

DERMATOPHILOSE

RÉSUMÉ

La dermatophilose (ou streptothricose) est une dermatite exsudative qui affecte principalement les bovins, les moutons et les chevaux, mais également les chèvres, les chiens, les chats, les reptiles, et occasionnellement l'homme. Les formes graves de la maladie rencontrées chez les ruminants sont favorisées par les effets immunomodulateurs induits lors de l'infestation par la tique Amblyomma variegatum.

Le diagnostic de laboratoire est basé sur la démonstration de la bactérie Dermatophilus congolensis dans les prélèvements de peau ou d'organes. Il est rare que d'autres organes que la peau soient affectés.

Identification de l'agent pathogène : *Dermatophilus congolensis affecte l'épiderme, provoquant la formation de croûtes. La bactérie peut être mise en évidence dans les frottis de croûtes émulsifiées ou ramollies dans de l'eau, ou sur des calques sur lames de la base de croûtes fraîchement arrachées. L'organisme est Gram positif, mais sa morphologie est plus aisément appréciée dans les frottis colorés au Giemsa. Dans les frottis colorés, l'organisme apparaît sous forme de filaments ramifiés contenant de multiples rangées de cocci. Cette morphologie caractéristique a une valeur diagnostique. Dans des croûtes humides ou infectées secondairement, seules des cocci libres peuvent être présentes ce qui rend nécessaire la coloration par immunofluorescence. Dermatophilus congolensis peut être détecté dans les coupes histologiques par coloration au Giemsa ou par immunofluorescence. Dermatophilus cheloniae peut être trouvé chez les cobras, les crocodiles et les tortues.*

L'isolement de D. congolensis à partir de croûtes fraîchement prélevées est direct, mais l'organisme est facilement surinfecté par d'autres bactéries. Quand la culture est effectuée à partir de lésions contaminées, des techniques spéciales impliquant la filtration, le chimiotaxisme, ou des milieux sélectifs sont nécessaires.

La démonstration et l'identification de D. congolensis par immunofluorescence est une méthode de diagnostic fiable et très sensible, mais elle requiert de la part des laboratoires la préparation d'antisérums qui ne sont pas disponibles commercialement. Bien que des réactions croisées avec Nocardia spp. aient été rapportées, l'intensité de fluorescence reste faible. Idéalement, il faut utiliser un anticorps monoclonal spécifique de D. congolensis. Une réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) a été mise au point.

Épreuves sérologiques : *diverses épreuves sérologiques ont été utilisées dans des études d'épidémiologie et de pathogénie de la dermatophilose. Des anticorps peuvent être détectés chez la plupart des ruminants en bonne santé, toutefois des taux élevés associés à une infection clinique ont une valeur diagnostique.*

Spécifications applicables aux vaccins et aux produits biologiques à usage diagnostique : *en dépit de l'identification de plusieurs facteurs de virulence de l'agent pathogène, aucun vaccin n'est disponible pour le moment.*

A. INTRODUCTION

La dermatophilose (également connue sous le nom de streptothricose ou « lumpy wool disease » chez les moutons) est une dermatite exsudative qui affecte principalement les bovins, les moutons et les chevaux, mais également les chèvres, les chiens, les chats, de nombreux mammifères sauvages, les reptiles, et

occasionnellement l'homme. La dermatophilose est provoquée par la bactérie *Dermatophilus congolensis*, l'espèce-type du genre *Dermatophilus*, qui appartient à l'ordre des Actinomycétales. La dermatophilose est la maladie cutanée la plus commune chez les crocodiles en Australie où elle a un impact important sur l'élevage de cette espèce (2). Elle est causée par *Dermatophilus cheloniae* qui a été aussi isolé chez les cobras et les tortues.

Il existe de nombreuses variations dans l'expression clinique de la maladie et dans les parties du corps qui sont affectées. Typiquement, l'infection conduit à la formation de croûtes épaisses, mais dans certaines zones comme le périnée des ruminants et les paturons des chevaux, des lésions humides sur une peau plissée et épaissie peuvent survenir. Dans ces lésions les croûtes restent relativement fines. Lorsque les lésions sont exposées pendant de longues périodes à l'humidité, avec ou sans surinfection secondaire, des lésions exsudatives peuvent apparaître.

Les croûtes sont caractérisées par une alternance de couches de kératinocytes parakératosique envahies par des filaments bactériens et infiltrées par des neutrophiles et un exsudat séreux. Dans les coupes de tissus colorées, cela donne une apparence en « palissade ». Les filaments de *D. congolensis* restent confinés au niveau de l'épiderme et n'envahissent que rarement le derme.

Il n'est pas facile de reproduire expérimentalement la dermatophilose aiguë extensive. *Dermatophilus congolensis* n'est pas très pathogène et une combinaison de facteurs est nécessaire pour que se développent des lésions cliniques. La malnutrition, des pluies abondantes et des traumatismes mécaniques ont été impliqués comme facteurs favorisant la maladie. Cependant, dans les régions où la dermatophilose a un impact économique important (en Afrique occidentale et centrale ainsi que dans certaines îles des Caraïbes), le facteur de risque majeur est l'infestation par la tique *Amblyomma variegatum*. Une maladie grave pourrait être induite par les effets immunomodulateurs de la salive sécrétée lors de la morsure des tiques (1), mais les mécanismes sous-jacents ne sont pas élucidés. La sensibilité à la dermatophilose est aussi influencée par la génétique des races de ruminants, les animaux originaires des régions tempérées, spécialement ceux des races laitières, sont très sensibles quand ils sont introduits dans des régions à risque.

B. TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC

1. Identification de l'agent pathogène

a) Examen microscopique

Le diagnostic est usuellement posé par la démonstration de l'agent causal dans les croûtes ou dans les exsudats présents sous les lésions croûteuses. L'organisme a une morphologie caractéristique au microscope – il est septé, les ramifications filamenteuses se divisent transversalement et longitudinalement pour former des rubans constitués de plusieurs rangées de coques sphériques ou ovoïdes, d'un diamètre de 0,5 µm. Cet aspect a une valeur diagnostique si au moins 4 rangées transversales de coques sont observées dans les préparations colorées. Cependant, ces formations peuvent être détruites pendant la préparation de frottis si le matériel est étalé trop vigoureusement sur la lame.

Des calques peuvent être effectués à partir de la surface inférieure concave et humide des croûtes fraîchement prélevées. Des frottis épais peuvent être préparés à partir de croûtes émulsionnées dans de l'eau distillée stérile. Les croûtes peuvent éventuellement être trempées une nuit dans de l'eau distillée ou une solution saline stérile afin de les hydrater suffisamment pour que la surface inférieure puisse servir à effectuer des calques en appliquant fermement cette surface sur une lame de microscope. Les frottis sont alors séchés à l'air, fixé à la chaleur ou par immersion dans du méthanol pendant 5 min, et colorés. Les organismes sont facilement colorés par le carbol fushine ou le bleu de méthylène dilués, mais la coloration de Gram ou une solution au 1/10 de Giemsa pendant 30 min, sont préférables pour les identifier dans les frottis épais. Dans ce cas, *D. congolensis* à la coloration foncée contraste avec les kératinocytes et les neutrophiles contre-colorés en rose. La coloration de Gram ne donne pas de résultats aussi bons que le Giemsa car elle peut sur-colorer le fond et ne pas révéler correctement les formations en rubans de coques.

Les croûtes humides et surinfectées secondairement ne contiennent souvent que quelques rares filaments et les organismes peuvent ne pas se colorer positivement au Gram. Dans un tel matériel, les coques ne peuvent pas être différenciées des autres bactéries coccoïdes, et une coloration par immunofluorescence est nécessaire. Cependant, les sérums spécifiques pour immunofluorescence ne sont pas disponibles commercialement. Il faut utiliser des frottis fins, fixés à la chaleur. Dans les cas difficiles et quand l'infection d'organes autres que la peau est suspectée, l'examen histopathologique de biopsies ou de matériel d'autopsie coloré au Giemsa ou par immunofluorescence est conseillé.

L'aspect typique des lésions et la morphologie caractéristique de l'organisme dans les frottis de dermatophilose bovine rendent la culture inutile dans la majorité des cas. Cependant, dans les rares cas où

les frottis colorés au Giemsa ne donnent pas de résultat définitif, la confirmation peut être apportée par isolement en culture. La culture est effectuée sur gélose au sang incubée à 37 °C. La croissance est accélérée dans des conditions de micro-aérophilie. Des colonies rugueuses, généralement hémolytiques, de colorations jaunes grises, d'environ 1 mm de diamètre apparaissent après 24 h. L'incubation à l'air produit des colonies ponctuelles d'aspect similaire qui atteignent une taille de 1 mm après 48 h. Les colonies rugueuses sont formées par les filaments, mais la culture continue à l'air stimule la production de coques. Les colonies prennent alors un aspect lisse, de couleur jaunâtre le plus souvent. Les coques sont mobiles quand elles sont prélevées dans les cultures jeunes. Les colonies doivent être différenciées de *Nocardia* spp. et de *Streptomyces* spp. chez lesquels les filaments ne se fragmentent jamais en multiples rangs de coques mobiles.

b) Culture

Pour l'isolement, le matériel infectieux peut être étalé directement à partir de la surface inférieure humide de croûtes non contaminées fraîchement prélevées, ou de suspensions de croûtes. Cependant, *D. congolensis* ayant une croissance lente, la culture peut rapidement être envahie par d'autres contaminants bactériens. Il est alors nécessaire d'utiliser des techniques d'isolement spécifiques. En général, des coques libres, mobiles ou non, sont présentes dans les suspensions de matériel. La filtration à travers une membrane de 0,45 µm est généralement suffisante pour réduire ou éliminer les contaminants et rendre l'isolement possible à partir du filtrat comme décrit ci-avant. La méthode de Haalstra (4) peut également être utilisée. De petits fragments de croûtes sont placés dans un flacon bijou contenant 1 ml d'eau distillée stérile et laissés à température ambiante pendant 3 à 4 h. La bouteille ouverte est ensuite placée pendant 15 min en atmosphère enrichie en CO₂. La surface du liquide est alors prélevée à l'anse de platine et mise en culture. La méthode est basée sur le relargage de cocci de *D. congolensis* à partir des croûtes et de leur chimiotactisme positif pour les atmosphères enrichies en dioxyde de carbone. Un milieu sélectif constitué de gélose au sang contenant 1 000 unités/ml de polymyxine B peut également être utilisé et efficace contre les contaminants sensibles à cet antibiotique.

c) Méthodes immunologiques

L'immunofluorescence est la technique immunologique la plus fiable et la plus sensible pour l'identification des antigènes de *D. congolensis* et le diagnostic de dermatophilose à partir de frottis ou de tissus. Des anticorps polyclonaux peuvent être préparés sur animaux par les techniques de référence en la matière. Une réactivité croisée avec certaines souches de *Nocardia* spp. est cependant possible. L'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques (5) est préférable. Cependant, les anticorps monoclonaux n'ont pas été largement distribués ni validés par des tests inter-laboratoires. Les colorations sont effectuées sur frottis minces ou calques de croûtes sur lames. Des échantillons positifs et négatifs connus doivent toujours être utilisés comme témoins.

d) Techniques de détection de l'acide nucléique

En l'absence de données suffisantes sur la séquence du génome, des techniques d'amplification au hasard de l'ADN polymorphique (RAPD pour *randomly amplified polymorphic DNA*) et d'électrophorèse en gel par champs pulsés (PGFE pour *pulsed-field gel electrophoresis*) ont été utilisées et se sont révélées utiles pour le typage moléculaire de *D. congolensis* (7). Un gène de la céramidase alcaline a été cloné à partir d'un fragment de RAPD et une réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) utilisant des amorces préparées à partir de la séquence nucléotidique de ce gène a donné un amplicon avec l'ADN de *D. congolensis*. Aucun produit d'amplification n'a été obtenu avec *M. bovis*, *C. propinquum* et *D. chelonae*, ce qui permet d'envisager une utilisation pour le diagnostic ou la détection de *D. congolensis* (3). Pour confirmer la présence de *D. congolensis*, on peut aussi utiliser, de manière alternative, une séquence de l'ADNr 16S obtenue après amplification.

2. Épreuves sérologiques

Le diagnostic clinique est en général effectué par les méthodes décrites précédemment plutôt que par sérologie. Des traces d'anticorps peuvent être détectées chez la plupart des ruminants même en bonne santé, mais les taux augmentent après une infection clinique. Les méthodes immuno-enzymatiques (ELISA) ont démontré leur sensibilité et leur aspect pratique. Des titres en anticorps supérieurs à un seuil de base peuvent être utilisés dans les études épidémiologiques pour identifier les animaux qui ont développé la maladie (9). Le test utilisant un antigène brut, des réactions croisées peuvent apparaître avec d'autres bactéries comme c'est le cas avec l'immunofluorescence. Pour le moment, l'ELISA n'a d'intérêt que dans le domaine de la recherche et n'est pas utilisé pour le diagnostic de routine. Les techniques sérologiques, qu'il s'agisse de l'ELISA ou de techniques plus anciennes comme l'hémagglutination ou l'électrosynérèse, ne sont pas utilisées dans le diagnostic de routine car la mise en évidence directe de la bactérie est aisée.

C. SPÉCIFICATIONS APPLICABLES AUX VACCINS ET AUX PRODUITS BIOLOGIQUES À USAGE DIAGNOSTIQUE

Dermatophilus congolensis produit plusieurs facteurs de virulence tels qu'une hémolysine, des phospholipases, des céramidases et des enzymes protéolytiques, qui pourraient faciliter la pénétration à travers la barrière épidermique et interagir avec la réponse inflammatoire de l'hôte. Ces facteurs de virulence sont des antigènes candidats pour des vaccins. Des recherches sur des vaccins afin de prévenir la dermatophilose ont été menées (6, 10) mais, à l'heure actuelle, aucun vaccin n'est disponible. Les recherches dans ce domaine sont bloquées par l'impossibilité de reproduire expérimentalement la maladie et le manque de connaissances sur l'immunité cutanée. L'accent a donc été mis sur le contrôle des tiques et l'identification de marqueurs génétiques de résistance ou de sensibilité avec des résultats prometteurs chez les bovins (8).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AMBROSE N., LLOYD D.H. & MAILLARD J.C. (1999). Immune responses to *Dermatophilus congolensis* infections. *Parasitol. Today*, **15**, 295–300.
2. BUENIAJE G.N., LADDS P.W. & MARTIN Y. (1998). Pathology of skin disease in crocodiles. *Aust. Vet. J.*, **76**, 357–363.
3. GARCIA-SANCHEZ A., CERRATO C., LARRASA J., AMBROSE C.N., PARRA A., ALONSO J.M., HERMOSO-DE-MENDOZA M., REY J.M. & HERMOSO-DE-MENDOZA J. (2004). Identification of an alkaline ceramidase gene from *Dermatophilus congolensis*. *Vet. Microbiol.*, **99**, 67–74.
4. HAALSTRA R.T. (1965). Isolation of *Dermatophilus congolensis* from skin lesions in the diagnosis of streptothricosis. *Vet. Rec.*, **77**, 824–825.
5. HOW S.J., LLOYD D.H. & LIDA J. (1988). Use of a monoclonal antibody in the diagnosis of infection by *Dermatophilus congolensis*. *Res. Vet. Sci.*, **45**, 416–417.
6. HOW S.J., LLOYD D.H. & SANDERS A.B. (1990). Vaccination against *Dermatophilus congolensis* infection in ruminants: prospects for control. In: *Advances in Veterinary Dermatology*, Volume 1, Von Tscharner C. & R.E.W. Halliwell, eds. Bailliere Tindall, London UK.
7. LARRASA J., GARCIA-SANCHEZ A., AMBROSE C.N., PARRA A., ALONSO J.M., REY J.M., HERMOSO-DE-MENDOZA M. & HERMOSO-DE-MENDOZA J. (2004). Evaluation of randomly amplified polymorphic DNA and pulsed field gel electrophoresis techniques for molecular typing of *Dermatophilus congolensis*. *FEMS Microbiol. Lett.*, **240**, 87–97.
8. MAILLARD J.C., BERTHIER D., CHANTAL I., THEVENON, S., SIDIBE I., STACHURSKI F., BELEMSAGA D., RAZAFINDRAIBE H & ELSEN J.M. (2003). Selection assisted by a BoLA-DR/DQ haplotype against susceptibility to bovine dermatophilosis. *Genet. Sel. Evol.*, **35**, 193–200.
9. MARTINEZ D., AUMONT G., MOUTOUSSAMY M., GABRIEL D., TATAREAU J.C., BARRE N., VALLEE F. & MARI B. (1993). Epidemiological studies on dermatophilosis in the Caribbean. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, **46**, 323–327.
10. SUTHERLAND S.S. & ROBERTSON G.M. (1988). Vaccination against ovine dermatophilosis. *Vet. Microbiol.*, **18**, 285–288.

*
* *