

Chapitre I : Bactéries asporulées Gram positif

1. Famille *Micrococcaceae*

Cette famille, anciennement composée des genres *Micrococcus*, *Rothia* (*Stomatococcus*), *Planococcus* (rencontré en milieu marin) et *Staphylococcus*, a subi de profonds remaniements taxonomiques à partir de 1997. Actuellement, elle comprend les genres *Arthrobacter*, *Dermacoccus* (relié à la famille *Dermacoccaceae*), *Kocuria*, *Kytococcus*, *Micrococcus*, *Nesterenkonia*, *Renibacterium* et *Rothia*.

D'une façon générale, les bactéries de cette famille sont des cocci à Gram positif, sphériques, mobiles ou immobiles, disposées en grappes régulières ou irrégulières et oxydase positive. Elles sont présentes dans une variété d'habitats.

1.1 Genre *Micrococcus*

Micrococcus. Grec *mikrós* : petit et *kókkos* : pépin ou grain

Ce genre regroupe environ 17 espèces (*M. luteus*, *M. lylae*, *M. antarcticus*, *M. endophyticus*, *M. flavus*, *M. terreus* et *M. yunnanensis*, *M. varians*, *M. aloeverae* et *M. cohnii*, ...), dont *M. luteus* est particulièrement importante en pathologie.

Des espèces de *Micrococcus* sont maintenant classées sous d'autres genres, telles que : *Arthrobacter agilis*, *Nesterenkonia halobia*, *Kocuria kristinae*, *K. rosea*, *K. varians*, *Kytococcus sedentarius* et *Dermacoccus nishinomiyaensis*.

Habitat

Les microcoques sont largement répandus dans différents écosystèmes terrestres et aquatiques, où ils mènent une vie saprophyte, ainsi que sur la peau des humains et des animaux: écureuils, rats, rats-laveurs, opossums, chevaux, porcs, bovins, chiens, divers primates, oiseaux et certains animaux marins (poissons, requins, crevettes). L'espèce dominante chez les animaux est *M. varians* alors que *M. luteus* est beaucoup plus isolée de peau humaine.

Ces microorganismes sont aussi isolés à partir du sol, des poussières, des eaux, de l'air, des plantes, de certains aliments (viande et produits laitiers), des muqueuses et de la région oropharyngée des mammifères, mais aussi de prélèvements pathologiques.

Résistance / sensibilité

Les microcoques sont relativement résistants au séchage et aux changements modérés de température. Ils peuvent persister sur la peau humaine pendant de longues périodes (quelques mois à deux ans et demi pour *M. luteus*).

Ils sont sensibles à la chaleur humide (121°C pendant au moins 15 mn) et sèche (160-170°C pendant au moins 01h). Leur croissance est sensiblement ralentie à des températures >45°C, à un pH <6 et en présence de concentrations élevées en sel (>15%). Ils sont inactivés par l'eau de javel à 0,1%, l'éthanol à 70%, le glutaraldéhyde, le formaldéhyde et les dérivés iodés à 0,075 g/L.

Certaines espèces plus adaptées au froid ont été identifiées en Antarctique (*M. antarcticus*), d'autres plus résistantes à la salinité ont été isolées des environnements marins, et d'autres (*M. luteus*) ont été identifiées dans des eaux souterraines alcalines (pH 11,4).

Morphologie

Les microcoques mesurent de 0,3 à 0,8 µm de Ø et sont habituellement non mobiles (à l'exception de *M. agilis* et *M. roseus*) et non sporulés. Ce sont des cocci à Gram positif groupés en paires, tétrades ou en grappes irrégulières (rappelant parfois celles des staphylocoques).

Ces bactéries n'ont pas de glycine (substance apparentée au peptidoglycane) dans leur paroi cellulaire, contrairement aux staphylocoques. Ceci, les rend insensibles à la lysostaphine, qui est très active sur les staphylocoques.

Caractères culturels

Les microcoques sont cultivés sous des températures optimales allant de 25 à 37°C et obligatoirement en conditions aérobies. Ils poussent bien dans des environnements avec peu d'eau ou des concentrations élevées de sel (jusqu'à 0,5% NaCl).

La plupart des microcoques poussent sur des milieux de culture usuels (gélose nutritive, gélose au sang, gélose P,...). Des géloses sélectives telles que la gélose FTO au nitrofurane (50 mg/L) et la gélose FP à la furazolidone (50 mg/L) ont été aussi proposées pour éviter la croissance de *Staphylococcus*, fréquemment retrouvés dans les prélèvements.

Plusieurs espèces (*M. luteus*, et *M. roseus*) produisent des pigments caroténoïdes jaunes ou roses lorsqu'elles poussent en milieu contenant du mannitol.

Sur milieux solides, les microcoques forment des colonies de tailles variables, lisses, rondes, brillantes, opaques, le plus souvent pigmentées de gris-jaune, jusqu'au jaune crème ou rose/rouge.

En milieu liquide, ils produisent une turbidité prononcée et un dépôt facilement homogénéisable, parfois jaunâtre.

Caractères biochimiques

Les microcoques sont des germes chimio-organotrophes à métabolisme aérobie, qui produisent rarement (ou peu) d'acides à partir des sucres. Ils sont catalase positifs, oxydase le plus souvent positifs, coagulase négatifs et hémolyse variables. Ils oxydent régulièrement le glucose, le galactose, le fructose, le maltose et le saccharose, variablement l'arabinose, le rhamnose et le ribose, et ils sont incapables d'oxyder le dulcitol.

Structure antigénique

Par exemple, le polysaccharide antigénique de *M. luteus* est constitué de résidus alternés de D-glucose et d'acide N-acétylmannosaminuronique.

Facteurs de virulence et Pouvoir pathogène

Une étude très récente (2021), a pu identifier une trentaine de facteurs de virulence chez *M. luteus*, dont certains sont responsables de sa résistance au stress, d'autres sont des systèmes de sécrétion, et les restants sont impliqués dans l'adhérence de la bactérie aux cellules et l'évasion au système immunitaire de l'hôte, l'acquisition du fer et l'adaptation métabolique de la bactérie.

En pathologie animale, les microcoques ont un rôle insignifiant, mais il faut les connaître pour éviter toute confusion, particulièrement avec les staphylocoques. Ce sont des pathogènes opportunistes chez les individus immunodéprimés, et des isolements ont également été rapportés chez des espèces animales :

- Mammifères: mammites chez les petits ruminants, les vaches, les buffles femelles et les chèvres ;
- Oiseaux : pododermatite chez les flamants roses) ;
- Animaux aquatiques : mélanisation excessive de la peau avec lésions cutanées, lésions des branchilles, exophtalmie, ascite, entérite, décoloration et hypertrophie de la rate avec nécrose et liquéfaction des reins chez les poissons, la nécrose hépato-pancréatique aiguë chez les crevettes, et les infections oculaires chez les calmars.

NB : Il est supposé que les infections à *M. luteus* apparaîtront plus souvent à l'avenir, entraînant d'importantes pertes économiques dans les élevages surtout aquacoles.

Quelques espèces appartenant aux autres genres de cette famille ont été aussi incriminées dans des cas pathologiques :

Arthrobacter equi : amniotite et avortement chez la jument ;

Kokuria varians : hépatite, pneumonie et mort chez les perroquets ;

Kocuria rhizophila : presque le même pouvoir pathogène que *M. luteus* chez les salmonidés d'eau douce ;

Renibacterium salmoninarum: Bacterial Kidney Disease (BKD), qui est une pathologie chronique caractérisée par une nécrose extensive des reins chez les salmonidés ;

Rothia nasimurium : léthargie, décubitus, démarche déséquilibrée, lésions hépatiques et septicémie chez les oies (surtout les oisons).

Diagnostic

Compte tenu de la large distribution des microcoques sur la peau et les muqueuses, des précautions doivent être prises, afin d'isoler les organismes du foyer infectieux sans recueillir les bactéries commensales. Les échantillons sont représentés principalement par la peau ou tout autre organe où siègent les lésions.

Comme les microcoques présentent beaucoup de ressemblances phénotypiques et biochimiques avec les staphylocoques, leur différenciation sera envisagée. Les microcoques sont positifs à l'oxydase, résistants à la furazolidone, à la lysostaphine et à la mupirocine, et sensibles la bacitracine et au lysozyme.

L'ensemencement peut se faire sur les géloses FTO ou FP, et l'identification est possible en déterminant le profil biochimique de l'isolat.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les *Micrococcus* sont relativement sensibles à la plupart des antibiotiques, y compris la vancomycine, la pénicilline, la gentamicine, la rifampicine et la clindamycine.

Certaines souches sont résistantes à la nitrofurantoïne, à l'érythromycine, à la lincomycine, à la streptomycine, à la tétracycline et au chloramphénicol, ont été décrites.

2. Famille *Staphylococcaceae*

Suite aux études moléculaires, la famille des *Staphylococcaceae*, a été proposée puis validée en 2010. Elle comprend les genres *Staphylococcus* (représentant de la famille), *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus*, *Salinicoccus* et *Nosocomiococcus* (ajouté à cette famille en 2008, avec son unique espèce *N. ampullae*).

2.1 Genre *Staphylococcus*

Staphylococcus : n. Gr. *staphule* -es, une grappe de raisin ; n. Gr. *coccus* -ou, un grain ; n. masc. N.L. *Staphylococcus*, les coques groupés en grappes de raisins.

Jusqu'à 2015, le genre *Staphylococcus* englobait environ 50 espèces et 26 sous-espèces. Ces espèces sont classiquement classées sur la base de leur capacité de produire la "coagulase libre" (enzyme qui convertit le fibrinogène en fibrine et provoque la coagulation des plasmas humain et cunicole). Les espèces qui en produisent sont souvent pathogènes, et les non productrices sont plus rarement responsables d'infections. 07 espèces sont coagulase positives (SCP) ou coagulase variables (*S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. lutrae* et *S. schleiferi* subsp. *Coagulans*), parmi lesquelles *S. aureus* (représentant du genre), *S. pseudintermedius* et *S. hyicus* sont les plus pathogènes chez les animaux domestiques. Néanmoins, et depuis quelques années, les staphylocoques à coagulase négative (SCN), sont reconnues comme des pathogènes opportunistes. *S. sciuri* et *S. xylosus* sont les SCN les plus couramment isolés chez les animaux domestiques sains.

Les staphylocoques pathogènes sont également classés en biotypes : *A* (humain), *B* (bovin), *C* (bovin/ovine), *D* (lapin), *E* (chien) et *F* (pigeon). Beaucoup de données suggèrent, mais pas de façon absolue, une affinité d'hôte pour certaines espèces de staphylocoques : *S. caprae* (chèvre), *S. delphini* (dauphin), *S. equorum* (cheval), *S. felis* (chat), *S. gallinarum* (poulet), *S. lentus* (chèvre), *S. hyicus* (porc), *S. intermedius* et *S. pseudintermedius* (chien) et *S. simiae* (singe).

Dans ce texte, une attention particulière sera attribuée à *S. aureus* (*aureus* : adj. L. *aureus* -a -um, d'or, de couleur d'or, évoquant la production de pigment jaune-doré par certaines souches), étant l'espèce la plus impliquée en pathologie humaine et animale.

Habitat

Les staphylocoques sont très répandus dans l'environnement (sol, sable des plages, air, eau douce et salée). Ils peuvent également être isolés à partir de différents végétaux, aliments pour animaux, produits alimentaires, différents objets et matériaux variés.

Ce sont, pour la plupart, des commensaux qui colonisent le naso-pharynx, la peau et les muqueuses, les glandes cutanées, organes génitaux externes et de façon transitoire le tractus intestinal, aussi bien chez les humains que chez les animaux domestiques et sauvages. Les sites de portage des staphylocoques pathogènes sont généralement les muqueuses et les zones humides du corps comme les aisselles et la région périnéale.

Certaines espèces colonisent des niches écologiques préférentielles : la muqueuse nasale pour *S. aureus*, le cuir chevelu pour *S. capitis* et les plis cutanés et la muqueuse nasale pour *S. epidermidis*.

Résistance / sensibilité

Les staphylocoques ont une résistance remarquable aux facteurs physiques, chimiques et biologiques du milieu extérieur. Dans les milieux de culture habituels et à température ambiante, ils peuvent survivre pendant 02 à 03 mois. Ils sont détruits à 60°C en 30 mn ; mais certains résistent jusqu'à 80°C.

S. aureus résiste à un pH entre 4.2 et 9.3 et une salinité allant jusqu'à 15%. Par contre, il est sensible au traitement par la chaleur sèche (160-170°C pendant au moins une heure), mais non au traitement par la chaleur humide. Il est sensible à l'éthanol à 70%, à la chlorhexidine, à l'hypochlorite de sodium à 01%, au glutaraldéhyde à 02%, au chlorure de benzalkonium à 0.25% et au formaldéhyde.

Cette bactérie est capable de survivre sur les carcasses et les organes (jusqu'à 42j), les planchers (moins de 07j), le verre (46h), dans les milieux exposés au soleil (17 h), aux rayons UV (07h), dans les produits carnés (60 j), sur les pièces de monnaie (jusqu'à 07j) et la peau (30 mn à 38 j). Sur des textiles, *S. aureus* peut persister pendant quelques jours à des mois (en fonction de la taille de la colonie).

Morphologie

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques isodiamétriques (0.8 à 01µm de Ø), non sporulées, immobiles, non encapsulés. Certaines souches surtout cliniques (90% des *S. aureus*) peuvent synthétiser une capsule muco-polysaccharidique (visualisable par microscopie à contraste de phase, par coloration négative à l'encre de Chine ou par microscopie électronique).

Ce sont des Gram-positifs, lorsque les cellules bactériennes sont jeunes et à potentiel métabolique intact. Cependant, les cellules des cultures anciennes et celles phagocytées subissent des modifications tinctoriales (suite à la dégradation des structures de leur paroi), et peuvent apparaître Gram-négatives et avoir des tailles variables. Dans les frottis, les staphylocoques se présentent isolés, en diplocoques, en courtes chainettes ou plus classiquement en tétrade ou en amas irréguliers (grappes) caractéristiques.

Caractères cultureux

Les staphylocoques sont des bactéries peu exigeantes pouvant être isolées en bouillons ou sur milieux solides simples (gélose ordinaire, gélose trypticase-soja, gélose Mueller-Hinton ou gélose au sang). Néanmoins, leur isolement à partir des produits pathologiques polymicrobiens ou des aliments, se fait sur des milieux sélectifs comme la gélose Chapman (07.5% de NaCl + mannitol) et la gélose Baird-Parker (au tellurite), en prolongeant la durée d'incubation.

La croissance de ces bactéries est rapide, puisque leur temps de génération est de 20 à 30 mn. Les colonies apparaissent en 16 à 24 h sur milieux usuels simples (à pH optimal de 07-07.5) incubés à 35-37°C (culture possible entre 10 et 45°C) de préférence en aérobiose. Certaines espèces nécessitent une incubation plus longue et préfèrent une atmosphère enrichie en CO₂. Ces bactéries se développent facilement sous une pression osmotique élevée et une faible humidité (ce qui explique leur persistance dans les sécrétions nasales et sur la peau, ainsi que dans les aliments salés comme le jambon et d'autres types de conserves de viande).

Sur les milieux de culture usuels et après 24 h, les colonies de staphylocoques pathogènes, sont de taille variable 01 à 03 mm, d'aspect crémeux, circulaires à bords réguliers, brillantes à surface lisse, opaques, légèrement bombées ou aplaties. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune ou au jaune-orange. Les colonies des souches de *S. aureus* issues d'animaux domestiques ne sont pas pigmentées (blanches) alors que celles d'origine humaine et bovine sont toujours pigmentées (du jaune crémeux au jaune-orange). De même, les colonies de *S. pseudintermedius* et *S. hyicus* ne sont pas pigmentées, et celles de certains SCN comme *S. chromogenes* sont jaune-oranges.

Sur la gélose Chapman, *S. aureus* forment des colonies abondantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune (fermentation du mannitol et acidification du milieu). Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies qui ne modifient pas la couleur du milieu (pas d'acidification). D'autres espèces (*S. capitis*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. simulans*...) sont aussi positives au mannitol et produisent des colonies de couleur jaune entourées de zones jaunes.

Sur gélose Baird-Parker, *S. aureus* donnent des colonies noires (par réduction du tellurite en tellure), rondes, brillantes, convexes, entourées d'un halo d'éclaircissement du jaune d'œuf (sécrétion d'une lipoprotéinase) puis tardivement d'un précipité blanc trouble à opaque dans la zone de décoloration (sécrétion d'une lécithinase). Les SCN sont presque totalement inhibés.

Sur gélose au sang, *S. aureus* produit des colonies de couleur jaune doré, entourées d'une hémolyse β. Certains SCN peuvent également présenter un halo d'hémolyse. Les souches animales de *S. aureus* et *S. pseudintermedius* provoquent à la fois les deux hémolyses α et β.

Des souches de type Small Colony Variants (SCV) (issues d'infections chroniques) ont une croissance plus lente, sur milieux enrichis, avec une morphologie et des caractères phénotypiques atypiques. Les souches de *S. aureus* encapsulées donnent des colonies mucoïdes.

Dans les milieux liquides, on observe une turbidité intense et uniforme, avec formation d'un dépôt atypique, facilement homogénéisable, blanc jaunâtre ou grisâtre.

Caractères biochimiques

Ce sont des germes aéro-anaérobies facultatifs, à l'exception de certaines souches qui exigent du CO₂, comme *S. saccharolyticus* et *S. aureus* ssp. *anaerobius*.

La plupart des staphylocoques fermentent (sans production de gaz) le glucose, le lactose, le saccharose et le mannitol. Leur activité métabolique est assez bien marquée. Ils possèdent de nombreuses enzymes capables de catalyser une variété de substrats. Ces enzymes (nitrate réductase, phosphatase alcaline et acide, arginine dihydrolase,

ornithine décarboxylase, uréase, lipase, estérase, protéase, DNase, hyaluronidase, et cytochrome oxydase) fluctuent d'une espèce à une autre en permettant leur différenciation.

En aérobiose, les staphylocoques produisent de la catalase, une enzyme caractéristique, qui permet de les différencier des streptocoques et des pneumocoques. Cette enzyme est absente chez *S. saccharolyticus* et *S. aureus* ssp. *anaerobius*.

La majorité des souches de *S. aureus* sont coagulase-positives, mais certaines souches dites atypiques sont coagulase-négatives. Cette enzyme peut aussi être produite par d'autres espèces de staphylocoques d'origine animale.

Structure antigénique

Au moins une trentaine de déterminants antigéniques ont été identifiés chez les staphylocoques, dont plusieurs sont des constituants de leur paroi. Il s'agit notamment du peptidoglycane, des acides teichoïques, des polysaccharides de surface et la protéine A.

Il existe deux classifications pour les *S. aureus* : le système de Pillet qui définit 13 sérotypes et celui d'Oeding qui permet une meilleure approche de la structure antigénique (mosaïque) des souches.

Sur la base des polysaccharides capsulaires, 11 sérotypes ont été définis chez *S. aureus*. Les types capsulaires 5 et 8 étant les plus rencontrés chez les isolats cliniques.

Facteurs de virulence

Les staphylocoques sont associés aux suppurations et aux toxi-infections. Ceci est dû à leur capacité à produire une multitude de toxines et d'enzymes, dont le rôle de beaucoup d'entre eux (surtout pour certaines espèces) en pathologie n'a pas encore été complètement défini.

S. aureus peut devenir pathogène suite à :

- La pénétration du germe dans l'organisme, après rupture de la barrière cutanée ou au niveau d'un follicule pileux ou plumeux ;
- La rupture de l'équilibre hôte-bactérie à la suite de circonstances favorisant l'infection.

L'infection à *S. aureus* se déroule en plusieurs étapes qui se succèdent: envahissement local, nécrose cellulaire, diminution des défenses locales, formation de foyer de thrombophlébite régionale puis d'embolies septiques.

Les facteurs de virulence dont *S. aureus* est capable d'élaborer, sont représentés par :

- Les toxines :

* Les hémolysines

- . L'hémolysine α (alpha): thermostable, antigénique, cytotoxique et cytolytique ;
- . L'hémolysine β (bêta): thermolabile. Agit comme une sphingomyélinase de type C. Elle donne une hémolyse accrue en présence de souches de *Streptococcus agalactiae* (c'est le CAMP-test) ;
- . L'hémolysine δ (delta) : agit comme un détergent sur les membranes ;
- . L'hémolysine γ (gamma): composée de deux facteurs qui agissant en synergie. Elle est lytique pour les hématies et les leucocytes ;

* Les entérotoxines: Sont au nombre de 07 (A, B, C1, C2, C3, D et E) et sont responsables d'intoxications alimentaires (surtout les sérotypes A, B et D). Certaines de ces entérotoxines sont mitogènes sur les lymphocytes T ;

* Les toxines épidermolytiques (ou exfoliatines): Existente en 02 sérotypes A et B qui peuvent être produits par une même souche. Ils entraînent un élargissement de l'espace intercellulaire, puis un clivage des desmosomes reliant les cellules granuleuses de l'épiderme (à l'origine d'exfoliation) ;

* Les toxines pyrogènes : Il en existe deux sérotypes A et B qui sont pyrogènes, mitogènes et antigéniques ;

* La toxine du syndrome de choc toxique (TSST) : Provoque un rash érythémateux avec ou sans desquamation et a une activité super-antigénique ;

* La leucocidine de Panton Valentine détruit spécifiquement les polynucléaires et les macrophages de l'homme et du lapin.

- Les enzymes :

* La coagulase libre : provoquant la coagulation du plasma humain ou de lapin et joue un rôle dans la formation de thrombophlébites suppurées et inhiberait la phagocytose ;

* La coagulase liée ou clumping factor : c'est une coagulase liée à la surface du germe. Elle se lie au fibrinogène et est responsable de l'agrégation sur lame des staphylocoques en présence de sérum ;

* La fibrinolysine ou staphylokinase : c'est un activateur du plasminogène. Elle est thermolabile est antigénique. Elle provoque la dissolution des caillots et intervient dans la formation d'embolies septiques ;

* L'hyaluronidase : fluidifie la substance fondamentale du tissu conjonctif ;

* La nucléase : c'est une DNase thermostable (thermonucléase) ;

* Autres enzymes : lipases, estérases, protéases...

- À ces facteurs, s'ajoutent :

* Les protéines de surface : permettant l'adhérence de la bactérie au collagène, à la fibronectine et la vitronectine ;

* La capsule : inhibe la phagocytose ;

* La staphyloferrine B : qui est une sidérophore.

* La protéine A : se lie à la fraction Fc des IgG et inhibe l'opsonisation.

NB. Les autres staphylocoques pathogènes en médecine vétérinaire, ont des panels de facteurs de virulence moins importants que celui de *S. aureus*.

Pouvoir pathogène

Les principales pathologies animales liées aux staphylocoques, sont présentées dans le tableau suivant :

<i>Staphylococcus</i> spp.	Hôtes	Pathologies
	Plusieurs espèces animales	Abcès et suppuration. Infection systémique
<i>S. aureus</i>	Vaches	Mammites suraiguë, aiguë, subclinique, chronique ou gangreneuse. Impétigo de la mamelle (petites pustules à la base des trayons)
	Ovins	Mammites suraiguë, aiguë ou gangreneuse. Pyohémie à tiques des agneaux de 02 à 05 semaines (liée à une infestation massive par les tiques). Dermatite (eczéma) périorbitaire (liée aux mangeoires). Dermatite faisant suite à des abrasions de la peau
	Caprins	Mammites suraiguë ou aiguë. Dermatite
	Chevaux	Mammite aiguë. Botryomycose des cordons spermatiques (après castration)
	Lapins	Dermatite exsudative des nouveaux nés. Abcès, conjonctivite et pyohémie
	Volailles	Lésions pyo-granulomateuses du tissu sous cutané des pattes, pouvant toucher les articulations. Arthrites et septicémie chez la dinde. Omphalites
<i>S. aureus</i> ssp. <i>anaerobius</i>	Ovins	Lésions similaires à celles de la lymphadénite caséuse (causée par <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>)
<i>S. pseudintermedius</i>	Chiens et chats	Pyodermite canine et féline (juvénile et adulte). Pyodermite chronique et récurrente. Dermatite pustuleuse du nouveau-né et de l'adulte. Pyomètre. Otite externe. Infections variées (appareil respiratoire, os, articulations, plaies, paupières, conjonctives...)
	Chevaux bovins et	Infection rares
<i>S. hyicus</i>	Bovins	Rarement : mammites et infections cutanées
	Chevaux	Infections cutanées
<i>S. chromogenes</i>	Ruminants	Mammites subcliniques
	Chevaux et chats	Rarement : dermatite
<i>S. delphini</i>	Dauphins	Lésions cutanées purulentes

<i>S. epidermidis</i>	Chiens et chevaux	Infection des plaies
<i>S. felis</i>	Chats	Otite, abcès, dermatite, cystite, conjonctivite
<i>S. gallinarum</i>	Volailles	Infections de la peau
<i>S. lentus</i>	Ovins et caprins	Infections de la peau
<i>S. schleiferi</i> ssp. <i>coagulans</i>	Chiens	Otite externe
<i>S. sciuri</i>	Chats et autres animaux	Infections de la peau
<i>S. warneri</i>	Tourterelles	Septicémies

Diagnostic

En dehors de l'épidermite exsudative des porcelets et la pyohémie à tiques des agneaux (seules affections avec des signes cliniques suffisamment distinctifs pour indiquer l'implication de staphylocoques pathogènes), les staphylocoques doivent être suspectés dans tout processus suppuratif.

Les échantillons doivent être pris avant toute antibiothérapie et avec une asepsie rigoureuse. Ils sont représentés par les exsudats, le pus, le lait mammitéux, les grattages de peau, les urines et tout tissus infecté. Ils ne nécessitent aucune condition particulière de prélèvement ni de transport.

La préparation et l'examen des frottis de pus ou des exsudats colorés au Gram, sont souvent satisfaisants et peuvent montrer les Cocci Gram-positifs de staphylocoques dans leur forme typique de grappes de raisin.

L'ensemencement se fait usuellement sur gélose au sang (de préférence ovin ou bovin) incubée à 35-37°C en aérobiose pendant 24 à 48 h. En parallèle, une gélose MacConkey est aussi inoculée afin de détecter l'éventuelle présence de bactéries Gram-négatives.

Afin d'inhiber la flore de contamination (notamment Gram-négative), les prélèvements contaminés, doivent être cultivés sur des milieux sélectifs (en prolongeant l'incubation) dont certains permettent une identification directe :

- Les géloses Columbia aux antibiotiques : CNA (colistine et acide nalidixique) ou CAP (colistine et aztréonam) ;
- La gélose de Chapman (mannitol-salt agar MSA) ;
- La gélose Phenyléthyl alcool (PEA) ;
- Les géloses Baird-Parker au jaune d'œuf ou au RPF (rabbit plasma fibrinogen) ;
- Et les géloses chromogènes : Brilliance Staph 24®(Oxoid), ChromID®*S. aureus* (SAID) (bioMerieux), CHROMagar®*Staph aureus* (CHROMagar), BBL CHROMagar®*Staph aureus* (BD Diagnostics)...

Les colonies suspectes feront l'objet d'une recherche de l'enzyme catalase afin de distinguer les staphylocoques des streptocoques (identification du genre). Ensuite, et pour différencier les SCP (notamment *S. aureus*) des SCN, une recherche de la coagulase libre est effectuée. Des tests de dépistage rapide existent également (recherche du facteur d'affinité pour le fibrinogène et recherche de la protéine A).

L'identification complète est possible grâce à deux grandes méthodes :

- La méthode biochimique d'identification (manuelle ou automatique) : API Staph®, ID 32 Staph® et RAPIDEC Staph® (bioMerieux), système Vitek 2® avec les cartes Vitek 2 GP® (bioMerieux), système BBL Crystal® Gram-Positive (BD Diagnostics), système BD Phoenix® avec les galeries PIDR et PMIC/ID-104® (BD Diagnostics) ;
- Et le matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight (MALDI-TOF).

L'identification par technique de biologie moléculaire (PCR point final ou PCR en temps réel) est largement utilisée pour l'identification surtout des souches résistantes à la méthicilline.

La lysotypie est utilisée pour comparer les souches de *S. aureus* isolées au cours d'épidémies. Elle est basée sur la sensibilité des souches à 23 bactériophages. Les types phagiques isolés chez les animaux (I, II, IV et V) sont différents de ceux de l'homme (I et III).

Le diagnostic indirect par recherche des anticorps a peu d'intérêt pratique.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

En tant que coques à Gram positif, les principaux antimicrobiens utilisés pour combattre l'infection staphylococcique sont les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire (les β -lactamines, notamment les dérivés de la méthicilline et les céphalosporines de première génération et la vancomycine). S'ajoutent à ceux-là d'autres antibiotiques (gentamicine, rifampicine, clindamycine, acides fusidique, fluoroquinolones, fosfomycine...). Cependant, les staphylocoques sont des bactéries qui acquièrent facilement la résistance aux antibiotiques, et beaucoup de souches deviennent de plus en plus résistantes à de nombreux antibiotiques (érythromycine, lincomycine, streptomycine, tétracycline et chloramphénicol). Parmi ces souches résistantes figurent les SARM (*S. aureus* résistants à la méthicilline qui sont devenues de fréquentes causes d'infections chez les humains et les animaux), les SARV (*S. aureus* résistant à la vancomycine) et SAIV (*S. aureus* de résistance intermédiaire à la vancomycine) qui ont été isolées d'infections humaines et récemment (2016) d'infections animales.

Il est à signaler que les résistances à la méthicilline et la vancomycine ne sont pas exclusives aux SCP (surtout *S. aureus*). Elles ont été aussi enregistrées chez les SCN. Ainsi, des tests de sensibilité (antibiogrammes) doivent être réalisés sur tous les isolats. En médecine vétérinaire, le problème de la résistance est fréquemment rencontré chez *S. aureus* et *S. pseudintermedius*.

L'émergence de souches résistantes a motivé le développement de moyens de prévention, notamment les vaccins.

Des vaccins inactivés (Lysigin® de Boehringer Ingelheim, Duluth, Georgia, United States et Startvac® de Hipra, Girona, Spain) sont disponibles de nos jours, pas pour la prévention des mammites staphylococciques chez les vaches, mais plutôt pour réduire la sévérité de leurs formes cliniques et subcliniques.

Des bactérines autogènes sont préconisées chez les truies à la fin de la gestation afin de protéger les porcelets nouveau-nés de la pyodermite exsudative liée à *S. hyicus*.

Enfin, la prévention des infections staphylococciques repose sur une bonne hygiène des élevages.

3. Famille Streptococcaceae

Au sein de cette famille, 3 genres sont différenciés : *Streptococcus* (une centaine d'espèces), *Lactococcus* (05 espèces) et *Lactovum* (01 espèce). Le genre *Enterococcus*, quant à lui, a quitté cette famille pour rejoindre la nouvelle famille *Enterococcaceae* en 2009, avec d'autres genres.

3.1. Genre Streptococcus

Streptococcus : adj. Gr. *streptos*, recourbé, contourné ; n. Gr. *coccus* -ou, un grain ; n. masc. N.L. *Streptococcus*, un grain contourné (évoque les chaînes flexueuses formées par quelques espèces du genre)

Le genre *Streptococcus* rassemble des espèces bactériennes qui ont en commun un certain nombre de caractères. La classification de ces espèces fait appel à l'étude de différents caractères bactériologiques : le pouvoir hémolytique, les critères immunologiques (bases de la classification de Lancefield), les caractères culturels et métaboliques, le pourcentage G+C, la comparaison des ARNr 16S, l'hybridation ADN-ADN, la composition de la paroi (type muréine) et le type des ménaquinones.

Au début des années 1930, Rebecca Lancefield a développé un schéma de regroupement basé sur des antigènes de paroi cellulaire glucidiques et spécifiques à l'espèce, avec des groupes désignés A à H et K à V.

Jusqu'à 2016, on reconnaît au sein de ce genre, 113 espèces et 09 sous-espèces, dont une poignée sont impliquées dans des processus pathologiques. Suite à des changements taxonomiques, il y a eu l'introduction de nouvelles espèces : *S.*

equisimilis a été nommée *S. dysgalactiae* ssp. *equisimilis*, *S. equi* a été divisée en deux sous-espèces : *S. equi* ssp. *equi* et *S. equi* ssp. *zooepidemicus*, *S. lactis* a été baptisée *Lactobacillus lactis*, *S. bovis* a été nommée *S. gallolyticus* (avec 3 sous-espèces). Parmi les espèces les plus récemment affiliées au genre, on trouve: *S. iniae* (isolée de dauphins d'Amazonie), *S. casoreus* (isolée de castors), *S. orisuis* (isolée de la cavité buccale de porcs), *S. dentirousetti* (isolée de chauves-souris), *S. ictaluri* (isolée de la barbe de rivière), *S. dentapri* (isolée de la cavité buccale des sangliers) et *S. ursoris* (isolée de la cavité buccale des ours).

Les espèces pathogènes pour les animaux, appartiennent essentiellement aux groupes A, B, C, D, E, G, L, N, Set V ; ainsi que d'autres espèces (*S. uberis*, *S. parauberis* et *S. pneumoniae*) non groupables.

Habitat

Beaucoup d'espèces de ce genre sont isolées des animaux et de l'homme, chez qui, elles colonisent différents organes et tissus. Certains streptocoques sont des saprophytes habitant le sol, l'eau et l'air.

Les habitats naturels des principales espèces de streptocoques pathogènes en médecine vétérinaire sont :

S. pyogenes (groupe A) : appareil respiratoire supérieur (homme) ;

S. agalactiae (groupe B) : canal galactophore (vaches, brebis et chèvres), vagin (femmes et chiennes) ;

S. dysgalactiae ssp. *dysgalactiae* (groupe C) : cavité buccale et organes génitaux (vaches et agneaux) ;

S. dysgalactiae ssp. *equisimilis* (groupe C, parfois A, G ou L) : peau et vagin (chevaux), amygdales (porcs, bovins, chiens et oiseaux) ;

S. equi ssp. *equi* (groupe C) : amygdales (chevaux) ;

S. equi ssp. *zooepidemicus* (groupe C) : peau et vagin (chevaux), peau et muqueuses (porcs) ;

S. equinus (groupe D) : tube digestif (homme et chevaux) ;

S. gallolyticus (D) : intestin (homme, pigeons, poulets, oisons) ;

S. porcinus (E, parfois P, U ou V) : muqueuses (porcs) ;

S. canis (groupe G) : voies urogénitales et muqueuse anale (Chiens et chats) ;

S. suis (groupe D, parfois R, S et T) : amygdales, cavités nasales, tractus digestif et génital (porcs) ;

S. uberis (non groupable) : peau, vagin et amygdales (bovins) ;

S. pneumoniae (non groupable) : appareil respiratoire supérieur (homme, autres primates, animaux de laboratoires).

Résistance / sensibilité

Les streptocoques sont des germes peu résistants aux facteurs environnementaux (surtout la dessiccation) et ne peuvent pas survivre pour longtemps loin de leurs hôtes. Ils sont inactivés à 56°C pendant 30 mn, mais résistent parfois à une faible pasteurisation. Ils sont détruits par le phénol (0,2 à 0,5%), le sublimé (Chlorure de mercure entre 1/200 et 1/2000), le peroxyde d'hydrogène, la teinture d'iode, le permanganate de potassium et bien d'autres substances antiseptiques ou désinfectantes. Lorsqu'ils sont inclus dans des biofilms, la résistance de ces bactéries à certains antiseptiques augmente de façon considérable.

D'une façon générale la résistance aux conditions environnementales et aux désinfectants (physiques ou chimiques) varie considérablement d'une espèce à une autre.

Morphologie

Les streptocoques sont des bactéries de forme sphérique, ovoïde ou lancéolée (aspect typique en fer de lance ou en flamme de bougie chez le pneumocoque), à Gram positif, de 0,6 à 0,1 µm de Ø, non sporulées, immobiles et certaines espèces sont encapsulées (streptocoques du groupe A). Les streptocoques ont une tendance à se colorer faiblement au Gram ou à perdre facilement cette coloration.

Dans les frottis, ils se présentent en diplocoques ou en chaînettes de longueurs variables ; plus longues dans les frottis réalisés à partir de bouillons de culture, et plus courtes dans les frottis préparés à partir de colonies (sur milieux gélosés) ou de produits pathologiques. Il est à noter que des chaînettes très longues sont observées dans le pus aspiré des ganglions cervicaux de chevaux infectés par *S. equi*. Les pneumocoques se regroupent en deux sous forme de 8 encapsulés.

Caractères culturels

Le type respiratoire des streptocoques est aérobie, microaérophile ou anaérobie facultatif, selon les espèces. En primoculture, certaines espèces ou souches se multiplient plus aisément en anaérobiose (*S. intermedius*) ou en présence de CO₂ (*S. pneumoniae*). La température de croissance fluctue entre 10°C et 45°C (optimum : 35 à 37°C) et le pH est de 7.3.

Les conditions de culture diffèrent en fonction du groupe. Les streptocoques des groupes A et C se développent dans des conditions optimales sur milieux avec sang et trypticase ou tryptose, ceux du groupe B sur gélose au sang de mouton, et ceux du groupe D sur gélose avec bile, esculine et azoture de sodium.

Certains streptocoques sont halophiles, pouvant se développer, comme les staphylocoques, sur des milieux hyperchlorés.

Les streptocoques sont des germes exigeants qui nécessitent pour se multiplier une variété de facteurs de croissance présents dans les milieux de culture complexes, comme les géloses trypticase soja ou Columbia enrichies de 05% de sang (de cheval, de mouton ou de lapin) et les bouillons à base de macération ou d'infusion de viande (Todd Hewitt, BHI : Brain-heart infusion, MRS : Man-Rogosa-Sharpe) enrichis de sang, de sérum ou d'autres suppléments. Des milieux sélectifs ont également été mis au point par lesquels les groupes et pour certains les espèces peuvent être différenciées (milieu à l'azide de sodium et au cristal violet, milieu de Todd-Hewitt modifié, ...).

En milieu liquide (bouillon au sérum), *S. agalactiae* pousse en donnant un trouble homogène avec ou sans dépôt, alors que *S. pyogenes*, *S. dysgalactiae*, *S. pneumoniae* donnent un dépôt floconneux ou granuleux (comme de la mie de pain), plus ou moins abondant selon la longueur des chaînettes, avec le restant du milieu limpide.

Sur milieu solide (gélose avec sérum), et après 24 à 48h d'incubation, des colonies apparaissent ; mais présentant des caractères variables suivant le groupe :

- Groupes A, C et G : colonies de 0.5 mm de Ø, translucides, en dôme, de type S (smooth) ;
- Groupe B : colonies plus larges, de type S, parfois pigmentées en jaune-orange en anaérobiose ;
- Groupes F et parfois groupes A, C et G : colonies minuscules (très petites) ;

Les espèces ayant une capsule, peuvent former des colonies plus grandes, visqueuses et grises. En plus, selon l'environnement et les conditions de culture, la transition vers les formes R (rough) peut avoir lieu. Le pneumocoque donne des colonies ombiliquées spécifiques.

Sur gélose au sang défibriné (05%), les streptocoques donnent de petites colonies grisâtres, translucides, en grains de semoule, entourées d'une zone d'hémolyse totale (hémolyse β) pour les streptocoques des groupes A, C et G, alors que les autres streptocoques donnent une hémolyse partielle (hémolyse α) ou pas d'hémolyse du tout (hémolyse γ). Les souches non hémolytiques génèrent des colonies très muqueuses, apparaissant comme des gouttes lipidiques de mucus. L'expression de l'hémolyse est meilleure sur des milieux enrichis en sang de cheval.

Il est à signaler que les membres du groupe *S. anginosus* émettent une odeur caractéristique ressemblant au caramel ou au caramel écossais.

Caractères biochimiques

Les streptocoques sont des bactéries à métabolisme anaérobie mais aéro-tolérants. Ils sont homofermentaires (divers sucres : glucose, mannose,... avec l'acide lactique comme métabolite principal) sans production de gaz, catalase et oxydase négatifs. Ils sont positifs pour les enzymes ADH, Leucine-aminopeptidase, rarement pour la pyrrolidonyl-arylamidase PYR (sauf *S. pyogenes*), l'aphosphatase alcaline, la β -glucuronidase, les α et β -galactosidases et la β -glucosidase. Ils produisent de l'acétoïne et hydrolysent l'esculine en présence de bile (groupe D : *S. equinus*, *S. gallolyticus*... et quelques espèces non groupables) et l'hippurate de sodium (groupe B, qui produisent aussi le CAMP factor).

Structure antigénique

La structure antigénique des streptocoques est complexe et elle est composée de la périphérie à l'intérieure :

- La capsule: de composition chimique variable selon l'espèce. Elle est présente chez les streptocoques des groupes A, B, C, D (certaines espèces), G et quelques espèces non groupables. On connaît par exemple 12 types d'antigènes capsulaires chez *S. bovis* et 90 chez *S. pneumoniae* ;
- La protéine M : constituée de sous unités peptidiques répétitives et conservées, et d'une partie immunogène variable responsable de la spécificité de type (on connaît plus de 80 types). C'est l'antigène le plus important du groupe A ;
- La protéine T : elle est située à la surface des streptocoques des groupes A, C et G ;
- Le polysaccharide C (antigène C) : se situe entre la couche protéinique et le peptidoglycane. Les polysaccharides C sont des haptènes et ne deviennent antigéniques que lorsqu'ils sont attachés au peptidoglycane par des liaisons covalentes.

La plupart des espèces de streptocoques (particulièrement β -hémolytiques), possèdent ce polysaccharide dont la composition et les propriétés antigéniques permettent de définir des groupes sérologiques (base de la classification de Lancefield). Cependant, certaines espèces en sont dépourvues (souches non-hémolytiques ou donnant une hémolyse de type *viridans*). Ces souches sont non-groupables et elles sont classées en espèces grâce à leurs caractères culturels et métaboliques.

- Le peptidoglycane : donne à la paroi des streptocoques sa rigidité. Il est composé d'un polysaccharide et d'un tétrapeptide. Le peptidoglycane des streptocoques est pyrogène et peut provoquer une réaction dermique locale.

Facteurs de virulence

Les streptocoques provoquent des infections suppurées principalement de la peau, des voies respiratoires, de l'appareil reproducteur, le moignon ombilical, et la glande mammaire. Une septicémie peut résulter d'une infection hémotogène (propagation de la primo-infection). Cliniquement, les maladies streptococciques sont généralement caractérisées à certains stades par des symptômes fébriles, seuls ou associés à des symptômes de septicémie. Les infections localisées présentent une formation de pus qui peut s'écouler des lésions. Les abcès se forment là où ce drainage est empêché. La toxémie et les lésions à médiation immunitaire sont des séquelles fréquentes.

Parmi les facteurs de virulence rencontrés chez les streptocoques, on peut citer (entre autres):

- L'hémolysine β : cytotoxiques. Elle est pyrogène ;
- Le facteur CAMP (*S. agalactiae*) : accentue le pouvoir lytique de l'hémolysine β de *S. aureus*. Il est cytotoxique pour le tissu mammaire ;
- La capsule : anti-phagocytaire ;
- La collagénase : détériore les fibres de collagène, endommage les endothéliums, détruit les tissus et perturbe l'hémodynamisme ;
- Les exotoxines (comme SePE-H, SePE-I, SePE-M, SePE-G) : pyrogènes, mitogènes (superantigènes) sur les lymphocytes T et provoquent la libération des cytokines ;

- L'hyaluronidase : accentue la dissémination tissulaire. Son activité est accrue chez *S. equi* ssp. *zooepidemicus* chez *S. equi* ssp. *equi*, expliquant le pouvoir invasif plus important de la première sous-espèce ;
- L'equibactine de *S. equi* ssp. *Equi*: c'est une sidérophore;
- La protéase IgA : clive les IgA pour que les bactéries échappent à leur action ;
- Le peptidoglycane : activation de la voie alternative du complément lytique ;
- La protéine M : antiphagocytaire ;
- La streptokinase : activation du plasminogène et accentuation de fibrinolyse. Elle accentue la dissémination tissulaire ;
- La streptodornase (DNase) : esquive de l'inactivation dans les neutrophiles ;
- Les streptolysines S et O : provoquent une hémolyse de type β . Elles agissent de la même manière que les bactériocines ;
- La gélatinase : hydrolyse le collagène, la caséine, l'hémoglobine et d'autres peptides ;
- Les hémolysines : actives sur les hématies de l'homme, des équidés et du lapin ;

Il est important de signaler que ces facteurs de virulence sont distribués de façon hétérogène, entre les groupes et les espèces appartenant à un même groupe.

Pouvoir pathogène

Les streptocoques sont généralement des commensaux des muqueuses et par conséquent, les infections qu'ils causent sont de type opportuniste. Ces infections peuvent être primaires (comme la gourme) ou secondaires (comme les pneumonies faisant suite à des viroses). Les ganglions lymphatiques, l'appareil génital ou encore la mamelle peuvent alors s'infecter. Les septicémies néonatales font généralement suite à des infections de l'appareil génital maternel. Certaines conditions d'élevage, favorisent l'émergence d'infections à *Streptococcus*. C'est le cas de la streptococcie respiratoire (à *S. pneumoniae*, sérotypes capsulaire 3) des jeunes chevaux au cours de la phase d'entraînement.

Le processus pathologique de base ressemble à celui des infections staphylococciques, c'est-à-dire que la lésion typique est un abcès. Les infections streptococciques animales sont présentées dans le tableau suivant :

<i>Streptococcus spp.</i>	Hémolyse	Hôtes	Pathologies
<i>S. pyogenes</i>	β	Vaches	Mammites (rares)
		Poulains	Lymphangites
<i>S. agalactiae</i>	$\beta(\alpha, \gamma)$	Vaches, brebis et chèvres	Mammites chroniques
		Chiens	Septicémie néonatale
		Chats	Infections rénales et utérines
<i>S. dysgalactiae</i> ssp. <i>dysgalactiae</i>	$\alpha(\beta, \gamma)$	Vaches	Mammites aiguës
		Agneaux	Polyarthrites
<i>S. dysgalactiae</i> ssp. <i>equisimilis</i>	β	Chevaux	Abcès, endométrites, avortements et mammites
		Porcs, bovins, chiens et oiseaux	Suppurations diverses
<i>S. equi</i> ssp. <i>equi</i>	β	Chevaux	Gourme, infections génitales, suppurations diverses, mammites et purpura hémorragique
		Chevaux	Infections articulaires, mammites, avortements, pneumonie et infection du nombril secondaires
<i>S. equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i>	β	Vaches	Mammites et métrites
		Porcs	Septicémies, arthrites chez les porcelets de 03 semaines d'âge
		Volailles	Septicémies et endocardites végétatives
		Agneaux	Péricardite et pneumonie
<i>S. gallolyticus</i>	α	Pigeons, oisons et poulets	Septicémies, endocardites, arthrites, ostéomyélites et d'autres infections opportunistes
<i>S. porcinus</i>	β	Porcs	Abcès de la bajoue et lymphadénites
<i>S. canis</i>	β	Chiens et chats	Septicémies néonatales, infections de l'appareil génital, de la peau et des plaies, otites, mammites, prostatites, avortements, conjonctivites,

		lymphadénites	
		Vaches	Mammites occasionnelles
<i>S. suis</i>	α	Porcs	Méningites, arthrites, pneumonies, endocardites et septicémies
<i>S. uberis</i>	$\alpha(\gamma)$	Vaches	Mammites
		Primates	Pneumonies, septicémies et méningites
<i>S. pneumoniae</i>	α	Chevaux	Pneumonies
		Cochons d'Inde et rats	Pneumonies
<i>S. equinus</i>	$\alpha(\beta, \gamma)$	Vaches	Mammites
		Pigeons	Septicémies et arthrites
<i>S. phocae</i>	β	Phoques	Septicémies secondaires
<i>S. iniae</i>	β	Dauphins d'eau douce	Abcès cutanés
		Tilapias et truites arc-en-ciel	Méningoencéphalites et mortalités massives
<i>S. pluranimalium</i>	α	Vaches	Mammites
		Canaris	Infections pulmonaires

Les espèces de streptocoques d'origine animale (*S. zooepidemicus* ssp. *zooepidemicus* et *S. canis*) sont rarement impliquées dans des infections humaines, à l'exception de *S. suis* qui peut être à l'origine d'infections graves et sévères chez les personnes travaillant avec des porcs.

Diagnostic

Les prélèvements à analyser dépendent des lésions observées. Ils peuvent être des exsudats, du pus, du lait mammitique, des grattages de peau, du liquide céphalorachidien LCR, des urines ou des biopsies de tissus. Ces prélèvements sont à réaliser avec beaucoup de précautions afin d'éviter leur contamination par les streptocoques commensaux. L'acheminement vers le laboratoire doit se faire dans moins de 2 heures. Les écouvillons doivent être récupérés dans un milieu de transport, car les streptocoques sont assez sensibles à la dessiccation.

Un examen cyto bactériologique (sans coloration), est réalisé sur le LCR, les urines, les épanchements liquidiens (pleural, péritonéal, articulaire) ou à partir des cultures positives en milieu liquide. En parallèle, des frottis sont préparés et colorés au Gram. Ainsi, les résultats obtenus orientent le diagnostic étiologique et permettent le choix de milieux de culture enrichis et de milieux sélectifs (prélèvements polymicrobiens). Des tests immunologiques (anticorps fluorescents) ont été développés pour la détection directe de *S. suis* type 2 dans les tissus.

L'ensemencement primaire se fait habituellement sur des géloses au sang ou des milieux sélectifs (gélose Columbia additionné d'acide nalidixique et de colimycine pour inhiber les Gram-négatifs, et milieu à l'azide de sodium et au cristal violet pour inhiber les Gram-négatifs et les staphylocoques). Le lait estensemencé sur la gélose Granada et la gélose Edwards pour l'isolement sélectif de *S. agalactiae* et d'autres streptocoques provoquant des mammites.

L'identification présomptive repose sur l'étude des critères suivants : aspect des colonies et l'hémolyse, production du facteur CAMP, hydrolyse de l'esculine en présence de bile, tolérance au NaCl (06.5%), sensibilité à la bacitracine (0.04 UI) et à l'optochine, et hydrolyse de l'hippurate de sodium.

L'identification précise du streptocoque isolé repose sur :

- L'étude de sa structure antigénique par des tests de précipitation en tube capillaire, contre-immunoélectrophorèse, double diffusion en gel d'agarose ou par immunodiffusion radiale simple (test de Mancini) : permettant sa classification dans l'un des groupes de Lancefield ;
- L'étude de ses caractères physiologiques et métaboliques en utilisant des galeries ou des automates (Api®20 Strep et rapid ID 32 STREP® system "bioMerieux", TAXIden® STREP "I2A" ; RapID™ STR "Remel", Vitek2® "bioMerieux", BD Phoenix™); pour l'identification des espèces non groupables.

Des tests d'agglutination rapide au latex ont été aussi proposés ; auxquels s'ajoutent des tests de biologie moléculaire : PCR classique ou en temps réel, MLST (Multilocus Sequence Typing), PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis), PCR multiplex pour la détection des facteurs de virulence, ... certains de ces techniques sont utilisées en enquêtes épidémiologiques à l'échelle régionale et nationale.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les streptocoques sont généralement sensibles aux antibiotiques de type pénicilline et ceux à large spectre (pénicilline G, céphalosporines, érythromycine, ampicilline, chloramphénicol, tétracycline, triméthoprime-sulfaméthoxazole, gentamycine, clindamycine, cloxacilline, tilmicosine, pirlimycine, novobiocine...). Cependant des cas de résistance à certains de ces antibiotiques (pénicilline, ampicilline) ont été signalés de par le monde. Ainsi, la détermination de la sensibilité aux antibiotiques des streptocoques isolés est nécessaire afin d'éviter tout échec thérapeutique. Les antibiogrammes par la technique de diffusion, doivent être réalisés sur gélose MH-F (Mueller Hinton Fastidious) additionnée de 05% de sang de cheval défibriné et de 20 mg/l de β -NAD.

Un vaccin vivant atténué, pour prévenir la gourme chez les chevaux, est disponibles uniquement en Amérique du nord (réversion vers la virulence et effets indésirables) et un autre est commercialisé en Europe (seulement réduction des signes cliniques et immunisation de courte durée).

Un vaccin à base du facteur de virulence "Activateur du plasminogène" de *S. uberis* a été aussi testé pour la prévention des mammites chez les vaches laitières.

La prophylaxie sanitaire est basée sur une bonne application des règles d'hygiène et l'isolement des individus infectés.

4. Famille *Enterococcaceae*

Les bactéries de cette famille, faisaient partie de la grande famille *Streptococcaceae*. Et suite au développement des techniques d'analyses génétiques (notamment moléculaires), elles ont été reclassées dans la nouvelle famille *Enterococcaceae* à partir de 2009.

Actuellement, cette famille regroupe les espèces bactériennes appartenant aux genres : *Enterococcus* (représentant de la famille), *Bavariococcus*, *Catelicoccus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.

4.1 Genre *Enterococcus*

Enterococcus : n. Gr. *enteron-ou*, intestin ; n. Gr. *coccus-ou*, un grain ; n. masc. N.L. *Enterococcus*, un coque de l'intestin

C'est le genre le plus important en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. Jusqu'à 2022, on connaît 80 espèces appartenant à ce genre, dont les plus rencontrées en médecine vétérinaire sont : *E. durans*, *E. hirae*, *E. villorum*, *E. lacertideformis*, *E. avium*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. porcinius* et *E. ratti*.

Habitat

Les entérocoques sont des commensaux du tractus gastro-intestinal de l'homme, des animaux (mammifères, oiseaux et reptiles) et des insectes. Ils peuvent, par contamination de voisinage, coloniser la peau (région périnéale et vagin). Ils sont également isolés de l'environnement (plantes, eaux et sol) et de produits alimentaires.

Résistance / sensibilité

Les entérocoques peuvent croître et résister dans des environnements agressifs, et peuvent survivre dans presque tous les milieux. Leur survie est de 05 j à 04 mois sur des surfaces inertes sèches. Ils sont tués par des températures dépassant les 80°C ; mais résistent bien aux températures de pasteurisation. Ils survivent à un traitement de 60°C pendant 30 mn. Ils sont inactivés par l'alcool isopropylique à 70%, l'éthanol à 70%, l'hypochlorite de sodium à 0.041%, les phénols, les ammoniums quaternaires et le glutaraldéhyde. Ils résistent au peroxyde d'hydrogène à 03%.

Morphologie

Les espèces du genre *Enterococcus* sont des coques Gram positifs à aspect ovoïde, se présentant de manière isolées, ou arrangées en paires ou en courtes chaînettes dans les frottis préparés de bouillons de culture de 18h. Elles peuvent prendre un aspect coco-bacillaire dans les frottis effectués à partir de colonies sur gélose. Elles ne sont pas sporulées, ni capsulées et uniquement certaines espèces sont mobiles à 30°C (*E. casseliflavus* et *E. gallinarum*).

Caractères culturels

Les entérocoques sont capables de se multiplier dans des conditions de croissance hostiles comme des températures extrêmes (10°C à 45°C avec un optimum de 35°C), en milieu hypersalé (06.5% NaCl), en présence de 40% de bile et 0.1% de bleu de méthylène, ou encore à pH alcalin (9.6). Ce sont des anaérobies facultatifs, pouvant croître en aérobiose, anaérobiose ou sous atmosphère enrichie en CO₂ à 05%. Ces bactéries sont peu exigeantes en facteurs de croissance et peuvent donc se multiplier aisément sur les géloses ordinaires.

Sur gélose Trypticase-Soja, les entérocoques donnent des colonies translucides (à l'exception de celles d'*E. casseliflavus* et d'*E. sulfureus* qui présentent une légère pigmentation jaune) d'un Ø inférieur à 01 mm, après une incubation de 18 à 24h à 35°C.

Sur gélose au sang, les colonies sont le plus souvent larges (0.5 à 1.5 mm de Ø), blanches ou gris-blanc, généralement α-hémolytiques ou non hémolytiques (sauf les colonies d'*E. faecalis* ssp. *zymogenes* qui sont β-hémolytiques).

Sur gélose Bile-esculine-azoture de sodium BEA, leurs colonies sont petites à larges, blanches, entourées d'un halo noirâtre (hydrolyse de l'esculine en esculetine en présence de bile).

Sur gélose ChromID™ VRE (bioMérieux), les colonies d'*E. faecalis* sont bleu-vertes et celles d'*E. faecium* sont violettes.

En bouillon de culture, ils présentent un trouble sur toute la hauteur du liquide.

Caractères biochimiques

Les entérocoques sont des chimioorganotrophes à métabolisme fermentatif obligatoire. Ils sont oxydase négatifs et catalase négatifs (une faible activité caractérise la catalase des quelques espèces positives). Ils sont homofermentaires (sans production de gaz), capables de métaboliser divers types de sucre comme la N-acétylglucosamine, le ribose, le glucose, l'arbutine, le cellobiose, le maltose, le β-gentiobiose, le D-manose, le β-D-méthyle glucopyranose, la salicine et le tréhalose.

La plupart sont capables d'hydrolyser le pyrrolidonyl β-naphthylamide et l'esculine. Ils sont capables de produire la leucine aminopeptidase, la pyrrolidonyl-arylamidase (qui permet de les différencier des streptocoques D), une α-glucosidase (à l'origine des colonies bleu-vertes) et une β-galactosidase (à l'origine des colonies violettes).

Structure antigénique

La présence d'un antigène de paroi chez les entérocoques permet dans 80% des cas de les classer dans le groupe D de Lancefield et très rarement dans le groupe Q. Cependant très rares sont les études ayant tenté d'établir des schémas de sérotypage des entérocoques pathogènes.

Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence retrouvés chez les entérocoques sont répartis en 05 grandes fonctions : les facteurs permettant l'adhésion, les facteurs participants à la formation de biofilm, les régulateurs de l'expression de certains gènes, les enzymes lytiques et les facteurs antiphagocytaires. Cependant, ils restent encore très mal connus. On en trouve :

- Les Adhésines

* Les pilis : impliqués dans l'adhésion aux cellules de l'hôte et la formation de biofilms ;

* Les protéines de surface extracellulaire : favorisent l'adhésion, la colonisation et l'évasion au système immunitaire (antiphagocytaires). Elles jouent un rôle dans la résistance aux antibiotiques et participent à la formation de biofilms ;

* La substance d'agrégation : joue un rôle essentiel dans la colonisation de l'hôte ;

* Le facteur de colonisation accessoire : Protéine de liaison au collagène. Elle joue un rôle important dans la colonisation ;

* L'antigène spécifique de l'endocardite : homologue aux adhésines présentes dans les parois cellulaires des streptocoques ;

- Les entérocoques (bactériocines): forment des pores dans la membrane cellulaire, ce qui entraîne la fuite des molécules intracellulaires indispensables ;

- La cytolysine ou β hémolysine : détruit les cellules animales en générant des pores dans la membrane cellulaire ;

- Les amines biogènes : histamine et tyramine. Ils peuvent avoir des effets toxiques ;

- Les enzymes :

* Une hyaluronidase : dégrade l'acide hyaluronique, constituant majeur de la matrice extracellulaire des cellules animales ;

* Une gélatinase : hydrolyse la β -insuline, la gélatine, le collagène, la caséine, l'hémoglobine et d'autres peptides biologiquement actifs. Elle contribue au processus de formation des biofilms ;

* Une sérine protéase : impliquée dans le processus inflammatoire et la lyse de différentes matrices cellulaires ;

- La sidérophore : de type hydroxamate. Elle est produite en réponse à des niveaux bas de fer ;

- Le superoxyde extracellulaire : confère aux entérocoques une certaine protection contre les cellules phagocytaires.

Pouvoir pathogène

En pathologie vétérinaire, les entérocoques causent des infections opportunistes. Ils s'installent souvent chez les sujets recevant une antibiothérapie (pour d'autres infections), dont les effets sur la flore bactérienne endogène favorisent la colonisation et les infections entérocoquiques qui peuvent devenir graves.

Chez les animaux domestiques, *Enterococcus* spp. est responsable de :

<i>Enterococcus</i> spp	Hôtes	Pathologies
<i>E. avium</i>	Volailles	Septicémie
	Volailles	Septicémie
<i>E. durans</i>	Veaux, chiots, poulains, porcelets	Diarrhée néonatale
	Chats adultes	Diarrhée
<i>E. faecalis</i>	Volailles	Septicémie. Diarrhée
	Canaris	Trachéite chronique
	Chiens	Infections urinaires
	Vaches	Mammite
<i>E. faecium</i>	Volailles	Septicémie
<i>E. gallinarum</i>	Volailles	Septicémie
	Psittacidés	Psittacidés
<i>E. hirae</i>	Poussins	Retard de croissance. Septicémie. Infections cérébrales
	Chattons	Infections hépatiques et pancréatiques
<i>E. porcinius</i>	Porcelets	Diarrhée néonatale
<i>E. ratti</i>	Jeunes rats	Diarrhée néonatale
<i>E. villorum</i>	Porcelets nouveau-nés	Entérites
<i>E. lacertideformus</i>	Reptiles	Infections des plaies. Gingivites. Ostéolyse.
<i>Enterococcus</i> spp.	Volailles	Arthrite temporo-mandibulaire

Diagnostic

Les échantillons à analyser sont représentés par : les aspirations des liquides (collections fermées), les écouvillonnages (transportés dans des liquides de transport) et les urines (jet moyen ou cystocentèse).

Pour les exsudats, l'examen direct des frottis se fait après coloration de Gram (ou Romanowsky, Wright ou encore Giemsa). Les urines peuvent être examinées sans ou après coloration de Romanovsky. Des coupes histologiques de l'intestin grêle des animaux souffrants d'entérite, sont nécessaires afin de mettre en évidence les entérocoques adhérant aux microvillosités.

L'isolement primaire se fera sur gélose au sang ou sur des géloses sélectives (BEA, Enterococcosel agar, CHROMagar orientation, Spectra VRE, ...) si le prélèvement est polymicrobien. Dans ce cas, l'utilisation d'un bouillon d'enrichissement sélectif est fortement recommandée. Certains des milieux de culture sélectifs permettent l'orientation vers les VRE (Vancomycine-Resistant-Enterococcus).

L'identification primaire des isolats est basée sur la catalase négative, la croissance en présence de 0,65% de NaCl et 40% de bile. La confirmation de l'espèce peut alors être obtenue en utilisant un des systèmes (manuels, semi-automatiques ou entièrement automatiques) disponibles sur le marché : API 20S et API Rapid ID32 STREP systems (bioMérieux), Crystal Gram-Positive et Crystal RapidGram-Positive identification systems (Becton Dickinson Microbiology Systems), Vitek (bioMérieux), MicroScan (Dade MicroScan) et BD Phoenix (Becton Dickinson Microbiology Systems) systems.

Actuellement la MALDI-TOF MS et les techniques de biologie moléculaire (hybridation ADN-ADN, séquençage des gènes ARNr 16S, PCR multiplexe, ...) sont utilisées pour une identification plus exacte des différentes espèces d'entérocoques. D'autres techniques comme la PFGE (pulsed field gel electrophoresis), MLST (multilocus sequence typing), MLVA (multiple-locus variable-number tandem repeat analysis), ... sont proposées pour le typage des isolats.

Des tests sérologiques ont été développés pour la recherche des anticorps anti-entérocoques ; mais leur utilité en laboratoire de diagnostic, n'a pas été démontrée.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

Les entérocoques sont des bactéries possédant de nombreuses résistances intrinsèques. Ils sont naturellement résistants aux céphalosporines, aminosides (bas niveau), lincosamides (bas niveau), streptogamines (*E. faecalis*), cotrimoxazole (in vivo seulement) et la vancomycine (*E. gallinarum* et *E. casseliflavus*). Ils ont aussi acquis de la résistance aux : aminopénicillines, glycopeptides, aminosides (haut niveau) et lincosamides (haut niveau).

Ils sont sensibles à l'amoxicilline (molécule de choix), la gentamycine, la nétilmycine, l'association amoxicilline-acide clavulanique, au chloramphénicol et aux tétracyclines.

5. Famille *Listeriaceae*

De création récente (2010), cette famille regroupe les espèces bactériennes appartenant à deux genres : *Listeria* et *Brochotrix*.

Les représentants de cette famille sont des bacilles courts à parfois filamenteux, non sporulés, non encapsulés, Gram positifs, pouvant croître en aérobiose ou en anaérobiose facultative.

5.1 Genre *Listeria*

Listeria : n. fém. N.L. *Listeria*, en l'honneur du chirurgien Lord Lister (1827-1912)

Des études taxonomiques récentes, biochimiques et moléculaires ont permis de préciser la place de différentes espèces bactériennes et leur regroupement au sein de ce genre, qui en comprend une trentaine (jusqu'à 2022). Les espèces ayant une importance en médecine vétérinaire sont : *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii* (avec ses deux sous-

espèces : *ivanovii* et *londoniensis*), *L. marthii*, *L. recourtiae*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* et *L. monocytogenes*, qui est d'ailleurs la seule espèce pathogène à la fois pour l'homme et l'animal. (***monocytogenes*** : n. N.L. *monocytum* -i, monocyte ; v. Gr. *gennaio*, produire, engendrer ; adj. N.L. *monocytogenes*, produisant des monocytes. Nom donné à *Listeriamonocytogenes* car, chez le lapin, on note une monocytose marquée). Néanmoins, des cas rares de *L. ivanovii* ont été décrits chez l'homme.

Habitat

Les *Listeria* spp. sont largement répandues dans l'environnement. Leurs habitats principaux sont le sol et les végétaux en décomposition, où elles survivent et se développent en tant que saprophytes. Elles peuvent également être isolées de l'eau courante, des eaux usées, des aliments pour animaux (ensilages surtout), des légumes (choux), de viandes diverses fraîches et transformées (y compris volailles et saumon fumé), des déchets d'abattoirs, du lait cru, de fromage et des matières fécales de porteurs asymptomatiques (homme et diverses espèces animales : mammifères, oiseaux, reptiles, poissons et crustacés). Les rongeurs semblent jouer un rôle important dans l'épidémiologie des infections, en constituant de potentiels réservoirs naturels.

Résistance / sensibilité

Listeria spp. (En particulier *monocytogenes*) peuvent bien tolérer des températures froides (jusqu'à -02°C) et survivre à un faible pH (04 à 4.3). Elles sont relativement résistantes à la chaleur : 40 mn à 55°C, 12 mn à 60°C et 10 mn à 63°C. Dans l'environnement, elles peuvent survivre des semaines, des mois et même des années en fonction des conditions environnementales (01 mois en été et 03 à 04 mois en hiver). Dans les eaux des rivières et des lacs (à 02 à 05°C), elles peuvent persister jusqu'à 02 ans. Dans les cultures anciennes, même sèches, ces germes survivent pendant plusieurs mois.

À température ambiante, ces bactéries sont sensibles à l'hypochlorite de sodium, aux iodophores et aux ammoniums quaternaires. Des concentrations 05 à 10 fois plus élevées de ces désinfectants sont nécessaires pour les détruire à 04°C.

Morphologie

Les espèces du genre *Listeria* sont de petits bacilles (parfois coccobacilles), Gram positifs, droits (parfois incurvés), courts (0.4 à 0.5/0.5 à 02 µm) et à bouts arrondis. Dans les frottis, elles se présentent isolées, en courtes chaînettes, en palissade ou en lettres (ressemblant à celles des corynébactéries). Dans les vieilles cultures, un polymorphisme peut apparaître avec des formes filamenteuses (06 à 20 µm) qui ont tendance à se décolorer. Ces bactéries sont non sporulées, non capsulées et mobiles entre 20 et 25°C par des flagelles péritriches (la ciliature est pauvre à 37°C).

Caractères cultureux

Les *Listeria* sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives (même microaérophiles), dont la croissance est possible à température allant de 04 à 45° (optimale : 30 à 37°C) et à pH variant de 5.5 à 9.6 (optimum : 7.2 à 7.6). Elles tolèrent bien la présence de 0.04% de tellurite de potassium, 0.025% d'acétate de thallium, 03.75% de thiocyanate de potassium, 10% de NaCl et 40% de bile, dans leur milieu de culture.

Ces bactéries poussent bien sur milieux usuels et leur croissance est favorisée par l'ajout de sérum à 01% ou de sang (humain, lapin, mouton, cheval ou bœuf) à 05%. Des milieux sélectifs et d'enrichissement peuvent également être utilisés.

Sur gélose trypticase-soja incubée à 37°C pendant 18h, les colonies sont petites (0.5 à 01 mm de Ø), de type S, translucides, présentant une iridescence bleu-vert caractéristique en lumière oblique.

Sur gélose au sang, *L. monocytogenes* donne des colonies lisses, de 01 à 02 mm de Ø, translucides, gris-bleu ou bleu-vert (sous lumière oblique), entourées d'une zone étroite de β-hémolyse. Les colonies de *L. ivanovii* sont cerclées d'une zone plus large et plus nette de β-hémolyse.

Sur gélose Palcam, les colonies des *Listeria* pathogènes (*monocytogene* et *ivanovii*) ont une couleur gris-olive, parfois à centre noir, entourées d'un halo noir. Alors que sur le milieu ALOA, les colonies sont de 01 à 02 mm, de couleur bleu-turquoise auréolées de blanc.

En gélose molle (à 0.3% d'agar) ensemencée par piqûre centrale et incubée à température ambiante, *L. monocytogenes* se développe sous forme de parapluie caractéristique, à environ 03 à 05 mm de la surface de la gélose (preuve de sa mobilité).

En milieu liquide, une turbidité faible ou modérée apparaît, avec la formation progressive d'un dépôt dense, adhérent au fond du tube, qui remonte en forme de tire-bouchon lorsqu'on l'agite.

Caractères biochimiques

Toutes les *Listeria* fermentent le glucose, le maltose, le lactose et le saccharose. Elles sont catalase, esculine, rouge de méthyl et Voges-Proskauer positives. A l'inverse, elles sont uréase, oxydase, indole, gaz, H₂S et gélatine négatives. Des différences existent entre les espèces pour d'autres substrats glucidiques (utilisées dans leur identification).

L. monocytogenes est : Catalase (+), oxydase (-), glucose (+) sans gaz et esculine (+) comme toutes les *Listeria*. Elle est VP (+), indol (-), urée (-), H₂S (-), gélatine (-), mannitol (-), rhamnose (+), xylose (-) et nitrate réductase (-).

L. ivanovii est en plus, D-xylose (+) et L-rhamnose (-).

Structure antigénique

On connaît 15 Ag somatiques O (I à XV) et 5 Ag flagellaires H (A à E) permettant de définir 17 sérovars au sein du genre. 13 de ces sérovars sont trouvés chez *L. monocytogenes*, 04 chez *L. innocua* et chez *L. welshmeri*, 07 chez *L. seeligeri* et 01 chez *L. ivanovii*. Certains de ces sérovars sont partagés entre différentes espèces à l'exception du sérovar 5 qui est spécifiques à *L. ivanovii*.

L. monocytogenes possède des antigènes communs avec *S. aureus*, *E. faecalis* et *Trueperella pyogenes*.

Facteurs de virulence

La virulence de *L. monocytogenes* est liée à sa capacité de multiplication dans la plus part des cellules de l'hôte, y compris les macrophages (mais pas les polynucléaires qui la détruisent rapidement). Cette aptitude de multiplication est liée à la synthèse de facteurs de virulence (de nature protéiques), dont certains restent exposés à la surface de la bactérie, et d'autres secrétés dans son microenvironnement. On cite (selon leur ordre d'intervention) :

- Les internalines A et B : interagissent avec des récepteurs cellulaires en induisant un processus de phagocytose ;
- La listériolysine O (LLO): exotoxine hémolytique, elle provoque la destruction des membranes phagosomales, permettant aux bactéries de s'échapper des phagosomes acidifiés (donc d'éviter les réactions microbicides) ;
- Les phospholipases C: agissent de la même manière que la listériolysine O. En plus elles facilitent le passage des bactéries d'une cellule à une autre ;
- ActA: protéine de surface qui polymérise, dans le cytoplasme de la cellule hôte, des fibres d'actine qui vont propulser les bactéries vers la membrane cytoplasmique, afin d'envahir les cellules adjacentes par protrusion (entourées d'une double membrane) sans atteindre l'espace extracellulaire ;
- Une phospholipase : permet la libération des bactéries dans la cellule nouvellement infectée, en détruisant la membrane de la nouvelle vacuole (issue de la protrusion).

Des protéines de stress jouent aussi un rôle majeur dans la survie et l'échappement des phagosomes

Dans le foie, les *Listeria* provoquent l'apoptose des hépatocytes, avec libération de chimio-attractants pour les neutrophiles, entraînant des micro-abcès.

Le cerveau et les cellules nerveuses peuvent être envahies par les *Listeria*, qui parviennent à franchir la barrière hémato-encéphalique et provoquer des lésions de méningo-encéphalite.

L'utérus et les fœtus sont infectés par ces bactéries qui atteignent le placenta par le biais des macrophages. L'avortement se produit à la suite de l'infection.

Une monocytose caractéristique de la listériose, se produit chez les monogastriques et les animaux de laboratoire, mais pas chez les ruminants et les humains.

L. ivanovii se comporte de la même façon que *L. monocytogenes* ; mais elle a un éventail d'hôte plus restreint.

Pouvoir pathogène

Chez les animaux, la contamination peut se faire par voie orale, rarement nasale ou conjonctivale. La forme clinique que peut prendre la maladie, dépend de cette voie de pénétration, de la virulence de l'espèce et de la souche bactérienne et du statut immunitaire de l'hôte.

Le tableau suivant décrit les différentes pathologies que *Listeria* spp. peuvent provoquer chez différentes espèces animales :

<i>Listeria</i> spp.	Hôtes	Pathologies
<i>L. monocytogenes</i>	Jeunes animaux de différentes espèces (veaux, agneaux, oiseaux...)	Septicémies. Foyers nécrotiques au niveau du foie et de différents viscères abdominaux
	Ovins, caprins et bovins. Occasionnellement d'autres espèces animales	Méningoencéphalites (qui donnent le tournis), micro-abcès au niveau du tronc cérébral accompagnés d'inflammation péri-vasculaire
	Ovins, caprins et bovins	Avortement.
	Bovins	Iritis accompagnée ou non par d'autres symptômes. Mammites subcliniques
	Chevaux et chiens	Infections du système nerveux central
	Rongeurs de laboratoire, porcs, volailles	Septicémies
<i>L. ivanovii</i>	Ovins et bovins	Avortement
<i>L. seeligeri</i> , <i>L. grayi</i> , <i>L. innocua</i> et <i>L. welshimeri</i> : rarement impliquées dans des cas pathologiques		

Diagnostic

Les symptômes de l'infection listérienne ne sont pas spécifiques, et le diagnostic de certitude est basé sur l'isolement du germe à partir de prélèvements (liquide céphalorachidien, sang, encéphale, rate, foie, reins, et caillette, contenu de la caillette, poumons et méconium des avortons, etc... en fonction des organes atteints), qui peuvent être gardés au réfrigérateur (à 04°C pendant 48h). Cependant, la mise en culture immédiate est souhaitable.

L'examen microscopique au Gram n'est pas d'une grande importance. Les frottis négatifs ne sont pas concluants. Des préparations immuno-histochimiques se sont avérées très efficaces dans le diagnostic surtout des atteintes nerveuses.

L'isolement du germe se fait sur gélose au sang incubée à 35° sous atmosphère enrichie en CO₂ à 10%. Un ensemencement en masse (*Pour Plate Method*) améliore les chances d'isoler cette bactérie à partir des tissus cérébraux. Une partie de ces tissus, mis dans du bouillon nutritif, peuvent être incubés à 4°C pour enrichissement. À partir de ce bouillon, des ensemencements sur géloses au sang sont effectués chaque semaine pendant 03 mois.

Les recours aux milieux sélectifs (liquides ou solides) est nécessaire pour les échantillons contenant de la flore de contamination : *Listeria* Enrichment Broth (LEB), full strength Fraser, polymyxin B-acriflavine-lithium chloride-ceftazidime-aesculin-mannitol (PALCAM)-egg yolk broth, CHROMagar® *Listeria* (CHROMagar),

BCMchromogenic agar test® (Biosynth International), Chromoagar® *Listeria* test (Mast Diagnostics), ALOA (Biolife), ...

L'identification présomptive des isolats est possible en se basant sur : la morphologie des colonies, l'aspect au Gram, la catalase positive, l'hydrolyse de l'esculine, la mobilité caractéristique (en parapluie), le CAMP test (positif avec *S. aureus* pour *L. monocytogenes* et *L. ivanovii*, et uniquement avec *Rhodococcus equi* pour *L. ivanovii*), acidification du rhamnose, mais pas du xylose. Le diagnostic d'espèce est obtenu grâce à des galeries miniaturisées (API *Listeria*®, bioMerieux) ou à des systèmes automatisés (Vitek®) ou encore par MALDI-TOF.

Le test d'Anton (inoculation du sac conjonctival de l'œil), l'injection intrapéritonéale aux souris, l'inoculation de la membrane chorio-allantoïdienne des œufs embryonnés, permettent d'identifier les souches pathogènes de *L. monocytogenes* surtout et *L. ivanovii*.

Le sérotypage des souches est décevant par manque de sensibilité et de spécificité. La lysotypie de *L. monocytogenes* est possible grâce à des lots de phages.

Le typage des souches est possible grâce aux méthodes moléculaires : fragment length polymorphism (RFLP), restriction enzyme analysis par pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), amplified fragment length polymorphism (AFLP) ou random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis.

La technique immuno-enzymatique (ELISA) est peu utilisée pour le diagnostic indirect de l'infection listérienne, en raison d'une sensibilité insuffisante du test (problème des parentés antigéniques avec d'autres bactéries), ce qui donne des résultats faussement positifs.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par diffusion en gélose MH (de préférence MH-F); mais la technique par microdilution en bouillon MH ajusté en cation et additionné de sang de cheval lysé (cation-adjusted Mueller–Hinton broth-lysed horse blood : CAMHB-LHB) est la plus recommandée par le CLSI. L'incubation se fait à 35°C pendant 16 à 20h en aérobiose.

L. Monocytogenes est habituellement sensible *in vitro* au : pénicilline, ampicilline, chloramphénicol, érythromycine, enrofloxacin, lincomycine, nosiheptide, rifampine, salinomycine, tétracyclines, vancomycine et virginiamycine.

Des rapports récents décrivent l'apparition d'isolats résistants aux : tétracyclines, sulfonamides-triméthoprime, érythromycine et fluoroquinolones.

Il n'existe pas de vaccin permettant de conférer une protection contre l'infection chez l'animal. La prévention repose donc, sur la surveillance de la qualité des aliments (surtout ensilages), la réduction de toute sorte de stress et l'isolement des sujets malades, en association à de bonnes règles d'hygiène.

6. Famille *Erysipelothricaceae*

Cette famille comprend, jusqu'à 2022, 27 genres : *Erysipelothrix* (représentant de la famille), *Faecalibaculum*, *Faecalicoccus*, *Faecalitalea*, *Holdemania*, *Kandleria*, ... et 36 espèces reconnues.

Les données des analyses moléculaires ont fait que certains membres ont quitté cette famille pour former de nouvelles familles (*Coprobaclitaceae* et *Turicibacteriaceae*) et d'autres membres appartenant à d'autres familles et d'autres genres l'ont intégré (*Clostridium*, *Eubacterium* et *Streptococcus*).

6.1 Genre *Erysipelothrix*

Erysipelothrix: n. Gr. *erysipelas*, érysipèle; n. fém. Gr. *thrix*, cheveu; n. fém. N.L. *Erysipelothrix*, bactérie ressemblant à un cheveu et responsable d'un érysipèle (plaque rouge douloureuse)

Ce genre compte actuellement 10 espèces dont les plus importantes en pathologie animale sont *Erysipelothrix rhusiopathiae* (espèce la plus pathogène), *E. tonsillarum* et *E. inopinata* (moins pathogènes).

Les espèces pathogènes de ce genre peuvent infecter une variété d'animaux : mammifères (y compris cétacés), poisson, amphibiens, oiseaux, reptiles, insectes et crustacés.

6.1.1 *Erysipelothrix rhusiopathiae*

rhusiopathiae : adj. Gr. *rhusios*, rouge ; n. Gr. *pathos*, affection, maladie ; n. gén. N.L. *rhusiopathiae*, de la maladie rouge ou du rouget

C'est l'espèce type du genre. Anciennement elle était appelée : *E. insidiosa*.

Habitat

E. rhusiopathiae est une bactérie ubiquitaire largement distribuée dans la nature (sol, eaux de surfaces, plantes, aliments, eaux usées, effluents des abattoirs, déjections...). Elle peut être portée dans le tube digestif et les tonsilles de plusieurs espèces animales : porcs (principal réservoir avec 50% de porteurs sains), ovins, bovins, chevaux, chiens, lapins, souris, dindes, poulets, oies, faisans et pigeons.

Elle peut être isolée aussi chez 50 espèces de mammifères sauvages (y compris cétacés, reptiles, amphibiens) et 30 espèces d'oiseaux sauvages. Chez les poissons, la bactérie vit de façon commensale dans le mucus recouvrant la surface du corps.

Résistance / sensibilité

Pour un microorganisme non sporulé, *E. rhusiopathiae* est une bactérie particulièrement résistante dans l'environnement. Cette résistance est favorisée par la richesse du milieu en substances organiques. Elle peut survivre durant quelques jours dans l'eau courante, 150 jours dans les lacs et plusieurs mois/années dans différents sols (faisant d'elle une bactérie tellurique).

Elle résiste aux opérations de salage, de fumage, d'acidification, ainsi qu'à la putréfaction. Elle reste vivante pendant plus de 4 mois dans les cadavres, grâce au pH alcalin, et pendant plusieurs mois dans les viandes fumées et salées. Dans les farines animales, elle survit des années.

Elle est détruite, en 05 à 15 mn, par le formol à 02%, le NaOH à 01%, la créoline à 03.5% et le phénol à 05%. Cependant, elle est relativement résistante à l'alcool et au peroxyde d'hydrogène.

À 70°C, elle est tuée en 05 à 10 mn.

Morphologie

E. rhusiopathiae est un bacille à Gram positif, non sporulé, immobile, non capsulé et non acido-résistant. C'est un bacille fin, droit ou très légèrement incurvé, de taille variable : 0.2 à 0.5 µm / 0.8 à 02.5 µm (lésions aiguës ou jeunes cultures). En frotti, ces bactéries se présentent seules ou regroupées en diplocoques, en courtes chainettes, en "lettres chinoises" ou en longs filaments non ramifiés (lésions chroniques et vieilles cultures). Les cellules d'*E. rhusiopathiae* se décolorent facilement, et peuvent apparaître sous forme de bacilles à Gram négatif (elles sont dites Gram labiles).

NB : Certains auteurs ont décrit la présence d'une capsule fine (slime ou glycocalyx) et les cultures vieilles sont le plus souvent polymorphes et Gram variables.

Caractères culturels

Le bacille du rouget est un germe aéro-anaérobie facultatif (micro-aérophile pour certaines souches) non exigeant (il se développe lentement sur milieux usuels). Néanmoins, pour stimuler davantage sa croissance, des facteurs (tels que le glucose à 0.5%, le sang ou le sérum, l'ascite, le tryptophane, la riboflavine et de l'acide oléique) peuvent être ajoutés au milieu de culture, avec une incubation en atmosphère enrichie à 05-10% en CO₂.

Il cultive entre 05 et 42°C (30 à 37°C optimum), à pH neutre à légèrement alcalin (6.7 à 9.2 avec un optimum de 7.2 à 7.6) et en présence de fortes concentrations de NaCl (jusqu'à 08.5%).

Des milieux avec antibiotiques et différents produits chimiques ont également été proposés pour l'isolement sélectif de ce germe : milieu ESB (*Erysipelothrix Selective Broth*), milieu MBA (*Modified Blood Azide medium*), milieu Bhom (avec Azoture de sodium, Kanamycine, Phénol et "Water blue"),

Sur milieux solides, ce germe se développe en donnant deux types de colonies : les colonies *smooth* formées, en 24-48 h de bacilles courts, sont petites et fines (parfois à peine visibles de 0.3 à 0.15 mm de Ø), lisses, bombées, brillantes, transparentes et à bords nets. Après plusieurs jours, elles se dissocient en variantes *rough*, formées de bacilles filamenteux. Elles sont plus grandes, plates, mates, à bords irréguliers et à surface rugueuse.

Sur gélose au sang, certaines souches produisent, après 48h d'incubation, des zones étroites d' α -hémolyse (sous les colonies et juste autour d'elles).

En bouillon de culture, une turbidité discrète est observée. En l'agitant, de fines ondes caractéristiques (comparables à de la fumée de cigarette) montent dans le liquide. En vieillissant, un petit dépôt adhérent lenticulaire se forme au fond du tube.

La culture (variantes R) en gélatine en culot (ensemencée par piqûre profonde) incubée à 22 à 25°C pendant 05j, donne une image caractéristique en "goupillon pour tube à essai" ou en "cure-pipe", sans liquéfaction de la gélatine.

Caractères biochimiques

C'est une bactérie à faible activité métabolique. Elle ne produit pas d'indole, ne réduit pas les nitrates, n'hydrolyse pas l'esculine et l'hippurate de sodium et ne pousse pas en milieu citraté. Elle est dépourvue d'oxydase, de catalase, d'uréase et de gélatinase. Elle acidifie le glucose et le lactose sans production de gaz, le lévulose et la dextrine ; mais n'utilise pas le rhamnose, le saccharose, le mannitol, le xylose, le mannose ni le maltose.

C'est le seul bacille à Gram positif aéro-anaérobie capable de produire de l' H_2S (en milieu TSI "Triple Sugar Iron" ou en milieu KIA "Kligler-Hajna Iron Agar") et une coagulase libre (recherchée de la même manière que celle de *S. aureus*).

Structure antigénique

Sur la base des variations antigéniques affectant le peptidoglycane de la paroi cellulaire, 28 sérovars sont connus jusqu'à 2020 chez *Erysipelothrix* spp. : 1 à 26 avec les sérovars 1 (anciennement A) et 2 (anciennement B) subdivisés en 2 (1a et 1b, 2a et 2b) et le groupe N qui comporte les souches non sérotypables.

Les sérovars 1a, 1b, 2, 4-6, 8, 9, 11, 12, 15-17, 19, 21 et 23 sont rencontrés chez *E. rhusiopathiae*, et 3, 7, 10, 14, 20, 22, 24, 25 et 26 chez *E. tonsillarum*. 80% des souches pathogènes d'*E. rhusiopathiae* sont des sérotypes 1 (pour les atteintes septicémiques aiguës) et 2 (pour les formes chroniques). Aucune spécificité d'espèce n'a été identifiée chez les différents sérotypes d'*E. rhusiopathiae*.

L'infection provoque une stimulation de l'immunité humorale et cellulaire ; toutefois, l'immunité croisée entre les différents sérotypes paraît négligeable.

Facteurs de virulence

L'évolution de l'infection varie selon la virulence de la souche. Cette virulence soutenue est assurée par des substances aux propriétés toxiques et agressives, ainsi que par la présence de la capsule. La plupart des souches virulentes produisent :

- Une capsule (slime ou glycocalyx) : induit une résistance à la phagocytose médiée par opsonisation. De plus les bactéries qui en disposent sont capables de survivre et se multiplier à l'intérieur des cellules phagocytaires (macrophages et neutrophiles);

- Des composants de la paroi (peptidoglycane et acide lipotéichoïque) : en interagissant avec les macrophages, ils induisent la libération des cytokines proinflammatoires (comme le tumor necrosis factor TNF- α);
- Des protéines *Spa* (Surface protective antigens) : interviennent dans la virulence et elles induisent une réponse humorale au cours de l'infection ;
- Des protéines de surface *Rsp* (rhusiopathiae surface protein): protéines adhésives. Elles adhèrent fortement aux fibronectines et aux fibres de collagène de type I et IV. Elles initient la formation de biofilms ;
- Une neuraminidase (sialidase) : produite en grande quantité au cours de la phase exponentielle de croissance. Cette enzyme clive l'acide sialique à la surface des cellules endothéliales de l'hôte, en provoquant des lésions vasculaires avec formation de thrombi hyalins. Cette enzyme intervient aussi dans l'adhésion et l'invasion des cellules. Elle intervient aussi dans la formation des biofilms ;
- Une hyaluronidase : intervient dans la destruction de la matrix extracellulaire des tissus conjonctifs de soutien (qui unie les cellules de l'hôte, les unes aux autres). Ceci, permet aux bactéries de diffuser dans les tissus et les organes.
- Une superoxyde dismutase : catalyse la dismutation des anions superoxyde O_2^- en oxygène O_2 et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Elle protège ainsi les bactéries phagocytées des réactions du "burst oxydatif" en éliminant les radicaux libres ;
- Une hémolysine.

Dans la forme septicémique de la maladie, les lésions vasculaires se caractérisent par un gonflement des cellules endothéliales, l'adhérence des monocytes aux parois vasculaires et la formation généralisée de micro-thrombi hyalins.

La localisation des bactéries dans la synovie articulaire et sur les valves cardiaques lors de la propagation hématogène explique le développement de lésions chroniques à leur niveau. Des lésions articulaires à long terme peuvent résulter d'une réponse immunitaire aux antigènes bactériens persistants. *E. rhusiopathiae* est rarement isolée viable des arthrites chroniques.

Pouvoir pathogène

Les infections à *E. rhusiopathiae* sont rencontrées chez les porcs, les dindes et les moutons. D'autres animaux domestiques sont occasionnellement affectés. La transmission entre animaux est principalement par ingestion de matières contaminées (aliments, sol, eau et excréments); cependant, les infections des plaies et les morsures d'arthropodes sont d'autres voies possibles. Les principales manifestations cliniques pouvant être observées, sont résumées dans le tableau suivant :

Hôtes	Pathologies
Porcs	Rouget (érysipèle) : forme aiguë : Septicémie (avortement sûr), lésions cutanées (maladie de la peau de diamant à cause des lésions de forme carrée ou en losanges).
	Rouget (érysipèle) : forme subaiguë : Septicémie légère (avortements possible), lésions cutanées (maladie de la peau de diamant).
	Rouget (érysipèle) : forme chronique (suite des deux formes précédentes) : Endocardites, polyarthrites, (maladie de la peau de diamant).
Dindes, oies et autres volailles	Septicémie aiguë (mort subite), endocardite et arthrites (dans la forme chronique).
Ovins	Chez les jeunes : forme chronique : polyarthrites (faisant suite à la contamination de l'ombilic ou des plaies). Chez les adultes : boiteries post-trempage (cellulite et extension à la lamina du pied).
Chiens	Arthrites, endocardites.
Dauphins	Septicémie aiguë (mort subite), lésion cutanées (urticaire et plaque cutanées grises).
Bovins	Septicémie, méningoencéphalite, arthrites, endocardites, parfois avortements.
Chevaux	Encéphalite, boiteries, uvéite.
Lapins	Arthrites.
Pinnipèdes	Septicémie mortelle, lésions cutanées.

Diagnostic

Les échantillons à prélever sont le foie, la rate, les reins, le cœur, et les tissus synoviaux. L'isolement du germe des lésions cutanées et des lésions associées aux formes chroniques, est difficile.

L'examen microscopique permet d'observer des bacilles ; mais il n'est pas d'un grand intérêt diagnostique.

Les prélèvements sont ensemencés sur une gélose au sang et une gélose MacConkey (pour détecter les bactéries Gram négative de contamination) ; sinon, l'utilisation de milieux d'enrichissement (ESB, Bohm ou Shimoji) en association avec une des géloses sélectives est fortement recommandée. L'incubation se fait à 35°C, sous atmosphère enrichie en CO₂ à 05 à 10%, pendant 02 à 03 jours (en raison de la croissance lente de cette bactérie en primoculture). L'aspect des colonies permet une orientation du diagnostic.

L'identification est basée sur l'étude des caractères biochimiques de l'isolat (galerie API Coryne®. bio-Mérieux). La production de H₂S et la présence d'une coagulase constituent des éléments de confirmation. L'identification peut se faire aussi grâce aux systèmes automatisés de type Vitek 2® (bio-Mérieux), Phoenix® (Becton Dickinson), par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time Of Flight), par PCR ou par LAMP (loop-mediated isothermal amplification).

Le sérotypage et le lysotypage des souches n'ont d'importance qu'en recherche.

L'injection expérimentale par voie intrapéritonéale chez la souris ou le pigeon de 0.1 ml d'une culture de 24h provoque la mort en 24 à 48h.

La sérologie (par inhibition de l'hémagglutination, la fixation du complément, l'ELISA, ou l'immunofluorescence indirecte) n'a que peu d'intérêt dans le diagnostic des infections à *E. rhusiopathiae*.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

La pénicilline est très efficace dans le traitement des formes aiguës de l'infection. La bactérie est sensible aussi à l'ampicilline, le ceftiofur, la clindamycine, l'enrofloxacin, l'érythromycine, la tiamuline, la tilmicosine et la tylosine. Elle est résistante à l'apramycine, la néomycine, la sulfadiméthoxine et au sulfathiazole.

Une sensibilité intermédiaire est décrite pour la chlortétracycline, le florfénicol, la gentamycine, l'oxytétracycline et le triméthoprime.

La méthode de dilution en milieu solide (gélifié) est celle recommandée pour tester la sensibilité de cette bactérie aux antibiotiques.

Des vaccins vivants atténués (par voie orale ou en aérosol) et des bactérines adjuvées (par injection sous-cutanée ou en intramusculaire) ont été utilisés avec succès dans la prophylaxie médicale des formes aiguës du rouget chez le porc et la dinde ; cependant aucun des deux ne semble protecteur contre les formes chroniques.

La prophylaxie sanitaire repose sur le respect des mesures de biosécurité (en gardant à l'esprit la résistance particulière du bacille du rouget dans l'environnement) et le bon suivi des conditions d'élevage.

Chapitre II: Les actinomycétales

1. Famille *Corynebacteriaceae*

La famille *Corynebacteriaceae* est constituée de bactéries largement distribuées dans l'environnement. La plupart des espèces non diphtéroïdes peuvent être trouvées à l'état commensal sur les muqueuses et la peau des humains et des animaux. 04 genres sont inclus dans cette famille, le plus important étant *Corynebacterium* (avec 213 espèces), en plus de *Bacterionema*, *Caseobacter* et *Turicella* (avec une seule espèce chacun).

La plupart des espèces de corynébactéries ne sont pas virulentes ; mais très peu d'entre elles sont capables de provoquer diverses infections, tant chez l'homme que chez l'animal.

Il existe des similitudes entre les corynébactéries, les mycobactéries et les *Nocardia* (teneur élevée en guanine-cytosine et composition proche de leur parois en acides mycoliques, peptidoglycane et en arabinogalactane).

1.1 Genre *Corynebacterium*

Corynebacterium : n. Gr. *coryne* -es, une massue ; n. dim. Gr. *bakterion*, une baguette (en bactériologie, un petit bacille) ; n. neut. N.L.

Corynebacterium, un petit bacille en forme de massue

Ce genre a subi des remaniements taxonomiques, qui ont fait que certaines espèces l'ont quitté (vers d'autres familles ou d'autres genres) : *C. equi* est devenu *Rhodococcus equi*, *C. pyogenes* est devenu *Arcanobacterium pyogenes* puis *Trueperella pyogenes*, *C. suis* rebaptisé *Actinobaculum suis*..., et de nouvelles espèces l'ont rejoint dont le pouvoir pathogène a pu être établi.

Les espèces les plus importantes en pathologie animale sont *C. pseudotuberculosis* surtout, et *Corynebacterium* du groupe *renale* (*C. renale*, *C. cystitidis* et *C. pilosum*). D'autres espèces ont été aussi décrites ; mais dans des cas sporadiques : *C. amycolatum*, *C. aquilae*, *C. auriscanis*, *C. belfantii*, *C. bovis*, *C. camporealensis*, *C. canis*, et *C. rouxii*.

1.1.1. *Corynebacterium pseudotuberculosis* (anciennement dénommé *C. ovis*)

pseudotuberculosis: adj. Gr. *pseudes* -es, faux; n. N.L. *tuberculosis*, tuberculose ; n. gén. N.L. *pseudotuberculosis*, d'une fausse tuberculose

Habitat

L'habitat du biotype ovin de *C. pseudotuberculosis* est l'intestin des ovins sains, ainsi que les sols contaminés des bergeries. Pour le biotype équin, le réservoir n'est pas encore identifié avec certitude. Le rôle des arthropodes comme vecteurs passifs est possible.

Ce germe provoque des infections chez de nombreuses espèces animales (camelins, chevaux, ovins, caprins, buffles, bovins et porcs) et rarement l'homme.

Résistance / sensibilité

C'est un germe très résistant dans l'environnement. Il peut survivre jusqu'à 02 mois dans le foin, la paille et les copeaux de bois, et plus de 08 mois dans le sol. Les températures basses, l'humidité et la présence des déjections renforcent ses capacités de survie et de multiplication dans les sols contaminés. Ce microorganisme a pu être isolé des aliments, des mangeoires, des clôtures, du matériel de castration, des instruments de tonte, des bacs de trempage et des poussières.

Morphologie

Ces bactéries sont pléomorphes (bacilles, coccobacilles ou en forme de massues) de 0.5 à 0.6/01 à 03 µm, à Gram positifs, non acido-résistants, non sporulés, immobiles, non filamenteux, de forme irrégulière avec des renflements à une ou aux deux extrémités. Dans les frottis préparés à partir des tissus infectés (calques), les cellules bactériennes se regroupent en palissades, en paquets d'épingles de sûreté (épingles à nourrice) et en "lettres chinoises" (disposition due au fait que les jeunes bactéries restent souvent partiellement attachées après division). Les

cellules renferment des inclusions cytoplasmiques (réserves énergétiques composées de phosphates inorganiques) ayant des propriétés métachromatiques (pouvant être colorées au bleu de méthylène).

Caractères culturels

La culture est souvent possible sur des milieux usuels (à pH 7.0 à 7.2) en aérobiose à 35°C avec une incubation de 24 à 48 h. la croissance est meilleure sur les milieux enrichis avec du sang ou du sérum.

Sur milieu solide, *C. pseudotuberculosis* forme de petites colonies opaques, sèches (en cire de bougies), gris-blanches. Ces colonies peuvent être poussées avec l'anse de platine, comme un palet (rondelle) de hockey, sur toute la surface de la gélose sans se désintégrer, en raison de la richesse des parois bactériennes en lipides (notamment l'acide corynomycolique). Après 03 jours en incubation, elles grandissent (03 mm de Ø), deviennent friables et se pigmentent en orange-crème.

Sur gélose au sang (ovin ou bovin), les colonies sont entourées d'une étroite zone de β-hémolyse, qui apparaît en 48 à 72 h d'incubation.

C. pseudotuberculosis inhibe les hémolysines de *S. aureus* par production de phospholipase D, ce qui donne une image de test CAMP inversé (reverse CAMP test). Il y a aussi un effet hémolytique synergique entre *C. pseudotuberculosis* et *R. equi* ensemencés sur gélose au sang ovin.

En milieu liquide, on observe un développement abondant et agglutinant de grumeaux qui sédimentent en laissant un surnageant limpide, avec formation d'un voile fragile en surface.

Caractères biochimiques

C'est une bactérie aérobie facultative à faible activité glucidolytique (fermente le glucose, le fructose, le galactose, le mannose et le maltose sans production de gaz). Elle hydrolyse l'urée, et est catalase, phospholipase, phosphatase, β-hémolysine et désoxyribo-nucléase positive. Elle n'a pas d'activité protéolytique et ne modifie pas le lait tournesolé.

Il existe deux biovars (biotypes) : celui isolés chez les petits ruminants et les camélidés (dit *ovis*) est nitrates-réductase négatif, tandis que celui isolé chez les chevaux (dit *equi*) est nitrates-réductase positif. Les souches isolées chez les bovins sont hétérogènes pour ce caractère (mais pour la plupart, elles sont du biotype *equi*).

Ces deux biotypes ne peuvent pas être considérés comme deux sous-espèces distinctes, puisqu'ils ont une très grande homogénéité génétique.

Structure antigénique

On reconnaît deux sérotypes chez *C. pseudotuberculosis* : le sérotype I (correspondant au biotype *ovis*) et le sérotype II (biotype *equi*).

Facteurs de virulence

C. pseudotuberculosis est une bactérie pyogène provoquant une variété d'infections suppuratives. C'est une bactérie intracellulaire facultative et les phagocyte infectés la disséminent dans tout l'organisme via les circulations sanguine et lymphatique.

La virulence de cette bactérie est attribuée à une exotoxine (la phospholipase D : *PLD*) et la couche lipidique (acide mycolique) adjacente à la paroi bactérienne. Ces deux facteurs permettent à la bactérie de survivre et de se multiplier dans les macrophages. La *PLD* augmente la perméabilité vasculaire et facilite la dissémination de la bactérie. Elle inhibe le chimiotactisme des cellules immunitaires, provoque la dégranulation des neutrophiles et inactive le complément lytique.

La présence d'un système putatif d'acquisition du fer et sécrétion d'une protéase contribuent aussi à la virulence.

Cette bactérie est capable aussi de produire la toxine diphtérique, suite à l'acquisition de son gène (porté sur le corynophage- β lysogénique).

Pouvoir pathogène

Les infections que *C. pseudotuberculosis* et les autres corynébactéries sont capables de provoquer chez les animaux sont présentées dans le tableau :

<i>Corynebacterium spp.</i>	Hôtes	Infections types
<i>C. bovis</i>	Bovins	Mammites subcliniques
	Lapins	Abcès
<i>C. kutscheri</i>	Rongeurs de laboratoire	Abcès (foie, reins, poumons, nœuds lymphatiques), pneumonie, pseudotuberculose
<i>C. pseudotuberculosis</i> biotype <i>ovis</i>	Ovins, caprins, camelins	Lymphadénite caséuse
<i>C. pseudotuberculosis</i> biotype <i>equi</i>	Chevaux, bovins, porcs	Lymphangite ulcérate, abcès ventraux, acné contagieuse (variole équine canadienne)
	Bovins	mammites
	Bovins	Pyélonéphrite, cystite
<i>C. renale</i>	Porcs	Abcès rénaux
	Béliers	Balanoposthite
	Caprins	Ostéomyélite
	Bovins	Pyélonéphrite, cystite
<i>C. pilosum</i>	Bovins	Pyélonéphrite, cystite
<i>C. ulcerans</i>	Bovins	Mammites
	Chats	Infections respiratoires (rares)

Diagnostic

Même si la présence des abcès (surtout externes) sont évocateurs de la maladie caséuse, un diagnostic bactériologique est nécessaire afin d'éliminer les autres germes pyogènes pouvant en être la cause (*Trueperella pyogenes* et *Pseudomonas aeruginosa*). Les échantillons à analyser sont représentés par le pus et les exsudats.

Les bactéries sont facilement identifiables dans les calques d'organes colorés aux Gram.

L'isolement se fait généralement sur gélose au sang frais (ovin ou bovin). Une gélose MacConkey est ensemencée aussi pour vérifier la pureté de la culture et écarter les autres bactéries Gram négatives.

L'inhibition de la β -hémolysine de *S. aureus* et la synergie avec celle de *R. equi* sont deux tests utilisés pour la confirmation de *C. pseudotuberculosis* (CAMP tests).

L'identification précise de l'espèce est obtenue par galeries manuelles, type API Coryne® (bio-Mérieux), RapidID CB Plus system® (Remel), ou automatisées sur Vitek® 2, par spectrométrie de masse MALDI-TOF ou par PCR multiplex.

Des tests sérologiques tels que (inhibition de l'hémolyse, l'hémagglutination indirecte, la fixation du complément et l'immuno-diffusion) ont été mis au point et utilisés pour la détection des anticorps induits par l'infection. Des tests ELISA basés sur la phospholipase D recombinante et les antigènes de cellules entières (Whole Cell Antigens) ont aussi été conçus et validés.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

C. pseudotuberculosis est sensible aux : β -lactamines (y compris le ceftiofur), érythromycine, chloramphénicol, lincomycine, tétracyclines, enrofloxacin et l'association triméthoprime-sulfonamide. Il est résistant aux aminoglycosides.

Généralement, les abcès encapsulés de cette infection sont réfractaires aux antibiothérapies. Chez les ovins, les caprins et les équidés, des administrations de longue durée (04 à 06 semaines) par voie systémique, d'une association de pénicilline-érythromycine-rifampicine, permettent la guérison des abcès internes et de réduire l'apparition des externes.

Des bactérines et des surnageants de culture assurent une certaine protection contre l'infection. Un vaccin inactivé est commercialisé pour les ovins uniquement (pas pour les chevaux).

Les autres mesures de prévention comprennent la désinfection, le respect des mesure de sécurité sanitaire, l'isolement des animaux infectés ou ceux nouvellement introduits et la lutte contre les insectes piqueurs.

2. Famille *Mycobacteriaceae*

Cette famille ne renfermait autrefois qu'un seul et unique genre (*Mycobacterium*), de qui, et sur la base de techniques de phylogénétique moléculaire, un grand nombre d'espèces ont été exclues pour intégrer les genres : *Bactoderma*, *Mycobacteroides*, *Mycolicibacillus*, *Mycolicibacter*, *Mycolicibacterium* et *Stibiobacter*, nouvellement créés au sein de cette même famille depuis 2018.

Les bactéries de cette famille ont une grande parenté avec celles des genres *Nocardia* et *Rhodococcus*. Elles ont toutes le même type de paroi cellulaire.

2.1 Genre *Mycobacterium*

Mycobacterium :n. Gr. *myces* -*etis*, un champignon ; n. dim. Gr. *bakterion*, une baguette (en bactériologie, un petit bacille) ; n. neut. N.L.

Mycobacterium, une bactérie ressemblant à un champignon.

C'est le genre type de description de la famille *Mycobacteriaceae*. Comme leur nom l'indique, ces bactéries peuvent former des extensions filamenteuses (les hyphes aériennes ou rhizoïdes avec parfois des branchements courts), à la surface du milieu de culture. Ces formes filamenteuses ramifiées sont rares et sont facilement fragmentées en formes bacillaires ou coccoïdes, par faible agitation. Ces bactéries diffèrent des champignons par les traits suivants :

- Elles n'ont pas de noyau individualisé (pas de membrane nucléaire) ;
- Elles sont sensibles au lysozyme ;
- Elles ont une paroi cellulaire de composition chimique de type bactérien ;
- Elles sont sensibles à des agents antibactériens (antibiotiques).

La classification classique des mycobactéries était basée sur une association de caractères phénotypiques, d'exigences nutritionnelles et de température, la vitesse de croissance, la production de pigments en lumière ou en obscurité, la composition cellulaire en acides gras libres et le pouvoir pathogène chez les animaux de laboratoire. Ces critères ont laissé place aux techniques de biologie moléculaire, qui ont conduit à un nouveau classement de ces bactéries.

Actuellement ce genre compte 261 espèces, dont les plus importantes en bactériologie médicale (humaine et animale), sont classiquement classées en :

- Mycobactéries tuberculeuses : *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii* et des sous espèces de *M. avium* responsables de la tuberculose ;
- Mycobactéries non tuberculeuses : plus de 100 espèces dites atypiques ou saprophytes, agents de mycobactérioses (granulomateuses) survenant de façon opportuniste chez les animaux à sang chaud ou froids (mammifères, oiseaux, poissons et reptiles), en plus des humains ;
- Mycobactérie responsable de la lèpre : *M. leprae*.

La spécificité d'hôte est relative chez les mycobactéries pathogènes.

Habitat

Les réservoirs des mycobactéries pathogènes sont représentés généralement par les animaux infectés. *M. bovis* est éliminé dans les sécrétions respiratoires, les selles, le lait, les urines et le sperme. *M. avium* ssp. *avium* et *M. avium*

ssp. *paratuberculosis* sont excrétés dans les fèces tandis que *M. tuberculosis* est principalement éliminé dans les sécrétions respiratoires.

Bien que la tuberculose soit typiquement une maladie de captivité (ou de domestication), des réservoirs sauvages de *M. bovis* ont été décrits : les blaireaux en Europe, les opossums à queue en brosse en Nouvelle-Zélande, les buffles du Cap en Afrique de l'Est, le sanglier en Espagne et le cerf en Europe et en Amérique. Ces hôtes peuvent jouer un rôle important dans le maintien de l'infection chez les bovins domestiques.

Les mycobactéries de la tuberculose et le bacille de la lèpre n'ont jamais été isolés de l'environnement ; alors que les mycobactéries non tuberculeuses à croissance lente sont présentes dans le sol, l'eau douce ou de mer, sur les poussières et moins fréquemment sur les végétaux. Les mycobactéries non tuberculeuses à croissance rapide sont principalement isolées du sol, de l'eau et, à une fréquence moindre, des végétaux ou des sphaignes (Mousse des tourbières).

Enfin, *M. ulcerans* a un biotope hydro-tellurique, avec l'intervention de mollusques herbivores et d'insectes comme hôtes intermédiaires et vecteurs (piqûre).

Résistance / sensibilité

La très grande richesse en lipide de la paroi des mycobactéries leur confère une résistance particulière aux désinfectants (ammonium quaternaires, dérivés oxydants, dérivés chlorés, glutaraldéhyde), aux agents chimiques (bases, acides, détergents) permettant l'élimination de la majorité des bactéries commensales et à certains antibiotiques hydrophiles. *M. tuberculosis* est plus résistante que *M. bovis*.

M. tuberculosis est sensible aux: N-dodecyl-1,3-propanediamine mélangé au hydroxyde de sodium, oxyde d'éthylène, mélange de peroxyde d'hydrogène à 07.5% et d'acide phosphorique à 0.85%, dérivés phénoliques, acide peracétique à 0.35%, orthophtalaldéhyde, eau superoxydée. Une solution de glutaraldéhyde aqueux à 02% est nécessaire pour tuer *M. tuberculosis* en 10 à 20 min à température ambiante.

Les mycobactéries atypiques sont généralement sensibles à l'hydroxyde de sodium, au dioxyde de chlore, à l'oxyde d'éthylène, à l'acide peracétique à 0.35%, à l'orthophtalaldéhyde et à l'éthanol à 70% (pour la désinfection des surfaces). Certaines mycobactéries atypiques, comme *M. marinum*, *M. smegmatis* et *M. fortuitum*, sont très sensibles au glutaraldéhyde alcalin à 02%, alors que d'autres, comme *M. gordonae*, *M. avium*, *M. xenopi* et *M. chelonae*, y sont résistantes.

Les mycobactéries sont facilement inactivées par la chaleur sèche (>65°C pendant au moins 30 min et 80°C pendant 05 min) et humide (121°C pendant 15 min) et par les rayons UV (les UV directes les tuent en 30 h), mais pas par la congélation, ni la dessiccation. Elles peuvent survivre pendant des semaines ou des mois sur des objets inanimés si elles sont protégées du soleil (La lumière directe du soleil est très active, provoquant la mort des bacilles en 10 à 24 j, surtout si elle est associée à la dessiccation). Elles persistent pendant 45 j dans les excréments, 06 à 08 mois dans les crachats, 90 à 120j dans les poussières et jusqu'à 45j sur les vêtements.

M. bovis peut subsister sur des surfaces sèches à 04°C. Il peut survivre dans des excréments de cafards pendant 08 semaines, dans des crachats sur les tapis (19 j) et sur du bois (plus de 88 j), dans de la terre humide ou sèche (04 semaines) et dans l'environnement pendant plus de 74 j.

Morphologie

Les mycobactéries se présentent comme des bacilles, faisant généralement 01 à 10 µm/0.2 à 0.6 µm, avec des différences entre les espèces ou les biotypes. *M. bovis* et *M. avium* ssp. *avium* sont minces avec une longueur de 04 µm, alors que *M. avium* ssp. *paratuberculosis* est large et ne dépasse pas 02 µm de longueur.

Elles sont immobiles, rectilignes ou plus ou moins ramifiées, non sporulées (sauf *M. marinum*) et non capsulées. Des formes coccoïdes (granuleuses regroupées en torsades) ou filamenteuses (en cordes) peuvent être observées en culture (surtout liquides). Dans les produits pathologiques elles se présentent isolées ou en petits amas.

Cyto-chimiquement, se sont des Gram positives ; mais, elles résistent à cette coloration, ainsi qu'à beaucoup de colorants usuels. Elles présentent une propriété tinctoriale essentielle : l'acido-alcool-résistance (BAAR) en relation avec la richesse de leur paroi en lipides (principalement l'acide mycolique). Elles nécessitent ainsi des colorations spécifiques. À la coloration de Ziehl-Neelsen, les mycobactéries se colorent par la fuchsine phéniquée et apparaissent en rouge vif sur le fond bleu. À la coloration à l'auramine, ces bactéries se montrent en microscopie à fluorescence comme des bacilles fluorescents jaune-vert sur fond rouge.

Des granules métachromatiques, appelées "granules de Much", sont parfois observées dans le cytoplasme des mycobactéries.

Chez certaines souches, la couche externe de la paroi (formée de mycosides) peut être très épaisse et former une pseudo-capsule.

Caractères cultureux

Selon leur vitesse de croissance, les mycobactéries sont groupées en deux groupes (à croissance lente dites "dysgoniques" et à croissance rapide "eugoniques"). Les espèces pathogènes ont une croissance lente (colonies visibles après 03 à 06 semaines d'incubation), alors que les espèces considérées comme non pathogènes (atypiques) ont une croissance rapide (les colonies apparaissent en moins d'une semaine) à l'exception de quelques espèces.

Les mycobactéries non tuberculeuses peuvent se développer sur certains milieux usuels. Par contre, les pathogènes ne se développent pas sur ces milieux. La plupart d'entre elles ont besoin de milieux enrichis et des conditions d'incubation strictes : température de 37°C pour *M. bovis*, *M. tuberculosis* et *M. avium* ssp. *paratuberculosis* et 37°C à 43°C pour les autres espèces du complexe *M. avium*, aérobiose en général (parfois micro-aérobiose pour *M. bovis* et *M. africanum*) et un pH optimal de 6.7 à 7. *M. leprae* ne pousse sur aucun milieu et il est isolé sur des cultures cellulaires.

La présence de glycérol favorise la croissance de *M. tuberculosis* et de *M. avium*, mais elle est inhibitrice pour celle de *M. bovis*, qui est stimulée par le pyruvate sodique.

En médecine vétérinaire, les milieux les plus utilisés pour la culture des espèces pathogènes sont le milieu de Lowenstein-Jensen et le milieu de Stonebrinks coulés (en pente) en tube ou flacon à vis. Ces milieux contiennent le vert malachite comme agent sélectif. D'autres milieux peuvent pareillement être utilisés (milieux de Middiebrook et Cohn 7H10 et 7H11, milieu de Coletsos, milieu de Herrold...) ainsi que d'autres agents chimiques qui rendent ces milieux encore plus sélectifs (cycloheximide, lincomycine, acide nalidixique...).

Sur milieu de Lowenstein-Jensen, *M. tuberculosis* donne en 02 à 03 semaines d'incubation des colonies lisses et crèmes (jeunes cultures), qui deviennent beiges, rugueuses, friables, opaques, plus larges ($\text{Ø} \geq 05$ mm) à bords irréguliers "en chou-fleur" dites eugoniques ou de type "Rough". Elles se détachent facilement du milieu de culture et sont difficiles à émulsionner.

Sur ce même milieu et après une incubation de 03 à 06 semaines, les colonies de *M. bovis* sont plates, petites (01 à 02 mm de Ø), lisses, dites dysgoniques ou de type "Smooth", blanchâtres, brillantes et faciles à émulsionner ; alors que celles de *M. africanum* sont petites rondes, mates, crèmes et granuleuses à centre acuminé. Les colonies de *M. avium* ssp. *avium* sont de type eugonique, blanchâtres, incrustées dans le milieu de culture et friables.

Les mycobactéries (non tuberculeuses) atypiques ont des durées d'incubation différentes et sont capables de produire des pigments en lumière ou en obscurité ; ainsi elles sont classées selon Runyon (1959) en :

- Groupe I : mycobactéries à croissance lente et photochromogènes (pigmentation photo-inductible) ;
- Groupe II : mycobactéries à croissance lente et scotochromogènes (pigmentation à la lumière ou à l'obscurité) ;
- Groupe III : mycobactéries à croissance lente et non pigmentées ;
- Groupe IV : mycobactéries à croissance rapide, pigmentées ou non.

En milieu liquide (bouillon glyciné et milieu de Sauton), la culture des mycobactéries tuberculeuses se développe à la surface (germes aérobies), sous forme d'une pellicule épaisse et plissée, le milieu restant clair. Au fur et à mesure que la culture vieillit, elle tombe au fond du tube en formant un dépôt membraneux, et une nouvelle pellicule se forme à la surface.

Caractères biochimiques

Toutes les mycobactéries produisent une catalase, à l'exception de certaines souches de *M. tuberculosis* et de *M. bovis*. Pour la nitrate réductase, *M. tuberculosis* est (+), *M. bovis* et *M. avium* sont (-) et *M. africanum* est variable.

M. tuberculosis produit de l'acide nicotinique, *M. bovis* et *M. avium* n'en produisent pas et *M. africanum* le fait de manière inconstante.

M. tuberculosis hydrolyse l'urée, la pyrazinamide et le nicotinamide, alors que *M. bovis* hydrolyse variablement l'urée et *M. avium* ne le fait pas. *M. tuberculosis* possède en plus des lipases et des glycosidases.

Structure antigénique

La paroi des mycobactéries est constituée de trois couches : la plus interne est formée d'un peptidoglycane sur lequel sont fixés des polymères d'arabino-galactane qui s'attachent à des acides mycoliques situés dans la couche intermédiaire. La partie externe de la paroi, est formée d'une matrice de phospholipides, de molécules amphiphiles, de protéines dont certaines sont des porines et de mycosides. Les mycosides sont des peptidoglycolipides dont la structure antigénique permet, pour certaines espèces, de décrire des sérovars.

Les mycobactéries possèdent 15 antigènes solubles qui se répartissent comme suit :

- Antigènes communs pour toutes les mycobactéries et portés de manière variable par les genres apparentés ;
- Antigènes spécifiques aux mycobactéries à croissance lente ;
- Antigènes spécifiques aux mycobactéries à croissance rapide et rencontrés chez *Nocardia* spp. ;
- Antigènes spécifiques à chaque espèce. Les variations de ces antigènes permettent (entre autres) d'identifier des sous espèces au sein d'une même espèce, et des sérotypes au sein même d'une sous espèce. Ainsi, on connaît 03 sérotypes chez *M. avium* ssp. *avium* et 24 chez *M. avium* ssp. *intracellulare*.

Un très petit nombre d'espèces (comme *M. leprae*), n'ont pas d'antigènes qui distinguent les espèces à croissance lente des espèces à croissance rapide.

Facteurs de virulence

La virulence des mycobactéries est liée à leur capacité à survivre et à se multiplier dans les macrophages de l'hôte. Étant dépourvus de toxicité (bactéries non toxigènes), leur pouvoir pathogène est plutôt la conséquence de la collaboration de nombreux facteurs de virulence permettant d'établir l'infection. Beaucoup d'entre eux sont des composants de la paroi bactérienne et certains possèdent un grand pouvoir sensibilisant.

Parmi les facteurs de virulence de *Mycobacterium* spp. figurent :

- Les phthiocerol dimycocerosates : Interviennent dans la phagocytose (des bactéries) médiée par récepteurs et protègent la bactérie des dérivés réactifs de l'azote (dans les macrophages activés). Ils interviennent aussi dans l'évasion aux cellules immunitaires et l'induction de la nécrose cellulaire ;
- Les glycolipides phénoliques : impliqués dans l'invasion des cellules phagocytaires de l'hôte et dans l'inhibition de la libération des cytokines pro-inflammatoires TNF- α ;

- Les sulfolipides : inhibent la fusion phagosome-lysosome et l'acidification des phagosomes dans les macrophages et augmentent la fluidité des membranes cellulaires de l'hôte. Ils potentialisent l'inhibition de la phosphorylation oxydative (induite par le cord factor) dans les mitochondries ;
- Les protéines de la famille PE/PPE : secrétées, elles s'associent à la membrane externe des mycobactéries et interagissent avec le système immunitaire de l'hôte. Ces protéines forment de petits pores permettant le passage des nutriments à travers la paroi imperméable ;
- Différents systèmes de sécrétion (ESX type II secretion systems) ;
- Des enzymes : catalase et peroxydase (protègent la bactérie des dérivés réactifs de l'oxygène) et alkyl hydroperoxyde réductase (protège la bactérie des dérivés réactifs de l'azote) ;
- Le lipo-arabino-mannane : supprime la prolifération des lymphocytes T et bloque l'activation des macrophages par l'interféron IFN- γ .
- Des protéines liant la fibronectine : impliquées dans la déplétion de la fibronectine, la rendant indisponible pour la liaison et la stimulation des lymphocytes T et l'interaction avec la réponse des macrophages activés.

Pouvoir pathogène

Les principales mycobactéries pathogènes pour les animaux présentent un certain degré de spécificité d'hôte, même si elles peuvent être à l'origine de cas sporadiques chez d'autres espèces. Les infections causées par quelques mycobactéries chez les animaux, sont présentées dans le tableau suivant :

Groupes	<i>Mycobacterium</i> spp.	Hôtes principaux	Hôtes occasionnels	Pathologies
Complexe <i>M. tuberculosis</i>	<i>M. tuberculosis</i>	Homme, primates captifs	Chiens, bovins, psittacidés, canaris,	Tuberculose
	<i>M. bovis</i>	Bovins	Cerfs, blaireaux, opossums, homme, chats, autres mammifères.	Tuberculose
	<i>M. microti</i>	Campagnols	Autres mammifères	Tuberculose
	<i>M. caprae</i>	Caprins	Bovins	Tuberculose
	<i>M. pinnipidii</i>	Phoques, otaries	Autres mammifères y compris l'homme	Tuberculose
Complexe <i>M. avium</i>	<i>M. avium</i> ssp. <i>avium</i>	La plupart des oiseaux sauf les psittacidés	Porcs, bovins	Tuberculose
	<i>M. avium</i> ssp. <i>hominissuis</i>	Homme, porcs	Bovins, chevaux, ovins, caprins	Infections au niveau de différents viscères, os et mammites subcliniques chez les bovins
	<i>M. avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i>	Bovins, ovins, caprins, cerfs	Autres ruminants	Paratuberculose
	<i>M. marinum</i>	Poissons de mers	Hommes, amphibiens, mammifères marins	Tuberculose
	<i>M. lepraemurium</i>	Rats, souris	Chats	Lèpre féline et lèpre murine
	<i>M. intracellulare</i>	Oiseaux sauvages	Volailles domestiques	Tuberculose
	<i>M. ulcerans</i>	Homme	Koalas, opossums	Ulcère de Buruli
	<i>M. leprae</i>	Homme	Tatous, chimpanzés	Lèpre

Diagnostic

Les mycobactéries surtout tuberculeuses (*M. tuberculosis* et *M. bovis*) sont des agents biologiques du groupe 3 et doivent être manipulés dans une zone de confinement de type NSB3 (Niveau Sécurité Biologique 3). Ces précautions concernent toutes les étapes du diagnostic (préparation des frottis, traitement des prélèvements, ensemencement des milieux et ajout de réactifs, ...).

Toute suspicion clinique d'une mycobactériose doit être confirmée par un diagnostic bactériologique, qui comprend obligatoirement un examen direct, une culture, un isolement et une identification de la souche et enfin une étude de sa sensibilité aux antituberculeux.

Sur l'animal vivant, les aspirations des liquides d'épanchement, les nœuds lymphatiques (de l'organe atteint), les biopsies de tissus, les lavages trachéo-bronchiques et gastriques, et le lait (en cas de mammites tuberculeuses) sont les prélèvements de choix.

Sur les cadavres, ils sont représentés par des fragments de tissus (fixés ou non) ou des ganglions réactifs. Ces échantillons peuvent être congelés ou conservés dans du borate de sodium.

Les prélèvements liquides subissent généralement une phase de concentration (par centrifugation) avant la préparation des frottis. Pour les biopsies, des calques (ou empreintes) peuvent être réalisés. Il faut que ces frottis soient fins, pas trop étalés, et ils sont séchés sur plaque chauffante puis fixés à alcool méthylique pur, pour être colorés après selon la technique de Ziehl-Neelsen.

Les échantillons à ensemencer doivent subir aussi des préparations avant utilisation (décontamination s'ils sont polymicrobiens, concentration s'ils sont pauvres en mycobactéries, fluidification et liquéfaction du mucus). L'isolement de ces bactéries se fait selon des protocoles bien précis (exemple : protocole décrit par Coussin 2009 pour *M. bovis*). Il nécessite l'association d'un milieu liquide à des milieux solides incubés dans des conditions bien précises. La première lecture s'effectue après une semaine pour éliminer les tubes contaminés et identifier les mycobactéries à croissance rapide. Certains milieux liquides peuvent être couplés à des systèmes de détection automatique (radiométrique ou fluorimétrique) de la croissance (BACTEC®, MGIT 960®, BacT/Alert 3D®, VersaTREK®).

L'identification phénotypique est basée sur la vitesse de croissance, l'aspect des colonies, leur pigmentation et le profilé biochimique. Cependant, ce type d'identification est de plus en plus délaissé au profit des méthodes de biologie moléculaire (PCR multiplex, séquençage).

Des techniques sérologiques directes (latex ou ELISA) permettent la détection de l'antigène soluble des mycobactéries dans le sérum, le LCR, le liquide pleural, les prélèvements respiratoires et les urines ; mais elles sont peu sensibles et peu spécifiques. Les méthodes directes (ELISA, fixation du complément, immuno-diffusion en gel d'agarose, immuno-fluorescence, immuno-peroxydase) permettent la détection des anticorps induits par l'infection.

Certains auteurs recommandent la quantification de la réponse Gamma interféron IFN- γ (dosage par ELISA) afin de détecter les formes subcliniques ; mais son utilité est encore discutée en médecine vétérinaire (coût, spécificité variable en raison des réactions croisées avec d'autres mycobactéries, préparation laborieuse des échantillons...).

Le diagnostic allergique de la tuberculose et la paratuberculose est fondé sur le fait que les infections par *M. tuberculosis* (ou bacille de Koch) et *M. avium* ssp. *Paratuberculosis* (ou bacille de Johnne) provoquent l'apparition d'un état d'hypersensibilité retardée de type IV. Ce qui rend possible la mise en évidence de ces infections par intradermoréaction (IDR) en injectant de la tuberculine ou de la Johnine (extrait brut des parois bactériennes). En l'absence de Johnine (qui est chère et souvent non disponible sur le marché), il est possible d'utiliser de la tuberculine aviaire.

L'inoculation expérimentale à des animaux de laboratoire (cobaye) a été abandonnée pour des raisons éthiques, économiques et de sécurité microbiologique (risque pour les manipulateurs).

Les techniques moléculaires telles que le spoligotypage et l'analyse des répétitions en tandem à nombre variable (VNTR) sont très utilisées pour le typage génétique des souches dans le cadre des enquêtes épidémiologiques.

Sensibilité aux antibiotiques et prophylaxie

D'une manière générale, les mycobactéries tuberculeuses sont résistantes à la plus part des antibiotiques testés en microbiologie médicale humaine à l'exception des aminosides (streptomycine, amikacine), des rifamycines (rifampicine) et des fluoroquinolones. Elles sont aussi naturellement sensibles aux antibiotiques dits "antituberculeux" : isoniazide, pyrazinamide, ethambutol et thioamides. Pour que le traitement soit efficace (éviter l'émergence de mutants résistants), il faut une association de deux antibiotiques ou plus (en pratique 03 à 05).

En raison de leur croissance lente, l'étude de la sensibilité des bacilles tuberculeux aux antibiotiques, est réalisées selon une méthode bien standardisée (Méthode des proportions en milieu solide ou liquide selon Canetti, Rist et Grosset).

En médecine vétérinaire, le traitement antibiotique des infections mycobactériennes (surtout tuberculeuses) est interdit, en raison du risque d'apparition d'une éventuelle résistance (surtout aux antituberculeux), ainsi que celui des résidus antibiotiques dans la viande et le lait. Malgré cela, plusieurs travaux scientifiques ont décrit des isolats de mycobactéries (*M. bovis*, *M. caprae*, complexe *M. avium*,...) résistants (parfois même multi-résistants) aux antibiotiques chez les bovins, chiens, oiseaux, ...

La vaccination (contre la tuberculose) est interdite chez les animaux (surtout les bovins), car les vaccins disponibles sont d'efficacité variable et ils interfèrent avec le diagnostic et le dépistage de la maladie et donc entravent son éradication.

De ce fait, la prophylaxie repose sur un bon plan de dépistage et d'assainissement des troupeaux infectés, en plus des mesures de biosécurité rigoureuses ne permettant l'introduction dans l'élevage que des animaux issus de cheptels confirmés indemnes.

Dans la lutte contre la paratuberculose (en plus des autres mesures de biosécurité), des vaccins à sous-unités protéiques ont été proposés. Certains d'entre eux permettent la différenciation entre les animaux vaccinés et ceux infectés.