

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES  
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTEUR VETERINAIRE

SOUS LE THEME

*ETUDE ANATOMO-PATHOLOGIQUE ET  
MICROBIOLOGIQUE DES LESIONS  
SUPPUREES DANS LA REGION  
DE TIARET*

PRESENTE PAR:

M<sup>elle</sup> .BENZINEB FATIMA EL ZOHRA  
M<sup>eme</sup> :KHADRAOUI KHIERA

ENCADRE PAR:

DR. CHIKHAOUI MIRA



## REMERCIEMENTS

*Nous remercions en premier lieu notre Dieu qui nous a éclairé le chemin du savoir et qui nous a donné la volonté et la patience d'achever ce modeste travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements et nos sincères gratitudees :*

*A notre promotrice CHIKHAOUI Mira qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté la charge d'encadrer notre travail avec une grande patience, pour la confiance qu'elle a eu en notre projet et surtout pour ses orientations.*

*Nos remerciements Mr Moussa Ahmed pour son aide a nos travaux pratiques*

*Nos remerciements à tous les enseignants et toutes personnes surtout ceux de l'abattoir de Tiaret et de laboratoires de microbiologie, et de biochimie Qui nous ont aidé dans ce modeste travail.*

**EN FIN NOUS REMERCIONS TOUS  
CEUX QUI ONT CONTRIBUE DE PRES OU  
DE LOIN A L'ACCOMPLISSEMENT DE CE  
TRAVAIL.**



# ❧ Dédicace ❧

JE DEDIE CE TRAVAIL :  
A LA LUMIERE DE MA VIE ET L'ESPOIR DE MON  
EXISTENCE... MA MERE.  
A CE LUI QUI RENDU TEL QUE JE SUIS ET TEL QUE JE  
SOUHAITE MON PERE.  
A L'AME PURE DE MA GRANDE MERE  
A MON ENCADREUR CHIKHAOUI MIRA  
A MES SEURS MERIEM, NOUR EL  
HOUDA, ASMA, BOUCHRA  
A CHÈRS FRÈRES: MOHAMED, ABED EL KADER, HAMZA.  
A MA CHÈRE SOEUR KHEIRA  
A MES CHÈRES AMIES: AMINA, AICHA, ALLOULA  
A MON CHER FRÈRE KAMEL ET TOUTE SA FAMILLE  
A TOUS LES ETRES CHERS QUI M'ONT AIME ET  
SOUTENU PENDANT LES MOMENTS AGREABLES  
DIFFICILES ET DE MA VIE.  
A TOUTE LA PROMOTION SORTANTE (2007/2012)  
POUR CEUX QUI J'AI PAS CITE BIEN SUR NE CROYAIT PAS  
QUE JE VOUS AI OUBLIE, JE VOUS PORTE TOUJOURS  
DANS MON CŒUR,

FATIMA EL ZOHRA



# ❧ Dédicace ❧

AU NOM DE DIEU ET PAR SA VOLONTÉ ET SON AIDE QUI  
ENRICHIT MES SAVOIRS.

CES SAVOIRS QUI M'ONT MENÉ À RÉALISER CE TRAVAIL,  
DONT J'EN SUIS COMBLÉ ET FIÈRE.

JE TIENS À LEUR DEDIER CE TRAVAIL :

À MON TRÈS CHER MARIE QUI M'A ENCOURAGÉ ET  
CONSEILLÉ PENDANT MES PLUS PÉNIBLES MOMENTS  
ET QUI M'A GUIDÉ VERS LE CHEMIN DROIT.

À MES TRÈS CHÈRES PARENTS QUI M'ONT ENTOURÉ  
D'AMOUR ET DE TENDRESSE ET M'ONT APPRIS LA  
PATIENCE ET LE DÉFILE.

À MES TRÈS CHÈRES ENFANTS : NOUHA, CHAIMAA,  
OUSSAMA ABED RAHMA, MOUSSA HAMI

À TOUTES LES FAMILLES: TAMARDJANAT, KHADRAOUI

À MON ENCADREUR CHIKHAOUI MIRA

À MA CHÈRE SŒUR FATIMA EL ZOHRA

À TOUTE LA PROMOTION SORTANTE (2007/2012)

POUR CEUX QUI J'AI PAS CITÉ BIEN SÛR NE CROYAIT PAS  
QUE JE VOUS AI OUBLIÉ, JE VOUS PORTE TOUJOURS

DANS MON CŒUR,

Mme: TAMARDJANAT.T.  
KHEIRA

## LISTE DE TABLEAUX

- Tableau 01. Caracteres biochimiques differentiels.
- Tableau 02. Orientation rapide d'un diagnostic d'enterobacterie.
- Tableau 03. Les groupes d'enterobacteries.
- Tableau 04. Diagnose differentielle entre *c. Pseudotuberculosis* et *c. Pyogenes*.
- Tableau 05. Orientation pour le diagnostic des *corynebacteries* animales.
- Tableau 06. Especes du genre *corynebacterium* chez l'homme et l'animal.
- Tableau 07. Les antibiotiques et leur spectre d'activite
- Tableau 08. Diametre des zones d'inhibitions correspondantes aux antibiotiques utilises
- Tableau 10. Frequence *des* germes testes dans les cas etudies.



## LISTE DE FIGURES.

- FIG.01 LESION SUPPUREES AU NIVEAU DU PARENCHYME PULMONAIRE
- FIG.02 MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE DES STAPHYLOCOQUES EN CULTURE (MILIEU LIQUIDE).  
COLORATION DE GRAM
- FIG.03 STAPHYLOCOCCUS. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION.
- FIG.04 STAPHYLOCOQUE (PUS). COLORATION DE GRAM X 1 100.
- FIG.05 ENTEROBACTERIACEÆ. CARACTERES PERMETTANT L'IDENTIFICATION DE LA FAMILLE.
- FIG.06 ENTEROBACTERIACEÆ (URINE PURULENTE). COLORATION DE GRAM X 1 100.
- FIG.07 ENTEROBACTERIES : COLONIES S.
- FIG.08 ENTEROBACTERIES : COLONIES R (OBSERVATION A LA LOUPE, EN ECLAIRAGE OBLIQUE).
- FIG.09 ENTEROBACTERIES : CILIATURE PERITRICHE (MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION).
- FIG.10 AGGLUTINATION POLAIRE (ANTIGENE O)
- FIG.11 AGGLUTINATION FLAGELLAIRE (ANTIGENE H)
- FIG.12 MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE DE *PSEUDOMONAS*.
- FIG.13 COURBES D'INCORPORATION DE MARQUEURS RADIOACTIFS LORS D'UNE CULTURE BACTERIENNE EN PHASE EXPONENTIELLE DE CROISSANCE. RADIOACTIVITE R EN FONCTION DU TEMPS F.
- FIG.14 MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES SUR LES BACTERIES
- FIG.15 FAMILLE DES CEPHALOSPORINES.
- FIG.16 ETUDE DE LA CROISSANCE BACTERIENNE EN PRESENCE DE CONCENTRATION CROISSANTE DE BACTERIE
- FIG.17 ACTIVITE ANTIBACTERIENNE
- FIG.18 EFFET DU PH SUR LE POUVOIR BACTERIEN
- FIG.19 COURBE DE CONCORDANCE
- FIG.20 EFFET DE L'ACTION CONJUGUEE DE DEUX ANTIBIOTIQUES (AB<sub>1</sub> ET AB<sub>2</sub>) SUR UNE SOUCHE SENSIBLE
- FIG.21 LESIONS SUPPUREES OBSERVEES SUR LES DIFFERENTS ORGANES.
- FIG.22 PROTOCOLE EXPERIMENTAL.
- FIG.23 ETAPES DE LA MANIPULATION.
- FIG.24 STAPHYLOCOQUES AUREUS DONNENT DES COLONIES JAUNES (MANNITOL+)
- FIG.25 EXAMEN MICROSCOPIQUE STAPHYLOCOQUES AUREUS (DISPOSITION EN GRAPPE DE RAISON)
- FIG.26 LES *CORYNEBACTERIUM* SONT HEMOLYTIQUES SUR LA GELOSE AU SANG.
- FIG.27 EXAMEN MICROSCOPIQUE DES CORYNEBACTERIUM
- FIG.28 EXAMEN MACROSCOPIQUE D'ESCHERICHIA COLI
- FIG.29 EXAMEN MACROSCOPIQUE DE KLEBSIELLA
- FIG.30 EXAMEN MICROSCOPIQUE D'ESCHERICHIA COLI
- FIG.31 EXAMEN MICROSCOPIQUE DE KLEBSIELLA
- FIG.32 IDENTIFICATIONS BIOCHIMIQUES (GALERIES API E20).
- FIG.33 EXAMEN MACROSCOPIQUE DES COLONIES DES PSEUDOMONAS
- FIG.34 EXAMEN MICROSCOPIQUE DES COLONIES DES PSEUDOMONAS
- FIG.35 TECHNIQUE DE MAC FARLIND



- FIG.36** INCUBATION DES BOITE DE PETRI A 37°C  
Fig.37 Pseudomonas.  
Fig.38 E. coli  
Fig.39 C. pseuydotuberculosis  
Fig.40 Staphylococcus aureus  
**FIG.41** ***KLEBSIELA***  
Fig.42 Représente les poucentages des bactéries isolées  
Fig.43 Représente les porcentages des association bactérienne.

# SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

## APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE.

### CHAPITRE I.

#### ANATOMIE ET PATHOLOGIE.

I.1. DEFINITION D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE .....	3
- L'ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE.....	3
- L'ANATOMIE PATHOLOGIQUE SPECIALE .....	3
I.2. DEFINITION DE LESIONS .....	3
I.2.1. LESIONS SUPPUREES .....	3
I.2.2. INFLAMMATIONS GRANULOMATEUSES.....	6
A. DEFINITION:.....	6
B. MORPHOLOGIE:.....	6
I.2.2.1. INFLAMMATION GRANULOMATEUSE CIRCONSCRITE: .	6
I.2.2.1.1. GRANULOME NODULAIRE.....	6
I.2.2.1.2. AUTRE CLASSIFICATION:.....	6
I.2.2.1.3. LYMPHOCYTAIRES :.....	7
I.2.2.1.4. LYMPHOPLASMOCYTAIRES :.....	7

### CHAPITRE II.

#### GENERALITES EN BACTERIOLOGIE

##### 1. MICROCOCCACEAE.

##### 1.1. LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS*.

A. HABITAT. ROLE PATHOGENE.....	8
B. MORPHOLOGIE.....	10
C. CARACTERES CULTURAUX. ....	11
D. CARACTERES BIOCHIMIQUES .....	11
E. CATALASE .....	11

F. ARGININE-DIHYDROLASE (ADH) .....	11
G. FERMENTATION DE NOMBREUX HYDRATES DE CARBONE .....	11
1.2. DISTINCTION ENTRE STAPHYLOCOQUES SAPROPHYTES ET POTENTIELLEMENT PATHOGENES.	
A. RECHERCHE DE LA STAPHYLOCOAGULASE LIBRE .....	12
B. RECHERCHE DE LA DESOXYRIBONUCLEASE .....	12
C. RECHERCHE D'UNE PHOSPHATASE-ACIDE .....	12
D. FERMENTATION DU MANNITOL .....	12
1.3. CONCLUSION.....	12
1.4. DETERMINATION DE L'ORIGINE DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES. ....	12
A. L'HEMOLYSE .....	12
B. LA FIBRINOLYSE .....	13
1.5. AUTRES CARACTERES D'IDENTIFICATION.....	13
1.6. SUBSTANCES ELABOREES PAR LES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES.....	13
1). <i>DES TOXINES</i> .....	14
A. LES HEMOLYSINES .....	14
B. LES LEUCOCIDINES.....	14
C. LES ENTEROTOXINES.....	14
2). <i>DES ENZYMES</i> .....	14
A. LES COAGULASES .....	14
B. LA FIBRINOLYSINE .....	15
C. LA HYALURONIDASE.....	15
D. LA DESOXYRIBONUCLEASE.....	15
E. LA PENICILLINASE .....	15
G. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL.....	15
H. ISOLEMENT .....	15
I. IDENTIFICATION.....	15
J. DIAGNOSTIC DES STAPHYLOCOCCIES.....	16
1.7. CONCLUSION.....	16
2. GÉNÉRALITÉS SUR LES ENTÉROBACTÉRIES	
A. HABITAT.....	17
B. ROLE PATHOGENE. ....	19
C. MORPHOLOGIE.....	20
D. CARACTERES CULTURAUX .....	20
COLONIES S (SMOOTH) LISSES.....	21

COLONIES R (ROUGH) RUGUEUSE.....	21
COLONIES M MUQUEUSES.....	21
COLONIES NAINES .....	21

E. CARACTERES BIOCHIMIQUES.....	22
F. CARACTERES ANTIGENIQUES.....	25
G. POUVOIR PATHOLOGIQUE EXPERIMENTAL.....	26
H. TOXINES.....	26
I. CLASSIFICATION .....	26

### 3. LES BACILLES ET COCCOBACILLES GRAM NÉGATIF, AÉROBIES STRICTS OXYDASE GÉNÉRALEMENT POSITIVE

#### 3.1 PSEUDOMONADACEAE

1.1. GENRE <i>PSEUDOMONAS</i> .....	27
-------------------------------------	----

1.1.1. DEFINITION. CARACTERES GENERAUX. ....	27
1.1.2. <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> .....	27

A. HABITAT. ROLE PATHOGENE .....	27
B. MORPHOLOGIE.....	28
C. CARACTERES CULTURAUX.....	28
D. CARACTERES BIOCHIMIQUES .....	28
E. STRUCTURE ANTIGENIQUE ET CHIMIQUE.....	29
F. LYSOTYPIC .....	29
G. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL .....	29
H. PROPRIETES ANTIBIOTIQUES: .....	29
I. IDENTIFICATION.....	30

1.2. CONCLUSION.....	30
----------------------	----

#### 3.2. *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS* (BACILLE DE PREISZ-NOCARD).

A. HABITAT. ROLE PATHOGENE. ....	31
B. MORPHOLOGIE.....	31
C.....	CAR
ACTERES CULTURAUX ET BIOCHIMIQUES.....	31
D. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL.....	31
E. IDENTIFICATION DE <i>C.PSEUDOTUBERCULOSIS</i> .....	31

##### 3.2.1. *CORYNEBACTERIUM PYOGENES*.

A. HABITAT. ROLE PATHOGENE.....	32
B. MORPHOLOGIE.....	32
C. CARACTERES CULTURAUX ET BIOCHIMIQUES.....	32
D. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTALE.....	32

.....



E. IDENTIFICATION DE C. PYOGENES.....	33
3.2.2. PSEUDOTUBERCULOSIS ET C. PYOGENES. ....	33

### CHAPITRE III.

#### ANTIBIOGRAMME

III.1. HISTORIQUE.....	36
III.2. CLASSIFICATION.....	37
III.3. MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES .....	37
III.3.1. METHODES D'APPROCHE.....	39
III.3.2. MECANISMES D'ACTION DES PRINCIPAUX ANTIBIOTIQUES ....	40
III.3.2.1. ACTION SUR LA SYNTHESE DE LA PAROI.....	41
III.3.2.2. ACTION SUR LA MEMBRANE CYTOPLASMIQUE.....	41
III.3.2.3. ACTION SUR LA SYNTHESE DE PROTEINE .....	42
III.3.2.4. ACTION SUR LES ACIDES NUCLEIQUES .....	42
III.3.2.5. ACTION PAR INHIBITION COMPETITIVE .....	43
III.3.3. MESURE DE L'ACTIVITE DES ANTIBIOTIQUES.....	43
III.3.3.1. PRINCIPES GENERAUX.....	45
III.3.3.2. METHODES PAR DILUTION .....	46
III.3.3.3. METHODES PAR DIFFUSION.....	46
III.3.3.4. ANTIBIOGRAMMES AUTOMATISE.....	49
III.3.3.5. ETUDE DES ASSOCIATIONS D'ANTIBIOTIQUES.....	49
III.3.3.6. CONCLUSION.....	51

## ETUDE EXPERIMENTALE.

### MATERIELS ET METHODES.

I.1. OBJECTIF DE L'ETUDE : .....	52
I.2. LA DUREE D'ETUDE : .....	52
I.3. MATERIEL ET METHODES : .....	52
I.3.1. PARTIE ANATOMIE PATHOLOGIE : .....	52
A. MATERIEL UTILISES :.....	52
B. PRELEVEMENTS : .....	52

I.3.2. PARTIE MICROBIOLOGIE :.....	54
I.3.2.1. MATERIEL ET METHODES .....	54
I.3.2.1.1. MATERIEL UTILISES .....	54
I.3.2.1.2. METHODE- ANALYSES BACTERIOLOGIQUES : .....	55
I.3.2.1.2.1. MOMENT DE PRELEVEMENT :	
A. PRINCIPE : .....	55
B. LA TECHNIQUE :.....	55
C. RESULTATS :.....	56
I.3.2.1.2.2. RECHERCHE DES GERMES EN CAUSE.....	56
A. LA RECHERCHE DES <i>STAPHYLOCOQUES</i> SUR MILIEU DE CHAPMAN. ....	56
A.1. RECHERCHE DES CARACTERES PATHOGENES :.....	57
A.2. MODE OPERATOIRE : .....	57
A.3. EPREUVE A LA CATALASE : .....	57
B. LA RECHERCHE DES <i>CORYNEBACTERIUM</i> SUR MILIEU DE GELOSE AU SANG DU MOUTON FRAIS :.....	58
C. LA RECHERCHE DES ENTEROBACTERIES (SUR MILIEU DE GELOSE NUTRITIVE, ET D'HECTOENE, DE MACCONKEY) .....	
A) <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	59
B) <i>KLEBSIELLA</i> : .....	59
D. RECHERCHE DES <i>PSEUDOMONAS</i> SUR GELOSE NUTRITIVE .....	61
I.3.2.1.2.3. TEST DE L'ANTIBIOGRAMME : .....	62

## RESULTATS ET DISCUSSION

A. RESULTATS : .....	63
B. INTERPRETATION DES RESULTATS :.....	65
C. DISCUSSION : .....	66

CONCLUSION..... 67

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXES

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

La maladie des abcès est un syndrome caractérisé par une lymphadénite caseuse spécifique dont les agents incriminés sont multiples : *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* (microcoque de Morel) et *Arcanobacterium pyogenes* (Boukerrou et al., 1985 ; de la Fuente et al., 1997 ; Figuerola et al., 2007 ; Malone 2007). La maladie est rencontrée le plus souvent chez le mouton et la chèvre et d'autres espèces animales. Elle a été décrite dans plusieurs régions du monde. Elle provoque des pertes économiques importantes pour l'industrie animale. Elle est considérée aussi comme une zoonose.

Le tableau symptomatique chez l'homme est diversifié. Cependant, le risque est très bas lorsque les précautions hygiéniques sont prises. Les individus atteints par cette maladie ont une relation très étroite avec l'industrie agricole (ouvriers de fermes, éleveurs, bergers...) (Lopez et al. 1966 ; Peel et al, 1997 ; Liu et al, 2005 ; Peake et al, 2006.)

Pour *C. pseudotuberculosis*, la contamination directe de l'animal à l'homme semble très probable. C'est une zoonose potentielle. Il est à signaler que la manipulation de ces animaux requiert une certaine prudence puisque la bactérie qui cause la lymphadénite caseuse peut également affecter l'humain.

Chez l'homme, quelques cas rares de contamination directe après contact avec les animaux infectés par *C. pseudotuberculosis* ont été décrits (bergers, vétérinaires...). Dans ces cas la lymphadénite caseuse peut être reconnue comme une maladie professionnelle.

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail, il vise en premier lieu à déterminer la fréquence de la maladie dans la région de Tiaret et de déceler tous les germes en cause, pour ce faire nous avons réalisé des analyses bactériologiques sur les lésions suppurrées obtenues auprès des inspections au niveau de l'abattoir de la wilaya de Tiaret.

L'objectif de ce travail est d'instaurer un diagnostic bactériologique sur les éventuels germes susceptibles d'occasionner des lésions suppurrées au niveau des viscères des ovins destinés à la consommation humaine.

Notre travail est scindé en deux parties principales:



La première est un aperçu bibliographique, comportant trois chapitres:

- le 1e passant en revue l'anatomie pathologique, en particulier celles des les ions suppurées;
- le 2e abordant quelques germes pyogènes qui seront mis en évidence ultérieurement : (staphylococcus aureus, corynebacterium pseudotuberculosis, escherichiacoli, klebsiella, pseudomonasaerogenosa; (
- le 3e est intitulé antibiogramme, dans lequel nous illustrerons quelques familles d'antibiotiques ainsi que diverses techniques utilisées .

la deuxième partie est une étude expérimentale : elle renferme deux sous parties:

- 1e anatomie pathologie, nous étayons sur l'observation des modifications morphologique des organes (la taille, la couleur de pus, l'aspect, la consistance; (...
- 2e microbiologie : consiste a faire des analyses microbiologiques afin de mettre en évidence les bacteries en cause. cette étape est couronnée par un test d'antibiogramme des isolats bacteriens vis-a-vis des antibiotiques utilisés dans la clinique veterinaire selon la technique d'el-shaer et ghanem (1996).

# CHAPITRE I

## ANATOMIE & PATHOLOGIE

## .1. DEFINITION D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE

L'anatomie pathologique (ou anatomo-pathologie) est la discipline médicale, humaine et vétérinaire, consacrée à l'étude des modifications morphologiques induites par l'état de maladie dans un organisme vivant : la reconnaissance de ces anomalies des cellules et des tissus, appelées lésions, permet d'effectuer le diagnostic des maladies, porter un pronostic et, plus généralement, en comprendre les causes et les mécanismes.

L'identification et l'étude de ces lésions s'appuient sur des techniques morphologiques: un examen macroscopique (à l'œil nu), des examens histologique et cytotologique au microscope optique (ou «photonique») et des études spéciales faisant appel aux techniques de biologie cellulaire (microscopie électronique; immuno-histochimie; histoenzymologie...) et de biologie moléculaire (hybridation *in situ*, *pcr in situ*...).

- l'anatomie pathologique générale: s'intéresse aux grands processus lésionnels et leurs mécanismes: l'inflammation, la cancérologie, les troubles vasculaires, les altérations cellulaires, la nécrose, la cicatrisation etc.

- l'anatomie pathologique spéciale: étudie la pathologie par appareils (cœur, poumon, foie, etc.), pour les différentes espèces animales.

### I.2. définition de lésions

La lésion est une modification morphologique. elle peut être la cause ou la conséquence d'un processus pathologique. les modifications fonctionnelles ou morphologiques normales ne sont donc pas des lésions. on distingue les lésions élémentaires (altérations morphologiques d'une structure isolée, par exemple une cellule, un organe cellulaire, le tissu interstitiel) et les ensembles ou syndromes lésionnels (association de lésions élémentaires permettant de formuler un diagnostic et de porter un pronostic).

L'anatomo-pathologiste doit apprendre à analyser les lésions et à en faire une classification:

- *morphologique*      macroscopique ou microscopique,
- *pathogénique*      par l'étude de leur(s) mécanisme(s) de constitution ou processus physiopathologique(s),
- *étiologique*        par l'étude de leur(s) cause(s).

L'association et l'enchaînement des différentes lésions élémentaires réalisent les ensembles (ou groupements) lésionnels qui constituent l'image pathologique analysée par l'anatomopathologiste.

les différentes familles de lésions permettent de reconnaître les principales variétés de processus pathologiques: cellulaire / vasculaire / phénomènes immunitaires / inflammatoires chroniques ou aigus / néoplasique.

### I.2.1. lésions suppurées

inflammations exsudatives caractérisées par une diapédèse intense et prolongée des granulocytes qui dégèrent, libèrent une quantité massive d'enzymes granulocytaires et transforment ainsi l'exsudat inflammatoire en pus.

pus: exsudat à forte concentration en protéines plasmatiques,  $d > 1,02$ , grand nombre de leucocytes: ++neutrophiles++.

nomenclature :

suppurations interstitielles: suppuration des espaces conjonctifs.

abcès : collection de pus circonscrite=bien délimitée.  
unique ou multiples uni ou multiloculaires par coalescence, moniforme: en chapelet chauds (aigus) ou froids (chroniques) microabcès: visible microscopiquement.

phlegmon : lésions graves, très infiltrantes et destructives des tissus impliqués, y compris de tissus extrêmement compacts comme le tissu osseux: ex: ostéomyélite mandibulaire.

pyogranulomes : lésions associant l'édification d'un massif de cellules inflammatoires (cf.granulome) au centre duquel se produit la suppuration. ex: actinobacillose, pseudotuberculose...

suppurations cavitaires ou empyèmes: accumulation de pus dans une cavité préformée.

cavité séreuse : pleurésies, péricardites, péritonites

cavité muqueuse : pyromètre, sinusite suppurée...

articulation : arthrites suppurées

suppurations tegumentaires:

épidermiques:

pustules superficielles : suppuration sous la couche cornée. ex: impétigo. pustules profondes: situées au contact du derme. ex: variole, clavelée, ecthyma...

folliculaires: furoncle : accumulation de pus dans le follicule provoquant sa nécrose et son élimination sous forme de « bourbillon ».

évolution:

destruction tissulaire : due aux toxines bactériennes et surtout aux enzymes lytiques granulocytaires.

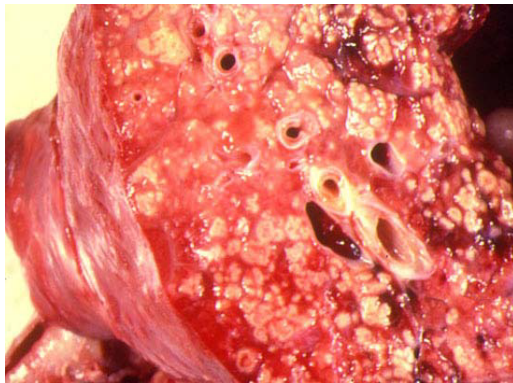
extension locale de la suppuration : lésions phlegmoneuses, fistuleuses, extension en profondeur ex: « maux de garrot » du cheval.

extension à distance : septico-pyohémie avec embolisation à distance du pus.

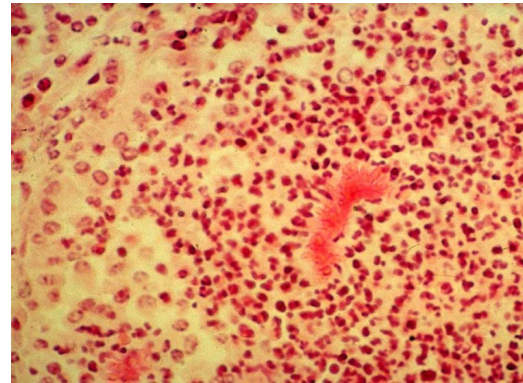
processus réactionnels périphériques tendant à limiter l'extension du foyer de suppuration en constituant une barrière conjonctive (coque pour les abcès).



élimination du pus	: par vidange du pus vers l'exterieur, resorption par les macrophages....
persistance du pus	: enkystement, le pus pouvant etre sterilise ou non et conserver un pouvoir infectieux pendant tres longtemps.
description lesion:	
macro pus	: liquide trouble, cremeux ou caseeux et ferme si deshydrate, de couleur blanc gris jaune.
cremeux	: epais, homogene et onctueux. ex: blanc jaunatre des staphylococcies cutanees, streptocoques spp ou pasteurelloses / verdatre jaune des abces a corynebacteries des bovins, <i>pseudomonas aeruginosa</i> / bleu verdatre des suppurations a bacille pyocyanique...
grumeleux ou caillebotte	: heterogene et floconneux. ex: pus des streptococcies cutanees, pus a « grains » de l'actinobacillose-actinomyose du porcins et des ruminants, pus couleur chocolat des pyometre a colibacilles des carnivores...
fluides ou filants, « huileux » ou « farcineux »	de la morve ( <i>pseudomonas mallei</i> )
caseeux	: epais, homogene et a consistance de « fromage mou ». ex: pus a corynebacteries de la maladie caseeuse du mouton et de la chevre.
sanieux	: pus melange a du sang, d'aspect granuleux, heterogene. ex: osteomyelites, phlegmons cutanes...
visqueux	: mele de mucus, filant, homogene. ex: mucopus des suppurations nasales, bronchiques, uterines...
micro	: nombreux neutrophiles, +++ degeneres, +/- debris cellulaires, bacteries, proteines plasmatiques et fibrine.



examen macroscopique



examen microscopique

figure 01. lesion suppurees au niveau du parenchyme pulmonaire

### I.2.2. inflammations granulomateuses

#### a. definition:

inflammation chronique ou predominant les monocytes du systeme macrophagique sous forme de macrophages, macrophages actives: epithelioïdes et mgcs (multinuclear giant cells), et quelques lymphocytes et cellules plasmatiques.

#### b. morphologie:

inflammation granulomateuse diffuse (*diffuse ou lepromatous granulomas*): infiltrats inflammatoires granulomateux a predominance macrophagique. ex: lepre feline, canine lepromatous-like granulomas; mycobacterium avium paratuberculosis, muqueuse intestinale (lamina propria) des bovins atteints de la maladie de johne.

macro : gris-blanc, consistance ferme, peu demarque du tissu adjacent.  
micro : infiltration diffuse de macrophages, quelques lymphocytes et cellules plasmatiques dans la lamina propria de l'ileon, colon ou des nœuds lymphatiques mesenteriques.

#### I.2.2.1. inflammation granulomateuse circonscrite:

##### I.2.2.1.1. granulome nodulaire

*nodular ou tuberculoid granulomas*: edifice cellulaire neoforme, bien delimite, formant un « grain », constitue de differents types de cellules inflammatoires.  
ex: mycobacterium bovis, mycobacterium tuberculosis, coccidioidomycosis (champignon).

macro : masse ronde a ovale, gris blanche, de consistance ferme ou dure.

non caseeux (*non caseating*): forme ronde a ovale, nombreux macrophages et nombre variable de cellules epithelioides, cellules geantes, entoures de fibroblastes, lymphocytes et cellules plasmatiques.

caseeux (*caseating granuloma*) : idem mais centre forme de debris necrotiques de couleur gris-blanc-jaune, epais, homogene et a consistance de « fromage mou ». ex: tuberculose.

micro : centre de necrose cellulaire ou non (granulome caseeux ou non), entoure de cellules macrophagiques, macrophages epithelioides, cellules geantes puis de lymphocyte t, lymphocyte b, cellules plasmatiques, macrophages et enfin d'une capsule fibreuse.

##### I.2.2.1.2. autre classification:

granulome immunitaire ou non

infiltrats a types cellulaires particuliers:

macrophagiques = infiltration granulomateuse diffuse. cf. plus haut.

éosinophiliques :

ex: en reponse a la migration des larves de toxocara canis.

macro : papules, nodules ou plaques, ulceres cutanes ou lesions nodulaires ou ulcerees des muqueuses buccale ou des coussinets chez le chat.

micro : infiltration dense de granulocytes eosinophiles, macrophages et de collagene.

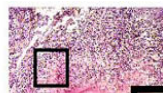
I.2.2.1.3. lymphocytaires :

ex : pneumonie grise, vermineuse des petits ruminants (strongles pulmonaires).

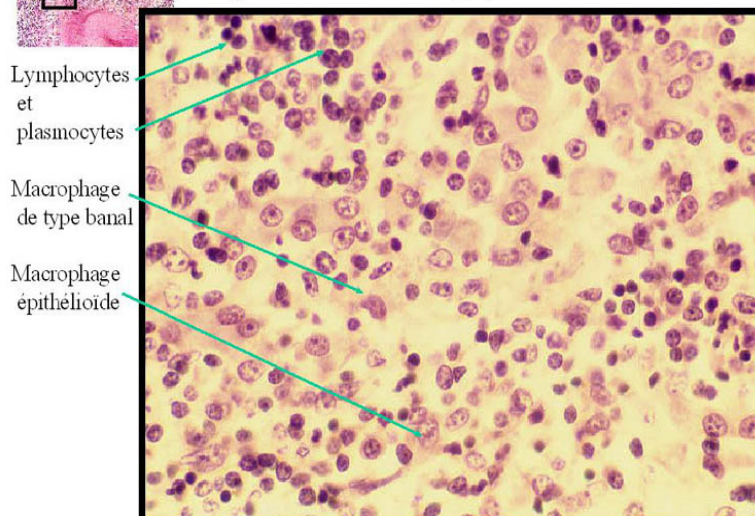
macro : foyers grisâtres, denses, de contours imprécis généralement situés en partie dorsale des lobes diaphragmatiques du poumon.

micro : lésion diffuse, mal délimitée, infiltration cellulaire inflammatoire polymorphe (macrophages + cellules géantes + lymphocytes + plasmocytes + granulocytes éosinophiles) des septums interalvéolaires, infiltration macrophagique, géantocellulaire et éosinophile des alvéoles où se trouvent les larves et œufs du parasite responsable, et lésions de sclérose septale.

I.2.2.1.4. lymphoplasmocytaires :



Polymorphisme des cellules inflammatoires dans le granulome immunologique



Granulome non immunitaire (à corps étranger)

Granulome immunitaire (tuberculeux)

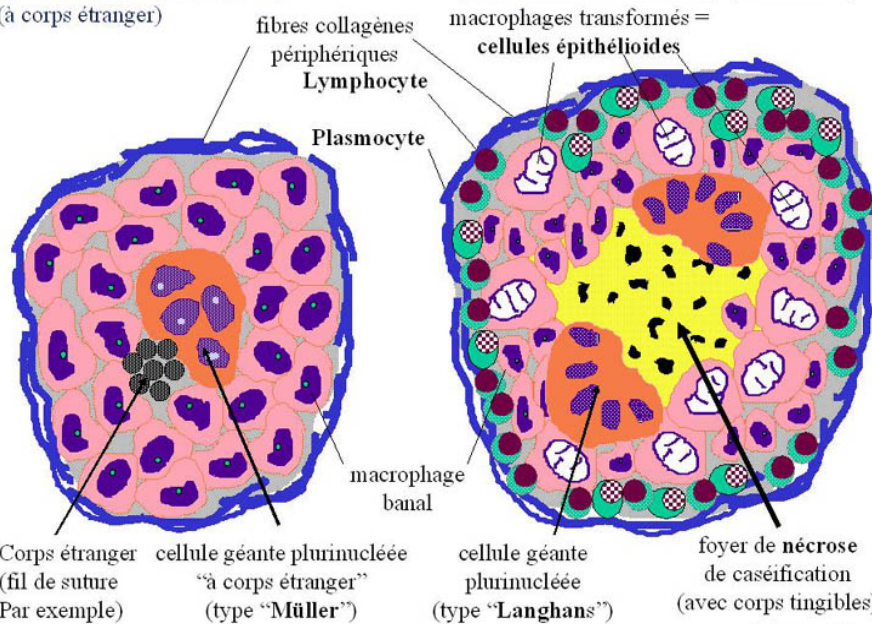


Figure 14

*florence cezard 2010*

# CHAPITRE II

## GÉNÉRALITÉS SUR LA BACTÉRIOLOGIE.

2. MICROCOCCACEAE.

les bacteries de la famille des micrococcaceae sont des coques gram positif catalase (+). cette famille comprend genres dont : *staphylococcus* et *micrococcus*.

2.1. le genre *staphylococcus*.

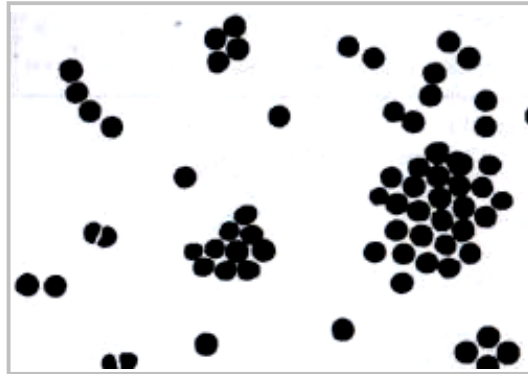


figure.02. morphologie microscopique des staphylocoques en culture (milieu liquide). coloration de *gram*

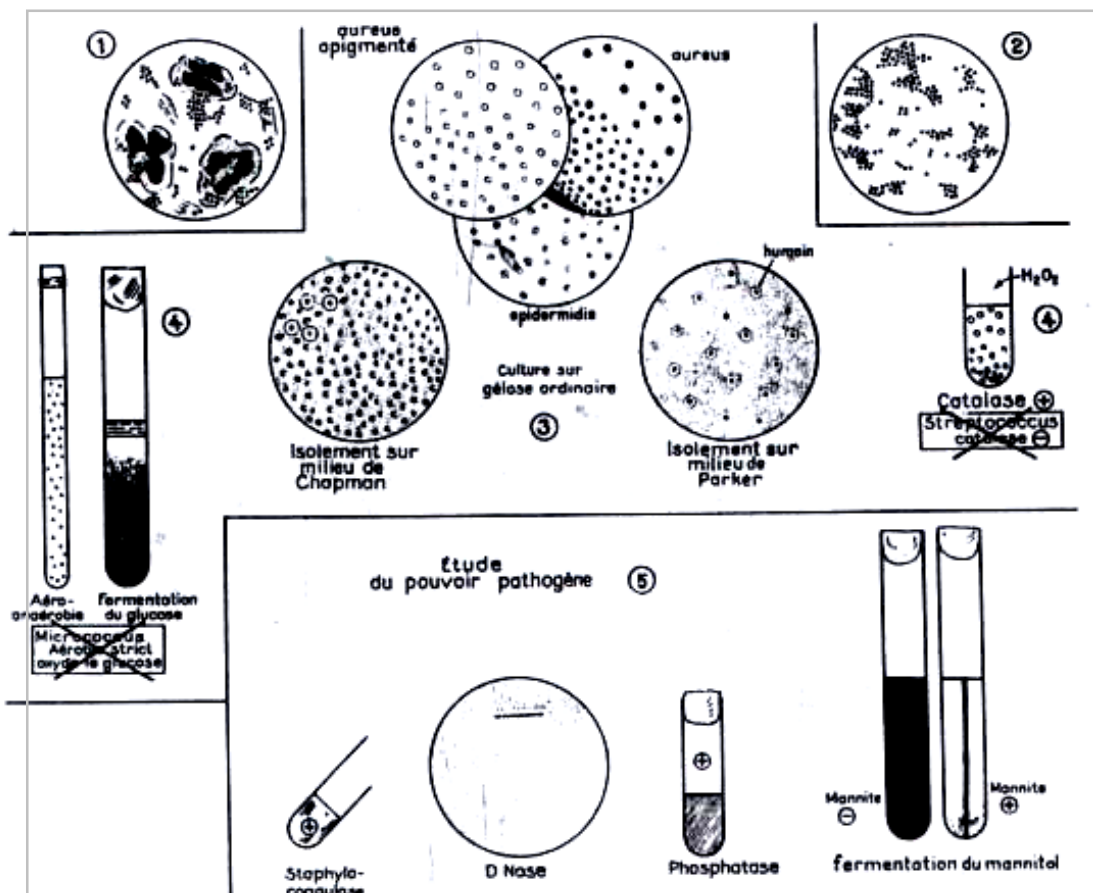


FIGURE.03 .STAPHYLOCOCCUS. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION.



1. aspect microscopique dans les produits pathologiques ; 2. aspect microscopique apres culture, 3. Aspect des colonies sur milieux ordinaires et selectifs, 4. identification du genre ; 5. identification des especes.

les staphylocoques sont des coques gram positif, immobiles, non capsules, en general groupes en amas plans irreguliers (sur milieux solides) :

- catalase (+),
- aerobies facultatifs, donc
- faisant fermenter les glucides,
- arginine-dihydrolase (+).

A. habitat. role pathogene.

les staphylocoques sont des bacteries tres repandues dans la nature, aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau.

ce sont des commensaux extremement frequents de la peau et des cavites naturelles de l'homme et des animaux (avec une predominance pour les fosses nasales et le perinee) : la plupart des especes rencontrees sont opportunistes (*st. epidermidis*, *st. saprophyticus*); d'autres peuvent etre occasionnellement pathogenes (*st. aureus*).

EN PATHOLOGIE HUMAINE ET ANIMALE LEUR ROLE EST TRES IMPORTANT

:

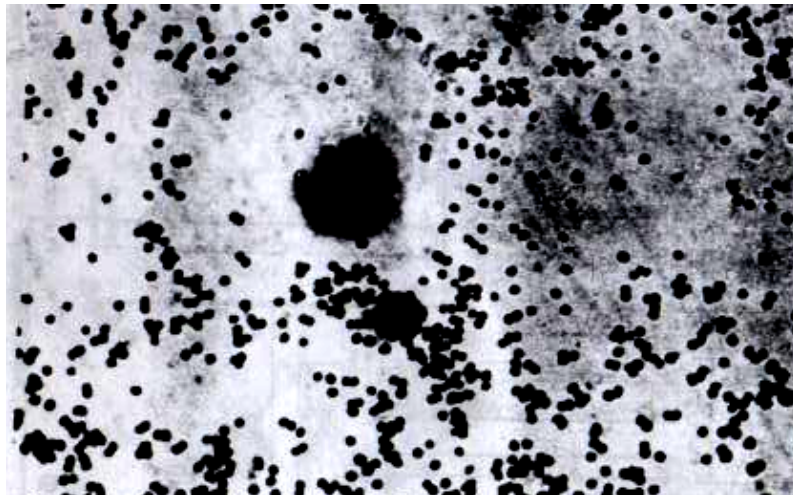


FIGURE.04. *STAPHYLOCOQUE* (PUS). COLORATION DE *GRAM* X 1 100.

chez l'homme, les infections staphylococciques sont frequentes et tres variees. ces bacilles peuvent etre responsables :

- de suppurations : furoncle (porteur decouvrit le staphylocoque dans le pus d'un furoncle en 1880), anthrax (resultant du groupement de plusieurs furoncles), abces superficiels ou profonds (perinephretiques ou pulmonaires), phlegmons, pleuresies, peritonites, arthrites, infections osseuses (osteomyelites), etc. certaines de ces lesions suppurees ont un aspect necrotique ;
- de septicemies (thrombo-emboliques ou vasculaires) : elles peuvent avoir pour origine une affection cutanee mais egalement etre la consequence d'une

contamination hospitaliere (catheter, protheses vasculaires) ; dans ce cas, tout staphylocoque peut se monter agressif, qu'il soit opportuniste ou pathogene occasionnel ;

- d'atteintes intestinales d'origine alimentaire (toxi-infections d'evolution aiguë), ou survenant apres antibiotherapie (enterocolites d'evolution chronique). seuls les staphylocoques capables d'elaborer une toxine proteique peuvent declancher les toxi-infections.

les staphylocoques atteignent diverses especes animales :

- le cheval : suppurations diverses, maux de garrot, botryomycose (notamment les plaies de castration).
- les bovins : mammite, metrite septicemie chez les jeunes.
- les moutons et les chevres : mammite gangreneuse "microcoque" de nocard). lymphadenie caseuse ("microcoque" - de morel).
- le porc : suppurations banales, mammite.
- le chien : dermites suppurees rebelles (staphylo-demodecie), mammite gangreneuse
- les oiseaux : synovites, arthrites, septicemies.

les problemes poses aux pathologistes par les staphylocoques sont multiples :

- certaines souches sont indiscutablement plus pathogenes que d'autres ce qui a conduit, pour leur identification, a la mise au point de nombreux criteres bacteriologiques de virulence.

ceux-ci doivent etre envisages avec beaucoup de sens critique : pris isolement, ils ne peuvent avoir de valeur absolue; toutefois, la presence d'une coagulase libre (mise en evidence chez la plupart des si. aureus) revele un pouvoir pathogene potentiel indeniable encore faut-il reconnaitre que certaines souches, qualifiees de non pathogenes par les bacteriologistes peuvent parfois se montrer d'une grande agressivite pour l'homme

- les staphylocoques acquierent tres facilement une resistance aux antibiotiques (et en particulier aux  $\beta$ -lactamines). cette resistance peut etre due a la presence d'une enzyme detruisant i antibiotique (telle la penicillinase) ou, au contraire, a une modification du recepteur bacterien sensible a l'action de l'antibiotique (methicilline-oxacilline) ; les microbes appartenant a cette derniere sont generalement appeles "resistants heterogenes".

Nota : le premier groupe de resistants est decele par le test gots ; le second par croissance en milieu hypersale a 5% en presence l'antibiotique.

quel que soit le mecanisme d'acquisition de resistance, la generalisation des traitements antibiotiques en milieu hospitalier aboutit a la selection des souches les plus restantes, ce qui justifie la mise en œuvre d'un anti-bio gramme sur toute souche presumee pathogene. en bacteriologie alimentaire, l'interet des staphylocoques est egalement eleve.

nous avons deja aborde le role de leur toxine proteique dans le determinisme des toxi-infections. ne disposant d'aucun moyen pratique pour la reveler dans les denrees alimentaires, le bacteriologiste doit essayer d'isoler et de denommer des souches de staphylocoques qu'il soumettra aux habituels - tests de virulence - avec les reserves deja evoquees.

## B. Morphologie

1. Dans les produits pathologiques ou les cultures en milieu liquide, on observe des coques immobiles, isolés, en diplocoques ou. Le plus souvent, en amas de plusieurs éléments réalisant la disposition en grappe de raisin de courtes chaînettes, ne grimpant jamais plus de quatre bactéries, sont plus rares.

Ces coques ont un diamètre moyen de  $0.8 \mu$ .

Ils ne sont ni sporules, ni capsules

Ils apparaissent gram positif de façon intense et homogène.

3. Si on observe une culture sur milieu solide, on ne retrouve qu'une nappe homogène de coques gram (+) de forme régulière, parsemée de larges espaces, circulaires sans bactérie.

## C. Caractères culturels.

Les staphylocoques se multiplient très bien en 24 heures sur la plupart des milieux usuelle température optimale  $37^{\circ}\text{C}$  (culture entre  $12$  et  $46^{\circ}\text{C}$ )

Ph optimal 7.2 -7.4

- sur gélose nutritive : on obtient des colonies arrondies, bombées, luisantes, opaques, à contour nets, pigmentées après 24 à 36 heures, pouvant alors présenter :

- Une coloration ocre jaune: c'est le cas de la majorité des souches de *st. Aureus*.
- Une teinte blanche, porcelainée : il peut s'agir alors de *st. Aureus*. De *st. Epidermidis* ou de *st. Saprophyticus* (à noter que cet aspect est également observé chez certains microcoques)

Nota :- les colonies colorées en jaune citron correspondent à des souches classées actuellement dans le genre *micrococcus* (ex- *st. Citreus*)

- en bouillon nutritif : on observe en 24 heures, un trouble uniforme abondant, puis un dépôt et un voile pelliculaire en surface.

- en gélose profonde : on remarque des colonies rondes, ou lenticulaires dans toute la hauteur du milieu : les staphylocoques sont aérobies facultatifs

## D. Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques des staphylocoques permettent non seulement d'identifier le genre *staphylococcus*, mais encore de distinguer un staphylocoque potentiellement pathogène (*st. Aureus*) d'une souche généralement saprophyte (*st. Epidermidis* ou *st. Saprophyticus*).

1) caractères utiles pour l'identification DU GENRE STAPHYLOCOCCUS.

parmi ceux-ci, retiennent particulièrement l'attention :

a. catalase : elle est toujours fortement positive.

b. arginine-dihydrolase (adh) : cette recherche, réalisée en anaérobiose sur bouillon de Moeller + arginine, donne un résultat positif en moins de 96 heures pour les souches appartenant au genre *staphylococcus*.

c. fermentation de nombreux hydrates de carbone : glucose, saccharose, glycérol. etc. sont fermentés. le xylose n'est jamais attaqué.

nota :- l'étude de la fermentation du glucose ne présente un intérêt que pour permettre l'élimination du genre *micrococcus*. elle sera réalisée sur milieu trypticase faiblement gélose,



additionne de glucide et d'un indicateur de ph. elle peut etre remplacee par l'etude de l'etude de la culture en aerobiose.

2) *distinction entre staphylocoques saprophytes et potentiellement pathogenes.*

a. recherche de la staphylocoagulase libre : produite en 24 heures, elle est capable in vitro de coaguler le plasma de lapin oxalate ou citrate (*cf. milieux de culture*).

*la presence d'une staphylocoagulase libre permet d'identifier "st. aureus"*

*nota* :- cette recherche n'a de valeur diagnostique que si elle est realisee a partir d'une culture en milieu liquide. il existe en effet une coagulase liee aux corps bacteriens, mise en evidence a partir des cultures sur milieux geloses et commune aux genres *staphylococcus* et *micrococcus*.

b. recherche de la desoxyribonuclease : la plupart des staphylocoque appartenant a l'espece *st. aureus* possedent une enzyme capable de depolymeriser l'adn (*cf. milieux de culture*).

c. recherche d'une phosphatase-acide : les staphylocoques coagulase (+) peuvent manifester une activite phosphatasique en milieu acide (*cf. milieux de culture*). ce test surtout pratique en controle alimentaire.

d. fermentation du mannitol : cette attaque permet d'orienter vers *st. aureus*, toutefois, certaines souches ont perdu ce caractere alors que quelques souches de *st. epidermidis* peuvent se reveler fermentatives.

*nota*:- *st. epidermidis* peut posseder une dnase (biotype ii), une lipase (biotypes i et ii) ou meme faire fermenter le mannitol (biotype v).

CONCLUSION

une souche coagulas (+) sera d'emblee classée *st. aureus*. alors qu'une souche coagulas (-) et mal equiper du point de vue enzymatique sera appelee *st. epidermidis*; *st. aureus* peut etre considere comme pathogene occasionnel; *st. epidermidis* comme commensal opportuniste mais les criteres de virulence n'ont rien d'absolu.

exceptionnellement, on peut rencontrer des souches de *st. aureus* ayant perdu leur coagulase ; elles possedent cependant un fort equipement enzymatique.

certains staphylocoques, notamment les staphylocoques enterotoxiques. bien que pathogenes, peuvent ne pas apparaitre comme tels a l'issue des epreuves *in vitro* inversement, des sujets en apparence normaux, peuvent etre porteurs de staphylocoques presentant «les tests de virulence positifs.

3) *determination de l'origine des staphylocoques pathogenes.*

cette elude autrefois classique est maintenant delaissee: elle comportait plusieurs tests :

a. l'hemolyse : parfois difficile a interpreter.

- les staphylocoques pathogenes d'origine humaine elaborent une hemolysine que l'on peut rechercher sur gelose au sang de lapin ou au sang de mouton ensemencee en point ou en strie isolee apres 24 heures a 37°C. la culture est entouree d'une zone claire d'hemolyse complete a limite floue (hemolyse  $\alpha$ ).

- les staphylocoques pathogenes d'origine *animale* produisent une hemolysine qui n'agit que sur les globules rouges de mouton. apres 24 heures a 37°C. on observe une hemolyse incomplete a bord net qui ne devient complete qu'apres une nuit a la glaciere (hemolyse  $\beta$ ). certains staphylocoques possedent, en meme temps, les deux types d'hemolysines.

*nota* :- le hemolyses  $\alpha$  et  $\beta$  des staphylocoques sont differentes des hemolyses  $\alpha$  et  $\beta$  des streptocoques. cette analogie classique de symboles est regrettable.

b. la fibrinolyse : une fibrinolysine est elaboree par les staphylocoques pathogenes d'origine humaine.

on la met en evidence son en obtenant la liquefaction du caillot qui provient de l'action de la staphylocoagulase, soit en ensemencant en point une gelose contenant des fragments de fibrine (plasma de lapin chauffe) ; elle se manifeste par un eclaircissement de la gelose autour de la colonie

4) *autres caracteres d'identification.* peuvent egalement etre interessantes :

- l'attaque du trehalose ;
- la sensibilite a la novobiocine.

**Tableau01. caracteres biochimiques differentiels.**

	culture en anaerobiose	ADH	st. coagulase libre	dnase	phosphatase	fermentation du mannitol	trehalose	novobiocine
<i>St. Aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	S
<i>St. Epidermidis</i>	+	+	-	+	+	-	-	S
<i>St. Saprophyticus</i>	+	+	-	-	-	+	+	R
<i>Micrococcus.</i>	-	-	-	-	-	-	-	D

s. sensible, r. resistant, d. differents biotypes.

e. structure antigenique. sensibilite aux bacteriophages.

des methodes immunochimiques precises ont permis de distinguer :

- une proteine a peripherique presente chez la majorite des souches de *st. aureus* : elle possede la particularite de precipiter la majorite des immunoglobulines humaines et de certaines especes animales:

- un antigene hetero-polysaccharidique dans la composition duquel entre de l'acide teichoïque et du ribitol : ce dernier est remplace par du glycerol s'il s'agit d'un *st. aureus* coagulase negative.

au cour d'enquetes epidemiologiques une identification complete des souche isolees peut cire realisee par

- serotypie : les bacteries appartenant au genre *staphylococcus* possedent de nombreux agglutinogenes communs, mais egalement des antigenes caracteristiques de chaque type ou de chaque espece.

la majorite des touches d'origine humaine appartiennent aux serotypes 1. 2. 3 et 18. le serotype 18 multiresistants aux antibiotiques est rencontre plus particulierement en milieu hospitalier

les souches d'origine anima peuvent egalement etre typees a l'aide de serums specifiques.

*nota.* - le typage des touches coagulase (-) necessite l'utilisation de serum particuliers.

- lysotypie : les staphylocoques peuvent etre lyses par 23 phages differents. les souches de *st. aureus* appartiennent principalement aux lysotypes i. ii. iii. iv. les souches de *st. epidermidis* sont classees dans d'autres groupes. sous certaines conditions, il est possible de differencier les staphylocoques d'origine animale

*nota:-* il existe une certaine correspondance entre les types serologiques et lysotypiques ; les staphylocoques du lysotype i appartiennent generalement aux serotypes 1 ou 1-2, ceux du lysotype ii au serotype 2.

f. substances elaborees par les staphylocoques pathogenes

1). *des toxines.*

a. les hemolysines : trois varietes principales sont decrites :

- hemolysine  $\alpha$  (active sur les hematies de lapin a 37°C). dermonecrotique et letal vis-a-vis du lapin, c'est une exotoxine authentique; excretee au fur et a mesure de sa formation, elle est elaboree par les souches pathogenes pour l'homme.

- hemolysine active sur les hematies du mouton a +4°C; moins toxique, elle est elaboree par les souches d'origine animale

- hemolysine  $\delta$  active sur les hematies de lapin, de mouton d'homme et de cheval. elle serait produite par les souches de staphylocoques coagulase (-).

- hemolysine  $\gamma$  : differente de la precedente car sans action sur les hematies de cheval, elle est constituee par deux fractions distinctes inactives separement.

ces toxines possedent tous les caracteres des toxines proteiques (*cf. bacteriologie generale*). elles sont, en particulier, transformables en ana-toxincs.

b. les leucocidines : alterant les leucocytes : ce terme est actuellement reserve a une toxine formee de deux composees cristallisables (f et s), bien que les hemolysines  $\alpha$  et  $\beta$  puissent etre egalement considerees comme des leucocidines.

c. les enterotoxines : des techniques immunologiques permettent de distinguer cinq varietes (de a a e). ces exotoxines proteiques sont thermostables et resistent aux enzymes digestives

2). *des enzymes.*

a. les coagulases : on distingue deux types de coagulase :

- *libre* : spécifique de *st aureus*, libérée hors des corps bactérien elle agit sur une globuline plasmatique voisine de la prothrombine; elle coagule le plasma de l'homme et du lapin, aussi bien *in vitro* qu'un *vivo*; elle peut jouer alors un rôle dans la pathogène des septicémies;

- *liée aux corps bactériens* : commune aux genres *staphylococcus* et *micrococcus*, elle interviendrait *in vivo* en protégeant les staphylocoques de l'action phagocytaire.

b. la fibrinolysine (staphylokinase) intervient dans la physiopathologie des septicémies en dissociant les caillots colonisés par les bactéries permettant ainsi l'envoi dans la circulation d'embolies septiques. elle n'est pas élaborée par les souches  $\beta$ -hémolytiques.

c. la hyaluronidase dissocie la substance fondamentale du tissu conjonctif et favorise l'extension de l'infection.

d. la desoxyribonucléase pourrait entraîner des lésions tissulaires.

e. la pénicillinase est capable d'empêcher l'activité antibiotique de la pénicilline en ouvrant son cycle  $\beta$ -lactame.

g. pouvoir pathogène expérimental

il est étudié à l'occasion d'enquêtes épidémiologiques et réservé à des laboratoires spécialisés.

- *chez le lapin*, on obtient :

- par voie sous-cutanée ou intramusculaire des abcès;
- par voie intraveineuse à dose faible, la mort en une à quatre semaines, avec multiples abcès des reins à l'autopsie, à dose forte, la mort en 24 à 48 heures, due à la seule toxine

- *chez le jeune chat* l'enterotoxine thermostable des staphylocoques est décelée en injectant par voie péritonéale à de jeunes chats 1 à 3 ml du filtrat de culture dont on a détruit les toxines  $\alpha$  ou  $\beta$  par l'action de la chaleur quelques heures après l'injection, les chatons sont pris de vomissements et de diarrhée

- souris et cobayes sont peu utilisés.

h. isolement

lorsque les staphylocoques se trouvent dans un produit pathologique non stérile (hémoculture par exemple), leur isolement ne pose pas de problème particulier on peut utiliser simplement la gélose nutritive ou la gélose au sang

En revanche, lorsque le produit à étudier est polymicrobien (certains pus, lésions ouvertes, produits alimentaires), il est indispensable d'employer des milieux sélectifs. parmi ceux-ci, on peut retenir :

- *le milieu de chapman* qui grâce à sa forte teneur en NaCl inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que le staphylocoque et donne en même temps une indication quant à l'action sur le mannitol de la souche isolée :

- *le milieu de baird-parker* (dont l'agent sélectif est le tellurite de potassium et qui contient du jaune d'œuf), utilisé surtout en bactériologie alimentaire. sur ce milieu, les colonies de staphylocoques pathogènes apparaissent, après 24 heures d'étuve à 37°C sous forme de points noirs de 1 à 1.5 mm de diamètre. ces colonies sont entourées d'un halo d'éclaircissement de 2 à 5 mm de diamètre, tranchant: sur le reste de la surface du milieu (le halo est dû à l'action d'une lipoprotéase). le milieu de baird parker convient particulièrement aux souches de virulence réduite.

## I. identification

la morphologie macro et microscopique etant generalement caracteristique, on se contente pour confirmer l'appartenance au genre *staphylo-coccus* d'une recherche de la catalase et d'une etude du type respiratoire sur gelose vf (ou d'une mise en evidence de l'adh).

la caracterisation de l'espece necessite une recherche de la coagulase libre, de la dnase et accessoirement l'etude de la fermentation du mannitol. en cas d'enquete epidemiologique, on complete l'identification en recherchant

- le type antigenique par agglutination sur lame;
- le type bacteriophagique.
- l'antibiotype.

## J. diagnostic des staphylococcies.

s'il est generalement facile d'isoler ou d'identifier un staphylocoque, il peut etre plus delicat de lui attribuer un role pathogene.

comme toujours lorsqu'on a affaire a une bacterie occasionnellement pathogene, pourront etre pris en consideration :

- *l'origine du prelevement* hemoculture, liquide cephalo-rachidien, collections supputees ouvertes ou fermees, etc. ; certains produits sont facilement souilles par des bacteries commensales ou saprophytes: d'autres echappent a tel accueil :

- *l'abondance des bacteries a l'examen microscopique direct*, lorsqu'il est possible:
- *l'isolement repete chez le meme malade de souches apparemment identiques:*
- enfin *l'espece, st aureus*, est de loin je plus pathogene

tout staphylocoque presume pathogene devra etre soumis a l'antibiogramme, geste rendu indispensable par la multiplicité des resistances naturelles ou acquises (les staphylocoques "hospitaliers" etant toutefois beaucoup plus resistants que leurs homologues de ville.

*nota* :- le commentaires precedents interessent au premiers chef les staphylocoques isoles par coproculture, lors d' toxi-infections ; l'existence de staphylocoques commensaux de l'intestin, appartenant a l'espece st. aureus, ainsi que la difficulte pratique de reveler l'enterotoxine obligent a beaucoup de prudence dans l'interpretation de ces examens, qui en fait, ne pourront que renforcer une impression clinique fondee surtout sur la brievete des delais d'incubation et l'absence de fièvre, ou epidemiologique de l'aliment contamineur).

## Conclusion.

- coques gram (+) groupes en amas plans irreguliers,
- catalase (+)
- aerobies facultatifs,
- metabolismes fermentatifs,
- adh (+),
- SOUCHES POTENTIELLEMENT PATHOGENES.

## GÉNÉRALITÉS SUR LES ENTÉROBACTÉRIES

toutes les bacteries appartenant a cette famille ont en commun les caracteres suivants :

- bacilles gram negatif de dimensions moyennes : 0,5 u sur 3.
- immobiles ou mobiles mais, dans ce cas. toujours grace a une ciliature peri triche.
- se developpant aisement sur milieux ordinaires.
- aerobies facultatifs.
- faisant fermenter le glucose avec ou sans gai.
- ne possedant pas d'oxydase.
- reduisant les nitrates en nitrites (quelques exceptions parmi erwinia)

ces differents caracteres doivent etre tous presents pour affirmer qu'il s'agit d'une enterobacterie.

a. habitat.

Les enterobacteries sont des bacilles extremement repandus

Ce sont, comme leur nom l'indique, des *microbes commensaux de l'intestin* (humain et animal), presents tout particulierement dans le colon et le rectum, jouant un role dans les phenomenes digestifs.

leur importance a toutefois ete tres largement surestimee, puisqu'ils ne representent quantitativement que quelques centiemes de la flore totale de l'intestin terminal (composee d'une ecrasante majorite de bacteries anaerobies strictes).

leur apparition dans les selles des nouveau-nes est extremement precoce, puisque *e coli* et *k, pneumoniae* sont presents des la 48 heure de la vie extra-uterine. si les enterobacteries restent rares dans l'intestin de l'enfant nourri au sein (4% d'*e. coli*). la proportion est plus elevee en cas d'allaitement artificiel et tend a croitre avec l'age, lorsque progressivement le mode d'alimentation infantile se rapproche des habitudes alimentaires des sujets adultes chez ces derniers, le pourcentage d'enterobacteries peut s'elever si l'alimentation est a predominance carnee. *e. coli* est enterobacteriace la plus frequente de l'intestin : la proportion de *proteus* ou *klebsiella* est egalement elevee.

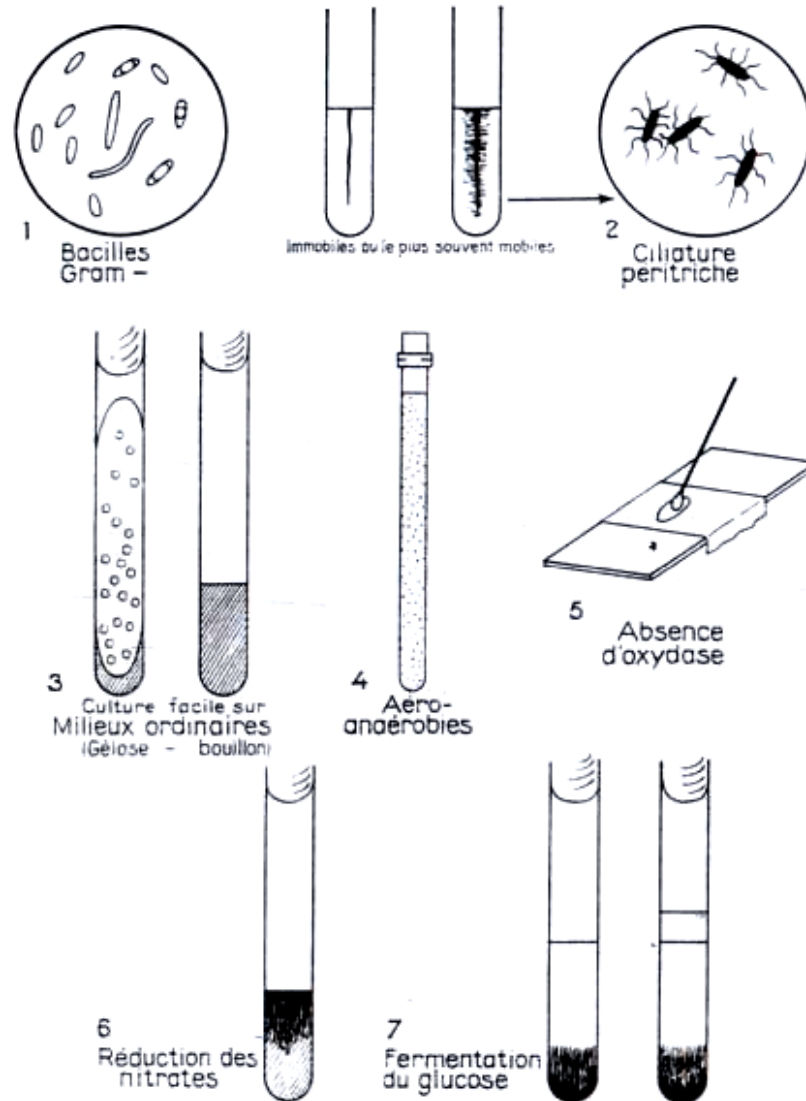


FIGURE.05. ENTEROBACTERIACEÆ. CARACTERES PERMETTANT L'IDENTIFICATION DE LA FAMILLE.

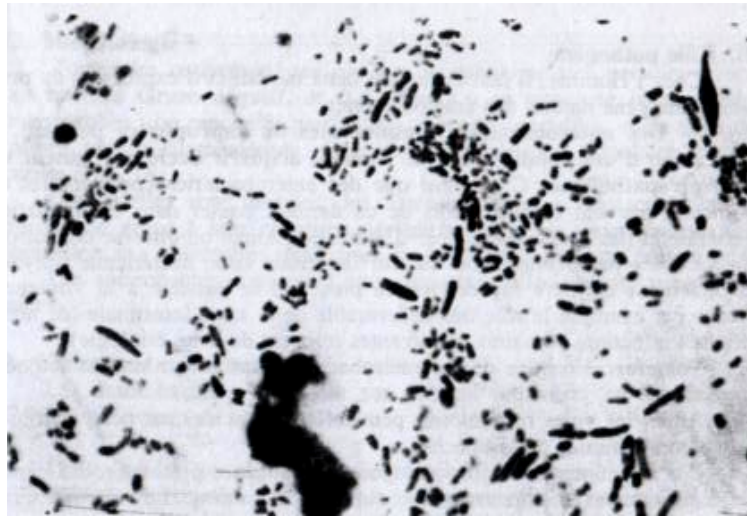


figure.06- enterobacteriaceæ (urine purulente). coloration de gram x 1 100.

le domaine des enterobacteries commensales ne se limite pas a l'intestin ; on les trouve aussi dans la cavite buccale au niveau les voies aeriennes superieures et sur les organes genitaux.

les enterobacteries peuvent subsister en dehors d'organismes vivants on les rencontre dans le sol, l'eau et un certain nombre de denrees alimentaires (produits laitiers surtout). la plupart des enterobacteries (et unit particulierement les coliformes) sont capables de s'y multiplier, de façon autonome, pendant une periode illimitee : c'est ainsi que dans le sol. elles participent aux cycles du carbone et de l'azote....

le cas *e. coli* est assez different : cette enterobacterie commensale principale de l'intestin, ne peut survivre qu'un temps relativement court hors de ce dernier la decouverte d'une quantite importante de colibacilles dans un produit naturel (eau. produits laitiers, etc.) traduira dont une contamination fecale massive et relativement recente, interdisant l'usage alimentaire de telles denrees

#### b. role pathogene.

chez l'homme, il faut distinguer deux modalites d'expression du pouvoir pathogene naturel des enterobacteries :

- des enterobacteries commensales ou saprophytes peuvent, a l'occasion d'une modification de terrain, acquerir accidentellement un pouvoir pathogene. c'est ainsi que des enterobacteries commensales de l'intestin peuvent essaimer hors de ce dernier, passer dans la circulation generale et par cette voie gagner d'autres territoires ou elles se conduiront en bacteries pathogenes tout facteur favorisant cette bacterienne physiologiquement toujours fugace) rendra plus aise le passage a la virulence; citons par exemple le role tres defavorable de la stase intestinale (de nombreuses infections urinaires recidivantes relevent de cette etiologie).

Toutefois, l'origine de ces enterobacteries nuisibles n'est pas toujours digestive.

Ainsi, les voies respiratoires peuvent etre infectees par des enterobacteries commensales de la bouche.



Ces infections, d'origine endogene ou exogene, presentent des caracteres communs : elles peuvent etre dues a n'importe quelle enterobacterie leurs manifestations sont tres diverses : *infections urinaires (cystites, pyelonephrites. Etc.)*. *Respiratoires (broncho-pneumonies...)* *Oto-rhino-laryngologies toutes, mastoïdites...)*. *Infections viscerales diverses, septicemies, etc.*

- dans d'autres cas. L'expression clinique est due a certaines varietes d'enterobacteries, presentant un pouvoir pathogene important : ces enterobacteries pathogenes, qui n'existent normalement pas a l'etat commensal (bien que l'on connaisse des - porteurs de germes -) et dont la vie saprophytique est generalement breve, determinent le plus souvent des syndromes purement digestifs : les *gastro-enterites* (ou intoxications alimentaires) : l'origine de la contamination est ici toujours exogene, resultant presque constamment de l'absorption d'aliments contamines. *Tel est le pouvoir de certaines salmonelles des shigelles et des colibacilles enteropathogenes*

*Nota:* - ce dernier doit etre formellement distingue des colibacilles commensaux : ils possede un antigene de surface de type b. Qui leur est propre.

Toutefois, certaines enterobacteries pathogenes peuvent franchir la barriere intestinale, determinant alors une maladie generale comprenant un syndrome digestif : tel est le cas des salmonelles (paragraphe correspondant) responsables de la fièvre typhoïde

Chez l'animal, deux genres interviennent plus specialement : *salmonella* dans des avortement des ententes et des septicemies; *escherichia* dans des syndromes digestifs et des se

### C. Morphologie

Toutes les enterobacteries ont une morphologie tres voisine: ce sont les bacilles drain negatif, de  $0.5\mu$  sur  $3\mu$  en moyenne, generalement polymorphes on rencontre parfois des elements coccoïdes, mais aussi des tonnes pseudo filamenteuses. Une coloration de type bipolaire est frequente.

Lorsqu'elles sont mobiles, les enterobacteries se deplacent plus ou moins vite grace a leur ciliature peritriche selon un trajet sinueux (par opposition aux trajectoires rectilignes des bacteries a ciliature polaire). Les enterobacteries peuvent etre capsulees. Elles ne sont jamais sporulees.

### D. Caracteres culturaux

Les enterobacteries poussent sur milieux ordinaires en 24 heures a  $37^{\circ}\text{C}$  a ph voisin de la neutralite

1) *sur gelose*, on observe plusieurs types de colonies :

Colonies s (smooth) lisses, de 1.5 a 3 mm de diametre, regulierement arrondies, limitees par un bord regulier, legerement bombees, de surface lisse, translucides, ayant souvent des reflets bleues.

Dans la quasi-totalite des cas, elles sont apigmentees. Dissociees en eau physiologique, elles donnent une suspension homogene. Les bacteries recemment isolees d'un organisme presentent generalement des colonies de ce type. Les enterobacteries de type s sont antigeniquement completes.

Colonies r (rough) rugueuses, de 1.5 a 3 mm de diametre, limitees par un bord irregulier finement dentele, assez plates, de surface rugueuse, translucides et grisatre. Dissociees en eau

physiologique, elles apparaissent autoagglutinables, ce qui rend impossible toute étude antigénique.

Cet aspect correspond généralement à de vieilles souches. Cette variation de phase peut être réversible le retour en phase *s* est parfois possible par culture sur milieux riches ou par passage sur animal.

Les entérobactéries de type *r* sont antigéniquement dégradées par rapport aux formes *s*.

Colonies *m* muqueuses, plus volumineuses, arrondies limitées par un bord régulier, très bombées, de surface lisse, brillantes, opaques : elles réalisent l'aspect en *coulee de miel*. Elles correspondent souvent à des bactéries capsulées (*klebsiella* en particulier).

Colonies naines : seulement visibles à la loupe. Elles ne s'observent guère que pour certains sérotypes de *salmonella* (*gallinarum pullorum...*).

2) *en bouillon*, les formes *s* donnent en 24 heures un trouble homogène avec des ondes moirées lors de l'agitation du tube. Il n'y a jamais de test (nitrate réductase a ou b). voile en surface, mais parfois une collerette.

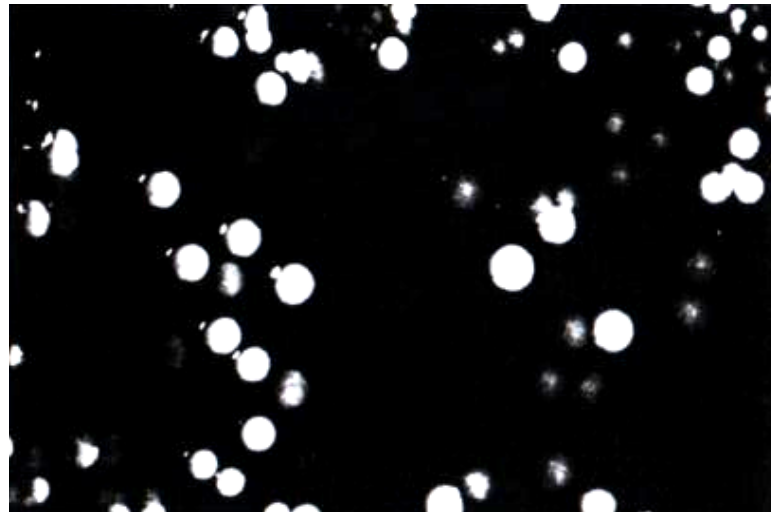


FIGURE.07. ENTEROBACTERIES : COLONIES *S*.

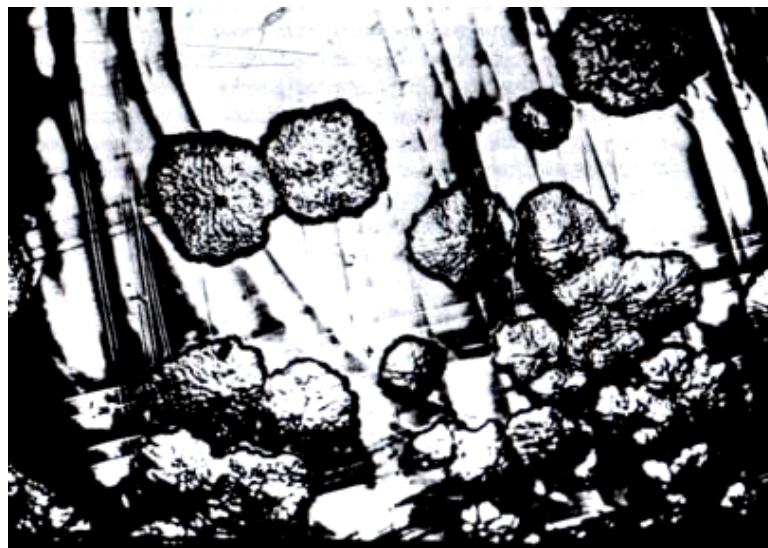


Figure.08. entérobactéries: colonies *r* (observation à la loupe, en éclairage oblique).  
Cliche d' *poutrel*.

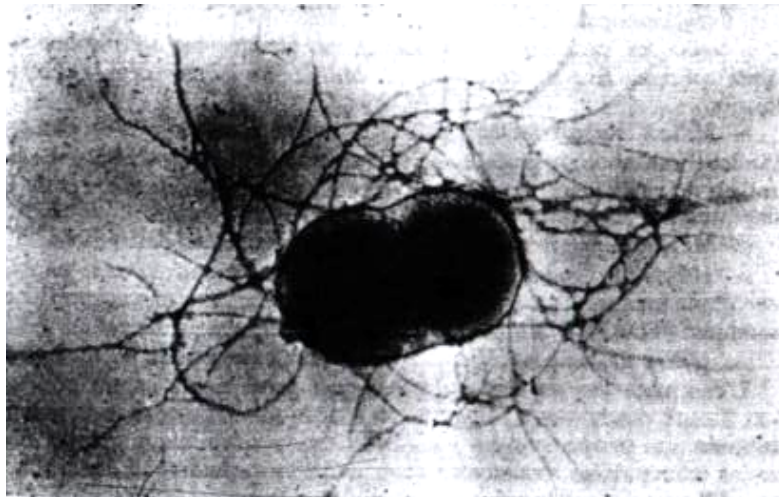


figure.09. enterobacteries : ciliature peritriche (microscopie electronique a transmission).  
cliche m<sup>me</sup> le prof. perol.

les formes r donnent une culture grumeleuse, deposee dans le fond du tube. le surnageant reste clair. la culture des formes m se traduit par un trouble intense, avec une collerette muqueuse en surface.

3) *en gelose yf*, les colonies des enterobacteries apparaissent dans toute la hauteur du tube : ces bacteries sont donc aerobies facultatives.

*nota* :- l'examen de cultures sur milieu ordinaire ne permet pas le plus souvent, de distinguer une enterobacterie.

#### e. caracteres biochimiques

1) *trois caracteres sont fondamentaux pour classer une bacterie gram negatif dans la famille des enterobacteriaceæ*. il s'agit :

- du metabolisme fermentatif des glucides.
- de l'absence d'oxydase,
- de la reduction des nitrates (nitrate reductase a et b).

2) *d'autres caracteres permettent assez rapidement d'avoir a l'interieur de la famille des enterobacteriaceæ une forte presumption de l'identite de l'espece bacterienne.*

l'etude des caracteres biochimiques est facilitee par l'utilisation de milieux speciaux souvent combines (*cf. milieux de culture* de la presente collection) :

- *milieu glucose-lactose h<sub>2</sub>s*. ce milieu permet non seulement d'etudier l'utilisation du glucose, du lactose et la production d'h<sub>2</sub>s mais est le milieu de choix pour la mise en evidence de la p-galactosidase et de la lysine-decarboxylase (*ldc*) (*cf. milieux de culture* de la presente collection).

- *milieu manntol-mobilite* qui permet la recherche des nitrites.

- *milieu uree indole* : milieu synthetique, utile pour la mise en evidence d'une urease la production d'indole et la presence d'une tryptophane desaminase (*tda*) (*cf. milieux de culture* de la presente collection).

- *milieu de simmons* : utilisation du citrate de sodium.

l'ensemble des renseignements obtenus grace a ces quatre milieux, oints a ceux conduisant a l'identification de la famille constitue la galerie minimale, qui permet souvent une identification biochimique precise. des galeries miniaturisees, maintenant commercialisees, rendent les memes services. elles proposent souvent les memes caracteres.

l'interpretation (raisonnements a appliquer, etude critique des resultats) de telles galenes est detaillee dans *techniques* de la presente collection.

3) *lorsque la galerie minimale se montre insuffisante, on est alors amene a utiliser divers milieux complementaires (tableau general02) choisis en fonction de l'orientation diagnostique.*

*nota:- on trouve le commerce differents systemes permettant l'identification complete des enterobacteries. certains etudiant plusieurs diurnes de caractere, necessitent pour etre interpretes l'application de donnees statistique\* (heureusement codifiees).*

4) *une serie de tests revet une certaine importance en bacteriologie alimentaire.*  
elle comprend :

- la recherche de l'indole.
- la reaction au rouge de methyle.
- la mise en evidence de l'acetyl-methyl-carbinol = reaction de voges-proskauer.
- l'attaque de l'inositol (actuellement delaissee).
- l'utilisation du citrate en milieu de simmons.

cette serie de tests est habituellement designee par le sigle imvic. certains de ses elements (reaction du rouge de methyle) n'etant interpretables qu'apres 48 a 72 heures, ce test donne des resultats trop tardifs pour etre d'un emploi courant en bacteriologie medicale.

TABLEAU 02. ORIENTATION RAPIDE D'UN DIAGNOSTIC D'ENTEROBACTERIE.

UREE	INDOLE	ONPG	ENTEROBACTERIE	
(-)	(-)	(-)	<i>SALMONELLA</i> <i>ARIZONA (25%)</i> <i>SHIGELLA</i>	
		(+)	<i>SHIGELLA</i>  <i>CITROBACTER</i> <i>ENTEROBACTER</i> <i>(ERWINIA)</i> <i>SERRATIA</i> <i>ARIZONA (75%)</i> <i>KLEBSIELLA</i>	<i>SYSENTERIAE</i> <i>SONNEI</i> <i>BOYDII</i>  <i>RHINOSCLEROMATIS</i> <i>OZENAE</i>
	(+) )	(-)	<i>PROVIDENCIA</i> <i>ALCALESCENS</i> <i>SHIGELLA</i>  <i>EDWARDSIELLA</i>	<i>DYSENTERIAE</i> <i>FLEXNERI</i> <i>BOYDII</i>
		(+)	<i>E. COLI</i> <i>DISPAR</i> <i>SHIGELLA BOYDII</i>	
	(+) )	(-)	(-)	<i>PROTEUS</i> <i>MIRABILIS</i>
(+)			<i>KLEBSIELLA</i> <i>YERSINIA</i>	<i>PNEUMONIAE</i> <i>OZEAE</i>
(+) )		(-)	<i>PROTEUS</i>	<i>VULGARIS</i> <i>MORGANII</i>  <i>(MORGANELLA)</i> <i>RETTGERI</i>  <i>(RETTGERELLA)</i>
		(+)	<i>KLEBSIELLA</i> <i>OXYTOCA</i>	

5) pour compléter ces généralités sur l'identification biochimique, il est nécessaire de apporter quelques précisions sur l'importance relative de l'attaque du lactose.

ce test revotait jadis une importance fondamentale puisque l'on distinguait avant tout les enterobacteries :

lactose (+)	lactose (-)
colibacilles	salmonelles
coliformes	shigelles
	proteus

ceci permet de comprendre pourquoi tous les milieux d'isolement d'enterobacteries renferment du lactose et un indicateur de ph.

actuellement, la connaissance des metabolisme\* bacteriens a enleve au lactose son caractere primordial; la large vulgarisation de la recherche de l'action sur l'onpg permis de diminuer encore l'importance taxonomique a un but ce a la fermentation du lactose. toutefois, dans l'exercice quotidien, la distinction effectuee sur *les milieux d'isolement* entre enterobacteries lactose (+) et (-) reste une clef taxonomique fort utile.

#### f. caracteres antigeniques

les enterobacteries possedent differentes sortes d'antigenes :

1. *un antigene somatique "o"* de nature glucido lipido polypeptidiques qui est l'endotoxine constituant la paroi de ces bacteries.

le pouvoir antigenique depend du compose proteinique, mais la specifie «te est portee par de couru segments oligosidiques  
cet antigene est thermostable, resiste a l'alcool et a l'acide phenique. lorsque les bacteries sont mises en presence d'un serum renfermant l'anticorps correspondant, on observe en tube une agglutination :

- d'apparition lente (2 heures a 37 °c. ensuite 20 heures a temperature du laboratoire);



figure. 10. agglutination polaire (antigene o)    figure.11.agglutinationflagellaire (antigene h)

- finement granulaire (necessitant parois une observation au miroir concave);
- polaire, c'est-a-dire que les bacteries sont agglutinees par leurs extremités (fig.10).
- difficile a dissocier.

l'agglutination "o" est entravee par le formol a 0.5 %.

2) *un antigene flagellaire "h"* de nature proteique, present chez les formes mobiles ii est thermolabile, detruit par l'alcool mais insensible a l'action du formol.  
a l'antigene - h - correspond une agglutination en tube :

- apparaissant rapidement (2 heures a 37°c);
- floconneuse, lache;
- non polaire, les bacteries sont agglutinees par l'intermediaire de leurs cils (fig.11).
- facile a dissocier par agitation

des enterobacteries de groupes differents peuvent posseder des facteurs antigeniques communs, d'ou l'existence possible de coagglutinations.

3) *un antigene r* commun a toutes les enterobacteries ; il serait du il une modification de l'antigene o.

4) *un antigene de surface k*, inconstant, qui peut masquer les antigenes o. les antigenes superficiels sont thermolabiles et rendent parfois necessaire le chauffage des suspensions bacillaires pour deceler l'agglutination par les serums anti-o on ne les observe que chez certains groupes (antigenes l, a et b de colibacilles -antigene de surface des shigelles – antigene vi des salmonelles).

a ces antigenes de surface correspond une agglutination finement granulaire comparable a l'agglutination o.

5) *un antigene capsulaire* polyosidique constant chez certains genres (*klebsiella*). mis en presence de ses anticorps specifiques, cet antigene donne lieu a une agglutination avec augmentation du diametre apparent de la capsule.

l'etude antigenique permet de distinguer par agglutination sur lame au moyen de serums connus des serotypes a l'interieur des groupes. ces serotypes peuvent eventuellement etre subdivises en biotype par l'etude des caracteres biochimiques differentiels ou en lysotype par l'etude de la sensibilite a certains bacteriophages.

#### g. pouvoir pathologique experimental

son etude n'a en general, que peu d'interet pour l'identification des enterobacteries. toutefois, certaines especes peuvent se montrer tres virulentes vis-a-vis de la souris (*klebsiella pneumoniae*, *salmonella typhi murium*, etc.).

#### h. toxines

les enterobacteries comme tous les bacilles gram negatif, possedent une toxine glucido-lipido-polypeptidique (ou endotoxine; cf. antigene o). le lipide a qui joue un role important dans la genese des phenomenes toxiques (se reporter aux ouvrages de bacteriologie generale) ne semble pas contribuer activement au pouvoir pathogene spontane.

il est exceptionnel de rencontrer une enterobacterie elaborant une toxine proteique (cf. neurotoxine *shiga*) dans ce cas, cette derniere reste toujours localisee a l'interieur des corps bacteriens."

#### i. classification

on peut rassembler les differents genres de la famille des *enterobacteriaceae* en cinq groupes en fonction de leurs caracteres biochimiques. a la fin de l'etude de chaque groupe sera place un tableau resumant les caracteres essentiels des genres le composant.

tableau 03. les groupes d'enterobacteries.

groupe i (generalement h <sub>2</sub> S (+))	edwardsielleae	<i>edwardsiella</i>
	salmonelleae	<i>salmonella, citrobacter, arizona</i>
groupe ii (generalement indole (+))	escherichieae	<i>escherichia, alcalescens-dispar shigella</i>
	levineae	<i>levinea</i>
groupe iii (generalement vp (+))	klebsielleae	<i>klebsiella enterobacter, serratia, erwinia</i>
groupe iv (toujours tda (+))	proteae	<i>proteus, providencia</i>

groupe v (uree +++- tda (-))	yersineae	<i>yersinia</i>
------------------------------	-----------	-----------------

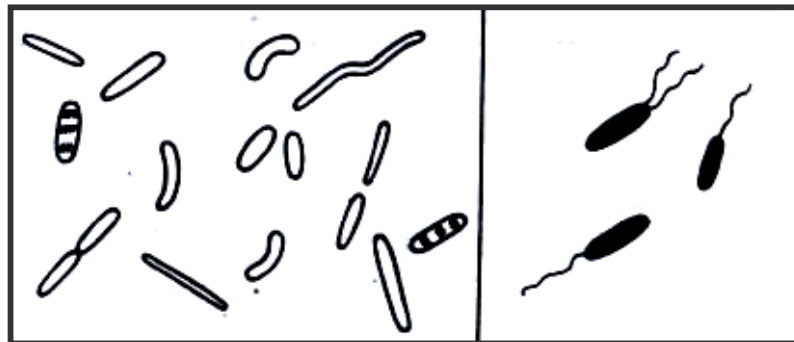
les bacilles et coccobacilles g ram négatif, aérobies stricts oxydase généralement positive

### 1. pseudomonadaceae

cette famille est composee de deux genres

- genre pseudomonas
- genre xanthomonas

#### 1.1. GENRE PSEUDOMONAS.



COLORATION DE GRAM

COLORATION DE CILS

FIGURE. 12.MORPHOLOGIE MICROSCOPIQUE DE PSEUDOMONAS. LA CILIATURE EST EN GENERAL DE TYPE POLAIRE.

##### 1.1.1. definition. caracteres generaux.

le genre *pseudomonas* comprend des bacilles habituellement fins, rectilignes ou plus rarement incurvés :

- mobiles grace a une ciliature polaire.
- gram negatif.
- cultivant bien sur milieux ordinaires.
- aerobies stricts.
- reduisant les nitrates.
- possedant un metabolisme glucidique oxydatif ou denues d'action sur les sucres.
- oxydase (+) (si l'on excepte *p maltophilia*).
- arginine-dihydrolase (+) pour un grand nombre d'especes (recherchee en milieu de mal 1er commercialise)
- $\text{nh}_3$  (+) (produit en bouillon).

les bacteries du genre *pseudomonas* sont essentiellement saprophytes ou commensales certaines especes peuvent acquerir un pouvoir pathogene generalement favorise par un terrain debilite (tel *ps. aeruginosa*). d'autres sont constamment pathogenes (tel *ps.mallei*). la premiere categorie joue un grand role en medecine humaine; la seconde en medecine veterinaire.

bien que des problemes d'identification differentielle ne se posent qu'exceptionnellement entre les deux groupes, les caracteres des differentes especes rencontrees dans le genre *pseudomonas* sont resumes ci-dessus



Le pouvoir pathogene spontane des differentes especes rencontrees en medecine humaine est comparable a celui de *p. Aeruginosa* ; les infections qu'elles determinent sont seulement plus rares.

### 1.1.2. Pseudomonas aeruginosa

#### A. Habitat. Role pathogene

*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est une bacterie saprophyte de l'air, de l'eau et du sol. Commensale des teguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, elle possede un pouvoir pathogene etendu: le bacille pyocyanique est essentiellement une bacterie pyogene qui provoque chez l'homme et chez l'animal des suppurations diverses, particulierement frequentes en milieu hospitalier. Ces infections se developpent generalement sur des terrains debilites des septicemies, primitives ou secondaires, ne sont pas rares.

#### B. Morphologie

*P. Aeruginosa* se presente comme un fin bacille (0,5 x 3  $\mu$ ) asporule et a capsule; son extreme mobilite est due a une *ciliature polaire* en general monotriche. *Gram negatif*, il possede souvent des granulations plus fortement colorees.

#### C. Caracteres culturaux

c'est une bacterie *tres peu exigeante*, se multipliant sur des milieux synthetiques simples avec comme sources d'azote et de carbone de l'ammoniaque et du glucose.

elle pousse facilement en 2 heures a une temperature de 37°C et peut se developper a des temperatures variables (5 a 42°C. l'optimum etant 30°C) mais supporte de moindres variations de pH (6.5 a 7.5 l'optimum etant 7,2).

aerobies strictes, les bacteries de l'espece *p. aeruginosa* peuvent utiliser pour leur respiration les nitrates comme accepteurs d'hydrogene; en consequence dans les milieux anaerobies contenant des nitrates, elles cultivent dans toute la hauteur du tube

le bouillon est trouble avec developpement d'un voile en surface, parfois limite a un simple anneau adhere ni aux parois du tube la culture, tres alcaline, repand une odeur aromatique. apres quelques jours, un sediment visqueux s'accumule en profondeur.

sur gelose apparaissent des colonies de quelques millimetres de diametre, plates ou surelevees, opaques, a surface assez depolie, limitees par un bord regulier ou finement dentele, prenant en vieillissant des reflets metalliques. on peut aussi observer des formes r ou des formes m. les dissociations sont frequentes.

en 2 a 4 jours, on assiste souvent a un bleuissement ou verdissement des milieux de culture du aux pigments diffusibles elabores par la bacterie.

*nota* :- il existe maintenant un milieu selectif a la cetrimide, specifique de *p. aeruginosa*, exceptionnellement *p. maltophilia*, *p. putida* et *p. stutzeri* peuvent y cultiver.

#### d. caracteres biochimiques

1. *etude generale du metabolisme* : sont importants :

- la reduction des nitrates allant souvent jusqu'au stade azote gazeux.
- la presence d'une *oxydase*.
- le *metabolisme oxydatif* des sucres, appreciable en milieu mevag ou de hugh et le il son (milieux tres pauvres en peptones. recouverts ou non de vaseline); retenir essentiellement l'action sur le glucose et sur le d- arabinose;
- le pouvoir ptoaeolytique liquefaction de la gelatine en entonnoir, puis en coupe renversee.
- la presence d'une lecithinase, oui souvent ne peut etre revelee qu'en milieu liquide sur milieu geloses les reactions restreintes sont frequentes

2) *mise en evidence des pigments:*

ils peuvent etre apparents sur milieu ordinaires ou mieux sur serum de bœuf coagule on doit parfois avoir recours a des milieux speciaux, type milieux de king a et b  
on distingue :

a. la pyocyanine (derive de la phenazine), responsable de la teinte bleue intense des milieux de culture : sa production est favorisee sur milieu de king a

*elle est soluble dans l'eau et le chloroforme* (l'extraction s'effectue facilement sur milieux ordinaires solides ou liquide»).

si l'on ajoute un acide fort, b teinte de la pyocyanine vue au rouge. oxydee, elle devient jaune tee qui se produit parfois spontanement apres exposition prolongee a la lumiere) reduite, elle se transforme en un leucoderive incolore

b. la proverdine presentant une teinte verte fluorescent est souvent masquee par la pyocyanine sa production est maximale sur milieu de king b.

elle est soluble dam l'eau mais non *dans le chloroforme*.

oxydee "et c'est le cas dans les cultures agees" la pyoverdine devient rouge

*nota :- p. aeruginosa* possede en general les deux sortes de pigments. certaines souches n'en ont qu'un ou en sont depourvues. la pigmentation ne constitue donc pas un critere formel de l'identification du bacille pyocyanique ; il n'en reste pas moins vrai que l'observation d'un pigment bleu-vert soluble dans le chloroforme suffit presque lorsqu'elle possible- a caracteriser *p. aeruginosa*.

- c. le pigment erythrogene (rouge) }  
d. le pigment melanogene (noir) }

e. structure antigenique et chimique

il existe des antigenes o et h qui permettent de distinguer differents types. les antigenes o sont glucido-tipido-proteiques. on connait 16 types antigeniquement differents (les serums agglutinants sont actuellement commercialises).

*p aeruginosa* peut posseder a antigene de surface (souches muqueuses) qui joue un role dans la virulence.

f. lysotypie : elle est employée pour classer les différentes variétés de *P. aeruginosa* (laboratoire spécialisé)

g. pouvoir pathogène expérimental : en général il n'est pas recherché, on peut injecter de fortes doses par voie intraveineuse au lapin ou au cobaye : si ces animaux ne meurent pas rapidement, ils présentent des abcès viscéraux.

h. propriétés antibiotiques: *P. aeruginosa* élabore diverses substances bactériostatiques dont certaines sont identifiables à la pyocyanine diverses bactéries sont sensibles à ces substances : *neisseriacceae*, certaines *enterobacteriaceae* certains coques et bacilles gram (+) (*B. anthracis*).

*nota*: - inversement *P. aeruginosa* est résistant à la plupart des antibiotiques connus ; il n'est guère sensible qu'à la carbenicilline, la gentamicine, la colistine et la rifampicine.

## II. identification.

- l'identification du genre ne présente aucune difficulté les problèmes posés par la distinction entre les diverses espèces sont résolus grâce aux caractères.
- la détermination du sérotype et du lysotype est nécessaire en cas d'enquête épidémiologique.

### Conclusion.

- Bacilles mobiles gram (+),
- Oxydase (+) (enterobactéries : oxydase (-)).
- Métabolisme oxydatif (vibrion et *aeromonas* : métabolisme fermentatif).

### 2.3.2.1. *Corynebacterium pseudotuberculosis* (bacille de Preisz-Nocard).

#### A. Habitat. rôle pathogène.

*C. pseudotuberculosis*, bactérie commensale de la peau et des cavités naturelles des animaux, présente dans le sol et le fumier, est l'agent pathogène de la lymphangite ulcéreuse du cheval et de suppurations caseuses de nombreux animaux, notamment le mouton, la chèvre et le bœuf.

#### b. Morphologie.

*C. pseudotuberculosis* est un bacille immobile, non sporule, non capsulé, à extrémité renflée.

dans le pus, on trouve des formes courtes groupées en paquets d'épingles ou en dents de peigne et des formes en coques intra leucocytaires. en cultures jeunes on observe des formes bacillaires, en cultures âgées des formes coccoïdes en amas. cette bactérie est *gram positif*.

#### D. Caractères culturels et biochimiques.

*C. pseudotuberculosis* est aérobie facultatif et se développe dans les milieux usuels entre 25°C et 40°C avec un optimum à 37°C.

- sur gélose nutritive, les colonies arrondies, opaques et acuminées s'agrandissent après 48 heures et s'entourent d'une auréole découpée.

- le bouillon nutritif reste limpide avec presence de grands blancs au fond du tube et d'une voile sec fragile en surface.

*c. pseudotuberculosis* n'est pas proteolytique.

parmi les autres caracteres citons :

- lait tournesol non modifie;
- indole (-), urease, h<sub>2</sub>S (+), dans la moitie des cas,
- une hemolyse qui peut s'observer a condition d'inclure la bacterie dans la gelose au sang (hemolysine liee aux cellules bacteriennes);
- quelques sucres attaques sans gaz : glucose, levulose, maltose...
- vp (-), rm faiblement (+).
- nitrates reduits en nitrites par quelques souches.

d. pouvoir pathogene experimental.

Il est generalement important. on observe, selon les animaux d'experimentation utilises :

- cobaye : une vaginalite aiguë 3 a 6 jours apres injection intraperitoneale ; un abces local lors d'injection sous cutanee.
- lapin: une evolution mortelle avec tubercules miliaires apres injection intraveineuse.

*c. pseudotuberculosis* secrete une exotoxine.

### 2.3.2.2. *Corynebacterium pyogenes*.

#### **F. Habitat. Role pathogene.**

cette bacterie saprophyte du sol et des fumiers, commensale des cavites naturelles des animaux, est egalement pathogene ; il s'agit alors d'un germe pyogene par excellence, qui n'interesse que les animaux.

chez le mouton, le porc, la chevre, elle determine des abces musculaires ou visceraux, des arthrites suppurees ainsi que l'infection ombilicale des jeunes animaux ; elle est responsable d'une mammite de la vache. c'est aussi un agent d'infection secondaire au cours de l'agalaxie contagieuse et de la stomatite pustuleuse contagieuse (mouton), de la peste porcine, de la bronchite vermineuse, etc.

#### **G.Morphologie.**

elle est voisine de celle de *c. pseudotuberculosis* : bacilles immobiles droits ou incurves, assez polymorphes, avec des formes longues ou courtes isolees ou en amas ou en dents de peigne ; gram positif.

#### **H. Caracteres cultureux et biochimiques.**

*c. pseudotuberculosis*, bacille aerobie facultatif, ne se developpe pas sur les milieux usuels et exige des milieux enrichis ; a temperature de 37°C et ph voisin de neutralite, on obtient :

- sur gelose serum ou ascite : de petites colonies rondes plates a bords reguliers, grises, apparaissant apres 48 heures ;
- en bouillon serum ou ascite : un trouble abondant puis un depot :

- en gelose pronfonde-serum : des colonies fines, dans toute la hauteur du milieu.

le pouvoir proteolytique est tres net : la gelatine nutritive ensemencee et etuvee a 37°C pendant 24 heures ne fait plus prise a la temperature du laboratoire ; a 22°C aucune culture n'est observee. sur serum de boeuf coagule apparaissent en 24 a 48 heures des colonies qui s'enfoncent progressivement dans le milieu par suite d'une digestion du serum. tres rapidement le milieu est liquefie.

le lait tournesole est coagule, puis digere. parmi les auteurs caracteres, citons :

- hemolyse sur gelose au sang de cheval ou de lapin.
- h<sub>2</sub>S (-), urease (-), indole (-).
- fermentation sans production de gaz d'une assez grand nombre de glucide : glucose, galactose, levulose, lactose, maltose.
- rm (-), vp (-).
- pas de reduction des nitrates en nitrites.

### I. pourvoir pathogene experimentale.

le lapin est l'animal de choix, l'injection intraveineuse de *c. pyogenes* entraine une pyohemie generalisee, des abcès du rein, des arthrites suppurees et des suppurations musculaires. cobaye, mouton, chevre, porc, veau repondent par la formation d'un abcès u point d'inoculation (voie sous cutanee).

### J. Identification de *c. pyogenes*.

on pensera a *c. pyogenes* devant une bacterie ayant les caracteres morphologiques d'une corynebacterie,

- ne cultivant pas sur milieux usuels,
- nettement proteolytique (digerant serum coagule, lait, gelatine),
- faisant fermenter de nombreux sucres sans gaz.

ces caracteres, joints a l'absence d'une urease et a l'action sur le lait tournesole, permettent facilement la distinction d'avec *c. pseudotuberculosis* qui presente un pouvoir pathogene naturel voisin.

tableau .04. diagnose deferentielle entre *c. pseudotuberculosis* et *c. pyogenes*.

	culture sur gelose	digestion du serum coagule	urease	lait tournesole	lactose
<i>c. pseudotuberculosis</i>	+	-	+	non modifie	-
<i>c. pyogenes</i>	-	+	-	acidifie coagule digere	+

### 2.3.2.3. Corynebacterium equi.

*c. equi* se rencontre dans certaines bronchopneumonies des poulains ; on le retrouve egalement chez le porc dans des abcès ganglionnaires ressemblant aux lesions tuberculeuses et siegeant dans les ganglions de la region du cou.

une particularite de cette bacterie est la presence de forme coccoïdes acido-resistantes en culture. cette propriete ne peut qu'augmenter les chances de confusion avec les lesions

tuberculeuses du porc. cependant, les caracteres culturaux des deux bacteries permettent de faire rapidement la difference.

sur gelose, les colonies de *c. equi* sont rosees, puis jaune rougeatre, souvent d'apparence muqueuse ; sur pomme de terre, la culture est abondante, rouge brunatre ou rosee. c'est une bacterie capsulee, aerobie strict. parmi les caracteres biochimiques citons :

- absence de pouvoir proteolytique,
- absence de pouvoir glucidolytique.

les animaux de laboratoire sont en general refractaires; on peut reproduire la maladie chez poulain.

*nota* :- il existe d'autres corynebacteries pyogenes plus rares. se reporter au tableau ci apres.

**Tableau 05. Orientation pour le diagnostic des corynebacteries animales.**

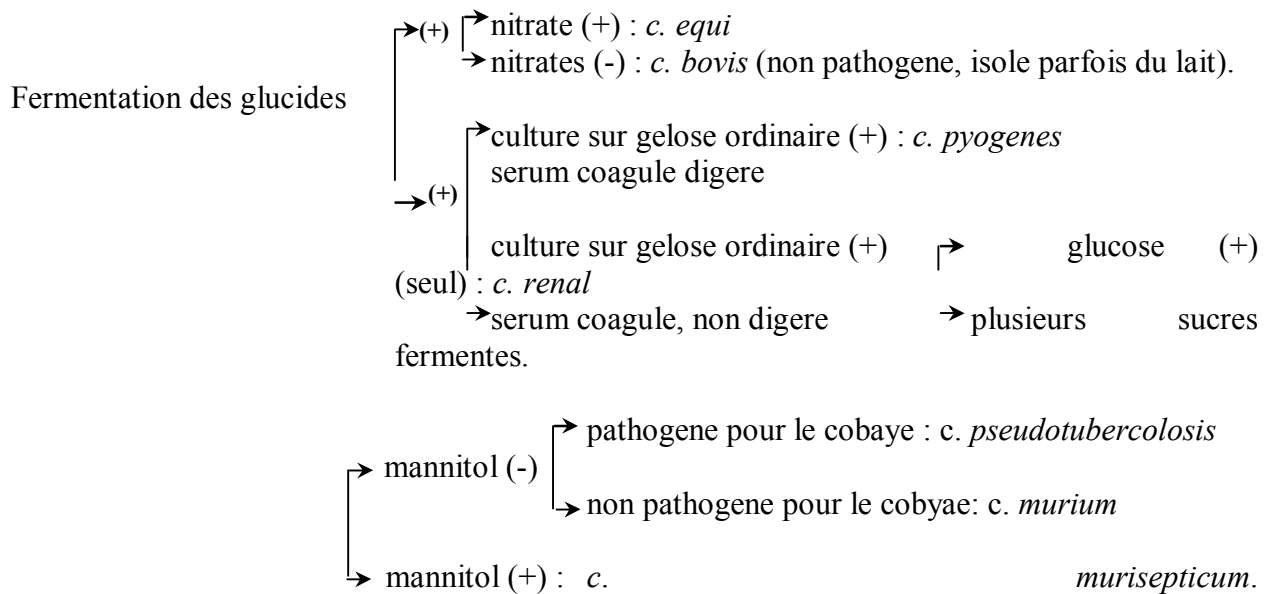


Tableau 06. ESPECES DU GENRE CORYNEBACTERIUM CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL.

especes	hemolys e	fermentation du saccharose	reduction des nitrates	gelatinas es	urease	autres caracteres	pouvoir pathogene
<i>c. diphtheriae</i>	+	-	+	-	-	toxine proteique	pathogene (homme) : diphterie
<i>c. pseudotuber culosis</i>	+	d	d	d	d	toxine proteique	pathogene (animal)
<i>c. xerosis</i>	-	+	+	-	-		saprophyte commensal
<i>c. renale</i>	-	-	-	+	+	lait tournesole alcalinise	ppe = infections urinaires chez l'animal de laboratoire
<i>c. kutschери</i>	-	-	-	+	+		rat et souris.
<i>c. pseudodip htheriticum</i>	-	+	+	+	+	coccobacilles gram (+) frtt. afermentaires	commensal saprophyte
<i>c. equi</i>	-	+	+	-	-	coccobacilles capsules. colonies roses. afermentaires	pathogene (animal)
<i>c. bovis</i>	-	-	-	+	+	lipase. culture en milieu hypersale avec acides gras a longues chaines	non pathogene (animal)

C. PILET, J-L. BOURDON, B. TOMA, N. MARCHAL, C. BALBASTRE (1979).



# CHAPITRE III

ANTIBIOGRAMME.

### III.1. historique

la chimiothérapie, c'est-à-dire l'utilisation d'agents chimiques en thérapeutique, prit son véritable essor en 1909 lorsque Ehrlich formula le principe de base suivant : pour être utilisable par voie générale dans le traitement des maladies infectieuses, une substance doit être nuisible pour le microorganisme parasite mais inoffensive pour les cellules hôtes. Elle doit être douée de « toxicité sélective ». Les antibiotiques et les sulfamides ont cette qualité. Les antiseptiques, en dépit de leur haute activité, ne peuvent être administrés par voie générale car ils sont toxiques.

L'étude systématique des composés organiques de synthèse conduisit Ehrlich à la découverte des arsphenamines. Dérivés arsenicaux actifs dans le traitement de la syphilis ; leur chef de file était le salvarsan. C'était la première grande victoire de la chimiothérapie.

Une deuxième étape fut franchie en 1935 lorsque Domagk, en Allemagne, démontra qu'un colorant diazoïque la parasulfamido-chrysoïdine (Prontosil®). est capable de guérir les infections streptococciques expérimentales de la souris. Les travaux de l'Institut Pasteur démontrèrent que la partie active est le sulfamide ; en quelques années, plus de 5 000 sulfamides différents furent synthétisés.

La troisième étape fut celle des antibiotiques. La connaissance du pouvoir bactériostatique de certains microorganismes vis-à-vis d'autres microorganismes avait déjà été signalée par Pasteur et Joubert à propos du bacille charbonneux et de sa disparition dans les urines. Cependant, l'ère véritable des antibiotiques commença en 1929 lorsque Fleming fit cette observation apparemment anodine : sur une boîte de Petri ensemencée avec des staphylocoques, la présence de quelques colonies d'une moisissure du genre *penicillium*. un contaminant, provoque une inhibition de la croissance des bactéries mises en culture. Il en déduisit que ce champignon sécrétait une substance bactériostatique. susceptible d'être utilisée en thérapeutique. Il cultiva en masse le *penicillium* et montra que ses extraits étaient bactéricides sans être toxiques pour les cellules animales. Il proposa d'appeler pénicilline le principe actif de ces filtrats.

La découverte de Fleming serait probablement tombée dans l'oubli si, en 1939, deux chercheurs britanniques, Florey et Chain, n'avaient entrepris d'extraire et de purifier la pénicilline sur une grande échelle en vue d'essais thérapeutiques. Les résultats sont spectaculaires. On parle de drogue miracle. La seconde guerre mondiale stimule les méthodes de développement du champignon et de production industrielle de son principe actif et confirme la haute valeur thérapeutique de la pénicilline. Aux États-Unis, d'énormes moyens financiers sont alors mis à la disposition de programmes systématiques de recherche destinés à l'isolement d'autres antibiotiques.

À partir de 1939, des centaines d'antibiotiques sont isolés, sélectionnés, soumis aux essais thérapeutiques. C'est l'âge d'or des antibiotiques qui s'étend pendant une vingtaine d'années jusqu'en 1959.

C'est pendant cette période que les principaux antibiotiques encore utilisés de nos jours ont été découverts : pénicillines, streptomycines, tétracyclines.

Chloramphénicol, etc. C'est une véritable révolution en thérapeutique puisque, tour à tour, les maladies infectieuses les plus dangereuses sont maîtrisées, vaincues par les antibiotiques. Depuis 1965. Une nouvelle période semble prolonger cette époque glorieuse. Elle est caractérisée par les antibiotiques semi-synthétiques, en particulier les  $\beta$ -lactamines.

### III.2. CLASSIFICATION

La distinction classique entre antibiotiques (élaborés par des microorganismes) et sulfamides (produits de synthèse), n'a plus qu'un intérêt historique, de nombreux antibiotiques faisant actuellement l'objet d'une synthèse. Les antibiotiques, dont il sera question, engloberont donc ces deux catégories d'agents chimio thérapeutiques.

Le nombre et l'importance des antibiotiques sont tels que de nombreuses tentatives de classification ont été proposées. Parmi les 2 500 antibiotiques actuellement décrits, environ 70 % sont synthétisés par les microorganismes et près de 60 % par les actinomycètes.

Certains se sont fondés sur le spectre d'activité : antibiotiques à large spectre, antibiotiques à spectre étroit, antibiotiques antimycosiques, anti-tumoraux. Antiviraux, anliprotosoaire...Etc. Il est également possible de classer les antibiotiques suivant leur origine. On se heurte malheureusement à un inconvénient majeur car près de 60 % des antibiotiques sont élaborés par les actinomycètes. Un groupe gigantesque de bactéries, assez mal connu et mal défini. Les essais de taxonomie numérique ont révélé qu'il n'y avait aucune corrélation entre les «phénons» ou les groupements de souches et la production d'antibiotiques.

En général, c'est la classification chimique qui est le plus souvent en usage. Elle part du principe que les antibiotiques sont composés d'unités chimiquement définies et que le nombre de ces unités est toujours faible. Le tableau V-3 reproduit ainsi les principales familles d'antibiotiques actuellement connus.

On peut enfin grouper les antibiotiques en fonction de leur site d'action (paroi, membrane, acides nucléiques, protéines, etc.). Pour des raisons de simplicité nous adopterons cette dernière classification

### III.3. MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

Pour employer un antibiotique en pathologie humaine, il est nécessaire au préalable de tester son activité *in vitro* sur une liste exhaustive d'espèces microbiennes. Il faut aussi connaître ses propriétés pharmacologiques (voies de pénétration, diffusion, élimination, etc.) et ses effets toxiques secondaires sur les cellules, les tissus, les organes grâce à des expérimentations *in vivo*. Pour comprendre et interpréter l'activité antimicrobienne, des expérimentations au niveau moléculaire et cellulaire sont nécessaires

tableau07.les antibiotiques et leur spectre d'activite

Famille	Antibiotique	Origine	Découvert	Spectre d'activité Cocci Gram Bacilles Gram	
β-lactamines Pénicillines G M A Pénicillines antitypocyaniques Céphalosporines 1 <sup>e</sup> génération 2 <sup>e</sup> génération 3 <sup>e</sup> génération 4 <sup>e</sup> génération Céphamycines Oxa-1 céphamycine	Pénicilline G Méthicilline Oxacilline Ampicilline Carbénicilline Mezlocilline Azlocilline Piperacilline Céphalosporine Céfalogrodine Céfamandole Céfuroxime Cefotaxime Cefsulodine Céphamycine Céfoxiline Céfoxitine Lamoxactam	<i>Penicillium notatum</i> et <i>chrysogenum</i> Synthèse Synthèse Synthèse Synthèse Synthèse Synthèse <i>Cephalosporium</i> <i>acremonium</i> Synthèse Synthèse Synthèse Synthèse Synthèse Synthèse <i>Streptomyces lactamadurar</i> Synthèse Synthèse Synthèse	1929 1945 1962 1971 1980		
	Oligosaccharides	Streptomycine Néomycine Framycétine Paromomycine Kanamycine Gentamicine Tobramycine Sisomicine Dibékacine Amikacine Nétilmicine	<i>Streptomyces griseus</i> <i>Streptomyces fradiae</i> <i>Streptomyces laventiuulae</i> <i>Streptomyces rhimosus</i> <i>Streptomyces kanamyceticus</i> <i>Micromonospora monospores</i> <i>Streptomyces tenebrarius</i> <i>Micromonospora inyoensis</i> (Synthèse)	1944 1949 1947 1959 1958 1967	
	Tetracyclines	Tetracycline Chlortetracycline Oxytetracycline Déméthylchlor-tétracycline Doxycycline Minocycline	<i>Streptomyces texasi</i> <i>Streptomyces aureofaciens</i> <i>Streptomyces rimosus</i> <i>Streptomyces aureofaciens</i>	1953 1946 1950	
	Phénicols	Chloramphenicol Thiamphénicol	<i>Streptomyces venezuelae</i> (Synthèse)	1947	
	Macrolides	Erythromycine Spiramycine Oléandomycine Kitasamycine Josamycine Lincomycine	<i>Streptomyces erythreus</i> <i>Streptomyces ambofaciens</i> <i>Streptomyces antibioticus</i> <i>Streptomyces kitasatoensis</i> <i>Streptomyces narbonensis</i> <i>Streptomyces lincolnensis</i>	1952 1954 1954 1953	
	Synergistines	Virgymicine Pristinamycine	<i>Streptomyces virginiae</i> <i>Streptomyces pristinae spiralis</i>	1962	
	Rifamycines	Rifamycine SV Rifampicine	<i>Streptomyces mediterraneae</i> <i>Streptomyces mediterraneae</i>	1948	
	Polypeptides basiques	Polymyxines Bacitracine Thyrothricine	<i>Bacillus polymyxa</i> B <i>acillus licheniformis</i> <i>Bacillus brevis</i>	1947 1945 1939	
	Antibiotiques "isolés"	Fucidanine Novobiocine Va ncomycine Fosfomycine Nitro- imidazols	<i>Fusidium coccineum</i> <i>Streptomyces spheroides</i> <i>Streptomyces orientalis</i> <i>Streptomyces fradiae</i> (Synthèse)	1955	Anaérobies

III.3.1. méthodes d'approche

l'étude des alterations cellulaires au microscope optique et surtout au microscope électronique permet de connaître la zone d'impact de l'antibiotique sur les microorganismes, par exemple la paroi dans le cas de bactéries soumises à l'action de la pénicilline. Pour préciser au niveau moléculaire le site d'action, la recherche et le dosage de métabolites ou de précurseurs de la structure-cible sont très utiles ; l'action de la pénicilline sur la paroi a été ainsi mise en évidence par l'accumulation de précurseurs de paroi. Les méthodes de marquage radioactif sont maintenant les plus efficaces. On peut en effet marquer de façon spécifique :

- ❖ l'adn en utilisant de la thymidine marquée au  $^{14}\text{C}$  ou au  $^3\text{H}$ ;
- ❖ l'arn avec l'uracile marqué;
- ❖ la paroi en présence d'acide diaminopimelique marqué lorsque la paroi en contient
- ❖ les protéines avec un acide aminé marqué comme la phénylalanine qui ne se trouve pas dans la paroi

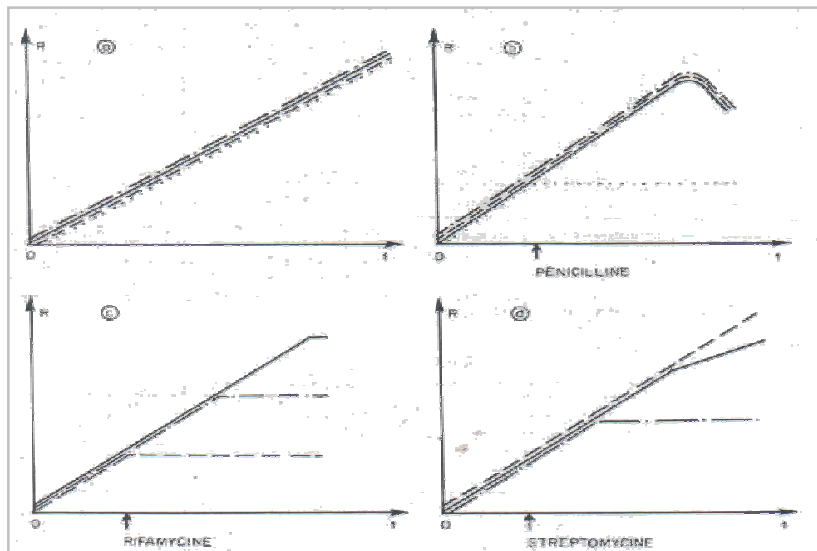


Figure 13: courbes d'incorporation de marqueurs radioactifs lors d'une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance. Radioactivité  $r$  en fonction du temps  $t$ .

..... Dap' (marqueur de la paroi).

----- : thymidine' (marqueur de l'adn).

..... : uracile' (marqueur de l'arn).

— — : phénylalanine - (marqueur des protéines).

a : culture normale après addition des marqueurs au temps 0;

b: évolution d'une culture après l'addition de pénicilline au milieu : arrêt immédiat de l'incorporation du dap (signe du blocage de la synthèse de la paroi);

c: évolution de la culture lors de l'addition de rifampicine : arrêt immédiat de l'incorporation de l'uracile (blocage des arn);

d: evolution de la culture apres addition de streptomycine : arret de l'incorporation de phenylalanine apres une periode de latence.

en suivant l'incorporation de ces differents marqueurs pendant la croissance exponentielle de la bacterie, on obtient des courbes representatives de la synthese du pool d'adn. d'arn du pool proteique de la paroi. ces courbes subissent des variations notables a la suite de l'addition de l'antibiotique dans le milieu de culture.

quelques exemples permettront d'illustrer ces donnees. l'addition de penicilline (fig. v-8 h) au cours de la croissance d'une bacterie sensible (streptocoques, staphylocoques, etc.) bloque immediatement la synthese de la paroi puis, beaucoup plus tard, les syntheses d'arn d'adn et de proteines : en effet des l'ajout de penicilline, la radioactivite de la paroi resultant de l'incorporation de dap marque cesse d'augmenter. le site d'action primaire de la penicilline se situe donc au niveau de la paroi.

dans le cas de la rifamycine l'effet primaire s'exerce au niveau de la synthese de l'arn ; le blocage est suivi plus tard de l'arret de la synthese des proteines (par absence d'arn messenger) puis de l'adn (par manque d'adn polymerase).

l'effet primaire de la streptomycine (fig. v-8d) se situe au niveau de la synthese proteique. il ne se manifeste qu'apres une periode de latence necessitee par le mode de penetration de cet antibiotique a travers les enveloppes (permeases). ulterieurement, c'est "la synthese de l'adn qui est affectee.

d'autres analyses (cytochimiques, autora-diagraphiques electro phoretiques) peuvent etre mises en jeu. l'action des antibiotiques est dans tous les cas hautement specifique. elle s'exerce le plus souvent au niveau enzymatique aboutissant au blocage d'une chaine metabolique et conduisant a un arret de croissance, voire a la lyse cellulaire.

### III.3.2. Mecanismes d'action des principaux antibiotiques

La connaissance du mode d'action des agents antimicrobiens du type antibiotique ou sulfamide se revele extremement utile car elle ouvre la voie a la decouverte d'autres molecules et donc, a de nouveaux succes.

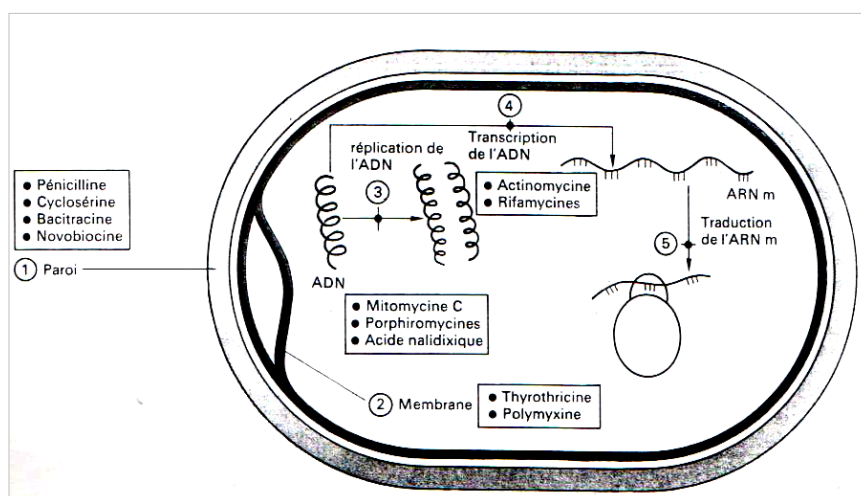


Figure14: Mode D'action Des Antibiotiques Sur Les Bacteries

III.3.2.1. action sur la synthese de la paroi

ce sont essentiellement les  $\beta$ -lactamines (penicillines et cephalosporines) qui inhibent la synthese de la paroi. la famille est caracterisee par le noyau  $\beta$ -lactame. associe a un noyau thiazolidine. il forme l'acide 6-amino-penicillanique, structure de base des penicillines. relie a un noyau dihydrothiazine il donne naissance a l'acide 7-aminocephalo sporanique qui est a l'origine des cephalosporines.

les penicillines se distinguent les unes des autres par la nature du radical lie au noyau, par leurs proprietes physiques (solubilite...) et par leur spectre d'activite. ce sont les moins toxiques de tous les antibiotiques. seuls les accidents allergiques sont notables. toutes les penicillines ou leurs produits de degradation peuvent, en effet, se comporter comme des haptenes et former avec les proteines cutanees ou seriques des antigenes complets responsables de phenomenes de sensibilisation. l'accident le plus grave est le choc anaphylactique, rapidement mortel par collapsus cardiovasculaire. il existe quatre generations semi-synthetiques de cephalosporines .

- PREMIERE GENERATION (APPARUE EN 1962): DIFFERENTES PAR LES CHAINES LATERALES, ELLES SONT ASSEZ RESISTANTES AUX  $\beta$  LACTAMASES, MAIS SENSIBLES AUX CEPHALOSPORINASES;

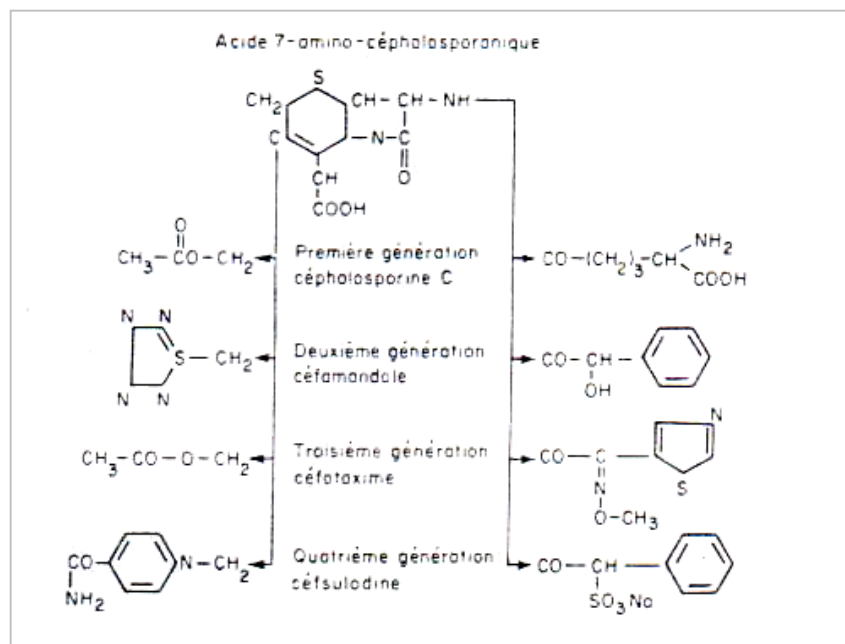


FIGURE.15. FAMILLE DES CEPHALOSPORINES.

III.3.2.2. action sur la membrane cytoplasmique

les antibiotiques de nature polypeptidique comme la tyrothricine, la poly myxine et les antibiotiques voisins agissent sur la membrane cytoplasmique a la maniere des agents tensioactifs. l'integrite de la structure de la membrane n'est plus maintenue. les cellules, dont la plupart des constituants s'echappent, degenerent puis meurent, atteintes dans leurs fonctions vitales essentielles.



le phénomène se reproduit indifféremment sur les cellules en voie de croissance ou non proliférantes. il se manifeste également sur les protoplastes en solution hypertonique. ce qui démontre une action spécifique au niveau de la membrane.

#### iii.3.2.3. action sur la synthèse de protéine

un certain nombre d'antibiotiques agissent sur la synthèse des protéines au niveau des ribosomes en empêchant la lecture du code ou en la faussant. parmi ceux qui inhibent la formation des protéines, certains, comme les macrolides (érythromycine, oléandomycine, etc.), les synergistines, la lincomycine, les tétracyclines se fixent sur la fraction 50 s des ribosomes et empêcheraient la pénétration ou la fixation du complexe acide aminé-arn (lincomycine, tétracycline) ou le passage de ce complexe au niveau de deux sites voisins, c'est-à-dire la translocation (macrolides, fucidine). d'autres, comme le chloramphénicol interviendraient plus tardivement en inhibant le processus de transpeptidation. c'est-à-dire la formation des liaisons peptidiques entre les acides aminés. il s'agit pas au niveau des ribosomes 80 s des cellules eucaryotes. il entraîne aussi des perturbations dans la régulation de la synthèse des arn (avec divers ions métalliques par chélation. bloquent de nombreuses réactions biochimiques (glycolyse, phosphorylation, etc.). d'autres antibiotiques tels que la streptomycine et les aminosides apparentés se fixent au niveau du ribosome 30 s. ils occasionnent des erreurs "de lecture du code génétique et provoquent l'incorporation d'acides aminés ne correspondant pas à l'information des codons de l'arnm. les protéines formées dites non sens sont génétiquement létales. avec la streptomycine, on a observé des bactéries que l'on pourrait qualifier de toxico-manes car elles ne peuvent se développer qu'en présence de cet antibiotique même si le milieu de culture contient tous les facteurs indispensables à sa croissance. cette dépendance correspond en fait à une mutation au niveau du locus chromosomique codant pour le ribosome (partie 30 s), mutation dont les effets sont corrigés par la présence de la streptomycine.

les streptocoques et les pneumocoques sont résistants aux aminosides à basses concentrations. ce phénomène est dû à l'incapacité de ces antibiotiques à pénétrer la paroi cellulaire, ce qui les empêche d'atteindre leur cible (fractions 30 s des ribosomes) et d'exercer leur pouvoir bactéricide. actifs également sur la membrane cellulaire, les aminosides sont doués d'une activité bactéricide. les antibiotiques agissant seulement par inhibition de la synthèse des protéines ou des acides nucléiques sont bactériostatiques.

#### iii.3.2.4. action sur les acides nucléiques

adn. la mitomycine c et les porfiromycines en formant des ponts entre les deux chaînes de l'hélice d'adn, empêchent leur migration au moment de la division cellulaire. la répllication de l'adn par l'adn poly-mérase qui nécessite une séparation totale des deux chaînes devient impossible. ces substances inhibent donc la synthèse de l'adn, bloquent la division et provoquent l'accumulation dans la bactérie d'une grande quantité de desoxy-ribonucléosides libres et de thymine. ces composés sont doués de propriétés antitumorales.

les quinolones paraissent agir d'une façon similaire. leur cible moléculaire exacte a été récemment identifiée comme étant l'adn gyrase enzyme impliquée dans la formation de l'hélice d'adn. l'acide nalidixique est  
-réussi un inhibiteur d'une étape de la synthèse de l'adn. son effet sélectif sur les bactéries gram négatif est mis à profit dans les milieux de culture d'isolement.-

arn. l'actinomycine représente le chef de file de ce type d'agents. elle ne bloque pas l'activité de l'adn polymérase qui réplique l'aon. mais celle de l'arn polymérase qui copie l'une des chaînes de l'adn en l'utilisant comme matrice pour la synthèse de l'arn messager. la présence d'actinomycine empêche la progression de l'arn polymérase le long de cette matrice. la novobiocine a un mode d'action plus complexe : elle inhibe la synthèse de l'adn puis, de façon moins bête, celle des arn.

### iii.3.2.5. action par inhibition compétitive :

L'inhibition compétitive est le mode d'action antibactérien de certaines substances appelées antimétabolites ou analogues structuraux parce qu'elles interfèrent avec les métabolites normaux de la cellule. on peut distinguer trois types principaux d'antimétabolites :

- les analogues de vitamines, comme les sulfamides, l'aminoptérine et beaucoup d'autres moins connus, qui sont des inhibiteurs enzymatiques: cocarboxylase. nad. fmn. fad. pyridoxal phosphate, etc.:
- les analogues d'acides aminés et principalement ceux qui s'incorporent dans les protéines à la place de l'acide aminé normal : parafluoropropionylalanine au lieu de l'alanine. i. 2.3 triazole-3 alanine au lieu de l'histidine. etc.:
- les analogues de bases puriques et pyrimidiques comme la 5-bromo-uracile 8-azaguanine et la 5-fluoro-uracile respectivement inhibiteurs de la thymine, de la guanine et de l'uracile. l'incorporation de ces antimétabolites dans les arn ou les adn conduit à des modifications génétiques qui seront étudiées au cours des mutations.

la plupart des antimétabolites ont une valeur antibiotique médiocre ou nulle. seuls les sulfamides l'ont exception à cette règle. ce sont des analogues de structure du pab. l'acide p-aminobenzoïque fait partie de la molécule d'acide folique une vitamine qui intervient dans la synthèse des bases puriques et pyrimidiques. En présence de sulfamides, les bactéries s'appauvrissent rapidement en acide folique et cessent de produire des bases azotées ou des acides aminés tels que la méthionine et la sérine : c'est en effet le sulfamide qui est incorporé dans la cellule à la place du pab qui inhibe la synthèse de l'acide folique et le sulfamide arrête la croissance des bactéries sans les détruire : son action est bactériostatique ; elle s'annule en présence d'un excès d'acide p-aminobenzoïque. L'irrimétho-prime inhibant la dihydrofolate reductase a une action synergique avec les sulfamides. L'association de ces deux composants bactériostatiques est bactéricide.

### iii.3.3. Mesure de l'activité des antibiotiques

Cette recherche peut avoir plusieurs buts. Tout d'abord, pour sélectionner les antibiotiques les plus actifs, il est indispensable de mesurer cette activité. ensuite, au cours du traitement des maladies infectieuses, il est capital de connaître l'antibiotique le plus efficace, de déterminer les concentrations humorales atteintes après administration de l'antibiotique pour définir le taux thérapeutique c'est-à-dire la concentration nécessaire et suffisante pour éliminer un agent infectieux d'un organisme malade.

pour bien comprendre cette étude, nous allons réaliser une expérience (fig17): dans une série de tubes contenant un milieu liquide, nous inoculons le même nombre de micro-organismes soit  $10^5$  et des concentrations croissantes d'un antibiotique. puis,

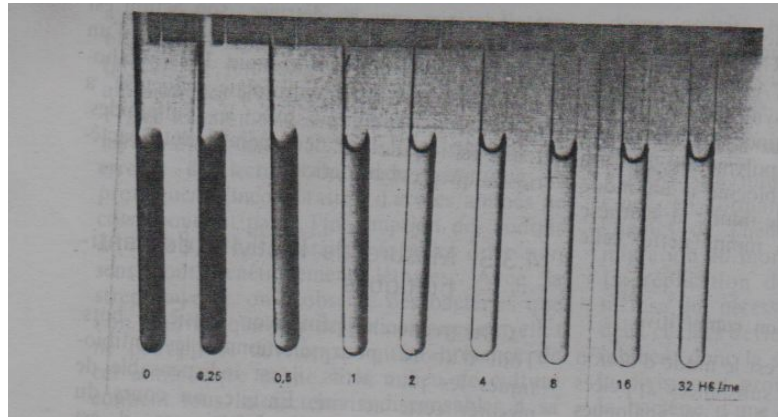


FIGURE 16 : ETUDE DE LA CROISSANCE BACTERIENNE EN PRESENCE DE CONCENTRATION CROISSANTE DE BACTERIE

Nous suivons l'évolution des cultures. Nous pouvons tracer la courbe de croissance de chacune des cultures. Nous n'en représentons que quelques-unes, les plus marquantes. Dans le tube témoin, la croissance évolue normalement, puisque se succèdent les phases habituelles de latence, de croissance exponentielle, puis la phase maximale stationnaire. Pour de faibles teneurs d'antibiotique, qu'on appelle sub-inhibitrices. La courbe de croissance ne subit pas de modifications notables. Avec des taux plus élevés, on observe deux types d'activités: l'une est dite bactériostatique lorsque le nombre de germes apparus est supérieur à celui d'inoculum. Mais inférieur à celui du tube témoin; l'autre est dite bactéricide lorsque ce nombre devient inférieur à celui de l'inoculum (c'est bien ce qui est mis en évidence dans la figure:17. La concentration de  $1 \mu\text{g}$  d'antibiotique est bactériostatique: le phénomène le plus apparent est un ralentissement considérable de la phase de croissance exponentielle. Celle  $1 >$   $\mu\text{g}$  est bactérienne le nombre initial d.- bactéries.....). Diminue en fonction du temps suivant une droite dont la pente indique la plus ou moins grande vitesse de destruction

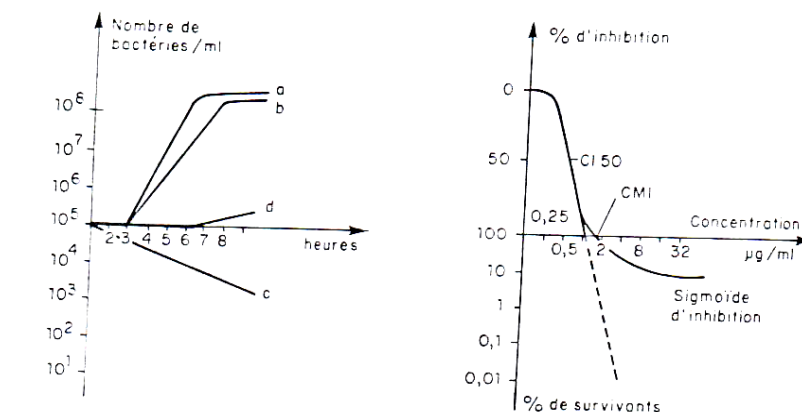


FIGURE17 : ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

repreons notre serie de tubes pour etudier le phenomene non plus, cette fois, en fonction du temps, mais en fonction des concentrations de l'antibiotique. apres un temps fixe de culture, 6 ou 8 heures par exemple, nous mesurons dans chaque tube le nombre de micro organismes. l'action de l'antibiotique peut s'interpreter selon la courbe en s, que l'on sigmoïde d'inhibition. flic permet de definir deux points : l. i concentrations minimale inhibition ou c'mi ci la concentration inhibitrice 50 % ou ci 50. La cmi est celle du premier tube de la serie dans lequel a un trouble n'apparaît dans l'exemple de la figure17. Elle est de 2 µg ml. La determination de ce point est facile mais imprecise car. En realite, la cmi peut etre situee entre 2 et 1 µg ml puisque la lecture est discontinue. La ci50 c'est-a-dire le taux d'antibiotique qui permet une croissance de 50 % de celle du temoin, represente une valeur plus exacte. En pratique, cependant, on recherche simplement la cmi.

dans la zone de bactericide. le nombre de survivants diminue plus ou moins fortement selon la nature de l'antibiotique teste. la concentration minimale bactericide ou cmb est la plus petite concentration aboutissant a une destruction notable de l'inoculum bacterien (en pratique 0.01 % de survivants). elle peut etre comparee avec interet a la cmi afin de mieux connaitre l'effet antibacterien de cet antibiotique. ces deux valeurs. cmi et cmb sont proches pour les antibiotiques dits bactericides, et eloignees pour les antibiotiques bacteriostatiques.

### III.3.3.1. principes generaux

toutes les methodes ont pour but de definir in vitro l'antibiotique le plus actif sur un germe, donc celui qui a le plus de chances de guerir le malade infecte par ce germe. elle doit tenir compte d'un certain nombre de facteurs susceptibles de modifier l'activite antimicrobienne. ces facteurs sont propres a l'antibiotique, a ses proprietes, au milieu et a la bacterie.

- l'antibiotique. il doit etre stable et conserver son activite au cours du test. a la temperature de 37 °c. habituellement la plus favorable a la croissance microbienne, certains antibiotiques la perdent : ainsi, en 24 heures a ph 7.0. la chlorotetracycline est detruite a 80%. le pouvoir de diffusion de l'antibiotique joue aussi un. role capital au cours de la mesure en milieu solide (la poly myxine diffuse mal en milieu gelose).
- le milieu. il doit avoir une composition rigoureusement definie permettant une reproduction fidele des resultats. les milieux contenant du sang ou du serum stimulent assez fortement la croissance bacterienne. saul necessite, ils ne sont pas les plus indiques, car ils peuvent inhiber l'activite antibiotique. le glucose augmente celle de la penicilline et diminue celle de la streptomycine. le ph est sans doute un des facteurs les plus influents. le pouvoir optimal de chaque antibiotique est conditionne par un ph optimal : la penicilline est la plus active en milieu acide, a ph 6.6 ; la streptomycine l'est davantage en milieu alcalin puisqu'elle est 100 fois plus active a ph 7,4 qu'a ph 6.0. au cours des mesures, on choisit le ph neutre.



**FIGURE18 :** Effet du ph sur le pouvoir bacterien

le nombre de bacteries mises au contact de l'antibiotique devrait toujours etre le meme. en milieu solide les zones d'inhibition observees autour des sources d'antibiotique sont inversement proportionnelles a l'abondance de l'inoculum. l'activite metabolique de la bacterie entre egalement en ligne de compte. en general, les micro-organismes a croissance rapide sont les plus sensibles a l'action antibiotique. il est preferable, en outre, que les mesures soient realisees sur des cultures pures et non pas sur des cultures mixtes ou s'exercent des antagonismes microbiens.

on a toujours recourt a des souches pures apres isolement car la mesure de l'activite antimicrobienne d'un antibiotique sur un melange de germes, bien qu'etant pratiquement realisable, ne presente aucun interet. les resultats seront difficilement interpretables: d'une part les proportions du melange ne sont le plus souvent pas les memes sur le milieu de culture e; dans l'organisme, d'autre part des phenomenes de resistance ou d'antagonisme peuvent se reveler differemment in vitro ou in vivo.

### iii.3.3.2. methodes par dilution

de realisation simple, la dilution consiste, si elle se fait en milieu liquide, a distribuer des concentrations croissantes de l'antibiotique choisi dans une serie de tubes contenant un mille- de milieu convenable et une quantite uniforme du microorganisme a tester. apres incubation \_ la temperature optimale de croissance, on observe la galerie de tubes: le premier, ou la croissance est totalement inhibee, contient la plus faible concentration active d'antibiotique. c'est la concentration minimale inhibitrice (cmi). cette methode est certaine: sensible, mais elle necessite la preparation d'une gamme de tubes pour chacun des antibiotiques.

le principe de l'antibiogramme par dilution en milieu est identique. les solutions d'antibiotiques sont introduites dans un milieu gel. maintenu a 45 °c puis coule en boite de petri. apres refroidissement, la souche bacterienne est inoculee en surface en une ou plus stries paralleles. la cmi correspond, comme precedemment, a la plus petite quantite d'antibiotiques capable d'inhiber totalement le developpement de la culture. plusieurs souches bacteriennes peuvent etre testees simultanement

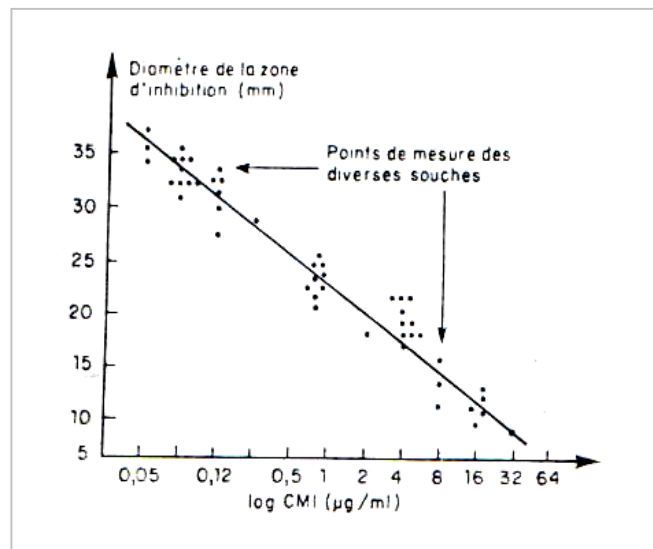
jusqu'à présent d'application difficile au cours des analyses de routine, l'antibiogramme par dilution tend à se généraliser sous formes miniaturisées au lieu de tubes, on utilise des plaques de microtitration creusées de 96-cupules, dans lesquelles sont repartis, à l'aide d'un système automatisé, le milieu, le germe et l'antibiotique. qu'elle se fasse en tube ou en microplaques la technique de dilution en milieu liquide permet d'obtenir facilement la CMI. il suffit pour cela de repiquer en milieu solide tous les tubes ou cupules qui ne montrent pas de culture visible puis de dénombrer les survivants

### III.3.3.3. méthodes par diffusion

lorsqu'une solution d'antibiotique est déposée à la surface d'un milieu gélosé en un point déterminé, l'antibiotique diffuse en déterminant un gradient de concentrations inversement proportionnelles à la distance de la source. une bactérie ensemencée sur cette même surface entrera au contact de concentrations variables de l'antibiotique. pour une concentration supérieure à la CMI sa croissance sera stoppée. l'inhibition se traduira alors par une zone circulaire stérile (si le dépôt est circulaire) dont le diamètre sera fonction de la sensibilité de la souche. il existe une relation linéaire entre le diamètre de la zone d'inhibition et le logarithme de la concentration au niveau de la source.

pour établir la relation entre la CMI et le diamètre de la zone d'inhibition, on réalise des courbes de concordances qui sont établies par des laboratoires spécialisés ou par des organismes de normalisation (autorité nationale, groupe d'étude internationale, OMS, etc.). dans des conditions techniques précises que doit respecter le laboratoire d'analyses qui les utilise. une collection de souches de référence permet un contrôle de qualité des déterminations.

pour un antibiotique donné, la courbe de concordance représente le résultat de la corrélation des méthodes de dilution et de diffusion. des expériences parallèles réalisées avec des souches variées (une centaine environ) et des souches de référence permettent de déterminer pour chacune d'une part la valeur de la CMI (méthode de dilution) et d'autre part le diamètre d'inhibition (méthode de diffusion). les points obtenus sur papier semi-logarithmique (les diamètres sont portés sur les ordonnées arithmétiques et les CMI sur les abscisses logarithmiques) permettent de tracer une droite donnant, pour tout diamètre de zone d'inhibition déterminé expérimentalement, la CMI correspondante.



**FIGURE 19: COURBE DE CONCORDANCE**

les techniques les plus courantes sont celle de chabbert (institut pasteur) et celle de blier et kirby(usa). elles doivent être réalisées dans des conditions strictement standardisées afin d'être reproductibles. en plus des conditions déjà précisées. il convient de veiller tout particulièrement aux facteurs suivants.

a) la nature du milieu de culture: le milieu recommande par l'oms est le milieu de muller hinton qui sera préparé avec soin (en particulier pour le ph) et qui sera coulé en couche de 4 mm d'épaisseur (pour obtenir une diffusion toujours identique):

b) la nature du disque d'antibiotique : on se sert, dans l'immense majorité des cas de disques de papier filtre rigoureusement standardisés et imprégnés d'une quantité calculée d'antibiotique. cette quantité doit être telle que pour un germe test, le diamètre de la zone d'inhibition ne soit pas supérieur à 30 ou 35 mm. il faudra tenir compte de plusieurs facteurs tels que la nature de l'antibiotique, sa vitesse de diffusion, son taux thérapeutique, etc..

c) la nature de l'inoculum : la souche doit être pure et jeune (culture de 18 heures); on utilisera une concentration de germes de l'ordre de  $10^8$  ufc/ml (ul = unité formant colonie).

d) le temps de pré-incubation : il faut laisser à l'antibiotique le temps de diffuser dans la gélose avant de permettre aux germes de se multiplier (en routine, cette opération est le plus souvent omise).

la technique consiste à étaler uniformément sur le milieu un inoculum modéré de bactéries de telle sorte qu'après culture, elles forment des colonies isolées. aussitôt après l'ensemencement, les disques d'antibiotiques choisis sont déposés à équidistance à la surface du milieu. Après incubation durant 16 à 24 heures, un examen attentif des boîtes de petri révèle l'importance de l'inhibition. La mesure du diamètre de la zone d'inhibition peut être convertie en cmi à l'aide de graphiques ou courbes de concordance exprimant la relation entre ces deux valeurs. On compare ensuite la cmi au taux thérapeutique.

Les concentrations en antibiotique qu'il est possible d'obtenir dans l'organisme se définissent par une zone des taux thérapeutiques délimitée par deux valeurs critiques exprimées en  $\mu\text{g/ml}$  :



-la concentration critique inferieure qui correspond au taux sanguin moyen obtenu aux posologies habituelles:

-la concentration critique superieure qui correspond au taux sanguin maximum obtenu par l'administration de fortes doses. Ces valeurs critiques delimitent les categories (sensible, intermediaire, resistant) :

- germe sensible : la cmi de l'antibiotique pour le germe est plus faible que la concentration critique inferieure : la souche pourra etre atteinte par un traitement par voie generale et a dose usuelle:

- germe de sensibilite intermediaire: la cmi etant a l'interieur de la zone des taux therapeutiques, la souche sera atteinte soit par une posologie elevee par voie generale, soit par un traitement local, soit dans un compartiment (sang, liquide intracellulaire, tissu adipeux, etc.) Ou l'antibiotique se trouve physiologiquement concentre;

- germe resistant : la cmi est plus elevee que la concentration critique superieure : la souche ne peut pas etre atteinte quels que soient la dose ou le type de traitement employes : autrement dit une souche est resistente *in vivo* lorsque la concentration d'antibiotiques qu'elle est capable de supporter est notablement plus elevee que la concentration qu'il est possible d'atteindre au niveau du foyer infectieux (oms).

celte resistance de la souche peut etre naturelle ou acquise.

#### **III.3.3.4. antibiogrammes automatise**

des appareils recemment apparus sur le marche permettent une certaine automatisation et une meilleure standardisation de l'antibiogramme : tous utilisent un milieu de croissance liquide ou la densite microbienne obtenue en presence d'antibiotique est mesuree au photometre ci comparee a celle d'une culture temoin. les uns comme l'auto bac (general diagnostic) ci le ms2 (abbott) ameliorent le temps de reponse qui est compris entre 3 et 5 heures: les autres (abac-api system) necessitent un delai normal de 18 heures.

#### **III.3.3.5. etude des associations d'antibiotiques :**

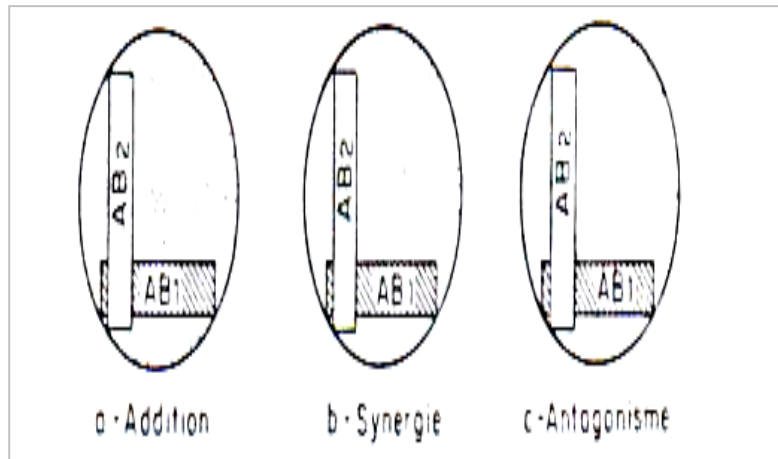
souvent, dans les cas d'infections graves (septicemies, endocardites), on recherche des associations d'antibiotiques bactericides pour eviter l'apparition d'une eventuelle resistance ci detruire totalement te foyer infectieux.

les antibiotiques peuvent etre classes en 2 groupes

l'action d'une association de deux antibiotiques peut etre classe:

- superieure a l'action de chaque antibiotique isole : il y a synergie (gr i 4 gr 1):
- egale a l'action de chaque antibiotique isole: il y a indifference (gr 2 4 gr 2):
- inferieure a l'action de chaque antibiotique isole: il y a antagonisme (gr 1 4 gr2).

pour etudier l'effet d'une association d'antibiotiques, on utilise soit une technique en milieu liquide (on realise une serie de dilutions variables des deux antibiotiques, soit une technique de diffusion sur gelose (plus rapide et plus simple) ; on fait diffuser les deux antibiotiques a partir de deux bandes de papier filtre impregnees cl disposees a angle droit (methode de type chabbert) cl l'on observe directement l'effet de l'association on peut envisager les eventualites suivantes :



**FIGURE 20:** Effet de l'action conjuguee de deux antibiotiques ( $ab_1$  et  $ab_2$ ) sur une souche sensible

- une association de deux antibiotiques bactericides a une chance d'etre synergique;
- une association d'un antibiotique bacteriostatique et d'un antibiotique bactericide risque d'etre antagoniste
- une association de deux antibiotiques bacteriostatiques est le plus souvent indifferente.

en associant les antibiotiques, le clinicien visera l'un des objectifs suivants :

- obtenir une bacteriostase plus rapide ou transformer une action bacteriostatique en action bactericide:
- elargir le spectre d'activite (dans le cas d'infections multiples):
- retarder ou empecher l'apparition d'une resistance:
- supprimer les effets secondaires ou toxiques (par diminution des doses administrees):
- atteindre differents foyers d'infection par l'emploi d'antibiotiques a affinite tissulaire differente.

dans les infections graves (septicemies, endocardites, etc.) on utilisera habituellement des associations synergiques donc plus puissantes et le plus souvent bactericides

un traitement fonde sur une association d'antibiotiques peut toutefois conduire a un echec du a un antagonisme qui n'aurait pas ete detecte ou connu (penicilline + chloramphenicol) ou a une resistance croisee (si deux antibiotiques sont connus pour presenter une resistance croisee, lorsque l'un parait inactif l'autre le sera aussi), ou encore a l'addition de certains effets toxiques. une bonne connaissance des mecanismes d'action permet souvent de prevoir et d'expliquer les antagonismes. ainsi, dans l'antagonisme penicilline-chloramphenicol. on sait que la penicilline inhibe la synthese de la paroi mais n'affecte pas le metabolisme general, ce qui doit conduire a l'eclatement des bacteries, mais que le chloramphenicol en freinant la synthese des proteines, empeche la croissance et donc la lyse des bacteries.

### III.3.3.6. Conclusion :

toutes les techniques qui viennent d'etre decrites concernent l'activite de l'antibiotique in vitro. la transposition des resultats in vivo repose sur le principe selon lequel les reactions des bacteries vis-a-vis de l'antibiotique ne different pas dans les deux cas et que les conditions de leur croissance (ph, pression osmotique. oxygenation, matieres organiques, etc.) sont approximativement semblables.

par ailleurs, l'usage des antibiotiques en therapeutique exige de bien connaitre leurs propriete\* pharmacologiques (penetration, diffusion, elimination) et leurs effets toxiques par des etudes sur l'animal. il faut enfin tenir compte du terrain, c'est-a-dire du malade lui-meme, de sa tolerance et de ses insuffisances (**RENALES, RESPIRATOIRES, CARDIAQUES, ETC.**).

*A.MAYER, J.DEIANA, H.LECLER (1984).*

# PARTIE II.

## ÉTUDE EXPÉRIMENTALE.

# MATÉRIELS ET MÉTHODES

**I.1. Objectif de l'étude :**

Le but de notre étude est de réaliser un diagnostic bactériologiques (staphylococcus aureus, streptococcus pyogenes, corynebacterium pseudotuberculosis, escherichia coli, klebsiella) à partir d'un ensemble de saisies faites sur des lésions suppurées.

**I.2. La durée d'étude :**

Notre étude s'est déroulée sur une période de 06 mois (de septembre-2011 jusqu'à mars -2012), au niveau de l'abattoir de la wilaya de tiaret et les laboratoires d'anatomie pathologie et microbiologie de l'institut de sciences vétérinaires wilaya de tiaret

**I.3. Matériels et méthodes :****I.3.1. Partie anatomie pathologie :****A. Matériel utilisés :**

- des gants (paire de gants)
- lame de bistouri
- porte lame

**b. prélèvements :**

Le présent travail a été réalisé sur 105 cas, dont le prélèvement a été fait sur les localisations suivantes :

<i>Organe</i>	<i>Nombre de cas</i>
<i>Poumons</i>	<i>22</i>
<i>Cœur</i>	<i>01</i>
<i>Foie</i>	<i>18</i>
<i>Gg trachio-bronchique</i>	<i>27</i>
<i>Gg médiastin</i>	<i>42</i>

Notons que l'étude anatomie pathologie se repose principalement sur l'observation macroscopique de toutes modifications morphologiques à l'œil nu.



*abces hepatiques.*



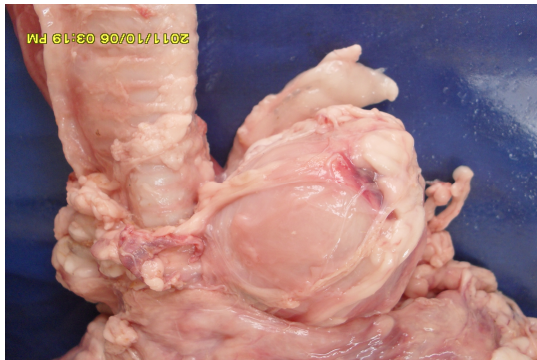
*abces au niveau du gonglions mediastinaux.*



*abces diffus sur les poumons et le foie*



*abces au niveau des gonglions mediastinaux et tracheo-branchiques .*



*abces au niveau du gonglion tracheo-branchique*



*abces au niveau du cœur*

*figure 21. lesions suppurees observees sur les differents organes.*



## **I.3.2. partie microbiologie :**

### ***I.3.2.1. materiel et methodes***

#### ***I.3.2.1.1. materiel utilises***

##### **1- appareillage :**

- *autoclave*
- *etuve (heraeus)*
- *four a micro-onde*
- *microscope optique*
- *refrigerateur*
- *spectrophotometre (pharmacia biotech nova spec)*

##### **2-verrerie :**

- *boite de petri*
- *tube a essai*
- *eprouvette.*

##### **3-autres materiel :**

- *anse de platine*
- *bec bunsen*
- *cuve*
- *gants*
- *pince a bois*
- *porte tube*
- *ecouvillons sterile*
- *seringues*

##### **4-milieus de culture :**

- *milieu de gelose de chapman*
- *milieu de gelose d'hectoene*
- *milieu de gelose nutritive*
- *milieu de gelose au sang*
- *milieu d'b.e.a*
- *milieu de mueller hinton*

##### **5-les solutions :**

- *violet de gentiane*
- *lugol*
- *alcool*
- *la fushine*
- *l'huile de cedre*
- *eau oxygenee*

**6-autres produits- des antibiotiques :**

- 1) amoxyciline
- 2) errythromycine
- 3) tylosine
- 4) oxytetreycline
- 5) ampiciline

- **des galeries apie20**

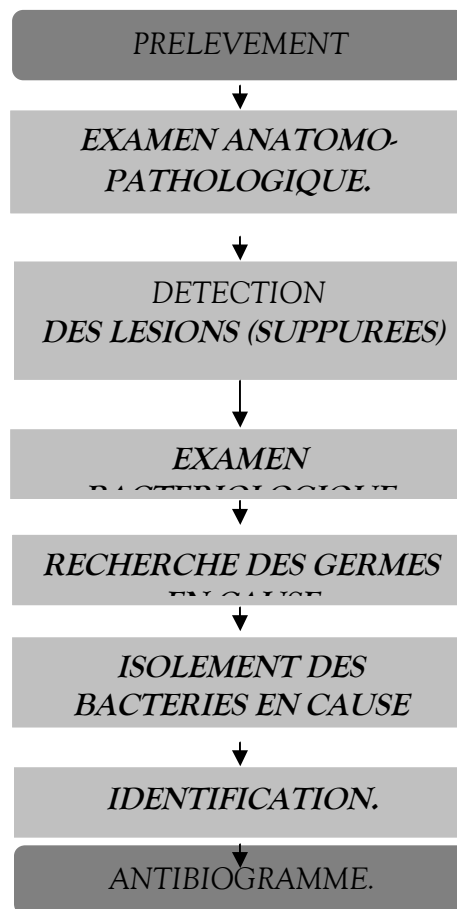
**I.3.2.1.2. methode- analyses bacteriologiques :**

**I.3.2.1.2.1. moment de prelevement :**

*le temps ecoule entre le prelevement et l'analyse bacteriologique ne dépassait pas les 02 heures, toute analyse bacteriologique doit etre realisee dans des conditions d'asepsie rigoureuses.*

**A. principe :**

*l'analyse bacteriologique des lésions suppurees comporte la recherche des germes aerobies a 37°C : staphylocoque, streptocoques, corynebacterium, des enterobacteries pyogenes (e.coli – klebsiella)*



*figure 22. protocole experimental.*

**b. la technique :**

*A l'aide d'une lame de bistouri sterile, realiser une ouverture sur la lesion fermee (abcès) puis on fait desinfecter la surface d'ouverture par le feu.*

*on fait un prelevement par ecouvillon steriles, et puis on ensemence sur les milieux suivants : gelose au sang ; gelose nutritive ; gelose de chapman ; gelose d'hectoene. en fin une incubation 72 h ( $\pm$  2 h) a 37 °c.*



*prelevement*

*incubation (72 heures  $\pm$  2 heure )*

*figure 23. etapes de la manipulation.*

**c. resultats :**

*au bout de 72h remarquons a a l'œil nu des colonies bacteriennes sur les milieux specifiques.*

**i.3.2.1.2.2. recherche des germes en cause**

*a. la recherche des staphylocoques sur milieu de chapman.*



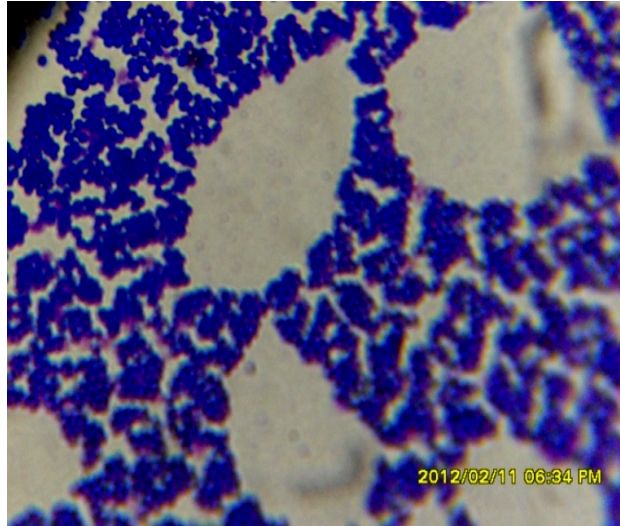
*figure.24. staphylocoques aureus donnent des colonies jaunes (mannitol+)*

**a.1. recherche des caracteres pathogenes :**

- examen microscopique,
- epreuve de catalase,
- examen microscopique.

*l'étude microscopique permet de déterminer la forme, l'arrangement des cellules, en se basant sur des préparations par la coloration de gram.*

*les staphylocoques se present sous forme de cocci gram positif groupees en grappes ou en paires.*



**figure. 25.** examen microscopique staphylocoques aureus (disposition en grappe de raisin)

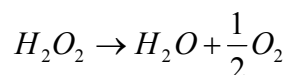
**a.2. mode operatoire :**

**preparation d'un frottis a partir d'une colonie caracteristique preleve du milieu chapman positif**

- sechage sur flamme et fixation,
- coloration au violet de gentiane prend une minute ,
- ajouter le lugol,
- ajouter l'alcool jusqu'au l'eclaircissement de l'ecoulet de la lame,
- rinçage a l'eau distillee,
- coloration a la fuchsine pendant 2 a 3mn ,
- rinçage a l'eau distillee,
- sechage entre papier buvard,
- examen a immersion.

**a.3. epreuve a la catalase :**

*le catalase permet la degradation de l'eau oxygenee, elle est mise en evidence par contact de culture avec la solution d'eau oxygenee a 10 volumes.une goutte d'eau oxygenee est placer sur une lame et un peu de culture en milieu solide y est repartie : un degagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulle traduit la decomposition de l'eau oxygenee sous l'action de la catalase :*

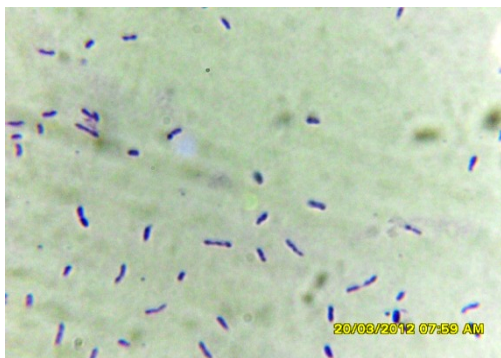


***b. recherche des corynebacterium sur milieu de gelose au sang du mouton frais :***

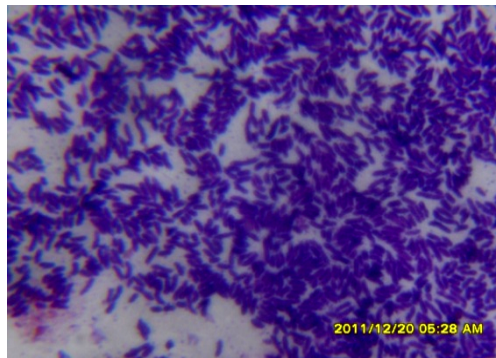


***figure.26 les corynebacterium sont hemolytiques sur la gelose au sang.***

*Pour la recherche des caracteres pathogenes, examen macroscopique des colonies : les colonies sont petites blanches, et entourer d'une zone etroite d'hemolyse apres 48 a 72 heures apres plusieurs jours d'incubation les colonies peuvent atteindre 3 mm de diametre elles sont seches, friable, et de couleur creme. examen microscopique : apres une coloration au gram corynebacterium se present sous forme d'un bacille gram positif, extremite en massue, groupee en paquet d'epingles, en palissades, en lettres chinoises*



***forme***



***disposition.***

***fiureg 27. examen microscopique des corynebacterium***

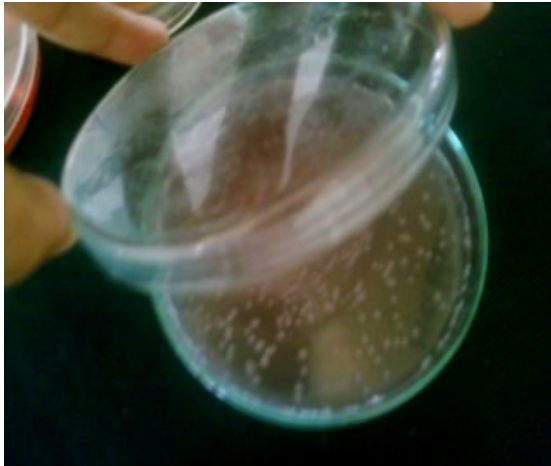
**c. la recherche des enterobacteries (sur milieu de gelose nutritive, et d'hectoene, de macconkey)**

➤ **examen macroscopique des colonies :**

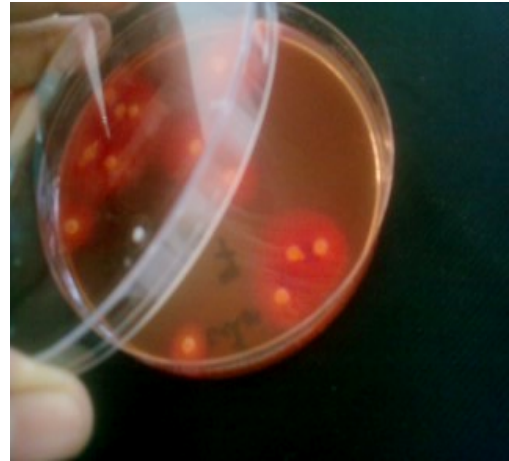
**a)- escherichia coli**

*sur gelose nutritive : colonies arrondies de 02-03 mm de diametre legerement jaunatre et a bord regulier et degage une odeur fetide caracteristique sur le milieu d'hectoene*

*sur milieu de macconkey : des colonies de grande taille de couleur roses (lactose positif).*



*sur hectoene*



*sur macconkey*

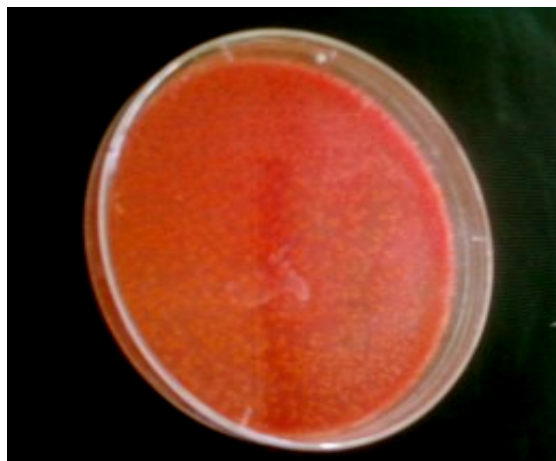
**figure 28. examen macroscopique d'escherichia coli**

**b)- klebsiella :**

*Examen macroscopique des colonies : plus volumineuses, arrondies limitees par un bord regulier, tres bombees, de surface lisse, brillantes, opaques : elles realisent l'aspect en coulee de miel.*



*sur hectoene*

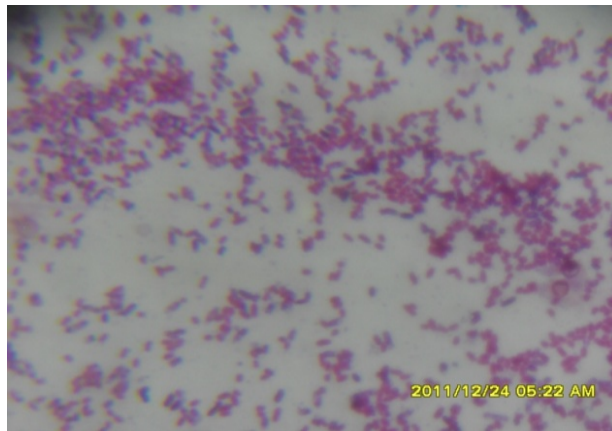


*sur macconkey*

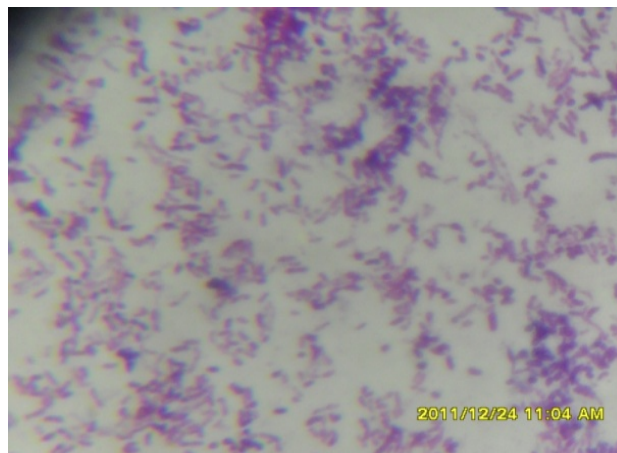
**figure 29. examen macroscopique de klebsiella**



*examen microscopique : les enterobacteries ont une morphologie des bacilles gram negatif, generalement polymorphes on rencontre parfois des elements coccoïdes, mais aussi des tonnes pseudo filamenteuses. une coloration de type bipolaire est frequente.*



*figure 30. examen microscopique d'escherichia coli*



*figure 31. examen microscopique de klebsiella*

➤ **identification biochimiques : par des galleries api e20**



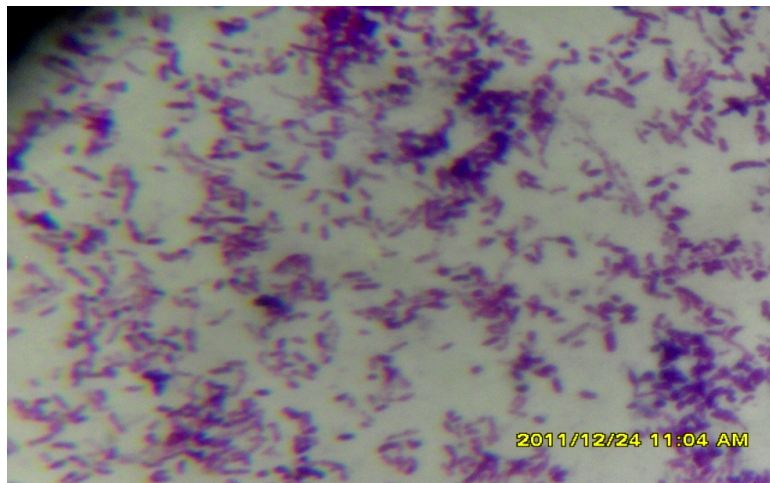
*figure 32. identifications biochimiques (galleries api e20).*

**d. recherche des pseudomonas (sur gelose nutritive) ;**

*examen macroscopique : sur gelose nutritive apparaissent des colonies de quelques millimetres de diametre, plates ou surelevees, opaques, a surface assez depolie, limitees par un bord regulier ou finement dentele, prenant en vieillissant des reflets metalliques. en 2 a 4 jours, on assiste souvent a un bleuissement ou verdissement des milieux de culture du aux pigments diffusibles elabores par la bacterie.*



**figure 33. examen macroscopique des colonies des pseudomonas**



**figure 34. examen microscopique des colonies des pseudomonas**

*Examen microscopique presentant un fin bacille gram negatif ; il possede souvent des granulations fortement colorees.*



**i.3.2.1.2.3. test de l'antibiogramme :**

la technique utilisee est celle (el-shaer et ghanem, 1996).

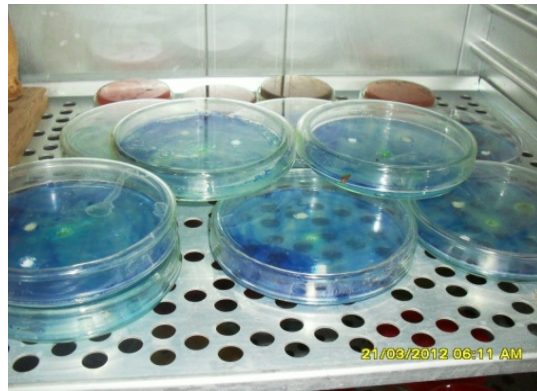
principe de la technique :

la gelose de muller hinton (20 ml) coulee en boites de petri de 90 mm de diametres sur une epaisseur de 4 mm est ensemence par ecouvillonnage de la surface par la suspension bacterienne avec une densite de  $10^8$  (ufc /ml) obtenue par la technique de mac farland, les boites sont ensuite mises a secher pendant 15 mn a la temperature ambiante. nous avons amene les cavites (puits) de 5 mm de diametre a l'aide d'une pipette pasteur dans la gelose ; les puits doivent etre espaces de 24 mm centre a centre. puis nous avons rempli les puits avec des antibiotique :(amoxyciline, errythromycine , tylosine oxytetreycline ampliciline) ensuite les boites sont incubees a 37°C pendant 24 heures.

- l'action des antibiotiques se manifeste par la formation d'une aureole d'inhibition autour du puits ;
- l'activite antibacterienne des antibiotiques a ete determinee en mesurant a l'aide d'une regle transparente.



**figure 35 :technique de mac farland**



**figure 36. incubation des boites de petri a 37°C**

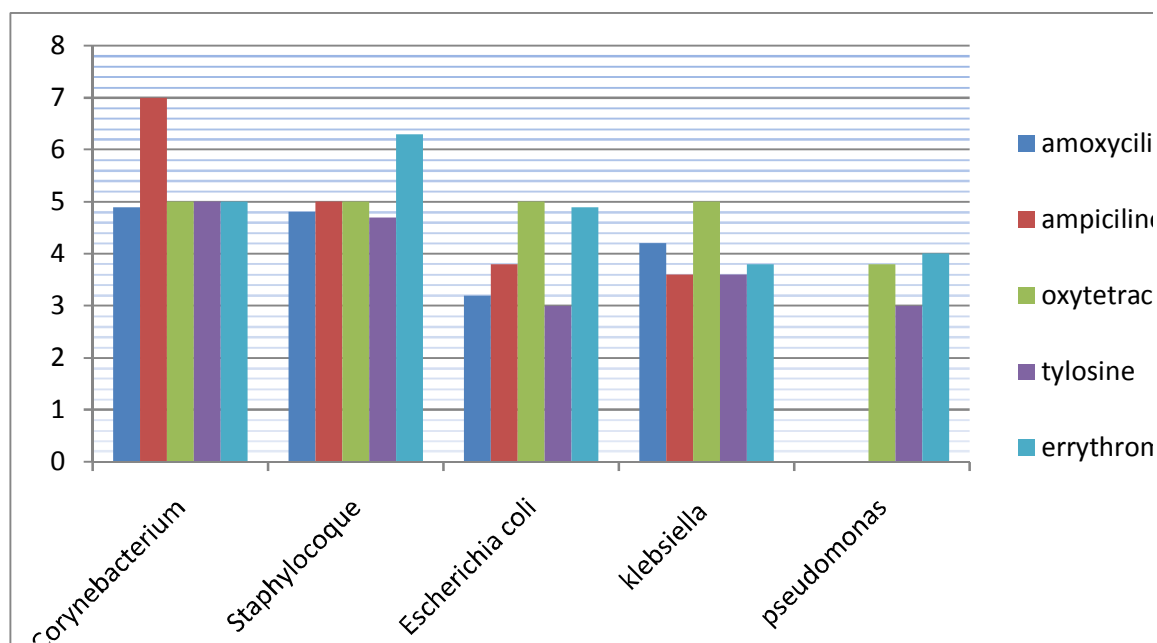
# RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.

**a. resultats :**

*il semble que la totalite des antibiotiques utilises possedant un effet bactericide quasiment similaire vis-a-vis des germes testes. car, en effet ils representent une zone audela de 15mm d'apres la norme (voir annexe 03).*

**tableau 08. diametre des zones d'inhibitions corespondantes aux antibiotiques utilises**

antibiotiques germes testes	ampicilline	penicilline	oxitetracycline	tylosine	errytromycine
c.pseudotuberculosis	49 mm	70 mm	50 mm	50 mm	50 mm
s.aureus	48 mm	50 mm	50 mm	47mm	63 mm
e.coli	32 mm	38 mm	50 mm	30 mm	49 mm
klebsiela	42 mm	36 mm	50 mm	36 mm	38 mm
pseudomonas	00 mm	00 mm	38 mm	30 mm	40 mm



**figure 37 : variation d'activite des antibiotiques**



figure 38. *pseudomonas*.

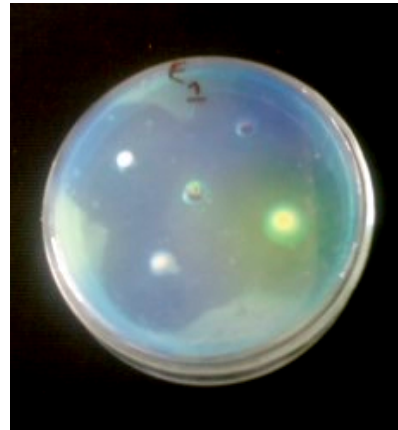


figure 39. *e .coli*



figure 40. *c. pseudotuberculosis*

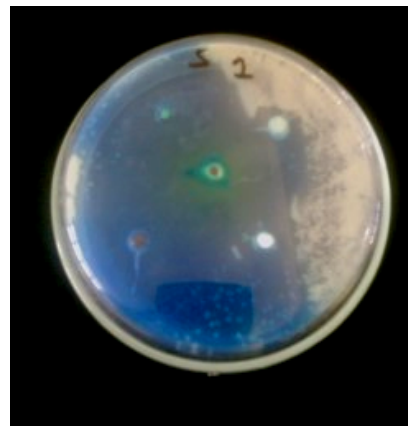


figure41. *staphylococcus aureus*

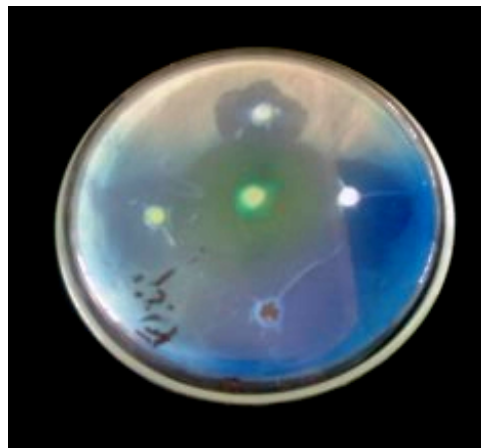


figure 42. *klebsiela*

b. interpretation :

recapituant les resultats de diagnostic microbiologique sur 105 cas analyses. il en resulte, une constataion frequente des germes vises prealablement excepte streptorcoque pyogenes, avec une revelation de pseudomonas aerogenosa a raison de 9.45% .

tableau 10. frequence des germes testes dans les cas etudies.

germes en causes	frequence
staphylococcus aureus	41
corynebacterium pseudotuberculosis	51 cas 21 cas isole, 18 cas en ossociation avec s.aureus, 12 cas en association avec e.coli
escherichia coli	17
klebsiella	17
pseudomonas	09

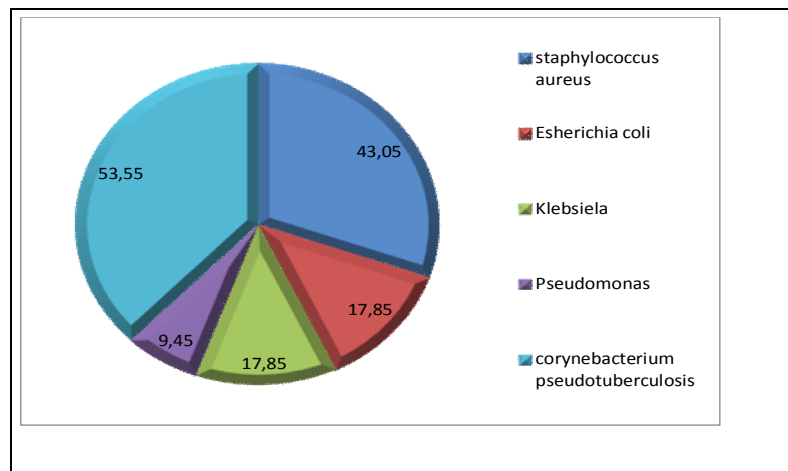


figure 43. les poucentages des bacteries isolees

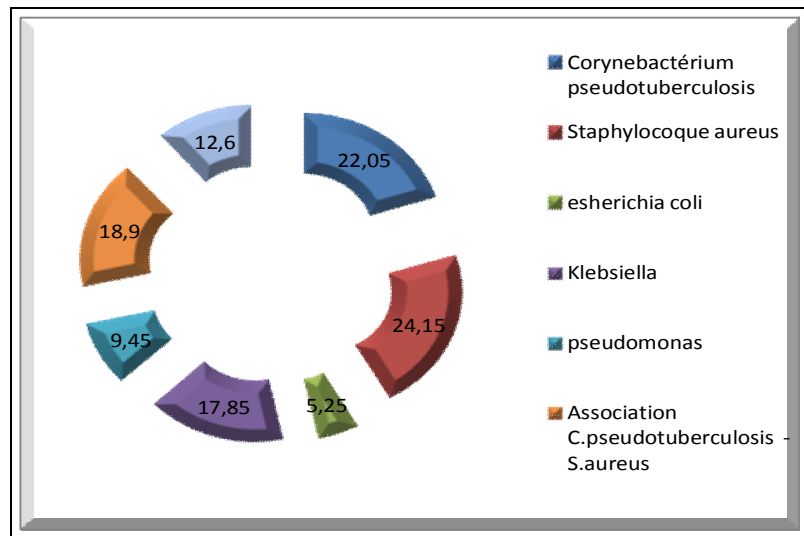


figure 44. les pourcentages des association bacterienne.

### I.3. discussions :

Basant sur les resultats microbiologiques evoques precedemment, il resor une predominance du corynebacterium avec une prevalence 53.55% causent la lymphadenite caseeuse, suivi de staphylococcus aureus avec 43,05% puis e. coli 17,85%, klebsiella 17,85% et pseudomonas 9,45% consecutivement.

constatons qu'il y a un effet d'association entre certains germes telques corynebacterium pseudotuberculosis avec staphylocoque aureus representant 18,9% des cas analyses ainsi corynebacterium pseudotuberculosis et e. coli avec 12,6% des cas total.

nos resultats sont concordent avec ceux de bensaïd et al (2002), qui a trouve un taux de 53,57% de corynebacterium, et se rapproche de celui de baroudi et al (2009), avec un taux de 63% de corynebacterium. neanmoins, nos resultats sont inferieurs a ceux de yosefbaigy, g.h.et al (2004), avec 79,3% de corynebacterium a partir du prelevement sur des ganglions pre-scapulaires seulement, de magdy h et al (2010) avec 93,05% de sayed et al (1995), 93% et kuria et nagattia (1990) 79,36%.

cette variation s'explique par le fait que dans certaines etudes les prelevements ont interesses seulement les ganglions lymphatiques, alors que dans la notre, les prelevements ont ete fait a partir des ganglions et a partir d'autres organes comme le foie, le poumons et le cœur. elle s'explique aussi par le fait que les prelevements ont interesses des animaux de differents ages, notamment chez les jeunes ou domine une affection par les staphylocoques (gival et al, 1986). la frequence des enterobacteries est due au fait que souvent les abcès sont la consequence d'autres lesions telles que les lesions parasitaires et inflammatoires qui fragilisent la paroi et permettent le passage des germes (timony et al, 1992) .

# CONCLUSION

## *CONCLUSION*

Notre travail consiste à établir un diagnostic bactériologique des lésions suppurées chez les ovins de notre région .

les résultats obtenus montrent que la maladie des abcès est très répandue dans nos élevages ce qui engendre des pertes économiques énormes, se manifestant principalement par la condamnation des organes entiers ou des parties de la carcasse, ainsi que le risque potentiel lors de la manipulation des foyers suppurés pour le personnel (vétérinaires, employés de l'abattoir)....

les résultats des analyses bactériologiques au fil de 06 mois sur 105 lésions, ont montré la diversité des germes suppurés, avec une prédominance du genre *Corynebacterium* dont la prévalence est de 53.55%, ce dernier présente une zoonose éventuelle chez l'homme.

à l'issue de ce travail, il est équitable de présenter quelques recommandations jugées utiles afin d'éradiquer cette pathologie ou de minimiser sa fréquence:

- faire appel à une prophylaxie sanitaire qui, consiste à réaliser un isolement des animaux infectés, à une désinfection des locaux et des objets souillés;
- la bonne pratique d'élevage veut dire lutter contre les arthropodes, bonnes conditions d'hygiène, traitement des plaies même minimes....
- les animaux introduits dans un troupeau sain doivent faire l'objet d'un contrôle strict et, dans un troupeau infecté, les animaux gravement atteints doivent être réformés. De même, l'utilisation d'un bélier infecté en monte naturelle est à proscrire.

Enfin, il faut avouer que ce travail n'est pas achevé et besoin d'être complété, en traitant tous les facteurs contribuant à la l'amplification de cette pathologie, comme le tropisme des germes en cause, l'âge, sexe, saison, mode d'élevage, l'alimentation...



# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

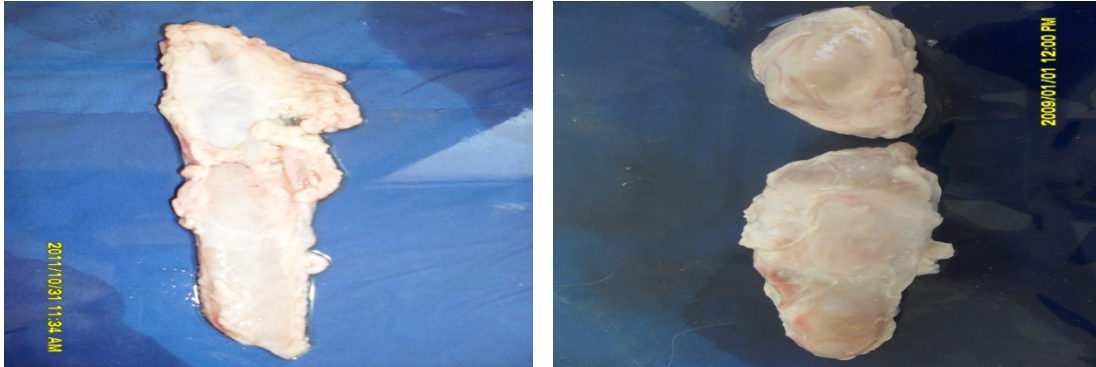
1. Baroudi, D.Sahraoui,L.Kaidi,R ,Adjou,K.T.et Khelef,D.Etude epidemiologique de la lymphadenite caseeuse du mouton dans la region d'Alger.
2. Bensaid M.S., Benmaitigue H.,Benzarti M., Messadi.,Rejeb A., Amara A. 2002.contribution à l'étude de la lymphadenite caseeuse. 2002.
3. **FLORENCE CEZARD 2010.CREATION D'UN THESAURUS D'ANATOMIE PATHOLOGIE GENERALE SUR SUPPORT MULTIMEDIA A DESTINATION DES ETUDIANTS VETERINAIRES. FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL.13.14.15.16, FRANCE.**
4. Magdy,H.,Al-Gaabary,Salama,A.,Osman,Atef,F.,Oreiby.2009.Caseous lymphadenitis in sheep and goats:Clinical,epidemiological and preventive studies. s.l. : Small Ruminant Research,87,116-121, 2009.
5. **MAYER A., J. DEIANA, H. LECLER (1984). COURS DE MICROBIOLOGIE GENERALE, EDITION. DOIN, PARIS, PP 184-224**
6. Nibal A.Hassan, 2011; Timony; Timony, Kuria (1990), Kuria (1990), Sayed (1995) Yosefbaigy ( 2004). Baroudi
7. **PILET C., J-L. BOURDON, B. TOMA, N. MARCHAL, C. BALBASTRE (1979). BACTERIOLOGIE MEDICALE ET VETERINAIRE ; SYSTEMATIQUE BACTERIENNE, EDITION. DOIN, PARIS, PP 431**
8. Yosefbaigy, G.H,Ownagh,A.GH.and Nasirollahi,A. 2004.Bacteriological studies of caseous lymphadenitis in pre-scapular lymphnodes of sheep slaughtered in Urmia,Northwestern Iran. s.l. : Iranian Journ of Vet RESearch University of Shiraz,Vol 5,N°2,Ser N°10,1383., 2004.

ANNEXES.

## Annexes

ANNEXE : 01

Partie anatomie pathologie :



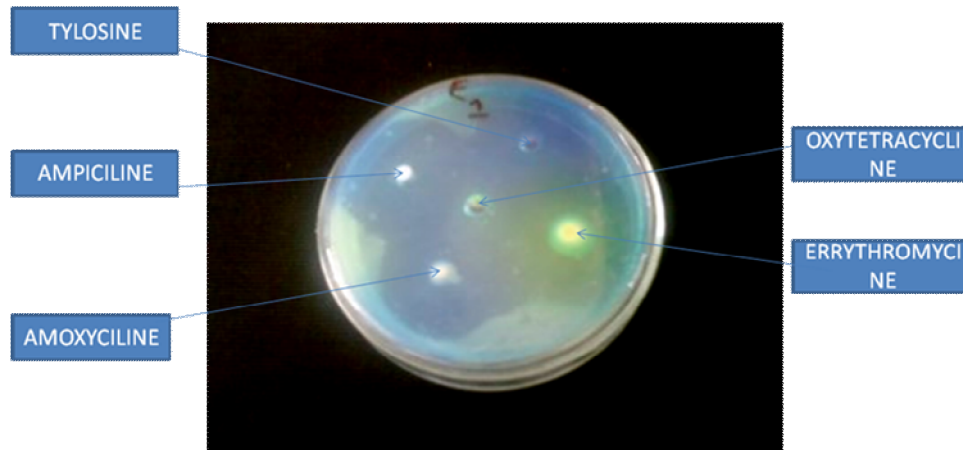
**Photos N°01 : Comparaison Entre La Taille Normale D'un Ganglion Mediastinal A Gauche Et L'augmentation Notable De La Taille De Celle Du Cote Droit**



**PHOTOS N°02 : GANGLION TRACHEO-BRONCHIQUE.**

## ANNEXE N°02

### Partie microbiologie :



Photos n° 03 Les antibiotiques utilisés dans la techniques  
(El-Shaer et Ghanem, 1996).

## ANNEXE N°03.

Tableau Reference De Spectre D'activite.

< 5.5 MM	INACTIVE
5.5 A 9 MM	TRES FAIBLE ACTIVITE
2-12 MM	FAIBLE ACTIVITE
12-15 MM	ACTIVITE MOYENNE
>15 MM	HAUTE ACTIVITE

(SOURCE : NORMES DE L'OMS, 2008)

