

Chapitre V: Bacilles Gram négatif aérobie saprophytes

Bacilles à Gram négatif des genres *Pseudomonas* et *Acinetobacter* ont beaucoup de points communs avec les entérobactéries. Ces espèces sont volontiers multirésistantes aux antibiotiques (résistance naturelle et acquise), ce qui en rend le traitement difficile.

1. *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* de la famille des Pseudomonaceae comprend une soixantaine d'espèces pouvant répondre à la définition suivante :

- bacilles à Gram négatif
- aérobies stricts
- capables de se multiplier sur milieux usuels
- mobiles par ciliature polaire (sauf *Pseudomonas mallei*)
- possédant une oxydase
- incapables de fermenter le glucose
- pouvant produire des pigments diffusibles

1.1. Habitat

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. De nombreuses souches pouvant se développer à basse température (souches psychrophiles) contaminent les denrées alimentaires ou produits pharmaceutiques conservés au réfrigérateur.

On peut occasionnellement les isoler de la flore intestinale de l'homme ou de l'animal mais leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier.

1.2. Taxonomie et facteurs de virulence

L'espèce principale, *Pseudomonas aeruginosa* (ou bacille pyocyanique ou bacille du "pus bleu"), a les caractères suivants :

- Protéolytique,
- Production de deux pigments : la pyocyanine, soluble dans le chloroforme (pigment bleu), qui est spécifique de *Pseudomonas aeruginosa*, et la pyoverdine ou fluorescéine, jaune vert, fluorescent et soluble dans l'eau, ce pigment est présente chez les autres *Pseudomonas*. Il existe de rares souches produisant d'autres pigments (noir ou rouge) mais surtout 10% de souches sont non pigmentées. La production de pigments est favorisée sur les milieux de King "A" pour la pyocyanine et "B" pour la pyoverdine.
- Production d'une exotoxine nécrosante (A et S) par certaines souches.
- Protéases (protéase, élastase, collagénase) d'assez faible toxicité mais occasionnant néanmoins des dégâts tissulaires.
- Hémolysines, glycolipide et phospholipase C agissant en synergie
- Cytotoxine, de structure protéique, altérant les leucocytes

Les toxines, les enzymes, l'endotoxine du LPS, les pilis mais aussi les sidérophores et slime constituent des facteurs de virulence.

1.3. Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa, d'autres espèces du genre *Pseudomonas*, notamment *Pseudomonas fluorescens*, sont isolées en médecine vétérinaire de divers prélèvements effectués chez de nombreux mammifères. Malheureusement, il est généralement difficile d'interpréter l'isolement de ces germes qui sont souvent des contaminants.

Un pouvoir pathogène particulier de quelques espèces du genre *Pseudomonas* (autres que *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas anguilliseptica* et *Pseudomonas plecoglossicida*) a été mis en évidence chez les oiseaux et les poissons.

Chez les oiseaux, *Pseudomonas fluorescens* est responsable de la mort des embryons consécutive au trempage des œufs dans des solutions d'antiseptiques ou d'antibiotiques contaminés. Cette espèce a également été incriminée dans les troubles respiratoires des dindes et des poulets.

1.4. Diagnostic

Pseudomonas se développe facilement sur milieux ordinaires en aérobiose stricte. La culture est possible à 41°C. Il est mobile grâce à un cil polaire. Pour les prélèvements plurimicrobiens ou pour le contrôle des eaux, il est bon d'utiliser le milieu sélectif au cétrimide.

Sur les milieux électifs pour entérobactéries, il forme des colonies "lactose -". Le milieu de Kligler en particulier apparaît rouge en surface (lactose -) et inchangé en profondeur (pas de culture en anaérobiose et pas de production d'H₂S). En surface, la culture présente des reflets métalliques assez évocateurs.

La production de pigment (pyocyanine et pyoverdine) facilite grandement le diagnostic. La production de pyocyanine suffit même à identifier l'espèce mais rappelons que 10% de *Pseudomonas* sont non pigmentés et 1% produisent un pigment rouge ou noir.

L'odeur de sering (fleur) des cultures est également caractéristique.

- Caractères biochimiques

La production d'oxydase est un caractère d'orientation important. Les autres caractères biochimiques. Aérobiose stricte, mobilité, pigment vert, oxydase + et non fermentation de sucres sont des éléments d'identification importants

- Sérodiagnostic

Il n'a guère d'intérêt dans les infections aiguës car l'isolement de la souche est facile.

1.5. Sensibilité aux antibiotiques

Pseudomonas aeruginosa est réputé pour sa résistance aux antibiotiques qui pose de sérieux problèmes thérapeutiques. La résistance naturelle du bacille pyocyanique relève d'une mauvaise perméabilité de la membrane externe et de la production constante d'une bêtalactamase inductible.

Les résistances acquises sont dues à une imperméabilité accrue de la membrane externe (modification des porines) ou à la production d'enzymes inactivantes (pénicillinase par ex). Ces deux mécanismes peuvent coexister et conjuguier ainsi leurs effets.

2. Acinetobacter

Les *Acinetobacter* sont des bacilles immobiles, souvent groupés en diplobacilles courts, aérobies stricts, oxydase négatif, habituellement saprophytes.

2.1. Systématique

Longtemps considéré comme un représentant de la famille des Neisseriaceae, le genre *Acinetobacter* est actuellement inclus dans la famille des Moraxellaceae (ordre des Pseudomonadales, classe des "Gammaproteobacteria", phylum des "Proteobacteria", domaine des "Bacteria").

2.2. Caractères bactériologiques

Les souches du genre *Acinetobacter* sont constituées de bactéries à Gram négatif (pouvant cependant résister à la décoloration), non sporulées, parfois capsulées, immobiles (mais pouvant présenter une mobilité par saccade résultant de la présence de fimbriae polaires), aérobies strictes, à métabolisme respiratoire strict, catalase positive et oxydase négative.

La croissance est facilement obtenue sur les milieux ordinaires. La température d'incubation doit être comprise en 30 et 35 °C. Sur une gélose trypticase soja incubée à 30° C, les colonies sont convexes, circulaires, lisses, translucides ou légèrement opaques, muqueuses pour les souches capsulées et non pigmentées. Après 48 heures d'incubation, les colonies obtenues sur une gélose au sang de mouton ou de cheval peuvent être hémolytiques.

2.3. Habitat

Les *Acinetobacter* sont considérés comme des bactéries ubiquistes ayant pour principal habitat le sol, les eaux, les végétaux, la peau saine de l'homme et des animaux. Chez les animaux, la majorité des souches ne sont pas complètement identifiées et elles sont souvent qualifiées d'*Acinetobacter calcoaceticus*. Toutefois, des souches d'*Acinetobacter baumannii* ont été mises en évidence chez le cheval, le chien et le chat.

2.4. Pouvoir pathogène

Chez les animaux, les infections à *Acinetobacter sp.* (souvent l'isolement du germe à l'état pur) ont été identifiées à plusieurs reprises : septicémies chez la poule, chez le dindon et chez le veau, mammites et métrites chez la vache, avortements chez les bovins, les porcins et les équins, kératoconjonctivites chez les bovins, omphalites chez le veau, otites chez le chat, infections respiratoires chez le cheval, balanoposthites chez le cheval. Outre ces infections authentiques, les *Acinetobacter* sont isolés en association avec d'autres bactéries à partir de prélèvements très divers sans que l'on puisse préciser leur rôle étiologique. Comme chez l'homme, des infections nosocomiales à *Acinetobacter baumannii* ont été décrites chez le cheval, le chat et le chien.

Une contamination par *Acinetobacter calcoaceticus* a été évoquée pour expliquer, au moins partiellement, la pathogénie de l'encéphalopathie spongiforme bovine. Cette hypothèse repose sur la présence de déterminants antigéniques communs entre *Acinetobacter calcoaceticus* et des protéines du système nerveux central, ainsi que sur la présence d'auto-anticorps de la classe des IgA chez les bovins atteints d'encéphalopathie spongiforme. Il est intéressant de noter qu'une hypothèse comparable a été avancée dans la pathogénie de la sclérose en plaques.

2.5. Facteurs de pathogénicité

La production de slime (polysaccharides de surface) par les souches d'*Acinetobacter sp.* augmente la virulence d'autres bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* ou *Escherichia coli*. Environ la moitié des acinéto bactérioses sont des infections mixtes ce qui confère à cette observation une certaine importance clinique. Le slime, produit au cours de la phase exponentielle de croissance, inhibe la migration des granulocytes neutrophiles et possède un pouvoir toxique pour ces cellules.

Comme les autres bactéries à Gram négatif, les acinéto bactéries possèdent un lipopolysaccharide doué de propriétés endotoxiques.

La présence d'une capsule polysaccharidique est considérée comme un facteur de virulence car elle s'oppose à la phagocytose. De plus, avec les fimbriae, elle pourrait jouer un rôle dans l'adhésion aux cellules épithéliales.

Les souches hémolytiques produisent une phospholipase C qui hydrolyse la lécithine, la phosphatidyléthanolamine et la sphingomyéline et qui est cytotoxique pour les leucocytes. La captation du fer est sous la dépendance d'un sidérophore du type aéro bactéine et appelé acinéto bactéine et de protéines de membrane externe dont la synthèse est réprimée en présence de fer dans l'environnement.

2.6. Diagnostic bactériologique

L'isolement des *Acinetobacter* sp. peut être réalisé sur des milieux d'usage courant (gélose nutritive, gélose trypticase soja, gélose cœur-cerveau) incubés à 30-35 °C.

Les souches du genre *Acinetobacter* se différencient facilement des représentants de la famille des *Enterobacteriaceae* car elles sont incapables de cultiver en anaérobiose.

L'absence d'oxydase permet également de les différencier des genres *Moraxella* et *Psychrobacter*.

2.7. Sensibilité aux antibiotiques

Les souches d'*Acinetobacter* sp. sont naturellement résistantes à la pénicilline G. L'utilisation de quantités importantes d'antibiotiques et notamment d'antibiotiques à large spectre a sélectionné des souches multirésistantes. De ce fait, les souches les plus résistantes sont isolées en milieu hospitalier et certaines souches d'*Acinetobacter baumannii* sont considérées comme les plus résistantes des bacilles à Gram négatif. Toutes les autres espèces ou genomospécies du genre *Acinetobacter* isolées en clinique sont capables d'exprimer la même multirésistance.

Les souches d'origine vétérinaire ont souvent une meilleure sensibilité que les souches d'origine humaine mais le recours à l'antibiogramme est une nécessité.

Il est intéressant de noter que la grande résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter* n'est pas corrélée à une résistance aux antiseptiques et désinfectants. Ainsi, cette bactérie reste sensible à de nombreux antiseptiques et désinfectants.