	Systématique
	<b><i>Pseudomonas</i> et « apparentés »</b>

## 1. Classification

Dans la deuxième édition du "*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*", l'ordre des *Pseudomonadales* est défini sur la base des séquences des ADNr 16S et il est constitué de la famille des *Pseudomonadaceae* et de la famille des *Moraxellaceae*.

En 1895, Migula inclut dans le genre ***Pseudomonas*** des bactéries possédant une ciliature monotriche ou lophotriche dont l'espèce "*Pseudomonas pyocyaneae*" (aujourd'hui ***Pseudomonas aeruginosa***).

Par la suite, le genre *Pseudomonas* a accueilli un très grand nombre d'espèces constituées **de bacilles à Gram négatif, mobiles (ciliature polaire) ou immobiles et à métabolisme oxydatif**.

Le genre ***Burkholderia*** est actuellement placé dans la famille des *Burkholderiaceae* et il est phylogénétiquement éloigné du genre *Pseudomonas*.

En 1986, des études génotypiques (hybridation ARNr-ADN) et phénotypiques (auxanogrammes) montrent que les genres *Bordetella* et ***Alcaligenes*** sont apparentés, ce qui a conduit à les regrouper au sein d'une nouvelle famille, la famille des *Alcaligenaceae*.

## 2. Habitat

La plupart des ***Pseudomonas*** sont ubiquitaires et sont isolés de l'eau, du sol, des poussières en suspension dans l'air et des végétaux. Les souches ont généralement une très large versatilité nutritionnelle et elles peuvent vivre dans des niches écologiques très diverses.

Ces bactéries sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques, ce qui explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalier où elles peuvent être isolées de l'environnement humide (évier, siphons, vases, linge, récipients contenant de l'eau etc...)

Les espèces du genre ***Burkholderia*** ont pour principal habitat le sol et les plantes mais, quelques espèces sont pathogènes pour l'homme ou l'animal ou se comportent comme des pathogènes opportunistes. ***Burkholderia cepacia*** est retrouvée dans le sol et dans l'eau (y compris l'eau du robinet), dans des solutions antiseptiques. ***Alcaligenes faecalis*** est isolé de l'eau et du sol.

## 3. Pouvoir pathogène

***Pseudomonas aeruginosa*** peut être impliqué dans des infections communautaires et c'est l'une des bactéries les plus fréquemment isolées lors d'infections nosocomiales. À elle seule, elle représente environ 90 % de tous les *Pseudomonas* spp. isolés au laboratoire.

*Pseudomonas aeruginosa* est peu virulent chez les individus en bonne santé et, au contraire, très pathogène chez les sujets dont les moyens de défense sont altérés. Elle est le prototype des **bactéries pathogènes opportunistes** et elle est isolée d'**infections très diverses** : infections pulmonaires, infections cutanées, infections oculaires, otites externes, sepsis...

*P. aeruginosa* possède un grand nombre de facteurs de virulence jouant un rôle dans la colonisation, la survie de la bactérie et l'invasion des tissus :

- des **pili** permettant l'adhésion aux épithéliums ;
- l'**exoenzyme S**, localisée sur la membrane externe joue également un rôle important dans l'adhésion ;
- des **sidérophores**, notamment la **pyoverdine**, qui permettent à la bactérie de se multiplier en l'absence de fer libre ;
- les souches isolées de l'appareil respiratoire, notamment de patients souffrant de mucoviscidose possède une **pseudocapsule d'alginate qui protège le germe de la phagocytose**, de la déshydratation et des antibiotiques. De plus, elle améliore l'adhérence aux cellules épithéliales en formant un biofilm ;
- la **cytotoxine** est une protéine située dans l'espace périplasmique et qui est libérée après la phase de croissance exponentielle. Elle est responsable de la formation de pores dans les membranes cellulaires, notamment dans la membrane des leucocytes, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité et une libération d'enzymes lysosomiales. Elle est ainsi responsable d'une inflammation sévère et d'une nécrose tissulaire.
- La **phospholipase C** est une **hémolysine thermolabile** ;
- des **protéases** qui provoquent des hémorragies et des nécroses tissulaires : **élastase** qui agit sur l'élastine et le collagène ; la **protéase alcaline** dégrade l'interféron gamma et les protéines du complément ;
- l'**exotoxine A** agit d'une manière comparable à la toxine diphtérique : elle inhibe la synthèse protéique des cellules eucaryotes par ADP-ribosylation du facteur d'élongation EF2.

Après *P. aeruginosa*, les espèces les plus fréquemment isolées sont *P. fluorescens*, *P. putida* et *P. stutzeri*. Ces bactéries n'ont qu'un faible degré de virulence ainsi qu'un pouvoir invasif limité. Elles se comportent comme des germes de surinfection chez des malades affaiblis.

*Burkholderia mallei* et *Burkholderia pseudomallei* sont des pathogènes majeurs puisqu'ils sont respectivement les agents de la « morve » et de la « mélioïdose ». *Burkholderia cepacia* est une bactérie **phytopathogène** (oignons, riz) mais c'est aussi une bactérie d'intérêt industriel car elle est apte à produire des substances antibactériennes et antifongiques, à dégrader des déchets industriels et à dégrader des pesticides. Certaines souches de *B. cepacia* peuvent se comporter comme des **pathogènes opportunistes** chez des individus aux moyens de défense affaiblis. Ces bactéries sont responsables d'infections nosocomiales consécutives à l'utilisation de liquides ou de matériels contaminés, elles peuvent provoquer des **infections pulmonaires** graves chez des patients atteints de mucoviscidose.

*Alcaligenes faecalis* est responsable d'infections opportunistes chez l'homme. Elle peut alors être isolée du sang, du liquide rachidien, du liquide pleural, du liquide péritonéal, de pus, de selles, d'urines, de l'œil, de l'oreille et du pharynx.

## 4. Caractères bactériologiques

### 4.1. *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* renferme des **bacilles à Gram négatif, droits**, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm (ou plus) de longueur, non sporulés, **mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires**, **aérobies**, à **métabolisme strictement respiratoire**, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons (les **nitrites sont parfois utilisés comme accepteur d'électrons** ce qui permet une **croissance en anaérobiose**), **oxydase positive**. La culture des *Pseudomonas* peut être obtenue sur les milieux peptonés. Toutes les souches ne cultivent pas à 37 °C (l'incubation à 30 °C est donc conseillée). La capacité à croître à des températures extrêmes (4 °C ou 41 °C), permet de caractériser certaines espèces. La plupart des espèces sont **prototrophes** et l'**auxanogramme** est important pour le diagnostic.

Les *Pseudomonas* peuvent produire des **pigments hydrosolubles diffusant dans les milieux de culture** :

- La présence ou l'absence d'un **pigment fluorescent (pyoverdine)** permet de séparer les espèces du genre en deux groupes, les **Pseudomonas « fluorescents »** (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*) et les *Pseudomonas* non-fluorescents (*P. stutzeri*). La pyoverdine est un **pigment de couleur jaune-verte**, soluble dans l'eau. Sa synthèse dépend de la concentration en ions Fe<sup>2+</sup> et dans les **milieux carencés en fer** sa production est abondante. Le **milieu de King B** et la **gélose cétrimide** (milieu sélectif des *Pseudomonas*) favorisent la production de pyoverdine.
- *Pseudomonas aeruginosa* produit un **pigment de couleur bleue soluble dans le chloroforme**, spécifique à cette espèce et appelé la **pyocyanine**. La pyocyanine est un **accepteur d'électrons** permettant à *P. aeruginosa* de croître en anaérobiose. Elle possède une activité bactériostatique, notamment vis-à-vis des bactéries à Gram positif. Le **milieu de King A** favorise la production de pyocyanine. D'autres pigments peuvent également être synthétisés par certaines souches de *P. aeruginosa* (un pigment brun foncé, la pyomélanine, un autre de couleur rose-rouge, la pyorubrine).

### 4.2. *Burkholderia*

Ce sont des bacilles droits, à Gram négatif, mobiles grâce à un ou à plusieurs flagelles polaires (*Burkholderia mallei* est immobile), aérobies stricts, catalase positive, oxydase variable. Les différentes espèces du genre peuvent être différenciées par les résultats des auxanogrammes.

### 4.3. *Alcaligenes*

Ce sont des bacilles ou des **coccobacilles**, de 0,5 à 1,2 µm de diamètre sur 1,0 à 3,0 µm de longueur, mobiles grâce à une **ciliature pérित्रique**, **aérobies** (mais pouvant pratiquer la respiration nitrate), cultivant entre 18 et 37 °C, oxydase positive.

## 5. Sensibilité aux antibiotiques

### 5.1. Résistances naturelles

- **Résistances naturelles communes à tous les bacilles à Gram négatif non exigeants** : pénicilline G, oxacilline, macrolides, kétolides, lincosamides, streptogramines, acide fusidique, glycopeptides, oxazolidinones, lipopeptides.
- **Résistances naturelles des *Pseudomonas*** : aminopénicillines, céphalosporines 1ere et 2eme génération, céfotaxime, ceftriaxone, ertapénème, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprim, quinolones.
- **Résistances naturelles des *Alcaligenes*** : aminopénicillines, céphalosporines 1ere et 2eme génération, ertapénème.
- **Résistances naturelles de *Burkholderia cepacia* et de trois autres espèces de bacilles Gram négatifs non fermentaires** :

Espèces	TIC	TCC	PIP	CTX	CAZ	IPM	QUI	C	TMP	FOS	COL
<i>B. cepacia</i>	R	R				R	R	R	R	R	R
<i>A. denitrificans</i>				R							
<i>C. meningosepticum</i>	R	R	R	R	R	R	R				R
<i>O. anthropi</i>	R	R	R	R	R						

R : résistance naturelle

TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + ac. clavulanique ; PIP: pipéracilline ; CTX: céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IPM : imipénème ; QUI : quinolones; C : chloramphénicol ; TMP: triméthoprim ; FOS : fosfomycine ; COL : colistine, polymyxine B.

*B.* = *Burkholderia* ; *A.* = *Achromobacter* ; *C.* = *Chryseobacterium* ; *O.* = *Ochrobactrum*

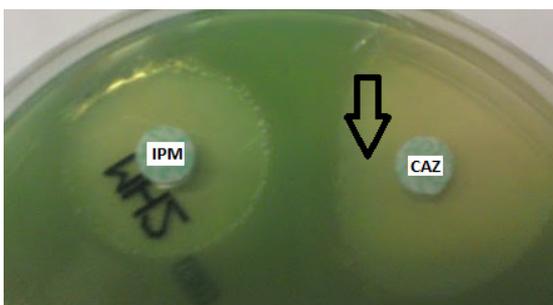
### 5.2. Résistances acquises

Les *Pseudomonas* présentent une résistance acquise aux antibiotiques ce qui rend nécessaire l'antibiogramme. Les résistances acquises aux  $\beta$ -lactamines sont variées (tableau ci-dessous) et peuvent être accompagnées d'autres résistances (aminosides, quinolones, etc...)

BetaLactamines		Sauvage (Case BN)	Pase	Case HN	BLSE Oxa	BLSE Per	Carbapénèmase
Ticarcilline	TIC	S	R	R	R	R	R
Ticarcilline + Ac. Clav.	TCC	S	S ou I	R	I ou R	S ou I	R
Pipéracilline	PIP75	S	I ou R	I ou R	I ou R	I ou R	S ou I
Pipéracilline + Tazo.	TZP85	S	S ou I	I ou R	I ou R	S ou I	S ou I
Ceftazidime	CAZ	S	S	I ou R	I ou R	R	R
Cefepime	FEP	S	S	I ou R	I ou R	I ou R	I ou R
Cefsulodine	CFS	S	I ou R	I ou R	I ou R	R	R
Aztreonam	ATM	S	S	I ou R	S ou I	R	S
Imipénème	IPM	S	S	S	S	S	R

Pase : Pénicillinase, Case : Céphalosporinase, BN : Bas Niveau, HN : Haut Niveau, BLSE : BétaLactamase à Spectre Etendu

Mise en évidence d'une céphalosporinase inductible :



Source : <http://www.bacterio.cict.fr/>