

DU Cicatrisation des plaies, brûlures
et nécroses

Bactériologie cutanée

Pr Emmanuelle CAMBAU
Bactériologie-Hygiène
CHU Saint Louis-Lariboisière
Université Paris Diderot

Pr Emmanuelle CAMBAU

Bactérie Hôte

Colonisation Infection

Cicatrisation Antibiotique

Pr Emmanuelle CAMBAU

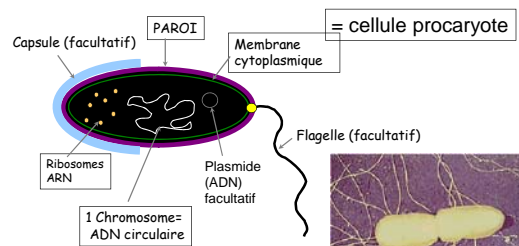
Bactérie Hôte

Colonisation Infection

Cicatrisation Antibiotique

Pr Emmanuelle CAMBAU

A quoi ressemble une bactérie?



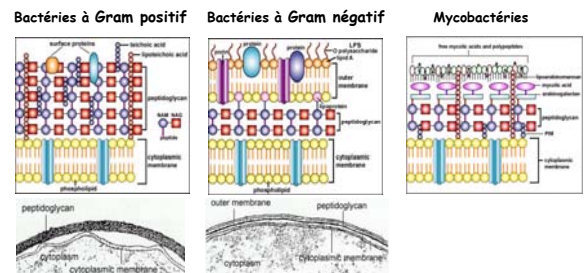
Pr Emmanuelle CAMBAU

Visualisation des bactéries

- Examen en microscopie optique
- Taille : 1µm => grossissement x40 ou x100
- Après coloration:
 - Coloration de Gram : violet de gentiane, décoloration alcool, contre coloration rouge (safranine) => bactéries à Gram positif (violette) et à Gram négatif (rouges) et fond rouge
 - Ziehl-Neelsen: fuchsine phéniquée, décoloration acide et alcool, contre coloration bleu de méthylène => bacilles acido-alcoolo-résistants rouge sur fond bleu
- Forme due à la paroi
 - Cocci: bactéries rondes, en ballons
 - Bacilles: bâtonnets

Pr Emmanuelle CAMBAU

Structure de la paroi bactérienne



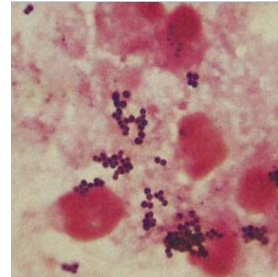
Pr Emmanuelle CAMBAU

Classification morphologique

- Cocci
 - à Gram positif
 - à Gram négatif
- Bacilles
 - à Gram positif
 - à Gram négatif
- Autres bactéries (atypiques)
 - paroi particulière: Mycobactéries, spirochetes
 - Pas de paroi (=>intracellulaires): Chlamydiae, mycoplasmes, rickettsiales, Coxiella

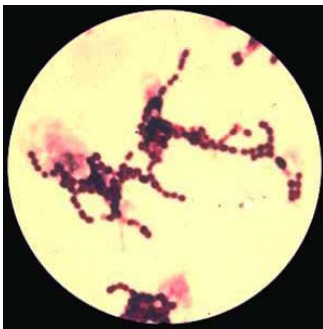
Pr Emmanuelle CAMBAU

Cocci à Gram positif en amas (Staphylocoque)



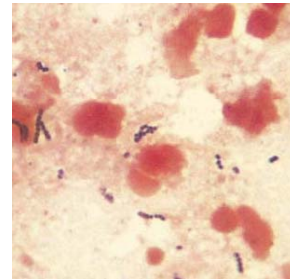
Pr Emmanuelle CAMBAU

Cocci à Gram positif en chaînette (Streptocoque)



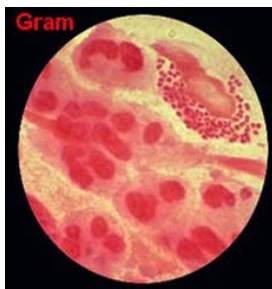
Pr Emmanuelle CAMBAU

Peptostreptococcus



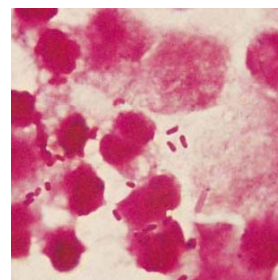
Pr Emmanuelle CAMBAU

Cocci à Gram négatif (*Neisseria*)



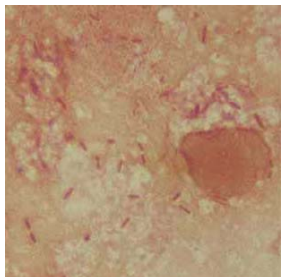
Pr Emmanuelle CAMBAU

Bacilles à Gram négatif (*Escherichia coli*)



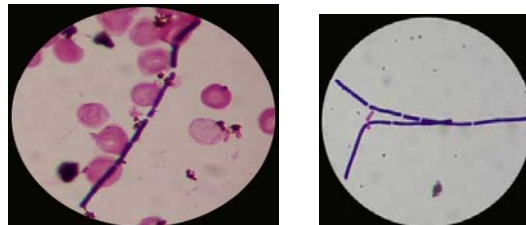
Pr Emmanuelle CAMBAU

Bacilles à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*)



Pr Emmanuelle CAMBAU

Bacille à Gram positif (*Bacillus anthracis*)



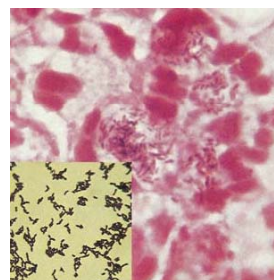
Pr Emmanuelle CAMBAU

Bacille à Gram positif (*Clostridium tetani*)



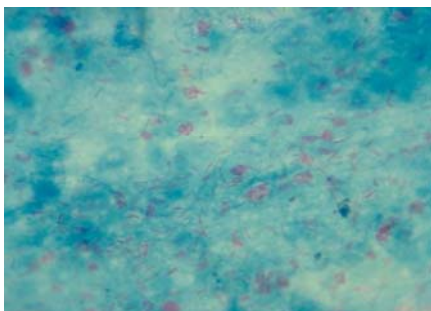
Pr Emmanuelle CAMBAU

Bacille à Gram positif (*Propionibacterium acnes*)



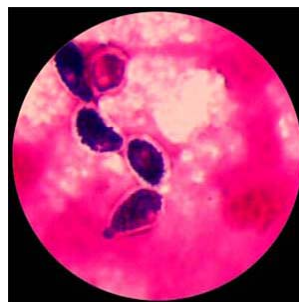
Pr Emmanuelle CAMBAU

Bacille acido-alcoolo-résistant (mycobactéries)



Pr Emmanuelle CAMBAU

Taille différente des levures



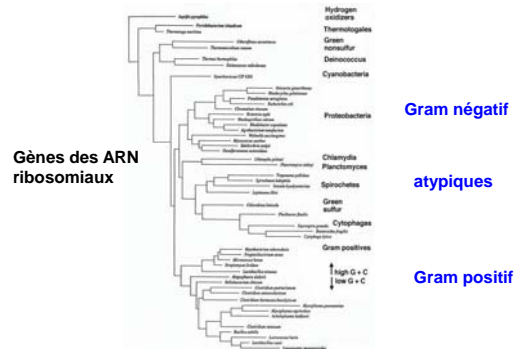
Pr Emmanuelle CAMBAU

Classification morphologique et métabolique

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> Gram positif <ul style="list-style-type: none"> - Cocci - Bacilles Gram négatif <ul style="list-style-type: none"> - Cocci - Bacilles Anaérobies stricts <ul style="list-style-type: none"> - Gram + (cocci) - Gram+ (bacille) - Gram - (bacille) Bactéries atypiques | <p>Exemples</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> |
|--|---|

Pr Emmanuelle CAMBAU

Classification génétique



Modes de transmission

- Transmission des bactéries
 - Par contact direct avec la peau et les muqueuses
 - Aérienne par inhalation de particules chargées de bactéries
- De nombreuses infections bactériennes sont dues à des bactéries déjà présentes dans l'organisme
 - flores commensales
 - commensal provisoire ou bactérie colonisante

Pr Emmanuelle CAMBAU

Classification fonctionnelle

Pathogène strict ou spécifique	Pathogène occasionnel	Pathogène opportuniste
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Salmonella enterica</i> Typhi	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Treponema pallidum</i>	<i>Escherichia coli</i>	Acinetobacter
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Bacillus anthracis</i>		<i>Clostridium difficile</i>
<i>Clostridium tetani</i>		

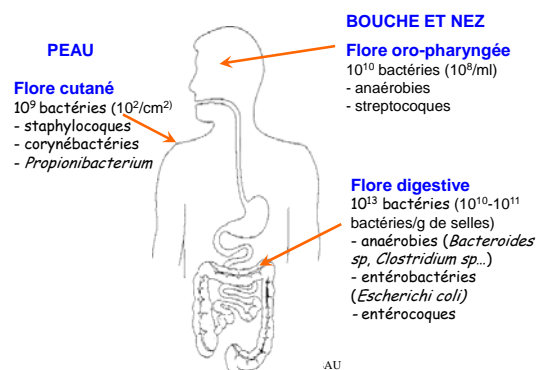
Pr Emmanuelle CAMBAU

Réservoirs

Homme ± animaux malades ->Pathogène strict	Homme ou animaux sains (commensal) -> pathogène occasionnel	Environnement (saprophyte) -> pathogène si inoculation ou immunodépression
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>S. pyogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Salmonella enterica</i> Typhi	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Treponema pallidum</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
Via vecteur (puces, poux) pour <i>Bartonella</i> ou <i>Rickettsies</i>	<i>Clostridium tetani</i>	<i>Bacillus anthracis</i> <i>Clostridium tetani</i>

Pr Emmanuelle CAMBAU

Flores commensales humaines



Flore cutanée permanente et transitoire

Flore permanente normale 10^2 à 10^3 /cm² (total 10^8 - 10^9)

Staphylococcus epidermidis et autres à coagulase négative
Micrococcus
Propionibacterium acnes
Corynebacterium spp
Brevibacterium
Malassezia furfur
Candida

Flore transitoire normale

Staphylococcus aureus
Streptococcus pyogenes
Acinetobacter,
Proteus, Escherichia coli
Klebsiella,

Flore transitoire anormale

SARM
Enterocoques,
Acinetobacter ®
 Enterobactéries BLSE
Pseudomonas aeruginosa
Serratia

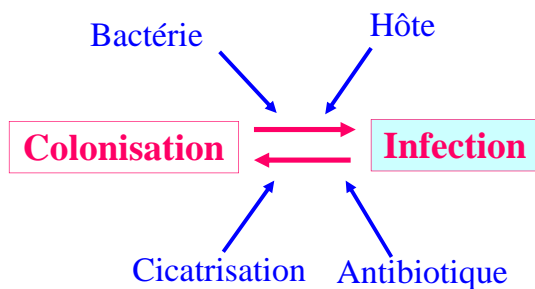
Pr Emmanuelle CAMBAU

Microbiote cutané

- Population microbienne présente sur la peau
- Déterminée par outils génétiques (séquençage haut débit, métagénomique)
- Étudie les variations de la flore normale
 - Selon les actes de la vie quotidienne
 - Selon les sites ou conditions locales physico-chimiques
- Commence à étudier la flore en fonction des pathologies et les interactions entre les microorganismes

Rosenthal M et al. 2011

Pr Emmanuelle CAMBAU



Pr Emmanuelle CAMBAU

Déterminants de la maladie infectieuse

Pour induire une maladie infectieuse, un agent pathogène doit être capable :

1. d'être transporté vers l'hôte
2. d'adhérer et de coloniser ou d'envahir l'hôte
3. d'échapper aux mécanismes de défense de l'hôte
4. de posséder la capacité mécanique, chimique ou moléculaire de nuire à l'hôte

Pr Emmanuelle CAMBAU

Pouvoir pathogène des bactéries

- Résulte de l'expression de facteurs de virulence
- Certaines bactéries restent exclusivement localisées à la surface des muqueuses avec synthèse d'exotoxines
- Certaines bactéries sont capables d'envahir la muqueuse
- Certaines bactéries traversent la muqueuse et atteignent la circulation sanguine et lymphatique avec dissémination dans tout l'organisme

Pr Emmanuelle CAMBAU

Bactéries responsables d'infections cutanées

- Impetigo: *S. aureus*, *S. pyogenes* (beta-hémolytique du groupe A)
- Erysipèle: *S. pyogenes*
- Cellulite: *S. aureus*, streptocoques A, C, G
- Fasciite nécrosante: *S. pyogenes*, *Vibrio vulnificus*, *Aeromonas hydrophila*.
- Gangrène gazeuse: *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium histolyticum*, or *Clostridium novyi*.
- Morsures: *Pasteurella*, *S. aureus*, *Bacteroides tectum*, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, *Porphyromonas*, *Eikenella*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*,
- Contact avec les animaux: *Bartonella*, *Bacillus Erysipelothrix*...

Pr Emmanuelle CAMBAU

IDSA, CID, 2010

Les Staphylocoques

Souvent pathogène

- staphylocoque doré
- ou
- staphylocoque à coagulase positive
- ou
- *Staphylococcus aureus*

rarement pathogène

- Staphylocoque blanc
- ou
- Staphylocoque à coagulase négative
- ou
- *Staphylococcus*
 - *epidermidis*
 - *capitis*
 - *saprophyticus*
 - *haemolyticus*
 - *lugdunensis*

Pr Emmanuelle CAMBAU

Streptocoques

- Beta-hémolytiques: groupes A,B, C, G, F => souvent **pathogènes**
 - comprend *S. pyogenes* (A), *S. agalactiae* (B), *S. equisimilis* (C), *S. constellatus* et *S. anginosus* (F) (ex groupe milleri), etc...
- Alpha-hémolytiques: *S. pneumoniae*, *S. oralis*, *S. mitis* => **streptocoques oraux**
- Streptocoques ex groupe D: **streptocoques digestifs**, groupe *S. bovis* (*S. gallolyticus*...)
=> Proches des Enterocoques , responsables d'infections à point de départ digestif

Pr Emmanuelle CAMBAU

Répartition des espèces bactériennes en fonction de la nature de la lésion

bactéries	Superficiel	Abcès	Ulcère	Escarres
<i>S. aureus</i>	50%	30%	50%	30%
Streptocoques BH	30%	10%	20%	10%
Bacille pyocyanique	5%		30%	30%
Anaérobie	15%	50% G- et G+	18%	50%
Enterobacter	5%	10%	20%	20%

D'après Kontiainen EJCM 1987

Pr Emmanuelle CAMBAU

Bactéries isolées en fonction du site cutané

	Tête	Main	Jambe	Fessier	Total
Nbre de prélèvements effectués	18	15	13	9	
Bactérie aérobie					
<i>S. aureus</i>	4	10	8	1	25
<i>S. epidermidis</i>		3	2		5
Streptococcus alpha	2	1	2	2	8
Streptococcus groupe A	3	4	2		9
Enterocoque		1		3	4
<i>H. influenzae</i>	4				4
<i>E. coli</i>			1	5	6
Enterobacter	1		2	3	6
Proteus				3	3
<i>P. aeruginosa</i>		1	1	5	7
<i>K. pneumoniae</i>		1	1		2
Total nombre aérobie	14	21	19	22	79
Bactérie anaérobie					
Peptostreptococcus	7	8	1	5	22
<i>P. acnes</i>		3	2		5
Clostridium			1	1	2
Eubacterium	1	2	1		4
<i>B. fragilis</i>			2	8	10
<i>B. melaninogenicus</i>	4			1	5
Fusobacterium	4	1			5
Total nombre anaérobie	16	14	7	15	53
Total	30	35	26	37	132

Microbiology of decubitus ulcers in 21 patients (including 16 with bacteremia)

Microbial Isolates	Nombre de patients	
	Decubitus	blood
Aerobic Isolates	14	5
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0
<i>Escherichia coli</i>	9	1
<i>Pseudomonas</i>	5	0
<i>Klebsiella</i>	4	0
Enterobacter	3	0
Providencia	1	0
Staph. Aureus	6	3
Staph. Epidermidis	5	0
Streptococci group A	2	1
Streptococci group D	11	1
Streptococci ni Group A, ni D	1	0
Diphtheroids	3	0
Candida	1	0
Anaerobic isolates	4	8
Bacteroides fragilis	4	8
<i>Bacteroides corrodans</i>	1	0
<i>Peptococcus</i> and <i>peptostreptococcus</i>	3	5
Microaerophilic streptococcus	1	0
Clostridium	3	0
Eubacterium	0	1

Galpin et al. Am J Med 1976, 61 Pr Emmanuelle CAMBAU

Réussite des greffes selon le nombre de bactéries présentes

Quantité de germes et taux de réussite des greffes			
Nombre	Réussite	Echec	total
+++ et plus	14	21	35
++ et moins	11	7	18
total	25	28	53
non significative			

L'importance de la population bactérienne n'a pas d'influence statistiquement démontrable.

Ann Chir Plast Esthet 1991 – vol 36 – n°1

Pr Emmanuelle CAMBAU

Population bactérienne répartition par espèces

Streptocoque A.....	24
Staphylocoque CG+.....	51
Staphylocoque CG-.....	9
Pyocyanique.....	15
Proteus.....	7
Acinetobacter.....	7

Ann Chir Plast Esthet 1991 – vol 36 – n°1

Pr Emmanuelle CAMBAU

Réussite des greffes selon le nombre de bactéries présentes

Relation entre la quantité de staphylocoques dorés et la prise des greffes

Variables indépendantes
R=-0,03

Ann Chir Plast Esthet 1991 – vol 36 – n°1

Pr Emmanuelle CAMBAU

Réussite des greffes selon le nombre de bactéries présentes

Présence de pseudomonas aeruginosa			
pseudomona	Réussite	Echec	total
Oui	8	4	12
Non	19	22	41
total	27	26	53

non significative X2 = 1,54

Relation entre la quantité de pseudomonas aeruginosa et la prise des greffes

Variables indépendantes
R= 0,13 non significatif

Ann Chir Plast Esthet 1991 – vol 36 – n°1

Pr Emmanuelle CAMBAU

Réussite des greffes selon le nombre de bactéries présentes

Présence de streptocoques A bêta-hémolytique influence sur la prise des greffes

Présence	Réussite	Echec	total
Oui	7	16	23
Non	19	9	28
total	26	25	52

Significative A 1% X2 = 7,231

Relation entre la quantité de streptocoques A et la prise des greffes

Très grande corrélation négative
R= -0,53

Ann Chir Plast Esthet 1991 – vol 36 – n°1

Pr Emmanuelle CAMBAU

Diagnostic microbiologique

- Facile si
 - Isolement d'une bactérie pathogène
 - Hémodultures positives
 - Lésion cutanée récente: trauma, inoculation, Corps étranger
- Difficile si
 - Plaie subaigüe ou chronique
 - Escarre, ulcères, brûlures

Pr Emmanuelle CAMBAU

Procédure d'une analyse microbiologique



Pr Emmanuelle CAMBAU

Critères diagnostiques pour une infection de plaie (CDC, Afssaps)

Présence de 2 des signes suivants :

- Rougeur
- Douleur
- Œdème des bords de la plaie

Et d'1 des signes suivants :

- Germe isolé de la culture du liquide obtenu par aspiration à l'aiguille
- Germe isolé du tissu biopsié au bord de l'ulcération ($10^5/g$)
- Germe isolé par hémoculture

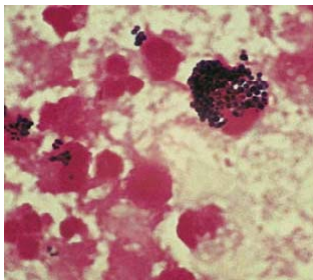
Pr Emmanuelle CAMBAU

Critères diagnostiques microbiologiques

- Examen microscopique direct positif
 - => supérieur à $10^4 - 10^5$ bactéries /ml
 - Oriente les cultures à faire
 - Confirme les résultats de cultures
- Isolement d'une bactérie pathogène
- Culture monomicrobienne avec $>10^5$ bactéries /ml

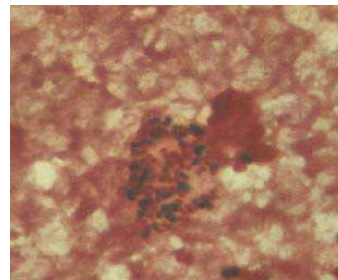
Pr Emmanuelle CAMBAU

Difficulté de lecture de l'examen microscopique *Staphylococcus aureus* (pus)



Pr Emmanuelle CAMBAU

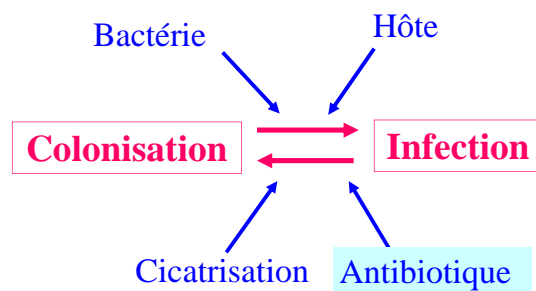
Difficulté de lecture de l'examen microscopique *Staphylococcus aureus* (hématome)



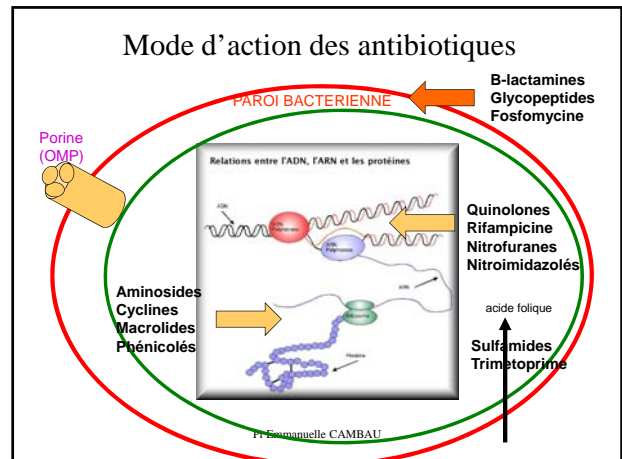
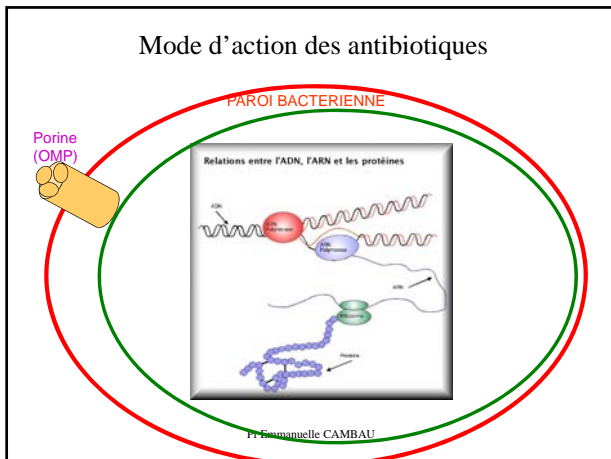
Pr Emmanuelle CAMBAU

Bases microbiologiques du traitement antibiotique

Pr Emmanuelle CAMBAU



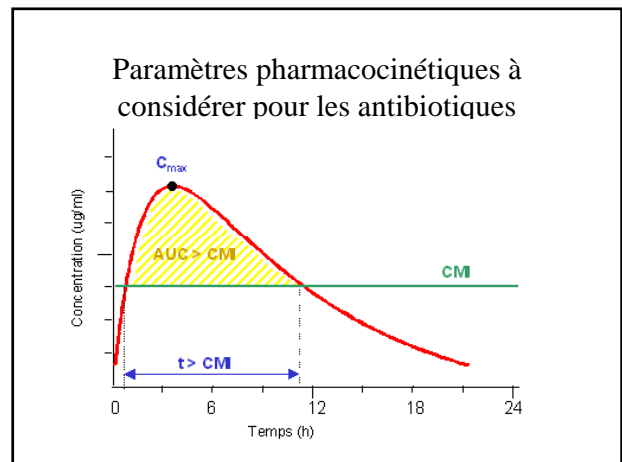
Pr Emmanuelle CAMBAU



Antibiogramme standard. les catégories cliniques S, I, R

- S = probabilité forte de succès thérapeutique si voie systémique et posologie recommandée
- R = forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type d'administration et la dose administrée
- I = succès thérapeutique imprévisible

Pr Emmanuelle CAMBAU



Paramètres PK/PD des antibiotiques: exemples

- Vancomycine
 - lentement bactéricide (temps dépendant) => résiduel élevé et administration rapprochée (perf continue)
 - Faible diffusion extra-vasculaire et méningée => posologies élevées
- Teicoplanine
 - Résiduel élevé
 - Dose de charge 400 mg/12h x 3
- Fluoroquinolones
 - Bactéricidie concentration-dépendante
 - $C_{max}/CMI > 10$ ou $AUC/CMI > 100$
- Gentamicine
 - Bactéricidie rapide, concentration-dépendante
 - Monodose quotidienne 3mg/kg ou 1,5 mg/kg/12h
 - 5 jours maximum sauf endocardite

Pr Emmanuelle CAMBAU

Association d'antibiotiques

Objectifs :

- **Élargir le spectre** (le plus souvent en cas d'antibiothérapie probabiliste, mais aussi en cas d'infection polymicrobienne)
- **Diminuer le risque de sélectionner un mutant résistant** (dépend du germe : BK, pyo, et de l'antibiotique : attention à fosfomycine, rifampicine, acide fusidique ± quinolones à ne jamais prescrire en monothérapie)
- Obtenir un effet bactéricide plus intense = **synergie**
- (diminution de posologie ou de toxicité : rien de démontré !!!)

Pr Emmanuelle CAMBAU

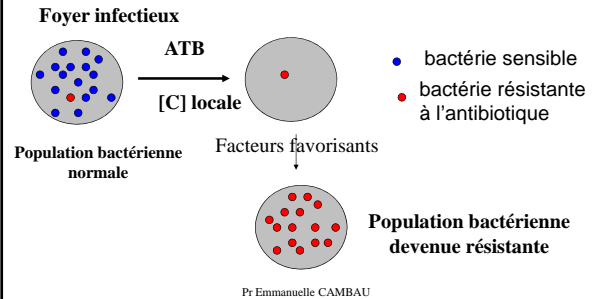
Association d'antibiotiques

MAIS :

- ↑ coût
- ↑ risque d'effets indésirables (tolérance, toxicité, interférences médicamenteuses, modification de la flore)
- ↑ pression de sélection sur la flore commensale de l'individu et l'environnement
- Risque d'échec par antagonisme antibactérien

Pr Emmanuelle CAMBAU

Schéma de sélection de mutants résistants



Staphylococcus aureus et staphylocoques blancs Antibiotiques actifs

- Béta-lactamines (sauf aztréonam)
- Aminosides
- Tétracyclines
- Phénicolés
- Sulfamide-Triméthoprim-cotrimoxazole
- Glycopeptides
- Macrolides, Lincosamides, Streptogramines, Kétolides
- Rifampicine
- Acide fusidique
- Fosfomycine
- Fluoroquinolones
- Oxazolidinones

Pr Emmanuelle CAMBAU

Staphylococcus aureus : fréquence de la résistance acquise

Phénotype	Mécanisme de résistance	Ville (%)	Hôpital (%)
PéniS-MetiS	Aucun	10	<5
PéniR-Metis	Pénicillinase plasmidique	80	75
PéniR-MetiR	Gène <i>mecA</i> chromosomique	2	25

Pr Emmanuelle CAMBAU

Traitement des infections à staphylocoques lère intention

- Souche Péni - S
=> Pénicilline G
- Souche Péni - R Méti - S (SASM)
=> Oxa ou cloxacilline
(ou céfalotine ou céfamandole)
- Souche Péni- R Méti- R (SARM)
=> Vancomycine ou teicoplanine

Pr Emmanuelle CAMBAU

SARM « communautaires »

- Infections cutanées nécrotiques (furoncle, anthrax, panaris, abcès, mastite) et pneumonies nécrosantes chez les enfants
- Ces infections nécessitent parfois un drainage chirurgical et peuvent récidiver
- SARM produisant la leucocidine (toxine) de Panton-Valentine

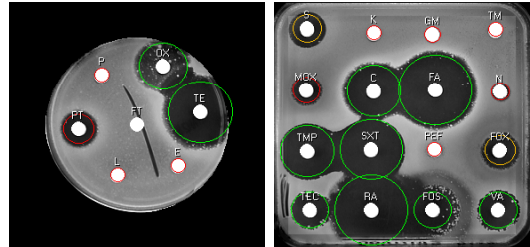
Pr Emmanuelle CAMBAU

SARM « communautaires »

- Très récemment, en France et dans de nombreux pays européens, USA, Australie
- Préférentiellement dans les populations de faible niveau socio-économique
- Fort potentiel épidémique et de virulence qui s'est traduit par des épidémies dans des collectivités fermées (prisons, écoles) et dans des hôpitaux (ex : épidémie dans les Côtes d'Armor).
- 1 clone en France mais plusieurs dans le Monde (Vandenesch, Emerg Infect Dis 2003)

Pr Emmanuelle CAMBAU

Antibiogramme SARM hétérogène



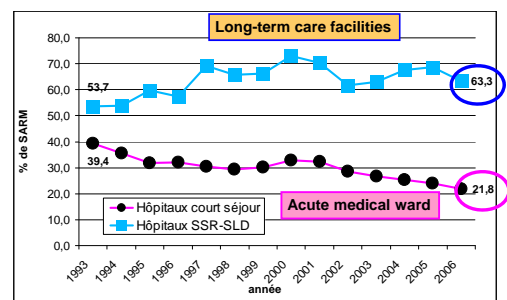
Pr Emmanuelle CAMBAU

Antibiogramme typique SARM-PVL (souche française)



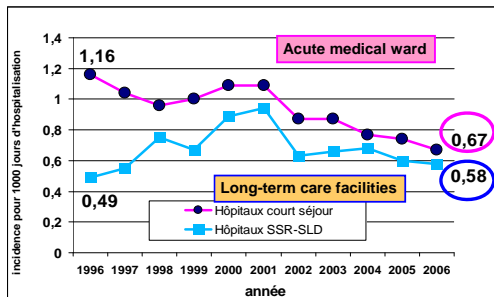
Pr Emmanuelle CAMBAU

Surveillance data for MRSA in Paris Hospitals Proportion (%) among *S. aureus*



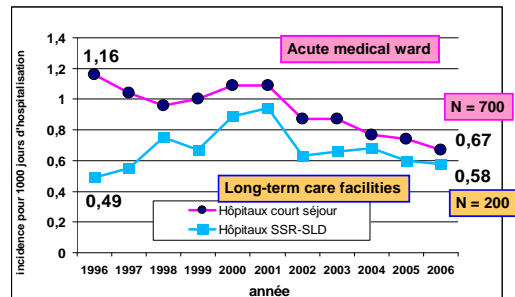
Pr Emmanuelle CAMBAU Jarlier et al. 2010

Surveillance data for MRSA in Paris Hospitals Incidence for 1 000 Hospital day



Pr Emmanuelle CAMBAU

Surveillance data for MRSA in Paris Hospitals Number of cases per year



Pr Emmanuelle CAMBAU

Conclusion

- « Paix aux germes de bonne volonté » (Villain)
- Ennemis : streptocoque B-hémolytique (A, C, G),
Bacteroides fragilis, SARM (car résistant)
- Diagnostic d'infection adapté
- Traitement antibiotique adapté:
 - Strepto → pénicilline
 - Anaérobies → metronidazole
 - Mélange → Augmentin
- Lutter pour:
 - Accélérer la cicatrisation
 - Éviter les apports exogènes de bactéries
 - Diminuer la nécrose

Pr Emmanuelle CAMBAU