

GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES

I/ Définition

La famille des *Enterobacteriaceae* regroupe des bacilles à Gram négatif qui sont :

- soit mobiles avec une ciliature péritriche, soit immobiles
- non sporulés ;
- aérobies et anaérobies facultatifs ;
- qui cultivent sur les milieux ordinaires ;
- qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz ;
- qui possèdent une nitrate-réductase (réduction du nitrate en nitrite) ;
- qui ont une réaction négative des oxydases ;
- enfin qui possèdent une catalase.

Le nom d'Entérobactéries avait été donné à cette famille parce que plusieurs membres qui la composent sont des hôtes du tube digestif. Cette localisation n'est pas exclusive chez l'homme et les animaux. On les isole du sol et des végétaux qui sont le gîte habituel de certaines espèces (*Enterobacter cloacae*, les *Erwinia*).

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend de nombreux genres.

II/ Morphologie

Les Entérobactéries se présentent sous forme de bacilles de 2 à 3 µm de long et 0,6 µm de large.

Certains genres ou espèces ne contiennent que des bactéries immobiles : *Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*. Les bactéries classées dans les autres genres sont mobiles ; cette mobilité varie avec la température d'incubation : *Yersinia pseudotuberculosis* et *Hafnia alvei* sont mobiles à 28 °C et immobiles à 37 °C.

Les Entérobactéries peuvent posséder des pili ou fimbriae qui leur permettent de se fixer sur des cellules eucaryotes, entre autres aux hématies. Les pili peuvent être codés par des gènes chromosomiques ou plasmidiques. Ces adhésines jouent un rôle dans le pouvoir pathogène puisque l'adhésion aux cellules de l'hôte sensible en est une étape obligatoire.

Certaines espèces d'Entérobactéries possèdent une volumineuse capsule mise en évidence par la technique de l'encre de Chine. Exemple : *Klebsiella*

III/ Caractères culturels

Les Entérobactéries poussent sur des milieux complexes à base d'extraits de viande.

Leurs colonies présentent des aspects différents :

- Les colonies lisses (S) (ou smooth), sont rondes, à bords réguliers, ont un diamètre de 2 à 3 mm, après 18 h d'incubation à 37 °C. En milieu liquide les souches S donnent un trouble homogène.
- Les colonies rugueuses (R) (ou rough) sont plates, ont une surface mate, des bords irréguliers. En milieu liquide elles donnent des agglutinats spontanés. Elles se rencontrent à la suite de mutations portant sur la synthèse du lipopolysaccharide.

- Les colonies nappantes envahissent la surface du milieu gélosé. Cet envahissement rend impossible tout isolement sur milieux ordinaires d'une culture plurimicrobienne contenant *Proteus hauseri*.
- Les colonies muqueuses ont une consistance gélatineuse, une tendance à la confluence.
- Les colonies naines, à la limite de la visibilité, s'observent sur les milieux déficients pour le(s) facteur(s) de croissance indispensable(s).

IV/ Caractères biochimiques

Le diagnostic de genre et d'espèce repose sur l'étude des caractères biochimiques. Les méthodes utilisées sont :

1°) Recherche de la fermentation des sucres ou alcools en eau peptonée additionnée d'un indicateur de pH (bleu de bromothymol ou rouge de phénol)

La fermentation cause une acidification de l'indicateur.

2°) Recherche de l'utilisation d'un substrat en milieu complexe en aérobiose : citrate, malonate

Une réaction positive se traduit par une alcalinisation.

3°) Recherche d'un métabolite par une réaction caractéristique

- Les nitrites produits par une réductase ;
- Le 2-3-butanediol, produit à partir de l'acide pyruvique lors de la fermentation du glucose (ce corps transformé en acétoïne est révélé par la réaction de Voges Proskauer) ;
- L'indole à partir du tryptophane ;
- Les gaz qui, lors de la fermentation du glucose témoignent de la présence d'une hydrogène lyase, enzyme qui scinde l'acide formique HCOOH en H₂ et CO₂.

4°) Identification de certaines enzymes révélées par action sur leur substrat

- Les décarboxylases de la lysine (LDC) (formation de cadavérine), de l'ornithine (ODC) (formation de putrescine), révélées par alcalinisation secondaire contenant ces substrats et du glucose. La fermentation du glucose abaisse le pH et ces enzymes dont le fonctionnement est optimal en milieu acide, alcalinisent le milieu ;
- La décarboxylase et la dihydrolase de l'arginine (ADH) ;
- Les désaminases de la phénylalanine ou du tryptophane qui les transforment en acide phénylpyruvique ou en acide pyruvique que l'on révèle par du perchlorure de fer ;
- L'uréase : production de carbonate d'ammonium révélé par l'alcalinisation ;
- La β -galactosidase : elle scinde le lactose en glucose + galactose ainsi que l'orthonitrophényl- β -D-galactopyranoside pour libérer l'orthonitrophénol qui colore le milieu en jaune ;
- La β -glucuronidase : on utilise le paranitrophényl- β -D-glucuronide comme substrat chromogène ;
- La β -xylosidase avec comme substrat le paranitrophényl- β -D-xylopyranoside ,
- La γ -glutamyltransférase avec comme substrat l'acide L-glutamique para-nitroanilide ;
- La gélatinase (l'utilisation de film photographique permet d'avoir des réponses rapides) ;
- La tétrathionate-réductase (TTR) qui transforme le tétrathionate en thiosulfate.

5°) Production de sulfure d'hydrogène (H₂S)

On inocule la bactérie dans un tube par piqûre en profondeur dans un milieu solide à base de gélatine contenant de la peptone et une faible concentration de chlorure ferreux. La production de sulfure d'hydrogène se marque par la formation de sulfure ferreux noir.

Lorsqu'on place une bandelette d'acétate de plomb dans ou sur le milieu où croît la bactérie à tester l'élaboration de sulfure d'hydrogène se traduit par la formation de sulfure de plomb qui noircit la bandelette.

6°) Etude la croissance en milieu minimal

On recherche l'aptitude de la bactérie à cultiver en utilisant une source de carbone définie.

Exemple : le citrate de sodium (milieu de Simmons)

Seules les bactéries prototrophes cultivent en milieu minimal

7°) Recherche de l'aptitude ou de l'inaptitude à cultiver en présence d'un inhibiteur

L'inhibiteur le plus utilisé est le cyanure de potassium (milieu de Braun).

V/ Caractères antigéniques

1°) Antigènes communs des Entérobactéries

Les Entérobactéries possèdent un antigène commun appelé antigène de Kunitz ou ECA (Enterobacterial Common Antigen).

2°) Antigènes de la paroi ou Antigènes O

Les antigènes de la paroi, de nature lipopolysaccharidique, sont thermostables et alcoolostables. Ils comprennent 3 parties :

- Le lipide A, responsable des propriétés toxiques et pyrogènes de ces antigènes.
- Le polysaccharide de base ou « core »

Chez les *Salmonella* il comprend du phosphore, de l'éthanolamine, du cétodésoxyoctonate et de l'heptose

- Les chaînes latérales ou séquences polysidiques

Elles sont caractéristiques de la spécificité O des formes S des Entérobactéries. Les mutations qui affectent soit la synthèse du « core », soit l'attachement des chaînes latérales au « core », soit la synthèse de ces chaînes latérales, produisent des bactéries R. Les bactéries qui ont perdu la spécificité antigénique O sont beaucoup moins pathogènes que les formes S. Elles sont autoagglutinables, les chaînes latérales étant responsables de la stabilité des suspensions. L'agglutination O est granulaire (les bactéries sont accolées corps à corps), difficile à dissocier par agitation, lente.

3°) Antigènes K

Les antigènes K entourent l'antigène O. Ils rendent l'antigène O inagglutinable. Certains antigènes K constituent une capsule, d'autres sont appelés antigènes d'enveloppe puisque leur structure n'est pas visible au microscope optique.

On distingue deux catégories d'antigènes de surface :

- les antigènes de nature polysaccharidique (la plupart des antigènes K d'*Escherichia coli*, l'antigène Vi des *Salmonella*) ;
- les antigènes de nature protéinique parmi lesquels les Antigènes K88 (porc) et K99 (veau), CFAI et CFAII (homme) d'*Escherichia coli*.

4°) Antigènes flagellaires ou H

Les flagelles sont constitués de molécules de flagelline.

L'antigène H est thermolabile, détruit par l'alcool.

L'agglutination H des bactéries est floconneuse, rapide et facilement dissociable par agitation.