les principaux moyens de défense qui assurent la protection du tube digestif contre les agressions d'origine bactérienne.

1.4.2. Présenter les moyens de défense non spécifiques de l'arbre respiratoire. Expliquer le rôle de chacun d'eux. Citer une cause possible de leur altération.

1.4.3. Définir le terme « antigène (bactérien) soluble ».

2. Questions techniques

2.1. Culture et identification

2.1.1. Détermination du type respiratoire.

- Indiquer le principe et la technique de réalisation de cette recherche.
- Présenter les différents résultats pouvant être observés.
- Préciser l'intérêt de cette détermination pour l'identification des bacilles à Gram négatif oxydase négative cultivant en aérobiose.

2.1.2. Quelles sont les substances contenues dans la cupule ADH d'une galerie API 20 E ? Indiquer et expliquer l'aspect d'une cupule ADH après incubation, respectivement dans le cas d'un résultat positif et d'un résultat négatif.

2.1.3. La galerie API 20 NE contient une cupule « TRP » qui permet la réalisation du test « indole ».

- Préciser :
 - le contenu de cette cupule,
 - l'équation de la réaction qui conduit à la formation d'indole (formules non demandées),
 - le nom et le rôle du réactif qui doit être ajouté au moment de la lecture.
- Indiquer les conditions d'incubation de la galerie API 20NE.

2.1.4. Les galeries d'identification miniaturisées permettent fréquemment d'établir un profil de fermentation de la bactérie étudiée.

- Définir la fermentation et citer deux espèces bactériennes fermentatives.
- Expliquer le principe de la recherche d'une fermentation en galerie miniaturisée.

2.1.5. Exposer le principe d'une technique permettant d'obtenir l'anaérobiose et son contrôle. Citer deux espèces de bactéries anaérobies strictes rencontrées en pathologie médicale.

2.1.6. Présenter une technique permettant de mettre en évidence les exigences d'*Haemophilus influenzae* et présenter les résultats obtenus.

2.1.7. La légionellose est dépistée par la mise en évidence d'antigènes solubles dans les urines. La recherche d'antigènes bactériens solubles est particulièrement utilisée dans un autre liquide biologique. Citer ce liquide biologique et deux espèces bactériennes recherchées dans ce prélèvement. Préciser les avantages de cette méthode.

2.1.8. *Pseudomonas aeruginosa*

- a) Citer un milieu sélectif de *Pseudomonas aeruginosa*. Indiquer l'aspect des cultures de *Pseudomonas aeruginosa* obtenues sur ce milieu.
- b) L'auxanogramme du carbone est utile pour différencier les espèces du genre *Pseudomonas*.
- Définir l'auxanogramme du carbone et en donner le principe.
 - Lors de l'inoculation de la galerie API 20 NE, les cupules de l'auxanogramme sont ensemencées avec un inoculum peu dense. Justifier cette précaution.

2.1.9. *Neisseria gonorrhoeae*

- a) Indiquer les milieux choisis pour isoler cet agent pathogène à partir d'un prélèvement conjonctival purulent. Préciser les conditions d'ensemencement et d'incubation.
- b) Proposer la démarche à mettre en œuvre pour identifier cet agent infectieux à partir des isolements obtenus.

2.1.10. *Corynebacterium urealyticum* est responsable d'infections urinaires nosocomiales.

- a) Indiquer les principales caractéristiques morphologiques des bactéries du genre *Corynebacterium*.
- b) Les galeries miniaturisées utilisées pour identifier ce germe comprennent un test noté « URE ». Préciser la recherche effectuée à l'aide de ce test et présenter le principe de cette recherche.

2.1.11. Les mycobactéries

- a) Donner le principe d'une coloration utilisée pour les mettre en évidence.
- b) Citer un milieu de culture des mycobactéries en précisant ses principaux constituants.
- c) La manipulation des mycobactéries nécessite l'utilisation d'un poste de sécurité microbiologique (PSM). Avec ce dispositif, préciser comment la sécurité du manipulateur et celle de l'environnement sont assurées.

2.1.12. *Vibrio cholerae*

On a ensemencé un milieu TCBS préconisé par l'OMS. C'est un milieu très alcalin, sa formule (par litre d'eau distillée) est la suivante :

peptone 10,0 g	citrate de fer III 1,0 g	thiosulfate de sodium 10,0 g
extrait de levure 5,0 g	bile de boeuf 8,0 g	chlorure de sodium 10,0 g
saccharose 20,0 g	bleu de bromothymol 40 mg	agar 14,0 g
citrate de sodium 10,0 g	bleu de thymol 40 mg	pH=8,6

Expliquer le rôle du pH. *V. cholerae* donne de grandes colonies jaunes : justifier l'aspect de ces colonies.

2.2. AntibioGramme

2.2.1. Donner la définition de la concentration minimale bactéricide (CMB). Présenter les principales étapes d'une technique de la détermination de la CMB d'un antibiotique vis à vis d'une bactérie.

2.2.2. Indiquer les conditions de mise en évidence d'une BLSE sur un antibiogramme par la méthode des disques en milieu gélosé.

2.2.3. Décrire une méthode de détection des β -lactamases.

2.2.4. De nombreuses souches d'*Haemophilus influenzae* produisent une β -lactamase. Donner le principe d'un test de détection rapide de ces enzymes.

2.2.5. Comment se manifeste la résistance hétérogène des staphylocoques à la méthicilline dans la population bactérienne ? Indiquer une technique de mise en évidence au cours de l'antibiogramme.

2.2.6. Préciser le mécanisme de résistance de *Staphylococcus aureus* à la méthicilline ou à l'oxacilline. Cette résistance peut être homogène ou hétérogène : expliquer ces termes. Indiquer les conditions de réalisation de l'antibiogramme permettant de mettre en évidence ces caractéristiques.

Un antibiogramme réalisé sur une souche de streptocoque du groupe A donne les résultats suivants :

Pénicilline G	S	Streptomycine 10 UI	R
Ampicilline	S	500 μ g	S
Céfalotine	S	Gentamicine 10 UI	R
		500 μ g	S

(S : sensible, R : résistant)

a) Indiquer les conditions particulières à respecter pour réaliser l'antibiogramme d'un streptocoque du groupe A.

b) Présenter les différents comportements des streptocoques vis-à-vis des aminosides et expliquer les mécanismes impliqués.

c) Interpréter les résultats obtenus avec les aminosides sur cet antibiogramme.

2.2.7. Un homme âgé présente des signes d'endocardites. Une souche de *Staphylococcus aureus* a été isolée et identifiée dans les hémocultures successives qui ont été réalisées, et une antibiothérapie a été instaurée, avec une association de gentamicine et d'oxacilline. Pour vérifier l'efficacité du traitement, on effectue l'étude du pouvoir bactéricide du sérum. On dispose :

- du sérum du patient,
- d'une suspension de la souche de *S. aureus* isolée du patient constituant l'inoculum bactérien.

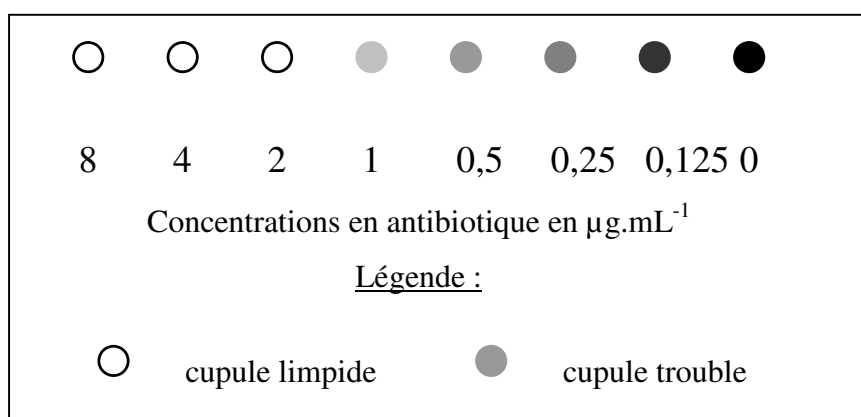
a) Présenter succinctement le protocole opératoire, y compris la composition du témoin réalisé.

b) Après incubation, ce sérum présente un effet bactériostatique à la dilution 1/32. Schématiser, en la justifiant, la gamme de dilutions correspondant à ce résultat.

c) On repique ensuite chaque tube limpide par étalement d'une strie, à l'aide d'une anse calibrée de 10 μL , sur une gélose coulée en boîte de Pétri. Après incubation, on compte les colonies sur chaque strie. La plus grande dilution ayant un effet bactéricide est 1/8.

Quel est l'ordre de grandeur du nombre de colonies obtenues pour les stries réalisées à partir des dilutions 1/4, 1/8 et 1/16 sachant que la concentration bactérienne de départ est de $5 \cdot 10^6$ bactéries par mL ?

2.2.8. L'étude d'un antibiotique sur une bactérie peut être réalisée en galerie miniaturisée. Une suspension bactérienne en bouillon nutritif est distribuée dans des cupules de concentrations finales croissantes en antibiotique. Les résultats obtenus après incubation sont présentés ci-dessous.



a) Définir le paramètre déterminé, donner sa valeur dans le cas présenté.

b) Pour l'antibiotique testé, les concentrations critiques c et C sont respectivement $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ et $8 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Définir c et C et donner une conclusion pour la souche testée ici.

c) En partant des résultats obtenus ci-dessus, décrire les différentes étapes permettant de déterminer la concentration minimale bactéricide.

2.2.9. En pratique, l'étude du pouvoir bactériostatique et bactéricide lié à l'association de deux antibiotiques peut être réalisée par la technique du « schéma triangulaire » en milieu liquide.

a) Indiquer brièvement les principales étapes de cette technique en prenant comme exemple trois antibiotiques notés A, B et C.

b) Proposer un exemple de résultat dans le cas où l'on recherche une association synergique bactéricide.

c) Si l'état du patient ne s'améliore pas, le laboratoire peut être amené à contrôler le traitement antibiotique : indiquer deux techniques qui peuvent être mises en œuvre pour effectuer ce contrôle.

2.3. Prélèvements

2.3.1. Généralités

2.3.1.1. L'étude de certains produits pathologiques impose la réalisation d'un dénombrement des germes présents dans le prélèvement.

- Citer deux produits pathologiques concernés.
- Dans chaque cas, montrer la nécessité du dénombrement.

2.3.2. Urines (E.C.B.U.)

2.3.2.1. Nommer la pathologie correspondant à une infection haute de l'appareil urinaire. Indiquer les résultats de l'ECBU caractérisant cette pathologie.

2.3.2.2. Un ECBU comprend toujours un dénombrement des bactéries. Décrire une technique et donner le principe de la lecture.

2.3.2.3. Montrer l'intérêt du milieu CLED dans le cadre de l'uroculture.

2.3.2.4. Préciser les critères cytotactériologiques d'une infection urinaire en précisant, si possible, les valeurs limites.

2.3.2.5. Le milieu CPS ID est un milieu permettant de réaliser simultanément le dénombrement et l'identification d'*E. coli*.

- Préciser comment s'effectuent l'ensemencement et la lecture de ce milieu pour évaluer la bactériurie.
- Expliquer la coloration rose à rouge bordeaux des colonies d'*E. coli* sur ce milieu.
- Citer un autre genre bactérien pouvant être rapidement identifié sur CPS ID.

2.3.2.6. L'observation microscopique montre une flore composée essentiellement de coques ovalaires Gram positif, groupés en courtes chaînettes, en diplocoques, parfois isolés.

- Proposer un milieu non sélectif et un milieu sélectif pour réaliser l'isolement.
- Préciser les principaux constituants de ces milieux et leur rôle. Décrire l'aspect des colonies obtenues dans les deux cas.

2.3.3. Prélèvements génitaux

2.3.3.1. La vaginose bactérienne est généralement due à une association de micro-organismes.

- Citer les espèces pouvant être impliquées.
- Indiquer les éléments caractéristiques de cette pathologie observables sur un frottis vaginal coloré par la méthode de Gram.

2.3.3.2. Définir la vaginose bactérienne. Citer deux micro-organismes dont la présence aura une signification pathologique quelqu'en soit le nombre dans un prélèvement vaginal.

2.3.3.3. Prélèvement urétral

En fonction des exigences du gonocoque et des problèmes de flore associée, quels milieux d'isolement faut-il choisir ? Préciser les conditions d'ensemencement et d'incubation.

2.3.4. Selles (coproculture)

2.3.4.1. Proposer un milieu d'isolement pour la recherche de *Yersinia enterocolitica* dans une selle diarrhéique. Préciser les constituants essentiels de ce milieu et les résultats attendus dans le cas d'un diagnostic positif.

2.3.4.2. Présenter les conditions d'isolement des *Campylobacter* à partir d'une coproculture et citer deux espèces pouvant être retrouvées dans les selles.

2.3.4.3. La recherche de l'agent responsable d'une diarrhée comprend toujours l'examen microscopique des selles. Cet examen inclut l'état frais ; deux frottis, l'un coloré au bleu de méthylène, l'autre au Gram. Préciser l'intérêt de chacune de ces préparations.

2.3.4.4. Citer deux milieux adaptés à l'isolement d'une *Salmonella* au cours d'une coproculture. Présenter et justifier la composition de l'un d'eux.

2.3.4.5. Une analyse coprologique a été effectuée pour Mr Yellow. La fiche ci-dessous indique les principaux résultats obtenus.

EXAMEN DES SELLES

- Aspect semi-liquide à pâteux, jaunâtre, pH 5,5
- Examen direct :
 - * flore pauvre, polymorphe, sans déséquilibre notable ;
 - * absence de leucocytes, d'hématies et de mucus.
- Culture sur milieux sélectifs : absence de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter jejuni*.
- Recherche de parasites négative.

a) Interpréter les résultats de cette analyse.

b) Décrire succinctement les étapes de cette analyse bactériologique et montrer l'intérêt de chacune d'elles.

2.3.4.6. *Escherichia coli* O157 est responsable de diarrhées hémorragiques pouvant entraîner de graves complications chez l'enfant. La recherche de cette bactérie s'effectue sur un milieu contenant : peptones, sels biliaires, cristal violet, chlorure de sodium, sorbitol, rouge neutre et agar. Les colonies suspectes (sorbitol –) sont mises en présence d'un latex sensibilisé.

- Donner la signification de « O157 ».
- Indiquer, en la justifiant, la couleur des colonies suspectes.
- Expliquer le principe du test effectué avec le latex sensibilisé et préciser la composition du témoin permettant de valider le résultat.

2.3.5. Hémoculture

2.3.5.1. Citer les critères de positivité des flacons d'hémoculture lors d'une lecture non automatisée. Présenter les avantages de l'utilisation d'un flacon diphasique.

2.3.5.2. Décrire les précautions à respecter pour éviter les échecs lors de la réalisation des hémocultures.

- Indiquer la marche à suivre pour l'identification et la recherche de la sensibilité aux antibiotiques à partir d'une hémoculture en flacon aérobique biphasique.
- L'identification d'une bactérie responsable d'une septicémie conduit à *Klebsiella pneumoniae*. Préciser les caractères biochimiques les plus importants ayant conduit à cette identification.
- La lecture de l'antibiogramme effectué permet un contrôle de cette identification. Justifier cette affirmation.

2.3.5.3. A la suite de la prise d'un antalgique, Monsieur X, d'origine grecque, âgé de 30 ans, présente les signes cliniques suivants :

- forte fièvre
- fortes douleurs dorsales et abdominales
- urine : brun foncé

Monsieur X est hospitalisé. Différents examens sont effectués :

- hémoculture
- bilan hématologique
- bilan biochimique

Au vu des résultats, une transfusion sanguine est envisagée.

Trois hémocultures sont réalisées pendant le premier jour d'hospitalisation. Une seule donne un résultat positif après trois jours d'incubation à 37°C : on identifie *Staphylococcus epidermidis*.

- Pourquoi a-t-on fait des hémocultures dans ce cas ?
- Quelle est la démarche de réalisation de l'hémoculture depuis le prélèvement jusqu'à l'identification ?
- Préciser les résultats obtenus à chaque étape dans le cas où l'on a isolé *Staphylococcus epidermidis*.
- Que pensez vous de la présence de *Staphylococcus epidermidis* dans cette hémoculture ?

2.3.5.4. En présence d'un état général inquiétant, la première analyse entreprise est une hémoculture.

- Citer les critères de positivité d'une hémoculture.
- Dans ce cas particulier, présenter les techniques dites « rapides » à mettre en place, d'une part en vue de l'identification de l'agent pathogène et d'autre part pour la réalisation de l'antibiogramme.
- Présenter les techniques à mettre en œuvre pour confirmer les résultats ainsi obtenus.

2.3.5.5. La lecture des flacons d'hémoculture peut être effectuée à l'œil nu ou par automate.

- Citer les principaux critères de positivité dans le cas d'une lecture visuelle.
- Donner un principe de détection d'une croissance bactérienne dans le cas d'une lecture automatique.

2.3.5.6. Les résultats de deux séries d'hémoculture sont les suivants :

Patient	Flacon aérobic	Flacon anaérobic	Délai de culture	Nombre de flacons +	Coloration de Gram
X	-	+	24 h	3/4	Gros bacilles Gram+ à bouts carrés
Y	+	-	3 jours	1/6	Petits bacilles Gram + en massue

Pour chaque cas X et Y, interpréter les résultats contenus dans ce tableau.

2.3.6. Liquide céphalorachidien

2.3.6.1. Citer les principales étiologies de méningites à LCR clair et indiquer les paramètres permettant de les distinguer.

2.3.6.2. Etude microbiologique d'un LCR.

- Citer les milieux à ensemencer systématiquement.
- Préciser les conditions de culture et justifier le choix des milieux.

2.3.6.3. Méningite à *Haemophilus influenzae*

- Dans le cas d'une méningite aiguë à *Haemophilus influenzae*, quel est l'aspect du LCR ? Justifier la réponse.
- Compte-tenu de l'urgence du diagnostic de méningite, une technique permet de dépister en quelques minutes *Haemophilus influenzae* directement à partir du prélèvement. Décrire cette technique et en présenter le principe.
- Classiquement, le LCR est ensemencé sur un milieu de culture adapté aux exigences des bactéries. Présenter la composition sommaire de ce milieu et ses conditions d'utilisation.
- Sur quels critères fondamentaux sont identifiés :
 - le genre *Haemophilus*
 - l'espèce *Haemophilus influenzae*

2.3.7. Prélèvements trachéobronchiques et rhinopharyngés

2.3.7.1. Un malade atteint du SIDA présente une infection respiratoire.

a) L'analyse d'une expectoration de ce malade a permis l'isolement d'une mycobactérie.

- Comment a été recueillie cette expectoration ? Quelles autres méthodes de prélèvement auraient pu être envisagées ?

- Citer les différentes étapes de l'analyse ayant conduit à l'isolement de la mycobactérie ? Préciser, en les justifiant, les précautions à prendre au cours de chacune d'elles.

b) L'identification de la souche isolée conduit au diagnostic de mycobactérie atypique. Sur quels critères a été établie cette identification ?

2.3.7.2. Quelles sont les espèces microbiennes impliquées dans l'association bactérienne responsable de l'angine de Vincent ? Indiquer l'aspect clinique de cette infection. Comment pose-t-on le diagnostic au laboratoire ?

2.3.7.3. A partir d'un prélèvement rhino-pharyngé, et en l'absence de renseignements cliniques, le laboratoire de bactériologie effectue une coloration de Gram et des mises en culture.

a) Préciser l'intérêt de cette coloration.

b) Présenter et justifier le choix des milieux ensemencés.

2.3.7.4. *Chlamydia pneumoniae*

a) Préciser les conséquences du type de multiplication de cette espèce sur les modalités du prélèvement de l'échantillon à analyser.

b) Citer une méthode de diagnostic direct des chlamydioses.

2.3.7.5. Les résultats de l'examen cyto bactériologique du produit d'expectoration de Monsieur B. sont présentés ci-dessous :

Origine du prélèvement : expectoration spontanée Caractères généraux : aspect muqueux Examen cytologique (coloration MGG) : - Cellules buccopharyngées : > 25 / champ (obj. x10) - Leucocytes : 2 / champ (obj. x10) - Cellules bronchiques : absence - Macrophages alvéolaires : absence - Hématies : absence - Levures : absence	Examen bactériologique : <u>Examen direct :</u> flore assez abondante <u>Description :</u> - peu nombreux bacilles Gram négatif - assez nombreux coques Gram positif en chaînettes <u>Cultures :</u> - Bactéries de la flore saprophyte banale
--	--

- a) Commenter l'examen cytologique. Conclure.
- b) Indiquer dans quel cas le dénombrement des bactéries doit être effectué sur une expectoration. Justifier la réponse.
- c) Monsieur B. est admis dans le service de pneumologie. Le tableau clinique oriente le diagnostic du pneumologue vers une légionellose. On procède à un lavage broncho-alvéolaire (LBA).
- Montrer l'intérêt de ce type de prélèvement par rapport à une expectoration spontanée.
 - Indiquer une coloration utilisable pour réaliser l'examen cytologique d'un LBA. Citer les cellules habituellement présentes dans un LBA en cas d'infection bactérienne.

2.3.8. Prélèvements d'épanchement, pus et sérosités

2.3.8.1. Qu'est-ce qu'un liquide d'épanchement ? Citer deux exemples de tels liquides en précisant leur localisation.