

APPROCHE DU MECANISME D'ACTION DU MONOPHOSPHATE TRISODIQUE (TSP, AvGard®) SUR LES BACTERIES A GRAM NEGATIF

Vincent Sophie, Pozzato Isabelle, Desnottes J.F.

Rhône-Poulenc Rorer, Biologie Antibactériens, 13 quai Jules Guesde BP 14, 94403 Vitry/Seine Cedex

Résumé

Développé par Rhône-Poulenc comme décontaminant sur les chaînes d'abattage de volailles, le TSP permet de réduire de 1,5 log au moins le nombre de bactéries (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) présentes sur les volailles. Un modèle *in vitro* a montré l'effet bactéricide élevé du TSP, lorsqu'il est utilisé à 10 %. Sur des bactéries (*S. typhimurium*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) resuspendues en serum physiologique, le TSP a montré un effet bactériolytique, et une action au niveau des membranes bactériennes (restauration de l'activité antibactérienne de la spiramycine, macrolide inactif sur les bactéries à Gram négatif ; études de microscopie électronique mettant en évidence des altérations des parois).

Introduction

Rhône-Poulenc a développé un procédé de décontamination à base de monophosphate trisodique (TSP, AvGard®) utilisé sur les chaînes d'abattage de volailles. Des études préliminaires ont montré sa grande efficacité contre des bactéries à Gram négatif (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*) (Somers et al., 1994), notamment au niveau de la paroi bactérienne (Mendonca et al., 1994).

Matériels et Méthodes

I. Bactéricidie

Des bactéries [*S. typhimurium* IPL, 5.10^6 Unités Formant Colonies/ml, (UFC/ml)] ont été mises en contact avec différentes concentrations de TSP. Après centrifugation, lavage, resuspension en serum physiologique, et dilution, un dénombrement a été effectué après une nuit d'incubation à 37°C sur milieu Luria-Bertani (LB) en boîtes de Petri.

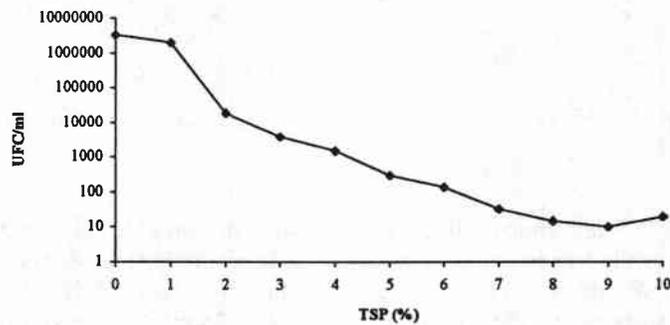
II. Effet lytique

Après resuspension en serum physiologique, des bactéries (*S. typhimurium* IPL en phase stationnaire ou exponentielle, 10^6 UFC/ml) ont été mises en contact avec du TSP (1 et 10 %). La densité optique a été mesurée pendant 5 min au spectrophotomètre Beckman DU70. Un dénombrement bactérien sur boîtes de Petri a été effectué à la fin de l'expérience.

Résultats

Un dénombrement bactérien sur boîtes de Petri a été effectué afin de mesurer le pouvoir bactéricide du TSP utilisé à différentes concentrations (de 1 à 10 %). A partir d'un inoculum de 5.10^6 UFC/ml, une chute de 2 log est déjà observée en présence de 2 % de TSP. Une bactéricidie maximale (5 log) est mise en évidence avec des concentrations de TSP comprises entre 8 et 10 % (Figure 1).

FIGURE 1 : Mesure de la bactéricidie de *S. typhimurium* IPL en présence de différentes concentrations de TSP.



En milieu LB, le TSP n'induit pas d'effet lytique. En revanche, des bactéries en phase stationnaire ou en phase exponentielle, resuspendues en serum physiologique, mises en présence de TSP (1, 5, ou 10 %) présentent une lyse (Figures 2 et 3). Cette lyse est plus importante pour les bactéries en phase exponentielle (entre 60 et 85 %) que pour celles en phase stationnaire (entre 25 et 45 %). De plus, cet effet lytique est inversement proportionnel à la concentration de TSP. Néanmoins, le maximum de lyse est atteint en moins de 1 min, quels que soient l'état physiologique des bactéries et la concentration de TSP utilisée. A la fin de l'expérience, un prélèvement a été effectué afin de dénombrer les bactéries survivantes. L'effet bactéricide du TSP (10 %) a été confirmé puisqu' aucune colonie bactérienne n'a pu être détectée après 18 h d'incubation à 37°C.

FIGURE 2 : Cinétique de lyse de *S. typhimurium* IPL (phase stationnaire) en présence de TSP 1 % (●), 5 % (■), et 10 % (◆). Les résultats sont exprimés en pourcentage du contrôle.

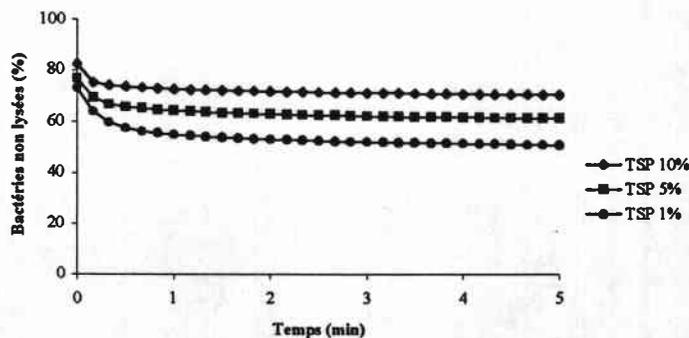
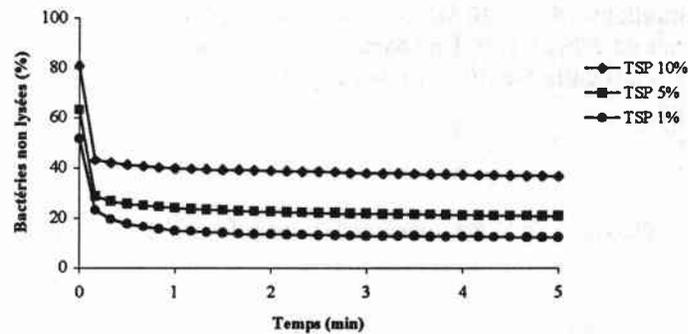


FIGURE 3 : Cinétique de lyse de *S. typhimurium* IPL (phase exponentielle) en présence de TSP 1 % (●), 5 % (■), et 10 % (◆). Les résultats sont exprimés en pourcentage du contrôle.



Discussion

L'étude du mode d'action du TSP est rendue difficile du fait même de son efficacité sur *S. typhimurium*, nous obligeant à utiliser de forts inocula bactériens, bien supérieurs à la réalité rencontrée sur les chaînes d'abattage de volailles. Néanmoins le TSP, utilisé à 10 %, démontre un fort effet bactéricide (5 log) sur un inoculum bactérien de 5.10^6 UFC/ml, ainsi qu'un effet lytique, qui varie entre 25 et 60 % selon l'état physiologique des bactéries. Un dénombrement, effectué sur la fraction non lysée, a montré une bactéricidie totale. L'efficacité du TSP laisse à penser à une déstabilisation de la membrane externe. Cette déstabilisation peut être expliquée par une chélation de cations induisant une modification de l'osmolarité.

Références

- Mendonca A.F., Amoroso T.L., Knabel S.J., 1994. Appl. Environ. Microbiol., 60, 4009-4014.
Somers E.B., Schoeni J.L., Wong A.C.L., 1994. Int. J. Food Microbiol., 22, 269-276.