

Bacilles Gram négatifs aéro-anaérobie facultatifs (suite)

2. Famille *Pasteurellaceae*

Cette famille est apparentée aux *Enterobacteriaceae*, aux *Vibrionaceae*, aux *Aeromonadaceae* et au genre *Alteromonas*.

Elle regroupe 16 genres : *Actinobacillus*, *Aggregatibacter*, *Avibacterium*, *Basfia*, *Bibersteinia*, *Chelonobacter*, *Gallibacterium*, *Haemophilus*, *Histophilus*, *Lonepinella*, *Mannheimia*, *Necropsobacter*, *Nicoletella*, *Pasteurella*, *Phocoenobacter*, et *Volucribacter*. Les genres ayant une importance en médecine vétérinaire sont : *Actinobacillus*, *Avibacterium*, *Haemophilus*, *Histophilus*, *Mannheimia*, *Pasteurella* et *Bibersteinia*.

Les membres de cette famille sont des coccobacilles (souvent polymorphes) à Gram négatif, immobiles, chimio-organotrophes, aérobies, micro-aérophiles ou aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentatif, réduisant les nitrates et le plus souvent catalase, oxydase et phosphatase alcaline positives. Ce sont des parasites obligatoires ou des commensaux des voies respiratoires et génitales, agissant par virulence soutenue par un complexe de toxines RTX (Repeats in Toxin) et d'endotoxines.

2.1 Genre *Pasteurella*

Pasteurella : suff. dim. L. *-ella* ; n. fém. N.L. *Pasteurella*, en l'honneur du bactériologiste L. Pasteur (1822-1895).

Le nombre d'espèces du genre *Pasteurella*, ainsi que leurs noms, ont beaucoup varié au fil du temps. Selon la classification actuelle, ce genre comprend 22 espèces et 03 sous-espèces, dont les plus importantes sont : *P. multocida* (avec les sous-espèces *multocida*, *gallicida* et *septica*), *P. aerogenes*, *P. anatis*, *P. canis*, *P. trehalosi*, *P. pneumotropica*, *P. testudinis* ...

2.1.1 *Pasteurella multocida*

multocida : adj. L. *multus -a -um*, nombreux, abondant ; v. L. *caedere*, tuer ; suff. L. *-cida*, un tueur ; n. nom. N.L. *multocida*, qui tue plusieurs espèces animales.

Habitat

Bactéries commensales de la cavité buccale (salive) et la muqueuse respiratoire antérieure chez de nombreuses espèces de mammifères (chiens, chats, chevaux, porcs, sangliers, etc.) et d'oiseaux. Elles pourraient aussi vivre dans les tissus, d'où elles sont ensuite captées par les macrophages qui les redéposeraient aux surfaces des muqueuses.

Résistance / sensibilité

Les Pasteurelles sont des germes peu résistants aux différents facteurs environnementaux. Elles ne peuvent survivre que 10 mn à 60°C ; mais dans les carcasses elles peuvent persister pendant 03 mois. Elles peuvent persister dans l'air (05% pendant 45 min), dans l'eau distillée et l'eau de mer (14 jours à 04°C et moins de 24 heures à 37 °C) et dans le lisier de porc (03 jours à 04 °C et 06 jours à 37 °C). Elles sont capables aussi de subsister dans le sang.

Le phénol à 0.5% les inactive en 15 mn, et le crésol en 05 mn. L'hypochlorite de sodium à 01%, l'éthanol à 70%, le formaldéhyde, le glutaraldéhyde, l'iodophore et l'acide peracétique sont aussi très actifs sur ces bactéries.

Elles sont inactivés par les UV, les micro-ondes, les rayonnements gamma, la chaleur humide (121°C pendant au moins de 20 min) et la chaleur sèche (165-170°C pendant 02 h).

Morphologie

Ce sont des coccobacilles (0.3-01 µm) ou des bacilles un peu plus longs (02-05 µm), non ciliées et non sporulées.

Elles sont Gram négatif à coloration, le plus fréquemment, bipolaire (surtout au bleu de méthylène) leur donnant l'aspect de bouton-navette. Dans les frottis, elles apparaissent isolées, parfois en diplo et très rarement en chaînettes.

La cellule bactérienne est entourée d'une microcapsule polysaccharidique dont l'épaisseur varie avec le sérotype. Elle est antigénique et joue un rôle important dans la pathogénie.

Caractères culturels

La température de croissance est comprise entre 22 et 44°C avec un optimum à 37°C. L'incubation des cultures peut se faire en aéro-anaérobiose, en microaérobiose et préférentiellement sous CO₂.

Les Pasteurelles peuvent croître sur milieux usuels incubés à 37°C pendant 24 heures ; mais, l'isolement, en particulier des souches d'origine bovine, nécessite des milieux additionnés de sérum ou de sang. Le glucose favorise également leur croissance et la présence de facteur V est essentielle pour quelques espèces.

En bouillon, elles provoquent une turbidité modérée homogène après 24 heures avec formation progressive d'un dépôt qui reste adhérent au fond du tube et remonte en forme de tire-bouchon après agitation.

En gélose profonde VF une petite inhibition à la surface et un renforcement de la croissance en micro-aérophilie sont constatés.

Sur gélose au sang cuit, les Pasteurelles forment en 48 heures des colonies lisses grisâtres (en gouttes de rosée) ou jaunâtres de 02 mm de Ø. Des colonies mucoïdes plus grandes de 03 mm de Ø sont caractéristiques des souches capsulées. Sur gélose au sang, aucune hémolyse n'est produite. Les cultures ont une odeur douceâtre "sweetish" caractéristique.

Les *Pasteurella* sont incapables de pousser sur milieu au citrate de Simmons et généralement pas sur gélose de MacConkey, gélose de Drigalski et eau de levure.

Caractères biochimiques

Les Pasteurelles ont une activité biochimique modérée. La plupart des souches fermentent le glucose (toujours sans production de gaz), mannitol, galactose, fructose, mannose et saccharose. Par contre, elles ne fermentent pas le lactose, la salicine, l'inositol, le rhamnose, le mélibiose et l'amygdaline. La production d'indole, d'ammoniac, de catalase, d'oxydase, d'ODC et la réduction des nitrates sont positive. La gélatinase, l'uréase, le H₂S, l'ONPG, l'ADH, la LDC et la coagulation du lait sont négatifs.

Structure antigénique

Sur la base de l'étude des antigènes capsulaires (K) polysaccharidique, par hémagglutination passive et séroagglutination, les Pasteurelles se répartissent sur 05 groupes sérologiques identifiés par les lettres A, B, D, E et F. Les techniques d'immunodiffusion établissent l'existence de trois types antigéniques : l'antigène β de nature polysaccharidique avec une spécificité de type et présent chez les variants mucoïdes ; l'antigène α glycoprotéique, adhérent à la paroi et immunogène, et l'antigène γ de nature liposaccharidique et présent chez toutes les souches.

Sur la base de la recherche d'antigènes lipopolyosidiques de la paroi par la technique de précipitation sur gel, 16 sérotypes sont identifiables chez *P. multocida*. Ces lipopolyosides de paroi, possédant les caractères des endotoxines des bacilles à Gram négatif.

La sérotypie n'est pas utilisée en pratique courante en raison de sa complexité.

Pathogénie

Les mécanismes par lesquels *P. multocida* induit les différents états pathologiques sont encore mal compris. La pathogénicité de cette bactérie est due à sa capacité de se multiplier intensément dans différents tissus, principalement respiratoires.

La virulence est renforcée par la production d'une endotoxine peptidique puissante (dermonécrotique et ostéolytique), des lipopolysaccharides (LPS) et des toxines de type RTX porogènes et cytotoxiques. La virulence des souches encapsulées est plus élevée, car la capsule leur confère une résistance à la phagocytose et aux complexes d'attaque membranaire issus de l'activation du complément lytique.

Le LPS provoque l'apparition des symptômes et des lésions de la septicémie hémorragique. D'autres facteurs de virulence ont été aussi identifiés tels que les adhésines de surface, les sidérophores (appelés multocidines, ainsi que les fimbriae (présentent chez certaines souches de sérotypes A, B et D), qui assurent l'adhésion aux épithéliums muqueux. Quelques souches aviaires produisent une protéine extra-membranaire toxique pour les cellules phagocytaires.

D'une manière générale, l'action des toxines provoque une modification de la répartition des leucocytes dans le corps, avec leucopénie périphérique et concentration des leucocytes dans les capillaires pulmonaires, favorisant la survenue de pneumonies. Il existe également des modifications de la perméabilité vasculaire, entraînant des lésions œdémateuses et hémorragiques, en particulier chez les bovins et les porcs. Chez le lapin, les Pasteurelles peuvent provoquer, en plus des lésions œdémateuses, des lésions suppurées.

Pouvoir pathogène

L'évolution clinique de la pasteurellose est corrélée à la souche (sous-espèce), sa virulence et sa résistance. *P. multocida* ssp. *multocida* est responsable d'infections chez les animaux domestiques, *P. multocida* ssp. *gallicida* est isolée exclusivement des oiseaux, chez qui elle provoque occasionnellement le choléra, alors que *P. multocida* ssp. *septica* est associée aux humains, chiens, chats et quelques espèces d'oiseaux.

La maladie animale évolue sous trois formes :

- Suraiguës : après une incubation de 24 heures, les signes d'une intoxication rapide et mortelle, caractérisée par de nombreuses hémorragies viscérales ;
- Aigues : évoluant sur 04 à 06 jours, elles sont caractérisées par une atteinte pulmonaire avec des signes généraux (fièvre) toujours marqués. C'est à ces formes qu'est rattaché le choléra aviaire ;
- Chroniques : se traduisant par des pleurésies purulentes ou des arthrites suppurées.

Les symptômes et les lésions pouvant être observés sont comme suit :

Sérotype	Hôtes	Pathologies
<i>P. multocida</i> A	Bovins	Pneumonie consécutive au syndrome de la fièvre des transports, pneumonie enzootique des veaux, rarement mammites.
	Ovins	Pneumonie, mammites
	Porcs	Pneumonie, rhinite atrophique progressive (cornets nasaux et ethmoïdaux)
	Volailles	Choléra aviaire (diarrhée, œdèmes articulaires et aux barbillons, râles, torticolis)
	Lapins	Reniflements, pneumonie, otite moyenne/interne, conjonctivite, abcès
	Autres espèces	Pneumonie consécutives au stress
<i>P. multocida</i> B	Bovins et buffles	Septicémie hémorragique (Asie)
<i>P. multocida</i> D	Porcs	Rhinite atrophique, pneumonie
<i>P. multocida</i> E	Bovins et buffles	Septicémie hémorragique (Afrique)
<i>P. multocida</i> F	Volailles (Dindes)	Choléra
	Veaux	Péritonite (Rare)

La pasteurellose ne survient qu'occasionnellement chez d'autres espèces animales. Elle a été décrite chez les carnivores (chats et chiens), les chevaux, les ânes, les rats, les otaries de Californie, l'opossum, les singes, les chauves-souris, les cailles et les kangourous.

Chez l'homme, la maladie peut avoir deux types de formes : des formes locales ou locorégionales (dites pasteurelloses d'inoculation) consécutives à des morsures de chiens ou de chats, mais aussi de griffures ou au léchage. Et des formes plus généralisées caractérisées par des septicémies, des endocardites, pleuropulmonaires, des méningites et des suppurations diverses.

Diagnostic

Les prélèvements à analyser dépendent de l'espèce animale et de la forme de la maladie. Pour les animaux vivants, le choix porte sur le pus, les exsudats, les écouvillons nasaux, les lavages broncho-alvéolaires et le lait mammitiqueux.

Les os longs non ouverts, les biopsies ou les portions d'organes (foie, rate, cœur), les frottis sanguins ou les calques d'organes sont les prélèvements de prédilection lors d'autopsie de gros animaux. Pour les lapins et les oiseaux, il faut envoyer des carcasses entières.

Le recours à des milieux de transport est d'une grande importance puisque beaucoup de souches sont fragiles en dehors de leurs hôtes.

Les Pasteurelles ne sont pas facilement discernables dans les frottis (surtout les calques d'organes) colorés au Gram. Par contre des aspects évocateurs peuvent être observés (après coloration de Gram ou de Leishman) de produits pathologiques issus de formes systémiques.

L'ensemencement se fait sur deux types de milieux enrichis :

- Une gélose au sang cuit incubée à 37°C pendant 72 à 96 heures en atmosphère enrichie en CO₂ ;
- Une gélose au sang incubée en anaérobiose à 37°C pendant au moins 48 heures.

Si une flore de contamination existe, des géloses au sang sélectives (additionnées d'amikacine+vancomycine ou de néomycine+bacitracine+actidione) peuvent être utilisées.

L'identification biochimique peut parfois s'avérer difficile en raison des ressemblances existant entre *Pasteurella*, *Actinobacillus*, *Bibersteinia* et *Avibacterium*. Cependant les systèmes API 20E, API 20NE, API ZYM, et automates Vitek permettent une identification correcte de *P. multocida*.

Autrefois, l'inoculation intrapéritonéale aux souris été largement utilisée pour l'étude du pouvoir pathogène de cette bactérie. Le pigeon est également très sensible ; mais le cobaye est résistant.

Les tests sérologiques n'ont pas d'intérêt pratique en raison de leur faible sensibilité. Néanmoins, des tests ELISA sont préconisés pour déterminer les titres d'anticorps dans les troupeaux de volailles. La confirmation nécessite le recours à des méthodes moléculaires telles que : spectrométrie de masse, 16S rRNA sequencing, *In situ* hybridization et différentes PCR.

Dans les formes chroniques où il n'y a plus de bactéries dans les lésions, une intradermoréaction à la pasteurelline de Reilly peut être recherchée.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les Pasteurelles sont en général sensibles aux β -lactamines, à la néomycine, à l'érythromycine, à la streptomycine, à la polymyxine, aux fluoroquinolones et aux tétracyclines. Des souches résistantes à l'amikacine, la clindamycine et d'autres antibiotiques sont fréquemment enregistrées, d'où la nécessité du recours à l'antibiogramme (méthode des disques sur gélose Muller-Hinton additionnée de 05% de sang ovin). La recherche des CMI doit se faire selon la méthode de dilution en milieu liquide (bouillon Muller-Hinton). L'incubation se fait à 35°C pendant 18 heures ou 24 heures pour certaines souches.

La prophylaxie repose sur l'amélioration des conditions d'élevage (surtout la réduction du stress et l'élimination des sources de l'infection) et la vaccination. Différents vaccins (tués ou vivants atténués) sont utilisés ; mais leur sûreté et leur efficacité sont discutables. Une antibio-prévention peut être aussi envisagée en administrant différentes associations (selon l'espèce d'élevage) : sulfamides potentialisés, chloramphénicol ou tétracyclines.

NB : D'autres espèces du genre *Pasteurella* ont été aussi décrites en pathologie animale :

<i>Pasteurella</i> <i>spp.</i>	Hôtes	Manifestions
<i>P. aerogenes</i>	Porcs	Commensale de l'intestin, peut provoquer des avortements
<i>P. anatis</i>	Canards	Commensale de l'intestin
<i>P. caballi</i>	Chevaux	Commensale des voies respiratoires supérieures, rarement impliquée dans des infections respiratoires et des cas de péritonites
<i>P. canis</i>	Chiens	Commensale de la cavité buccale, agent de surinfection des plaies
<i>P. dagmatis</i>	Chiens et chats	Commensale de la cavité buccale et du nasopharynx, agent de surinfection des plaies
<i>P. langaaensis</i>	Poulets	Commensale des voies respiratoires supérieures
<i>P. lymphangitidis</i>	Bovins	Lymphangites
<i>P. mairii</i>	Porcs	Rares avortements
<i>P. pneumotropica</i>	Rongeurs	Commensale des voies respiratoires supérieures, responsables de cas sporadiques de pneumonies et d'abcédations des plaies de morsures
<i>P. stomatis</i>	Chiens et chats	Commensale des voies respiratoires
<i>P. testudinis</i>	Tortues d'eau et de terre	Abcédations
<i>P. trehalosi</i>	Ovins	Septicémie, pneumonie et mort subite des agneaux d'engraissement

2.2 Genre *Actinobacillus*

Actinobacillus : n. Gr. *actis-inis*, rayon ; n. L. *bacillus* (ou *bacillum*) -i, baguette, petit bâton (en bactériologie un petit bacille) ; n. masc. N.L.

Actinobacillus, un petit bacille en forme de rayon.

Les bactéries groupées dans ce genre ont beaucoup varié au fil du temps. Elles ont de nombreuses parentés avec les Pasteurelles, mais se distinguent d'elles par leur capacité de croissance en présence de sels biliaires. Ce sont des Gram négatif, immobiles, sporulés, éventuellement aérobies/anaérobies, capables de fermenter des sucres sans production de gaz. Actuellement 17 espèces et 02 sous-espèces figurent dans ce genre dont les plus importantes sont : *A. pleuropneumoniae*, *A. lignieresii* (représentant du genre), *A. equuli* ssp. *equuli*, *A. equuli* ssp. *haemolyticus*, *A. capsulatus*, *A. delphinicola*, *A. rossii*, *A. porcinus*, *A. muris*, *A. suis*, *A. seminis*, *A. arthritidis*, *A. scotiae*...

2.2.1 *Actinobacillus lignieresii*

lignieresii : n. gén. N.L. *lignieresii*, en l'honneur du bactériologiste J. Lignières (1868-1933).

Habitat

C'est un commensal des muqueuses des voies respiratoires supérieures et du tube digestif des bovins et des ovins, en particulier la cavité buccale et le rumen.

Résistance / sensibilité

Ce germe est considéré comme étant fragiles dans l'environnement, et il ne peut survivre que pendant 04 à 05 jours dans le granulé et le foin. Il est inactivé à 60°C en 10 minutes et à 100°C en 01 minute. Il ne peut résister que moins de 24 h en milieu sec.

De tous les antiseptiques, le sublimé corrosif (Chlorure de mercure) est le plus actif ; mais la bactérie est généralement sensible aux désinfectants couramment utilisés tels que : le glutaraldéhyde, l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène.

Morphologie

C'est un germe polymorphe à Gram négatif avec des formes à prédominance coco-bacillaires (dans les cultures sur gélose), bacillaires et rarement filamenteuses (dans les sérums et les bouillons glucosés). Généralement sa taille est comprise entre 0.3 et 0.5/0.6 et 0.1.4 µm. Il se colore souvent de manière irrégulière (bipolaire) et se présente isolé, par paires et rarement en chaînes. À l'examen microscopique, l'aspect des cultures rappelle l'alphabet Morse. Il est non sporulé, immobile et fréquemment capsulé.

Caractères cultureux

La température optimale de croissance est de 35-37°C et aucune culture n'est obtenue à 04, 10 ou 45°C. Généralement la croissance est possible entre 20 et 42°C.

C'est un germe aéro-anaérobie facultatif dont la culture se fait généralement sur des géloses chocolat ou au sang frais (supplémentées en facteur V ou ensemencées avec une strie nourricière de staphylocoques, seulement pour quelques souches). Les colonies sont petites (01 à 02 mm), translucides, luisantes et entourées d'une zone de β-hémolyse (caractère variable selon les souches). L'activité hémolytique dépend de l'espèce animale et elle est amplifiée par le test CAMP.

Il existe deux types de colonies, certaines cireuses et d'autres visqueuses. À l'isolement, les colonies ont tendance à adhérer à la gélose, mais ce caractère peut être perdu lors des repiquages. Dans les bouillons glucosés, les souches les plus adhérentes donnent des cultures visqueuses non pigmentées. L'incubation sous une atmosphère enrichie en 05-10% de CO₂ est requise pour une bonne croissance.

Cette bactérie peut croître sur la gélose de MacConkey (en donnant de colonies minuscules et pâles, virant au rose après 48 heures) et la gélose TSI (triple sugar iron avec virage du milieu au jaune orange sans gaz); mais pas sur le milieu au citrate de Simmons.

Les cultures meurent après une semaine et il est presque impossible de repiquer des cultures viables après 03 jours.

Caractères biochimiques

Cette bactérie n'a pas d'activité biochimique intense. Elle est chimio-organotrophe, à métabolisme respiratoire et/ou fermentatif, fermentant le glucose sans production de gaz. Elle peut aussi attaquer le maltose et le saccharose ; mais pas le mannitol, le mélibiose ni le tréhalose. La fermentation du lactose est tardive.

Les tests de l'uréase et de la nitrate réductase (sans production de gaz) sont positifs. Ceux de l'ADH, la LDC, la phénylalanine désaminase, l'indole, du VP et du rouge de méthyle sont négatifs. Et ceux de la catalase, l'oxydase et l'hydrolyse de l'esculine sont variables.

Structure antigénique

06 sérotypes ont été définis sur la base des antigènes somatiques, qui induisent la production d'anticorps agglutinants et précipitants chez les animaux infectés.

Il a été démontré que certains sérotypes démontrent certaines préférences pour certaines espèces d'hôtes et certaines régions géographiques.

A. lignieresii a des parentés antigéniques avec d'autres espèces de bactéries Gram-négatives (*E. coli*, *Burkholderia mallei*, *Mannheimia haemolytica*), et avec d'autres espèces du genre *Actinobacillus*.

Pathogénie

Les facteurs de pathogénicité d'*A. lignieresii* sont très peu connus, et ce malgré sa grande importance en médecine vétérinaire. Ils sont représentés principalement par :

- La capsule polysaccharidique : protège la bactérie des phagocytes et du complément lytique ;
- Les exotoxines RTX porogènes : très répandues chez les *Pasteurellaceae*, elles induisent la production de médiateurs de l'inflammation, et exercent un effet cytotoxique, ce qui entraîne l'inflammation du tissu infecté ou la mort de ses cellules par nécrose ou par apoptose.
- Le lipopolysaccharide LPS : intervient dans l'adhésion de la bactérie aux cellules de l'hôte, facilitant ainsi la colonisation. Il est capable d'interagir avec les exotoxines RTX et renforcer de ce fait leurs actions hémolytiques et cytotoxiques. Il peut aussi faciliter la prise du fer en se combinant avec l'hémoglobine ;
- Les mécanismes d'acquisition du fer : *A. lignieresii* est capable de capter le fer grâce à un mécanisme médié par des récepteurs indépendants des sidérophores ;
- La production d'uréase : permet à la bactérie d'avoir de l'ammoniac qui est sa source préférée de nitrogène. L'uréase permettrait aussi à la bactérie de survivre dans les macrophages, puisque l'ammoniac inhibe la fusion phagosome-lysosome et augmente le pH dans les phagosome inhibant ainsi de nombreuses hydrolases acides ;
- Les protéases : dégradent les IgA et l'hémoglobine. Le clivage des IgA favorise la colonisation et la dissémination de la bactérie dans les muqueuses ;
- Les fimbriae : pourraient intervenir dans l'adhésion.
- Les glucides de surface de haut poids moléculaire associés au LPS capsulaire peuvent jouer un rôle dans la récupération des radicaux libres d'oxygène toxiques.

D'une manière générale, la fixation de la bactérie sur un site entraîne l'initiation d'une réponse inflammatoire due au LPS de la paroi cellulaire et l'uréase. La capsule interfère avec la phagocytose (anti-phagocytaire) et protège la membrane bactérienne externe du dépôt du complexe d'attaque membranaire issu de l'activation du complément. Les

protéines de liaison à la transferrine participent à l'acquisition du fer et les toxines RTX vont intensifier la réponse inflammatoire en activant et endommageant les neutrophiles et les macrophages. Si le processus infectieux implique les poumons, les épithéliocytes alvéolaires sont également endommagés. Les Actinobacilles (producteurs d'uréase) qui sont phagocytés, résisteront à la destruction en générant de l'ammoniac et peut-être de la superoxyde dismutase. L'opsonisation est réduite par la production d'IgG protéase.

Pouvoir pathogène

Le germe est pathogène pour les bovins, ovins et porcins, provoquant l'actinobacillose, une infection caractérisée par la formation d'abcès de différentes tailles dans les tissus mous (ganglions lymphatiques, langue, pharynx, poumon) et moins souvent dans d'autres tissus. Ces abcès (pyogranulomes) sont remplis d'un exsudat contenant de petites granules, blanc grisâtres d'environ 01 mm de Ø.

Les bovins atteints souffrent d'un durcissement de la langue (appelé langue de bois : wooden or timber tongue) et de dysphagie avec perte de poids. Des infections des tissus mous, principalement de la tête et du cou, ont été décrites chez les bovins et les ovins.

A. lignieresii a été isolé de poumons de moutons malades, de lésions de glossite chez le chien, de ganglions lymphatiques enflés chez les rats, de pis de vaches et de truies mammites et de cas d'arthrites et de conjonctivites chez le lapin.

Diagnostic

Les produits pathologiques à analyser sont représentés par le pus, les exsudats, les biopsies et les fragments de tissus prélevés à l'autopsie.

La microscopie directe est d'une grande valeur diagnostique. Le pus ou les exsudats sont lavés avec de l'eau distillée dans une boîte de Pétri pour révéler les petites granules blanc grisâtres. Quelques-uns de ces granules sont placés dans une goutte de KOH à 10% sur une lame et écrasés doucement avec une lamelle. Des structures en forme de massues peuvent alors être observées à faible grossissement. La lamelle peut ensuite être retirée et le prélèvement étalé sur la lame. Une coloration de Gram permettra alors de révéler la présence de petits bacilles à Gram négatif non sporulés. À l'état frais, ces germes sont immobiles.

Pour l'isolement de cette bactérie, le pus ensemencé directement ne donne parfois aucune culture. Ainsi, il faut prendre la précaution de le broyer soigneusement dans un mortier stérile avant de l'ensemencer sur les différents milieux (gélouses au sang, MacConkey et TSI) en respectant toutes les conditions de l'incubation.

L'identification est basée sur l'étude des caractères biochimiques. La confirmation des souches est effectuée par ELISA, par PCR ou par séquençage du gène ARNr 16S, et la détermination des sérovars par des tests de précipitation sur gel d'agarose. Les techniques sérologiques sont peu utilisées puisque les tests biochimiques et les caractères culturels permettent une bonne orientation.

La reproduction expérimentale de l'infection chez des animaux naturellement réceptifs ne réussit que parfois.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Pour tester la sensibilité des souches d'*A. lignieresii* aux antibiotiques par la méthode des disques, il est recommandé d'utiliser la gélose Mueller–Hinton chocolat.

Les Actinobacilles sont généralement sensibles aux : ampicilline, pénicilline, macrolides, oxytétracycline, tiamuline, et ceftiofur.

Dans l'actinobacillose bovine, les sulfamides potentialisés, une association de pénicilline et de streptomycine, la terramycine et le chloramphénicol se sont avérés être parmi les antibiotiques les plus efficaces. Un traitement oral à l'isoniazide durant 30 jours pourrait apporter une amélioration des formes rebelles.

Pour prévenir les infections liées à cette bactérie, les aliments grossiers et les pâturages pouvant endommager la muqueuse buccale doivent être évités. Il n'existe pas de vaccin commercialisé.

NB : D'autres espèces du genre *Actinobacillus* ont été aussi décrites en pathologie animale :

<i>Actinobacillus</i> spp.	Hôtes	Pathologies
<i>A. arthritidis</i>	Chevaux	Arthrites, septicémie
<i>A. capsulatus</i>	Lapins	Arthrites, septicémie
<i>A. delphinicola</i>	Mammifères marins	Rôle incertain
<i>A. equuli</i> ssp. <i>equuli</i>	Chevaux	Métrites, septicémie, avortement, maladie articulaire (arthrite purulente)
<i>A. equuli</i> ssp. <i>haemolyticus</i>	Chevaux	Endocardite, méningites, métrite, avortement, infections respiratoires et infection des palies
<i>A. indolicus</i>	Porc	Rôle incertain
<i>A. minor</i>	Porc	Rôle incertain
<i>A. muris</i>	Rongeurs	Rôle incertain
<i>A. pleuropneumoniae</i>	Porc	Pleuropneumonie fibrineuse
<i>A. porcinus</i>	Porc	Rôle incertain
<i>A. rossii</i>	Porc	Métrite, avortement
<i>A. scotia</i>	Mammifères marins	Rôle incertain
<i>A. seminis</i>	Ovins	Orchites, épидidymites
<i>A. succinogenes</i>	Bovins	Rôle incertain
<i>A. suis</i>	Porc	Septicémie

2.3 Genre *Haemophilus*

Haemophilus : n. Gr. *haima* -atos, le sang ; adj. Gr. *philos* -ê-on, aimant ; adj. N.L. *philus* -a -um, aimant ; n. masc. N.L. *Haemophilus*, un amateur de sang.

Le genre *Haemophilus* a été créé sur la base d'*H. influenzae* (bacille de Pfeiffer ou *Bacillus influenzae*). C'est un ensemble hétérogène comptant des espèces qui produisent une grande diversité d'infections, mais qui ont une morphologie commune et une exigence en facteurs de croissance dérivés du sang (le facteur X "protoporphyrine, protohème ou hémine" et/ou le facteur V "NAD ou NADP"), ce qui a donné au genre le nom "amateur du sang". Il regroupe 16 espèces d'origine animale et humaine dont les plus importantes en pathologie vétérinaire sont : *H. parasuis*, *H. haemoglobinophilus*, *H. paracuniculus*, *H. piscium*, *Taylorella equigenitalium* (*H. equigenitalium*).

Ce genre a subi de nombreux remaniements taxonomiques qui ont conduit par exemple au réarrangement de l'espèce *Haemophilus somnus* dans le genre *Histophilus* (devenant *H. somni*), au reclassement de l'espèce *Haemophilus piscium* parmi *Aeromonas salmonicida*, au regroupement de certaines espèces isolées d'oiseaux dans le genre *Avibacterium* (*A. paragallinarum*, *A. avium*, *A. volantium* et *A. endocarditis*) et à l'individualisation du genre *Aggregatibacter*. Très récemment (en 2021 et en 2019), *Haemophilus haemoglobinophilus* et *H. parasuis* ont été rebaptisés *Canicola haemoglobinophilus* (genre *Canicola*) et *Glaesserella parasuis* (genre *Glaesserella*) respectivement.

Habitat

Les espèces d'*Haemophilus* sont des commensaux des muqueuses de l'homme et l'animal (mammifères et oiseaux), le plus souvent des voies respiratoires supérieures et génitales inférieures. *H. parasuis* colonise le nasopharynx des porcs sains, *H. felis* celui des chats, *H. haemoglobinophilus* est un commensal de l'appareil génital des chiens et *H. paracuniculus* a été isolé des intestins des lapins.

La plus part des espèces animales sont porteuses d'au moins une souche spécifique d'*Haemophilus*.

Résistance / sensibilité

Haemophilus spp. ont une faible résistance aux conditions environnementales. Ils sont très susceptibles à la dessiccation et en conséquence ne peuvent pas survivre longtemps en dehors de leurs hôtes. Ils sont facilement détruits par les rayons UV et Gamma et par la chaleur sèche (165-170°C pendant 2 h) et humide (121°C durant au moins 20 min).

Haemophilus spp. sont sensibles aux désinfectants phénoliques, à l'hypochlorite de sodium, à l'éthanol 70%, au formaldéhyde et glutaraldéhyde, aux iodophores, à l'acide peracétique et à la chlorhexidine.

Morphologie

Les bactéries du genre *Haemophilus* sont de petits bacilles ou coccobacilles avec un polymorphisme très accentué allant des coccobacilles (0.3/0.5 µm) aux formes filamenteuses (plus de 10 µm de long), Gram négatifs, immobiles, non sporulés et non capsulés (à l'exception de quelques isolats d'*H. parasuis*).

Caractères cultureux

Les *Haemophilus* sont aéro-anaérobies facultatifs. Leur température optimale d'incubation est de 35 à 37°C, mis à part *H. ducreyi* qui nécessite préférentiellement 33 à 35°C. La croissance de nombreuses espèces est stimulée en présence de 05-10% de CO₂. Cette atmosphère n'est pas inhibitrice pour ces bactéries et elle est utilisée pour leur isolement de routine, en association avec une humidité élevée en raison de leur sensibilité à la dessiccation.

Aucune des espèces d'*Haemophilus* ne peut pousser sur gélose ordinaire sans supplémentation par les facteurs X et/ou V. Parmi les 16 espèces décrites, 03 exigent les facteurs X et V (*H. influenzae*, *H. aegyptius* et *H. haemolyticus*), 02 n'exigent que le facteur X (*H. haemoglobinophilus* et *H. ducreyi*) et 11 n'exigent que le facteur V. Ces dernières sont désignées par le préfixe "para".

Le facteur X est thermostable et présent en quantités adéquates dans la gélose au sang. Le facteur V est présent dans les globules rouges et est sensible aux NADases présentes dans la plupart des sangs.

Pour la culture des *Haemophilus* isolés d'animaux, la gélose chocolat est la plus satisfaisante. Après une incubation de 03 à 04 jours sous 10% de CO₂ à 35-37 °C, de petites colonies en gouttes de rosée (01 mm) apparaissent ; bien qu'une certaine croissance puisse être observée après 24-48 heures. Les colonies des souches capsulées sont brillantes et irisées.

Sur gélose au sang frais, aucune des espèces d'origine animale n'est systématiquement hémolytique, à l'exception d'*H. ovis* qui présente une hémolyse variable.

En bouillon de culture enrichi, ces bactéries génèrent un trouble homogène ; alors que les souches encapsulées produisent un dépôt granuleux.

Caractères biochimiques

Les *Haemophilus* d'origine animale présentent une grande variabilité dans leurs profils biochimiques, dont certains sont résumés dans le tableau suivant :

	Facteur X	Facteur V	Catalase	Oxidase	Croissance stimulée par le CO ₂	Hémolyse	Indole	Uréase	Glucose	Nitrate réductase	Saccharose	Lactose	D-Xylose	Mannitol	ODC	ADH
<i>H. parasuis</i>	-	+	+	-	v	-	-	-	+	+	+	v	-	-	-	-
<i>H. haemoglobinophilus</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>H. paracuniculus</i>	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
<i>H. influenzaemurium</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	nd	nd
<i>H. felis</i>	-	+	+	-	+	+a	-	-	-	+	+	+	-	+	-	nd

+ : positif ; - : négatif ; v : variable ; nd : non déterminé ; a : visible à partir de 3 jours d'incubation

Structure antigénique

Les principaux antigènes pouvant être rencontrés chez les *Haemophilus* sont les pili ou fimbriae, le lipopolysaccharide, la capsule (pour les souches encapsulées) et les protéines de la membrane externe. Cependant, les propriétés antigéniques des constituants de la surface des espèces d'origine animale sont assez peu connues.

Par exemple, chez *H. parasuis*, 15 sérotypes ont été identifiés sur la base d'antigènes thermostables d'extraits de cultures bactériennes. Un rapport entre virulence et sérotypes pourrait exister, puisque les sérotypes 01, 05, 10, 12, 13 et 14 seraient les plus virulents.

Pathogénie

Les facteurs de virulence proposés pour *Haemophilus* spp. sont :

- Les adhésines : permettent à la bactérie qui les exprime d'adhérer aux cellules tapissant une niche particulière. L'expression des adhésines dépend de diverses conditions environnementales ;
- La paroi cellulaire : contient du LPS qui, en se liant à la protéine de liaison au LPS, déclenche la libération de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et d'autres leucocytes, induisant ainsi des réponses inflammatoires locales ou systémiques ;
- La capsule polysaccharidique (si présente) : interfère avec la phagocytose et protège la membrane externe bactérienne du dépôt des complexes d'attaque générés par l'activation du complément lytique ;

- Acquisition du fer : les membres du genre *Haemophilus* et grâce à deux polypeptides membranaires peuvent lier le fer de la transferrine de l'hôte. Ce mécanisme est activé en cas de pénurie en fer. *H. parasuis* pourrait utiliser le ferrichrome comme source de fer ;
- La formation de biofilms (pour certaines espèces. Ex : *H. parasuis*) : a été décrite récemment. Les biofilms jouent un rôle important dans l'évasion du système immunitaire et dans la résistance aux agents antimicrobiens, conduisant à des infections persistantes et chroniques ;
- Le lipo-oligosaccharide LOS : son rôle n'a pas encore été complètement élucidé. Il pourrait être impliqué dans la formation de microthrombose ;
- La neuraminidase ou sialidase.

D'une manière générale, la bactérie colonise initialement la muqueuse nasale, puis franchit la barrière muqueuse, accède à la circulation sanguine et se réplique au niveau des sites séreux pour produire une infection systémique et une inflammation fibrinopurulente. L'endotoxine induit une coagulation intravasculaire disséminée, entraînant la formation de microthrombus dans le foie, les poumons et les reins. Une pompe Na⁺ est supposée permettre à l'organisme de se développer face aux radicaux superoxydes produits lors de la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection, et un modulateur putatif de la réponse au choc thermique peut empêcher les dommages aux cellules bactériennes. La neuraminidase peut aider à piéger les nutriments, à démasquer les récepteurs et à interférer avec l'immunité par des effets sur la demi-vie des anticorps sécrétoires.

Pouvoir pathogène

Les différentes pathologies animales provoquées par les espèces d'*haemophilus* sont résumées dans le tableau suivant :

<i>Haemophilus</i> spp.	Hôtes	Pathologies
<i>H. felis</i>	Chats	Occasionnellement des infections respiratoires (rhinites, conjonctivites)
<i>H. haemoglobinophilus</i>	Chiens	Rarement : vaginites, cystites, balanoposthites, infection néonatales, mortalités
<i>H. influenzaemurium</i>	Rongeurs	Infections respiratoires et oculaires
<i>H. paracuniculus</i>	Lapins	Entérites mucoïdes,
<i>H. parasuis</i>	Porcs	Maladie de Glässer, infections respiratoires secondaires, méningites, myosites, pneumonies, septicémies

Diagnostic

Les espèces d'*Haemophilus* sont fragiles et les prélèvements doivent être protégés de la dessiccation et mis en culture dès que possible (dans les 24 heures) après la collecte. La réfrigération et les milieux de transport peuvent ne pas être bénéfiques, et la surgélation (à -60°C) est la seule solution fiable. Le type de prélèvements requis dépendra de la maladie ou des lésions présentes ; cependant les fluides et les sérosités offrent un meilleur rendement.

Les résultats de l'isolement nécessitent une interprétation prudente en raison du portage de souches commensales non pathogènes, dont l'isolement n'est pas nécessairement la preuve de leur implication dans les signes cliniques observés.

L'observation de ces petits bacilles Gram négatif dans les prélèvements (surtout les tissus) est très difficile, et la technique d'immunofluorescence (immunohistochimie) s'avère plus sensible.

L'isolement de ces bactéries se fait selon deux méthodes :

- La gélose chocolat (au sang cuit), qui fournit les deux facteurs, est préparée en chauffant la gélose au sang dans un bain-marie à 75-80°C pendant environ 10 minutes. Dans cette gélose, le facteur V (tolérant ce chauffage) est libéré des

globules rouges, les NADases plasmatique (qui dégradent le facteur V) sont détruites, et le facteur X thermostable est toujours présent ;

– La culture des *Haemophilus* exigeant les facteurs X et V sur gélose au sang frais (qui fournit le facteur X) le long d'une strie de culture de *S. aureus* (qui fournit le facteur V). Les colonies d'*Haemophilus* nécessitant le facteur V vont pousser à proximité de la strie de *S. aureus* par phénomène de satellitisme.

Des milieux avec suppléments sont commercialisés par plusieurs laboratoires ; mais la gélose chocolat reste la plus efficace pour l'isolement des *Haemophilus* d'origine animale. Des milieux sélectifs contenant des antibiotiques (bacitracine, vancomycine) sont aussi proposés pour les prélèvements contenant de la flore de contamination.

Dans les laboratoires non spécialisés, l'identification est présomptive et est basée sur : la spécificité de l'hôte, les symptômes et les lésions, les caractères micro et macroscopiques, les exigences en facteurs X et V (par la méthode des discs) et en CO₂, la recherche de l'oxydase et de la catalase. Cette identification peut être rendu plus précise en effectuant les tests de l'indole, l'uréase, l'ODC, l'ADH et la fermentation des sucres. Ces méthodes sont avantageusement remplacées par l'utilisation des galeries de caractères prédéfinies commercialisées par différentes firmes (Ex galerie API NH), et dont les performances restent encore inconstantes.

La principale difficulté pour caractériser certaines espèces réside dans le fait qu'il est impossible de différencier les souches en utilisant des tests biochimiques et enzymatiques ou par simples méthodes sérologiques. Ainsi, des tests moléculaires (PCR, fingerprinting methods, analyse des séquences de l'ADN 16S) ont été développés pour une identification exacte, qui ne peut être obtenue que par spectrométrie de masse.

En médecine vétérinaire, des travaux sont en cours pour établir des marqueurs de virulence définitifs permettant une différenciation entre les souches commensales et celles qui sont pathogènes.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les espèces du genre *Haemophilus* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bactéries Gram négatives. Notamment, les β -lactamines (sauf les isoxazolyl-pénicillines et la cefsulodine), les quinolones, les cyclines, la rifamycine, les sulfamides, le triméthoprime, les pénicilles, la fosfomycine, les aminosides, les nitrofuranes et à la mupirocine. Le ceftiofur, la pleuromutiline et les macrolides se sont montré efficaces *in vitro*, sans forcément l'être *in vivo*.

Ces bactéries sont naturellement résistantes aux lincosamides, glycopeptides, nitro-imidazoles et oxazolidinones, à l'acide fusidique et à la bacitracine.

Des études récentes ont rapporté l'émergence de résistances aux β -lactamines (pénicilline...), aux tétracyclines et aux fluoroquinolones. Ceci, rend l'antibiogramme nécessaire (par la méthode des discs ou celle des micro-dilutions).

Les vaccins commercialisés pour certaines espèces d'élevage (*H. parasuis* chez les porcs), composés de bactéries tuées (bactérines), sont d'efficacité variable ; puisque l'immunisation dépend de la souche, en plus du manque de protection croisée entre les sérotypes. Les autovaccins (bactérines autogènes) représentent une option plus avantageuse.

2.4 Genre *Avibacterium*

Avibacterium : n. L. *avis* -is, oiseau ; n. gén. pl. L. *avium*, des oiseaux ; n. L. *bacterium*, un bâton et en bactériologie un bacille ; n. neut. N.L.

Avibacterium, un bacille des oiseaux.

Il s'agit d'un genre de création récente (2005), comprenant des espèces bactériennes isolées principalement des voies respiratoires des oiseaux. Originellement incluses dans le genre *Haemophilus*, ces espèces ont été regroupées dans le nouveau genre *Avibacterium* : *A. paragallinarum*, *A. gallinarum*, *A. avium* et *A. volantium*. La différenciation entre elles se fait par la méthode MALDI-TOF MS et par des tests biochimiques.

2.4.1 *Avibacterium paragallinarum*

paragallinarum : prép. Gr. *para*, à côté de ; n. gén. pl. L. *gallinarum*, des oiseaux et nom d'une épithète spécifique ; n. gén. pl. L. *paragallinarum*, une espèce voisine de *Avibacterium (Haemophilus) gallinarum*.

Habitat

C'est un commensal des muqueuses des voies respiratoires des poulets et d'autres espèces de volatiles. Les souches pathogènes sont endémiques en élevages industriels de poules pondeuses de par le monde. Elles sont moins prévalentes dans les élevages commerciaux de poulets de chair et elles ont été identifiées chez diverses espèces d'oiseaux d'ornement.

Résistance / sensibilité

C'est une bactérie fragile dans le milieu extérieur, étant rapidement détruite par la chaleur (en 24 heures à température ambiante), la dessiccation et beaucoup de facteurs environnementaux. Par contre, elle résiste bien aux basses températures.

Elle est très sensible aux ammoniums quaternaires, aux hypochlorites de sodium et aux iodophores, moins sensible aux phénols/bisphénols et à la chlorhexidine, et peu sensible aux ammoniums simples.

Morphologie

C'est une bactérie Gram négative (à coloration bipolaire), polymorphe, souvent coccoïde, coccobacillaire ou filamenteuse, dont la taille est de 0,1–0,3/0,2–0,5 µm. Elle est immobile, non sporulée, avec les souches des sérovars I et II encapsulées et celles du sérovar III non. Elles peuvent se présenter de manière isolée ou groupées par deux ou en petites chainettes.

Caractères cultureux

Cette bactérie aéro-anaérobies ou micro-aérophiles, pousse bien sur les milieux destinés aux *Haemophilus* et sous les mêmes conditions d'incubation. Dans la routine, elle est cultivée sur gélose au sang de bœuf ou de mouton frais et la gélose chocolat. Elle exige pour sa croissance, la présence du facteur V (NADH ou NAD) en plus d'une atmosphère enrichie à 10% en CO₂ (pour certaines souches). Elle ne nécessite pas de facteur X et sa croissance se fait bien en présence d'une strie nourricière de *Staphylococcus epidermidis* (qui fournit le facteur V).

Après 24 heures d'incubation à 34–38°C, des colonies sont petites (0,5–1,5 mm) en gouttes de rosée, semi-opaques, lisses et grises, apparaissent à proximité de la colonie nourricière. Sur des milieux solides transparents, les variants M encapsulés donnent (dans les 08–14 premières heures d'incubation) des colonies mucoïdes irisées sous lumière oblique. Cet aspect disparaît complètement après 36 heures. Les variants R (rugueux), dérivés par dissociation de colonies irisées, ne sont pas encapsulés et ne présentent pas d'irisation.

Cette bactérie peut également être cultivée dans le sac vitellin de l'œuf de poule embryonné ; mais, elle est incapable de se développer sur la gélose MacKonkey.

Sur la gélose au sang frais, cette bactérie n'est pas β -hémolytique.

Caractères biochimiques

A. paragallinarum fermente de manière constante le glucose, le saccharose, le D-xylose et le mannitol. Par contre, il est incapable de produire l'indole, la catalase, l'oxydase et l'uréase, et d'acidifier le lactose, l'arabinose et le galactose. Il peut aussi fermenter le maltose et le mannitol, réduire les nitrates et élaborer la neuraminidase et la β -galactosidase. La fermentation du maltose est variable.

Structure antigénique

03 sérotypes (sérogroupes) ont été identifiés basés sur les antigènes thermolabiles de surface. Ils sont notés avec les lettres de l'alphabet (A, B et C) ou avec des chiffres romains (I, II et III). Les sérotypes A et C se sont diversifiés au fil du temps, en donnant naissance à des sous-types (sérovars) : A (A1, A2, A3 et A4) et C (C1, C2, C3 et C4). Tous ces sérotypes sont porteurs de l'hémagglutinine HA2 et les sérotypes A et B contiennent de l'hémagglutinine HA1. Il n'y a pas de réactions croisées entre les différents sérotypes.

Pathogénie

Les mécanismes par lesquels cette bactérie provoque la maladie sont encore mal connus. Sa virulence varie de faible à élevée, et elle se multiplie préférentiellement dans les muqueuses nasales, sinusiennes et oculaires, provoquant une inflammation catarrhale.

Ses facteurs de virulence sont représentés par diverses toxines inductrices de processus exsudatifs (hyaluronidase, neuraminidase, chondroïtine sulfatase et endotoxine). Leur action est soutenue par la présence d'une capsule, qui semble également jouer un rôle dans la colonisation et la résistance à l'activité bactéricide du sérum.

Les bactériocines (codées par des gènes plasmidiques et chromosomiques) que ce germe élabore, inhibent la croissance des autres espèces (*A. avium*, *A. volantium* et *Avibacterium* species A) et participeraient à la colonisation des muqueuses.

A. paragallinarum produit des protéines d'acquisition du fer (aux dépends de la transferrine) et une autre protéine (pouvant être une toxine RTX) à activité cytotoxique.

Pouvoir pathogène

A. paragallinarum est l'agent du coryza infectieux aviaire. Maladie à répartition mondiale, touchant surtout les élevages intensifs (surtout poulet de chair et poule pondeuse ; mais également faisans, pintades et cailles). Elle se traduit principalement par une inflammation des voies respiratoires supérieures, un jetage séreux ou muqueux, une conjonctivite, un œdème de la face et des barbillons (surtout chez les mâles). L'inflammation peut s'étendre aux voies respiratoires inférieures avec apparition de râles. On peut observer aussi une trachéite, une bronchite et une aérosacculite dans les formes sévères. Les oiseaux peuvent présenter de la diarrhée, de l'anorexie et de l'hypodipsie.

Les infections provoquées par les autres espèces d'*Avibacterium* sont résumées dans le tableau :

<i>Avibacterium</i> spp.	Hôtes	Infections
<i>A. avium</i>	Poulets	Commensal
	Veaux	Sinusite, pneumonie
<i>A. endocarditidis</i>	Poulets	Endocardite
<i>A. gallinarum</i>	Oiseaux	Sinusite, trachéite, conjonctivite
<i>Avibacterium</i> species A	Oiseaux	Commensal. Parfois sinusite et conjonctivite
<i>A. volantium</i>	Poulets	Commensal

Diagnostic

Le jetage constitue un mauvais prélèvement. Pour l'isolement de cette bactérie, il est recommandé de prélever par écouvillonnage l'exsudat contenu dans les sinus après ouverture stérile.

Des milieux appropriés sont utilisés pour l'isolement, en prenant en considération les besoin en facteur V et en microaérophilie.

La coloration immunoperoxydase (immunohistochimie) peut être utilisée afin de mettre en évidence la présence d'*A. paragallinarum* dans les tissus des voies nasales et des sinus.

L'identification des isolats peut également se faire par sérotypage ou directement à partir d'échantillons par PCR. La différenciation des espèces se fait à l'aide de la technique MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry).

La démonstration de la pathogénicité peut être réalisée en infectant de façon expérimentale des poulets.

Des épreuves sérologiques telles que l'inhibition de l'hémagglutination, l'ELISA ou l'immunodiffusion sur gel servent à confirmer la présence (dans le sang des oiseaux) des anticorps anti-*A. paragallinarum* environ 02 à 03 semaines après l'infection.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Plusieurs antibiotiques sont actifs sur *A. paragallinarum*. Les macrolides (érythromycine), les sulfamides et les tétracyclines (oxytétracyclines) administrés dans l'aliment ou surtout dans l'eau de boisson sont les molécules de choix ; cependant, ces molécules sont bactériostatiques et n'éradiquent pas le portage. Des rechutes sont observées à la fin du traitement.

Un vaccin tué bivalent (à base des sérotypes A et C) et un autre vaccin trivalent (à base des sérotypes A, B et C) ont été commercialisés pendant plusieurs années afin de prévenir la maladie. Néanmoins, la maladie a été observée dans des troupeaux vaccinés, ce qui suppose l'existence de nouveaux sérotypes non caractérisés encore, en plus de l'absence d'immunité croisée entre les sérovars. De ce fait, l'utilisation d'auto-vaccins peut être une alternative à l'emploi des vaccins commercialisés.

2.5 Genre *Histophilus*

Histophilus : n. gr. *histo*, tissu ; adj. Gr. *philos* -*ê-on*, aimant ; adj. N.L. *philus* -*a -um*, aimant ; n. masc. N.L. *Histophilus*, un amateur de tissus.

Le genre *Histophilus* a récemment été réorganisé après que des analyses phylogénétiques ont confirmé que les bactéries phénotypiquement similaires, *Haemophilus somnus*, *Histophilus ovis* et *Haemophilus agni*, constituent un nouveau genre au sein de la famille *Pasteurellaceae*. D'autres analyses ont démontré que tous ces microorganismes doivent être regroupés au sein d'une même espèce : *Histophilus somni* (qui est la seule espèce reconnue du genre).

2.5.1 *Histophilus somni*

somni : n. L. *somnus* -*i*, le sommeil ; n. gén. L. *somni*, du sommeil.

Habitat

H. somni est un habitant normal (commensal) des voies respiratoires et génitales de bovins (mâles et femelles) surtout et d'ovins en bonne santé. Ce germe est avant tout un pathogène opportuniste.

Résistance / sensibilité

Cette bactérie est très fragile dans le milieu extérieur, mais peut survivre plusieurs jours dans des sécrétions biologiques : 70 jours dans les sécrétions nasales et le sang à température ambiante, et 05 jours dans les sécrétions vaginales.

Morphologie

H. somni est un bacille ou coccobacille à Gram négatif non-capsulé, immobile et non sporulé.

Caractères cultureux

Cette bactérie n'exige ni le facteur V ni le X pour sa croissance ; mais leur présence l'accélère. Elle est mésophile, capnophile (05%-10% CO₂) et nécessite le monophosphate de thiamine pour croître.

De petites colonies (01-01.5 mm) circulaires et mucoïdes, en gouttes de rosée peuvent apparaître après 24-48 heures d'incubation. Ces bactéries ne sont pas systématiquement hémolytiques et quelques souches peuvent montrer un éclaircissement autour des colonies, surtout sur gélose Columbia au sang de mouton défibriné. Sur gélose au sang bovin, les colonies sont α -hémolytiques. Les colonies peuvent apparaître jaunâtres lorsqu'elles sont raclées dans une anse de platine ou si elles sont confluentes (culture en nappe). Cette pigmentation est plus accentuée sur gélose chocolat que sur gélose au sang frais.

Cette bactérie ne peut pas croître sur la gélose de MacConkey et sur la gélose au Citrate de Simmons.

Caractères biochimiques

H. somni est aéro-anaérobie facultatif, catalase négative (de rares souches seraient catalase positive) et usuellement oxydase positive (parfois faible). Il est phosphatase alcaline, nitrate réductase, indole (sauf quelques souches) positifs. Il ne produit pas d'uréase, d'ADH, d'ODC et il est Voges-Proskauer négatif.

Il fermente le glucose sans production de gaz ; mais pas le saccharose et le maltose. Il acidifie le mannitol et le lactose de manière variable.

Structure antigénique

Toutes les tentatives de regroupement des souches en variants sérologiques, n'ont pas abouti. Les principaux antigènes détectés par sérologie chez *H. somni*, sont thermostables et sont probablement situés en dehors de la fraction lipo-oligosaccharide (LOS), puisque les LOS purifiés ne sont pas réactifs. Six variants différents ont été décrits jusque-là, dont 1, 2 et 3 sont les plus isolés chez les bovins.

Il est à signaler que des études épidémiologiques et moléculaires suggèrent qu'il sera nécessaire d'identifier les principaux antigènes séro-réactifs d'*H. somni* et de développer des tests sérologiques appropriés pour un sérotypage précis des différents variants. Ceci est dû au fait que des souches isolées de porteurs asymptomatiques ont été réparties dans tous les sérogroupes.

Pathogénie

Les mécanismes de virulence d'*H. somni* ne sont pas parfaitement connus à l'heure actuelle. Ce germe peut synthétiser un exo-polysaccharide (EPS) qui serait un composant majeur dans la formation du biofilm (impliqué dans la résistance dans l'environnement ainsi que dans les infections chroniques). Sa membrane extérieure possède également des lipo-oligosaccharides (LOS) qui participeraient à l'adhésion aux cellules cibles en association avec d'autres adhésines. Les LOS possèdent encore une activité endotoxinique, et seraient liés à la persistance des souches pathogènes dans l'hôte par blocage de la fixation des anticorps sériques. Ils interviennent aussi dans l'apoptose des cellules endothéliales. Certaines souches pathogènes produisent des protéines captant les immunoglobulines (IgBP), ce qui leur permet d'échapper à la réponse immunitaire spécifique médiée par les IgG1 et les IgG2 chez les bovins. Une protéine majeure de la surface membranaire (MOMP), semblable aux porines des bactéries Gram négatives et reconnue par les IgE, participe à l'augmentation de la production d'histamine chez l'hôte, en aggravant les symptômes respiratoires (par bronchoconstriction et vasodilatation sanguine génératrice d'œdème pulmonaire). *In vitro*, *H. somni* adhère aux cellules endothéliales et la production de cytotoxines conduit à une activation des mécanismes de coagulation et à la formation de thrombus.

Pouvoir pathogène

Chez les bovin ce germe est responsable de bronchopneumonies aiguës et chroniques, de septicémie, de myocardite, de méningoencéphalite thromboembolique et d'arthrite, d'avortement et de troubles de la fertilité, de vulvite, de vaginite, d'endométrite et, rarement, d'orchite. Il peut aussi être à l'origine de laryngite nécrotique, d'arthrite, d'otite, de conjonctivite, de myélite, de mammite et de myosite.

Chez les ovins, il provoque une Épididymite (chez les jeunes béliers), une vulvite, une mammite et une réduction des performances de reproduction chez les brebis. Il a également été associé à des cas de septicémie, d'arthrite, de méningite et de pneumonie chez les agneaux.

Diagnostic

La fraîcheur des prélèvements est capitale. Ceux-ci sont représentés principalement par le liquide céphalorachidien, les lésions observées à l'autopsie et les avortons.

L'isolement d'*H. somni* est délicat surtout à partir de produits polymicrobiens. Il s'agit d'une bactérie à croissance lente qui demande des milieux spécifiques et une ambiance enrichie en CO₂ pour croître.

L'identification de cette bactérie dans les sécrétions génitales est possible par l'association d'un écouvillonnage soigneux (pour éviter les contaminations) et d'un ensemencement sur une gélose sélective (KD-Columbia).

H. somni est plutôt variable dans ses activités biochimiques et les réactions les plus fiables sont l'oxydase positive, la catalase négative et l'exigence en CO₂. Le test indole positif, est aussi utile pour le diagnostic.

La PCR a été suggérée comme complément diagnostique à la culture de *H. somni*. Des méthodes sérologiques, telles que l'agglutination microscopique, la fixation du complément ou l'ELISA plus sensibles et spécifiques, ont été utilisées pour le diagnostic ante-mortem.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les isolats de *H. somni* restent largement sensibles à de nombreux antimicrobiens utilisés pour le traitement des infections chez les animaux (tilmicosine, enrofloxacin, ceftiofur, pénicilline, érythromycine, sulfamides potentialisés, tulathromycine, tildipirosine, gamithromycine et florfenicol). Leur sensibilité est variable vis-à-vis de la

spectinomycine et la sulfachloropyridine. Des cas de résistance à la tétracycline et l'oxytétracycline (longue action) ont été décrits.

Les vaccins (bactérines) disponibles dans le commerce peuvent réduire les taux de morbidité et de mortalité, mais leur efficacité est variable. Ceci est relaté au fait que les protéines de la membrane externe (OMPs) et le LOS présentent de grandes diversités antigéniques et les antigènes (inducteurs d'immunité protectrice) de cette bactérie ne sont pas encore caractérisés.

3. Genre *Taylorella*

Taylorella : suff. dim. L. *-ella* ; n. fém. N.L. *Taylorella*, en l'honneur du bactériologiste C.E.D. Taylor.

Le séquençage de l'ADNr 16S a révélé une position phylogénétique dans la sous-classe des *Betaproteobacteria* et a entraîné le transfert d'*Haemophilus equigenitalis* dans le nouveau genre *Taylorella*.

Actuellement, le genre *Taylorella* est placé dans la famille des *Alcaligenaceae* (ordre des *Burholderiales*). Il comprend uniquement deux espèces *Taylorella equigenitalis* et la plus récente *Taylorella asinigenitalis*.

3.1 *Taylorella equigenitalis*

equigenitalis n. L. *equus* -i, cheval ; adj. L. *genitalis* -e, relatif à la génération, génital ; adj. fém. N.L. *equigenitalis*, relative à l'appareil génital de la jument.

T. equigenitalis est plus étroitement liée à *Pelistega europaea*, une nouvelle bactérie associée à la maladie respiratoire du pigeon, et plus éloignée à la fois d'*Alcaligenes xylosoxidans* et de *Bordetella bronchiseptica*.

Habitat

T. equigenitalis réside exclusivement dans le tractus génital du cheval (étalons, juments et poulains). Elle est hébergée dans la fosse urétrale, le sinus urétral et le fourreau chez le mâle et dans les sinus et la fosse clitoridiens des femelles infectées. Les deux sexes peuvent rester porteurs indéfiniment ; mais les étalons ne développent pas de signes cliniques et seules les juments font la maladie. Le germe a été mis en évidence chez des bovins par PCR ; mais seuls les équidés y semblent susceptibles.

Récemment, *T. asinigenitalis* a été isolée au Kentucky (California) du tractus génital des ânes mâles et de juments accouplées par saillie naturelle à des ânes infectés.

Résistance / sensibilité

T. equigenitalis peut vivre plusieurs mois, voire plusieurs années dans le tractus génital des équidés. Dans le milieu extérieur sa durée de vie est courte, elle est fragile et est sensible à la lumière, aux ultraviolets, au dessèchement et aux désinfectants usuels (chlorhexidine, détergents ioniques et non-ioniques et hypochlorite de sodium. Par contre, elle résiste à la réfrigération et à la congélation.

Morphologie

C'est une bactérie Gram négative (parfois bipolaire), coccobacille ou bacille, immobile de 01 à 02 µm / 0.5 µm. Dans de rares cas, elle peut également se présenter sous une forme filamenteuse (05 à 06 µm / 0.8 µm). Elle possède une capsule recouverte de lipopolysaccharides (qui jouent un rôle dans la pathogénicité) et de nombreux pili.

Caractères cultureux

T. equigenitalis est un germe exigeant. Sa culture est lente et nécessite des conditions particulières. Elle n'exige pas le facteur V ni le facteur X ; mais la présence de l'hémine (facteur X) stimule sa croissance. L'incubation se fait entre 35 et 37°C dans une atmosphère enrichie avec 05 à 10% de CO₂ et 70% d'humidité.

La croissance n'est pas obtenue sur les milieux ordinaires. Elle est possible sur gélose chocolat (05 à 07% sang cuit de cheval), la gélose Eugon chocolat (à 10% de sang de cheval) ou encore le CEM Selective Medium-Timoney auxquelles on ajoute différents antibiotiques et antifongiques (amphotéricine B, cristal violet, streptomycine, clindamycine et triméthoprime) afin d'inhiber les contaminants. La durée d'incubation est de 02 à 06 jours (parfois jusqu'à 14 jours). Une incubation classique de 07 jours est recommandée.

Après 48 heures, les colonies qui apparaissent, mesurent moins de 01 mm de Ø. Elles sont de consistance butyreuse, brillantes, bombées, lisses et grises-jaunâtres. Elles peuvent atteindre une taille de 02 mm lors d'une incubation plus longue.

Cette bactérie ne se développe pas sur la gélose MacConkey et sur la gélose Eugon chocolat incubée à l'air ambiant, ou en anaérobiose à 37°C.

Caractères biochimiques

T. equigenitalis est une bactérie microaérophile indépendante du glucose et des autres sucres pour sa croissance. Elle est oxydase, catalase et phosphatases alcaline et acide positives. Les autres caractères biochimiques sont fréquemment négatifs (uréase, gélatinase, lipase, H₂S, indole, réduction des nitrates, acidification des sucres...).

Structure antigénique

Un seul sérotype est connu; mais, des différences génétiques entre des isolats ont été décrites. Il existe deux biotypes, l'un sensible et l'autre résistant à la streptomycine.

Pathogénie

Peu est connu sur les mécanismes de virulence de *T. equigenitalis*. Après séquençage des génomes des deux espèces de *Taylorella*, un certain nombre de gènes de virulence codant pour les systèmes de sécrétion de types II, III, IV et VI, des hémagglutinines et des systèmes d'acquisition du fer ont été identifiés. Néanmoins, le rôle de ces facteurs *in vivo* reste à être élucidé.

D'une manière générale, après introduction dans l'utérus, les bactéries s'y répliquent en induisant une endométrite aiguë avec initialement une infiltration de cellules mononucléaires et de plasmocytes. Plus tard, la migration des neutrophiles dans la lumière utérine produit un abondant exsudat mucopurulent. Les données cliniques et épidémiologiques prouvent que les souches diffèrent en pathogénicité.

Une réponse immunitaire humorale générale a lieu lors de l'infection mais les anticorps produits sont non protecteurs vis-à-vis d'une réinfection, ce sont principalement des IgG. Il existe cependant une réaction immunitaire locale témoignée par l'apparition d'IgA et d'IgM dans les sécrétions génitales.

Pouvoir pathogène

Le processus infectieux est limité aux muqueuses de l'utérus, du col et du vagin. Il ne provoque pas de mortalité, et n'altère pas l'état général des animaux. Il y a érosion et changement dégénératif dans l'endomètre. Une fois la réparation endométriale terminée, quelques semaines plus tard, l'organisme peut encore être présent dans les sinus et la fosse clitoridienne. Aucun signe clinique n'apparaît chez l'étalon. L'infection chez les juments provoque une stérilité temporaire et occasionnellement des avortements dans les 60 premiers jours de gestation.

Les répercussions économiques sont importantes, en raison des baisses ultérieures de la fécondité.

T. asinigenitalis n'a pas été signalé comme pathogène chez les ânes ou les chevaux dans des conditions naturelles.

Diagnostic

Les échantillons destinés à la bactériologie doivent être collectés avant et pendant la saison de reproduction. Ils sont représentés par des écouvillonnages ou des biopsies pris du col utérin, de l'utérus, de la fosse et des sinus clitoridiens chez la jument, et de l'urètre, de la fosse et du diverticule urétraux, du prépuce et du liquide pré-éjaculatoire chez l'étalon.

Ces échantillons sont prélevés de façon stérile et sont placés dans le milieu de transport d'Amies avec du charbon de bois. Ils doivent parvenir au laboratoire, sous réfrigération, dans les 48 heures suivant leur collecte.

Les frottis colorés au Gram ne sont utiles que sur les exsudats utérins des juments en phase clinique de la maladie.

L'identification de la bactérie a lieu après la culture sur gélose chocolat avec une forte base nutritive comme la gélose base Eugon ou Columbia et de préférence du sang équin ; ou sur le CEM Timoney selective medium. Des boîtes avec et sans streptomycine doivent être inoculées car certains isolats sont sensibles à cet antibiotique.

Les colonies à caractères macroscopiques et microscopiques suspects, feront l'objet de tests biochimiques (surtout catalase, oxydase et phosphatae positives).

Un test d'agglutination sur lame, utilisant un antisérum anti-*T. equigenitalis* à titre élevé, peut être effectué directement sur la culture. Les isolats peuvent être identifiés à l'aide d'un test d'agglutination au latex ou par immunofluorescence indirecte (IIF). Des tests sérologiques, tels que l'ELISA et la fixation du complément, sont utilisés pour diagnostiquer la maladie chez les juments. Les tests PCR permettent une détection rapide de *T. equigenitalis* dans les échantillons cliniques. Un autre test PCR multiplex permet de distinguer *T. equigenitalis* et *T. asinigenitalis*.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les tests de sensibilité aux antibiotiques conventionnels sont difficiles avec cette bactérie exigeante et à croissance lente. La méthode de dilution en milieu gélosé est utilisable pour la détermination des valeurs minimales inhibitrices peut être utilisé.

Hormis certaines souches résistantes à la streptomycine, la plupart des isolats de *T. equigenitalis* restent sensibles aux agents antimicrobiens les plus couramment utilisés (ampicilline, céfalotine, nitrofurazone, pénicilline, sulfadiazine argentine, gentamicine, kanamycine, néomycine, chloramphénicol, tétracycline, érythromycine, acide nalidixique, bacitracine ...). Leur sensibilité est variable vis-à-vis de la colistine, de la streptomycine, du sulfaméthoxazole et du triméthoprime. Des résistances ont été signalées à la clindamycine, à la lincomycine et au métronidazole.

Aucun vaccin n'est disponible pour lutter contre les infections induites par cette bactérie. La prophylaxie repose exclusivement sur des mesures sanitaires (dépistage obligatoire des étalons livrés à la monte publique, mise en place d'un contrôle sanitaire...).

4. Famille des *Vibrionaceae*

Les micro-organismes inclus dans cette famille ont l'apparence de bâtonnets courbes ou droits, Gram négatifs, aérobies, mobiles à ciliature polaire ou immobiles, se développant sur milieux nutritifs ordinaires, réduisant les nitrates en nitrites, présentant une réaction à l'oxydase positive et fermentant les glucides. Ils ont leur habitat dans les eaux marines ou douces et la faune aquatique. Ces bactéries peuvent être confondues avec les entérobactéries et les *Pseudomonas*.

Cette famille a subi aussi beaucoup de remaniements taxonomiques et certaines espèces l'ont quitté pour former de nouvelles familles telles que *Aeromonas* spp. (Famille *Aeromonadaceae*) ou rejoindre des familles déjà existantes telles que *Plesiomonas* spp. qui est considérée comme une entérobactérie proche du genre *Proteus*.

Les espèces pathogènes de cette famille appartiennent aux genres *Vibrio*, *Shewanella* et *Listonella*. Au fil du temps, de nouveaux genres ont été ajoutés, tels que *Aliivibrio*, *Enterovibrio*, *Grimontia*...

4.1 Genre *Vibrio*

Vibrio : v. L. *vibro*, imprimer un mouvement vibratoire, agiter, vibrer ; n. masc. N.L. *Vibrio*, celui qui vibre, qui bouge rapidement.

Les espèces de ce genre ont constamment subi des réarrangements taxonomiques, actuellement leur nombre est d'environ 120. Les espèces potentiellement dangereuses pour la santé humaine et animale sont : *Vibrio cholerae* groupe O1 (avec 02 biotypes *Cholerae* et *Eltor*, et 03 sérotypes Inaba, Ogawa et Hikojima), *Vibrio cholerae* non O1 (NC: non cholérique, ou NAG: non agglutinable par le sérum polyvalent O1), *V. metschnikovii* et des espèces halophiles identifiées dans les eaux marines (*V. parahemolyticus*, *V. furnitures*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. harvei* etc...). Parmi les 30 espèces couramment isolées, 13 sont impliquées dans des infections chez les poissons et d'autres espèces marines et une espèce dans des infections de la volaille, il s'agit principalement des espèces : *V. metschnikovii*, *Vibrio ordalii*, and *Vibrio salmonicida*.

Habitat

Les vibrions d'intérêt en médecine vétérinaire, sont très répandus dans la nature, étant isolés des eaux de surface, des côtes, des estuaires, des eaux usées, des intestins des mammifères (homme, porcs), des oiseaux (surtout aquatiques : canards et oies), des poissons, des batraciens et des fruits de mer.

Résistance / sensibilité

D'une manière générale, ces bactéries sont sensibles à l'hypochlorite de sodium à 01%, à l'éthanol à 70%, au glutaraldéhyde à 02% et au formaldéhyde. Dans les produits alimentaires, elles sont extrêmement sensibles à la chaleur (48-50°C pendant 05 mn), au froids (03°C pendant 07 jours), à la congélation (-18°C et -24 °C pendant 15 à 28 semaines), à la pasteurisation à basse température et aux rayons gamma (à 0.75 kGy). Dans l'environnement, ces bactéries ne survivent plus à une salinité dépassant les 03%, cependant elles peuvent survivre tout l'hiver dans les sédiments marins et reprendront la multiplication lorsque la température remontera à au moins 15°C. Elles sont également très résistantes aux ions métalliques.

Morphologie

Ce sont des bacilles isolés à Gram négatif, droits ou incurvés (en virgule), assez courts (0.3-0.5/01.5-03.0 µm) avec des extrémités uniformément arrondies, parfois cocobacillaires. Ils sont non sporulés, non capsulés et mobiles par ciliature polaire, le plus souvent monotriche. Des formes immobiles ont été observées.

Caractères cultureux

Les *Vibrio* n'ont pas d'exigences nutritives particulières, à part l'halophilie de certaines espèces. Leur croissance est possible à des températures allant de 18 à 38°C (37°C optimum), à des pH de 06 à 09.6 (07.6 optimum) et en présence ou non d'oxygène (mais la croissance est optimale en condition d'aérobic). Elle n'est pas entravée par les inhibiteurs tels que les sels biliars, le citrate de sodium, le thiosulfate de sodium...

Les vibrions se développent abondamment en milieux peptonés simples et croient aisément sur le milieu "Marine agar", la gélose nutritive avec 0.1 % de Teepol, la gélose trypticase soja alcaline (pH 09) et sur la gélose Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS).

Sur gélose trypticase soja, les *Vibrio* donnent en 24 h, des colonies de 02 à 03 mm de Ø, circulaires à bords réguliers, légèrement convexes et transparentes, qui deviennent avec l'âge, opaques, lisses et luisantes de type S. En géloses molles sélectives, ils se développent librement, formant de grandes colonies (08-12 mm de Ø) à la surface et dans la profondeur de la gélose. En milieux liquides, il y a une turbidité intense, parfois avec la formation d'un film à la surface. Dans l'eau peptonée, ils se développent en 06 à 08 heures (croissance favorisée par la présence d'oxygène et d'un environnement alcalin). En anaérobiose, ils se développent lentement en 06 à 07 jours.

La croissance de *V. ordalii* est améliorée sur gélose à l'eau de mer (Seawater agar). Sur milieux solides incubés à 15° à 25°C, il produit des colonies rondes, surélevées, brillantes, à bord régulier, de couleur crème de 01 à 02 mm de Ø en 07 jours.

V. metschnikovii se développe mal sur la gélose MacConkey, mais bien sur la gélose au sang. Après 48 heures d'incubation à 37°C, les colonies sont petites, lisses, transparentes, non hémolytiques, de 02 à 04 mm de Ø.

V. anguillarum nécessite une forte concentration en sel pour croître (01.5 et 03.5 % de NaCl).

Caractères biochimiques

Les *Vibrio* sont chimio-organotrophes, anaérobies facultatifs à métabolisme respiratoire et fermentatif. Ils sont généralement oxydase, nitrate réductase et indole positifs. Les caractères des principales espèces d'intérêt vétérinaires sont les suivantes :

V. metschnikovii est oxydase et nitrates réductase négatif, ADH, LDC, ONPG, Indole variable et VP positif.

V. anguillarum est oxydase, nitrates réductase, ADH, ONPG, indole, VP positif et LDC négatif.

V. ordalii est oxydase positif, nitrates réductase positif et ONPG, ADH, LDC, VP négatif.

Structure antigénique

Les *Vibrio* possèdent des antigènes somatiques "O", de nature polysaccharidique (endotoxine), résistants à la chaleur, qui confèrent une spécificité de groupe et induisent chez l'hôte la formation d'anticorps spécifiques. Grâce au test d'agglutination, on distingue les vibrions du groupe O1 et les non O1 (NAG). Les antigènes H sont protéiniques, thermolabiles et sont communs à tous les *Vibrio*. En raison de ce manque de spécificité, les antigènes H ne sont pas utilisés dans l'identification sérologique des *Vibrio*.

Pathogénie

Les facteurs de virulence de *V. cholerae* comprennent les polysaccharides capsulaires, les lipopolysaccharides, les sidérophores et les pili. Les polysaccharides jouent un rôle important dans l'adhésion aux cellules cibles et protègent les *Vibrio* de l'action du complément. Les lipopolysaccharides assurent leur survie en présence de bile, et facilitent l'adhésion aux cellules épithéliales muqueuses. Une fois la barrière gastrique franchie, les *Vibrio* se multiplient et produisent une grande quantité d'exo-entérotoxine (toxine cholérigène) qui agit de la même manière que l'entérotoxine thermolabile d'*E. coli*. *V. cholerae* secrète aussi des enzymes hydrolytiques capables de cliver les protéines et les peptides au niveau des acides aminés constitutifs. Les mucinases produites par ce germe semblent digérer le revêtement de mucus intestinal et assurer le contact de la bactérie avec les cellules de la bordure en brosse des microvillosités intestinales.

Les facteurs de virulence des autres *Vibrio* sont encore moins bien compris.

Pouvoir pathogène

V. metschnikovii a été historiquement associé à une maladie de type choléra chez des volailles et des jeunes oiseaux en parcs zoologiques. Cette infection se caractérise par une apparition soudaine de diarrhée et une mortalité élevée. Un seul isolat de signification clinique inconnue a été obtenu à partir des poumons d'un veau mort.

V. ordalii est la cause de la vibriose des poissons et est aussi un agent de la septicémie hémorragique. La vibriose touche les anguilles et les poissons d'élevage (saumon et truite), chez qui on note des lésions nécrotiques rouges dans la musculature abdominale et un érythème à la base des nageoires, de l'anus et dans la cavité buccale, avec une mortalité élevée. La vibriose d'eau froide est une maladie du saumon atlantique d'élevage, de la truite et de la morue. Des hémorragies cutanées apparaissent à la base des nageoires ou de l'abdomen, et les poissons infectés nagent sur le côté.

V. harveyi est la cause de mortalité chez les poissons et les crustacés. C'est le principal agent causal de la vibriose lumineuse chez les crevettes d'élevage.

Des mortalités importantes auraient résulté de l'infection des crevettes par *V. penaeicida* (agent étiologique du "syndrome 93" en Nouvelle-Calédonie).

V. alginolyticus affecte couramment les crevettes d'élevage secondairement à une infection par le virus du syndrome des points blancs.

V. anguillarum infecte principalement les anguilles de mer et autres poissons, chez qui il cause une nécrose cutanée et une maladie généralisée avec mortalité.

V. coralliilyticus et *V. mediterranei* sont des espèces pathogènes pour les coraux. Plusieurs autres espèces du genre *Vibrio* sont pathogènes pour les poissons, les crustacés ou les mollusques : *V. crassostreae*, *Vibrio gigantis*, *V. ichthyenteri*, *V. pectenocida*, *Vibrio salmonicida*, *V. scophthalmi*, *V. tapetis*, *V. vulnificus*, *V. wodanis*, ...

Diagnostic

Les prélèvements comprennent des écouvillons et des grattages des tissus infectés ainsi que des fèces.

La présence dans les frottis d'un grand nombre de germes courbés est une indication significative pour le diagnostic. L'examen direct à l'état frais montre une mobilité très marquée.

La vibriose est diagnostiquée par culture bactériologique des lésions. Les échantillons de poisson doivent être inoculés sur une infusion cœur-cerveau (enrichissement) et une gélose trypticase soja additionnée de 01 à 04% de NaCl (isolement).

L'aspect caractéristique des colonies des *Vibrio* et l'identification biochimique (galeries biochimiques) sont suivis, par des tests d'agglutination. En complément à la culture, l'immuno-histochimie, l'ELISA et l'agglutination au latex sont également utilisés pour détecter les anticorps anti-*Vibrio*. Les espèces de *Vibrio* peuvent être différenciées aussi par des techniques PCR.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

En raison de l'apparition de souches multi-résistantes un antibiogramme doit être réalisé soit en milieu solide sur gélose Mueller-Hinton, soit en milieu liquide.

Les *Vibrio* sont en général sensibles aux aminosides (gentamycine), au chloramphénicol, aux quinolones (acide nalidixique) et aux céphalosporines de 3^e génération.

Bacillus subtilis administré comme probiotique, a montré des effets inhibiteurs sur le développement de *V. harveyi* chez les crevettes, avec une forte réduction de la mortalité et une croissance optimale jusqu'à la récolte.

Des vaccins efficaces contre *V. ordalii* sont disponibles pour la pisciculture.

5. Famille *Aeromonadaceae*

Cette famille comprend 3 genres : *Aeromonas*, *Oceanomonas* et *Tolomonas*. Ce sont des germes omniprésents, qui vivent dans l'eau stagnante, eau douce, eau de mer recevant un apport d'eau douce et dans l'eau d'égout.

5.1 Genre *Aeromonas*

Aeromonas : n. Gr. *aer* *aeros*, air ; n. Gr. *monas* -*ados*, une unité, une monade ; n. fém. N.L. *Aeromonas*, une bactérie (produisant) du gaz.

Ce genre est d'une importance majeure en médecine vétérinaire. Il comprend 16 espèces mobiles et immobiles dont les plus importantes en pathologie animale sont : *A. hydrophila* et *A. salmonicida*. Certaines espèces appartenant à ce genre ont subi une relocalisation taxonomique.

(***hydrophila*** : n. Gr. *hudôr*, eau ; adj. Gr. *philos* -*ê* -*on*, aimant ; adj. N.L. *philus* -*a* -*um*, aimant ; adj. fém. N.L. *hydrophila*, amie de l'eau, aimant l'eau.

salmonicida : n. L. *salmo* -*onis*, saumon ; v. L. *caedere*, tuer ; suff. L. -*cida*, un tueur ; n. nom. N.L. *salmonicida*, le tueur de saumon).

Habitat

Les *Aeromonas* sont des bactéries des eaux douces, des eaux stagnantes, des eaux courantes, des eaux de boisson, des eaux de mer ou de lagunes recevant de l'eau douce et des eaux d'égout. Ce sont des bactéries caractéristiques des eaux de surface. Leur nombre augmente de façon proportionnelle avec la présence de matière organique.

Un portage intestinal a été démontré chez les animaux (surtout aquatiques : batraciens et poissons) et chez l'homme.

A. salmonicida est un parasite obligatoire des salmonidés.

Résistance / sensibilité

Ces bactéries peuvent persister plusieurs mois ou années dans les eaux ou les sols. L'exposition à des températures de 62°C ou plus pendant quelques minutes les détruit. Elles peuvent être inactivées par la chaleur humide à 121°C pendant 15 min à 30 min. Elles sont sensibles à l'hypochlorite de sodium à 01%, au glutaraldéhyde à 02%, à l'éthanol à 70%, aux dérivés iodés, aux composés phénoliques, au formaldéhyde et aux ions d'argent et de chlore libres dans l'eau.

Morphologie

Les *Aeromonas* sont des bacilles à Gram négatif de 01-04/0,6 µm, mobiles par ciliature polaire, habituellement monotriches ou immobiles (*A. salmonicida*). Ils peuvent prendre un aspect coccobacillaire (surtout *A. salmonicida*), isolés, en deux, en courtes chaînettes ou en amas.

Caractères culturels

Ce sont des germes aéro-anaérobies facultatifs. Leur pH optimal de croissance est de 07 (culture possible entre 05.2 et 09.8) et la température optimale est de 30°C, mais elle est variable selon les espèces (10 à 42°C).

La plupart des souches pathogènes pour les poissons et les crustacés sont psychrophiles et se développent rarement au-dessus de 28°C, la croissance optimale de ces souches est obtenue entre 22 et 25°C.

La culture se fait couramment sur gélose trypticase-soja, gélose au sang, gélose MacConkey, gélose EMB (eosine-bleu de méthylène) ou gélose Drigalski. L'addition d'ampicilline rend les milieux sélectifs pour les prélèvements contaminés (Ex : coprocultures). Ces bactéries ne cultivent pas en milieu hypersalé et la gélose SS leur est très inhibitrice. Néanmoins, l'utilisation de certaines géloses est recommandée pour des espèces particulières: Gélose au sang (avec et sans ampicilline), gélose MacConkey et gélose CIN (Cefsulodine-Irgasan-Novobiocine) (incubées à 37°C pendant 24h) pour *A. hydrophila* et la gélose au sang et la gélose Furunculosis (incubées à 25°C pendant 48h) pour *A. salmonicida*.

Les colonies d'*Aeromonas* apparaissent en 24 heures en milieu solide et sont comparables à celles des coliformes. Sur gélose nutritive, elles sont rondes, bombées, lisses, régulières et opaques. Sur gélose trypticase soja, elles sont beiges à chamoisées. Sur la gélose Rimler-Shotts, elles sont jaune-orangées. Les colonies fermentent très inégalement le lactose sur les géloses le contenant.

En bouillon nutritif, la culture est abondante en 24 heures et le trouble est homogène.

Sur gélose au sang, les colonies d'*A. hydrophila* sont larges (02-03 mm de Ø), plates, grisâtres et entourées d'une zone de β-hémolyse. Sur gélose MacConkey, elles sont pâles. Ses cultures dégagent une odeur âcre et nauséabonde. *A. salmonicida* donne des colonies petites sur gélose au sang avec hémolyse à partir de 48h d'incubation. Sur la gélose nutritive et la gélose Furunculosis, les colonies de cette espèce sont pigmentées en brun.

A. salmonicida et *A. hydrophila* donnent des colonies brunâtres ou vert foncé (en 02 à 05 jours d'incubation) suite à la production d'un pigment mélanique.

Caractères biochimiques

Aeromonas spp. sont des germes oxydase positifs qui fermentent les glucides en donnant du gaz à partir du glucose. Ils produisent une série d'enzymes (désoxyribonucléase, gélatinase, oxydase, catalase), de l'indole et réduisent les nitrates. Fermentent l'arabinose, le maltose, le tréhalose, le mannitol (sauf une espèce), le saccharose (sauf deux espèces) et le lactose (de façon variable). Ils sont LDC et ADH positifs et ODC négatifs (sauf une espèce).

Structure antigénique

Les *Aeromonas* possèdent tous des Ag O somatiques et les espèces mobiles ont des Ag H flagellaires.

L'espèce *A. salmonicida* semble antigéniquement homogène à l'opposé des autres souches qui ont une grande hétérogénéité antigénique. Au sein de l'espèce *A. hydrophila* 45 sérotypes sont connus basés sur la diversité des Ag O.

Des réactions croisées sont possibles entre les différentes espèces d'*Aeromonas* d'une part, et entre *Plesiomonas shigelloides* et *A. hydrophila* ou *A. sobria* d'autre part.

Pouvoir pathogène

Les maladies dans lesquelles cette bactérie est incriminée sont résumées dans le tableau suivant :

<i>Aeromonas</i> spp.	Hôtes	Infections
<i>A. hydrophila</i>	Grenouilles	Maladies des pattes rouges
	Anguilles	Maladie des anguilles d'eau douce
	Reptiles	Stomatite nécrosante
	Poissons d'eau chaude	Pourriture des nageoires, septicémie hémorragique
	Brochet, carpe herbivore	Inflammation de la vessie natatoire
	Chien	Septicémie néonatale
	Bovins	Mammites
	Dinde	Septicémie
	Porcs	Diarrhées
<i>A. salmonicida</i> ssp. <i>salmonicida</i>	Salmonidés	furonculose
	Carpe et poisson rouge	Maladie ulcérate et erythrodermatite

Pathogénie

Chez *Aeromonas* spp. plusieurs facteurs de virulence ont été identifiés :

- Deux types de pili : pili-L (pili longs, fins, flexibles) et pili-S (courts, épais) lui donnent un pouvoir d'adhésion ;
- Des lectines spécifiques de l'acide sialique permettant la colonisation des surfaces intestinales ;

- Des toxines appartenant à plusieurs types : des hémolysines (ou cytotoxines) et des entérotoxines (ou cytotonines) : une alpha-hémolysine, une bêta-hémolysine, une entérotoxine cholériforme, une entérotoxine cytolytique, une entérotoxine cytotonique
- Des enzymes : protéases, élastases, DNase, phospholipases et lipases.

La physiopathologie des infections à *Aeromonas* est complexe et elle est due à l'intervention simultanée de plusieurs facteurs physiologiques, métaboliques, antigéniques et toxiques. Les *Aeromonas* envahissent les cellules de leurs hôtes et diffusent dans pratiquement tous les organes. La mort est généralement attribuée à une septicémie et aux produits extracellulaires toxiques, qui réduisent les apports sanguins et entraînent des nécroses tissulaires massives.

Diagnostic

Des échantillons d'animaux malades ou morts, d'eau ou de boue, des écouvillons ou des produits de grattage des lésions, du lait mammitique et d'autres matières considérées comme contaminées, y compris des aliments, sont à examiner.

Les frottis montrent un grand nombre de germes courbes, Gram négatif; mais sans un grand intérêt diagnostique. Un test aux anticorps fluorescent a été développé pour *A. salmonicida*.

L'isolement peut facilement être obtenu sur milieux non sélectifs si le produit pathologique est monomicrobien. Pour les prélèvements polymicrobiens, par contre, des milieux sélectifs doivent être utilisés. Tout en tenant en considération les exigences de ces bactéries en conditions d'incubation. Les aspects des différentes colonies sur les différents milieux de culture, permettent d'ors et déjà une identification présomptive.

L'identification phénotypique au niveau de l'espèce est assez aisée pour les espèces courantes. Elle fait appel aux galeries API 20E et API 20NE (bioMérieux®) et permet de différencier les *Aeromonas* des *Vibrio*, des *Plesiomonas* et des *Pseudomonas*.

Comme de nombreuses souches du genre *Aeromonas* sont difficiles à identifier en utilisant uniquement les caractéristiques phénotypiques, plusieurs méthodes moléculaires ont été proposées à cette fin : restriction fragment length polymorphism (RFLP), 16S rRNA gene sequencing, DNA-DNA hybridization, 16S-23S intergenic spacer region-RFLP, PCR amplification et Pulsed-field gel electrophoresis.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les *Aeromonas* sont très sensibles aux fluoroquinolones, sensibles aux aminosides, aux cyclines, au chloramphénicol, aux aminosides, à l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole et aux céphalosporines de 3^e génération (sauf quelques souches résistantes). Ils sont résistants aux aminopénicillines et carboxypénicillines ainsi qu'à la céfalotine.

Des vaccins pour poissons sont disponibles dans le commerce pour la prévention et le contrôle, mais sont d'efficacité limitée. Le contrôle des infections implique généralement l'antibiothérapie et la gestion des facteurs environnementaux qui déclenchent les épidémies.

6. Genre *Plesiomonas*

Plesiomonas : adj. Gr. *plésios*, voisin ; n. Gr. *monas -ados*, une unité, une monade ; n. fém. N.L. *Plesiomonas*, voisin, proche d'une monade (proche des *Aeromonas* sp.).

Le genre *Plesiomonas*, avec sa seule espèce *Plesiomonas shigelloides* a été réaffecté de la famille des *Vibrionaceae* à la famille des *Enterobacteriaceae*, ordre des *Enterobacteriales* (Malgré son oxydase positive).

(***shigelloides*** : n. fém. N.L. *Shigella*, un nom de genre bactérien ; suff. Gr. *eides*, similaire ; adj. fém. N.L. *shigelloides*, ressemblant à une bactérie du genre *Shigella* : quelques souches de l'espèce *Plesiomonas shigelloides* présentent des antigènes O communs avec *Shigella sonnei*).

Habitat

P. shigelloides est présent dans les eaux (toute l'année en zone tropicale ou subtropicale, en été ou automne en zone tempérée), les marécages et dans l'intestin de divers animaux (poissons d'eau douce, crapauds, serpents, singes, chiens, chats, chèvres, cochons, moutons, bovins, volailles et vautours). Bien que cette bactérie ne semble pas pouvoir survivre plus de 24 heures dans l'eau salée, on la rencontre chez les animaux marins (poissons, crustacés, coquillages et surtout huitres).

Résistance / sensibilité

P. shigelloides ne survit pas bien en dehors de ses hôtes ou des milieux de culture. Il peut survivre dans les eaux qui gèlent pendant de longues périodes de l'année. Il est inactivé par un pH de 04 après 60 minutes et pH de 02 après 15 minutes. Il est sensible à la chaleur humide (121°C pendant au moins 15 minutes) et à la chaleur sèche (160-170°C pendant au moins 01 heure). Il est inactivé par l'hypochlorite de sodium à 01%, l'éthanol à 70%, le glutaraldéhyde à 03%, l'iode, les composés phénoliques et le formaldéhyde.

Morphologie

C'est un bacille droit de 0.8-01.0/03.0 µm, Gram négatif, asporulé, acapsulé et mobile par une ciliature polaire, généralement lophotriche.

Caractères culturels

Ce germe est aéro-anérobie facultative et il pousse bien à 37°C, mais il ne se développe pas en dessous de 08°C, ni en bouillon NaCl à 06.5%. Sa culture n'est pas inhibée sur les milieux usuellement utilisés pour les entérobactéries (*Salmonella* et *Shigella*). Elle est aussi possible sur milieux ordinaires. Le milieu sélectif "inositol-vert brillant-sels biliaries (IBB)" est employé essentiellement pour les coprocultures. Ce germe pousse sur la gélose MacConkey et la gélose CIN. Sur la gélose Columbia au sang, les colonies non hémolytiques, sont larges (de 02 à 03 mm de Ø), convexes et opaques ressemblant à celles des entérobactéries. Sur les géloses entériques, les colonies ne sont pas lactose-fermentaires.

Caractères biochimiques

C'est une bactérie, oxydase et catalase positive, fermentant le glucose (sans production de gaz), l'inositol, le tréhalose et le maltose, et réduisant les nitrates en nitrites. Elle ne produit pas d'enzymes exo-cellulaires (DNase, gélatinase, uréase, esculine hydrolase...) ; mais, elle est ONPG, ODC, LDC, ADH et indole positive.

Structure antigénique

Actuellement, on connaît 102 variations dans l'antigène somatique O et 51 dans l'antigène flagellaire H chez *P. shigelloides*.

Certains sérogroupes "O" donnent des réactions croisées avec les antigènes de *Shigella* ou d'*Aeromonas*.

Pathogénie

Le manque de modèles expérimentaux d'infection a entravé la définition des mécanismes de pathogénèse. Les facteurs de virulence connus comprennent une toxine semblable à celle de *V. cholerae*, une hémolysine et une

entérotoxine thermostable. L'hémolysine peut jouer un rôle dans l'acquisition du fer *in vivo*, par lyse des globules rouges, libérant ainsi de l'hémoglobine. La toxine thermostable est toxique pour les cellules épithéliales humaines *in vitro*. Environ 40% des isolats de *Plesiomonas* sont résistants au sérum, et d'autres facteurs peuvent faciliter l'absorption ou l'invasion de *P. shigelloides* dans le tractus gastro-intestinal.

Son pouvoir pathogène pour les poissons s'exprime peu fréquemment et nécessite des conditions particulières telles qu'un réchauffement de l'eau et la présence excessive de matières organiques.

Pouvoir pathogène

Cette bactérie est un pathogène opportuniste des poissons. Elle peut produire de forte mortalité chez les truites. Elle est aussi l'un des principaux pathogènes des esturgeons. Elle a récemment été identifiée comme la cause majeure des mortalités en masse enregistrées en élevage de carpes de roseau (ou carpes herbivores), de carpes argentées et de tilapia du Nile. Les mêmes dégâts ont été aussi observés chez les poissons cichlidés d'ornement. Chez les poissons morts ou malades, on peut noter des hémorragies sous-cutanées, des ulcères et des lésions rénales.

Chez les animaux et les oiseaux, cette bactérie a été isolée de cas pathologiques ; mais son rôle reste à être confirmé.

Diagnostic

Les échantillons comprennent des écouvillons et des grattages des tissus affectés, des biopsies ou carrément des cadavres de poissons.

L'examen microscopique direct n'a pas de grande valeur diagnostique.

La culture est facile sur les milieux habituels et les colonies suspectes sont testées pour leur capacité à élaborer une oxydase et, en cas de positivité, les tests biochimiques sont poursuivis pour affirmer le diagnostic.

Des tests moléculaires (PCR, séquençage...) permettent de confirmer l'identité des souches.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

P. shigelloides est fréquemment résistant aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines, mais il est sensible à d'autres antibiotiques (imipénème, aztréonam, tétracyclines, triméthoprime-sulfaméthoxazole, fluoroquinolones, chloramphénicol...).

Plusieurs souches de cette bactérie sont productrices de β -lactamases et sont aussi résistantes aux macrolides, aminosides (sauf nétilmicine), lincosamides, streptogamines et aux glycopeptides. Ceci fait de l'antibiogramme une nécessité avant toute antibiothérapie.

Chez les poissons, un traitement de 10 jours à base de sulfamides et de triméthoprime permet de réduire la mortalité.

Bacilles Gram négatif non fermentants

Le terme “bacilles a Gram négatif non fermentaires BGN-NF” regroupe plusieurs familles et genres de bactéries mobiles ou immobiles, capables de pousser sur milieux ordinaires et à métabolisme respiratoire strict (ayant l'oxygène comme accepteur final d'électrons). Quelques genres peuvent utiliser les nitrates comme accepteur final d'électrons en anaérobiose (exemple *P. aeruginosa*).

Ces BGN à métabolisme oxydatif, incapables de fermenter les sucres en anaérobiose sont dits “non fermentants” ou “non fermentaires”.

Le grand groupe des BGN-NF a subi de nombreux remaniements taxonomiques qui ont abouti à une classification plus précise des *Pseudomonas* et apparentés et une reclassification dans de nouveaux genres (*Burkholderia*, *Ralstonia*, *Comamonas*, *Delftia*, *Brevundimonas*, *Stenotrophomonas*), ou le transfert dans des genres déjà existants, de beaucoup d'espèces.

Un autre exemple des autres BGN-NF, la famille des *Flavobacteriaceae* comptant de nombreuses espèces (basé sur le caractère commun : pigmentation jaune), a été restructurée et ne comprend actuellement que les genres *Bergeyella*, *Capnocytophaga*, *Chryseobacterium*, *Elizabethkingia*, *Empedobacter*, *Myroides*, *Wautersiella*, *Weeksella* et le genre *Flavobacterium* (avec une dizaine d'espèces).

1. Famille *Pseudomonadaceae*

1.1 Genre *Pseudomonas*

Pseudomonas : adj. Gr. *pseudes* -es, faux ; n. fém. L. *monas* -adis, monade, unité ; n. fém. N.L. *Pseudomonas*, une fausse monade.

Actuellement les espèces de *Pseudomonas* sont classées en cinq groupes génomiques, avec les *Pseudomonas* “vrais” dans le groupe I :

- Groupe génomique I : groupe *fluorescens* + groupe *stutzeri* + groupe *alcaligenes* ;
- Groupe génomique II : groupe *pseudomallei* + *cepacia* ;
- Groupe génomique III : groupe *acidovorans* ;
- Groupe génomique IV : groupe *diminuta-vesicularis* ;
- Groupe génomique V : groupe *maltophilia* (*Xanthomonas*).

Les *Pseudomonas* stricto sensu sont des BGN, aérobies stricts, non fermentaires, oxydase positive (sauf *P. luteola* et *P. oryzihabitans*), mobiles par une ciliature polaire monotriche ou multitriche, oxydant ou non le glucose et n'accumulant pas du poly- β -hydroxybutyrate. Certaines espèces peuvent respirer les nitrates (par exemple *P. aeruginosa*) en anaérobiose tandis que d'autres peuvent fermenter l'arginine.

Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces productrices de pigments. Les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la Pyoverdine, solubles dans les milieux de culture, et peuvent les colorer.

Les espèces pigmentées sont par exemple :

- *P. aeruginosa* : pyocyanine + pyoverdine, il possède l'un ou l'autre ou les deux, mais pouvant être perdus par mutation. Il existe des variétés mélanogènes ou érythrogènes produisant un pigment noir ou un pigment rouge.
- *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine mais certaines souches sont parfois apigmentées.
- *P. aureofaciens* : pigment jaune orange ou pourpre.

Moins de 5 % des souches sauvages ne produisent aucun pigment. Elles sont souvent isolées au cours de traitements aux antibiotiques.

1.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

aeruginosa : adj. fem. L. *aeruginosa*, rouille ou vert-de-gris (d'où, vert).

Le bacille pyocyanique, du grec *puon* : pus et *kuanos* : bleu foncé, est désigné sous le nom d'espèce *Pseudomonas aeruginosa* du latin *aeruginosus* : couvert de rouille. C'est l'espèce la plus connue et la plus répandue du genre *Pseudomonas*. La plus pathogène, elle constitue l'espèce-type du genre.

Habitat

C'est une bactérie qui vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau (eau de rivière, l'eau de mer et océan) et le sol humide ou sur les végétaux. Cette bactérie peut vivre à l'état commensal dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux. Elle peut survivre et se multiplier dans une multitude de liquides et de milieux, sur des supports et des matériels surtout humides.

P. aeruginosa est la bactérie pathogène opportuniste par excellence.

Résistance / sensibilité

Cette bactérie résiste mal à la dessiccation ; mais elle peut survivre durant des mois sur des surfaces sèches et des objets inanimés. L'humidité accroît considérablement sa persistance. Dans l'eau distillée, elle peut survivre pendant des mois avec un minimum de nutriments.

Elle est détruite en 15 minutes à 60°C, en 30 minutes à 58°C et en 1 heure à 55°C. Elle est tuée par les antiseptiques les plus courants (l'hypochlorite de sodium à 01%, l'éthanol à 70% et le glutaraldéhyde); les plus efficaces étant le phénol à 02% et le formol. Elle est résistante aux désinfectants utilisés pour traiter l'eau potable tels que le chlore, les chloramines, l'ozone et l'iode. Elle a une résistance marquée à l'alcool et à l'action des rayons UV. Elle est capable de pousser aussi dans des milieux extrêmes tels que le dodécylsulfate de sodium et divers désinfectants.

Morphologie

Bacille fin, à Gram négatif dont la taille est de 1 à 3 µm/0,5 à 1µm de large. Mobile grâce à une ciliature polaire. Parfois entouré d'une pseudo-capsule appelée *slime* ayant un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie.

P. aeruginosa se retrouve sous deux phénotypes distincts :

- * Une forme planctonique : les bactéries sont mobiles grâce à leurs flagelles et leurs pili ;
- * Une forme communautaire : les bactéries s'agrègent sous forme de biofilms.

Caractères cultureux

P. aeruginosa cultive aisément sur tous les milieux ordinaires, avec dégagement d'une odeur aromatique caractéristique proche du seringa (jasmin) ou de l'acacia (due à la production d'ortho-amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment).

La température optimale de croissance est de 30°C à 37°C (croissance possible à des températures allant de 04 à 45°C ; mais pas en dessous de 04°C). Cette bactérie tolère également très bien les variations de pH de son environnement.

En fonction de la composition des milieux et du type d'infection (aigüe ou chronique), les colonies peuvent présenter différentes morphologies (morphotypes). Sur milieux solides, trois types de colonies (particuliers à cette espèce) peuvent être observés ensembles ou isolés :

* Colonies larges (la) : isolées et grandes (02 à 03 mm de diamètre), à bord irrégulier, rugueuses, avec une partie centrale bombée (Fried eggs ou œufs sur le plat). Elles présentent des reflets irisés et métalliques dus à une autolyse liée à l'action des enzymes protéolytiques bactériennes ;

* Colonies plus petites lisses (Sm : smal) : petites, mates, légèrement bombées avec un bord circulaire régulier. Très adhérentes, elles correspondent à un développement en biofilm ;

* Colonies muqueuses (M) : bombées, coalescentes, filantes, rencontrées chez les souches produisant un *slime* composé d'un polymère polysaccharidique extracellulaire appelé acide alginique. Ces colonies se rencontrent presque spécifiquement dans des infections chroniques.

À partir de prélèvements contaminés, il faut utiliser un milieu sélectif contenant du cétrimide (un ammonium quaternaire) additionné ou non d'acide nalidixique.

Les différents pigments élaborés par cette bactérie servent à son identification. Leur production n'est reliée ni avec la virulence, ni avec la protection. Ces pigments sont fluorescents ou non fluorescents.

- Pyoverdine : *Pigment jaune-vert fluorescent*, hydrosoluble, insoluble dans le chloroforme. Elle est mise en évidence dans le milieu King B ou le milieu *Pseudomonas* agar F ;

- Pyocyanine : *Pigment bleu* soluble dans l'eau et le chloroforme. Elle a une action bactériostatique sur certaines bactéries Gram positives. Elle est mise en évidence dans le milieu King A ou le milieu *Pseudomonas* agar P ;

- Pyomélanine : *Pigment brun noir* diffusant. Elle est élaboré par les souches isolées de lésions purulentes ;

- Pyorubrine ou aéruginosine A : Variété érythroène ou *pigment rouge-brun*.

Caractères biochimiques

La plupart des souches hydrolysent l'urée, produisent de la catalase et de l'oxydase et ont des propriétés hémolytiques (β -hémolyse). Elles acidifient (par oxydation) le glucose, l'arabinose, le galactose, le mannitol, le xylose et le mannose, utilisent le citrate, réduisent les nitrates, ont une activité gélatinolytique et n'acidifient pas le lactose. Elles ne produisent ni indole ni H₂S. Elles produisent de l'arginine déshydrolyase et hydrolysent l'acétamide.

Structure antigénique

La classification antigénique de Habs comprend actuellement 17 sérogroupes O (Ag O lipopolysaccharidiques, thermostables) permettent d'identifier 90 à 95% des souches par une technique d'agglutination sur lame à partir de colonies prélevées sur gélose.

En fonction de la présence de l'Ag O, ou non, le phénotype est qualifié de lisse ou de rugueux. Les souches possédant l'Ag O (phénotype lisse), sont plus virulentes que les souches à phénotype rugueux qui sont facilement lysées par le sérum.

Les sérogroupes O les plus fréquents sont O1, O5, O6 et O11. Cependant, il existe des réactions croisées entre serogroupes (souche polyagglutinable) et 10% des souches sont non agglutinables (souches muqueuses surtout). Certains sérogroupes sont cosmopolites plus ou moins fréquentes, et d'autre plus rares et absentes dans certains pays (O14, O15, O17).

P. aeruginosa est aussi porteur d'Ag H flagellaires (protéiques, thermolabiles). Son sérogroupage permet d'abaisser le pourcentage des souches non typables ; mais cette technique n'est pas couramment utilisée.

Pathogénie

Autres que les chromophores (pigments), *P. aeruginosa* peut élaborer :

- Des hémolysines : Deux hémolysines sont synthétisées :

* *Le glycolipide hémolytique* : non enzymatique et non antigénique thermostable et relativement peu toxique ;

* *La phospholipase C* : une lécithinase, thermolabile, comparable à la toxine alpha de *Clostridium perfringens*. Elle produit une réaction inflammatoire limitée, œdémateuse, érythémateuse ou hémorragique chez l'animal ;

- Des Protéases : *P. aeruginosa* produit des enzymes protéolytiques (élastase, protéase alcaline, collagénase, caséinase) dont les actions combinées produisent des destructions tissulaires ;
- Exotoxine A : Cette toxine n'a pas d'activité protéolytique ou lécithinasique ; mais a le même mécanisme d'action que la toxine diphtérique. Elle inhibe la synthèse protéique par altération du facteur d'élongation EF₂ ;
- Exoenzyme S : C'est une autre exotoxine à activité ADP-Ribosyltransférase, produite par 40% des souches de *P. aeruginosa* ;
- Cytotoxine : C'est une leucocidine lytique à faible dose sur différents types cellulaires particulièrement les leucocytes (PMN, lymphocytes). Elle est élaborée par plus de 95% des souches ;
- Entérotoxine : Mal connue, elle provoque une accumulation hydrique dans l'intestin du lapin et pourrait être à l'origine d'entéocolite à *B. pyocyane* ;
- Facteur de perméabilité vasculaire ;
- Facteurs impliqués dans la mobilité et dans l'adhérence de la bactérie ;
- Facteurs de formation de biofilms (flagelles, pili, lipopolysaccharide et alginate).

P. aeruginosa colonise les muqueuses ou les plaies et adhère grâce aux facteurs d'adhésion ou aux composés polysaccharidiques externes. Une multiplication rapide des bactéries se produit, et sous l'influence des différents facteurs de virulence, il se forme un foyer inflammatoire local, où se concentrent de nombreux phagocytes et polynucléaires qui vont dans les cas favorables assurer la destruction rapide des bactéries.

En cas de déficience immunitaire portant sur le nombre et/ou la qualité des polynucléaires, la phagocytose est insuffisante et le stade d'invasion succède à la colonisation. Les bactéries débordent alors les barrières cellulaires de défense dans le foyer inflammatoire et se multiplient ; une bactériémie est généralement constatée avec localisations secondaires. La production d'exotoxine est intense et sa diffusion est large.

Pouvoir pathogène

Le bacille pyocyane est un agent infectieux dangereux lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont altérées. D'ailleurs, il est l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste. De nombreuses souches commensales ont été isolées d'infections occasionnelles chez les animaux. Cette bactérie agit rarement comme agent pathogène primaire et ses infections font suite à des traumatismes cutanés (plaies, brûlures), des déficiences liées à certaines pathologies lourdes (néoplasmes, immunodéficiences...) ou à des déséquilibres de la flore commensale (après une antibiothérapie).

Les infections que cette bactérie peut produire chez les animaux sont comme suit :

- * Bovins : mammite, avortement, métrite, pneumonie, dermatite, arthrite, entérite chez les veaux ;
- * Ovins et caprins : pourriture de la toison, mammite, pneumonie, abcès pulmonaires, otite moyenne ;
- * Chevaux : métrite, ulcère cornéen, pneumonie, abcès ;
- * Chiens et chats : otite externe, cystite, pneumonie, kératite ulcérate, endocardite, pyodermite profonde ;
- * Porcs : Infection pulmonaire, otite ;
- * Visons : pneumonie hémorragique, septicémie ;
- * Chinchillas : pneumonie, septicémie ;
- * Volailles : mort des embryons et des poussins nouvellement éclos, septicémie ;
- * Serpents captifs : stomatite nécrosante ;
- * Différents animaux : infection urinaire, septicémie, surinfection des plaies, abcès, granulome (botryomycose).

Diagnostic

Les prélèvements pour analyses de laboratoire dépendent des lésions et des symptômes. Ils sont représentés par le pus, le liquide d'aspiration pulmonaire, les urines, le lait mammiteux, l'écouvillonnage auriculaire, le sang...

L'examen microscopique est d'un intérêt réduit puisque les *Pseudomonas* n'ont pas de caractère microscopiques distinctifs.

P. aeruginosa n'est pas une bactérie exigeante. Elle peut donc être isolée sur une multitude de milieux de culture tels que : la gélose trypticase soja, la gélose au sang de mouton à 05%, la gélose chocolat, la gélose Drigalski ou toute autre gélose utilisée pour les entérobactéries (MacConkey, brilliant green, XLD,...). L'usage de milieux de culture sélectifs permet un bon isolement à partir de prélèvement contenant de la flore de contamination. Ces milieux sont à base de cétrimide, acétamide, nitrofurantoïne,...

L'identification présomptive est basée sur les caractères cultureux (différents aspects de colonies, pigmentation et odeur...) et les caractères biochimiques (une forte activité oxydase). L'identification de certitude est obtenue en ajoutant aux tests précédents, un tube de TSI (pas de changement) et la croissance à 42°C, ou d'étude du profil biochimique de la souche. Les souches apigmentaires sont identifiées grâce à leur capacité d'hydrolyser l'acétamide et de réduire les nitrates.

Des systèmes d'identification sont commercialisés tels que : API 20NE ou API 20E (bioMérieux), Microbact 24E strip (MedVet, Australia), VITEK-1 ou VITEK-2 (bioMérieux), Microscan WalkAway (Dade International).

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

P. aeruginosa est sensible seulement à quelques antibiotiques et le passage par l'antibiogramme est donc important. Ce germe est résistant à de nombreux antibiotiques : benzylpénicillines, aminopénicillines, céphalosporines de 1^e et de 2^e générations, phénicolés, tétracyclines et triméthoprime. Cette résistance résulte d'imperméabilité de la paroi, de modification des porines ou de l'efflux, d'inactivation enzymatique ou de modification de la cible.

P. aeruginosa est habituellement sensible aux: gentamicine, tobramycine, amikacine, piperacilline et piperacilline-tazobactam, ciprofloxacine et ticarcilline-acide clavulanique. Ces antimicrobiens sont fréquemment utilisés dans le traitement des infections des tissus mous.

Chez le chien souffrant d'infection urinaire au bacille pyocyanique, l'administration de dose suffisante de tétracyclines permet l'éradication du germe.

Les infections de l'oreille externe et moyenne peuvent être traitées à l'aide de préparations otiques à base d'enrofloxacin, neomycine, polymyxine, chloramphénicol et de gentamicine.

La prévention des infections au bacille pyocyanique vise l'identification et la correction de tous les facteurs prédisposants. Une bonne hygiène des locaux et du matériel d'élevage et de couvain, une stérilisation adéquate du matériel chirurgical et une bonne désinfection de l'eau (de boisson et celle utilisée dans le nettoyage/désinfection) suffisent à empêcher les infections pyocyaniques.

Chez les visons et chinchillas, une vaccination peut s'imposer. Cependant, la grande diversité antigénique entre les souches, oblige le recours à des vaccins polyvalents ou des autovaccins (tués au formol). Une immunité humorale induite par un vaccin polyvalent (à base du polysaccharide de l'exotoxine A) s'est avérée protectrice.

1.1.2 *Pseudomonas fluorescens*

fluorescens : n. L. *fluor*, un flux ; v. L.M. *fluoresco*, entrer en fluorescence ; adj. L.M. *fluorescens*, qui entre en fluorescence.

Pseudomonas fluorescens est un membre du groupe des *Pseudomonas* fluorescents en raison de sa capacité à produire un pigment fluorescent.

L'extrême diversité du potentiel métabolique de cette bactérie lui confère l'aptitude de contaminer et persister dans un large éventail d'environnements et d'hôtes tels que : les animaux (vertébrés et invertébrés), le sol, les rhizosphères et les surfaces des plantes, les produits pharmaceutiques non stériles, les surfaces et tout matériel humides ou mouillés.

Ce bacille Gram négatif, mobile (flagelle polaire) et aérobic strict (mais pouvant se servir des nitrates et de l'O₂ comme récepteurs finaux des électrons), est incapable de fermenter les sucres (glucose et lactose notamment). Il est chimio-organotrophe, oxydase et catalase positives et il cultive bien à pH compris entre 04 et 08 et à une température de 04 à 32°C (souches isolées de l'environnement et d'animaux non-mammifères) ou de 37°C (souches issues de mammifères).

Chez les bovins, cette bactérie est la cause de cas sporadiques de mammites (d'origine environnementale); alors que chez la volaille elle induit la mort des embryons *in ovo* aux couvoirs (œufs de dinde désinfectés par des solutions antiseptiques contaminées) et une hépatite nécrosante chez les oiseaux de volières. Elle est aussi capable de générer des lésions de pourriture des nageoires et de septicémie chez les poissons.

En fin, il est important de signaler que ses souches sont souvent multirésistantes aux antibactériens, et le recours à l'antibiogramme est une nécessité.

2. Famille *Burkholderiaceae*

Il s'agit d'une nouvelle famille créée en 2006. Elle comprend plusieurs genres : *Burkholderia* (représentant de la famille), *Cupriavidus*, *Lautropia*, *Pandoraea*, *Paucimonas*, *Ralstonia*, *Thermothrix* et autres, présentant une grande diversité phénotypique, métabolique et écologique.

2.1 Genre *Burkholderia*

Burkholderia : n. fém. N.L. *Burkholderia*, en l'honneur du bactériologiste W.H. Burkholder.

La première espèce de ce genre était *Pseudomonas cepacia*. Sur la base d'études moléculaires, le nouveau genre *Burkholderia* a été créé en lui rattachant les espèces *P. caryophylli*, *P. cepacia*, *P. gladioli*, *P. mallei* et *P. pseudomallei*. On connaît actuellement environ 80 espèces de *Burkholderia*.

2.1.1 *Burkholderia mallei*

mallei : n. L. *malleus* -i, la morve (une maladie du cheval) ; n. gén. L. *mallei*, de la morve.

Habitat

Même si cette bactérie peut être trouvée dans l'eau, le sol et sur les plantes, elle est considérée comme parasite obligatoire, ne pouvant vivre que dans le corps des animaux infectés (chevaux, ânes et mules). Parfois, les chameaux, les chèvres, les moutons, les chiens, les chats, ainsi que certains carnivores des zoos (chats sauvages, loups, ours...) peuvent aussi être infectés.

Résistance / sensibilité

B. mallei est un véritable parasite, car incapable de survivre dans l'environnement pendant de longues périodes en l'absence de son hôte (en général moins de 02 semaines et rarement 06 semaines maximum). À l'extérieur et dans les produits pathologiques, sa résistance est variable et est dépendante du degré de dessiccation et du temps d'exposition au soleil (surtout les UV).

Une température de 100°C suffit pour la tuer en quelques secondes et 55°C pendant 10 mn. Les antiseptiques la détruisent en peu de temps : le sublimé (à 01/2000) en 01 à 02 minutes et le phénol (à 01/5000) en 10 minutes. Elle est facilement inactivée par le chlorure de benzalkonium, l'hypochlorite de sodium (à 01%), l'éthanol (à 70%), le glutaraldehyde (à 02%) et les dérivés iodés.

Morphologie

Il s'agit d'un bacille droit de 0.5/01.5 à 05 µm, Gram négatif, non encapsulé, non sporulé, et immobile. Dans les frottis, les cellules peuvent se présenter seules, en paires (bout à bout) ou en palissades. Dans le cytoplasme, cette bactérie accumule des inclusions de poly-β-hydroxybutyrate, observables au Gram sous forme de granules métachromatiques. Des cellules pléomorphes avec des formes filamenteuses peuvent être aussi observées dans des cultures âgées. Au microscope électronique, une pseudo-capsule (capsule-like) a été mise en évidence. Elle est composée de glucides neutres, et intervient dans la protection du germe des conditions environnementales défavorables.

Caractères culturaux

B. mallei se développe bien mais lentement sur la plupart des milieux de culture de routine, tels que la gélose au sang de mouton à 05%, la gélose MacConkey (la majorité des souches) et la gélose chocolat. Sa croissance peut être améliorée par l'ajout de 01% de glycérol dans le milieu gélosé. La croissance se fait à 37°C ; mais elle est possible à 20-41°C (impossible à 42°C). Les colonies apparaissent après 02 à 04 jours d'incubation en aérobose.

Sur les géloses glycérolées, les colonies sont petites de 01 à 02 mm de Ø, lisses, convexes, translucides, humide, visqueuses, non pigmentées ou parfois blanchâtres (crèmeuses) à jaunâtres. Sur la gélose glycérolée à la pomme de terre (glycerol potato agar), *B. mallei* donne des colonies ressemblant à des gouttes de miel, qui en vieillissant deviennent rugueuses et se colorent en brun-chocolat sans production de pigments. Sur la gélose au sang frais, les colonies sont non-hémolytiques. La croissance confluyente est courante.

En bouillon glycérolée, une turbidité modérée est observée avec formation progressive d'un sédiment à caractère collant et muqueux.

Sur la gélose MacConkey et la gélose TSI, aucun changement n'est observable puisque cette bactérie ne fermente pas le lactose et le glucose.

Caractères biochimiques

Ce germe chimio-organotrophe est aérobic et a une faible activité enzymatique vis-à-vis des glucides et des polyalcools. Il oxyde le glucose, le D-arabinose, l'inositol, le mannitol, le sorbitol et le tréhalose. Il assimile le mannose, le N-acétylglucosamine et les adipates (sels et les esters de l'acide adipique) ; mais, il présente une certaine variabilité dans l'assimilation d'autres sucres. *B. mallei* réduit les nitrates (sans gaz), produit du sulfure d'hydrogène, liquéfie la gélatine, utilise l'arginine et ne produit pas d'indole. Elle est catalase et ADH positif, et ses activités oxydase et uréase sont variable.

Structure antigénique

Les souches pathogènes de *B. mallei* sont groupées dans un seul sérotype.

Il est à préciser que cette bactérie possède des antigènes en communs avec *B. pseudomallei* et *A. lignieresii*.

Pathogénie

Le germe pénètre dans l'organisme par inhalation, ingestion ou par voie transcutanée. La pathogénicité est due à la virulence et à la production de toxines, mais ses mécanismes ne sont pas entièrement compris. Les principaux facteurs de virulence de cette bactérie sont représentés par sa capsule polysaccharidique qui protège sa membrane externe de la destruction par le complexe d'attaque issu de l'activation du complément lytique (permettant la survie intracellulaire de la bactérie chez son hôte). Cette action est renforcée par le lipopolysaccharide de la paroi, qui en plus, joue le rôle d'endotoxine et déclenche aussi la libération des cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines. *B. mallei* possède des pili de type IV et des systèmes de sécrétion de type type III et VI qui injectent de nombreuses protéines effectrices dans les cellules hôtes. Le germe produit aussi des protéases, des lipases et une phospholipase C.

Les premières lésions surviennent à la porte d'entrée avec une dissémination lymphatique et sanguine vers les ganglions lymphatiques régionaux, mais aussi dans d'autres tissus ou organes. Des lésions granulomateuses à caractère exsudatif (petits nodules avec une forte réaction vasculaire à la périphérie), ou des lésions productives (nodules plus gros de 02-05 mm, de couleur blanc-gris, d'aspect vitreux et à faible réaction périphérique) se forment. Elles peuvent se calcifier ou s'encapsuler.

Pouvoir pathogène

Les équidés sont les principales cibles de ce pathogène. La maladie peut évoluer sous trois formes :

- Un syndrome pulmonaire chronique avec toux et écoulement muco-purulent ;
- Une forme cutanée caractérisée par la formation d'abcès multiples dans les tissus cutané et sous-cutané le long des vaisseaux lymphatiques, appelée Farcin ;
- Une forme septicémique grave avec frissons et prostration. Elle est létale en 01 à 02 semaines.

Les chevaux présentent rarement la forme aiguë de l'infection, contrairement aux ânes et mulets qui développent plutôt la forme septicémique.

Les carnivores peuvent développer une septicémie aiguë s'ils consomment de la viande d'animaux atteints. Les félinés (surtout captifs) paraissent plus sensibles à cette bactérie que les canidés. Des infections naturelles occasionnelles ont été signalées chez les moutons, les chèvres et les chameaux ; mais les porcs et les bovins sont réfractaires à l'infection. Le cobaye est très sensible à cette bactérie.

Diagnostic

B. mallei et *B. pseudomallei* sont identifiées comme agents du bioterrorisme potentiels de la catégorie B par le Center for Disease Control and Prevention (CDC) aux États-Unis. La manipulation de tout produit pathologique suspect doit obligatoirement se faire dans des laboratoires avec des précautions de biosécurité de niveau BSL-3 (BioSafety Level 3).

Les échantillons pour le diagnostic doivent inclure des écoulements de lésions (abcès, ganglions, poumons) et du sang pour la sérologie.

L'examen microscopique est sans intérêt diagnostique. L'isolement doit se faire sur des milieux sélectifs (par ajout de bacitracine, polymyxine E et actidione).

L'identification est basée sur les caractères culturels et biochimiques (ADH, oxydation du glucose et absence de l'oxydation du saccharose et du maltose). Les galeries API 20E et 20 NE ainsi que le Microbact 24E strip (MedVet, Australia), VITEK-1 or VITEK-2 (bioMérieux), Microscan WalkAway (Dade International) peuvent être d'une grande utilité dans l'identification de cette bactérie. Des tests PCR et PCR en temps réel peuvent aussi être employés.

Les tests sérologiques utilisés sont : la fixation du complément, l'ELISA indirect et l'ELISA compétitif, l'hémagglutination indirecte, la contre-immuno-électrophorèse, l'immunoblotting, l'immunofluorescence indirecte et l'agglutination sur lame au rose Bengale.

L'intradermoréaction à la malléine (un extrait glycoprotéique de la bactérie) est un test à la fois de diagnostic et de dépistage de cette infection.

L'inoculation expérimentale peut également être réalisée sur des hamsters ou des cobayes mâles par injection intrapéritonéale ou intratesticulaire, avec production d'une péritonite et périorchite aiguë purulentes (test de Strauss) en 02 à 03 jours.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

B. mallei est connue résistante aux pénicillines, aux céphalosporines, à la rifampine et au chloramphénicol. Elle est généralement sensible aux tétracyclines, aux fluoroquinolones, aux aminoglycosides (gentamicine...), au triméthoprime, à l'imipénème, à la pipéracilline, et aux sulfamides. Bien que ces agents puissent être utilisés pour traiter les infections humaines, le traitement des équidés infectés est déconseillé.

À ce jour, aucun vaccin n'est disponible pour prévenir cette infection et son éradication repose sur le dépistage des équidés et l'élimination des réservoirs couplée à des règles d'hygiène et une désinfection rigoureuse (Formol à 01.5% et iodophore à 02% avec un temps de contact de pas moins de 06 heures).

Burkholderia pseudomallei

pseudomallei : adj. Gr. *pseudes* -es, faux ; n. L. *malleus* -i, la morve (une maladie du cheval) ; n. gén. N.L. *pseudomallei*, de la fausse morve (mélioiidose). Cette bactérie est appelée aussi bacille de Whitmore.

Habitat

Le réservoir naturel est constitué de rongeurs sauvages (rats, souris, etc...) à partir desquels l'infection est transmise aux animaux domestiques et sauvages. Le germe vit comme saprophyte dans divers milieux naturels, notamment dans les sols argileux, les boues, les eaux stagnantes des mares et des rizières. C'est un endo-symbionte d'amibes vivant dans l'environnement.

Résistance / sensibilité

Ce germe est très résistant au froid et il peut survivre pendant des années dans son environnement naturel. Il peut persister de 24h à 07 jours sur les surfaces. Dans les produits biologiques, il ne supporte pas le refroidissement et la congélation. Il est sensible à de nombreux désinfectants : l'hypochlorite de sodium à 01%, l'éthanol à 70%, le peroxyde d'hydrogène, l'acide peracétique, le glutaraldéhyde et le formaldéhyde. Il est aussi sensible à la chaleur humide (121°C pendant au moins 15 min) et à la chaleur sèche (160-170°C pendant au moins 01 heure).

Morphologie

B. pseudomallei est un bacille court de 0.5/02 µm, Gram négatif, non encapsulé, non sporulé, mobile par ciliature lophotriche. Dans les produits pathologiques, il a tendance à la coloration bipolaire (par accumulation de poly-β-hydroxybutyrate) qui lui donne l'aspect d'une épingle à nourrice. Il exprime des exopolysaccharides de surface (microcapsule).

Caractères cultureux

B. pseudomallei peut croître sur des milieux de culture courants, des géloses au sang et la gélose MacConkey, en utilisant le lactose. Elle est également cultivée sur la gélose EMB (Eosin Methylene Blue) et sur la gélose sélective d'Ashdown (contenant de la gentamicine et du crystal violet comme additifs sélectifs) et le bouillon sélectif d'Ashdown (à la colistine). Cependant, aucune croissance n'est possible sur la gélose SS et la gélose lactosée au désoxycholate.

Sur gélose nutritive, le type des colonies de *B. pseudomallei* varie de lisse puis mucoïde (1^{er} au 2^e jour d'incubation) au rugueux (après quelques jours d'incubation). Les colonies du type lisse sont rondes (02-03 mm Ø), mi-convexes, à pourtours régulier, brillantes et de couleur jaune grisâtre. Après 02 à 03 jours, ces colonies atteignant 05-10 mm de Ø, elles deviennent opaques et ternes, ridées et ondulées en surface (avec des stries radiées), brunes jaunâtres et umbonées (ombiliquées ou mamelonnées). Sur la gélose au sang de mouton, une hémolyse initialement partielle puis complète se produit en quelques jours. Sur la gélose Columbia les colonies sont confluentes et d'aspect métallique. Sur le milieu d'Ashdown, les colonies sont plates, roses à violettes (absorption du rouge neutre) avec des stries radiales. Sur la gélose MacConkey, les colonies sont initialement transparentes, puis elles deviennent roses avec un éclat métallique typique lors d'une incubation prolongée.

En bouillon peptoné, un trouble apparaît en surface puis descend progressivement, tandis qu'un voile plissé et fragile se développe en surface.

Les cultures de cette bactéries dégagent une odeur caractéristique de terre, de truffe (en bouillon), et parfois de moisi (putride).

L'incubation des cultures se fait en aérobiose pendant au moins 04 jours (07 jours maximum), à 37-39 °C ; mais de nombreuses souches cultivent bien à 42 °C.

Caractères biochimiques

Ce germe utilise (par oxydation) une série de sucres et de polyalcools : l'arabinose, le maltose, le tréhalose, le xylose, l'inositol, le sorbitol, le glucose et le galactose. Il a la capacité d'assimiler le mannitol, le mannose et le citrate. Il réduit les nitrates (avec production de petites bulles de gaz), liquéfie la gélatine, produit de la lécithinase et de la lipase. Les tests de l'ADH, l'oxydase et de la catalase sont positifs et ceux de l'LDC, l'ODC, l'indole, l'uréase et de l'H₂S négatifs.

Biochimiquement, deux biovars distincts sont décrits. Ils se différencient par leur capacité à assimiler le L-arabinose.

Structure antigénique

Sur la base de l'antigène somatique O (Lipopolysaccharide), les souches de *B. pseudomallei* peuvent être classées en deux sérotypes : les souches typiques (produisant le LPS typique lisse de Type antigénique A), et les souches atypiques (exprimant le

LPS atypique lisse de Types antigéniques B et B2). Un troisième type non sérotypable existe aussi (dit rugueux par manque de l'antigène O).

Pathogénie

B. pseudomallei est une bactérie intracellulaire facultative dont les facteurs de pathogénicité restent mal connus. Le LPS montre les activités endotoxiques biologiques classiques. La capsule polysaccharidique joue probablement un rôle antiphagocytaire permettant à la bactérie de survivre dans les cellules phagocytaires de l'hôte. Un exopolysaccharide forme aussi une barrière protectrice. L'ingestion de la bactérie par les granulocytes neutrophiles et les macrophages n'est pas suivie de la lyse bactérienne, car la bactérie reste présente dans une vacuole où elle peut se multiplier.

Cette bactérie sécrète une diversité d'exotoxines (protéases, lécithinases, lipases, catalases et hémolysines) capables d'endommager les cellules de l'hôte (nécrose tissulaire, hémolyse et cytolyse). Une métalloprotéase dégrade le C3, les IgG, les IgA et inhibe ainsi les moyens de défense de l'organisme. Elle facilite aussi l'acquisition du fer par la malléobactine. Une toxine cytolétale amènerait à une mélioïdose avec septicémie.

Pouvoir pathogène

B. pseudomallei est l'agent causal de la mélioïdose ou pseudomorve. Ce pathogène a une large gamme d'hôtes, y compris les humains, les chevaux, les moutons, les chèvres, les chiens, les chats, les bovins et les porcs.

Les infections animales à *B. pseudomallei* sont généralement systémiques et les manifestations de la maladie dépendent de l'étendue et de la distribution de l'infection. La mélioïdose est une maladie inflammatoire chronique nodulaire ou purulente. Une maladie aiguë avec septicémie terminale a été décrite aussi. Des petits nodules cutanés caséux peuvent se former dans n'importe quel tissu (y compris le cerveau) et finissent par se rompre, libérant plus d'organismes dans l'environnement ou infectant d'autres animaux.

Les chiens atteints par la mélioïdose développent de la fièvre, des myalgies, des abcès dermiques et une épидидymite.

Chez les ruminants et les porcs, l'infection a une allure épidémique dont l'arthrite et la pneumonie sont les signes cliniques courants. En plus, chez les bovins, une placentite et une endométrite ont été décrites, avec de multiples abcès dans les poumons, les ganglions lymphatiques régionaux, la rate, le foie et les articulations.

L'infection de l'homme est appelée maladie de Whitmore, et celle du cheval pseudomorve.

Diagnostic

Les échantillons pour le diagnostic en laboratoire doivent inclure du pus d'abcès, des tissus affectés et du sang pour la sérologie. Un PSM (poste de sécurité microbiologique) doit être utilisé pour le traitement de ces échantillons.

La culture reste la méthode de référence pour le diagnostic de la mélioïdose. L'isolement se fera sur la gélose au sang, la gélose MacConkey (le lactose est utilisé dans la gélose MacConkey) et surtout la gélose d'Ashdown. D'autres géloses sont aussi recommandées telles que : *B. pseudomallei* selective agar (BPSA) et *B. cepacia* selective agar (BCSA).

Les critères d'identification des isolats comprennent l'aspect des colonies, l'odeur caractéristique (*NB*: ne jamais renifler les cultures suspectes par risque d'infection) et les caractères biochimiques. Les performances des systèmes d'identification disponibles dans le commerce, tels que API 20NE, Phoenix et Vitek 2, varient considérablement pour identifier *B. pseudomallei* en la confondant avec d'autres espèces du même genre ou de genres et de familles différentes.

La confirmation du diagnostic est obtenue par le test d'agglutination sur lame (avec antisérums spécifiques) et le test d'agglutination rapide au latex (fixation au latex).

L'immunohistochimie (réalisée sur tissus et biopsies fixés) et l'immunofluorescence indirecte (sur une variété de prélèvements) sont aussi utiles.

Les techniques de PCR et PCR temps réel peuvent être utilisées pour confirmer l'identité des isolats et différencier surtout *B. pseudomallei* de *B. mallei*.

Les sérums des individus suspects seront analysés par ELISA, fixation du complément ou hémagglutination indirecte.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les conditions habituelles d'un antibiogramme conviennent, notamment Milieu Mueller-Hinton normal incubé à 37°C durant 20 à 24 h.

B. pseudomallei est très sensible à la céfopérazone, à la ceftazidime, à la ceftriaxone, au chloramphénicol, à l'imipénem, à l'amoxicilline-acide clavulanique, à l'ampicilline-sulbactam et modérément à la tétracycline, à l'amoxicilline, aux fluoroquinolones (ciprofloxacine) et au triméthoprim (triméthoprim-sulfaméthoxazole). L'efficacité du traitement est limitée par la résistance de cette bactérie à plusieurs classes d'antibiotiques (aminoglycosides et polymyxine B : gentamicine, colistine, etc.).

Actuellement aucun vaccin n'est disponible dans le commerce contre la mélioïdose.