

Bacillus



Le genre *Bacillus* comporte des bactéries à Gram positif en batonnets sporogènes et généralement mobiles.

Ces bacilles sont aérobies ou aéro-anaérobies facultatifs.

Le genre *Bacillus* fait partie de la famille des *Bacillaceae*.

Taxonomie

- Le genre *Bacillus* comporte 74 espèces différentes, très diverses aussi bien sur le plan génotypique que phénotypique.
- les membres du « groupe *B. cereus* » sensu lato correspondent à une espèce unique, bien que réunissant différents pathovars : *B. cereus*, *B. anthracis* et *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. weihenstepharensis*, *B. pseudomycoides*.
- D'autres espèces peuvent intervenir en pathologie humaine.

Habitat et pouvoir pathogène

- La plupart des espèces sont saprophytes et très répandues dans la nature ; la **spore** leur confère une très grande résistance dans le milieu extérieur.
- Ce sont des germes telluriques que l'on rencontre également dans l'eau et l'air, ainsi que dans des produits alimentaires (laits en poudre, produits farineux, épices).
- *B. anthracis*, agent du charbon, est un pathogène obligatoire de l'homme et des animaux.
- Les animaux malades disséminent le germe ; le sol constitue le réservoir (champs, etc.) ; les cadavres et les produits d'origine animale (peaux, laine, os, etc.) participent à la contamination des terrains et à la transmission directe à l'homme.
- *B. cereus* est largement répandu dans la nature, le sol et l'air, et peut, de ce fait, notamment par ses spores, souiller les aliments.
- Les autres *Bacillus* présents dans l'environnement (sol, air, etc.) peuvent être présents au niveau de la peau ou des muqueuses. Ils peuvent souiller les cultures, mais aussi être en situation pathogène pour des sujets débilisés ou après introduction dans l'organisme lors d'interventions chirurgicales.

➤ BACILLE DU CHARBON (*Bacillus anthracis*):

- Facteurs de virulence :

- Capsule
- Toxine protéique : 3 facteurs

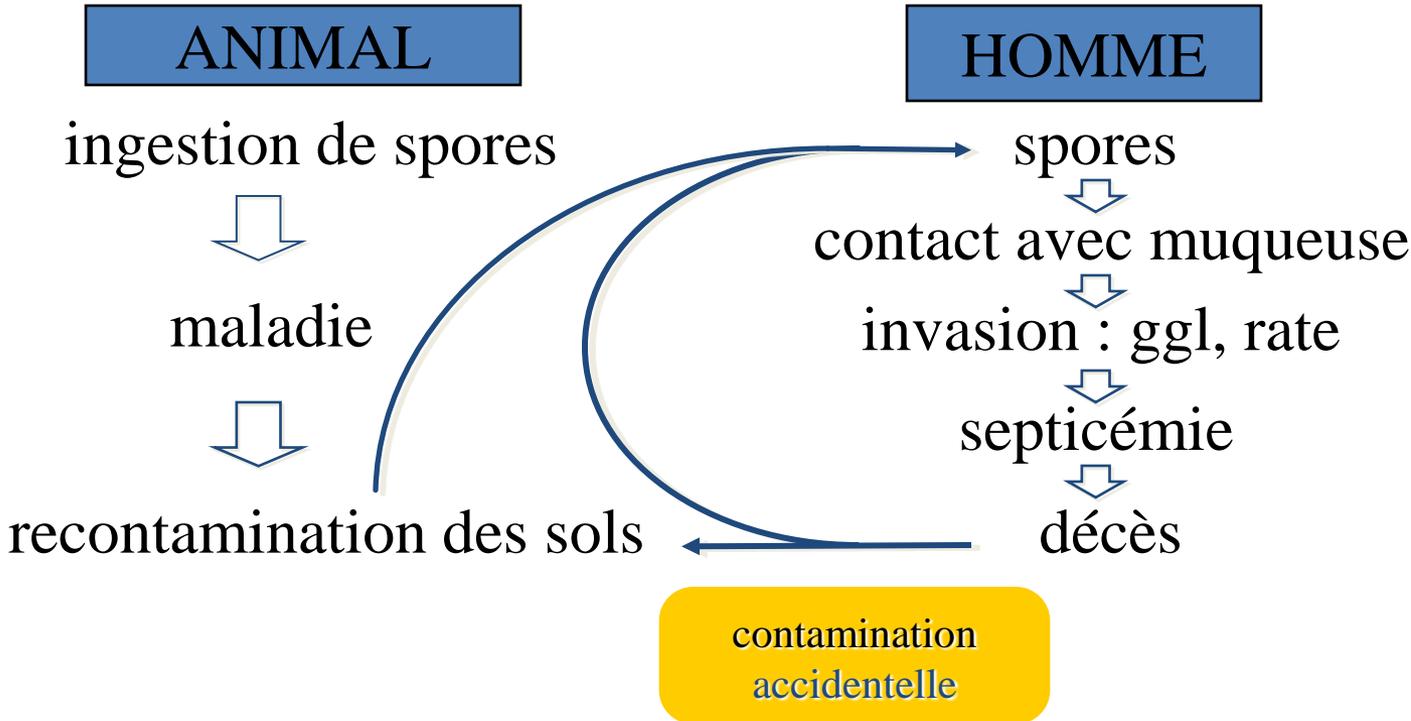


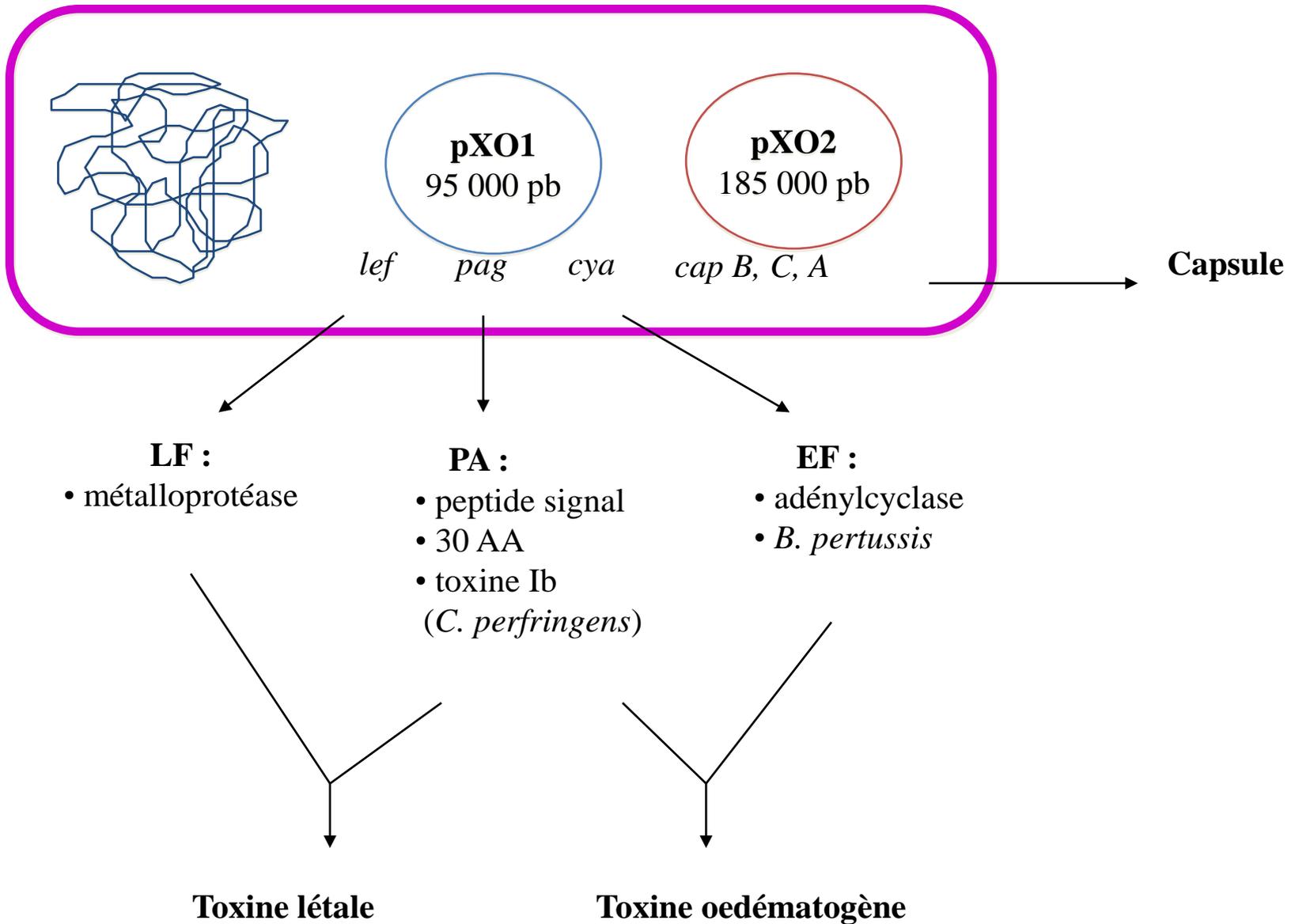
facteur I → oedématogène

facteur II → immunogène

facteur III → létal

- *Bacillus anthracis*
- *B. anthracis* est responsable du charbon (anthrax pour les Anglo-Saxons), maladie de l'homme et des animaux, notamment des herbivores.
- L'homme se contamine directement ou indirectement à partir d'animaux infectés. La transmission d'homme à homme est extrêmement rare.





- Chez l'homme, on distingue :

1) La forme cutanée: la plus fréquente (95-99 %)

- 3 - 5 jours d'incubation
- Point de pénétration du bacille : papule rouge → vésicule prurigineuse + œdème → escarre noirâtre → progression centrifuge → autres tissus
- le charbon cutané siège le plus souvent au niveau des lèvres, joues, mains, avant bras et cou
- Guérison spontanée (90% des cas)
- Forme sévère= adénite régionale voire septicémie mortelle en l'absence de traitement.

Pouvoir pathogène

BACILLE DU CHARBON (*Bacillus anthracis*)



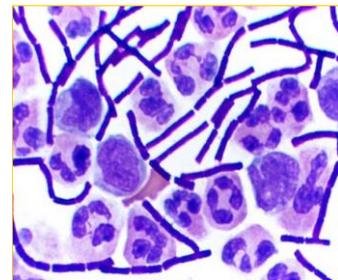
2) La forme intestinale

- charbon d'ingestion (carcasse de viande contaminée)
- troubles généraux (fièvre, état de choc)
- troubles digestifs : diarrhées ,vomissements (incubation 2 à 7j)
→ Taux de mortalité élevé

3) La forme pulmonaire : (incubation 10 jours)

- charbon d'inhalation (des spores)
- lié à certaines professions (lainiers)
- évoqué lors de bioterrorisme
- symptômes initiaux : ressemble à la grippe,
- atteinte pulmonaire: dyspnée, toux stridente, frissons, mort (3j)
- Évolution mortelle dans 100 % des cas sans traitement

4) La forme méningée



➤ BACILLUS CEREUS

- Facteurs de virulence

- **Hémolysine BL** | entérotoxine thermolabile
3 éléments B, L1, L2
activité dermonécrotique (↑perméabilité vasculaire / fuite liq)
syndrome diarrhéique
- **Céréulide** : toxine émétisante thermostable
- **Autres** | hémolysine I et II
phospholipase C

- 3 formes :

✓ *syndromes alimentaires :*

- *syndrome diarrhéique :*

Entérotoxine thermolabile : douleurs abdominales,
fièvre

crampes intestinales, diarrhée profuse

Incubation : 8 à 16 h

Aliments : viandes, légumes, desserts, pâtes...

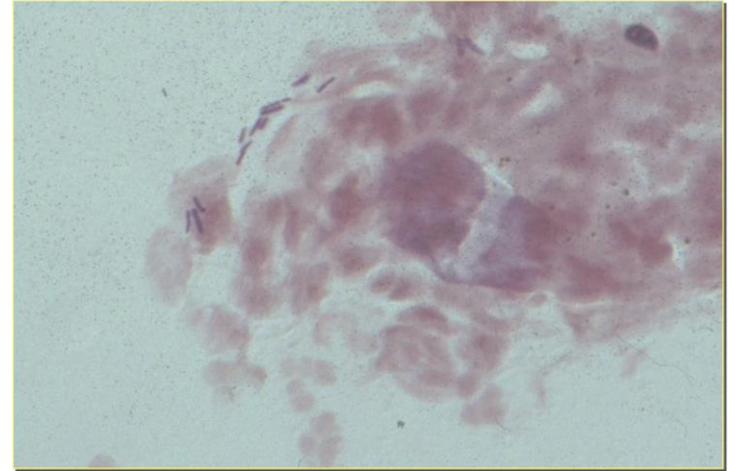
- *syndrome émétique :*

Entérotoxine thermostable : nausées et vomissements

Incubation : 1 à 5 h

Aliments: riz oriental, crèmes pasteurisées, lait...

- Ces 2 syndromes sont dus à la résistance des spores à la cuisson
- Nécessitent un inoculum bactérien important: 10^7 - 10^9 bactéries/g d'aliments
- TIAC +++ (prévalence sous estimée)
- Autres souches pouvant avoir une toxine diarrhéique :
B. thuringiensis ou *B. mycoïdes* .



✓ *Infections ophtalmologiques :*

Pathogène très virulent (rare)

Post-traumatique avec contamination par le sol, ou par
diffusion hématogène

✓ autres infections :

→ immunocompétents :

à la suite de blessure : chirurgie, brûlures, cicatrices ...

→ immunodéprimés : variées

bactériémies, septicémies, myonécroses, méningites, endocardites, pneumonies,
abcès, ostéomyélites, salpingites, infections cutanées

➤ AUTRES BACILLUS

→ Opportunistes : terrains prédisposés

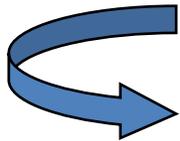
B. circulans : méningite, endocardite

B. brevis : TIAC ..

B. subtilis : TIAC, septicémie, pneumonie

B. licheniformis : TIAC, bactériémie, infections post-op

Problèmes d'interprétation +++



peu ou pas de potentiel pathogène

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

■ Prélèvements :

- Bactéries peu fragiles, pas de précautions particulières

– *B. anthracis* PSM de type 3 (au minimum) → sécurité

- Pour *B. anthracis*, il s'agit surtout de prélèvements de lésions cutanées, de pustules voire d'hémocultures, de LCR ou de prélèvements respiratoires.
- Pour tout patient arrivant aux urgences dans un contexte de bioterrorisme et suspecté de charbon, il faut réaliser un prélèvement, dès son arrivée, au niveau des narines à l'aide d'un écouvillon. Cet écouvillon sera plongé dans un bouillon ou dans du sérum physiologique stérile avant d'être ensemencé sur gélose ; un autre écouvillon pourra servir pour la biologie moléculaire (PCR).

- Pour *B. cereus*, dans un contexte de toxi-infection alimentaire, on doit disposer de selles et tenter de trouver l'aliment suspect afin de énumérer les germes dans celui-ci.
- Dans les infections opportunistes à *B. cereus* et dues aux autres espèces de *Bacillus*, il s'agit le plus souvent de découvertes de hasard, à partir d'hémocultures, de prélèvements de pus ou de liquides biologiques de diverses natures.
- **Transport des échantillons**
- Il n'y a pas de précaution particulière, sauf en cas de suspicion de *B. anthracis* dont la manipulation se fait en classe 3 des agents biologiques vu la dangerosité.

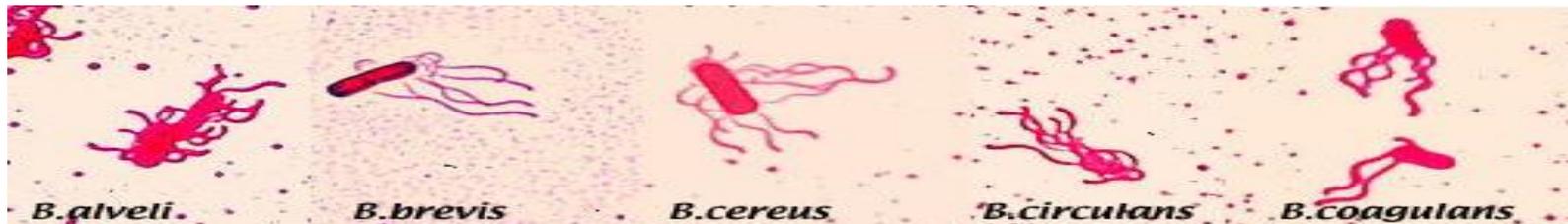
■ Examen direct:

➤ *état frais* →

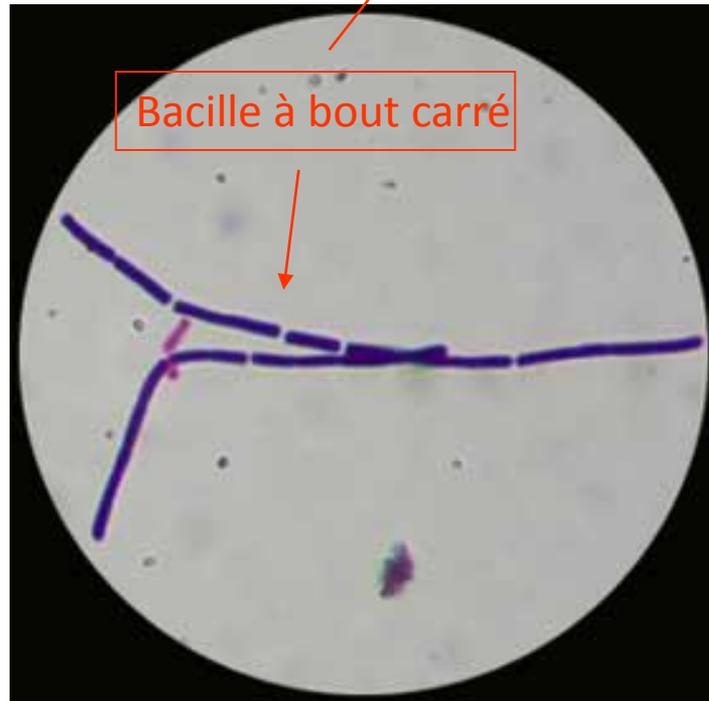
- mobiles pour la plupart
- **immobiles** pour *B. Anthracis*

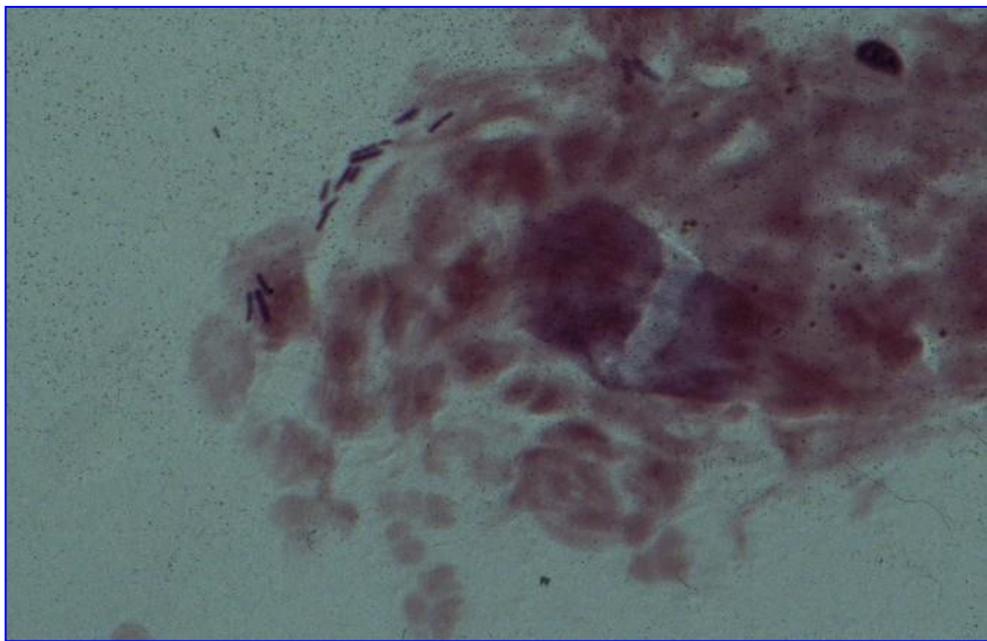
➤ *Gram* →

- grands bacilles Gram + à bouts carrés souvent en chaînes
- après 48-72 h en aérobiose +/- présence de spores
- présence de flagelles
- présence ou non d 'une **capsule** (*B. Anthracis* ++)

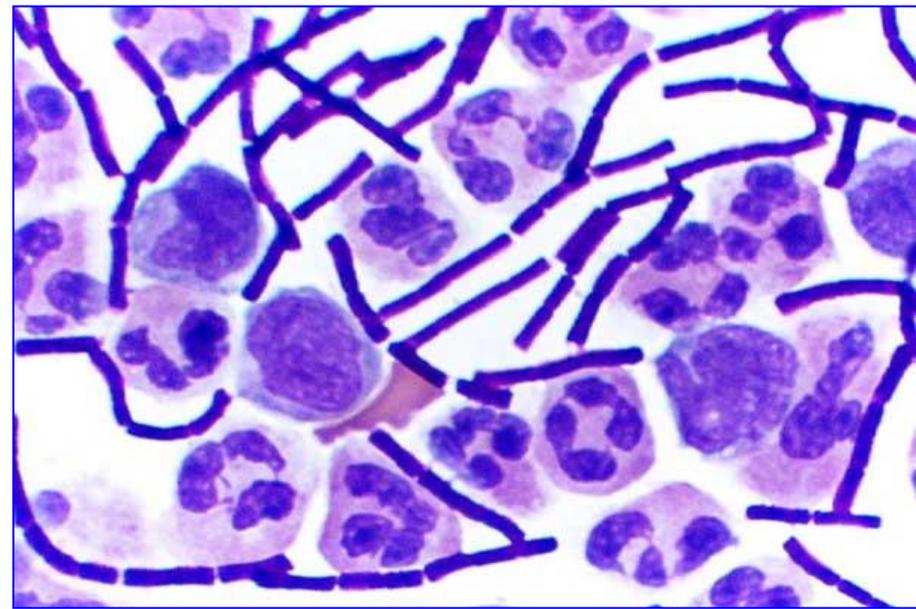


Coloration de Gram :

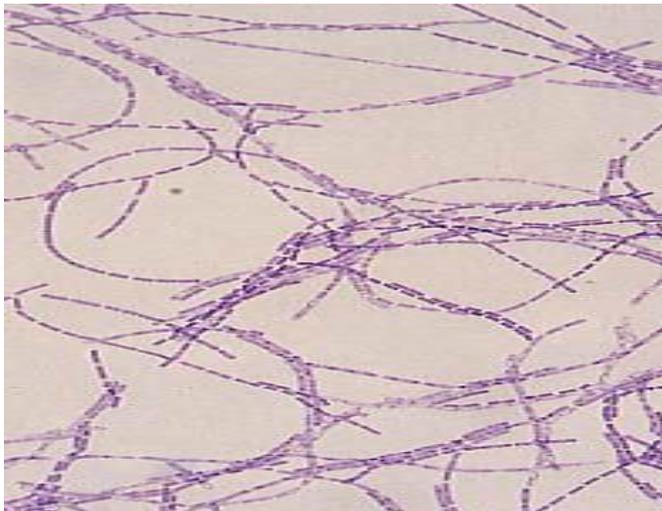




Endophtalmie à *B. cereus* :
aspect à la coloration de Gram



B. Anthracis : coloration de
Gram, liquide céphalo-
rachidien



Bacillus cereus, coloration de Gram

- La spore est ovale ou ronde ; elle peut être déformante ou non déformante, avec une localisation centrale, paracentrale, subterminale ou terminale.
- Les spores sont très résistantes (il faut 40 minutes à 120 °C pour les détruire) ; celles de *B. subtilis* sont parmi les plus résistantes.
- Ces spores sont utilisées comme témoin de stérilisation.



- **Ensemencement :**

gélose au sang frais

gélose chocolat enrichie de type Polyvitex®

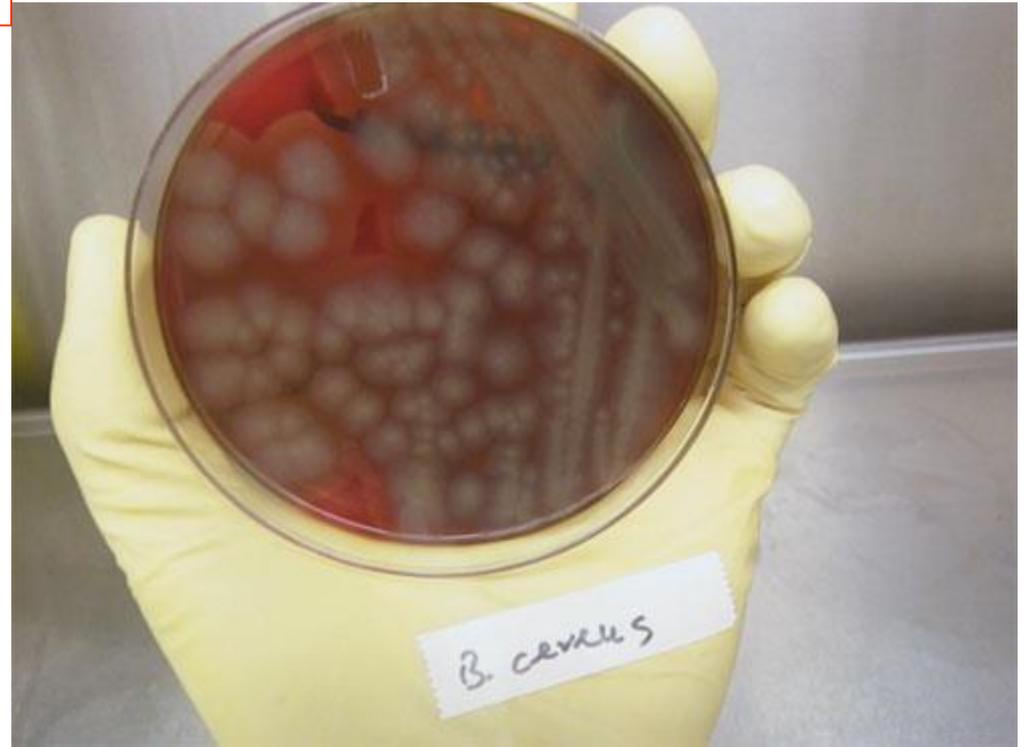
incubation 37°C en aérobiose.

- **Culture :**

Après 24, 48 et 72 h d'incubation.

Aspect caractéristique des colonies .

CULTURE: *B. cereus*



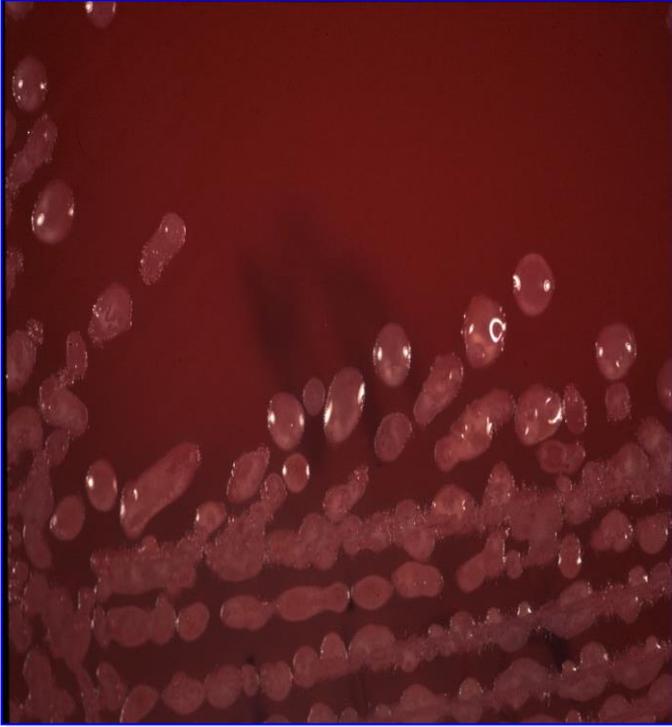
Les colonies de *Bacillus* du groupe *cereus* sont habituellement de grande taille (1 à 7 mm), circulaires ou irrégulières, souvent mates et granuleuses .

CULTURE: *B. anthracis*



Les colonies de *B. anthracis* sont blanches ou grises, non ou faiblement hémolytiques ; elles sont plus petites et moins crémeuses que les colonies de *B. cereus* ; elles creusent généralement la gélose et sont difficiles à prélever.

CULTURE : *B. licheniformis*



Les colonies de *B. licheniformis* ont un aspect de lichen.

- A partir des prélèvements poly microbiens en cas d'infection a *B. anthracis* et de suspicion d'intoxications alimentaires :
 - on peut procéder a un chauffage à 62,5 °C durant 15 minutes qui détruit tous les contaminants non sporulés et produit un choc thermique qui activera la germination.
- On pourra alorsensemencer les milieux riches non sélectifs (bouillon, gélose au sang, gélose nutritive) ;
 - on peut avoir recours à des milieux sélectifs souventensemencés directement avec des échantillons fraîchement recoltés ;
 - pour *B. anthracis*, on recourt à la **gélose de Knisely** contenant polymyxine, lysozyme, EDTA, acétate de thallium (PLET) ;
 - pour *B. cereus*, on peut utiliser des milieux contenant jaune d'oeuf, mannitol et un indicateur permettant de révéler l'hydrolyse de la lécithine ainsi que l'acidification du mannitol et souvent un inhibiteur des Gram négatif (polymyxine) ; les plus utilisées sont les milieux MEYP, PEMBA et BCM.

Identification

Caractères morphologiques

- la coloration de Gram permet de préciser la morphologie des bacilles, la présence ou l'absence de spores, leur aspect rond ou ovalaire, déformant ou non déformant ;
- une coloration de spore
- la mobilité sera systématiquement recherchée, les espèces ***B. anthracis*** et ***B. mycoides*** étant immobiles.
- La recherche de capsule sur les souches virulentes de ***B. anthracis*** peut être recherchée.

- Caractères cultureux

- Les *Bacillus* sont aérobies, mais certaines espèces sont aérobies strictes ou anaérobies facultatives ; de ce fait, la recherche d'une croissance en anaérobiose peut être intéressante.
- Les *Bacillus* sont catalase positive, oxydase variable.
- Le comportement des souches sur gélose au sang à la recherche d'une hémolyse ou sur milieu à l'œuf pour révéler une activité lécithinasique peut être utile pour l'identification.
- Les colonies de *B. cereus* sont de 5 mm de diamètre, de couleur rose à rouge (absence de fermentation du mannitol) et entourées d'un halo de précipité blanchâtre (présence d'une lécithinase).

- Ensemencer une **galerie API20E** avec un **inoculum plus dense** que pour une entérobactérie. Les caractères sont faiblement positifs en 24 heures : **VP**, **gélatinase**, **glucose** et **nitrites** + .

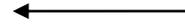


**Galerie
API20E**



- Confirmation recherchée avec une galerie **API 50CH**
Les caractères positifs en 24 heures sont : saccharose, ribose, glucose, fructose, esculine, maltose, saccharose, tréhalose et NAG.
- la carte *Bacillus* du système d'identification automatisé VitekR (bioMérieux).
-

	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Mobilité	-	+
Aspect des colonies sur gélose sérum	Mucoïdes (présence d'une capsule)	Rugueuses (absence de capsule)
Hémolyse	Très faible	+++
Gélatine	Liquéfaction très lente	Liquéfaction rapide
Lécithinase	- (ou très faible)	+++
Glucose	+	+
Mannitol	-	-
Xylose	-	-
Sensibilité à la pénicilline	+	-
Phage gamma	+	-
Pouvoir pathogène pour le cobaye	+++ Œdème, septicémie	+ Lésions locales hémorragiques



Les 10 premiers caractères de l' API 20E sont les plus importants.

**Galerie API 20E+
API50CH**