



Quiz n°20

Quelle est cette bactérie ?

O. GAILLOT¹, M. SIMONET¹

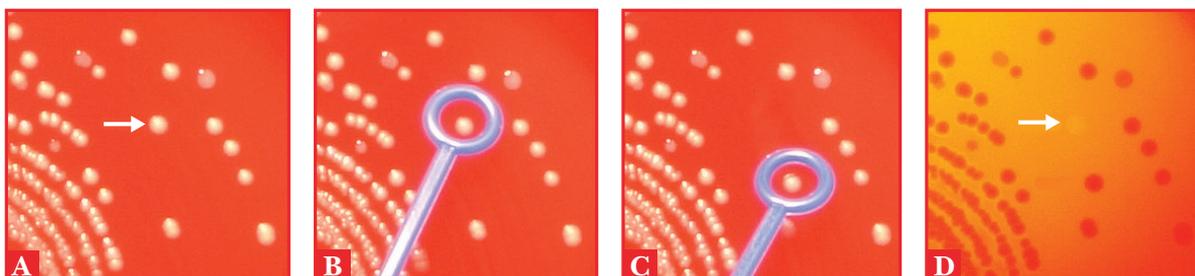
Monsieur K., 38 ans,

se présente aux urgences d'un hôpital pour une volumineuse ulcération cutanée de la jambe droite.

Il s'agit d'un sans domicile fixe vivant en compagnie de deux bergers malinois.

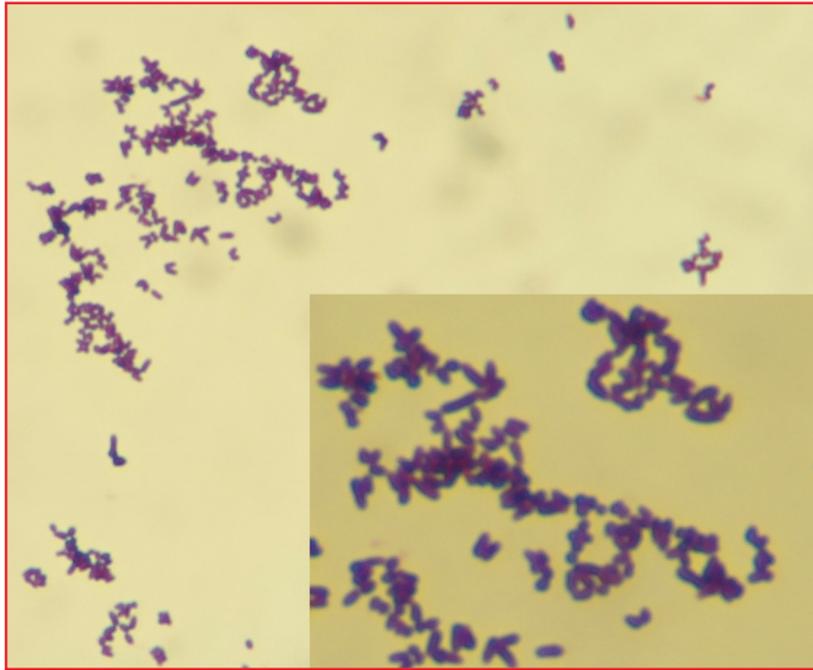
L'ulcère est situé en regard d'une fracture consolidée du tibia consécutive à une chute dans un escalier survenue quatre mois auparavant. La lésion est relativement profonde, d'un diamètre de 5 cm ; ses bords sont surélevés et recouverts d'une membrane grisâtre.

La culture (à 37 °C) du produit de raclage de la lésion sur gélose au sang en aérobiose montre en 24 heures une prédominance de colonies blanc-crème (A, flèche blanche) ; à l'aide d'une öse, ces colonies peuvent être déplacées en bloc par glissement à la surface de la gélose (B, C), faisant apparaître une zone de bêta-hémolyse sous-jacente, bien visible par rétro-éclairage (D, flèche blanche) :



¹ Institut de Microbiologie, Centre de Biologie-Pathologie-Génétique du CHU de Lille.

L'examen microscopique de ces colonies prédominantes montre l'aspect suivant (coloration de Gram, grossissement x 1000 ; cartouche : agrandissement x 4) :



Les tests d'orientation pratiqués donnent les résultats suivants :
oydase : négative ; catalase : positive ; uréase : positive ; pyrazinamidase : négative.

QUESTION

Quelle bactérie suspectez-vous ?

Réponse : *Corynebacterium ulcerans* ou *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

Commentaire

Ces tout petits bacilles polymorphes à Gram positif, agencés en palissade ou formant la lettre V, évoquent des corynébactéries. Cette orientation diagnostique est confirmée par leurs caractéristiques culturales (colonies opaques, blanc-crème, de 1 à 2 mm de diamètre après 24 heures de culture en aérobiose sur gélose au sang) et la production d'une catalase. La nature de la lésion (large ulcération, présence d'un enduit membraneux) doit faire évoquer une espèce du complexe *diphtheriae* : *Corynebacterium diphtheriae*,

Corynebacterium ulcerans et *Corynebacterium pseudotuberculosis* (anciennement *Corynebacterium ovis*) (1-3). Le caractère bêta-hémolytique et l'absence de pyrazinamidase (galerie API Coryné, bioMérieux SA ; tests individuels Rosco Diatabs, Rosco-Eurobio) sont communs aux trois espèces de ce complexe, tandis que la présence d'une uréase permet d'éliminer *C. diphtheriae*. Le diagnostic différentiel entre *C. ulcerans* et *C. pseudotuberculosis* peut être établi de façon fiable par séquençage du gène codant l'ARN ribosomal 16S ou, avec

autant de spécificité mais plus rapidement, par spectrométrie de masse MALDI-TOF (4, 5). Dans le cas présent, il s'agissait de *C. ulcerans*.

La première description de *C. ulcerans* date de près de 90 ans, mais ce n'est qu'en 1995 que cette bactérie a été individualisée comme espèce à part entière au sein du complexe *diphtheriae* (2). *C. ulcerans* (et beaucoup plus rarement *C. pseudotuberculosis*) est susceptible de produire la toxine diphtérique (6). Cependant, comme pour *C. diphtheriae*, la bactérie n'est toxigène que si elle a été infectée (« lysogénisée ») par un bactériophage (corynébactériophage bêta) (7). Synthétisée sous forme d'un précurseur, la toxine n'est active qu'après clivage en deux fragments, A et B, qui restent associés par un pont disulfure. Le fragment A comprend le domaine supportant l'activité enzymatique toxique (le transfert d'ADP-ribosyl sur le facteur d'élongation EF2 impliqué dans la synthèse protéique des cellules eucaryotes) et le fragment B comporte les domaines de translocation et de fixation de la toxine à son récepteur (*Heparin-binding Epidermal-like Growth Factor*; HEGF). Les toxines produites par *C. diphtheriae* et *C. ulcerans* sont identiques à 95 %, les différences étant surtout localisées dans le fragment B (8) ; par ailleurs, le gène *tox* de *C. ulcerans* est plus hétérogène que celui de *C. diphtheriae*. Une PCR en temps réel distinguant les gènes *tox* des deux espèces a été récemment proposée (9). L'expression du gène codant la toxine diphtérique est induite par une carence en fer, et rappelons que la détection de l'exotoxine par immuno-précipitation en gélose avec un anti-sérum spécifique (test d'Elek) (10) doit être réalisée dans un milieu dépourvu de sang.

C. ulcerans est susceptible d'induire des infections humaines dont les manifestations cliniques ne peuvent être distinguées de celles causées par *C. diphtheriae*, qu'il s'agisse – selon la porte d'entrée – d'une angine ou d'une ulcération cutanée chronique (11-18). La fausse (pseudo) membrane brun-grisâtre associée à la colonisation des amygdales (voire de la luette) et à l'ulcère cutané est un exsudat fibrineux (riche de leu-

cocytes et de bactéries), induit par la toxine diphtérique. La diffusion de la toxine à partir de la lésion initiale (sphère ORL ou peau) expose à des troubles cardiaques (myocardite) et à des paralysies périphériques. Alors que l'homme est le réservoir exclusif de *C. diphtheriae*, divers mammifères (sauvages ou domestiques) semblent être la source de *C. ulcerans* (14) et aucune transmission inter-humaine de cette bactérie (contrairement à *C. diphtheriae*) n'a été rapportée à ce jour. Il convient de souligner que les chats et les chiens sont fréquemment à l'origine d'une infection humaine (12-16). Une étude récemment réalisée au Japon a montré que 7,5 % (43/583) des chiens abandonnés ou échappés d'un domicile, hébergeaient dans leurs voies aériennes supérieures une souche de *C. ulcerans* qui était presque toujours toxigène, sans pour autant être associée à des lésions (19). Cependant, des cas d'ulcération labiale et de rhinorrhée ont aussi été observés chez des chats et des chiens infectés par des souches de *C. ulcerans* produisant la toxine diphtérique (13, 14).

C. ulcerans est une bactérie qui, en médecine, a aujourd'hui supplanté *C. diphtheriae* dans les pays industrialisés (20). Dans son dernier rapport publié en 2011, le Centre National de Référence des corynébactéries du complexe *diphtheriae* (Institut Pasteur) fait état de la réception, depuis 2002, de 20 souches toxigènes de *C. ulcerans* et de seulement 7 souches toxigènes de *C. diphtheriae*. Les isolats de *C. ulcerans* provenaient, en proportions à peu près égales des voies aériennes supérieures et de plaies cutanées ; les sujets étaient communément âgés, n'avaient pas eu de rappel vaccinal récent anti-diphtérie et vivaient (ou avaient des contacts fréquents), comme dans le cas de Monsieur K., avec des animaux de compagnie (chats et/ou chiens).

En conclusion, toute corynébactérie prédominante ou présente en exclusivité dans une plaie, *a fortiori* s'il s'agit d'une ulcération membraneuse, doit faire l'objet d'une identification précise et, en cas de nécessité, d'une détection du gène *tox*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Bernard K. The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** (10) : 3152-8.
- (2) Riegel P, Ruimy R, de Briel D, Prévost G, Jehl F, Christen R *et al.* Taxonomy of *Corynebacterium diphtheriae* and related taxa, with recognition of *Corynebacterium ulcerans* sp. nov. nom. rev. *FEMS Microbiol Letters* 1995 ; **126** (3) : 271-6.
- (3) Public Health England. UK standards for microbiology investigations : identification of *Corynebacterium* species 2014 ; **4** : 1-24.
- (4) Farfour E, Leto J, Barritault M, Barberis C, Meyer J, Dauphin B *et al.* Evaluation of the Andromas matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of aerobically growing Gram-positive bacilli. *J Clin Microbiol* 2012 ; **50** (8) : 2702-7.
- (5) Efstathiou A, George RC. Laboratory guidelines for the diagnosis of infections caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*. *Commun Dis Public Health* 1999 ; **2** (4) : 250-7.
- (6) Maximescu P, Oprisan A, Pop A, Potorac E. Further studies on *Corynebacterium* species capable of producing diphtheria toxin (*C. diphtheriae*, *C. ulcerans*, *C. ovis*). *J Gen Microbiol* 1974 ; **82** (1) : 49-56.
- (7) Groman N, Schiller J, Russell J. *Corynebacterium ulcerans* and *Corynebacterium pseudotuberculosis* responses to DNA probes derived from coryneophage beta and *Corynebacterium diphtheriae*. *Infect Immun* 1984 ; **45** (2) : 511-7.
- (8) Sing A, Hogardt M, Bierschenk S, Heesemann J. Detection of differences in the nucleotide and amino acid sequences of diphtheria toxin from *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* causing extrapharyngeal infections. *J Clin Microbiol* 2003 ; **41** (10) : 4848-51.
- (9) Schuëgger R, Lindermayer M, Kugler R, Heesemann J, Busch U, Sing A. Detection of toxinogenic *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium ulcerans* strains by a novel real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2008 ; **46** (8) : 2822-3.
- (10) Engler KH, Glushkevich, Mazurova IK, George RC, Efstathiou A. A modified Elek test for detection of toxigenic corynebacteria in the diagnostic laboratory. *J Clin Microbiol* 1997 ; **35** (2) : 495-8.
- (11) Wagner J, Ignatius R, Voss S, Höpfner V, Ehlers S, Funke G *et al.* Infection of the skin caused by *Corynebacterium ulcerans* and mimicking classical cutaneous diphtheria. *Clin Infect Dis* 2001 ; **33** (9) : 1598-600.
- (12) Hatanaka A, Tsunoda A, Okamoto M, Ooe K, Nakamura A, Miyakoshi M *et al.* *Corynebacterium ulcerans* diphtheria in Japan. *Emerg Infect Dis* 2003 ; **9** (6) : 752-3.
- (13) Lartigue MF, Monnet X, Le Flèche A, Grimont PA, Benet JJ, Durrbach A *et al.* *Corynebacterium ulcerans* in an immunocompromised patient with diphtheria and her dog. *J Clin Microbiol* 2005 ; **43** (2) : 999-1001.
- (14) Tiwari TS, Golaz A, Yu DT, Ehresmann KR, Jones TF, Hill HE *et al.* Investigations of 2 cases of diphtheria-like illness due to toxinogenic *Corynebacterium ulcerans*. *Clin Infect Dis* 2008 ; **46** (3) : 395-401.
- (15) Berger A, Huber I, Merbecks SS, Ehrhard I, Konrad R, Hörmansdorfer S *et al.* Toxinogenic *Corynebacterium ulcerans* in woman and cat. *Emerg Infect Dis* 2011 ; **17** (9) : 1767-8.
- (16) Corti MA, Bloemberg GV, Borelli S, Kutzner H, Eich G, Hoelzle L *et al.* Rare human skin infection with *Corynebacterium ulcerans* : transmission by a domestic cat. *Infection* 2012 ; **40** (5) : 575-8.
- (17) Berger A, Boschert V, Konrad R, Schmidt-Wieland T, Hörmansdorfer S, Eddicks M *et al.* Two cases of cutaneous diphtheria associated with occupational pig contact in Germany. *Zoonoses Public Health* 2013 ; **60** (8) : 539-42.
- (18) Sangal V, Nieminen L, Weinhardt B, Raeside J, Tucker NP, Florea CD *et al.* Diphtheria-like disease caused by toxinogenic *Corynebacterium ulcerans* strain. *Emerg Infect Dis* 2014 ; **20** (7) : 1257-8.
- (19) Katsukawa C, Komiya T, Yamagishi H, Ishii A, Nishino S, Nagahama S *et al.* Prevalence of *Corynebacterium ulcerans* in dogs in Osaka, Japan. *J Med Microbiol* 2012 ; **61** (2) : 266-73.
- (20) Wagner KS, White JM, Lucenko I, Mercer D, Crowcroft NS, Neal S *et al.* Diphtheria in the post-epidemic period, Europe, 2000-2009. *Emerg Infect Dis* 2012 ; **18** (2) : 217-25.