

A. Benkirane¹ | **Antibiosensibilité *in vitro* de diverses souches de *Mycoplasma capricolum***
 S. Amghar¹

BENKIRANE (A.), AMGHAR (S.). Antibiosensibilité *in vitro* de diverses souches de *Mycoplasma capricolum*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (4) : 453-455

L'étude de l'antibiosensibilité *in vitro* de 20 souches sauvages de *M. capricolum* et de la souche de référence (California kid) vis-à-vis de 14 antibiotiques a été réalisée à l'aide d'une microméthode basée sur la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide, révélée par l'inhibition du métabolisme du glucose. Les résultats sont les suivants : toutes les souches sont sensibles à cinq antibiotiques (tylosine, oxytétracycline, gentamycine, néomycine et acide nalidixique) avec des CMI variant de 0,06 à 8 meq/ml ; les valeurs des CMI variant de 8 à 32 meq/ml pour la spiramycine et l'érythromycine permettent de considérer qu'il existe des souches sensibles et d'autres résistantes vis-à-vis de ces deux antibiotiques ; enfin, toutes les souches se révèlent résistantes à sept antibiotiques (streptomycine, bacitracine, polymyxine, chloramphénicol, lincomycine, rifampicine et novobiocine) à des concentrations parfois supérieures à 128 meq/ml. *Mots clés* : Antibiosensibilité *in vitro* - *Mycoplasma capricolum* - Maroc.

INTRODUCTION

Alors que de nombreuses publications sont consacrées à l'effet des antibiotiques vis-à-vis des mycoplasmes humains, aviaires, bovins et porcins (2, 4, 6), les mycoplasmes des petits ruminants n'ont fait l'objet, jusque-là, que de rapports ponctuels (1).

Parmi ces mycoplasmes, *Mycoplasma (M.) capricolum* occupe une place prépondérante en pathologie caprine et ovine au Maroc (8). Il semblait donc utile d'étudier l'antibiosensibilité *in vitro* de 20 souches sauvages de *M. capricolum* isolées lors d'une enquête épidémiologique conduite de 1983 à 1986 (8).

La méthode utilisée est une microméthode basée sur la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide, telle qu'elle est révélée par l'inhibition du métabolisme du glucose (7).

1. Département de Microbiologie, Immunologie et Maladies contagieuses, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP 6202 Rabat-Instituts, Rabat, Maroc.

Reçu le 11.6.1990, accepté le 29.7.1990.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Souches de mycoplasmes

Dans ce travail, la souche de référence (California kid) ainsi que 20 souches sauvages appartenant à l'espèce *M. capricolum*, immédiatement lyophilisées après leur identification, ont été testées. Ces dernières proviennent de 10 ovins et 10 caprins ayant présenté divers symptômes associés à l'infection (septicémie, mammites, polyarthrite et bronchopneumonie) et issus de foyers de mycoplasmoses déclarés dans quatre régions du pays (Rabat, Tadla, Agadir et Oujda).

Milieu de culture

Les souches de mycoplasmes sont cultivées dans un bouillon de type Hayflick modifié, à pH 7,4 (9), sans inhibiteurs bactériens, additionné de 1 p. 100 de glucose et de 0,002 p. 100 de rouge de phénol.

Antibiotiques

Quatorze antibiotiques ont été testés (tabl. I). A l'exception de la tylosine (Dista) et de l'oxytétracycline (Pfizer), tous sont des produits Sigma. Chaque antibiotique est préparé en solution mère dans 10 ml d'eau distillée stérile, après avoir ramené son titre à 512 mcg/ml (ou UI/ml), et conservé à l'abri de la lumière, à -20 °C, pendant moins de quinze jours.

Détermination de la CMI

Des plaques de polyester stériles, à fond en U, et 96 cupules servent à répartir, sous un volume de 200 µl par cupule, les différentes solutions :

— dans la première rangée, le témoin milieu ;

— dans la deuxième, le témoin culture. L'inoculum de la souche à tester est constitué de la dilution au 1/100 d'une culture de 48 h. Il contient 10⁴ à 10⁶ CFU/ml ;

TABLEAU I Moyennes et dispersion des CMI de 14 antibiotiques vis-à-vis de 20 souches de *Mycoplasma capricolum* (en mcg ou UI/ml).

Antibiotique	Souche CK	Souches sauvages			
		Médiane	Moyenne	Écart-type	Limites
Aminosides					
Streptomycine	128	64	64	35	32-128
Gentamycine	8	2	3	3	0,5-8
Néomycine	16	2	3	3	0,5-8
Peptides					
Bacitracine	128	32	38	20	16-64
Polymyxine B	128	64	74	23	64->128
Tétracyclines					
Oxytétracycline	0,25	0,25	0,62	0,54	0,25-2
Chloramphénicol					
Chloramphénicol	64	64	96	32	64-128
Macrolides					
Érythromycine	8	8	11	7	8-32
Spiramycine	16	8	11	6	8-32
Tylosine	0,12	0,12	0,99	1,39	0,06-4
Lincomycine	64	128	106	35	32->128
Quinolones					
Acide nalidixique	4	8	6	3	1-8
Divers					
Rifampicine	64	64	70	50	8-128
Novobiocine	64	64	52	19	16-64

— dans les six autres rangées, les dilutions de deux en deux de six antibiotiques différents, donnant 12 concentrations décroissantes de chaque antibiotique. Chaque cupule contient 50 µl de la dilution d'antibiotique et 150 µl de milieu.

Les plaques sont scellées et incubées à 37 °C. La lecture a lieu lorsque la croissance se manifeste dans le témoin culture par le virage au jaune du rouge de phénol. La CMI est la concentration d'antibiotique de la dernière cupule où aucun changement de couleur n'est noté.

RÉSULTATS

L'activité antimycoplasmique des antibiotiques étudiés, exprimée en moyenne des CMI obtenues, et la dispersion de ces valeurs (écarts-types, médianes, valeurs minima et maxima) sont présentées dans le tableau I.

Toutes les souches testées peuvent être considérées comme sensibles *in vitro* à cinq antibiotiques (tylosine,

oxytétracycline, gentamycine, néomycine et acide nalidixique), avec des CMI variant de 0,06 à 8 mcg/ml, et résistantes à sept autres (streptomycine, bacitracine, polymyxine, chloramphénicol, lincomycine, rifampicine et novobiocine), à des concentrations allant au-delà de 128 mcg/ml.

Enfin, vis-à-vis de l'érythromycine et de la spiramycine, certaines souches sont sensibles et d'autres résistantes.

Les valeurs médianes des CMI sont en général comparables à la CMI de la souche California kid, sauf pour la bacitracine et les aminosides, pour lesquelles la CMI de la souche de référence est quatre fois supérieure à cette médiane.

La plus forte dispersion des CMI est observée avec la rifampicine, vis-à-vis de laquelle *M. capricolum* est manifestement résistant, et pour la majorité des antibiotiques vis-à-vis desquels on peut conclure à une sensibilité *in vitro* (tylosine, oxytétracycline, gentamycine, néomycine et acide nalidixique).

DISCUSSION

La technique de SENTERFIT (7) se révèle bien adaptée à l'étude de l'antibiosensibilité de *M. capricolum* qui produit rapidement et régulièrement des acides à partir du glucose. En effet, la rapidité de la lecture réduit les risques de dégradation des antibiotiques. Sa sensibilité et sa reproductibilité ont été démontrées (6, 7).

La confrontation de ces résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs, sur d'autres espèces de mycoplasmes, montre que la sensibilité de ces différentes espèces est variable en fonction des antibiotiques. En effet, parmi les sept antibiotiques actifs sur nos souches de *M. capricolum*, la gentamycine, la néomycine et l'acide nalidixique ont été trouvés inactifs sur *M. hyopneumoniae* (10), l'acide nalidixique et l'érythromycine inactifs sur *M. bovis* (6). En revanche, *M. hyopneumoniae*, contrairement à *M. capricolum*, s'est révélé sensible au chloramphénicol, à la lincomycine, à la novobiocine et à la rifampicine (10), *M. pneumoniae* à la streptomycine (4) et *M. bovis* à la lincomycine (6).

Ces variations de sensibilité ne peuvent être attribuées aux seules différences dans les techniques (composition et pH du milieu, diminution de l'activité de l'antibiotique durant sa conservation, etc.). D'ailleurs, l'étude simultanée de *M. pneumoniae*, *M. hominis* et *Ureaplasma urealyticum* a permis de constater cette hétérogénéité vis-à-vis de l'érythromycine et de la spiramycine (3).

L'hétérogénéité relevée dans le comportement des souches sauvages testées ne peut trouver d'explication

étant donné leur faible nombre. Aucune différence significative n'a été constatée à la comparaison des CMI moyennes des souches en fonction de leurs origines animale (ovine ou caprine) et géographique.

Ces données obtenues *in vitro* doivent être confirmées *in vivo* pour choisir le ou les antibiotiques les plus adéquats pour le traitement de cette mycoplasmosse. Cependant,

BENKIRANE (A.), AMGHAR (S.). *In vitro* antibiosensitivity of different strains of *Mycoplasma capricolum*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (4) : 453-455

The *in vitro* sensitivity of 20 wild strains of *M. capricolum* and that of the reference strain (California kid) against 14 antibiotics was investigated by means of a micromethod. The technique is based on the determination of the inhibitory minimum concentration (IMC) in a liquid medium as revealed by the inhibition of glucose metabolism. The following results were obtained : all strains were sensitive to five antibiotics (tylosin, oxytetracyclin, gentamycin, neomycin, nalidixic acid) with an IMC varying from 0.06 to 8 meq/ml. The variation in the IMC values from 8 to 32 meq/ml for spiramycin and erythromycin indicated that some of these strains were sensitive and other resistant to these two drugs. All strains were resistant to seven antibiotics (streptomycin, bacitracin, polymyxin, chloramphenicol, lincomycin, rifampicin and novobiocine), sometimes at a concentration exceeding 128 mcg/ml. *Key words* : Antibiosensitivity *in vitro* - *Mycoplasma capricolum* - Morocco.

les antibiotiques recommandés par PERREAU et BREARD (5) constituent le meilleur choix, à l'exception peut-être de l'érythromycine.

Il est envisagé, dans un travail ultérieur, de procéder à l'étude d'un plus grand nombre de souches (une centaine) et de conduire, à côté de la détermination des CMI, celle de la CMM (concentration minima mycoplasmodicide).

BENKIRANE (A.), AMGHAR (S.). Sensibilidad *in vitro* a antibióticos de varias cepas de *Mycoplasma capricolum*. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1990, 43 (4) : 453-455

Se estudió de la sensibilidad *in vitro* a 14 antibióticos de 20 cepas salvajes de *M. capricolum* y de la cepa de referencia (California kid), mediante un micro-método basado en la determinación de la concentración mínima inhibidora (CMI) en medio líquido, demostrada por la inhibición del metabolismo de la glucosa. Los resultados fueron los siguientes : todas las cepas son sensibles a cinco antibióticos (tilosina, oxitetraciclina, gentamicina, neomicina y ácido nalidixico), con una CMI que varió de 0,06 a 8 mcg/ml ; los valores de la CMI variaron de 8 a 32 mcg/ml para la espiramicina y la eritromicina, lo que sugiere la existencia de algunas cepas sensibles y otras resistentes a estos antibióticos ; por último, todas las cepas se mostraron resistentes a siete antibióticos (estreptomina, bacitracina, polimixina, cloranfenicol, lincomicina, rifampicina y novobiocina), con concentraciones algunas veces superiores a 128 mcg/ml. *Palabras claves* : Sensibilidad a antibióticos - *Mycoplasma capricolum* - Maroco.

BIBLIOGRAPHIE

1. COTTEW (G.S.), Caprine-ovine mycoplasmas. In : RAZIN (S.), TULLY (J.G.), eds. The mycoplasmas. New York, Academic Press, 1979. Vol. II, p. 399-423.
2. HANNAN (P.C.T.), O'HANLON (P.J.), ROGERS (N.H.). *In vitro* evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens. *Res. vet. Sci.*, 1989, 46 : 202-211.
3. KERNBAUM (S.). Susceptibility of mycoplasmas and chlamydiae to macrolides. *J. Antimicrob. Therapy*, 1985, 16 : 199-200.
4. OGAWA (S.). Sensitivity of 71 *Mycoplasma pneumoniae* strains to various antibiotics. *Yale J. Biol. Med.*, 1983, 56 : 885-886.
5. PERREAU (P.), BRÉARD (A.). La mycoplasmosse caprine à *M. capricolum*. *Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.*, 1979, 2 : 87-97.
6. POUMARAT (F.). Épidémiologie de l'infection à *Mycoplasma bovis* chez les bovins en France. Thèse doct. 3^e cycle, Univ. Claude Bernard, Lyon-I, 1987.
7. SENTERFIT (L.B.). Antibiotic sensitivity testing of mycoplasmas. In : TULLY (J.G.), RAZIN (S.), eds. Methods of mycoplasmaology. New York, Academic Press, 1983. Vol. II, p. 397-401.
8. TAOUDI (A.). Épidémiologie des infections à mycoplasmes chez les bovins et les petits ruminants au Maroc. Thèse doct. Sciences, Univ. Clermont-Ferrand -II, 1986.
9. TAOUDI (A.), KIRCHHOFF (H.), JOHNSON (D.W.), CHOUKRALLAH (A.). Prevalence of mycoplasmas and acholeplasmas in cattle exhibiting various clinical diseases and pathological lesions in Morocco. *Zentbl. VetMed.*, Reihe B, 1985, 32 : 534-540.
10. WILLIAMS (P.P.). *In vitro* susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* to fifty-one antimicrobial agents. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 1978, 14 : 210-213.