

Lignes directrices pour l'interprétation de la coloration de Gram

(Comité de gérance des antimicrobiens des régions régionales de la santé du Nouveau-Brunswick, octobre 2020)

Morphologie des bactéries	Organisme le plus probable
Gram positif	
Cocci en grappes ou en amas	<i>Staphylococcus aureus</i> Staphylocoque à coagulase négative – Exemples : <i>S. epidermidis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S. haemolyticus</i> , etc. <i>Micrococcus</i> <i>Aerococcus</i>
Cocci groupés par deux ou en chaînettes	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (communément, diplocoques à Gram) positif Streptocoques du groupe viridans – Exemples : <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. bovis</i> , groupe Anginosus (<i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i>) Streptocoques pyogènes bêta-hémolytiques (groupes A, B, C, F, G) <i>Enterococcus</i> – Exemples : <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> Plus rare : <i>Gemella</i> (parfois observer en grappe), <i>Abiotrophia</i> , <i>Granulicatella</i> Cocci anaérobies
Bacilles – petits, non sporulés	<i>Corynebacterium</i> <i>Cutibacterium</i> (précédemment <i>Propionibacterium</i>) <i>Listeria</i> Bacilles anaérobies gram positif
Bacilles – grands, sporulés ou non sporulés	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> <i>Lactobacillus</i>
Bacilles – branchés/perlés/filamenteux	<i>Nocardia</i> et autres actinomycètes aérobies <i>Actinomyces</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> atypique
Levures et pseudohyphes	<i>Candida</i>
Gram négatif	
Bacilles	Entérobactériacées – Exemples : <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Morganella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> , <i>Salmonella</i> , etc. Bacille non fermentant – Exemples : <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , etc. <i>Legionella</i> Bacilles gram négatif anaérobie – Exemples : <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i>
Coccobacilles/bacilles pléomorphes	<i>Haemophilus</i> <i>Acinetobacter</i> (peut être confondu avec un cocci Gram positif) <i>Pasteurella</i> <i>Aggregibacter</i> (précédemment <i>Actinobacillus</i> , <i>Haemophilus aphrophilus</i>) <i>Eikenella corrodens</i> <i>Kingella</i> <i>Francisella tularensis</i> <i>Brucella</i> Autres coccobacilles anaérobies gram négatif
Bacilles fusiformes	<i>Fusobacterium</i> <i>Capnocytophaga</i>
Bacilles courbés ou spirallés	<i>Campylobacter</i> <i>Vibrio</i>
Diplocoques	<i>Neisseria</i> – Exemples : <i>N. meningitidis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i>
Cocci	<i>Veillonella</i>

Qu'est-ce que la coloration de Gram?

La coloration de Gram est un test rapide utilisé dans les laboratoires de microbiologie pour différencier différents types de bactéries en fonction des propriétés biochimiques de la paroi bactérienne. Dans la coloration de Gram, il faut étaler la culture bactérienne sur une lame de verre; on y ajoute ensuite une coloration en violet (violet cristallisé) qui colore en violet les bactéries à Gram positif. Après cette étape, il faut rincer la lame pour décolorer les bactéries à Gram négatif; la lame est ensuite recolorée colorant rouge qui colore en rose les bactéries à Gram négatif.

Bactéries à Gram positif

Ces bactéries ont une paroi épaisse composée de peptidoglycane (de 50 à 90 % de la paroi bactérienne). L'épaisse couche de peptidoglycane permet à l'organisme de retenir la coloration en violet et l'empêche d'être éliminée au rinçage.

Bactéries à Gram négatif

Ces bactéries comptent une couche plus mince de peptidoglycane (environ 10 % de la paroi bactérienne), et perdent donc la coloration en violet à l'étape de décoloration; elles conservent cependant la contre-coloration (rose).

Pourquoi la coloration de Gram? Que nous indique-t-elle?

La coloration de Gram aide à différencier les bactéries à Gram positif des bactéries à Gram négatif, ce qui peut contribuer à orienter le traitement empirique.

Qu'apprenons-nous de nouveau sur les bactéries par la coloration de Gram?

Les laboratoires de microbiologie se servent également de la morphologie et de l'organisation des bactéries pour les distinguer encore davantage :

- Morphologie sphérique = cocci
 - Organisation : chaînettes ou grappes :
 - Les cocci à Gram positif organisés en grappes indiquent généralement une espèce de genre *Staphylococcus*.
 - Les cocci à Gram positif organisés en chaînettes indiquent généralement une espèce de genre *Streptococcus* ou de genre *Enterococcus*.
- Morphologie filamenteuse = bacilles
 - *Exemple : Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Pseudomonas, etc.*

Y a-t-il des bactéries que la coloration de Gram ne révèle pas?

Certains organismes sont sensibles à Gram – la coloration révèle un Gram soit négatif, soit positif; d'autres organismes ne sont sensibles à aucune des colorations utilisées dans le test de Gram. Par exemple lorsqu'il n'y a pas de structure de la paroi cellulaire (ex. *Mycoplasma*).

Comment savoir si la culture est contaminée?

Toute bactérie détectée dans la coloration de Gram d'un échantillon prélevé sur un site **stérile** devrait être jugée importante, quoiqu'une coloration de Gram négative n'exclue pas une infection pour autant.

Les échantillons **non stériles** comportent en général des cellules humaines, comme des cellules épithéliales et des leucocytes. À titre d'exemple, un échantillon de crachat de qualité

élevée compte un grand nombre de leucocytes et peu de cellules épithéliales; à l'inverse, un échantillon de crachat de faible qualité compte un grand nombre de cellules épithéliales et peu de leucocytes. Les échantillons de faible qualité pourraient être rejetés par les laboratoires, en raison d'une qualité jugée insuffisante pour une culture.

Ce que la coloration de Gram ne peut indiquer

- Comment se porte le patient. Le traitement doit être fondé sur l'état clinique du patient et sur les résultats de la coloration de Gram.
- La présence d'un organisme multirésistant. Il faut analyser les facteurs de risque du patient, les traitements antimicrobiens récents et l'historique microbiologique pour déterminer s'il faut prévoir la présence d'organismes multirésistants. Par exemple, parmi les facteurs de risque d'infection à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), il faut compter les antécédents d'infection ou de colonisation au SARM, le contact domiciliaire avec un individu colonisé par le SARM (colonisé), l'utilisation de drogues IV, l'itinérance, les personnes incarcérées, un déplacement (ou la résidence) vers une région ou une collectivité endémique pour le SARM.