

Les Bactéries anaérobies

Les anaérobies sont des bactéries hypersensibles à l'O₂, dépourvues d'enzymes capables d'inactiver les dérivés toxiques de l'O₂, l'O₂ n'est jamais l'accepteur terminal d'électron.

L'énergie est fournie par des réactions de fermentation, ou les donneurs et accepteurs d'électron sont des composés organiques, qui aboutissent à des produits finals de fermentation divers uniques ou mélangés.

La composition et la proportion de ces produits finals ont une action directe sur la valeur du pH et du potentiel redox et caractérisent des groupes taxonomiques.

Habitat et facteurs de pathogénicité

Les bactéries anaérobies sont représentées par un vaste éventail de germes : bacilles à Gram positif, sporulés ou non, bacilles à Gram négatif, mobiles ou non, cocci à Gram positif et négatif.

Certaines d'entre elles font partie de la flore endogène normale de l'homme et de l'animal, d'autres sont retrouvées dans l'environnement (sols, sédiments, ...) sous forme sporulée.

Elles sont capables de devenir pathogènes dès qu'un facteur propre (toxines, enzymes...) ou un facteur lié à l'hôte (plaie, diabète, cancer,...) entraînent une hématoxémie, une rupture de la barrière cutanéomuqueuse ou un déséquilibre de la flore normale qui leur permet d'envahir l'organisme et provoquer des infections localisées ou généralisées.

Techniques de bases pour l'étude des bactéries anaérobies

a)- *Prélèvement*

Le prélèvement de pus doit être réalisé en évitant l'introduction de l'O₂ de l'air, de préférence, à l'aide d'une seringue qui sera bouchée aux deux extrémités et envoyée aussitôt au laboratoire.

Si le pus n'excède pas 02 ml, il sera prélevé à l'aide d'un écouvillon qui sera introduit aussitôt dans un milieu de transport pour bactéries anaérobies, puis envoyé au laboratoire.

Le prélèvement de sang sera introduit dans des flacons d'hémoculture pour bactéries anaérobies (06 à 08), gardé à 37°C, puis envoyé au laboratoire lorsque tous les flacons serontensemencés.

Tous les prélèvements doivent être accompagnés d'une fiche de renseignement dûment remplie comprenant : nom et prénoms, âge, lieu d'hospitalisation ou externe, résumé clinique, antécédents, traitement éventuel avec date de début et date d'arrêt du traitement.

b)- *Principe de l'anaérobiose*

La culture et la manipulation du prélèvement contenant des bactéries anaérobies sont réalisées en l'absence d'O₂, dans des enceintes closes contenant un catalyseur au Palladium et un mélange gazeux constitué de H₂ (5%), CO₂ (5à 15%), N₂ (90à 80%).

L'H₂ réagit avec le catalyseur pour donner de l'hydrogène radicalaire qui se combine à l'O₂ pour former de l'eau.

Le CO₂ est nécessaire à la croissance des bactéries et N₂ est un gaz inerte servant à combler le vide.

c)- *Précautions de travail*

- Tous les milieux utilisés doivent contenir des agents réducteurs (cystéine...) et être régénérés par ébullition à 100°C pendant 20 minutes avant leur utilisation et rester en contact avec le mélange gazeux pendant l'incubation.
- Le catalyseur doit être régénéré, en chaleur sèche, à 160°C pendant 02 heures après utilisation.
- Les enceintes closes (jarres) ne doivent jamais être ouvertes devant une flamme.
- Les milieux sont préparés extemporanément (sauf s'ils le sont en chambre anaérobie).
- L'anaérobiose est vérifiée à l'aide de résazurine ou bleu de méthylène.
- Les bactéries anaérobies ne poussent jamais en aérobiose en présence de CO_2 combiné à l' O_2 .

d)- *Différents types d'enceintes closes pour anaérobies*

- Chambre anaérobie

Elle permet d'effectuer toutes les manipulations et l'incubation des cultures

anaérobiose..Elle utilise un procédé d'évacuation-remplacement. Elle contient un mélange gazeux H_2 , CO_2 , N_2 recyclé à travers le catalyseur au palladium grâce à un ventilateur.

Elle nécessite une pompe à vide.

- Jarres anaérobies

Ce sont des enceintes en polycarbonate ou métalliques.

* Le système physique est équivalent à la chambre anaérobie, mais les manipulations sont réalisées en aérobiose. Il utilise un procédé d'évacuation- remplacement et nécessite une pompe à vide.

L'anaérobiose est obtenue très rapidement.

* Le système chimique utilise du borohydrate de Na et du carbonate de Na, générateur d'H₂, CO₂ et ne nécessite pas une pompe à vide. L'anaérobiose est moins rapidement obtenue.

e)- *Milieux utilisés*

- Géloses Columbia, VL, TY, Wilkins- Chalgren...
- Bouillons TY, Thioglycolate...

Ces milieux sont enrichis par 5% de sang de mouton ou de cheval et rendus sélectifs par addition d'inhibiteurs de germes aérobies facultatifs (acide nalidixique, aminosides...).

Pour les *Bacteroidaceae* (bacilles à Gram négatif), l'hémine à 5µg/ml et la vitamine K à 0,5 µg/ml sont ajoutées pour favoriser leur croissance.

La dégradation de la lécithine en acétyl choline et diglycéride est objectivée par une opalescence sur gélose à l'œuf.

La dégradation des sucres est étudiée sur TY additionné de 1% du sucre à étudier.

L'identification rapide est réalisée sur galerie type API (API 20A, Rapid ID 32 Ana...)

Les produits terminaux de fermentation sont mis en évidence par chromatographie gazeuse.

Les gènes codant les toxines sont mis en évidence par PCR.

Les différentes toxines élaborées par ces germes sont mises en évidence par ELISA, par des tests de toxicité sur souris et séroneutralisation.

f)- Sensibilité aux antibiotiques

Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides et sulfamides.

Les quinolones ne sont pas actives et les cyclines sont de moins en moins actives.

Les bacilles à Gram négatif sécrètent des Bêta lactamases et environ 30% ont acquis une résistance aux macrolides et lincosamides.

Les bacilles à Gram positif sporulés ou non sont sensibles aux bêtalactamines.

Les bactéries anaérobies sont sensibles aux nitro imidazolés (sauf *Propionibacterium* et *Actinomyces*).