

### Généralités sur les *Haemophilus*

Le genre *Haemophilus* est placé dans la famille des *Pasteurellaceae* avec les genres *Pasteurella* et *Actinobacillus*.

Les *Haemophilus* sont de petits bacilles ou des coccobacilles à Gram négatif avec un polymorphisme accentué (formes allongées) ; immobiles, non sporulés, aérobies et anaérobies facultatifs. Ils exigent pour leur croissance la présence de facteurs présents dans le sang, le facteur X ou protoporphyrine IX ou protohème et / ou le facteur V (NAD ou NADP), à la température optimale de 35-37 °C.

Ils possèdent une nitrate – réductase, ont une réaction de catalase et d'oxydase variables et utilisent les glucides par un processus fermentatif.

Ce sont des parasites obligatoires des muqueuses de l'homme et des animaux.

Parmi les 16 espèces décrites :

- 3 exigent les facteurs X et V : *H. influenzae*, *H. aegyptius* et *H. haemolyticus* ;
- 3 n'exigent que du facteur X : *H. haemoglobinophilus*, *H. ducreyi* et *H. aphrophilus* ;
- 10 n'exigent que le facteur V : *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. paraphrohaemolyticus*, *H. pleuropneumoniae*, *H. paracuniculus*, *H. paraphrophilus*, *H. segnis*, *H. parasuis*, *H. paragallinarum* et *H. avium*.

Les espèces rencontrées chez l'homme :

- espèces hémophile et NAD dépendantes : *H. influenzae*, *H. aegyptius* et *H. haemolyticus* ;
- espèces NAD dépendantes : *H. parainfluenzae*, *H. paraphrophilus* et *H. segnis* ;
- espèces hémophile-dépendantes : *H. haemoglobinophilus*, *H. ducreyi* et *H. aphrophilus*.

## *Haemophilus influenzae*

### I/ Caractères bactériologiques

#### 1°) Morphologie

*H. influenzae* se présente sous la forme de petits bacilles ou coccobacilles à Gram négatif, immobiles, capsulés, non sporulés. Parfois on observe des formes filamenteuses.

#### 2°) Caractères culturaux

##### a) Facteurs de croissance : Hémine (facteur X) et NAD (facteur V)

L'hémine est diffusible à partir des globules rouges intacts et est disponible à partir du sang frais. Thermostable, elle est libérée des globules rouges après chauffage.

Les besoins dans le milieu en NAD sont de 0,5 à 1 mg/L.

Les besoins en hémine dans le milieu de culture sont de 0,1 à 10 mg/L. En anaérobiose les besoins en hémine sont réduits.

##### b) Milieux de culture

- **Gélose au sang** : Le sang de cheval, de lapin, de cobaye permet la culture de *H. influenzae*. Le sang de mouton ne permet pas la culture de *H. influenzae* à cause de l'absence de libération spontanée de NAD et de NADP par les G.R. de mouton.

- **Gélose au sang cuit** : Le chauffage à 75 °C transforme la gélose au sang en gélose au sang cuit. Le chauffage libère le facteur V et inactive les enzymes hydrolysant le NAD.

- **Gélose chocolat** : C'est un milieu nutritif complexe qui contient de l'hémine mais pas de NAD. Il doit être supplémenté en facteur V sous forme d'extrait de levure, de NAD ou d'un mélange d'enrichissement chimiquement défini.

- **Milieu de Levinthal**

c) **Milieu sélectif** : C'est la gélose chocolat additionnée de bacitracine.

##### d) Culture :

La température optimale est de 35 à 37 °C.

Après 18 h d'incubation à 37 °C, les colonies de *H. influenzae* ont 1 mm de diamètre.

Les souches capsulées donnent des colonies muqueuses, volumineuses, blanchâtres ayant tendance à s'étaler ou des colonies lisses, rondes à bords réguliers, bombées, facilement dissociables.

Les colonies des souches non capsulées sont petites, difficiles à prélever.

#### 3°) Caractères biochimiques

*H. influenzae* exige de l'hémine et du NAD pour sa croissance. Il acidifie le glucose, le xylose, le ribose, le galactose et le maltose. Il ne fermente pas le fructose, le saccharose, le lactose, le mannose, le mélbiose et le tréhalose. Il possède une PAL. Il ne possède ni hémolysine, ni hémagglutinine. Il ne produit pas d'H<sub>2</sub>S. Il n'a pas besoin de CO<sub>2</sub> pour sa croissance.

KILIAN a décrit 8 biovars pour *H. influenzae* en fonctions de 3 caractères biochimiques : ornithine-décarboxylase, uréase, production d'indole.

Biovars de *H. influenzae*

	ODC	urée	indole	ONPG	Oxydase	Catalase	NR
I	+	+	+	-	+	+	+
II	-	+	+	-	+	+	+
III	-	+	-	-	+	+	+
IV	+	+	-	-	+	+	+
V	+	-	+	-	+	+	+
VI	+	-	-	-	+	+	+
VII	-	-	+	-	+	+	+
VIII	-	-	-	-	+	+	+

NR = nitrate-réductase

#### 4°) Produits élaborés

*H. influenzae* produit une IgA<sub>1</sub> protéase et une bactériocine active sur *H. influenzae* non capsulé, *H. parainfluenzae* et sur différentes espèces d'entérobactéries.

#### 5°) Antigènes

##### a) Pili ou fimbriae :

La plupart des souches de *H. influenzae* type b sont capables de produire des pili. La présence de pili confère à la bactérie les propriétés suivantes :

- adhésion aux cellules épithéliales buccales ;
- agglutination de G.R. humains non inhibée par le mannose.

##### b) Lipopolysaccharide :

Le lipide A contient un acide gras : l'a. arachidique

*H. influenzae* ne possède pas de chaînes latérales polysaccharidiques portant la spécificité antigénique.

##### c) Capsule :

Les souches de *H. influenzae* avec colonies lisses ou muqueuses sont capsulées et peuvent être caractérisées par agglutination ou précipitation d'une substance soluble spécifique.

PITTMAN a proposé 6 types antigéniques : a, b, c, d, e, f. Le type b est le plus fréquent.

##### d) Protéines de membrane externe :

La structure de la paroi de *H. influenzae* est analogue à celle des autres bactéries à Gram négatif.

Les protéines de membrane externe sont les constituants antigéniques majeurs des antigènes somatiques de surface. Elles immunogènes.

## II/ Physiopathologie

### 1°) Pouvoir pathogène naturel

Chez le nouveau-né les infections à *H. influenzae* sont rares. La forme septicémique avec syndrome de détresse respiratoire est la plus fréquente.

Les méningites à *H. influenzae* sont fréquentes chez l'enfant âgé de 3 mois à 3 ans. La bactérie en cause est *H. influenzae* type b.

L'épiglottite, moins fréquente que la méningite, survient chez les enfants de 2 à 7 ans. Autres localisations : arthrite, otite moyenne, cellulite, péricardite, pneumonie, orchio-épididymite.

Chez l'adulte *H. influenzae* détermine des méningites purulentes, une pneumonie avec bactériémie, une infection broncho-pulmonaire. L'épiglottite, la péricardite, l'endocardite, la cellulite ainsi que les localisations biliaires et au niveau de l'appendice sont peu fréquentes.

Les infections urinaires (cystite, pyélonéphrite), la prostatite, la bactériurie asymptomatique avec pyurie, surviennent sur calcul ou anomalie des voies urinaires.

Des infections génitales et gynécologiques ont été décrites : urétrite, salpingite et endométrite sur DIU, bartholinite, vaginite.

### 2°) Pouvoir pathogène expérimental et pathogénie

Le pouvoir pathogène expérimental de *H. influenzae* est faible. Seule l'inoculation intrapéritonéale peut provoquer la mort de l'animal par septicémie.

*H. influenzae* type b est le plus virulent. Les souches non capsulées sont dénuées de virulence. La virulence du type b est en partie due à sa plus grande résistance à l'activité bactéricide du complément.

L'étude des méningites a été faite chez le jeune rat à la mamelle.

La méningite survient après une bactériémie consécutive à la colonisation du rhinopharynx après inoculation par voie nasale ou à l'injection intrapéritonéale.

Seules les souches capsulées provoquent une bactériémie dont l'intensité et la fréquence sont inversement proportionnelles à l'âge de l'animal et proportionnelles à la quantité de bactéries administrées. La survenue des localisations extravasculaires est liée à l'intensité et à la durée de la bactériémie.

Seul le type b provoque une méningite après inoculation par voie nasale.

### **III/ Diagnostic**

#### **1°) Prélèvements**

- Prélèvements monomicrobiens : LCR, hémoculture, liquide pleural, pus d'otite.
- Prélèvements polymicrobiens : crachats (une première orientation est obtenue par la mise en évidence de nombreux bacilles à Gram négatif, immobiles, prédominants associés à une réaction leucocytaire importante).

#### **2°) Examen direct**

Dans le LCR *H. influenzae* se présente sous forme de bacilles à Gram négatif extracellulaire et associés à une réaction inflammatoire leucocytaire (1.000 à 2.000 cellules /mm<sup>3</sup>) à prédominance de polynucléaires neutrophiles.

3 °) La mise en évidence directe des antigènes polysaccharidiques (**antigènes solubles**) dans le LCR est possibles par diverses techniques (agglutination de particules de latex, électrosynérèse) utilisant des anticorps anti-polyosides purifiés.

#### **4°) Culture et identification**

*H. influenzae* donne sur gélose chocolat ou gélose à l'extrait globulaire des colonies lisses, convexes, grisâtres, translucides de 0,5 à 1 mm de diamètre après 24 h à 37 °C. Les souches capsulées donnent des colonies grosses (1 à 3 mm), parfois muqueuses.

*H. influenzae* possède 6 sérotypes et 8 biovars.

#### **5°) Antibiogramme standard**

Les molécules testées sont l'ampicilline, la céfalotine, le céfotaxime, la gentamicine, le chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la pristinaamycine, la rifampicine, les sulfamides et le triméthoprime.

## **IV/ Traitement**

### **1°) Traitement préventif**

#### **a) Chimio prophylaxie**

La rifampicine à la dose de 20 mg/kg/j en une prise par voie orale pendant 4 j pour l'enfant de 1 mois à 12 ans et 600 mg /j chez l'adulte a fait preuve d'efficacité dans l'éradication du portage.

Toutefois la preuve de cette efficacité n'a pas été faite dans la prévention des cas secondaires. La surveillance étroite et soigneuse des enfants exposés reste essentielle.

#### **b) Vaccination**

Le vaccin est constitué de polysaccharide purifié (type b, PRP).

La réponse en anticorps anti-polysaccharidiques est faible avant 18 mois, bonne chez les enfants plus âgés.

### **2 °) Traitement curatif**

Les infections des voies aériennes et du poumon sont traitées pendant 10 j par :

- l'ampicilline (50 à 75 mg/kg/j chez l'enfant, 2 g/j chez l'adulte ;
- l'association triméthoprim + sulfaméthoxazole (8 mg + 40 mg/kg/j chez l'enfant, 480 mg + 2400 mg/j chez l'adulte) ;
- l'association amoxicilline + acide clavulanique

Les méningites purulentes spontanées de l'enfant sont traitées par :

- l'ampicilline (200 à 400 mg/kg/j) en 4 perfusions discontinues d'une heure ;
- le céfotaxime i.v. (100 mg/kg/j) ou la ceftriaxone ;
- le choramphénicol (75 à 100 mg/kg/j) i.v. en 4 injections.

Un traitement efficace permet d'obtenir la stérilisation du LCR en 48 h. Le traitement doit être poursuivi 2 à 3 semaines après la stérilisation jusqu'à ce que la réaction inflammatoire ait disparu (< 50 cellules / mm<sup>3</sup>).

En cas de métastases septiques (endocardite, péricardite, ostéomyélite) il est important de prolonger le traitement sur une durée de 6 semaines, en associant par voie parentérale une  $\beta$ -lactamine à un aminoside.