

Abréviations

2SP	milieu saccharose-phosphate	ASK	antistreptokinase
AAF	aéro-anaérobie facultatif	ASLO	antistreptolysines O
Ac	anticorps	ATP	adénosine triphosphate
ACA	acrodermatite chronique atrophiante	ATS	American Thoracic Society
ACCM-2	<i>acidified citrate cysteine medium</i>	BAAR	bacille acido-alcool-résistant
ADH	arginine dihydrolase	BBE	<i>Bacteroides</i> -bile-esculine
ADN	acide désoxyribonucléique	BCG	bacille de Calmette et Guérin
ADR	arrêté du 25 avril 2000 modifiant l'arrêté du 5 décembre 1996 modifié	BCM	<i>bacillus cereus medium</i>
AES	accident d'exposition au sang	BCP	bromocrésol pourpre
AET	aspiration endotrachéale	BCSA	British Columbia Safety Authority
AFLP	<i>amplified fragment length polymorphism</i>	BCYE	<i>buffered charcoal yeast extract</i>
Afnor	Agence française de normalisation	BET	bromure d'éthidium
Afssaps	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé	BG	milieu solide de Bordet-Gengou
AFU	Association française d'urologie	BGN-NF	bacilles à Gram négatif non fermentaires
ALLO	anticorps antilistériolysine O	BHI	<i>brain heart infusion</i> (milieu cœur-cerveau)
ALOA	Agar listeria Ottaviani Agosti®	BHRe	bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes
AMM	autorisation de mise sur le marché	BIBI	Bioinformatics Bacterial Identification
AMPc	adénosine monophosphate cyclique	BIGSdb	<i>Bacterial isolate genome sequence database</i>
Anaes	Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé	BK	bacille de Koch
ANC	acide nalidixique-colistine	BLAST	<i>basic local alignment search tool</i>
ANSM	Autorité nationale de sécurité du médicament et des produits de santé	BLNAR	<i>beta-lactamase negative ampicillin resistant</i>
AP-PCR	<i>arbitrarily-primed polymerase chain reaction</i>	BLSE	β-lactamase à spectre étendu
APGAR	moyen chiffré rapide pour évaluer l'état des grandes fonctions vitales à 1 minute de vie dû à Virginia Apgar	BMC	<i>bacterial medium chromogenic</i>
APR	appareils de protection respiratoire	BMR	bactérie multirésistante
ARDRA	<i>amplified rDNA restriction analysis</i>	BNAG	n-acétyl-β-glucosaminidase
ARN	acide ribonucléique	BORSA	<i>borderline oxacillin-resistant S. aureus</i>
ARNm	acide ribonucléique messager	BPCO	bronchopneumopathie chronique obstructive
ARNr	acide ribonucléique ribosomal	BPPH	Bonnes pratiques de pharmacie hospitalière
ARNt	acide ribonucléique de transfert	BSK	milieu Barbour-Stoenner-Kelly
ARS	Agence régionale de santé	BVAB-2	<i>bacterial vaginosis-associated bacteria 2</i>
ASD	antistreptodornases	BVHRI	bactéries vaginales à haut risque infectieux
		BW	réaction de Bordet-Wassermann
		CA-SFM	Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie
		CagA	îlot de pathogénicité Cag

VIII Abréviations

CAMP-test	test de Christie, Atkins, Munch-Petersen	CRP	<i>C-reactive protein</i> (protéine C-réactive)
CAP	colistine et aztréonam	CSH	cellules souches hématopoïétiques
CARDS	<i>community acquired respiratory distress syndrome</i>	CSHPF	Conseil supérieur d'hygiène publique de France
CAT	milieu campylobacter	Ct	<i>threshold cycle</i>
CCFA	cyclosérine-céfoxitine-fructose-agar	CT	toxine cholérique
CDC	Center for Diseases Control and Prevention	CTA	<i>cystine-tryptic agar</i>
CE	corps élémentaire/marquage de la Communauté européenne	CTX-M	céfotaximase-Munich
CFTR	<i>cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>	DAEC	<i>diffusely-adhering E. coli</i> (<i>E. coli</i> à adhésion diffuse)
CGG	Commission de génie génétique	DAPI	4'-diamino-2-phénylindole
CHV	correspondant d'hémovigilance	DASRI	déchets d'activité de soins à risque infectieux
CIDIST	Centre d'information, de dépistage et de diagnostic des infections sexuellement transmissibles	dATP-αS	nucléotides alpha-thio-dATP
CIE	contre-immunoelectrophorèse	ddGTP	didésoxyribonucléotide à guanine
CIL	comparaison interlaboratoire	DDH	<i>DNA-DNA hybridization</i>
CIN	cefsulodine-irgasan-novobiocine	ddNTP	didésoxyribonucléotides
CIP	collection de l'Institut Pasteur	DEIA	<i>detection immunoenzymatic assay</i>
CIQ	contrôle interne de qualité	DGS	Direction générale de la santé
CIRE	Cellule inter-régionale d'épidémiologie	DHN	dermo-hypodermite nécrosante
CLED	cystine-lactose-électrolyte déficient	DMDIV	dispositifs médicaux de diagnostic in vitro
CLHP	chromatographie liquide à haute performance	DMM	dose minimale mortelle
CLIN	Comité de lutte contre les infections nosocomiales	DMSO	diméthyl sulfoxide
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute	dNDP	désoxydinucléotide phosphate
CMB	concentration minimale bactéricide	dNMP	désoxymononucléotide phosphate
CMI	concentration minimale inhibitrice	dNTP	désoxyribonucléotides triphosphates
CMV	cytomégalovirus	DOP	diocetylphthalate
CNA	colistine et acide nalidixique	DPC	développement professionnel continu
CNR	Centre national de référence	DRIRE	Direction régionale de l'industrie de la recherche et de l'environnement
Cofrac	Comité français d'accréditation	dTTP	désoxythymidine triphosphate
Cp	<i>crossing point</i>	DUJ	dose unique journalière
CP	concentrés plaquettaires	dUTP	désoxy-uridine triphosphate
CPM	colite pseudomembraneuse/ concentration de prévention des mutants résistants	EAggEC	<i>E. coli</i> entéroaggrégatif
CPS	carte professionnelle santé	EAT	épreuve de l'antigène tamponné (test au rose Bengale)
CQ	contrôle de qualité	EBLSE	entérobactérie β -lactamase à spectre élargi (ou étendu)
CQN	Contrôle de qualité national	EBV	virus d'Epstein-Barr
CR	corps réticulé	ECA	<i>Enterobacteriaceae common antigen</i>
CRG	concentrés de globules rouges	ECAD	<i>E. coli</i> à adhésion diffuse
CRH	coordinateur régional d'hémovigilance	ECBC	examen cytotactériologique des crachats
CRISPR	<i>clustered regularly interspaced short palindromic repeats</i>	ECBU	examen cytotactériologique des urines
		ECDC	European Center for Disease Prevention and Control

ECEAg	<i>enteroaggregative E. coli</i> (<i>E. coli</i> entéroagrégatifs)	FIA	<i>fluoro-immunoassay</i>
ECEH ou EHEC	<i>E. coli</i> entérohémorragiques	FIC	<i>fractional inhibitory concentration</i>
ECEI ou EIEC	<i>E. coli</i> entéro-invasifs	FPIA	<i>fluorescence polarization immuno-assay</i>
ECEP ou EPEC	<i>E. coli</i> entéro-pathogènes	FRET	<i>fluorescence resonance energy transfer</i>
ECET ou ETEC	<i>E. coli</i> entérotoxigènes	FTA	<i>fluorescent treponemal antibody test</i>
ECP	effet cytopathogène	FTA-abs	<i>fluorescent treponemal antibody absorbed</i>
EDIN	<i>epidermal cell differentiation inhibitor</i>	GALT	<i>gut associated lymphoid tissue</i>
EDTA	acide éthylène diamine tétracé- tique	GAS	<i>Group A Streptococcus</i>
EEQ	évaluation externe de la qualité	GB	globules blancs
EFSA	European Food Safety Authority	GBEA	Guide de bonne exécution des analyses
EHEC	<i>Escherichia coli</i> entéro-hémorra- gique	GC	guanine-cytosine
EI	endocardite infectieuse	GDH	glutamate déshydrogénase
EI	étalon interne	GDV	<i>genomic detection of virus</i>
EIA	<i>enzyme immunoassay</i>	GEFH	Groupe d'études français des Hélicobacters
EIEC	<i>E. coli</i> entéro-invasif	γ GT	gamma-glutamyl transférase
ELISA	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i>	GISA	<i>glycopeptide-intermediate Staphy- lococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> de sensibilité intermé- diaire aux glycopeptides)
EM	érythème migrant	GLU	glucose
EMB	éosine-bleu de méthylène	GNA	glomérulonéphrite aiguë
EMIT	<i>enzyme multiplied immunotech- nique</i>	GNAC	<i>Gram-negative anaerobic cocci</i> (cocci à Gram négatif anaéro- bies)
EMJH	milieu de Ellinghausen-MacCul- lough modifié par Johnson et Harris	GPAC	<i>Gram-positive anaerobic cocci</i> (cocci anaérobies à Gram positif)
EMT	erreurs maximales tolérées	GR	globules rouges
EOH	équipe opérationnelle d'hygiène	GRSA	<i>glycopeptide-resistant Staphylo- coccus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant aux glycopep- tides)
EOS	<i>extremely oxygen sensitive</i>	GTA	guide technique d'accréditation
EPA	effet postantibiotique	GVPC	BCYE supplémenté en vancomy- cine, glycine et colistine
EPC	entérobactéries productrices de carbapénémases	HACCP	<i>hazard analysis critical control point</i>
EPEC	<i>E. coli</i> entéro-pathogène	HACEK ou HACCEK	regroupe six espèces de bacté- ries Gram négatif : <i>Haemophi- lus aphrophilus/paraphrophilus</i> , <i>Actinobacillus actinomyce- temcomitans</i> , <i>Capnocyto- phaga</i> spp., <i>Cardiobacterium hominis</i> , <i>Eikenella corrodens</i> et <i>Kingella</i>
EPI	équipements de protection indi- viduelle	HAS	Haute autorité de santé
ERG	entérocoque résistant aux gly- copeptides	HEG	hexéthylène glycol
ERV	entérocoque résistant à la vanco- mycine	HEK	gélose Hektoen
ESBL	<i>extended-spectrum β-lactamase</i>	HEPA	<i>high efficiency particulate air</i>
ETEC	<i>E. coli</i> entérotoxigène	HGA	<i>human granulocytic anaplasmosis</i>
EUCALB	European Concerted Action on Lyme Borreliosis (Action concer- tée européenne sur la borréliose de Lyme)		
EUCAST	European Committee on Antimi- crobial Susceptibility Testing		
EWGLI	European Working Group for Legionella Infection		
FAME	<i>fatty acid methyl ester</i>		
FBC	<i>fractional bactericidal concentra- tion</i>		
FFP	<i>filtering facepiece particles</i>		

X Abréviations

hGISA	<i>heterogeneous glycopeptide-intermediate Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> de résistance hétérogène aux glycopeptides)	LAM	lipoarabinomannane
HME	<i>human monocytosis Ehrlichiosis</i>	LBA	liquide bronchoalvéolaire
HMP	<i>Human microbiome project</i>	LBM	laboratoire de biologie médicale
HPST	loi hôpital, patients, santé et territoires	LCR	<i>ligase chain reaction</i> /liquide céphalorachidien
HSV-1, HSV-2	virus <i>herpes simplex</i> de type 1 ou 2	LDC	lysine décarboxylase
HTM	<i>haemophilus test medium</i>	LGV	lymphogranulome vénérien ; lymphogranulomatose vénérienne
I	inosine	LIA	<i>lumino-immunoassay</i>
i.v.	iso-valérique	LiPA	<i>line probe assay</i>
IC	immunochromatographie/intervalle de confiance	LLAP	<i>legionella-like-amoebal pathogens</i>
ICD	infection à <i>C. difficile</i>	LNE	Laboratoire national d'essai
ICSP	International Committee on Systematics of Prokaryotes	LPS	lipopolysaccharide
IDR	intradermoréaction	LPSN	List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature
IF	immunofluorescence	LT	entérotoxine thermolabile
IFD	immunofluorescence directe	MAC	mycobactéries du complexe aviaire
IFI	immunofluorescence indirecte	MAI	maladie auto-immune
IFLA	<i>immunoluminometric assay</i>	MALDI-TOF	<i>matrix-assisted laser desorption/ionisation-time-of-flight</i>
IFMA	<i>immunofluorometric assay</i>	MALT	<i>mucosa associated lymphoid tissue</i>
IG	immunoglobuline	MAP	menace d'accouchement prématuré
IGRA	<i>interferon γ release assay</i>	MAQ	Manuel d'assurance qualité
IL	interleukine	MAT	<i>microscopic agglutination test</i> (test d'agglutination microscopique)
IM	intramusculaire	mCCD	<i>modified cefoperazone charcoal deoxycholate</i> (milieu campylobacter-charbon)
IMF	infection maternofoetale	MCLO	<i>mycobacterium chelonae like-organism</i>
INF	interféron	MDO	maladies à déclaration obligatoire
INRS	Institut national de recherche et de sécurité	MetaHIT	<i>Metagenomics of the Human Intestinal Tract</i>
InVS	Institut national de veille sanitaire	MEVAG	milieu de Hugh et Leifson
IOA	infections ostéoarticulaires	MEYP	milieu <i>mannitol-egg yolk-polymyxin B agar</i>
IOAC	infections ostéoarticulaires complexes	MGG	coloration de May-Grünwald-Giemsa
IPP	inhibiteur de la pompe à protons	MGIT	<i>mycobacteria growth indicator tube</i>
IRMA	<i>immunoradiometric assay</i>	MH	gélose de Mueller-Hinton
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>	MICI	maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
IST	infection sexuellement transmissible	MIF	micro-immunofluorescence
ITCB	incident transfusionnel par contamination bactérienne	MIRU	<i>mycobacterial interspersed repetitive units</i>
ITL	infection tuberculeuse latente	MLEE	<i>multilocus enzyme electrophoretotype</i>
ITS	infection transmise sexuellement	MLS	macrolides, lincosamides, streptogramines
ITU	infection du tractus urinaire	MLSA	<i>multilocus sequence analysis</i>
IV	intraveineux		
JK	<i>Corynebacterium jeikeium</i>		
KCN	cyanure de potassium		
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénémase		
LAC	lactose		

MLSK	macrolides-lincosamides-streptogramines-kétolides	PAS	<i>periodic acid schiff</i>
MLST	<i>multilocus sequence typing</i>	pb	paire de bases
MNT	mycobactérie non tuberculeuse	PBS	<i>phosphate buffer saline</i> (tampon phosphate)
MODSA	<i>modified PBP S. aureus</i>	PCR	<i>polymerase chain reaction</i>
MOMP	<i>major outer membrane protein</i> (protéine majeure de membrane externe)	PCT	procalcitonine plasmatique
MOT	micro-organismes et toxines hautement pathogènes	PEA	phényléthylalcool
MRS	milieu de Man, Rogosa et Sharpe	PEG	polyéthylène glycol
MSCRAMMS	<i>microbial surface component reacting with adhesive matrix molecules</i>	PEMBA	milieu <i>polymyxin B-egg yolk-mannitol-bromothymol blue agar</i>
MST	maladie sexuellement transmissible/ <i>multispacer sequence typing</i>	PFGE	<i>pulsed field gel electrophoresis</i>
MTBC	<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>	PG	peptidoglycane
MVLA	<i>multilocus variable number of tandem repeats analysis</i>	PHA	<i>passive hemagglutination</i> (hémagglutination passive)
NABM	nomenclature des actes de biologie médicale	PK/PD	<i>pharmacokinetics/pharmacodynamics</i>
NAD	nicotinamide adénine dinucléotide ou coenzyme I	PL	ponction lombaire
NASBA	<i>nucleic acid sequence based amplification</i>	PLET	polymyxine, lysozyme, EDTA, acétate de thallium
NBT	nitro blue de tétrazolium	PLP	protéines de liaison à la pénicilline
NCBI	National Center for Biotechnology Information	PMA	procréation médicalement assistée
NGS	<i>next-generation high-throughput DNA sequencing technologies</i>	PNN	polynucléaires neutrophiles
NSB	niveau de sécurité biologique	PNPG	para-nitro-phényl-galacto-pyranoside
OADC	acide oléique, albumine, dextrose, catalase	POMP	<i>polymorphic outer membrane protein</i>
OCIL	Organismes de comparaisons interlaboratoires	PRA	<i>PCR-restriction enzymatic analysis</i>
ODC	ornithine décarboxylase	PRP	polyribosil ribitol phosphate
OFPBL	<i>oxidative-fermentative-polymyxin B-bacitracin-lactose agar</i>	PSL	produits sanguins labiles
OGM	organisme génétiquement modifié	PSM	poste de sécurité microbiologique
OIA	<i>optical immunoassay</i>	PSP	ponction vésicale sus-pubienne
OLA	<i>oligonucleotide ligation array</i>	PT	purpura thrombopénique
OM	<i>outer membrane</i> (protéine de surface)	PTI	purpura thrombopénique infectieux
OMA	otite moyenne aiguë	PTT	purpura thrombotique thrombopénique
OMS	Organisation mondiale de la santé	PUI	pharmacie à usage intérieur
ONERBA	Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques	PVL	toxine de Panton-Valentine
ONPG	ortho-nitro-phényl-galacto-pyranoside	PYR	test de l'hydrolyse du pyroglutamate; pyrrolidonyl arylamidase; L-pyrrolidonyl- β -naphtylamide
PAC	pneumonie aiguë communautaire	PYRA	pyrrolidonyl arylamidase
PaGIA	<i>particle gel immunoassay</i>	QRDR	<i>quinolone resistance determining region</i>
		R	<i>rough</i>
		RAA	rhumatisme articulaire aigu
		RAPD	<i>random amplified polymorphic DNA</i>
		RAQ	responsable assurance qualité
		Rémic	référentiel en microbiologie médicale
		RENACHLA	Réseau national des <i>Chlamydiae</i>
		RENAGO	Réseau national des gonocoques

XII Abréviations

rep-PCR	<i>repetitive sequence-based PCR</i>	SMAC	sorbitol MacConkey agar (milieu de MacConkey au sorbitol)
RFC	réaction de fixation du complément	SMID	<i>salmonella medium identification-detection</i>
RFLP	<i>restriction fragment length polymorphism</i> (restriction enzymatique)	SMQ	système de management de la qualité
RIA	<i>radio-immunoassay</i> /radio-immunologique	SNC	système nerveux central
RIB	ribose	SNP	<i>single nucleotides polymorphism</i>
RIC	<i>Clostridium ramosum, innocuum, clostridioforme</i>	SPHA	<i>solid phase hemadsorption assay</i>
RLU	<i>relative light unit</i>	SPILF	Société de pathologie infectieuse de langue française
RM	réaction rouge de méthyle	SPS	<i>sodium polyanethol sulfonate</i> (polyanéthol sulfonate de sodium)
RPM	rupture prématurée des membranes	SRIS	syndrome de réponse inflammatoire systémique
RPR	<i>rapid plasma reagin</i>	SS	<i>Salmonella Shigella</i>
RR	risque relatif	SSTT	système de sécrétion type III
RT-PCR	<i>reverse transcription polymerase chain reaction</i>	ST	entérotoxine thermostable/séquence type
RVS	bouillon Rappaport Vassiliadis	STB	streptocoque du groupe B
S	<i>smooth</i>	STEC	<i>Escherichia coli</i> entérohémorragique
SA	semaine d'aménorrhée	Stx	shigatoxine
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline	TAAN	test d'amplification de l'acide nucléique
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline	TB	tuberculose
SAU	service d'accueil des urgences	TCBS	thiosulfate-citrate-bile-saccharose
SAW	séroagglutination de Wright	TCCA	taurocholate, cyclosérine, céfoxitine agar
SBA	<i>sheep-blood-agar</i> (gélose de base Columbia additionnée de sang de mouton)	TDA	tryptophane désaminase
SBT	<i>sequence-based typing</i>	TDR	tests de diagnostic rapide
SCN	staphylocoques à coagulase négative	TEM	Temoneira (nom de patient)
SCTS	syndrome de choc toxique streptococcique	TGV	transport de germes vivants
SCV	<i>small colony variant</i>	TIAC	toxi-infection alimentaire collective
SDA	Strand Displacement Amplification®	Tm	<i>melting temperature</i>
SDS	sodium-dodécyl-sulfate	TMA	<i>transcription-mediated amplification</i>
SFHH	Société française d'hygiène hospitalière	TMD	transport des marchandises dangereuses
SFM	Société française de microbiologie	TMI	transport des matières infectieuses
SG	sérum Sven Gard	TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
SGA	streptocoque β -hémolytique du groupe A	TP	temps de prothrombine
SGL	système de gestion de laboratoire	TPHA	<i>treponema pallidum haemagglutination assay</i>
SHA	solution hydroalcoolique	TPI	<i>treponema pallidum immobilization test</i> (test d'immobilisation des tréponèmes)
SHU	syndrome hémolytique et urémique	TPPA	<i>treponema pallidum particle agglutination assay</i>
SHV	sulfhydryl variable	TROD	tests rapides d'orientation diagnostique
SIL	système informatique de laboratoire	TS	gélose trypticase soja
SIR	Sensibilité-Intermédiaire-Résistance Scan®		

TSC	tryptose-sulfite-cyclosérine	VDRL	Veneral Disease Research Laboratory
TSH	<i>tryptone-soja-horse blood</i> (gélose TS additionnée de sang de cheval)	VF	gélose viande-foie
TSI	<i>Triple-Sugar-Iron</i>	VHB	virus de l'hépatite B
TSN	tryptone-sulfite-néomycine	VHC	virus de l'hépatite C
TSST	<i>toxic shock syndrome toxin</i>	VIH	virus de l'immunodéficience humaine
TTG	taurocholate-tellurite-gélatine	VISA	<i>vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> de sensibilité intermédiaire à la vancomycine)
TWAR	<i>Taiwan acute respiratory disease</i>	VNTR	<i>variable number tandem repeat</i>
UCC	unité de changement de couleur	VP	réaction de Voges-Proskauer
UFC	unité formant une colonie	VPN	valeurs prédictives négatives
UFS	unité formant un spot	VPP	valeurs prédictives positives
UI	unité internationale	VRSA	<i>vancomycin-resistant Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la vancomycine)
UNG	urétrite non gonococcique	VS	vitesse de sédimentation
UTI	<i>urinary tract infection</i>	VTEC	<i>verotoxin producing E. coli</i>
UV	ultraviolet	VZV	virus de la varicelle et du zona
VacA	cytotoxine vacuolisante	WB	<i>Western-blot</i> ou immunotransfert
VCAT	vancomycine, colistine, amphotéricine B, triméthoprim	WGS	<i>whole genome sequencing</i>
VCF	vancomycine, colistine, fungizone		
VCN	vancomycine, colistine, nystatine		
VCNT	vancomycine, colistine, nystatine, triméthoprim		

Liste des collaborateurs

Barbeyrac (de) Bertille, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, responsable du Centre national de référence des infections à *Chlamydiae*, laboratoire de bactériologie, centre hospitalier universitaire Bordeaux 2

Barraud Olivier, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Bébéar Cécile M., professeur des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, centre hospitalier universitaire de Bordeaux, Université Victor Segalen Bordeaux 2

Bébéar Christiane, professeur des universités, praticien hospitalier, chef de service de bactériologie, centre hospitalier universitaire de Bordeaux, Université Victor Segalen Bordeaux 2

Beraud Laëtitia, praticien attaché, laboratoire de bactériologie, CNR des légionelles, Groupement hospitalier Est, Lyon

Bingen Édouard[†], ancien professeur des universités, praticien hospitalier, chef du service de microbiologie, hôpital Robert Debré, Paris

Bonacorsi Stéphane, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, service de microbiologie, hôpital Robert Debré, Paris

Bouchiat Coralie, assistante hospitalo-universitaire, laboratoire de bactériologie, Bron

Buisson Yves, médecin biologiste, professeur agrégé du Val-de-Grâce, membre de l'Académie nationale de médecine

Burucoa Christophe, professeur des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, centre hospitalier universitaire de Poitiers, EA 3807 « Diversité génétique et antigénique de *Helicobacter pylori* », Université de Poitiers

Cattoir Vincent, professeur des universités, praticien hospitalier, chef de service de microbiologie, centre hospitalier universitaire de Caen

Denis François, professeur émérite des universités, Faculté de médecine et centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges, membre de l'Académie nationale de médecine

Descours Ghislaine, praticien attaché, laboratoire de bactériologie, CNR des légionelles, Groupement hospitalier Est, Lyon

Drouet Mireille, praticien hospitalier, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Dupieux Céline, assistante hospitalo-universitaire, laboratoire de bactériologie, La Croix Rousse, Lyon

Durand Géraldine, Pharm. D. PhD, EU R&D Microbiology Director, bioMérieux, La Balme des Grottes

Essemilaire Luc, biologiste-consultant, Montauban

Fenollar Florence, professeur des universités, praticien hospitalier, unité des rickettsies, Marseille

Gaillet Olivier, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, centre hospitalier universitaire, Lille

Garnier Fabien, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Guérin François, praticien hospitalier, Université de Caen

Hidri Nadia, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Isnard Christophe, assistant hospitalo-universitaire, Université de Caen

Jarraud Sophie, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, Faculté de médecine Laënnec, Lyon

Jaulhac Benoît, professeur des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg

Jehl François, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg

Lambert Thierry, professeur des universités, chef de service adjoint, Faculté de pharmacie Paris XI, laboratoire de la fondation Hôpital Saint-Joseph, Paris

Lanotte Philippe, maître de conférences des universités, Faculté de pharmacie de Tours, praticien hospitalier, centre hospitalier universitaire Bretonneau, Tours

Lavigne Jean-Philippe, professeur des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie-virologie-parasitologie, centre hospitalier universitaire Carêmeau, Nîmes

Le Brun Cécile, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, Hôpital Bretonneau, Tours

Le Hello Simon, co-directeur du Centre national de référence *E. coli/Shigella/Salmonella*, Institut Pasteur, Paris

Lina Gérard, professeur des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, Centre de biologie et d'anatomie pathologique sud, Faculté de médecine Laënnec, Lyon

Loubinoux Julien, maître de conférences des universités, service de bactériologie, Groupe hospitalier Cochin, AP-HP, Paris

Mainardi Jean-Luc, professeur des universités, praticien hospitalier, responsable de l'unité mobile de microbiologie clinique, service de microbiologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Faculté de médecine René Descartes, Paris

VI Liste des collaborateurs

Mariani-Kurkdjian Patricia, praticien hospitalier, service de microbiologie, Centre national de référence associé *E. coli*, Hôpital Robert Debré, Paris

Martin Christian, biologiste des hôpitaux, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Martino (de) Sylvie, maître de conférences des universités, Faculté de médecine Louis Pasteur, Strasbourg, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg

Mereghetti Laurent, professeur des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie, centre hospitalier universitaire Bretonneau, Tours

Mounier Marcelle, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

O'Callaghan David, directeur U 1047 – mixte avec Université de Montpellier, Virulence bactérienne et maladies infectieuses, UFR de médecine, Nîmes

Pereyre Sabine, maître de conférences, praticien hospitalier, centre universitaire de Bordeaux, Université Victor Segalen, Bordeaux 2

Pestourie Nathalie, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Peuchant Olivia, praticien hospitalier, centre universitaire de bordeaux, Université Victor Segalen, Bordeaux 2

Philippon Alain, professeur émérite, Faculté de médecine René Descartes, Paris

Piva Claude, professeur honoraire des universités, Faculté de médecine, Limoges

Plainvert Céline, praticien attaché, service de bactériologie, Groupe hospitalier Cochin, AP-HP, Paris

Ploy Marie-Cécile, professeur des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Poupet Hélène, praticien hospitalier, service de bactériologie, Groupe hospitalier Cochin, AP-HP, Paris

Poyart Claire, professeur des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie, Groupe hospitalier Cochin, AP-HP, Paris

Quentin Roland, professeur des universités, praticien hospitalier, chef de service de bactériologie et hygiène hospitalière, centre hospitalier universitaire Trousseau, Tours

Ranc Anne-Gaëlle, praticien attaché, laboratoire de bactériologie, Centre national de référence des légionelles, Groupement hospitalier Est, Lyon

Ranger-Rogez Sylvie, professeur des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie-hygiène, centre hospitalier universitaire Dupuytren, Limoges

Riegel Philippe, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg

Tankovic Jacques, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie-virologie, centre hospitalier universitaire Saint-Antoine, Paris

Tazi Asmaa, maître de conférences des universités, praticien hospitalier, service de bactériologie, Groupe hospitalier Cochin, AP-HP, Paris

Van Belkum Alex, PhD, Corporate Vice President, bioMérieux, La Balme Les Grottes

Vandenesch François, professeur des universités, praticien hospitalier, Faculté de médecine Laënnec, Lyon

Remarques liminaires

F. Denis

Le biologiste a l'entière responsabilité de l'examen bactériologique des prélèvements de la phase préanalytique jusqu'au résultat.

Il est bien évident que l'organisation, les locaux, les équipements, la compétence du personnel technique et d'encadrement interviennent dans la qualité des résultats.

Dans le chapitre de technologies générales, nous n'aborderons pas le problème trop vaste des locaux qui doit prendre en compte le cheminement des échantillons, la spécificité de la technologie bactériologique, notamment la prévention des contaminations des échantillons et des manipulateurs. Mais seront développés les aspects touchant à la sécurité avec définition des niveaux de confinement requis et à la maîtrise de la qualité qui occupent une place croissante.

La stérilisation détaillée dans la précédente édition n'est pas reprise dans cette version.

Les aspects touchant à la démarche à suivre dans un laboratoire méritent d'être rappelés et développés, car le respect des étapes et la compréhension et la maîtrise des paramètres étudiés sont primordiaux pour tout bactériologiste débutant qui ne doit pas faire une confiance aveugle aux pratiques mises en place avant son arrivée dans un laboratoire, ou pour tout bactériologiste confirmé qui doit redouter les dérives d'« habitudes ». Pour éviter celles-ci, les procédures doivent être écrites, respectées et labellisées dans le cadre d'une accréditation.

Nous n'en sommes pas encore au stade du « tout moléculaire », mais s'ouvrent des perspectives permettant de combiner amplification génique et spectrométrie de masse, et ces techniques permettent de porter dans des délais très courts des diagnostics d'espèce à partir de culture.

La sérologie est en perte de vitesse car elle permet un diagnostic tardif avec souvent une spécificité relative.

Aujourd'hui, dans un premier temps, on se limite à une recherche spécifique afin de porter des diagnostics difficiles ou rapides devant une urgence. La recherche de résistance aux antibiotiques (par détection du support moléculaire de la résistance) directement sur les prélèvements n'est pas encore entrée dans la routine mais est enthousiasmante, comme c'est le cas pour la détection simultanée de *Mycobacterium tuberculosis* et de la résistance à la rifampicine sur crachats.

Nous irons de plus en plus vers la recherche de l'identification bactérienne et des résistances aux antibiotiques presque « en temps réel ».

Demain, ces techniques tendront vers une approche syndromique, en passant au-delà des frontières traditionnelles (bactéries, virus, parasites).

Les germes une fois identifiés, ces outils moléculaires permettent des comparaisons de souches dans une perspective épidémiologique. Cela nécessite la constitution d'une souchothèque.

Les laboratoires seront de plus en plus automatisés, mais si les automates simplifient la tâche des biologistes, ils doivent renforcer leur vigilance et leur esprit critique.

Enfin, l'informatique révolutionne la vie des laboratoires en permettant des améliorations en termes de prescription, de traçabilité des prélèvements, de rendu des résultats, de gestion des souchothèques, des sérothèques; l'accès à différents sites permet de compléter les connaissances, de mieux identifier les souches, voire de comparer les résultats obtenus à des banques de données.

Cette partie n'a pas vocation à être exhaustive, mais elle met l'accent sur certains points qui nous semblent essentiels dans le bon fonctionnement d'un laboratoire, ainsi que sur une analyse critique des résultats. L'objectif final est de fournir au clinicien et au malade une biologie de qualité!

Microbiotes humains

V. Cattoir

PLAN DU CHAPITRE

Généralités	5	Conclusion	12
Techniques d'étude	5		

Généralités

Chez un homme sain, les tissus internes sont normalement stériles tandis que les tissus de surface (peau et muqueuses) sont colonisés par divers micro-organismes, constituant de véritables écosystèmes. Cet ensemble de communautés microbiennes (bactéries, archées, virus, champignons et protozoaires) présent au niveau d'un environnement défini (par exemple site anatomique donné ou organisme entier) constitue le microbiote, anciennement appelé (micro) flore. Ce terme récent n'est pas à confondre avec le microbiome qui correspond à l'habitat entier comprenant les micro-organismes, leurs génomes et les interactions environnementales. Le nombre de micro-organismes est environ 10 fois plus élevé que celui des cellules humaines d'un organisme et le rapport du nombre total de gènes bactériens sur celui du génome humain est de 100:1 à 1000:1. Ces communautés microbiennes co-évoluent au contact de nos cellules et de nos tissus depuis des milliers d'années sous forme d'interactions mutualistes et sont donc essentielles à notre survie. Elles constituent notamment la première ligne de défense contre les infections en empêchant la colonisation de l'hôte par des micro-organismes potentiellement pathogènes et jouent un rôle majeur dans le développement du système immunitaire.

Alors qu'il existe quelques études sur la partie fongique (mycobiome) ou virale (virome) du microbiome, la majorité des études faites sur le sujet portent sur les communautés bactériennes. Même si ces deux volets ont certainement un rôle important dans l'écologie microbienne, seul le microbiome bactérien sera traité en détail dans ce chapitre.

Techniques d'étude

La culture a longtemps été la méthode de référence pour l'identification et la caractérisation des micro-organismes présents au sein de communautés bactériennes. Actuellement, il apparaît que la majorité des bactéries ne sont pas cultivables *in vitro* et qu'il y a donc un biais évident dans l'étude du microbiote par les méthodes de culture clas-

siques. Par exemple, environ 80 % des bactéries du microbiote intestinal ne sont pas cultivables dans les conditions standard de laboratoire. Cependant, l'utilisation optimisée d'un panel pertinent de nombreuses conditions de culture peut permettre la détection de nombreuses bactéries a priori non cultivables. Cette approche, dénommée culturomique, correspond à cette diversification de conditions de culture combinée avec une identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF de chaque colonie isolée. Les méthodes moléculaires (voir ci-dessous) et la culturomique sont complémentaires (en effet, seulement 15 % des espèces sont retrouvées par les deux approches) alors qu'elles présentent des performances similaires en termes de nombre d'espèces identifiées.

Les méthodes moléculaires ont récemment supplanté la culture pour l'étude des microbiotes, notamment avec l'avènement des techniques de séquençage à haut débit. Il est donc possible actuellement de déterminer l'ensemble des génomes et des gènes d'un microbiote donné (appelé métagénome) par séquençage de l'ADN total extrait à partir d'un échantillon suivi d'une comparaison à une banque de données et d'une annotation (c'est la technique de métagénomique). Une autre approche pour l'analyse de la diversité bactérienne d'un microbiote est la métataxonomique, qui a pour principe l'amplification, le séquençage et l'analyse du gène codant pour l'ARNr 16S, marqueur bactérien universel. Un biais important de ces méthodes est leur sensibilité. Par exemple, pour le microbiote intestinal (environ 10^{12} bactéries par gramme de selles), l'analyse métagénomique n'est pas capable de détecter des bactéries présentes à une concentration $< 10^5$ par gramme. Une autre limite est l'impossibilité de distinguer les bactéries viables et non viables. L'analyse dynamique des profils d'expression des gènes au sein d'un microbiome est appelée métatranscriptomique tandis qu'au niveau protéique cela correspond à la méthode de métaprotéomique. Enfin, l'étude des profils métaboliques (métabolomique) au niveau de systèmes complexes tels qu'un microbiome est appelé métabonomique.

La compréhension des relations symbiotiques entre le microbiote et son hôte repose sur la caractérisation du

6 Partie I. Technologies générales

microbiote normal et de ses variations potentiellement associées à des pathologies. De vastes projets de métagénomique ont été lancés afin de décrypter les différents microbiotes humains au niveau européen (MetaHIT pour *Metagenomics of the Human Intestinal Tract*) et américain (HMP pour *Human microbiome project*). Grâce à ces travaux, il a été possible d'apprécier la diversité bactérienne à différents niveaux : phyla, famille, genre et espèce (Tableau 2.1).

Enfin, pour déterminer le rôle joué par les micro-organismes potentiellement associés à un phénotype, les chercheurs utilisent comme modèles expérimentaux soit des animaux dont le microbiote est connu (ils sont dits gnotobiotiques), soit d'autres qui en sont totalement dépourvus (ils sont dits axéniques).

Tableau 2.1 Classification hiérarchique des principales bactéries retrouvées chez l'homme.

Phyla	Familles	Genres
Actinobacteria		
	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinobaculum, Actinomyces, Arcanobacterium, Mobiluncus, Trueperella</i>
	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium, Turicella</i>
	<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacterium</i>
	<i>Cellulomonadaceae</i>	<i>Tropheryma</i>
	<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus, Rothia, Stomatococcus</i>
	<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Propionibacterium</i>
	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium, Gardnerella, Scardovia</i>
	<i>Coriobacteriaceae</i>	<i>Atopobium, Collinsella, Eggerthella</i>
Bacteroidetes		
	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>
	<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas, Proteiniphilum, Tannerella</i>
	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella, Xylanibacter</i>
	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Capnocytophaga</i>
Firmicutes		
	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>
	<i>Listeriaceae</i>	<i>Listeria</i>
	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>
	<i>Aerococcaceae</i>	<i>Abiotrophia, Aerococcus</i>
	<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Dolosigranulum, Granulicatella</i>
	<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>
	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus, Streptococcus</i>
	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium, Saccharofermentans</i>
	<i>Eubacteriaceae</i>	<i>Eubacterium</i>
	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Butyrivibrio, Coprococcus, Roseburia</i>
	<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Peptostreptococcus</i>
	<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Anaerotruncus, Faecalibacterium, Ruminococcus</i>
	<i>Veillonellaceae</i>	<i>Dialister, Megasphaera, Veillonella</i>
Fusobacteria		
	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>
	<i>Leptotrichiaceae</i>	<i>Leptotrichia, Sneathia</i>
Proteobacteria		
α -Proteobacteria	<i>Rhizobiaceae</i>	<i>Rhizobium</i>
	<i>Rhodospirillaceae</i>	<i>Inquilinus</i>

β-Proteobacteria	<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Achromobacter, Alcaligenes, Bordetella, Oligella</i>
	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia, Pandoraea, Ralstonia</i>
	<i>Oxalobacteraceae</i>	<i>Oxalobacter</i>
δ-Proteobacteria	<i>Neisseriaceae</i>	<i>Eikenella, Kingella, Neisseria</i>
	<i>Desulfovibrionaceae</i>	<i>Bilophila, Desulfovibrio, Lawsonia</i>
ε-Proteobacteria	<i>Campylobacteraceae</i>	<i>Arcobacter, Campylobacter</i>
	<i>Helicobacteraceae</i>	<i>Helicobacter, Wollinella</i>
γ-Proteobacteria	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas</i>
	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Hafnia, Klebsiella, Morganella, Pantoea, Proteus, Providencia, Raoultella, Salmonella, Serratia, Shigella</i>
	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionella</i>
	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Aggregatibacter, Haemophilus</i>
	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter, Moraxella</i>
	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>
	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>
	<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Lysobacter, Stenotrophomonas</i>
Spirochaetes		
	<i>Brachyspiraceae</i>	<i>Brachyspira</i>
	<i>Leptospiraceae</i>	<i>Leptospira</i>
	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Treponema</i>
Synergistetes		
	<i>Synergistaceae</i>	<i>Jonquetella</i>
Tenericutes		
	<i>Mycoplasmataceae</i>	<i>Mycoplasma, Ureaplasma</i>
Verruimicrobia		
	<i>Akkermansiaceae</i>	<i>Akkermansia</i>

Microbiote oral

La cavité orale comprend des niches écologiques très diverses (salive, gencives, dents, langue, joues, palais, amygdales, etc.), toutes très riches en diversité microbienne, notamment la plaque dentaire. L'environnement de la cavité orale serait aussi hétérogène que celui de l'intestin, avec environ 50 % de bactéries non cultivables. Entre 500 et 10 000 espèces résideraient dans la cavité orale humaine, appartenant à plus de 200 genres bactériens différents dont (Fig. 2.1) : *Actinomyces*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Streptococcus*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Abiotrophia*, *Haemophilus*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Neisseria*, *Corynebacterium*, *Veillonella*, *Rothia*, *Capnocytophaga*, *Selenomonas*, *Treponema* et *Derxia*. Comme la cavité orale est la porte d'entrée principale de l'organisme, il est aussi possible de détecter la présence de micro-organismes retrouvés dans les aliments ou dans l'air (par exemple *Rhizobium*, *Legionella*). Les espèces prédominantes retrouvées dans la majorité des sites sont *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Gemella haemolyans*, *Granulicatella adiacens* et *Veillonella parvula*. À noter que le microbiote oral n'est pas différent entre l'homme et la femme mais qu'il varie significativement avec l'âge.

Tandis que les communautés microbiennes ont un rôle protecteur, la cavité orale contient également des patho-

gènes impliqués dans des pathologies locales (par exemple caries dentaires, parodontopathies) et systémiques (par exemple endocardites, pneumopathies d'inhalation). Les caries dentaires sont classiquement décrites à *Streptococcus mutans* et *Streptococcus sobrinus*, mais des nouvelles espèces ont été récemment identifiées comme les bacilles à Gram positif anaérobies *Scardovia wiggsiae* et *Bifidobacterium dentium*. La parodontite est associée à un déséquilibre du microbiote, et un groupe de pathogènes, appelé « complexe rouge » (comprenant *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola*), est fortement associé à cette pathologie. D'autres espèces ont également été associées à la parodontite comme *Eubacterium saphenum* et de multiples phylotypes de *Treponema* spp. tandis qu'*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* est classiquement associé à sa forme agressive. Les endocardites sont majoritairement dues aux streptocoques de la cavité orale, dont elles sont les principaux colonisateurs (>25 espèces différentes, > 25 % des espèces de la salive) grâce à leurs propriétés adhérentes et métaboliques.

Microbiote intestinal

L'appareil digestif présente des caractéristiques impressionnantes : c'est le premier organe immunitaire (avec

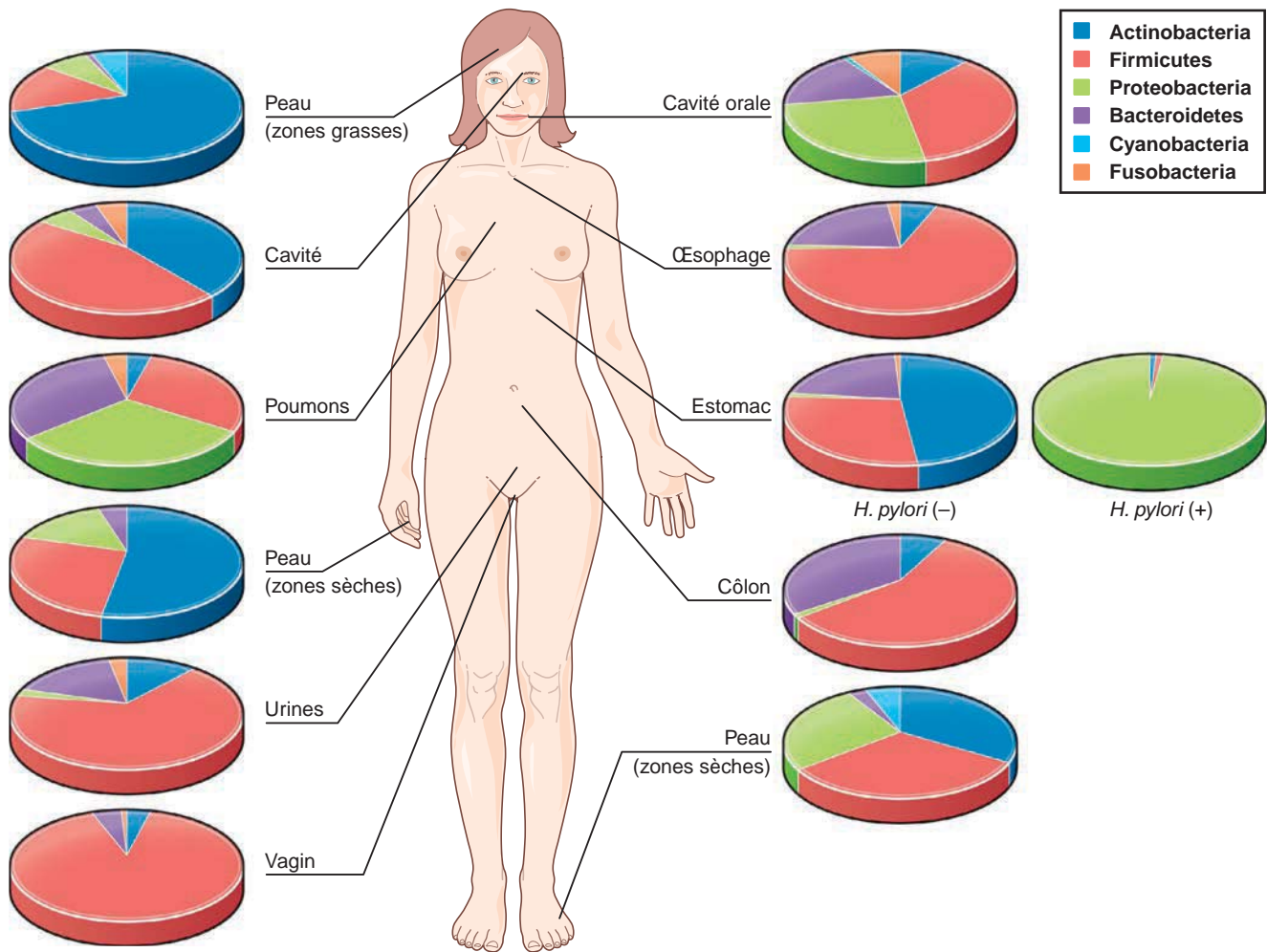


Fig. 2.1 Diversité bactérienne du microbiote humain selon le site anatomique. Chaque part de camembert représente l'abondance relative de chacun des six phyla principaux (données obtenues par métataxonomie).

60 à 70 % des cellules immunitaires du corps), c'est un deuxième cerveau (avec 100 à 200 millions de neurones) et sa surface (estimée à 400 m²) est énorme. Le nombre de bactéries au sein du microbiote intestinal est d'environ 10¹⁴ avec 500 à 1000 espèces bactériennes différentes, la plupart étant présentes au niveau du côlon. Une très large majorité d'entre elles ont un métabolisme anaérobie (environ 75 %) et 95 % du microbiote est représenté par 5 phyla bactériens : Firmicutes et Bacteroidetes sont dominants tandis que Actinobacteria, Proteobacteria et Verrumicrobia sont sous-dominants (Tableau 2.2, Fig. 2.1).

La structure et la biodiversité du microbiote intestinal varient significativement selon l'étage anatomique du tube digestif (Fig. 2.2). Il y a notamment une différence marquée en nombre de bactéries qui va de 10¹ à 10¹² par gramme de contenu de l'œsophage au côlon (ce dernier contenant environ 70 % des micro-organismes du microbiote humain). Ce gradient de densité bactérienne est aussi proportionnel à l'augmentation du pH, la baisse de la tension en O₂ et la diminution de la vitesse du transit. Il y a également une différence axiale entre le microbiote de la lumière intestinale et celui associé à la muqueuse.

Alors que la composition du microbiote intestinal est très divergente d'un individu à un autre, les profils fonctionnels des gènes sont assez similaires. Il existerait trois groupes d'individus définis selon la composition et la fonction de leur microbiote intestinal, appelés « entérotypes ». L'entérotipe 1 est dominé par le genre *Bacteroides* tandis que l'entérotipe 2 est dominé par le genre *Prevotella*. Enfin, l'entérotipe 3 est plus complexe et plus diversifié avec une prédominance de *Ruminococcus*.

La composition du microbiote chez l'adulte sain reste relativement stable au cours du temps. En revanche, le microbiote intestinal des bébés change très rapidement au cours des trois premières années de vie avant de devenir mature et fonctionnellement stable. Le fœtus étant normalement stérile, la colonisation initiale a lieu au moment de la naissance et elle dépend du mode d'accouchement. Les bébés nés par voie basse acquièrent un microbiote proche de celui du vagin de la mère (*Lactobacillus* et *Prevotella*), tandis que ceux nés par césarienne acquièrent un microbiote dérivé de celui de la peau (*Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*). Il y a aussi des différences significatives selon que l'enfant est nourri par allaitement mater-

nel ou non. Même s'il existe des facteurs génétiques de l'hôte, le régime alimentaire est le déterminant le plus important impliqué dans la composition, la diversité et la richesse du microbiote intestinal, même au cours de l'âge adulte. Les antibiotiques ont évidemment aussi un grand rôle dans l'écologie du microbiote intestinal avec des effets potentiels à court ou à long terme.

Le microbiote intestinal constitue un véritable « organe métabolique » avec quatre grandes fonctions :

Tableau 2.2 Phyla et genres bactériens du microbiote intestinal humain.

Phyla	Genres (espèces principales)
Firmicutes	<i>Ruminococcus</i> (<i>R. albus</i> , <i>R. flavefaciens</i> , <i>R. gnavus</i> , <i>R. torque</i>) <i>Coprococcus</i> (<i>C. eutactus</i>) <i>Anaerotruncus</i> (<i>A. colihominis</i>) <i>Clostridium</i> (<i>C. coccoides</i> , <i>C. hylemonae</i> , <i>C. methylpentosum</i>) <i>Eubacterium</i> (<i>E. rectale</i>) <i>Lactobacillus</i> <i>Butyrivibrio</i> (<i>B. crossotus</i>) <i>Faecalibacterium</i> (<i>F. prausnitzii</i>) <i>Roseburia</i> (<i>R. intestinalis</i>) <i>Veillonella</i> <i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i> (<i>B. uniformis</i> , <i>B. thetaiotaomicron</i>) <i>Prevotella</i> (<i>P. copri</i>) <i>Xylanibacter</i>
Actinobacteria	<i>Collinsella</i> <i>Atopobium</i> <i>Bifidobacterium</i>
Proteobacteria	<i>Escherichia</i> (<i>E. coli</i>) <i>Desulfovibrio</i> <i>Helicobacter</i> (<i>H. pylori</i>)
Verrumicrobia	<i>Akkermansia</i>

- fonction de protection : les bactéries jouent un rôle de barrière protectrice contre la colonisation et la pullulation d'espèces pathogènes. Certaines d'entre elles peuvent aussi stimuler les défenses innées en induisant la sécrétion de peptides antimicrobiens (par exemple défensines) et d'immunoglobulines (par exemple IgA) ;
- fonction métabolique : les bactéries exercent de nombreux rôles essentiels de dégradation, de transformation et de synthèse, comme la fermentation des polysaccharides complexes (par exemple fibres) avec synthèse des acides gras à courtes chaînes (par exemple butyrate) qui sont une source d'énergie majeure, le métabolisme des protéines, la synthèse des vitamines (par exemple vitamines K et B₁₂, biotine, acide folique, acide pantothénique) et la transformation des acides biliaires et de certains xénobiotiques ;
- fonction de structure et de trophicité : de nombreuses fonctions physiologies sont co-régulées par le microbiote intestinal, comme la maturation de l'épithélium intestinal, la vascularisation des villosités et le renforcement des jonctions cellulaires ;
- fonction immunitaire : le microbiote intestinal est indispensable au développement et au bon fonctionnement du système immunitaire, notamment au niveau du tissu lymphoïde associé au tube digestif (*gut associated lymphoid tissue* [GALT]).

D'autres rôles potentiels ont également été décrits dans la neuromodulation (relation microbiote-intestin-cerveau) et dans la régulation du stockage des graisses. En effet, le microbiote intestinal des individus obèses est plus efficace pour extraire l'énergie à partir d'un régime nutritionnel donné que celui d'individus minces.

Des perturbations de l'équilibre entre microbiote intestinal et hôte (appelées dysbioses) peuvent être associées à différentes pathologies infectieuses ou non. C'est le cas des infections intestinales par ingestion de micro-organismes pathogènes et des diarrhées post-antibiotiques à *Clostridium*

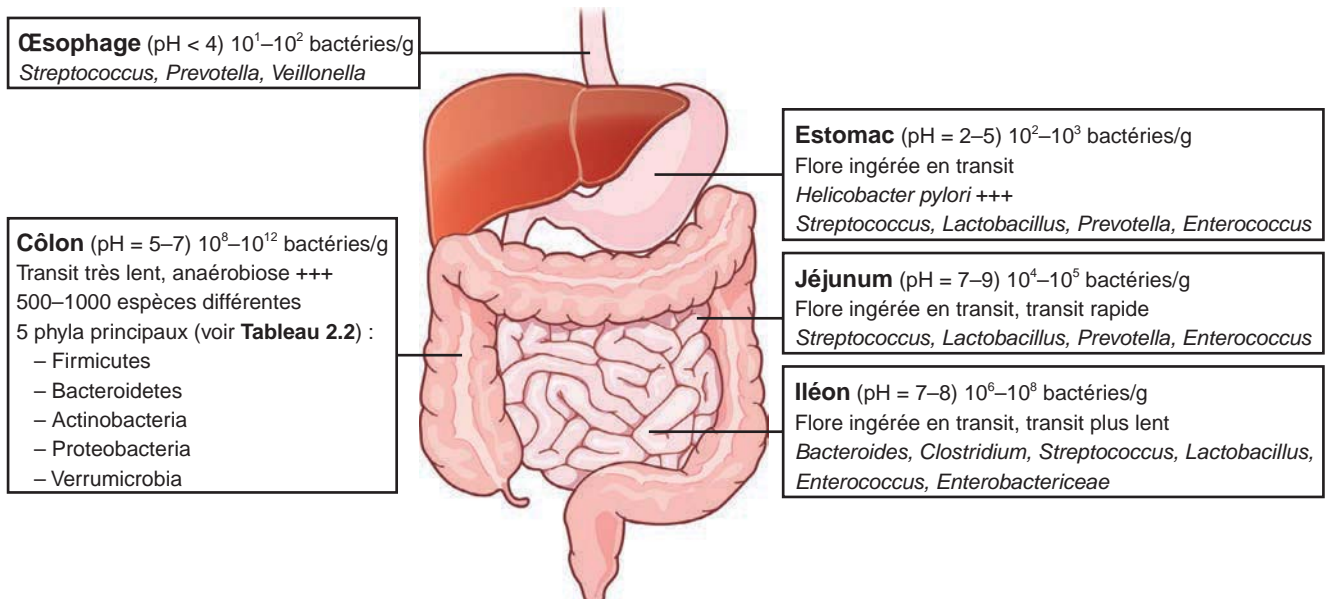


Fig. 2.2 Caractéristiques physiologiques et microbiotes associés des différentes niches écologiques du tube digestif.

difficile. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI; par exemple maladie de Crohn et rectocolite hémorragique) semblent dues à une réaction inflammatoire inadaptée vis-à-vis du microbiote intestinal qui montre une réduction significative du nombre et de la biodiversité des Firmicutes (rapport Firmicutes/Bacteroidetes de 1–3/1 au lieu de 6/1 chez le sujet sain). Il y a notamment une diminution de *Faecalibacterium prausnitzii* qui aurait des propriétés anti-inflammatoires. Des associations avec le syndrome de l'intestin irritable et certains cancers du tractus digestif (colorectal et gastrique) ont aussi été rapportées. Ces dysbioses peuvent aussi être associées à des maladies extradiigestives, comme l'obésité (rapport Firmicutes/Bacteroidetes de l'ordre de 100/1 avec un fort déficit en Bacteroidetes), les maladies cardiovasculaires, les syndromes métaboliques (diabète de type 2 notamment), certaines allergies et l'autisme.

Des modulations thérapeutiques peuvent être employées pour rétablir un microbiote intestinal sain (ou l'eubiose), comme une approche nutritionnelle (modification des apports en fibres fermentescibles) ou l'utilisation de probiotiques, de prébiotiques, voire d'antibiotiques. Un probiotique est défini par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme « un micro-organisme vivant qui, ingéré en quantité suffisante, produit des effets bénéfiques sur la santé de celui qui le consomme ». Les principales espèces utilisées comme probiotiques appartiennent aux genres *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*), *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. infantis*) et *Streptococcus* (*S. thermophilus*). Un prébiotique est un ingrédient non digestible (par exemple fructose, inuline, lactulose) qui a des effets bénéfiques sur la santé en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'une bactérie ou population bactérienne spécifique. Enfin, le microbiote intestinal d'un individu sain (alors appelé donneur de selles) peut être utilisé pour le rétablissement du microbiote d'un patient atteint de dysbiose. Ce traitement, appelé transplantation ou greffe de microbiote fécal, est actuellement envisagé pour les infections récurrentes à *C. difficile*.

Microbiote respiratoire

La cavité nasale et le nasopharynx contiennent Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria et Fusobacteria (Fig. 2.1). Au niveau des narines, il y a une prédominance des genres *Corynebacterium*, *Propionibacterium* et *Staphylococcus*, ce qui est similaire au microbiote cutané (voir ci-dessous). À noter que *Streptococcus* et *Moraxella* sont plus abondants chez l'enfant. Concernant *Staphylococcus aureus*, il y a trois modèles de portage nasal chez l'adulte sain : les porteurs permanents (environ 20 %) souvent colonisés par une seule souche sur une longue période; les porteurs intermittents (environ 30 %) colonisés par différentes souches au cours du temps; et les non-porteurs (environ 50 %). Les espèces du nasopharynx sont pour la plupart celles retrouvées au niveau des narines (par exemple *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Dolosigranulum*) et de l'oropharynx (par exemple *Streptococcus*). Les pathogènes bien connus peuvent également coloniser les voies aériennes supérieures,

comme *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* mais aussi *Neisseria meningitidis*. La capacité de colonisation et la densité de pathogènes potentiels peuvent être modulées par les bactéries commensales. Cela a été vérifié dans le cas de la rhinosinusite chronique où il existe des changements significatifs du microbiote des sinus, notamment avec l'augmentation de l'abondance de *Corynebacterium tuberculoostearicum* et une diminution des bactéries résidentes.

Les poumons ont longtemps été considérés comme stériles et le microbiote pulmonaire n'a donc pas initialement été inclus dans le projet HMP (il l'est depuis dans le *Lung HIV Microbiome Project*). Cependant, les méthodes moléculaires ont récemment montré que les poumons d'individus sains non fumeurs étaient peuplés par des communautés bactériennes, certes peu nombreuses mais riches en diversité. À noter que l'étude du microbiote pulmonaire présente des difficultés au niveau méthodologique du fait du risque accru de contamination des prélèvements par les bactéries du microbiote des voies aériennes supérieures. Ainsi, les échantillons ont pour la plupart été obtenus par procédures invasives (lavage bronchoalvéolaire [LBA], prélèvement distal protégé [PDP]), sauf dans le cas de la mucoviscidose où l'expectoration est souvent étudiée.

Les poumons du fœtus sont stériles et leur colonisation débute dès la naissance. Comme au niveau intestinal, le microbiote pulmonaire dépend du mode d'accouchement (voir ci-dessus). Les principaux phyla du microbiote pulmonaire sont similaires à ceux retrouvés au niveau des voies aériennes supérieures : Bacteroidetes, Firmicutes et Proteobacteria (Fig. 2.1). Les genres qui prédominent sont *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella* et *Veillonella*. Ces micro-organismes proviennent très majoritairement des voies aériennes supérieures au cours des phénomènes de micro-aspiration. À noter que des facteurs externes peuvent jouer sur la composition du microbiote pulmonaire comme l'environnement (habitation en campagne, animaux de compagnie, etc.), le tabagisme, l'utilisation de xénobiotiques (antibiotiques, anti-inflammatoires, bronchodilatateurs) et le régime alimentaire. Le rôle du microbiote pulmonaire est principalement lié à la formation et à la maturation du système immunitaire au niveau de la muqueuse respiratoire.

Au cours de la mucoviscidose, les infections respiratoires récurrentes sont traditionnellement dues à *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* et *H. influenzae*, tandis que d'autres pathogènes sont plus rarement retrouvés comme *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia* du complexe *cepacia*. Cependant, l'écologie microbienne des poumons de ces patients est beaucoup plus complexe, que ce soit pendant ou entre les périodes d'exacerbations. Il y a notamment un rapport Firmicutes/Bacteroidetes augmenté et une plus faible biodiversité. Ces études ont également mis en évidence d'autres bactéries pathogènes, soit sous-diagnostiquées comme les anaérobies (dont *Prevotella* spp.), soit nouvelles comme *Lysobacter* spp., *Inquilinus limosus*, *Dialister pneumosintes*, *Dolosigranulum pigrum* et certaines Rickettsiales. Il a aussi été démontré que la diversité bactérienne diminue avec l'âge, la sévérité de l'obstruction bronchique et un moins bon pronostic. Enfin, les patients homozygotes ΔF508 présentent une plus faible diversité que les hétéro-

zygotes ΔF508 et les individus non ΔF508. Une plus faible biodiversité microbienne précède aussi un épisode d'exacerbation. Les antibiotiques systémiques ou inhalés ont aussi une influence négative sur la diversité microbienne. Il existe une association entre un nombre d'infections limitées dans l'enfance et un risque plus élevé d'asthme ou d'allergies. Cela correspond à « l'hypothèse de l'hygiène » dans laquelle une diminution d'exposition aux agents infectieux tôt dans la vie résulte en une modification de l'immunotolérance au niveau des muqueuses. Par exemple, chez l'asthmatique, il y a une augmentation de fréquence des Proteobacteria (notamment *Haemophilus*, *Moraxella* et *Neisseria*) et une diminution de fréquence des Bacteroidetes. Les patients atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), liée dans 80 à 90 % des cas au tabagisme, présentent une modification de leur microbiote pulmonaire. Comme dans l'asthme, il y a une augmentation relative des Proteobacteria (notamment *Haemophilus* spp.) et une diminution des Bacteroidetes. Comme dans la mucoviscidose, il y a une réduction significative de la biodiversité dans les cas sévères de BPCO, avec une prédominance de *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella* et *Haemophilus*. Chez les patients transplantés, il y a une charge bactérienne plus élevée avec un enrichissement en Proteobacteria (notamment *B. cepacia* complex) et la présence de champignons. Enfin, chez les patients atteints du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le microbiote pulmonaire est enrichi en *Tropheryma whipplei* dont l'abondance relative diminue avec le traitement antirétroviral. Cela suggère que le poumon pourrait constituer la vraie niche écologique de cette espèce.

Microbiote cutané

La peau est un écosystème étendu (d'environ 1,8 m²) typiquement froid, acide et sec. Elle est constituée d'habitats divers selon son épaisseur, la présence ou non de plis et la densité en structures annexes (c'est-à-dire follicules pileux, glandes sudoripares et glandes sébacées). La partie supérieure de la peau, c'est-à-dire l'épiderme (notamment le *stratum corneum*, composé de kératinocytes) est la première ligne de défense par un effet de barrière physique contre les organismes extérieurs et les substances toxiques. Par l'intermédiaire de son microbiote (environ 10⁶ bactéries/cm²), la peau joue également un rôle important dans l'immunomodulation, notamment via la stimulation permanente du système immunitaire.

La peau du fœtus est stérile mais la colonisation a lieu immédiatement après la naissance. Alors que le microbiote est très différent d'un individu à l'autre, il est relativement stable au cours du temps chez un même individu. Malgré tout, il évolue au cours du temps selon l'âge, le sexe et l'ethnie d'appartenance. À noter qu'au moment de la puberté, il y a des changements significatifs dans la production de sébum (riche en triglycérides) qui est corrélée à des variations en quantités de bactéries lipophiles. Les facteurs environnementaux sont aussi importants, comme les conditions extérieures (température, humidité, ensoleillement), l'hygiène corporelle, la profession, le choix des vêtements et l'utilisation d'antibiotiques ou de cosmétiques. Comme dans l'intestin, la diversité microbienne est beaucoup plus

importante qu'initialement envisagée et quatre principaux phyla, composés de milliers d'espèces différentes, sont retrouvés : Actinobacteria (52 %), Firmicutes (24 %), Proteobacteria (16 %) et Bacteroidetes (6 %). Il existe de grandes variations du microbiote cutané selon la localisation anatomique (Fig. 2.1). Les sites « gras » avec une forte densité de glandes sébacées (par exemple visage [front, pli rétro-auriculaire, aile du nez], poitrine, dos) sont à prédominance de micro-organismes lipophiles comme les espèces du genre *Propionibacterium* (notamment *Propionibacterium acnes*), principaux résidents de l'unité pilosébacée. Les sites « humides » (par exemple ombilic, plis inguinaux, plis du genou et du coude, aisselles, plantes des pieds) contiennent principalement *Staphylococcus* spp. (notamment *Staphylococcus epidermidis*) et *Corynebacterium* spp. (par exemple *Corynebacterium jeikeium*), tandis que les *Pseudomonas* spp. sont aussi bien représentés. Les sites « secs » (par exemple fesses, avant-bras, jambes, mains) montrent une diversité plus importante avec une abondance (40 %) de bactéries à Gram négatif (par exemple *Acinetobacter* spp.) suivies des genres *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* et *Staphylococcus*. La diversité bactérienne est généralement moins importante dans les zones « grasses » tandis qu'elle est la plus élevée dans les zones sèches exposées. La grande majorité (50 à 80 %) des champignons sur la peau appartiennent au genre *Malassezia* (*M. globosa*, *M. restricta*, *M. sympodialis*), tandis que des acariens du genre *Demodex* (*D. folliculorum*, *D. brevis*) sont retrouvés au niveau des zones sébacées.

Certaines maladies de la peau sont associées à des modifications du microbiote cutané ; c'est le cas de l'acné vulgaire (*P. acnes*), de la dermatite atopique (*S. aureus*, virus), du psoriasis (Firmicutes-Actinobacteria), de la rosacée (*Demodex*) et de la dermatite séborrhéique (*Malassezia* spp.). Enfin, les bactéries commensales de la peau peuvent aussi devenir des pathogènes opportunistes, comme *S. epidermidis* qui peut être responsable d'infections chez l'immunodéprimé ou sur matériel, notamment grâce à sa capacité de production de biofilms.

Microbiote vaginal

Le microbiote vaginal a un rôle important de protection contre les infections génito-urinaires. Sa composition varie en fonction de l'âge, du pH, du taux d'imprégnation hormonale, de l'activité sexuelle et de l'hygiène corporelle. Des changements ont aussi lieu durant le cycle menstruel et la grossesse. Le microbiote vaginal chez la femme préménopausée est généralement limité en termes de diversité microbienne, étant essentiellement constitué de lactobacilles (notamment *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* et *L. iners*), historiquement désignés sous le nom de bacilles de Döderlein (Fig. 2.1). Il a récemment été démontré que *L. iners*, très difficile à cultiver, était l'espèce prédominante chez environ 50 % des femmes (et non *L. crispatus*). Ces bactéries lactiques protègent l'hôte de la colonisation par des pathogènes potentiels par différents mécanismes : effet de barrière par forte adhérence à la muqueuse, production d'acide lactique et réduction du pH vaginal (entre 3,5 et 4,5), sécrétion de substances

antimicrobiennes (bactériocines, H₂O₂). En dehors des lactobacilles, les autres bactéries isolées par culture sont *Mobiluncus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. et *Mycoplasma hominis*. Par approche métagénomique, cinq types de microbiotes vaginaux ont pu être distingués (avec des différences selon le groupe ethnique), dont quatre avec une prédominance de lactobacilles (environ 75 %) et un cinquième plus diversifié sans prédominance mais contenant des quantités importantes d'anaérobies et avec un pH plus élevé (environ 25 %).

En cas de vaginose bactérienne, il y a une modification du microbiote vaginal avec disparition des lactobacilles (ce qui induit une augmentation du pH >4,5) et prolifération de bactéries anaérobies de 100 à 1000 fois au-dessus de la normale. Le diagnostic est classiquement fondé sur l'examen direct du frottis vaginal et le score de Nugent, prenant en compte de façon semi-quantitative les différents morphotypes bactériens (*Lactobacillus* spp., *G. vaginalis* et *Mobiluncus* spp.). Les scores de 0 à 3 correspondent à une flore normale (prédominance de lactobacilles), ceux de 4 à 6 sont étiquetés intermédiaires (mélange de morphotypes) et les scores de 7 à 10 indiquent une vaginose bactérienne (absence de lactobacilles et prédominance de *G. vaginalis* et *Mobiluncus* spp.). Cependant, au moins la moitié des cas intermédiaires correspondraient à des réelles vaginoses bactériennes. Traditionnellement, la culture a mis en évidence plusieurs bactéries associées à la vaginose bactérienne : *G. vaginalis*, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Mobiluncus* spp. et *M. hominis*. Les approches récentes de biologie moléculaire ont montré l'implication d'autres bactéries anaérobies, comme *Atopobium vaginae*, *Prevotella bivia*, *Sneathia sanguinegens*, *Leptotrichia amnionii*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Megasphaera* type 1 et BVAB-2 (*bacterial vaginosis-associated bacteria 2*). À noter que l'altération du microbiote vaginal au cours de la vaginose bactérienne est associée à un risque plus élevé de co-infection virale. Enfin, il a été montré que le microbiote vaginal est très stable au cours de la grossesse et que son altération (faible abondance de *Lactobacillus* et prédominance de *Gardnerella* et *Ureaplasma*) est associée à un accouchement prématuré. L'issue de la grossesse pourrait ainsi être prédite par les caractéristiques du microbiote vaginal en début de gestation.

Microbiote urinaire

Comme les poumons, l'urine (et donc la vessie) a longtemps été considérée comme stérile du fait des techniques d'approche uniquement fondées sur la culture standard. Cependant, les outils moléculaires ont prouvé que l'urine des individus sains contenait un microbiote unique, composé d'environ 10² à 10⁴ bactéries par millilitre. En utilisant des méthodes de culture sophistiquées, jusqu'à 80 % des échantillons urinaires (obtenus par cathétérisme transurétral) ont une culture bactérienne positive. Les principales espèces appartiennent aux genres *Lactobacillus* (15 %), *Corynebacterium* (14 %), *Streptococcus* (12 %), *Actinomyces* (7 %) et *Staphylococcus* (7 %), tandis que sont aussi retrouvés *Aerococcus*, *Gardnerella*, *Micrococcus*,

Actinobaculum, *Bifidobacterium* et *Enterococcus*. Même s'il y a une prédominance de Firmicutes dans les deux sexes, il y a une différence significative entre hommes et femmes, ces dernières présentant une diversité souvent plus importante avec la présence d'Actinobacteria et de Bacteroidetes (phyla généralement absents chez les hommes) (Fig. 2.1). À noter que certaines bactéries anaérobies strictes ont été exclusivement retrouvées chez les individus de plus de 70 ans : *Jonquetella*, *Parvimonas*, *Proteiniphilum* et *Saccharofermentans*. Le rôle du microbiote urinaire pourrait être multiple : protection contre les pathogènes (effet de barrière, compétition, production de composés antimicrobiens), développement du tractus urinaire (par exemple jonctions épithéliales) et production de neurotransmetteurs, immunomodulation, dégradation de composés toxiques, etc.

Différents facteurs peuvent influencer le microbiote urinaire, comme le régime alimentaire (par exemple apports hydriques importants, consommation de jus de canneberge), la prise d'antibiotiques, le statut hormonal et l'activité sexuelle. Des altérations du microbiote urinaire ont aussi été associées à différentes pathologies urinaires comme la vessie neurogène, la cystite interstitielle et l'incontinence urinaire impérieuse. Des interactions entre le microbiote intestinal et la formation de lithiases rénales ont été mises en évidence. En effet, il existe une corrélation inverse entre la présence de l'espèce *Oxalobacter formigenes* et le développement de calculs rénaux d'oxalate de calcium, cette bactérie paraissant essentielle à la dégradation de l'oxalate au niveau du tube digestif en diminuant son absorption. Enfin, le microbiote urinaire pourrait être impliqué dans la réponse à l'immunothérapie par BCG dans le traitement préventif des rechutes du cancer de la vessie.

Conclusion

La détermination de la composition des différents microbiotes humains et surtout l'élucidation de leurs dynamiques sont capitales dans la compréhension de nombreuses pathologies, qu'elles soient d'origine infectieuse ou non. Cela va notamment à l'encontre des postulats de Koch dont les quatre principes doivent permettre d'établir un lien de causalité entre un agent pathogène et la maladie qu'il provoque. En effet, les microbiotes ont un rôle majeur dans le maintien de la santé (homéostasie) et/ou le développement des maladies. Ces dernières sont liées à des modifications qualitatives et/ou quantitatives des microbiotes (c'est-à-dire dysbioses), restant à déterminer maintenant si elles en sont la cause ou la conséquence. De nombreux facteurs peuvent induire des variations au sein des microbiotes (par exemple âge, sexe, style de vie, régime alimentaire, comorbidités, médicaments, etc.) et sont à prendre en compte, de même que les interactions des différents micro-organismes (par exemple bactéries et bactériophages) au sein d'une niche écologique donnée. Afin de prévenir certaines pathologies, l'utilisation de thérapeutiques pourra être instaurée, comme la substitution de microbiote, l'utilisation de probiotiques ou prébiotiques ou la phagothérapie.

Pour en savoir plus

- Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, et al. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43 : 5721–32.
- Beck JM, Young VB, Huffnagle GB. The microbiome of the lung. *Transl Res* 2012; 160 : 258–66.
- Chen H, Jiang W. Application of high-throughput sequencing in understanding human oral microbiome related with health and disease. *Front Microbiol* 2014; 5 : 508.
- Cho I, Blaser MJ. The human microbiome : at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* 2012; 13 : 260–70.
- Debré P, Le Gall J.Y. Le microbiote intestinal. *Bull Acad Nat Med* 2014, 198 : 1667–84.
- de Steenhuijsen P, Sanders EA, Bogaert D. *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2015; 370 : 20140294.
- Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert Rev Respir Med* 2013; 7 : 245–57.
- DiGiulio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, et al. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112 : 11060–5.
- Doré J, Corthier G. Le microbiote intestinal humain. *Gastroenterol Clin Biol* 2010; 34 : 7–16.
- Dunach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP. Le microbiote cutané : étude de la diversité microbienne et de son rôle dans la pathogénicité. *Rev Fran Lab* 2015; 45 : 51–8.
- Gordon JI, Klaenhammer TR. Rendezvous with our microbes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(Suppl 1) : 4513–5.
- Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9 : 244–53.
- Grice EA, Segre JA. The human microbiome : our second genome. *Annu Rev Genomics Human Genet* 2012; 13 : 151–70.
- Hilt EE, McKinley K, Pearce MM, et al. Urine is not sterile : use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. *J Clin Microbiol* 2014; 52 : 871–6.
- Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, et al. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 2013; 21 : 8787–803.
- Jenkinson HF. Beyond the oral microbiome. *Environ Microbiol* 2011; 13 : 3077–87.
- Lagier JC, Hugon P, Khelaifia S, et al. The rebirth of culture in microbiology through the example of culturomics to study human gut microbiota. *Clin Microbiol Rev* 2015; 28 : 237–64.
- Lewis DA, Brown R, Williams J, et al. The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3 : 41.
- Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489 : 220–30.
- Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome : rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol* 2012; 66 : 371–89.
- Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research : a proposal. *Microbiome* 2015; 3 : 31.
- Marteau P. *Microbiote intestinal*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Gastro-Entérologie* 2013; 8 : 1–8 9-000-B-20.
- Martin DH. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. *Am J Med Sci* 2012; 343 : 2–9.
- Murillo N, Raoult D. Skin microbiota : overview and role in the skin diseases acne vulgaris and rosacea. *Future Microbiol* 2013; 8 : 209–22.
- Schommer NN, Gallo RL. Structure and function of the human skin microbiome. *Trends Microbiol* 2013; 21 : 660–8.
- Segal LN, Rom WN, Weiden MD. Lung microbiome for clinicians. *Ann Am Thorac Soc* 2014; 11 : 108–16.
- Shipitsyna E, Roos A, Datcu R, et al. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age – sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? *PLoS One* 2013; 8 : e60670.
- Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2011; 9 : 279–90.
- The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486 : 207–14.
- Versalovic J, Highlander SK, Petrosino JF. The human microbiome. In : *Manual of clinical microbiology*. 11th ed. Washington, DC : ASM Press; 2015.
- Walter J, Ley R. The human gut microbiome : ecology and recent evolutionary changes. *Annu Rev Microbiol* 2011; 65 : 411–29.
- Whiteside SA, Razvi H, Dave S, et al. The microbiome of the urinary tract – role beyond infection. *Nat Rev Urol* 2015; 12 : 81–90.

Du prélèvement à la caractérisation des souches

P. Lanotte, C. Isnard et al.

PLAN DU CHAPITRE

3.1 Démarche de l'examen bactériologique	15	Introduction	38
Les prélèvements	15	Technique de séquençage de l'ADN	38
Schéma de la démarche	16	Technique de restriction enzymatique	39
Examen microscopique	16	Techniques d'amplification génique fondées sur la PCR	40
Culture et isolement des bactéries	22	Techniques fondées sur le séquençage complet ou <i>whole genome sequencing</i> (WGS)	42
Tests biochimiques utilisés dans l'identification des bactéries	29	Choix de la technique	43
3.2 Typage moléculaire des souches	38	Conclusion	43

3.1 Démarche de l'examen bactériologique

P. Lanotte, F. Garnier, L. Mereghetti

Les objectifs de la démarche de l'analyse bactériologique sont divers. Le plus fréquemment, il s'agit pour le laboratoire de mettre en évidence la ou les bactéries responsables d'une infection, d'effectuer une identification précise du ou des pathogènes et de tester sa (leurs) sensibilité(s) aux antibiotiques habituellement actifs sur cette ou ces bactérie(s). Dans certains cas, il s'agit de s'assurer que la bactérie initialement responsable de l'infection pour laquelle un traitement antibiotique a été entrepris est bien éradiquée. Dans d'autres cas, il peut s'agir de rechercher le portage spécifique d'une bactérie en particulier ; on parle alors de dépistage.

Les moyens de diagnostiquer une infection bactérienne sont de deux ordres, les méthodes de diagnostic direct et les méthodes de diagnostic indirect. Les méthodes directes regroupent les techniques qui permettent de mettre en évidence tout ou partie de la bactérie. Les méthodes mettant en évidence les bactéries dans leur intégralité sont fondées principalement sur les techniques de microscopie en absence de coloration (état frais) ou après coloration et sur les techniques de culture sur milieu artificiel. La détection d'antigènes spécifiques de la bactérie ainsi que les méthodes de mise en évidence d'acides nucléiques (ADN ou ARN) spécifiques de la bactérie constituent les autres méthodes de diagnostic direct. Les méthodes de diagnostic indirect cor-

respondent aux techniques de détection d'anticorps développés par l'organisme infecté en réponse à l'agression par la bactérie pathogène. Il s'agit dans ce cas des méthodes de sérodiagnostic. Les méthodes indirectes ne seront pas abordées dans ce chapitre.

Les prélèvements

Les prélèvements permettant de mettre en évidence une bactérie responsable d'une infection dépendent du site anatomique atteint, mais peuvent correspondre à des liquides biologiques dans lesquels la bactérie ou des antigènes bactériens peuvent être détectés.

Les échantillons biologiques sont prélevés dans des flacons stériles puis transmis au laboratoire le plus rapidement possible.

Un élément majeur caractérise les prélèvements lorsqu'ils sont mis en culture. Il s'agit de la présence éventuellement associée d'une flore bactérienne ou d'une contamination par cette même flore lors du prélèvement. Certains prélèvements proviennent de sites normalement stériles (liquide céphalorachidien, liquide articulaire, sang, biopsies, etc.) pour lesquels une contamination est très peu probable si la désinfection cutanée préalable au prélèvement a été correctement exécutée. L'interprétation de ces prélèvements est relativement aisée. Dans d'autres cas, le prélèvement provient d'un site anatomique normalement stérile mais la contamination par une flore endogène est pratiquement obligatoire (par exemple les prélèvements pulmonaires profonds comme les brossages distaux, même s'ils sont protégés). Enfin,

lorsque la bactérie responsable de l'infection est associée à une flore endogène (c'est le cas dans les infections digestives, les infections cutanées, les angines, etc.), la présence de cette flore va interférer inévitablement avec l'isolement de la bactérie, ce qui nécessitera l'utilisation de milieux sélectifs et/ou de milieux d'enrichissement (voir plus loin). Par ailleurs, il est vrai essentiellement dans les infections cutanées, qu'il faut distinguer les prélèvements superficiels et les prélèvements profonds, seuls ces derniers présentant un intérêt médical réel.

Ces prélèvements sont soit de consistance liquide (urine, liquide céphalorachidien, liquides d'épanchement, etc.), soit de consistance solide (sécrétions visqueuses, des tissus, des biopsies, etc.), soit enfin du matériel (chambres implantables, cathéters, redons, drains, matériel prothétique, etc.). Dans le cas des hémocultures, le prélèvement de sang est directement mis dans un flacon de culture dès le prélèvement).

En fonction du type de prélèvement, l'analyse bactériologique sera complétée par une analyse cytologique qui permet d'orienter vers une étiologie bactérienne ou virale en fonction du type de cellules retrouvé.

Schéma de la démarche

La démarche classique de l'analyse effectuée au laboratoire pour la mise en évidence d'une bactérie à partir d'un prélèvement est schématisée Figure 3.1.

Examen microscopique

L'analyse d'un prélèvement effectué dans un but diagnostique est en règle générale une analyse à la fois cytologique et bactériologique. Ainsi, l'examen microscopique est une étape clé dans la démarche diagnostique des infections bactériennes.

Analyse cytologique

Cette analyse cytologique doit répondre à un ou deux objectifs en fonction de la nature de l'échantillon. Il peut s'agir d'une analyse quantitative qui va permettre de répondre en nombre d'éléments figurés par unité de volume (millimètre cube ou microlitre, millilitre). Cette numération est effectuée pour les prélèvements de nature liquide (liquides

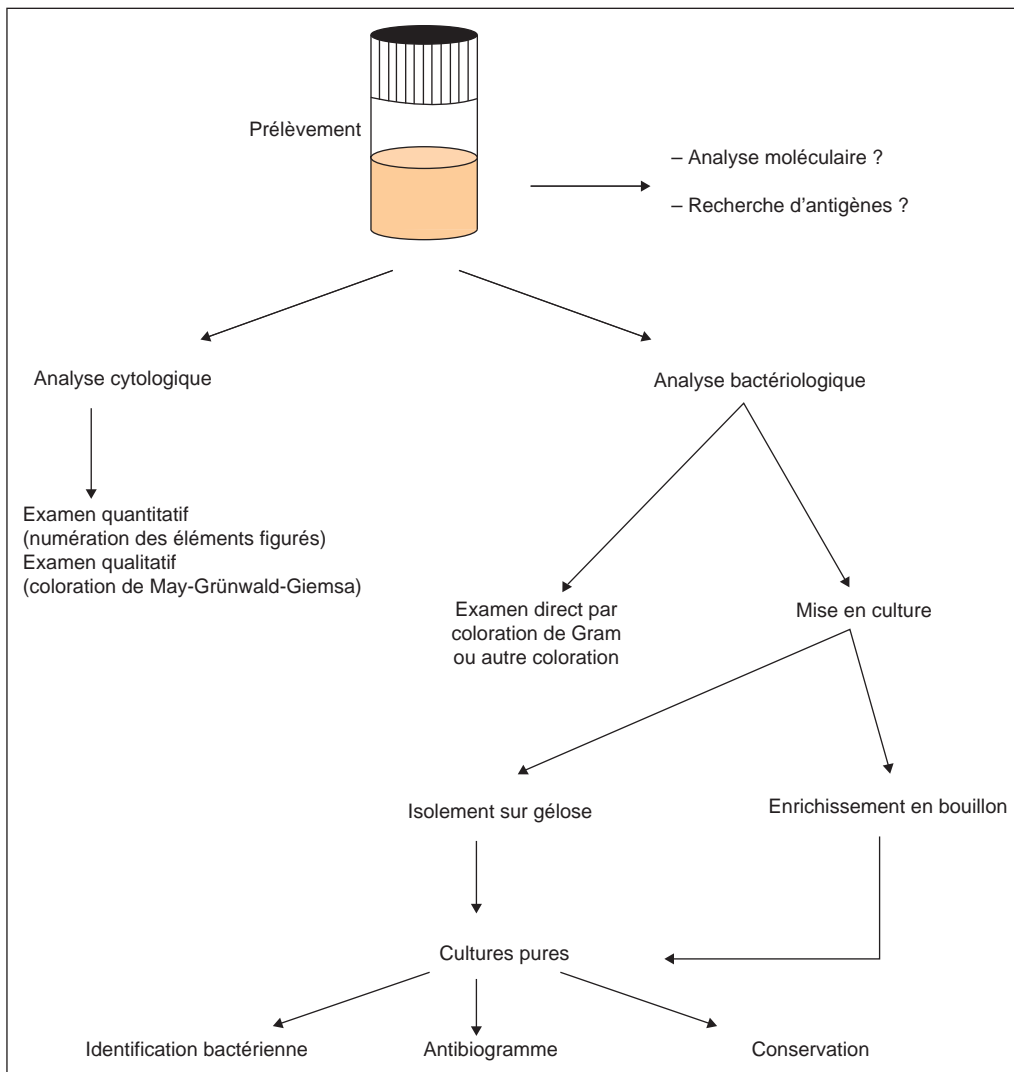


Fig. 3.1 Schéma général de la démarche de l'analyse bactériologique.

céphalorachidiens, urines, liquides articulaires, liquides pleuraux, etc.). Une analyse qualitative précisant la nature des éléments figurés observés sera effectuée sur la plupart des prélèvements précédemment cités lorsqu'une réaction cellulaire aura été mise en évidence. Cette analyse qualitative sera quant à elle également effectuée pour les prélèvements de nature solide (biopsies, tissus, écouvillonnages, etc.). Lorsque des éléments figurés seront présents, la richesse en ces éléments sera évaluée (rares, présence, nombreux) et leur nature sera précisée.

Dans le cas particulier des prélèvements respiratoires, l'appréciation de la qualité du prélèvement sera fondée sur une évaluation quantitative du nombre de leucocytes et de cellules épithéliales par champ microscopique (objectif 10).

Analyse quantitative

La quantification des éléments est effectuée manuellement ou bien plus récemment en utilisant des systèmes automatiques de comptage, en particulier pour les prélèvements d'urine.

Systèmes manuels de comptage

Ces systèmes font appel à des hématocytomètres ou hématimètres communément appelés cellules. Ces cellules sont soit réutilisables comme les cellules de Lemaure ou de Malassez par exemple, soit à usage unique comme les Kovalslide®. Le liquide biologique est analysé directement ou après ajout d'un colorant des noyaux (bleu de toluidine) qui, dans certains cas, permet de faciliter la détection des éléments figurés.

Cellules réutilisables

Les différentes cellules sont constituées de la même façon (Fig. 3.2). Il s'agit d'une épaisse lame porte-objet en verre, quadrillée en son centre qui présente de part et d'autre des plateaux surélevés qui permettent, lorsque ceux-ci reçoivent une lamelle, de définir un volume de liquide défini propre à chaque cellule.

Les cellules utilisées dépendent des habitudes de l'utilisateur ainsi que de la cellularité des milieux étudiés. Pour les milieux riches en cellule, l'hématimètre de Thoma permet l'étude d'un volume de 0,1 μl et la cellule de Malassez, l'étude de 1 μl . Pour des milieux où les éléments figurés sont rares, des volumes plus importants peuvent être analysés; la

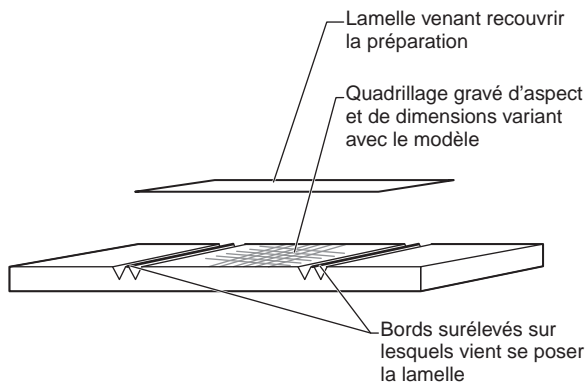


Fig. 3.2 Éléments composant une cellule pour analyse quantitative.

cellule de Lemaure permet d'étudier jusqu'à 40 μl et celle de Nageotte par exemple jusqu'à 50 μl . Pour des raisons d'hygiène, ces cellules ne sont pratiquement plus utilisées.

Cellules à usage unique

Les cellules à usage unique type Kovalslide® présentent l'avantage de regrouper sur un même support 10 cellules, ce support étant jeté après utilisation sans désinfection comme doivent l'être les cellules précédentes (Fig. 3.3). Le volume étudié est de 1 μl .

Utilisation de systèmes automatiques de comptage

Les systèmes automatiques de comptage utilisent l'urine native avec un volume d'échantillon nécessaire pour l'analyseur voisin de 0,8 à 1 ml. Ces systèmes sont fondés soit sur une coloration des éléments urinaires avec différents colorants fluorescents qui sont ensuite comptés et différenciés par cytométrie en flux, soit par cytométrie en flux avec capture d'images associée à une reconnaissance automatique des particules. Dans ce dernier cas, toutes les particules sont numérisées et mémorisées. Ces systèmes sont connectables au système informatique de laboratoire.

Analyse qualitative

Afin de connaître avec précision la nature des éléments figurés observés lors de l'analyse quantitative, l'étalement du prélèvement avant ou après centrifugation suivi d'une coloration est indispensable. La finesse de l'étalement du frottis est importante pour une observation de qualité. Ce frottis doit être réalisé dans la mesure du possible rapidement après le prélèvement car certains éléments cellulaires se dégradent rapidement, en particulier dans les liquides pauvres en protéines comme les urines ou le liquide céphalorachidien. La fixation des frottis est effectuée en recouvrant de méthanol la préparation jusqu'à évaporation.

Les méthodes de centrifugation douces sont intéressantes pour les liquides contenant peu de cellules, et l'utilisation



Fig. 3.3 Cellule Kovalslide® sur la platine d'un microscope.

d'une cyto centrifugeuse permet d'obtenir un dépôt cellulaire de très bonne qualité.

La coloration cytologique effectuée est la coloration de May-Grünwald-Giemsa. La méthode classique consiste à déposer sur le frottis préalablement fixé la solution de May-Grünwald et à la laisser agir 5 minutes. Après un lavage à l'eau de 1 minute, la solution de Giemsa est laissée en contact 15 minutes. Après un dernier lavage à l'eau, la préparation est laissée sécher puis observée à l'immersion. Cette coloration permet de colorer les noyaux en bleu, le cytoplasme en rose et les bactéries lorsqu'elles sont présentes en bleu. Il existe des colorations dérivant de la méthode de May-Grünwald Giemsa qui sont plus rapides et permettent d'obtenir un résultat satisfaisant en quelques minutes.

Les frottis réalisés dans ces conditions sont également colorés par la coloration de Gram qui ne permet qu'une observation grossière de la morphologie des cellules.

Examen microscopique bactériologique

L'examen microscopique en bactériologie peut être effectué sans coloration de l'échantillon par observation directe entre lame et lamelle (technique de l'état frais), ou bien après coloration de l'échantillon, ou encore après réaction d'immunofluorescence. Cet examen renseigne sur la présence de bactéries confirmant l'origine bactérienne d'une infection (morphologie, propriétés tinctoriales particulières après coloration de Gram ou coloration de Ziehl-Neelsen), ce qui représente un élément majeur pour une prise en charge thérapeutique adaptée. Ainsi, cet examen oriente sur une famille de bactéries ou un genre bactérien, permettant d'adapter ou de modifier une antibiothérapie. En fonction du prélèvement ou du contexte clinique, il peut dans certains cas, en quelques minutes, identifier de façon quasi certaine un pathogène.

L'examen renseigne également sur la quantité de bactéries présentes dans le prélèvement. Si l'on estime que lors d'une observation à un grossissement de 1000 fois (oculaire de 10 et objectif 100 à l'immersion) le volume observé correspond à 1/1000 de microlitre, alors l'estimation de la quantité de bactéries visibles lors d'un examen direct peut être donnée selon le [tableau 3.1](#).

Tableau 3.1 Estimation de la quantité de bactérie par ml de prélèvement en fonction de la quantité de bactérie visible au microscope à un grossissement de 1000 fois.

Nombre de bactéries par champ	Quantité de bactéries par ml
1 bactérie par 100 champs	10 ⁴ bactéries/ml (seuil estimé de sensibilité du microscope optique)
1 bactérie par 10 champs	10 ⁵ bactéries/ml
1 bactérie par 1 champ	10 ⁶ bactéries/ml
10 bactéries par champ	10 ⁷ bactéries/ml
100 bactéries par champ	10 ⁸ bactéries/ml

Examen direct à l'état frais

Les méthodes fondées sur la technique de l'état frais correspondent à l'observation d'un matériel biologique ou d'une suspension bactérienne entre lame et lamelle sans fixation préalable du matériel par la chaleur ou l'alcool.

État frais

Une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne à l'objectif 40. Les renseignements obtenus par cette observation concernent principalement la mobilité des bactéries. Il faut cependant être prudent sur le fait que des courants de convection dans ces conditions peuvent être présents et perturber l'observation. En fonction de la mobilité observée, si elle est présente, on peut préjuger du type de ciliature de la bactérie (monotriche, péritriche, etc.), ce qui oriente sur la bactérie en cause. Ainsi, par sa mobilité, *P. aeruginosa* par exemple peut se distinguer aisément d'une entérobactérie. Cet examen peut s'avérer très utile lors de la positivité d'une hémoculture. En effet, un doute peut persister sur l'orientation d'identification, après coloration de Gram d'un étalement du bouillon d'hémoculture coloré. Une mobilité importante avec des bacilles qui traversent le champ microscopique est en faveur de *P. aeruginosa* alors qu'une entérobactérie sera mobile sur elle-même dans la majorité des cas.

Certaines bactéries de mobilité caractéristiques sont également repérées par la technique de l'état frais comme les vibrions ou les campylobactéries.

Cet examen peut être effectué après avoir luté la lamelle sur la lame, c'est-à-dire après avoir déposé sur la totalité du pourtour de la lamelle un peu de paraffine préalablement fondue ([Fig. 3.4](#)). Cette méthode permet de « sceller » la lamelle et ainsi d'empêcher les courants de convection. Dans ces conditions, une observation à l'immersion peut être effectuée.

État frais pour mise en évidence d'une capsule par méthode à l'encre de Chine

La mise en évidence d'une capsule bactérienne peut être effectuée par coloration « négative », les capsules ne se colorant pas en présence d'encre de Chine. Néanmoins, en pratique quotidienne, cette technique est principalement utilisée pour la mise en évidence de la capsule de *Cryptococcus neoformans*, une levure impliquée dans des infections du système nerveux central chez le patient immunodéprimé, en particulier pour les malades VIH positifs. Un état frais après coloration du produit pathologique prélevé (en l'occurrence le liquide céphalorachidien pour les cryptocoques) peut être réalisé. Une goutte du liquide pathologique et une goutte d'encre de Chine sont déposées côte à côte sur une lame. Une lamelle vient recouvrir les deux gouttes et les deux constituants se mélangent. Lorsque ces levures capsulées sont présentes, elles sont visibles par la présence d'un large halo clair, correspondant à la capsule fongique, autour d'une levure éventuellement bourgeonnante.

État frais sur un microscope à fond noir

Un état frais particulier permet, lorsque le microscope dispose d'un condensateur particulier, d'observer les bactéries