

Chapitre IV: Bacilles Gram négatifs aéro- anaérobie facultatifs

1. Enterobacteriaceae

1.1. Définition

Les entérobactéries sont une famille très hétérogène pour ce qui est de leur pathogénie et de leur écologie. Les espèces qui composent cette famille sont en effet soit parasites (*Shigella*, *Yersinia pestis*), soit commensales (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp*), soit encore saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*).

1.2. Habitat et pouvoir pathogène

Le domaine des entérobactéries commensales ne se limite pas à l'intestin : on les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux.

Les entérobactéries sont présentes dans le monde entier et elles ont un habitat très large : eau douce, eau de mer (*Alterococcus agarolyticus*), sol, végétaux, animaux et elles peuvent contaminer des denrées alimentaires.

Certaines espèces sont responsables de diarrhée et/ou d'infections opportunistes (infections urinaires, infections respiratoires, surinfections des plaies, septicémies, méningites...).

1.3. Répartition en genres

Au sein des entérobactéries, on distingue de nombreux genres (*Shigella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Serratia*, etc...) (tableau 3-1 et 3-2). La distinction entre les genres se fait par l'étude des caractères biochimiques dont les plus importants sont : fermentation du lactose, production d'indole, production d'uréase, production d'acétoïne (réaction dite VP+), utilisation du citrate, désamination du tryptophane.

1.4. Caractérisation des espèces

Au sein de chaque genre, on individualise des *espèces*, par l'étude des caractères biochimiques ou antigéniques. Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (« somatiques ») ou antigènes O. Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle (« flagellaires ») ou antigènes H. Enfin, certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène K.

Antigène O : est l'endotoxine des bactéries à Gram négatif. Les antigènes O ou somatiques correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS), il est *très toxique*.

Antigène H : il n'est pas toxique, de nature protéique (flagelles).

Les antigènes de surface comprenant : Les antigènes K, Vi ou capsulaires (de nature polysidiques), les antigènes d'adhérence ou adhésines de nature protéique, portés par des pili communs (encore appelés fimbriae).

L'antigène R correspond au polysaccharide du core central. La disparition de l'antigène O le démasque et rend les souches "rough" (colonies rugueuses) autoagglutinables dans l'eau physiologique, plus sensibles aux substances bactéricides du sérum, plus facilement phagocytées et donc moins pathogènes.

L'antigène commun dénommé ECA (pour Enterobacterial Common Antigen). Cet antigène n'existe que chez les entérobactéries et, de ce fait, a un intérêt taxonomique. Sa présence chez les *Yersinia* a permis d'inclure ce genre dans la famille des entérobactéries.

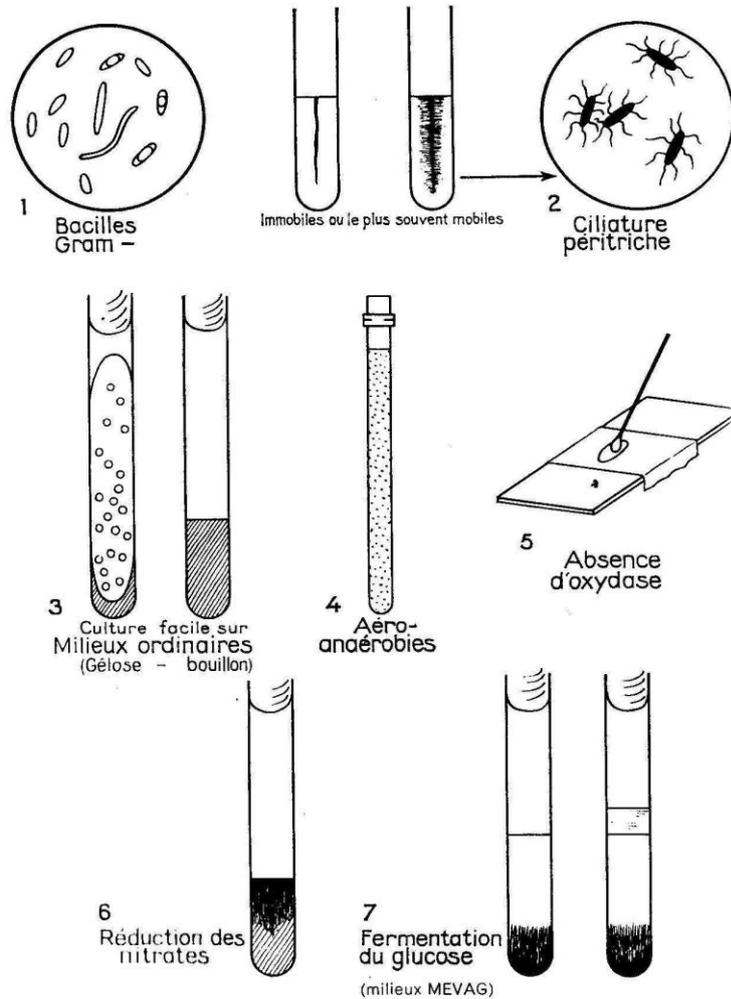


Figure 4-1 : La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants :

- 1- Bacille ou un Coccobacille Gram - souvent polymorphes.
- 2- Mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles.
- 3- Poussant sur milieux de culture ordinaires.
- 4- Aérobie - anaérobies facultatifs
- 5- Oxydase négatif.
- 6- Réduisant les nitrates en nitrites.
- 7- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.

Tableau 4-1 : Genres de la famille Enterobacteriaceae.

	Genres	Principales espèces
Genres rencontrés en bactériologie clinique et/ou en microbiologie alimentaire	<i>Salmonella</i>	Espèce <i>enterica</i> qui comprend 6 sous espèces (dont <i>enterica</i> , <i>arizonae</i> ...). La sous espèce <i>enterica</i> est divisé en plus de 2000 sérovars déterminés par sérotypage (dont <i>Paratyphi A</i> , <i>Typhimurium</i> ...)
	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
	<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i> , <i>diversus</i> , <i>amolanaticus</i>
	<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae</i> , <i>flexneri</i> , <i>boydii</i> , <i>sonnei</i>
	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i> , <i>oxytoca</i>
	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i> , <i>aerogenes</i> , <i>agglomerans</i>
	<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i> , <i>liquefaciens</i> , <i>rubideae</i>
	<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>
	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i> , <i>vulgaris</i>
	<i>Morganella</i>	<i>morganii</i> (seule espèce du genre)
	<i>Providencia</i>	<i>alcalifaciens</i> , <i>rettgeri</i> , <i>stuartii</i>
	<i>Yersinia</i>	<i>pestis</i> , <i>enterocolitica</i> , <i>pseudotuberculosis</i>
Autres genres ne présentant pas d'intérêt en bactériologie clinique ou en microbiologie alimentaire.	<i>Buttiauxella</i> , <i>Cedecea</i> , <i>Edwardsiella</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Ewingella</i> , <i>Kluyvera</i> , <i>Moellerella</i> , <i>Koserella</i> , <i>Leclercia</i> , <i>Obesumbacterium</i> , <i>Rahnella</i> , <i>Tatumella</i> , <i>Xenorhabdus</i> , <i>Yokenella</i>	

Rappels :

- le nom de genre s'écrit avec une majuscule ex : *Salmonella*, le nom d'espèce entièrement en minuscule ex : *enterica* et dans le cas d'un sérotypage le nom de sérovar s'écrit avec une majuscule ex : *Typhimurium*.
- Les noms en latin ne comportent pas de lettre avec accents on écrit les entérobactéries et les Enterobacteriaceae.
- En typographie, les noms de genre et d'espèce s'écrivent en italique.

Tableau 4-2 : Orientation rapide de l'identification des Entérobactéries.

Uréase	Indole	ONPG	H ₂ S	Citrate	Genre	Espèce	
-	-	-	-	-	<i>Shigella</i> <i>Salmonella</i>	<i>dysenteriae</i> <i>Paratyphi A,</i> <i>Typhi, Gallinum</i>	
			+	+	+	<i>Salmonella</i>	<i>spp</i>
				-	-	<i>Salmonella</i>	<i>cholerae suis</i>
		+	-	-	-	<i>Shigella</i> <i>Enterobacter</i>	<i>sonnei</i> <i>hafnia</i>
				+	+	<i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Serratia</i>	<i>ozonae</i>
			+	+	+	<i>Salmonella</i> <i>Citrobacter</i>	<i>arizonae</i>
	-			-	<i>Salmonella</i>	<i>arizonae</i>	
	+			-	<i>Edwarsiella</i>		
	+	-	-	+	-	<i>Providencia</i>	
				-	+	<i>Alcalescens</i> <i>Shigella</i>	<i>flexneri, boydii,</i> <i>dysenteriae</i>
			+	-	-	<i>Escherichia</i> <i>Alcalescens</i>	<i>coli</i> <i>dispar</i>
		+	+	+	+	<i>Citrobacter</i>	
				-	-		
	+	-	-	+	+	<i>Proteus</i>	<i>mirabilis</i>
+			-	+	<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i> <i>ozonae</i>	
-			-	-	<i>Yersinia</i>		
+		-	-	-	+	<i>Proteus</i>	<i>rettneri</i>
				-	-	<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>
		+	+	+	+/-	<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>
				-	+	<i>Yersinia</i>	
				-	+		

Ce tableau ne permet pas une identification mais fournit un résultat probable grâce à des caractères biochimiques discriminants. Tout résultat devra être validé par la vérification des caractères de l'ensemble de la galerie d'identification à l'aide d'un tableau d'identification plus complet (celui de la galerie Api 20E par exemple).

1.5. Escherichia coli

1.5.1. Introduction

Bactérie isolée en 1885 par *Theodor von Escherich* et couramment appelée "colibacille". *Escherichia coli* est une entérobactérie mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole.

1.5.2. Habitat

E.coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 par gramme de fèces (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme).

1.5.3. Pouvoir pathogène

Les colibacilles, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquent normalement pas de maladie. Cependant ils possèdent un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes) :

- par pénétration par voie urétrale ascendante dans l'arbre urinaire.

- par essaimage à point de départ digestif : cholécystite suppurée, péritonite, septicémie.

Certaines souches de colibacilles ont un pouvoir entéropathogène intrinsèque par acquisition de gènes de pathogénicité :

* *Par sécrétion d'entérotoxine (ETEC)*, ils peuvent provoquer des diarrhées aiguës, « cholera-like ». La sécrétion d'entérotoxine est codée par un plasmide. La toxine est le plus souvent une toxine thermolabile ou LT (très voisine de celle du vibron cholérique), mais parfois thermostable ou ST. Les plasmides en cause portent aussi des gènes responsables de la production de pili ou fimbriae (adhésines) qui permettent l'attachement des *E. coli* à la muqueuse intestinale.

* *Par fixation sur la surface des cellules de la muqueuse, abrasion de la bordure en brosse des villosités intestinales et production de cytotoxines (EHEC)*, les EHEC provoquent une diarrhée aiguë, acquise, puis hémorragique, sans pus ni fièvre. Les EHEC produisent de puissantes cytotoxines, dites vérotoxines et appelées SLT car elles ressemblent à la toxine de *S. dysenteriae*. Les SLT disséminent par voie sanguine et inhibent la synthèse protéique par hydrolyse de l'ARN ribosomal. Les EHEC hébergent un plasmide codant pour une adhésine.

* *Par invasion de la muqueuse colique*, certains colibacilles (EIEC) provoquent des diarrhées aiguës, « dysenterie-like », avec présence de mucus, sang et leucocytes dans les selles. La virulence des EIEC est liée à la présence d'un plasmide très proche de celui connu chez *Shigella* (cf. *Shigella*).

* Enfin, certaines souches d'*E. coli* sont associées à des diarrhées et sont clairement entéropathogènes (EPEC) grâce à des propriétés d'adhésion particulières. Elles ne sont ni sécrétrices d'entérotoxine, ni entéro-invasives. Elles forment des pili, codés par des plasmides, qui forment des « faisceaux » (« bundle ») qui se fixent sur les villosités des entérocytes. Les villosités sont progressivement détruites (« attachement-effacement »). Le cytosquelette des entérocytes est altéré et il se produit très rapidement une fuite hydrique.

1.5.4. Diagnostic bactériologique

Dans les diarrhées aiguës, la difficulté est d'individualiser les *E. coli* entéropathogènes au sein des *E. coli* commensaux.

A partir de prélèvements divers, urines, selles, sang, LCR, pus, liquide d'ascite, on recherche le colibacille par des techniques bactériologiques :

* L'examen microscopique révèle la présence de bacilles à Gram négatif mais il arrive que la morphologie soit atypique.

* La culture sur milieux simples ou sur milieux lactosés avec indicateur coloré donne lieu au développement de bacilles à Gram négatif, fermentant le lactose et possédant les caractères biochimiques qui caractérisent l'espèce.

* Un sérotypage n'est pratiqué couramment que pour les souches entéropathogènes (EPEC) et pour les sérotypes O157 (EHEC) pour lesquelles il existe des sérums agglutinants spécifiques.

* La mise en évidence des entérotoxines n'est pas facile. Les méthodes de détection par techniques immunologiques, par l'étude de l'effet cytopathogène sur des cultures cellulaires ou par hybridation ADN/ADN ne sont pas couramment pratiquées mais on peut penser que des tests simples et spécifiques seront mis au point dans un proche avenir.

On peut révéler la présence d'adhésines grâce à leur pouvoir hémagglutinant sur les globules rouges humains ou animaux.

1.5.5. Traitement

Escherichia coli est généralement sensible aux antibiotiques.

Parmi les bêtalactamines, sont actives les pénicillines du groupe A (aminopénicillines), les carboxypénicillines, les céphalosporines. Les Gram - sont constamment résistants à la Pénicilline G.

Les aminosides et les polypeptides sont également actifs de même que les quinolones de première génération, les fluoroquinolones.

Cette sensibilité peut être modifiée par la production d'enzymes hydrolysant les bêtalactamines (pénicillinase, céphalosporinase) ou les aminosides ou par une mutation.

Le traitement des diarrhées est souvent symptomatique : la diarrhée est avant tout un moyen de défense de l'individu qui élimine ainsi le pathogène. Le grand danger est la déshydratation qui doit être compensée. En cas de fièvre et d'invasion, l'antibiothérapie sera très sûrement nécessaire.

1.6. Salmonella

Les salmonelles sont des parasites intestinaux des animaux vertébrés qui se disséminent dans la nature par les excréta. Chez les animaux à sang chaud, elles sont souvent pathogènes.

1.6.1. Taxonomie

Les salmonelles constituent un genre ne contenant qu'une seule espèce : *Salmonella enterica* divisée en 7 sous-espèces. Pour des raisons historiques, car pendant longtemps les sérovars ont été assimilés à l'espèce, on désigne chaque sérovar par un nom rappelant soit son pouvoir pathogène (*Salmonella Choleraesuis*) soit le nom de la ville du premier isolat (*Salmonella London*). Les sous-espèces sont subdivisées en près de 2 000 sérovars sur la base de leurs antigènes O, H et K.

1.6.2. Classification de Kauffmann - White

Cette classification repose sur la détermination des antigènes O, H et Vi.

Les antigènes O, au nombre de 67, ont la structure polyosidique précédemment décrite. On les détermine par agglutination sur lame à l'aide d'immuns sérums spécifiques. Certains de ces antigènes, qualifiés de "majeurs" caractérisent un groupe de salmonelles : ainsi l'antigène O:4 définit-il le groupe B (cf. tableau 3-3).

D'autres antigènes, "mineurs" leurs sont associés mais n'ont guère d'importance diagnostique.

Les antigènes H séparent les sérovars à l'intérieur de ces groupes. On les met également en évidence par agglutination sur lame. Les anticorps anti H rendent immobiles les bactéries. Les antigènes H existent sous deux phases qui peuvent coexister ou non chez une même souche (exemple : *S. typhimurium* possède en phase 1 le facteur i et en phase 2 : le facteur 1 et 2.

- La phase 1 est désignée par des lettres minuscules, a, b, c... Au-delà de z, les antigènes portent la lettre z associée à un chiffre.
- La phase 2 est désignée par des chiffres arabes mais certains le sont également par des lettres. L'antigène Vi n'existe que chez trois sérovars (*S. Typhi*, *S. Para C*, *S. Dublin*). Sa présence peut masquer l'antigène O, rendant la souche "O inagglutinable". Cette inhibition peut être levée en chauffant la souche à 100° C, car l'antigène Vi est thermolabile.

Tableau 4-3 : Extrait du tableau de Kauffmann-White

Groupes	Sérovars	Antigène O	Vi	Antigène H	
				phase 1	phase 2
A	<i>Paratyphi A</i>	1,2,12		a	-
B	<i>Paratyphi B</i>	1,4,5,12		b	1,2
	<i>Wien</i>	1,4,12,27		b	l,w
	<i>Saintpaul</i>	1,4,12,27		e,h	1,2
	<i>Typhimurium</i>	1,4,5,12		i	1,2
	<i>Brandenburg</i>	1,4,12		l,v	e,n, z ₁₅
	<i>Agona</i>	1,4,12		f,g,s	-
	<i>Abortusequi</i>	4,12		-	E, n, x
	<i>Abortusovis</i>	4, 12		c	1, 6
C	<i>Paratyphi C</i>	6,7	+	c	1,5
	<i>Virchov</i>	6,7		r	1,2
	<i>Infantis</i>	6,7		r	1,5
	<i>Bovismorbificans</i>	6,8		r	1,5
	<i>Goldcoast</i>	6,8		r	l,w
D	<i>Typhi</i>	9,12	+	d	-
	<i>Enteritidis</i>	1,9,12		g,m	-
	<i>Panama</i>	1,9,12		l,v	1,5
	<i>Dublin</i>	1,9,12	+	g,p	-
	<i>Gallinarum</i>	1,9,12		-	-
E	<i>London</i>	3,10		l,v	1,6
	<i>Anatum</i>	3,10		e,h	1,6
	<i>Give</i>	3,10,15		l,v	1,7
	<i>Senftenberg</i>	1,3,19		g,s,t	-
	<i>Meleagridis</i>	3,10		e,h	l,w

1.6.3. Caractères bactériologiques

Les Salmonelles sont des entérobactéries et en possèdent les caractères généraux. Elles sont des bacilles gram négatifs, mobiles, aéro-anaérobies facultatifs, bêtagalactosidase -, uréase -, indole -, lactose -, H₂S +, citrate +. Certains sérovars ont des caractères particuliers.

1.6.4. Pouvoir pathogène

Les *Salmonella spp.* sont présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux vertébrés. Dans le milieu extérieur, les salmonelles peuvent survivre des semaines, voire des mois si les conditions de température, d'humidité et de pH sont favorables. Les souches de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sont hébergées dans l'intestin de l'homme et des animaux endothermes.

Les sérovars *Typhi*, *Paratyphi A*, *Paratyphi B*, *Sendai* et plus rarement *Paratyphi C* ne sont isolés que chez l'homme et ils provoquent des syndromes typhoïdiques.

Les sérovars *Abortusovis* et *Abortusequi* sont, respectivement, spécifiques des ovins et des équidés et ils sont à l'origine d'avortements.

Le sérovar *Gallinarum* est spécifique des volailles. Il est l'agent étiologique de la pullorose et de la typhose.

Le sérovar *Typhisuis* n'est présent que chez le porc et il provoque des infections chez les jeunes animaux.

De nombreux sérovars sont ubiquistes et à l'origine de toxi-infections alimentaires chez l'homme et d'infections diverses chez les animaux.

Les souches de *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*, de *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* et de *Salmonella enterica* subsp. *salamae* semblent faire partie de la flore intestinale des ectothermes (notamment serpents et lézards). Ces souches sont rarement isolées de l'homme et des animaux endothermes.

Les souches de *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* et de *Salmonella bongori* sont isolées de l'environnement et elles sont exceptionnellement pathogènes pour l'homme et les animaux.

1.6.5. Epidémiologie

Les Salmonelles sont éliminées par les matières fécales et résistent bien dans le milieu extérieur.

Les sérovars responsables des fièvres typhoïdes sont strictement humains et le seul "réservoir de virus" est l'homme lui-même, malade, convalescent ou porteur sain. Ces contaminations interhumaines expliquent la survenue des cas de fièvre typhoïde par petites épidémies ; elles sont directes, autour d'un malade, ou le plus souvent indirectes par ingestion d'aliments souillés par les excréta. Une hygiène alimentaire défailante augmente donc le risque de survenue de la maladie.

Les sérovars responsables de gastro-entérites sont très répandus dans le monde animal et les animaux domestiques ou d'élevage. L'infestation se fait également par voie digestive, par consommation d'aliments souillés.

1.6.6. Diagnostic biologique

On cherche les Salmonelles, essentiellement par hémoculture (syndrome typhoïdique) ou par coproculture mais d'autres prélèvements peuvent en contenir.

L'identification biochimique doit précéder toute tentative de détermination du sérovar qui se fait par agglutination sur lame à l'aide d'immuns sérums.

Sur des colonies isolées, on recherche d'abord l'antigène O de groupe puis à l'aide du tableau de Kauffmann White, on étudie les spécificités H dans une phase puis dans l'autre. Le sérodiagnostic d'une fièvre typhoïde consiste à rechercher les anticorps du malade en présence de suspensions antigéniques O et H de *S. Typhi*, *Para A*, *B* et *C*.

1.6.7. Traitement

Les Salmonelles sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs contre les bacilles à Gram négatif. Certaines résistances sont possibles et impliquent la pratique d'un antibiogramme.

Les fièvres typhoïdes sont actuellement traitées par une céphalosporine de troisième génération et les fluoroquinolones.

Les gastro-entérites relèvent essentiellement d'un traitement symptomatique comprenant régime et réhydratation. Une antibiothérapie n'est utile que dans les cas graves.

Plusieurs vaccins sont utilisés : Le vaccin TAB (pour Typi, para A, para B), un vaccin injectable, constitué d'un extrait du polysaccharide capsulaire Vi purifié de *Salmonella* Typhi est disponible (Typhim Vi).

1.7. Shigella

Les *Shigella* sont des entérobactéries à faible pouvoir métabolique, toujours immobiles (animées de mouvement pendulaires sur place) mais qui ne fermentent pas le lactose. Elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas de gaz. Elles sont génotypiquement très voisines des *Escherichiae*.

Les caractères biochimiques et antigéniques permettent de distinguer 4 espèces ou groupes antigéniques dans le genre :

Tableau 4-4 : Classification genre *Shigella*.

Espèces	Groupe	Nombre de sérotypes
<i>Shigella dysenteriae</i>	A	10
<i>Shigella flexneri</i>	B	6
<i>Shigella boydii</i>	C	15
<i>Shigella sonnei</i>	D	1

1.7.1. Habitat et pouvoir Pathogène

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines (homme et singe). Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale ; on ne les trouve que chez les malades, les convalescents et les rares porteurs sains.

Elles sont responsables de "la dysenterie bacillaire" (*Shigella dysenteriae*). Actuellement, elles sont la cause, chez l'adulte, de colites infectieuses et chez l'enfant, de gastro-entérites sévères avec diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation.

1.7.2. Physiopathologie

Les shigelles envahissent la muqueuse intestinale, pénètrent dans les entérocytes et les détruisent par action vraisemblable d'une toxine. Il s'en suit une importante réaction inflammatoire de la muqueuse qui explique la symptomatologie.

1.7.3. Diagnostic

Le diagnostic repose sur la mise en évidence de la bactérie par coproculture. Caractères généraux des entérobactéries, nombreux autres caractères négatifs et immobilité permettent l'identification qui est complétée par l'étude de l'équipement antigénique (O et K) par agglutination à l'aide de sérums spécifiques.

1.7.4. Traitement

Les shigelles sont sensibles aux antibiotiques mais la possibilité de résistances acquises impose un antibiogramme. Un traitement symptomatique est toujours essentiel.

1.8. *Proteus* - *Providencia*

Le genre *Proteus* est classiquement placé dans la tribu des *Proteeae* (famille des *Enterobacteriaceae*) qui regroupe également les genres : *Morganella* et *Providencia*.

Le groupe *Proteus-Providencia* comprend les genres :

1- *Proteus* avec les espèces *mirabilis*, *vulgaris* et *penneri*

2- *Morganella* avec l'espèce *morganii*

3- *Providencia* avec les espèces *stuartii*, *rettgeri*, *alcalifaciens*, et *rustigianii*.

Toutes ces bactéries produisent des désaminases (tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase). Les *Proteus* produisent en outre une uréase.

Les *Proteus sp.* sont des bacilles à Gram négatif, très généralement mobiles, polymorphes. De nombreuses souches de *Proteus sp.* et, notamment celles de *Proteus myxofaciens*, produisent une couche visqueuse ou slime dont la composition est parfois identique à celle des chaînes latérales du LPS. Certains *Proteus* (*mirabilis* et *vulgaris*) envahissent la surface de la gélose en formant des halos de cultures en ondes concentriques à partir du point d'inoculation, lorsque l'envahissement est moins important, en donnant des images en hérisson ou en fil de fer barbelé. La mobilité des *Proteus sp.* s'effectue soit par le mécanisme classique de la nage (observée après culture dans un milieu liquide) soit par essaimage (observée lorsque les bactéries sont cultivées en milieu solide).

Ce sont des bactéries de l'environnement et des commensaux de l'intestin de l'homme et des animaux. Chez l'animal, les *Proteus sp.* sont responsables d'infections urinaires (chevaux, porcs, carnivores), d'endométrites (chevaux et bovins), de mammites (vaches), de diarrhées (veaux, porcs), d'arthrites (veaux), de surinfections des plaies, d'otites externes (notamment chez les carnivores où ils sont fréquemment isolés en association avec *Pseudomonas aeruginosa* ou avec des staphylocoques à coagulase positive).

Les bactéries du genre *Proteus* opposent une résistance naturelle aux antibiotiques polypeptidiques. Les *Proteus* dits "indologènes" sont beaucoup plus résistants aux antibiotiques que *Proteus mirabilis* ou *penneri*. *Providencia stuartii* est souvent polyrésistant.

1.9. *Yersinia*

Ce sont de petits bacilles à Gram négatif, à coloration bipolaire, immobiles, cultivant sur milieux ordinaires ou sur milieux spéciaux pour entérobactéries (gélose SS) mais en donnant des petites colonies. Elles possèdent une uréase mais pas de désaminases, à la différence des *Proteus* qui sont aussi uréase +. Dans certains cas, les caractères biochimiques d'identification s'expriment mieux à 20° C qu'à 37° C.

Les principales espèces du genre sont *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*.

1.9.1. *Yersinia pestis*

La peste, puisqu'il faut l'appeler par son nom ... est une maladie animale frappant les rongeurs et le rat en particulier. Elle se transmet à l'homme par les puces qui transportent les bacilles des animaux à l'homme.

1.9.1.1. Habitat

Yersinia pestis est un parasite des animaux et de l'homme, agent de la peste animale et humaine. Le réservoir est constitué par les rongeurs sauvages (peste sauvage ou silvatique, endémique). Chez les rats domestiques, la maladie occasionne des épizooties massives qui sont à l'origine des épidémies humaines.

L'agent vecteur est la puce du rat qui contamine les animaux et l'homme par piqûre. Il peut exister une transmission interhumaine par la puce de l'homme, ou par voie aérienne en cas de forme pulmonaire.

1.9.1.2. Pouvoir pathogène naturel

-*Physiopathologie*

Le bacille se multiplie au point d'inoculation (vésiculo-pustule), se propage par voie lymphatique et se multiplie dans le ganglion lymphatique satellite (adénopathie suppurée : le bubon). L'évolution peut se faire vers la septicémie. La forme septicémique peut être à l'origine d'une localisation pulmonaire secondaire qui à son tour, par transmission aérienne, peut être à l'origine de cas de peste pulmonaire primitive. Le bacille se multiplie dans les macrophages.

-*Maladie*

La peste bubonique se présente comme l'association d'un syndrome infectieux sévère, d'un syndrome toxique (endotoxine) et du bubon douloureux, dur, de la taille d'une noisette. La peste pulmonaire qui se présente comme l'association d'un syndrome infectieux sévère et de signes respiratoires très intenses (dyspnée, cyanose) est rapidement mortelle.

1.9.1.3. Diagnostic

En cas d'épidémie, le diagnostic est essentiellement clinique. En période d'endémie, le diagnostic repose sur la mise en évidence du bacille par culture du produit de ponction du bubon et par hémoculture.

1.9.1.4. Traitement

Préventif : Lutte contre les rats, sulfamidoprophyllaxie collective en cas de risque épidémique.

Curatif : Antibiothérapie par streptomycine, tétracycline, chloramphénicol.

1.9.2. *Yersinia pseudotuberculosis*

Souvent désigné sous le nom de "bacille de Malassez et Vignal", *Yersinia pseudotuberculosis* est un germe qu'on trouve dans la nature, potentiellement pathogène pour de nombreuses espèces animales et pour l'homme.

La contamination est digestive. Il est responsable d'adénite mésentérique ou d'iléite terminale donnant lieu à des syndromes appendiculaires. A l'intervention, l'appendice est normal mais on trouve un ou plusieurs ganglions congestifs. Les infections à *Yersinia pseudotuberculosis* sont une des étiologies de l'érythème noueux.

1.9.3. *Yersinia enterocolitica*

Bactérie ubiquitaire contaminant l'homme et les animaux par voie digestive.

Y. enterocolitica est surtout responsable de gastro-entérites, mais occasionne aussi des syndromes appendiculaires, des polyarthrites ou un érythème noueux.

Elle est résistante aux bêtalactamines mais sensible aux aminosides, au triméthoprime-sulfaméthoxazole et aux tétracyclines.

1.10. Klebsiella – Enterobacter - Hafnia - Serratia

Ces entérobactéries, fréquemment responsables d'infections hospitalières, sont souvent désignées sous le sigle "KEHS". Elles utilisent, pour la fermentation des sucres, une voie métabolique particulière qui produit de l'acétyl-méthyl-carbinol ou acétoïne qu'on met en évidence par la réaction de Voges Proskauer ou VP. De ce fait, les KEHS sont dites VP+.

Toutefois, ce caractère phénotypique n'est pas exclusif à ce groupe ni d'ailleurs absolument constant.

1.10.1. Klebsiella

Les *Klebsiella* sont des entérobactéries immobiles et capsulées. On distingue 5 espèces dans le genre qu'on peut différencier par des caractères biochimiques :

Klebsiella pneumoniae, comprenant 2 sous espèces : *ozaenae* et *rhinoscleromatis*

Klebsiella oxytoca, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella terrigena*, *Klebsiella ornithinolytica*, l'espèce type est *Klebsiella pneumoniae*.

Les *Klebsiella pneumoniae* forment, sur milieux solides, de grosses colonies muqueuses, luisantes. Elles expriment des antigènes K, capsulaires utilisables comme marqueurs épidémiologiques.

Elles sont très répandues dans la nature (eaux, sols). Ce sont aussi des commensales du tube digestif des animaux et de l'homme qui peut également en héberger dans l'oropharynx.

Elles sont responsables d'infections respiratoires (*Klebsiella pneumoniae* est appelée "pneumobacille de Friedlander"), d'infections urinaires, de bactériémies et d'infections neuro-méningées post traumatiques ou post-chirurgicales.

Le diagnostic biologique repose sur la mise en évidence de la bactérie.

Les *Klebsiella* produisent une pénicillinase constitutive qui leur confère une résistance naturelle aux amino et carboxypénicillines. Des bêtalactamases dites "à spectre étendu", récemment mises en évidence, rendent les souches productrices résistantes à toutes les bêtalactamines sauf les céphamycines et les carbapénems.

1.10.2. Enterobacter

Ce sont des entérobactéries VP + (Voges-Prauskauer + = production acétoïne) comprenant plusieurs espèces :

Enterobacter cloacae est l'espèce type, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*.

Les *Enterobacter*, présents dans l'environnement, sont également des commensaux du tube digestif. Ce sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections urinaires, de bactériémies, de méningites ou de suppurations diverses. *Enterobacter cloacae* oppose une résistance naturelle aux pénicillines A et aux céphalosporines de 1ère génération. Il a souvent acquis une polyrésistance, en particulier aux bêtalactamines par production d'une céphalosporinase déréprimée. Les autres espèces sont généralement plus sensibles aux antibiotiques, sauf en cas d'acquisition de résistances d'origine plasmidique (bêtalactamase à spectre étendu d'*Enterobacter aerogenes*).

1.10.3. Hafnia alvei

Bactérie de la flore digestive humaine et animale et présente dans l'environnement, *Hafnia* est souvent confondue avec *Salmonella* car les caractères biochimiques sont voisins mais l'action lytique de bactériophages spécifiques permet de les distinguer.

1.10.4. Serratia

Les *Serratia* sont des entérobactéries VP+. Elles sont très protéolytiques et liquéfient la gélatine, et elles produisent une lipase. On distingue dix espèces dans le genre mais seule l'espèce type, *Serratia marcescens* est isolée chez l'homme. Les autres espèces sont des bactéries de l'environnement présentes sur les plantes, champignons ou mousses, dans l'eau, les sols et chez les petits mammifères sauvages.

Les *Serratia* opposent une résistance naturelle aux antibiotiques polypeptidiques et sont par ailleurs très souvent polyrésistantes.

2. Pasteurellaceae

2.1. Systématique

La famille des *Pasteurellaceae* rassemblait les genres : les genres *Actinobacillus*, *Haemophilus*, *Avibacterium*, *Pasteurella*...

Elle est apparentée aux *Enterobacteriaceae*, aux *Vibrionaceae* aux *Aeromonadaceae* et au genre *Alteromonas* (actuellement inclus dans la famille des *Alteromonadaceae*). Elle appartient à la classe des *Gammaproteobacteria* (phylum des "*Proteobacteria*", domaine ou empire des "*Bacteria*" ou des "*Eubacteria*").

Si un bactériologiste accepte tous les changements de nomenclature proposés, la famille des *Pasteurellaceae* comprend 64 espèces et 5 sous-espèces validement publiées.

2.2. Caractères bactériologiques

Bacilles ou cocco-bacilles à Gram négatif, souvent polymorphes, de 0,4 à 2,0 µm de longueur sur 0,2 à 0,4 µm de diamètre, immobiles, chimio-organotrophes, aérobies, micro-aérophiles ou aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentatif, acidifiant, généralement sans production de gaz, les sucres, les alcools et les glycosides (l'acidification est parfois faible et nécessite des techniques sensibles pour pouvoir être mise en évidence), réduisant les nitrates en nitrites et donnant le plus souvent une réponse positive aux tests catalase, oxydase et phosphatase alcaline.

La température optimale de croissance est de 37 °C. L'isolement nécessite des milieux complexes contenant des extraits de levure, du sérum, du sang ou du sang lysé. Pour certaines espèces, la croissance nécessite de l'azote organique, des acides aminés, des vitamines B, du NAD, de l'hémine ou de la protoporphyrine.

Tableau 4-5 : Les caractères permettant de différencier la famille des *Pasteurellaceae* des familles apparentées.

	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Vibrionaceae</i>
Bacilles droits	+	+	V
Bacilles incurvés	-	-	V
Mobilité	V	-	+*
Ciliature polaire (croissance en milieu liquide)	-		+
Ciliature péritriche ou présence de flagelles latéraux (croissance en milieu liquide)	+		-
Oxydase	-	+**	+***
Halophilie	-	-	V (généralement +)
Présence de l'antigène de Kunin	+	-****	-

* : Certaines souches de *Vibrio spp.* sont immobiles.

** : *Lonepinella koalarum* (unique espèce du genre) et environ la moitié des souches de *Volucrobacter psittacidia* sont oxydase négative.

*** : *Vibrio gazogenes* et *Vibrio metschnikovii* sont oxydase négative.

**** : *Actinobacillus equuli* et *Actinobacillus suis* possèdent l'antigène de Kunin.

Les souches de la famille des *Pasteurellaceae* sont facilement isolées en utilisant une gélose chocolat incubée 1 à 3 jours à 36 °C dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone (méthode à la bougie). L'identification est souvent difficile et des confusions sont possibles avec des souches immobiles et exigeantes appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae* et des *Vibrionaceae*, avec des souches de *Bacillus spp.* exigeantes et perdant facilement la coloration de Gram, avec des souches aéro-tolérantes du genre *Clostridium*, voire même avec des micro-organismes non fermentatifs.

2.3. Habitat et pouvoir pathogène

Les représentants de la famille des *Pasteurellaceae* sont des commensaux ou des parasites des muqueuses respiratoires, digestives ou génitales des mammifères et des oiseaux. Plusieurs espèces sont pathogènes pour l'homme, les autres mammifères, les oiseaux et les reptiles. *Pasteurella skyensis* est la seule espèce pathogène pour les poissons.

2.4. Sensibilité aux antibiotiques

Les représentants de la famille des *Pasteurellaceae* sont généralement sensibles à la pénicilline G et aux autres bêta-lactamines, aux antibiotiques actifs sur la biosynthèse des protéines (tétracyclines, aminosides, aminocyclitols, phénicolés, macrolides, lincosamides...), aux sulfamides, au triméthoprim et à la colistine.

2.5. Pasteurella

Le genre *Pasteurella* comprend des espèces responsables de maladies animales et occasionnellement humaines. Ces bactéries ont un passé historique passionnant, une taxonomie changeante et une pathogénie complexe.

2.5.1. Historique

Dès 1879, Toussaint puis Pasteur réussissent la culture du "bacille du choléra des poules" et démontrent ainsi l'origine microbienne de la maladie. Poursuivant ce travail, Pasteur se rend compte des effets protecteurs d'une culture vieillie de la bactérie et perçoit ainsi le concept de vaccin vivant atténué.

2.5.2 Taxonomie

Le genre *Pasteurella sensu stricto* doit être limité surtout à *Pasteurella multocida*, à *Pasteurella dagmatis*, à *Pasteurella canis*, à *Pasteurella stomatis*.

2.5.3. Pasteurella multocida (septica), Pasteurella canis, Pasteurella dagmatis et Pasteurella stomatis

2.5.3.1. Habitat

Les *Pasteurella* sont des hôtes obligatoires des animaux, des vertébrés surtout, chez qui ils se comportent comme des commensaux de la cavité buccale et qu'on isole de la salive. Elles peuvent survivre quelque temps dans le milieu extérieur mais ne s'y développent pas.

En effet, ces bactéries peuvent exister à l'état saprophytes, mais elles peuvent être responsables de pasteurelloses chez l'homme et l'animal (oiseaux et mammifères).

2.5.3.2. Caractères bactériologiques

Pasteurella multocida, *Pasteurella canis*, *Pasteurella dagmatis*, *Pasteurella stomatis*, et *Pasteurella hemolytica* présentent les caractères généraux du genre *Pasteurella* : Petits bacilles ou cocco-bacilles à Gram négatif, se présentant de manière isolée ou groupés par deux ou, plus rarement, en courtes chaînes, non sporulés, pouvant être capsulé (*Pasteurella multocida*), immobiles, non acido-résistants, chimio-organotrophes, aéro-anaérobies ou microaérophiles, oxydase positive, catalase généralement positive, fermentant le glucose.

Pasteurella sp. cultive mal sur milieux ordinaires, et préfère les milieux enrichis. La croissance est obtenue à 37°C, elle ne nécessite pas la présence de facteur X mais la présence de facteur V est requise pour quelques espèces. Sur gélose chocolat, les colonies obtenues après 48 heures d'incubation sont rondes, lisses, grisâtres ou jaunâtres et leur diamètre est proche de 2 mm. Les colonies de certaines espèces peuvent avoir un aspect rugueux et un diamètre n'excédant pas 1 mm. Sur gélose au sang de mouton, les colonies ne sont pas bêta-hémolytiques.

En gélose profonde, les colonies apparaissent sur toute la hauteur du tube, sauf au voisinage immédiat de la surface (microaérophilie).

2.5.3.3. Caractères antigéniques

On décrit néanmoins :

- Il existe des polysaccharides capsulaires antigéniques, masquant l'antigène O.
- Le LPS constituant de la membrane externe se comporte comme une endotoxine comme chez tous les bacilles à Gram négatif.
- Des protéines de paroi semblent avoir un rôle immunologique important en se liant aux haptènes polyosidiques du LPS.

2.5.3.4. Pouvoir pathogène

Les pasteurelloses animales atteignent les oiseaux et les mammifères. Trois aspects cliniques peuvent être décrits :

- les formes suraiguës : après une incubation de 24 heures apparaît un tableau d'intoxication rapidement mortel ; à l'autopsie on retrouve de nombreuses hémorragies viscérales.
- Les formes aiguës : leurs évolution s'étale sur 4 à 6 jours, s'accompagnant de foyers pulmonaires. Les signes généraux (fièvre) sont toujours marqués. A cette forme doit être rattaché le classique « choléra de poule ».
- Les formes chroniques revêtent l'aspect de pleurésies purulentes ou d'arthrites suppurées.

Parfois la pasteurellose animale peut se présenter sous des aspects particuliers : coryza du lapin, œdème de la gorge du bovin, œdème des barbillons de la poule...

- Isolées des muqueuses orales et nasales des carnivores domestiques, du lapin, des ruminants et du cheval... Ces animaux sont fréquemment des porteurs sains de *Pasteurella*.
- Chez les carnivores domestiques, ces bactéries peuvent être isolées d'infections respiratoires, d'infections urogénitales, d'abcès, de plaies, d'otites externes, d'infections cutanées, de septicémies, d'infections musculo-squelettiques, d'infections du système nerveux central...
- *Pasteurella dagmatis* peut être isolée des muqueuses nasales et orales des rongeurs de laboratoire, notamment du rat et il n'est pas exclu que la contamination puisse avoir pour origine des animaliers ou des chercheurs possédant des carnivores domestiques.

2.5.3.5. Diagnostic bactériologique

Les prélèvements soumis au laboratoire peuvent être très variés. L'isolement est réalisé sur une gélose au sang (généralement sur une gélose contenant 5 p. cent de sang de mouton) incubée à 37 °C dans une atmosphère normale ou dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone.

L'inoculation par voie intra-péritonéale à la souris et l'utilisation de milieux sélectifs sont préconisées pour la recherche des *Pasteurella sp.* dans la flore orale ou nasale des animaux. L'identification est orientée par les caractères morphologiques et culturels et par la mise en évidence d'une catalase et d'une oxydase.

2.5.3.6. Sensibilité aux antibiotiques

La recherche de la sensibilité aux antibiotiques peut être effectuée sur une gélose de Mueller-Hinton au sang ou sur milieu HTM (*Haemophilus Test Medium*) qui permet une meilleure croissance bactérienne. Ces souches sont généralement sensibles à de nombreux antibiotiques. La sensibilité est moindre vis-à-vis des macrolides (érythromycine..), des aminosides. Les lincoasamides et certaines céphalosporines de première génération sont généralement inactives.

2.6. Actinobacillus

2.6.1. Systématique

Dans les Approved Lists of Bacterial Names, le genre *Actinobacillus* rassemble cinq espèces : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Actinobacillus capsulatus*, *Actinobacillus equuli*, *Actinobacillus lignieresii* (espèce type du genre) et *Actinobacillus suis*.

Au sein de la famille des *Pasteurellaceae*, la liste des espèces appartenant aux différents genres n'est pas fixée de manière absolue et elle peut varier selon les auteurs.

2.6.2. Caractères bactériologiques

Les espèces du genre *Actinobacillus sensu stricto* présentent les caractères suivants : Bactéries à Gram négatif, se colorant souvent de manière hétérogène, immobiles, non sporulées, souvent capsulées, aéro-anaérobies facultatives, chimio-organotrophes, à métabolisme respiratoire et/ou fermentatif, fermentant le glucose sans production de gaz. Des formes ovoïdes ou sphériques sont également présentes et l'aspect des cultures à l'examen microscopique évoque l'alphabet Morse.

Une réponse positive est notée pour les tests réduction des nitrates (sans gaz).

Une réponse négative est obtenue avec de nombreux tests (les tests ADH, LDC, phénylalanine désaminase, indole, VP, rouge de méthyle et culture sur le milieu au citrate de Simmons).

Un caractère variable selon les espèces ou selon les souches est observé pour les tests catalase, oxydase, hydrolyse de l'esculine, la production d'une hémolyse bêta, la croissance sur milieu de MacConkey et l'exigence en NAD (facteur V).

La température optimale de croissance est de 37 °C. Aucune culture n'est obtenue à 4, 10 ou 45 °C, mais quelques souches de *Actinobacillus suis* cultivent à 15 °C. À l'isolement, les colonies ont tendance à adhérer à la gélose, mais ce caractère peut être perdu lors des repiquages. En bouillon, et notamment dans les bouillons glucosés, les souches les plus adhérentes donnent des cultures visqueuses. À l'exception des cultures de *Actinobacillus suis* qui produisent un pigment jaune crème (observé après centrifugation d'un bouillon et mise en suspension du culot dans de l'eau physiologique), les cultures des *Actinobacillus* sont non pigmentées.

2.6.3. Habitat et pouvoir pathogène

Tous les *Actinobacillus* sont des germes parasites ou commensaux dont la survie dans le milieu extérieur est limitée à quelques jours (par exemple, cinq jours dans la paille pour *Actinobacillus lignieresii*). Les *Actinobacillus* peuvent être isolés de l'homme et d'autres mammifères [notamment ruminants, chevaux, porcs (cette bactérie est responsable d'infections localisées : pneumonies, entérites, endocardites, arthrites, abcès sous-cutanés, mammites ou de septicémies, d'avortements et mortinatalités), rongeurs et lagomorphes] et en cas d'arthrites, de conjonctivites chez le lapin. L'*Actinobacillus lignieresii* est l'agent de l'actinobacillose des bovidés ou « langue de bois ».

2.6.4. Facteurs de pathogénicité

Comme pour de nombreuses bactéries à Gram négatif, le LPS pourrait jouer un rôle dans la pathogénie. La production de toxines RTX (repeats in the structural toxin) car elles présentent des séquences répétées, riches en glycine et constituées de 9 acides aminés et elles agissent en s'insérant dans les membranes et en formant des pores dont la taille est estimée à 2 nm (responsables d'un pouvoir hémolytique). Les toxines ApxI et ApxIII sont essentielles pour induire des signes cliniques et l'apparition de lésions typiques alors que le rôle de la toxine ApxII est moins important.

D'une manière générale, les bactéries à Gram négatif acquièrent le fer indispensable à leur croissance par la synthèse de sidérophores.

2.6.5. Diagnostic

L'isolement se réalise le plus souvent sur des géloses au sang (par exemple gélose trypticase soja au sang de mouton) ou, pour les espèces exigeant du NAD, sur des géloses chocolat ou des géloses enrichies en NAD. L'incubation dans une atmosphère contenant 5 à 10 p. cent de dioxyde de carbone favorise le développement de certaines espèces (*Actinobacillus capsulatus*, *Actinobacillus equuli*, *Actinobacillus succinogenes*) et n'est jamais défavorable à la croissance des autres espèces. L'isolement au sein d'une flore complexe (prélèvement effectué sur les amygdales, dans la bouche, dans les cavités nasales, dans le rumen...) est délicat car la croissance des souches des *Actinobacillus* peut être masquée par le développement d'autres bactéries.

L'identification repose sur les caractères morphologiques, sur l'absence de mobilité, sur la réduction des nitrates, sur la présence d'une uréase, sur l'absence de pouvoir indologène et sur l'absence de production de gaz lors de l'acidification du glucose. Les résultats obtenus à l'aide de galeries prêtes à l'emploi devraient être contrôlés par les méthodes standardisées.

À l'exception de *Actinobacillus equuli* subsp. *equuli*, isolé chez le cheval et chez le porc, les autres espèces du genre *Actinobacillus* sont spécifiquement associées à une espèce animale. Il convient de remarquer que le diagnostic précis d'une espèce est souvent délicat et que des confusions sont possibles non seulement avec d'autres *Actinobacillus* mais aussi avec d'autres représentants de la famille des *Pasteurellaceae*.

Des tests de PCR spécifiques, amplifiant les gènes codant pour les toxines RTX, ont été mis au point pour *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus suis*, *Actinobacillus equuli* subsp. *equuli* et *Actinobacillus equuli* subsp. *haemolyticus*.

2.6.6. Sensibilité aux antibiotiques

Le choix d'un antibiotique efficace doit être basé sur les résultats de l'antibiogramme car des résistances acquises ont été notées vis-à-vis de nombreux antibiotiques.

D'une manière générale : Les antibiotiques les plus actifs sont les céphalosporines (à l'exception de la céphalexine), le florphénicol et les fluoroquinolones suivies par le thiamphénicol, le chloramphénicol, la colistine, la rifampicine et la fosfomycine. Les pénicillines, les aminosides, les tétracyclines et la doxycycline sont les représentants les plus actifs. L'acide nalidixique, le métronidazole, les sulfamides et l'association sulfamide-triméthoprime ont une activité irrégulière. Les macrolides (à l'exception de la tilmicosine), la dapsons et la tiamuline sont pratiquement toujours inactifs.

2.7. Haemophilus

Les *Haemophilus* sont des coccobacilles à Gram négatif, apparaissant souvent polymorphes dans les produits pathologiques, immobiles, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, exigeant pour se multiplier des facteurs de croissance présents dans le sang :

- Le facteur V est thermolabile, est constitué par :
 - soit du NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) ou DPN (diphosphonucléotide) ou coenzyme I,
 - soit du NADP (NAD-phosphate) ou TPN (triphosphonucléotide) ou coenzyme II,

Ce sont des coenzymes des deshydrogénases qui sont présentes dans les globules rouges, dans les tissus animaux et végétaux et chez la plupart des bactéries.

- Le facteur X est thermostable, est constitué par l'hémine (ou hématine) qui est un composé tétrapyrrolique contenant du fer, dérivé de l'hémoglobine et des enzymes de la chaîne respiratoire (cytochrome, catalase, peroxydase). En présence de fer, l'hémine peut être remplacée par la protoporphyrine.

Le classement des différentes espèces d'*Haemophilus* repose sur les exigences en facteurs de croissance et sur des caractères biochimiques (tableau 3-6).

Tableau 4-6 : Le classement de quelques espèces d'*Haemophilus*.

Espèces	Besoin en facteur X	Besoin en facteur V	Hémolyse	Glucose	Nitrite	Indole
<i>H. influenzae</i> (homme)	+	+	V	V	+	(+)
<i>H. haemolyticus</i> (homme)	+	+	+	V	+	V
<i>H. suis</i>	+	+	-	-	+	-
<i>H. canis</i>	+	-	-	+	+	+
<i>H. ovis</i>	+	-	V	+	+	-
<i>H. aphrophilus</i> (chien et homme)	+	-	-	+	-	-
<i>H. parainfluenza</i> (homme)	-	+	-	V	+	V

+ ou - : caractère positif ou négatif chez toutes les souches, (+) ou (-) : caractère positif ou négatif chez la majorité des souches, V : caractère variable

2.7.1. Habitat

Les *Haemophilus* font partie de la flore des muqueuses de l'homme et de nombreux mammifères et oiseaux. On n'en trouve pas dans la nature. *Haemophilus felis* a été isolée du naso-pharynx des chats sains et il semble donc que cette bactérie soit un agent pathogène opportuniste. *Haemophilus haemoglobinophilus* semble faire partie de la flore normale des voies génitales du chien et notamment des mâles.

2.7.2. Pouvoir pathogène

Des souches de *Haemophilus felis* ont été isolées de l'appareil respiratoire des chats présentant des râles respiratoires et des anomalies pulmonaires, bronchiques et des troubles oculaires. A de rares occasions, cette bactérie a été impliquée dans des cas de vaginite, de cystite et de mortalité chez les jeunes chiots.

2.7.3. Caractères bactériologiques

Haemophilus est un bacille à Gram négatif, immobile, non sporulé, aéro-anaérobie, exigeant en NAD et/ou en hémine (facteur X).

Les milieux convenant pour l'isolement des *Haemophilus* doivent contenir, selon les espèces, soit le facteur X, soit le facteur V soit encore les deux facteurs. La base des milieux est donc constituée d'un bouillon ou d'une gélose ordinaire enrichie par les facteurs de croissance (la gélose au sang cuit est aussi appelée gélose chocolat ("chocolate agar ") à cause de la couleur que lui donne le sang dénaturé).

Certaines bactéries (comme *Staphylococcus aureus*) produisent une grande quantité de NAD : la culture des *Haemophilus* exigeant les facteurs X et V est possible sur gélose au sang frais (qui fournit le facteur X) le long d'une strie de culture de *Staphylococcus aureus* (qui fournit le facteur V) : c'est le phénomène du satellitisme.

On peut utiliser, pour l'isolement, des milieux sélectifs contenant des antibiotiques (bacitracine, vancomycine).

2.7.4. Diagnostic bactériologique

Il est basé sur l'étude des caractères bactériologiques cités précédemment. Aussi, les méthodes traditionnelles seront avantageusement remplacées par l'utilisation d'une galerie API NH.

2.7.5. Sensibilité aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques par la méthode des disques nécessite le recours à un milieu particulier.

À l'exception d'une souche, *Haemophilus felis* est sensible au céfuroxime par contre, plusieurs souches résistent à l'ampicilline et à l'association ampicilline-acide clavulanique.

2.8. Avibacterium

2.8.1. Caractères bactériologiques

Les souches du genre *Avibacterium* sont constituées de bactéries à Gram négatif, bacillaires ou polymorphes, se présentant de manière isolée ou groupées par deux ou en courtes chaînes, immobiles, non sporulées, aéro-anaérobies ou micro-aérophiles, oxydase positive, réduisant les nitrates en nitrites, acidifiant le glucose sans production de gaz.

2.8.2. Habitat et pouvoir pathogène

Avibacterium sont considérés comme des micro-organismes faisant partie de la flore normale des poulets. L'espèce la plus importante en médecine vétérinaire est *Avibacterium paragallinarum* qui est l'agent du coryza infectieux aviaire, également connu sous le nom maintenant impropre de hémophilose aviaire. Cette maladie a une répartition mondiale, notamment dans les pays où l'élevage est intensif. Les poulets porteurs sains et infectés chroniques sont les réservoirs de germes.

Cliniquement, les animaux réceptifs développent des signes cliniques évoluant sur une période de 2 à 3 semaines. Le coryza aviaire se traduit principalement par une inflammation des voies respiratoires supérieures, un jetage séreux ou muqueux, une conjonctivite, un œdème de la face et un œdème des barbillons (surtout chez les mâles). L'inflammation peut s'étendre aux voies respiratoires inférieures et provoquer l'apparition de râles. Les oiseaux peuvent présenter de la diarrhée et on note régulièrement une inappétence et une diminution de la prise de boisson. Il en résulte une diminution de l'indice de croissance et une chute de ponte.

2.8.3. Les facteurs de pathogénicité

La capsule semble également jouer un rôle dans la colonisation et elle s'oppose à l'activité bactéricide du sérum. La synthèse de bactériocines, codées par un plasmide mais aussi par le chromosome, actives sur *Avibacterium avium*, *Avibacterium volantium* et "*Avibacterium species A*", participerait à la colonisation en inhibant la croissance d'autres souches bactériennes. *Avibacterium paragallinarum* produit des protéines qui lui permettent d'acquérir du fer aux dépens de la transferrine. Comme pour de nombreuses autres espèces bactériennes, ce processus d'acquisition du fer constitue un facteur de virulence. Une protéine sécrétée, pourrait être une toxine RTX et avoir une activité cytotoxique.

2.8.4. Diagnostic

L'incubation est réalisée à 34-38 °C dans une atmosphère enrichie en dioxyde de carbone qui s'avère indispensable pour la croissance de certaines souches. L'identification est difficile et repose sur les caractères cultureux et sur les caractères biochimiques.

Pour la recherche de *Avibacterium paragallinarum*, le jetage constitue un mauvais prélèvement et on lui préférera un écouvillonnage de l'exsudat présent dans les sinus après ouverture stérile. Les prélèvements doivent êtreensemencés le plus rapidement possible car la culture est négative sur des prélèvements conservés 3 jours à 4 ou à -20 °C.

Une technique simple d'identification des souches NAD-dépendantes repose sur l'exigence en facteur V (croissance satellite autour d'une strie de staphylocoques), l'absence de catalase et l'inoculation expérimentale de la culture dans les sinus de poulets sains (apparition d'un coryza en 24 à 48 heures).

Pour pallier la difficulté du diagnostic bactériologique classique, un test de PCR est mis au point.

Plusieurs tests sérologiques ont été décrits, mais seuls des tests d'inhibition de l'hémagglutination sont couramment utilisés.

2.8.5. Traitement et prophylaxie des infections à *Avibacterium paragallinarum*

Plusieurs antibiotiques sont actifs sur *Avibacterium paragallinarum*. Le traitement fait généralement appel à l'érythromycine ou à l'oxytétracycline. Toutefois, des rechutes sont observées à la fin du traitement et les antibiotiques n'éradiquent pas le portage.

Outre les mesures de prophylaxie sanitaire, notamment le respect des règles d'hygiène, la prophylaxie repose sur la vaccination. Des vaccins, inactivés sont commercialisés. La protection obtenue après vaccination est spécifique. De ce fait, l'utilisation d'auto-vaccins peut être une alternative à l'emploi des vaccins commercialisés.

2.9. Histophilus

Chronologiquement, le genre *Histophilus* est le huitième genre inclus dans la famille des *Pasteurellaceae*.

2.9.1. Caractères bactériologiques

Il rassemble des bacilles ou des coccobacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, aéro-anaérobies, oxydase généralement positive (la réaction peut être faiblement positive), catalase négative (quelques rares souches seraient toutefois catalase positive), réduisant les nitrates, mésophiles, capnophiles, n'exigeant ni facteur X ni facteur V, fermentant le glucose sans production de gaz, produisant une phosphatase alcaline et donnant une réponse négative aux tests citrate de Simmons, uréase, VP, ADH et ODC.

2.9.2. Habitat et pouvoir pathogène

Histophilus somni semble avoir une répartition géographique vaste et c'est un parasite des muqueuses des ruminants. Il est présent dans la flore des voies respiratoires supérieures et surtout dans la flore des voies génitales et urinaires.

2.9.3. Facteurs de pathogénicité

Il semble exister une différence dans le pouvoir pathogène des différentes souches et plusieurs mécanismes susceptibles d'expliquer la virulence ont été mis en évidence : La résistance au pouvoir bactéricide du sérum est liée à une protéine de surface ainsi qu'à la présence de récepteurs de hauts poids moléculaires pour le fragment Fc des immunoglobulines. Les récepteurs pour le fragment Fc sont constitués de récepteurs de surface et de récepteurs portés par des fibrilles. Le lipo-oligosaccharide est doué d'une activité endotoxinique. Des variations antigéniques du lipo-oligosaccharide constituent un mécanisme d'échappement à la réponse immunitaire. *In vitro*, *Histophilus somni* adhère aux cellules endothéliales et la production de cytotoxines conduit à une activation des mécanismes de coagulation et à la formation de thrombus.

2.9.4. Diagnostic bactériologique

Le diagnostic par isolement et identification du germe manque de sensibilité. Actuellement, le diagnostic fait principalement appel à la PCR. La sérologie (tests d'agglutination, fixation du complément ou tests immuno-enzymatiques) n'est plus guère utilisée. De nombreux animaux pouvant être infectés de manière inapparente, seule une séroconversion est susceptible d'apporter une aide au diagnostic.

2.9.5. Traitement et prophylaxie

Histophilus est sensible à de nombreux antibiotiques : bêta-lactamines, colistine, aminosides...

Outre les mesures de prophylaxie sanitaire, des vaccins inactivés et adjuvés sont disponibles. L'administration d'antibiotiques (tétracyclines) dans l'aliment permettrait de réduire la mortalité dans les ateliers d'engraissement.

3. Taylorella

Actuellement, le genre *Taylorella* est placé dans la famille des *Alcaligenaceae* (ordre des *Burholderiales*, classe des *Betaproteobacteria*, phylum des "*Proteobacteria*", domaine ou empire des "*Eubacteria*" ou des "*Bacteria*").

3.1. Taylorella equigenitalis

3.1.1. Caractères bactériologiques

Taylorella equigenitalis se présente sous la forme d'un bacille ou d'un coccobacille à Gram négatif, immobile, non sporulé, possédant à l'isolement une fine capsule visible au microscope électronique et présentant, *in vivo*, des pili qui pourraient être des facteurs d'attachement aux cellules épithéliales.

Taylorella equigenitalis est micro-aérophile, sa culture nécessite 5 à 10 p. cent de CO₂, une température comprise entre 30 et 42 °C et une humidité relative. La croissance n'est pas obtenue sur les milieux ordinaires, elle est extrêmement faible sur gélose au sang et elle n'est pas stimulée par la présence du facteur X et/ou V. Les conditions optimales de culture sont représentées par l'utilisation d'une gélose chocolat incubée à 37 °C dans une atmosphère contenant au moins 70 p. cent d'humidité et 7 p. cent de CO₂. Les colonies ne sont pas visibles à l'œil nu avant 48 ou 72 heures.

Taylorella equigenitalis possède une catalase, une cytochrome oxydase, une phosphatase alcaline et une phosphatase acide mais les autres caractères biochimiques, étudiés selon les techniques classiques, sont fréquemment négatifs (uréase, gélatinase, lipase, production d'H₂S, production d'indole, réduction des nitrates, acidification des sucres...).

3.1.2. Habitat et pouvoir pathogène

Taylorella equigenitalis est l'agent de la métrite contagieuse des équidés (c'est une infection sexuellement transmissible ou transmise à la faveur d'explorations gynécologiques effectuées dans des conditions d'hygiène insuffisantes ou par l'intermédiaire du matériel de contention utilisé lors des saillies). Le germe a été mis en évidence chez des bovins par une technique de PCR mais, seuls les équidés semblent susceptibles d'exprimer des signes cliniques. L'infection existe chez les deux sexes mais le mâle est un simple porteur de germes et seule la jument exprime des signes cliniques (une endométrite lors de la forme aiguë). L'infection reste localisée aux muqueuses génitales, elle ne provoque pas de mortalité, elle n'altère pas l'état général des animaux mais elle a des répercussions économiques importantes car elle provoque une baisse ultérieure de la fécondité.

3.1.3. Diagnostic

L'identification repose sur la bactérioscopie, sur les exigences culturales (absence de pousse sur gélose au sang incubée 24 heures en atmosphère ordinaire), sur l'exigence en CO₂ (en testant en parallèle une souche de référence) et sur les caractères biochimiques de base (oxydase, catalase et phosphatases positives). L'identité de la souche est ensuite vérifiée par agglutination rapide sur lame avec un antisérum spécifique après avoir exclu la possibilité d'une auto-agglutination.

3.1.4. Sensibilité aux antibiotiques

Les souches de *Taylorella equigenitalis* sont résistantes à la clindamycine, à la lincomycine et au métronidazole, elles présentent une sensibilité variable à la colistine, à la streptomycine, au sulfaméthoxazole ou au triméthoprime mais, elles sont sensibles à de nombreux autres antibiotiques : pénicilline, ampicilline, céfalotine, gentamicine, kanamycine, néomycine, chloramphénicol, tétracycline, érythromycine, acide nalidixique, bacitracine... En pratique, pour éviter un traitement mal conduit, celui-ci est étroitement réglementé et ses modalités ainsi que son contrôle sont variables selon les animaux (étalon ou jument).

3.1.5. Prophylaxie

Il n'existe pas de vaccin apte à prévenir l'infection et la prophylaxie repose exclusivement sur des mesures sanitaires (dépistage obligatoire des étalons livrés à la monte publique, mise en place d'un contrôle sanitaire...).

4. Vibrionaceae

La famille des Vibrionaceae regroupe les genres *Vibrio*, *Aeromonas* et *Plesiomonas*. Elle réunit des bacilles Gram négatif, mobiles à ciliature polaire ou immobiles, se développant sur milieu nutritif ordinaire, réduisant les nitrates en nitrites, présentant une réaction à l'oxydase positive, fermentant les glucides.

Ces bactéries peuvent être confondues avec les entérobactéries et les pseudomonas.

Tableau 4-6 : Eléments de différenciation entre les Vibrionaceae et les autres familles apparentées.

	AEROMONAS	PLESIOMONAS	ENTEROBACTERIES	VIBRIO	PSEUDOMONAS
MOBILITE	+	+	V	+	+
CILIATURE	Pm	Pl	Pr	Pm	Pm
CROISSANCE 37° C	+	+	+	+	+
OXYDASE	+	+	-	+	+ (-)
NITRITES +	+	+	+	+	-
HALOPHILIE	-	-	-	+	-

Pm = polaire monotriche, Pl = polaire lophotriche, Pr = péritriche

4.1. Aeromonas

Le genre *Aeromonas* est d'une importance majeure en médecine vétérinaire.

4.1.1. Habitat

Les *Aeromonas sp.* sont souvent présents dans l'eau stagnante, eau douce, eau de mer recevant un apport d'eau douce, eau d'égout. Et il est possible que les moustiques acquièrent les souches de *Aeromonas* au contact de l'eau.

Le sol, les aliments contaminés : huitres, moules, coquillages, viandes (boeuf, porc, poulet), légumes constituent également des réservoirs d'*Aeromonas*.

4.1.2. Pouvoir pathogène

Surtout chez les amphibiens, reptiles et poissons. La contamination des eaux potables et des eaux d'abreuvement des animaux pourrait expliquer l'infection de mammifères domestiques non inféodés au milieu aquatique ainsi que le portage intestinal mis en évidence chez l'homme, les bovins, les ovins, les porcs, les chevaux, les chiens et les chats.

Aeromonas a été isolée de cas de pneumonies, de septicémies, d'avortements et de surinfections des plaies chez les chevaux, les bovins et les porcins ainsi que d'infections des vésicules séminales chez les bovins. Ce germe a été rendu responsable des cas de diarrhée observée chez les chevaux.

4.1.3. Facteurs de pathogénicité

- Production d'endotoxine, d'entérotoxines, d'hémolysines, de cytotoxines et de protéases.

- Capacité d'adhérer aux cellules.

4.1.4. Diagnostic biologique

Aeromonas est surtout retrouvé dans les pus de surinfection de plaies, les hémocultures et les selles mais peut être éventuellement recherché dans d'autres produits pathologiques.

L'examen microscopique montre à l'état frais des bacilles mobiles, après coloration des bacilles Gram négatif courts, trapus et isolés, sans capsule ni spore.

La culture est facile : les souches rencontrées en clinique se développent sur les milieux d'isolement habituels, à 30°C comme à 37°C. Sur gélose nutritive, les colonies sont rondes, bombées, lisses, régulières, opaques, d'aspect similaire à celui des entérobactéries. Sur bouillon nutritif, la culture est abondante en 24 heures et le trouble est homogène.

Les colonies suspectes sont testées pour leur capacité à élaborer une oxydase (+ pour *Aeromonas*, - pour les entérobactéries).

L'étude des autres caractères biochimiques (esculine, gaz en glucose, VP, ...) permet ensuite d'identifier l'une des trois principales espèces d'*Aeromonas* (*A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*).

4.1.5. Traitement

La résistance à la pénicilline est de règle. Les souches sont cependant en général sensibles aux aminosides, au chloramphénicol, à la tétracycline et à l'acide nalidixique.

4.2. *Plesiomonas*

Le genre *Plesiomonas* à une unique espèce «*Plesiomonas shigelloides*». Cependant, *Plesiomonas shigelloides* se distingue du genre *Aeromonas* (actuellement placé dans la famille des *Aeromonadaceae*) et du genre *Vibrio* par sa ciliature lophotriche, par l'absence de synthèse d'exo-enzymes, par sa capacité à fermenter l'inositol et par la possession de l'antigène de Kunin (présent chez de nombreuses entérobactéries).

4.2.1. Habitat

P. shigelloides, l'unique espèce du genre, se rencontre dans les eaux douces, d'où on l'isole cependant moins souvent qu'*Aeromonas*. Elle est présente dans l'intestin de nombreux poissons, batraciens et autres animaux à sang froid ainsi que dans celui d'animaux sauvages et domestiques (singe, chien, chat, chèvre, bovin, porc, mouton, volailles, vautours. Bien que cette bactérie ne semble pas pouvoir survivre plus de 24 heures dans l'eau salée, on la rencontre chez les animaux marins (poissons, crustacés, coquillages et surtout huitres).

4.2.2. Pouvoir pathogène

Son pouvoir pathogène pour les poissons s'exprime peu fréquemment et nécessite des conditions particulières telles qu'un réchauffement de l'eau et la présence excessive de composés organiques. Chez l'homme et chez les mammifères domestiques, *Plesiomonas shigelloides* est isolée de l'intestin de sujets sains et lors de diarrhées.

4.2.3. Diagnostic biologique

L'examen microscopique direct montre des bacilles mobiles et, après coloration, des bacilles Gram négatif, rectilignes, aux extrémités arrondies, sans capsule ni spore.

La culture est facile à 30° C comme à 37°C sur les milieux nutritifs habituels.

Les colonies suspectes sont testées pour leur capacité à élaborer une oxydase et, en cas de positivité, les tests biochimiques sont poursuivis pour affirmer le diagnostic (bactérie fermentant le glucose sans gaz, possédant une arginine dihydrolase, une lysine décarboxylase et une ornithine décarboxylase, fermentant l'inositol, indole +...). Sérotypage : théoriquement possible (50 antigènes O et 17 antigènes H déterminent 107 sérovars).

4.2.4. Traitement

L'activité des aminosides est irrégulière.

Plesiomonas shigelloides est sensible au triméthoprime, aux céphalosporines, au chloramphénicol et aux quinolones. La plupart des souches produisent des bêta-lactamases et résistent aux pénicillines qui doivent être utilisées en association avec l'acide clavulanique ou le sulbactam. La résistance est également fréquente vis-à-vis des aminosides (à l'exception de la nétilmicine), de l'érythromycine et des tétracyclines. La résistance à la streptomycine est corrélée avec la présence de plasmides de 3,8 et/ou de 5,3 kb. Chez les poissons, un traitement de 10 jours à base de sulfamide et de triméthoprime permet de réduire la mortalité.

4.3. Vibrio

Le genre *Vibrio* rassemble des bacilles gram négatif, non sporulés, à la forme de bâtonnets droits et incurvés, très mobiles grâce à un ou plusieurs cils polaires. Les *Vibrio* possèdent une oxydase, ce qui les distingue des entérobactéries. Aéro-anaérobies, ils fermentent le glucose sans gaz, ce qui les différencie des *Pseudomonas*. Ce genre renferme environ 65 espèces

4.3.1. Habitat

Les *Vibrio* ont pour habitat les milieux aquatiques et notamment les eaux des estuaires et les eaux côtières. Ils sont capables de coloniser de nombreux organismes marins : poissons, mollusques, crustacés, éponges, coraux, organismes formant le zooplancton, algues ...

De nombreuses espèces sont saprophytes et retrouvées dans les eaux de surface ou dans l'eau de mer.

4.3.2. Pouvoir pathogène

Vibrio coralliilyticus et *Vibrio mediterranei* sont des espèces pathogènes pour les coraux. Plusieurs espèces du genre *Vibrio* sont pathogènes pour les poissons, les crustacés ou les mollusques : *Vibrio anguillarum*, *Vibrio crassostreae*, *Vibrio gigantis*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio ichthyoenteri*, *Vibrio pectenecida*, *Vibrio penaeicida*, *Vibrio salmonicida*, *Vibrio scophthalmi*, *Vibrio tapetis*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio wodanis*, ...

Trois espèces sont pathogènes pour l'homme : *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* et surtout *V. cholerae*. *Vibrio hepatarius* pourrait être un probiotique pour les crevettes.

4.3.3. Caractères bactériologiques

Microscopie : Bâtonnet en virgule, fin et très mobile, à Gram négatif.

Culture : Se fait sur milieux usuels, elle peut même s'effectuer sur milieux alcalins (pH 8,5 à 9,2) et hypersalés à 30 % de NaCl. Cette propriété est mise à profit pour la préparation de milieux sélectifs et d'enrichissement (repiquages successifs). Toutes les espèces cultivent à 20 °C, la plupart des espèces cultivent à 30 °C et plusieurs espèces cultivent à 4 ou à 37 °C.

Biochimie : *Vibrio* est aérobie-anaérobie facultatif, oxydase positive, nitrate positif et indole positif.

Structure antigénique : *Vibrio* possède un antigène de paroi de nature lipopolysaccharidique (endotoxine). L'antigène flagellaire H est commun à tous les vibrions (vibrions cholériques et vibrions non cholériques). *Vibrio cholerae* (dont certaines souches sont l'agent du choléra de l'homme) possède une entérotoxine majeure, appelée choléragène (CT), CT agit comme la toxine LT de *E. coli*. *V. cholerae* produit aussi une entérotoxine mineure.

La ou les *mucinases* produites par *V. cholerae* semblent digérer le revêtement de mucus intestinal et assurer le contact de la bactérie avec les cellules de la muqueuse.

4.3.4. Diagnostic microbiologique (Repose sur les caractères bactériologiques)

4.3.5. Traitement : La prophylaxie repose surtout sur l'hygiène générale (adduction d'eau potable, réseau d'égouts, etc...).