

# Actinomycétales : Corynébactéries

## HISTORIQUE

(Extrait de "Éléments de Bactériologie médicale", Robert FASQUELLE, chez FLAMMARION)

### AVANT LA BACTÉRIOLOGIE :

Sous le nom d'ulcère syriaque ou aegyptiaque, la maladie, non distinguée des autres angines d'ailleurs, était connue des médecins de l'ancienne Grèce. Au XVI<sup>e</sup> siècle, elle sévit de manière épidémique en Espagne et en Italie. Au XVIII<sup>e</sup> en France. En 1765, l'Écossais Francis HOME baptisa du nom de "croup" toutes les laryngites suffocantes.

C'est BRETONNEAU qui individualisa l'affection Ayant quitté l'École de Santé de Paris, pour avoir refusé d'accepter une injustice dans un examen, il s'était installé comme simple officier de santé dans son pays natal à Saint-Georges-sur-Cher, en 1801; au soir de ses tournées de médecin de campagne, il était l'hôte assidu de la châtelaine de Chenonceau, la belle Mme DUPIN DE FRANCUEIL, veuve du fermier général. Lorsqu'en 1815, la place de Médecin Chef de l'Hôpital de la Charité à Tours fut vacante, les mérites de BRETONNEAU le firent nommer par le Préfet, qui était d'ailleurs un des habitués du château de Chenonceau.

En 1818, une épidémie d'angines couenneuses sévissait en Touraine; elle semblait y avoir été apportée par les soldats du 31e, qui venaient de Bourbon en Vendée (aujourd'hui la Roche-sur-Yon), mais elle avait gagné la population civile et s'était étendue à la Sologne; ce fut l'occasion pour Bretonneau d'étudier à fond les signes cliniques de la maladie, de pratiquer les premières trachéotomies, et de définir, grâce aux autopsies, l'anatomie des lésions. On raconte même qu'à cet effet il n'hésitait pas, avec ses élèves VELPEAU et TROUSSEAU, à se rendre clandestinement au cimetière pour exhumer les cadavres des grenadiers du 31e et qu'une nuit un voisin inquiet de voir la lueur d'une lanterne sourde circuler au milieu des tombes, tira un coup de fusil de chasse, dont les plombs atteignirent TROUSSEAU au bas du dos.

BRETONNEAU put donner la description parfaite de la diphtérie (du grec διφθερα = membrane), dont il établit l'autonomie (la séparant des angines pultacées, scarlatineuses, cryptiques et ulcéro-nécrotiques), précisa l'extension au larynx (croup), décrivit les formes toxiques, albumineuses et paralytiques et la forme cutanée, et surtout établit la contagiosité.

TROUSSEAU, reprenant les études de son Maître, fit adopter le nom de diphtérie, mais ne réussit pas à s'inoculer volontairement la maladie par badigeonnage de la gorge avec un frottis de fausse membrane; nous reviendrons sur ce fait.

Avant que la bactériologie n'existe, on voit donc déjà l'étendue des connaissances que les recherches de Bretonneau et de Trousseau avaient apportées.

### LA PÉRIODE BACTÉRIOLOGIQUE

De 1874 à 1883, Klebs, au milieu des germes commensaux de la muqueuse pharyngée, identifia dans les fausses membranes et la gorge des diphtériques des bâtonnets droits, à extrémités arrondies : étaient-ils pathogènes ?

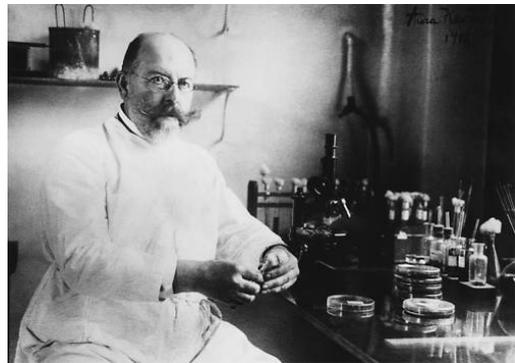
En 1884, LOEFFLER, assistant de Robert Koch, fit l'éloge des travaux de Bretonneau, et, grâce à la précision de ses techniques, réussit à retrouver le germe dans toutes les angines décrites par Bretonneau, non dans les autres, à le cultiver sur sérum de bœuf coagulé, à reproduire la fausse membrane, à condition qu'avant l'inoculation de la culture la muqueuse soit irritée, à préciser que le germe reste sur place, mais que cette pullulation locale s'accompagne d'accidents généraux toxiques; il ne pouvait comprendre toutefois pourquoi chez de très nombreux sujets sains, il retrouvait des bâtonnets analogues.

En 1887, HOFFMANN prouvait que ces derniers germes n'étaient pas des bacilles diphtériques, car ils étaient dépourvus de tout pouvoir pathogène; seule leur morphologie les rapprochait des bacilles diphtériques

Les travaux de l'École Pasteurienne (ROUX et YERSIN, 1888-1890) devaient confirmer ces notions, et, de plus, affirmer la présence constante des bacilles de KLEBS-LOEFFLER dans les fausses membranes des diphtériques et des convalescents, leur présence aléatoire chez des sujets sains (porteurs de germes), le pouvoir pathogène du bacille diphtérique pour le cobaye, et, en outre, l'innocuité du bacille D'HOFFMANN

Mais, surtout, ROUX et YERSIN montraient que le filtrat de la culture du germe permettait de produire les mêmes effets que la culture elle-même, c'est-à-dire, par friction d'une muqueuse, la fausse membrane et par injection, fièvre, troubles cardiaques, paralysies et mort de l'animal; ainsi était apportée la preuve de l'existence d'une toxine élaborée dans le milieu par le bacille diphtérique.

Dès lors les découvertes se succèdent à rythme accéléré FRAENKEL immunise l'animal par injection d'une culture chauffée BEHRING et KITASATO (1890) arrivent au même résultat par l'injection de petites doses de toxine, mais surtout montrent que l'état réfractaire va de pair avec l'apparition de propriétés sériques qui



s'opposent à l'effet de la toxine, autrement dit découvrent l'antitoxine; ROUX, NOCARD et MARTIN (1891) mettent au point la sérothérapie.

On sait qu'il fallut attendre 1923 pour que la vaccination par l'anatoxine fût réalisée par Gaston RAMON.



# 1. MORPHOLOGIE CLASSIFICATION HABITAT

|  |                                   |  |  |  |
|--|-----------------------------------|--|--|--|
| <b>phylum XIV :<br/>Actinobacteria</b> | Class III :<br>Actinobacteria     |  |  |  |
|  | sous-classe V<br>Actinobacteridae | Ordre I : Actinomycétales  |  |  |
|  |                                   | sous-ordre VI<br>Micrococceae  |  | famille I des Micrococceae (genre Micrococcus, Arthrobacter, Rothia, Stomatococcus...) |
|  |                                   |  |  | famille V des Brevibacteriaceae (genre Brevibacterium...)                              |
|  |                                   |  |  | famille IX des Dermatoceae (genre Dermacoccus, Kytococcus...)                          |
|  |                                   |  |  | famille XI des Jonesiaceae (genre Jonesia...)  |
|  |                                   | sous-ordre VI<br>Corynebacterineae                                     |  | famille I des Corynebacteriaceae (genre Corynebacterium)                               |
|  |                                   |  |  | famille IV des Mycobacteriaceae (genre Mycobacterium)                                  |
|  |                                   |  |  | famille V des Nocardiaceae (genres Nocardia, Rhodococcus)                              |
|  |                                   | sous-ordre XI<br>Streptomycineae                                       |  | famille puis genre Streptomyces etc  |
| Ordre II : Bifidobacteriales           |                                   | famille I des Bifidobacteriaceae (genres Bifidobacterium, Gardnerella) |  |  |

La taxonomie de ce groupe est particulièrement complexe en raison d'études limitées dans le passé et qui reprises aujourd'hui devraient apporter de nombreuses modifications.

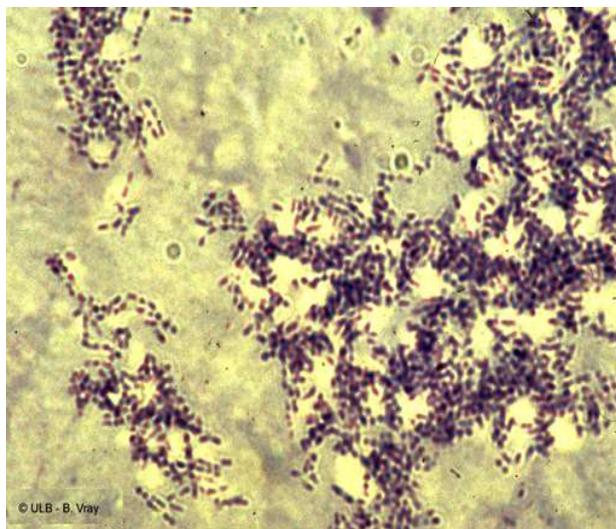
En général ce sont des **bactéries gram + en forme de massues ou d'haltères**. Le mode de division (longitudinal) conduit à des **palissades ou des lettres de l'alphabet**. Elles ne forment pas de pseudomycélium ou de mycélium (filaments branchés).

Elles sont immobiles, aéro-anaérobies (aérobies préférentiels, rarement aérobie strictes), catalase +.

Les colonies sont souvent bien particulières, très sèches, comme celles des Mycobactéries. Des acides gras particuliers, les acides mycoliques, sont en cause dans les deux cas.

Les Corynébactéries sont rencontrées dans la nature et comme parasites commensaux du rhino-pharynx.

Un genre domine la pathologie : **Corynebacterium diphtheriae** (bacille de Loeffler) cause de la diphtérie, maladie redoutable et redoutée. Les autres Corynébactéries sont des pathogènes opportunistes assez rares et souvent des contaminants des isolements. Pensons à *Rhodococcus*, *Brevibacterium*...



## 2. POUVOIR PATHOGÈNE : LA DIPHTÉRIE

La dernière grande épidémie en France fait état de 45 000 cas en 1945 (BEH 96/17). Depuis 1987, 75 isollements ont été réalisés (10 en 1995) mais aucune souche toxigène n'a été observée.

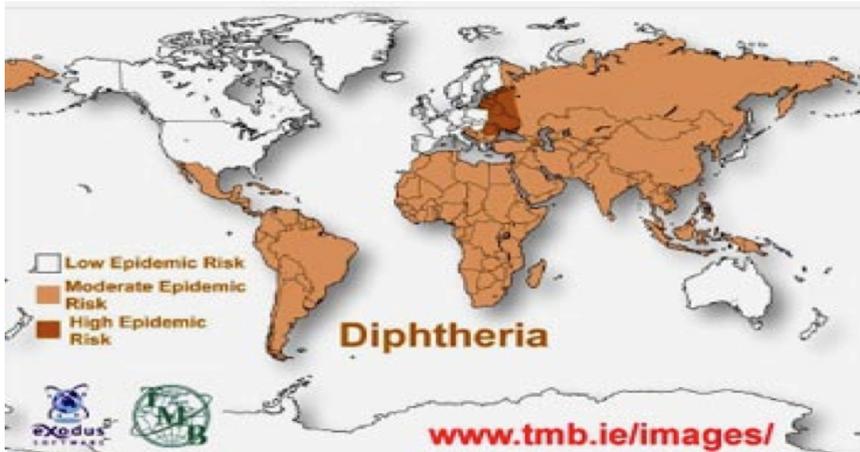
La diphtérie démarre par une **angine à fausses membranes**. L'extension de membranes peut provoquer une **asphyxie** en particulier en cas d'extension au larynx (**croup**).

D'autre part, des **paralysies et des hémorragies généralisées** apparaissent progressivement en raison de l'action de la **toxine** qui inhibe la synthèse des protéines

Voici une carte situant l'endémie (il manque la date...) :



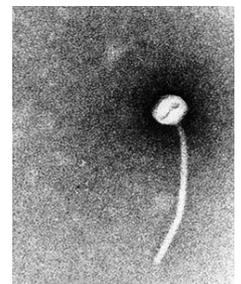
fausses membranes



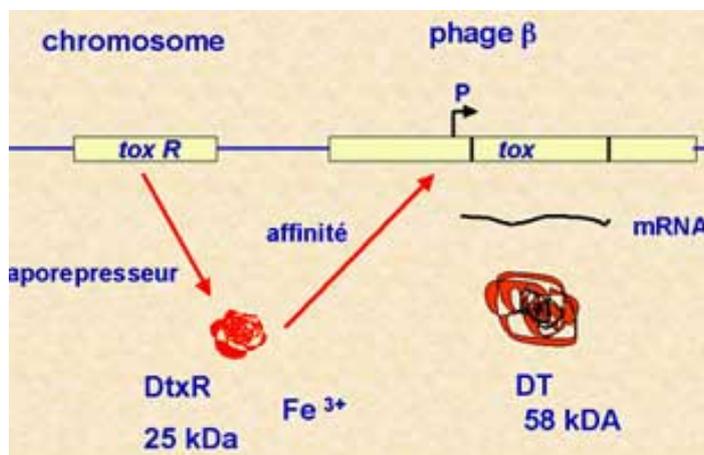
Toutefois seules les souches lysogènes pour un phage bêta sont capables de produire la toxine. Le phage apporte le gène *tox* nécessaire à la synthèse. Les souches non productrices peuvent donner les fausses membranes caractéristiques.

La toxine est composée de deux sous-unités A et B liées par ponts disulfure ( $M = 63 \text{ kg mol}^{-1}$ ). La première se fixe sur un récepteur membranaire, (heparine-binding EFG-like growth factor associé au CD-9 et à HSPG (*heparine sulfate protéoglycane*)). L'endocytose provoque des modifications des deux protéines. La partie A est libérée dans le cytoplasme et bloque, par son activité ADP ribosylase, une enzyme du ribosome qui provoque la translocation de la chaîne en cours de synthèse (facteur d'élongation EF 2). Le NAD intervient comme substrat de l'enzyme fournissant l'ADP.

La production de la toxine est maximale en concentrations faibles de fer (faible croissance bactérienne) qui interviendrait comme corépresseur du gène *tox* du phage lysogène (C en fer inférieure à  $100 \mu\text{g/L}$ ). Le produit du gène correspondrait au fragment B et serait peut être un élément de la capsid du phage.



phage  $\beta$



<http://www.microbes-edu.org/etudiant/corynebacterium.html>

Le mode de contamination est essentiellement interhumain par les gouttelettes de Flugge (postillons) des malades. Il existe des porteurs asymptomatiques.

### 3. DIAGNOSTIC, ISOLEMENT ET IDENTIFICATION

L'observation clinique du malade permet d'orienter le diagnostic et de demander les examens de laboratoire qui sont une URGENCE ABSOLUE.

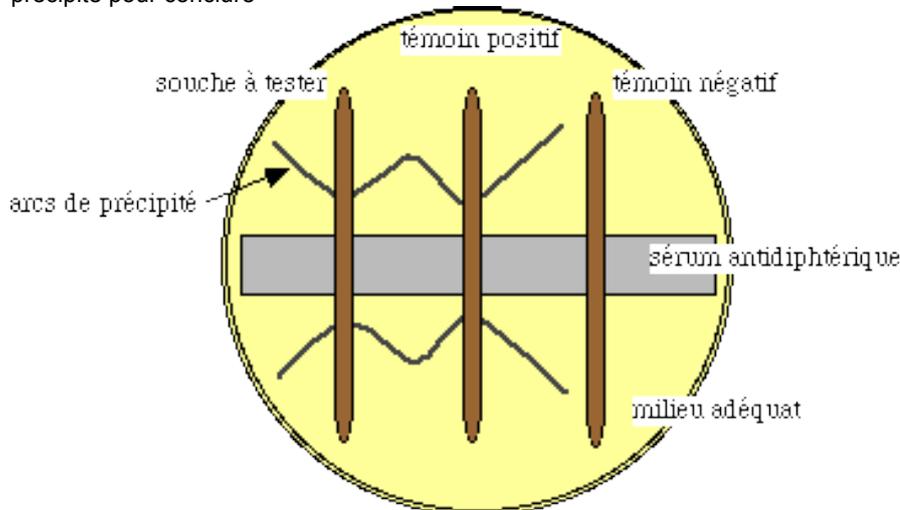
Après réalisation du Gram, l'isolement est réalisé sur :

- sur **sérum de boeuf coagulé** (SBC)
- sur **milieu de Loeffler** (Sérum de Boeuf coagulé, glucosé additionné de poudre d'oeuf), milieu peu sélectif. On doit observer des colonies en taches de bougies.
- **milieu de Tinsdale** (Peptones, NaCl, L-Cystine, Thiosulfate, Citrate de fer III, acide citrique, Agar, Sérum, Tellurite). Les colonies de *C. diphtheriae* sont noires en raison de la réduction du tellurite et présentant un halo noir en raison de la production d'H<sub>2</sub>S par lyse de la cystéine, et de nombreux contaminants sont inhibés.

Elles peuvent présenter divers aspects : *gravis*, *mitis*, *intermedius*.

Les colonies suspectes doivent être identifiées :

- **Gram avec décoloration poussée** : *C. diphtheriae* garde mal le Gram
- **la coloration d'Ernst-Neisser** (bleu acétique jusqu'à émission de vapeurs, différenciation à la vésuvine) permet la découverte de 2 à 3 corpuscules métachromatiques bleus (polymétaphosphates forme de réserve des phosphates) ou la coloration de DEL VECCHIO (Bleu de méthylène 1 min., lugol jusqu'à émission de vapeurs)
- étude de **caractères biochimiques** (par exemple à l'aide d'une galerie API Coryne)
- étude de la **production de toxine** :
  - soit par une **méthode immunologique le test d'Elek**, technique d'identification par immunodiffusion : sur un milieu adéquat est déposé une bandelette de papier imprégnée de sérum antidiphthérique. La souche à tester et deux souches témoins (+ et -) sont ensemencées en stries perpendiculaires au papier. Après 24 heures d'incubation on observe les arcs de précipité pour conclure



- soit par **amplification génique** avec des amorces DNA correspondant au DNA de la toxine. Cette technique est plus rapide et devrait se développer vite.

Les autres Corynébactéries sont rarement identifiées car causent peu d'infections. Il existe une galerie API Coryne pour réaliser l'identification phénotypique.

### 4. TRAITEMENT ET ANTIBIOGRAMME

Le traitement est une urgence en raison des effets de la toxine. Ils sont combattus par le **sérum antidiphthérique** (SÉROTHÉRAPIE) injecté au plus vite au malade. Ce sérum était fabriqué par la vaccination du cheval.

Les autres troubles font l'objet de soins intensifs en particulier la **trachéotomie** pour éviter l'étouffement lié à l'extension de l'angine (croup).

Les antibiotiques sont utiles surtout pour limiter la contamination de l'entourage.



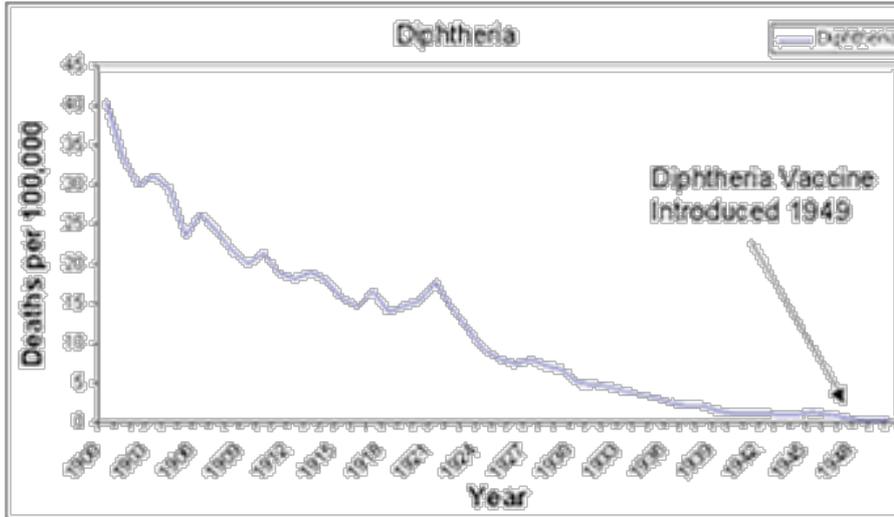
Exemple de trachéotomie

## 5. PROPHYLAXIE

La prophylaxie est très importante. Elle met en jeu l'**anatoxine** inventée par RAMON en 1923, anatoxine obtenue par traitement à la chaleur (40°C) et au méthanal durant 1 mois de la toxine.

Ce vaccin a permis une presque éradication de la diphtérie sans pour autant faire disparaître les souches toxigènes toujours présentes en France et en recrudescence en Europe de l'Est.

Un graphe montre les effets de la vaccination au cours du temps :



Affiche

## COMPLÉMENTS

### Sites

- <http://www.microbes-edu.org/etudiant/corynebacterium.html>

### SANTÉ : un cas de diphtérie a été signalé par l'hôpital de Bicêtre.

ARTICLE PARU DANS LE MONDE DU 01.11.2003

Un cas de diphtérie, confirmé bactériologiquement, a été signalé, mercredi 29 octobre 2003, à l'Institut de veille sanitaire par l'hôpital de Bicêtre (Val-de-Marne). Âgé de 47 ans, résidant en Ile-de-France, le malade, qui n'a pas récemment voyagé hors de France, suit un traitement immunosuppresseur. En dehors d'un « cas d'importation » en 2002, aucun cas n'avait été signalé en France depuis 1989. La direction générale de la santé rappelle à cette occasion « l'importance de la vaccination chez le nourrisson, et jusqu'à 18 ans, ainsi que chez les voyageurs se rendant en zone d'endémie ».