

De l'étiologie du farcin de zébus tchadiens Nocardiose ou mycobactériose ?

III. Activité amidasique

par G. CHAMOISEAU (*)

RESUME

L'activité amidasique de cinq souches « lentes » et trois souches « rapides » de mycobactéries atypiques isolées de lésions de farcin a été étudiée à l'égard de neuf amidases. Cette étude permet de conclure que ces deux types de souches ont un équipement en amidases semblable ne différant que du point de vue quantitatif.

Il a déjà été établi (1, 2, 5) que les Actinomycétales responsables du farcin des zébus du Tchad ne sont pas des *Nocardia*, comme le laisseraient croire leur morphologie filamenteuse et ramifiée ainsi que leur pouvoir pathogène. Ce sont des mycobactéries atypiques vraies comme le prouve leur constitution lipidique. Les Actinomycétales isolées de lésions de farcin de bovins sénégalais appartiennent également au genre *mycobacterium* (4, 5). Ces souches ne renferment en effet aucun acide nocardomycolique, mais bien les acides mycoliques des mycobactéries. Les souches sénégalaises se distinguent cependant de celles du Tchad par quelques particularités d'ordre bactériologique et biochimique, la rapidité de la croissance et l'équipement en uréase notamment (5).

Ces deux types de germes, tchadiens à croissance lente, sénégalais à croissance rapide, passent donc, du fait de leur constitution chimique, du genre *Nocardia* dans le genre *Mycobacterium*. Il importe alors de compléter

leur étude biochimique, dans le dessein d'approfondir leurs points de ressemblance et de dissemblance, et de préciser leur position taxonomique.

C'est le but de ce travail qui vise à l'étude de leur activité amidasique.

MATERIEL ET METHODE

A. Souches

Huit souches de mycobactéries atypiques firent l'objet de cette étude; cinq provenant de lésions de farcin de zébus du Tchad, et présentant la particularité d'une croissance lente (2 à 3 semaines d'incubation); trois provenant de lésions de farcin de bovins sénégalais, et présentant la particularité d'une croissance rapide (48 heures d'incubation). Les souches tchadiennes « lentes » sont désignées par les lettres A, B, C, D, E. Les souches sénégalaises « rapides » sont numérotées 378, 397, 781.

Elles ont toutes été cultivées sur gélose tryptose-sérum. Le temps d'incubation à 37° C pour obtenir un culot de germes, suffisant à

(*) Laboratoire de Recherches vétérinaires de Farcha, Fort-Lamy, Tchad. Adresse actuelle : Imperial Veterinary Institute, P.O. Box 19, Debre Zeit, Ethiopie.

l'étude projetée, étant fonction des particularités culturales signalées.

B. Technique d'étude

La technique mise en œuvre a été celle de Böenicke, telle qu'elle a été rapportée et modifiée par Ingmar JUHLIN (3) et dont sont reprises ici succinctement les grandes lignes.

Neuf amides ont été soumises au test enzymatique : l'Acétamide, l'Allantoïne, la Benzamide, la Formamide, l'Isonicotinamide, la Malonamide, la Salicylamide, la Nicotinamide, la Carbamide ou urée.

Dix mg environ de germes de telle souche, en suspension dans un tampon phosphate M/15 Ph 7,2, sont portés dans 1 ml d'amide en solution 0,00164 M. Au mélange incubé à 37° C, pour moitié pendant 6 heures, pour moitié pendant 22 heures, sont ajoutés les réactifs révélateurs du dégagement d'ammoniaque : 0,1 ml d'une solution 0,003 M de sulfate de manganèse, 1 ml de réactif phénolique, 0,5 ml d'une solution d'hypochlorite. Ce mélange est alors chauffé à 100° C pendant 15 mn en atmosphère sèche. Après refroidissement, l'intensité de sa coloration, engendrée par l'éventuel dégagement d'ammoniaque, est comparée à celle des tubes d'une échelle de référence. Cette dernière est préparée à partir d'une solution d'ammoniaque à 2,5 p. 100 diluée avec le tampon phosphate Ph 7,2, de manière à obtenir des solutions étalons dont la teneur en ammoniaque est respectivement de

10 mcg, 5 mcg, 3 mcg, 2 mcg, 1 mcg, et dont la coloration est révélée à l'aide des réactifs et du traitement thermique utilisés ci-dessus.

RESULTATS

Les résultats ont été appréciés en fonction de l'échelle de référence et exposés dans le tableau I. Ne sont rapportés que ceux qui sont lus sur la série de tubes incubés pendant 22 heures. Après 6 heures d'incubation, en effet, les résultats sont déjà acquis à la différence d'intensité près. Les chiffres du tableau représentent la quantité, en mcg, d'ammoniaque dégagée du fait de l'action enzymatique bactérienne sur l'amide.

L'échelle de référence, telle qu'elle est conçue, ne permettant pas de chiffrer le taux de dégagement d'ammoniaque compris entre 10 et 5 mcg, 5 et 3 mcg, ou supérieur à 10 mcg/ml, des signes conventionnels permettent d'interpréter les intensités intermédiaires de coloration.

- > 10 : dégagement d'ammoniaque supérieur à 10 mcg/ml;
- $10 \rightarrow 5$: dégagement compris entre 10 et 5 mcg, mais se rapprochant du tube étalon 5 mcg;
- $10 \longleftrightarrow 5$: valeur jugée moyenne entre 10 et 5 mcg;
- $5 \rightarrow 3$: dégagement compris entre 5 et 3 mcg, mais plus proche du tube étalon 3 mcg.

TABLEAU N° I

	Souches							
	"lentes"					"rapides"		
	A	B	C	D	E	378	397	781
Allantoïne	> 10	$10 \rightarrow 5$	$10 \rightarrow 5$	$10 \rightarrow 5$	$10 \rightarrow 5$	> 10	> 10	> 10
Acétamide	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10
Benzamide	$10 \leftrightarrow 5$	10	10	10				
Formamide	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10
Isonicotinamide	$10 \leftrightarrow 5$	10	10	10				
Malonamide	10	5	5	5	5	10	10	10
Nicotinamide	10	5	5	5	5	10	10	10
Salicylamide	$10 \rightarrow 5$	$5 \rightarrow 3$	$5 \rightarrow 3$	$5 \rightarrow 3$	$5 \rightarrow 3$	$10 \rightarrow 5$	$10 \rightarrow 5$	$10 \rightarrow 5$
Carbamide (urée)	$5 \rightarrow 3$	$5 \rightarrow 3$	$5 \rightarrow 3$	$5 \rightarrow 3$	0	> 10	> 10	> 10

Dans ce système de référence, les résultats de 0 à 1 sont tenus pour négatifs, de 2 à 3 pour des valeurs limites, de 5 à 10 pour positifs.

A l'examen de ce tableau on fait les constatations suivantes :

1. Toutes les souches, quel que soit leur type de croissance, attaquent la plupart des amides qui leur sont proposées, et avec des taux de dégagement d'ammoniaque dépassant parfois 10 mcg/ml ou ne sortant pas des limites de la positivité. Seule la souche E n'attaque pas l'urée.

2. Les souches à croissance rapide ont une activité amidasique généralement plus puissante que celle des souches « lentes ». Cependant, quel que soit leur type de croissance, les deux types de souches n'ont pour la salicylamide qu'une affinité relativement restreinte.

3. Les souches de l'un et l'autre type s'apparentent par une activité amidasique puissante à l'égard de l'acétamide et de la formamide. C'est à l'égard de l'urée que leur comportement les différencie nettement : les souches « lentes » n'attaquent que faiblement ou pas du tout cette amide; les souches « rapides », par contre, l'attaquent de manière aussi intense que la formamide et l'acétamide.

4. Les souches « rapides » ont une activité régulière et très homogène à l'égard des amides étudiées. Les souches « lentes » ne montrent pas pareille homogénéité. La souche A se comporte comme une souche « rapide » sauf à l'égard de l'urée qu'elle attaque faiblement comme les autres souches « lentes ». La souche E se montre nettement indifférente à l'égard de l'urée.

5. Toutes les souches « rapides » ont un comportement identique vis-à-vis de telle ou telle amide. Mis à part les cas de A et E, on peut dire de même des souches « lentes ».

6. On peut résumer, dans le tableau II, les spectres amidasiques différentiels des deux types de souches :

	Souches « rapides »	Souches « lentes »
Acétamide	++++	++++
Formamide	++++	++++
Allantoïne	++++	++
Carbamide (urée)	++++	+ ou 0

Benzamide	+++	++
Isonicotinamide	++++	++
Malonamide	++++	++
Nicotinamide	++++	++
Salicylamide	+	±

et conclure à une différence d'ordre quantitatif seulement de leur équipement amidasique.

COMMENTAIRES

Il n'a pas été possible de suivre rigoureusement la technique de JUHLIN en ce qui concerne, en particulier, la mesure des densités optiques. Il n'eût pas été sans intérêt, en effet, d'apprécier les intensités de coloration intermédiaires entre 5 et 10 mcg, 5 et 3 mcg, et au-delà de 10 mcg. L'homogénéité du comportement des souches « lentes » eut pu être jugé plus finement. Cependant, les résultats, tels qu'ils ont été rapportés, demeurent suffisamment significatifs et permettent de situer l'un par rapport à l'autre ces deux variétés de mycobactéries.

La technique d'étude mise en œuvre ici reste valable. Les données qu'elle a fournies n'ont, certes pas été comparées à celles d'une autre. Selon la méthode de travail utilisée (6) on a pu enregistrer la différence de comportement de telle mycobactérie à l'égard de telle amide. Mais il est permis de penser que la technique de JUHLIN a fourni dans la conjoncture présente — en ce qui concerne, tout au moins, acétamide, formamide, urée, trois amides qui caractérisent suffisamment souches « rapides » et souches « lentes » — des résultats à ce point tranchés qu'ils pourraient être acquis par une autre technique moins sensible. Celle qui a été utilisée ici est, en fait, très sensible puisqu'elle réussit à extérioriser une certaine activité uréasique des souches « lentes », ce qu'il n'est pas possible d'obtenir en milieu urée-indole par exemple.

*
**

Nous remercions le Dr P. PERREAU de l'I.E.M.V.T. qui nous a fourni les souches 378, 397 et 781.

SUMMARY

About the etiology of streptothricosis of the Chad zebu cattle : Nocardiosis or mycobacteriosis? III. Amidasic activity

The amidase production of five "slow" strains and three "fast" strains of atypical mycobacteria isolated from bovine farcy lesions has been studied in regard to nine amides. This study allows to conclude that these two kinds of strains have an identical enzymatic system with some only quantitative differences.

RESUMEN

En cuanto a la etiología de la estreptotricosis de los cebus de Chad : ¿ nocardiosis o micobacteriosis? Actividad amidásica

Se estudió la actividad amidásica de cinco cepas « lentas » y tres cepas « rápidas » de micobacterias atípicas aisladas de lesiones de estreptotricosis para con nueve amidas.

Este estudio permite concluir que dichos dos tipos de cepas tienen un sistema de amidases idéntico con solo algunas diferencias cuantitativas.

BIBLIOGRAPHIE

1. ASSELINEAU (J.), LANEELLE (M. A.), CHAMOISEAU (G.), De l'étiologie du farcin de zébus tchadiens : Nocardiose ou mycobactériose ? II. Composition lipidique, *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1969, **22** (2) : 205-09.
2. CHAMOISEAU (G.), De l'étiologie du farcin de zébus tchadiens : Nocardiose ou mycobactériose ? I. Etude bactériologique et biochimique, *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1969, **22** (2) : 195-204.
3. JUHLIN (I.), Contribution to the classification of *Mycobacteria* and *Nocardia*. *Acta Path. microbiol. Scand.*, 1967, **70** (suppl. 189) : 12-15.
4. LANEELLE (G.), ASSELINEAU (J.), CHAMOISEAU (G.), Présence de mycosides C' (formes simplifiées de mycoside C) dans les bactéries isolées de bovins atteints du farcin, *FEBS letters*, 1971, **19** (2) : 109-111.
5. Rapports annuels du laboratoire de Recherches vétérinaires de Farcha. 1967-1968-1969-1970.
6. TACQUET (A.), TISON (F.), ROOS (P.), DEVULDER (B.), Activité amidasique des mycobactéries. Technique qualitative nouvelle d'étude en milieu de culture solide, *Ann. Inst. Pasteur*, 1967, **112** : 378-83.