



Fédération Française
de Spéléologie

2016
N°50

CoMed

Infos

NUMÉRO THÉMATIQUE

AGENTS BIOLOGIQUES EN SPÉLÉOLOGIE ET CANYON

PREMIÈRE PARTIE

EDITORIAL

Dr Jean-Pierre Buch

Chacun a déjà été interrogé au sujet de la vie sous terre : «Mais il n'y a pas des bêtes dans les grottes?»

Si l'on peut comprendre qu'un public non initié se la pose, qu'en est-il des spéléos?

Les scientifiques vont bien nous parler de troglaphiles, troglobies et troglaxènes...

Les phobiques vont évoquer les araignées et les divers insectes qui hantent les premiers mètres de certaines cavités, voire les animaux dangereux des grottes tropicales...

Les rêveurs parleront des salamandres et autres crapauds qui sont peut-être des magiciennes ou des princes charmants...

Mais sous terre, là, sous nos pieds, au plus profond de l'obscurité ?

La vie existe bel et bien ! Et d'une richesse que peu de gens soupçonne !

Pourtant on ne la voit guère. Le protée n'existe pas chez nous, le niphargus est plus courant (encore faut-il le voir), les divers invertébrés qui se cachent dans les recoins des galeries nécessitent une connaissance scientifique doublée d'une observation attentive et patiente que très peu d'entre nous possède.

Et puis il y a le monde invisible, l'infiniment petit, celui que l'on ne voit pas du tout, ou alors sous le microscope ou dans la boîte de Petri. Le monde des micro-organismes. Les bactéries, les parasites et les moisissures.

C'est ce monde là que nous vous invitons à parcourir dans deux numéros thématiques de *CoMed-Infos*, d'une richesse exceptionnelle. Notre guide sera Albert Demichelis, microbiologiste et spéléologue.

Il nous livre ici tous les secrets des bestioles que nous croisons sans les voir. Et c'est très impressionnant !

Au passage, on pourra remarquer que des pathologies, rares mais potentiellement graves, peuvent être occasionnées par ces microorganismes présents dans le milieu souterrain.

Commission médicale FFS

Rédaction : Dr J.-P. Buch, 655 B Vieille route d'Anduze, 30140 BAGARD, <jpbuch1@sfr.fr>

Relecture collective



Le travail d'Albert Demichelis s'organise selon huit chapitres :

- chapitre 1 : introduction
- chapitre 2 : les bactéries ubiquitaires.
- chapitre 3 : les parasites.
- chapitre 4 : les champignons
- chapitre 5 : généralités sur les analyses et contrôles de l'eau
- chapitre 6 : germes présents dans l'atmosphère, analyse de la thèse du Dr M. Luquet
- chapitre 7 : les facteurs favorisant l'infection et les mesures de prévention à prendre.
- chapitre 8 : résumé des différents milieux, des principaux agents biologiques et des pathologies qui y sont liées.

Cette première partie comprendra les chapitres 1 à 3.



Laissons l'auteur conclure lui-même cette introduction.
La philosophie de notre étude doit s'orienter sur plusieurs points :

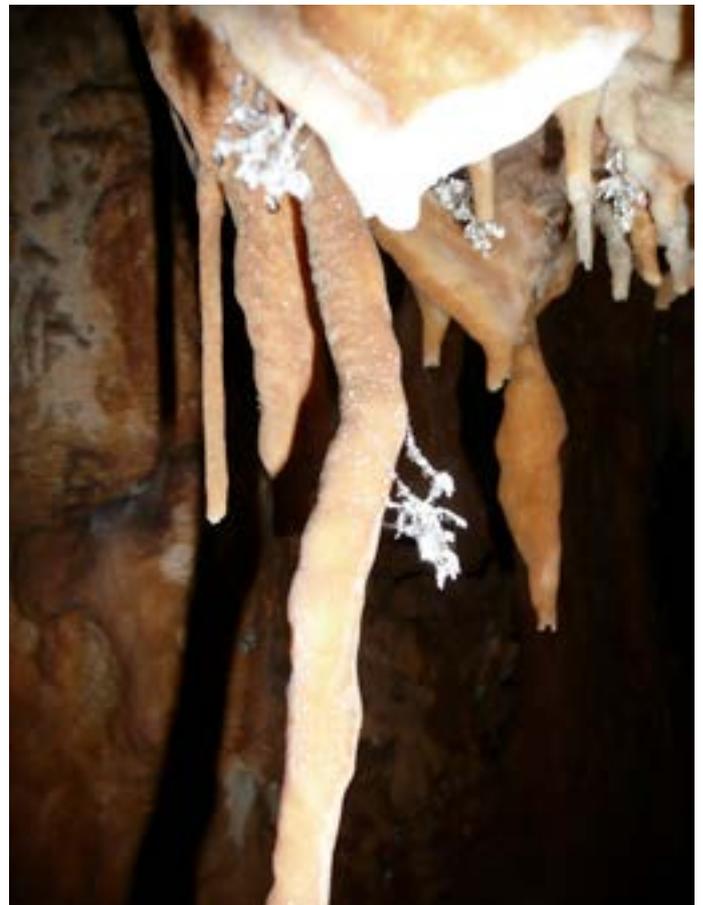
- Prendre en considération qu'un milieu, quel qu'il soit, fait varier la flore saprophyte cutanée de l'individu qui le contracte.
- Connaître la contamination pour une meilleure prophylaxie.
- Connaître les risques de contamination ambiante par les poussières, l'eau et l'air.
- Connaître les risques de contamination en fonction des personnes : leur état physiologique, leur état pathophysiologique et leur degré d'hypersensibilité allergique.
- Prendre en considération l'évolution de la contamination (délais d'adhérence et récurrences des problèmes infectieux).
- Avoir toujours à l'esprit les délais incubation qui faussent les diagnostics des causes de la contamination.
- Savoir que les bactéries hétérotrophes sont plus pathogènes que les bactéries autotrophes, ceci impliquant que la pollution organique des lieux est un facteur principal de risque.
- Prendre en compte les risques mycosiques, qui sont souvent présents dans les lieux humides et dans les sols.
- Connaître mieux les maladies transmissibles par les vecteurs entomologiques, protozoïques et animaux, pour mieux comprendre les mécanismes cycliques des maladies à vecteurs.

Voilà un bref résumé non exhaustif de l'utilité de cette compilation.

Bonne lecture.



MOISSISSURES COLONISANT DES INSECTES
GROTTE DE LA TOUSSAINT (GARD)





RISQUES BIOLOGIQUES EN SPÉLÉOLOGIE ET CANYONISME

(Tome I)

Commission Médicale
Fédération Française
de Spéléologie

Auteur : Albert DEMICHELIS

Pratiquant la spéléologie depuis 1998 au sein du club I Topi Pinnuti de Bastia (Haute-Corse), Albert a été invité à participer aux travaux de la CoMed depuis 2013.

Sa formation universitaire et son parcours professionnel l'ont amené à s'interroger sur les risques biologiques pouvant être rencontrés en spéléologie et en canyonisme. Il présente dans la compilation suivante, une revue assez exhaustive de la flore microbienne et parasitaire pouvant être rencontrée sous terre ou lors des descentes de canyon et lors des marches d'approche.

Formation universitaire :

- Diplôme d'études supérieures de Sciences Physiques (Laboratoire de biochimie macromoléculaire de la nutrition, faculté des sciences de Bordeaux).
- Ingénieur des sciences techniques de l'alimentation

Parcours professionnel :

- Responsable recherche et développement dans des grands groupes de l'industrie agroalimentaire
- Responsable du laboratoire d'analyses agroalimentaires de la Chambre d'agriculture de Haute-Corse puis du Conseil général

Tous mes remerciements

Au D Jean-Noël DUBOIS, vice-président de la CoMed qui a relu, annoté et mis en page tout ce travail.

Au D Jean-Pierre BUCH, président de la CoMed, qui a initié et dirigé l'orientation de cette compilation.

Au D Anne-Marie ANGOT, conseillère pour la mise en forme.

À Didier CAILHOL, responsable de la partie scientifique de la FFS, qui nous a fourni des publications internationales sur ce sujet.

Au D Vétérinaire Geneviève ANDRE-FONTAINE, pour nous avoir mis à disposition ses informations sur la Leptospirose.

CHAPITRE 1 / GENÈSE DE LA VIE DU KARST	12
1.1. GENÈSE MICROBIENNE DANS LE SOL	13
1.1.1 Bactérie autotrophe	
1.1.2 Bactéries hétérotrophes	15
1.1.3 La flore microbienne des sols	
1.1.4 Genèse du karst	
1.2 VIE BACTÉRIENNE DANS LE KARST	16
1.2.1 Contaminations anthropiques	
1.2.2 Pollution anthropique	
1.2.3 Pollution atmosphérique karstique	17
1.2.4 Pollution opportuniste	18
CHAPITRE 2/ PRINCIPAUX PROCARYOTES KARSTIQUES	19
2.1 LIEUX DE PRÉLÈVEMENTS DES ÉCHANTILLONS	19
2.1.1 <i>Four Windows Cave</i> (États-Unis d'Amérique)	
2.1.2 Grotte ornée de Magura (Bulgarie)	
2.1.3 Gouffre de la Sambuy (France)	20
2.2 EMBRANCHEMENT ACTINOBACTERIA (BV5)	22
2.2.1 Classe <i>Actinobacteria</i>	
2.2.1.1 Genre <i>Actinomyces</i> ramifiés	
2.2.1.2 Famille <i>Nocardiaceae</i> ; Genre <i>Nocardia</i>	
2.2.1.3 Genre <i>Streptomyces</i> .	
2.2.2 <i>Actinobacteria</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	26
2.2.2.1 <i>Streptoalloteichus hindustanus</i>	
2.2.2.2 <i>Actinobispora yunnanensis</i>	
2.2.2.3 <i>Pseudonocardia sulfidoxydans</i>	
2.2.2.4 <i>Pseudonocardia saturnea</i>	
2.2.2.5 <i>Nocardiopsis dassonvillei</i>	
2.2.2.6 <i>Frankia</i> sp.	
2.2.2.7 <i>Streptomyces galbus</i>	
2.2.3 <i>Actinobacteria</i> de la grotte ornée de Magura	28
2.2.3.1 Genre <i>Arthrobacter</i>	
2.2.3.2 Genre et espèce <i>Micrococcus luteus</i>	
2.2.4 <i>Actinobacteria</i> du gouffre de la Sambuy	29
2.3 EMBRANCHEMENT EOBACTERIA	29
2.3.1 Phylum <i>Chloroflexie</i>	29
2.3.1.1 Genre <i>Thermomicrobia</i>	
2.3.1.2 Genre <i>Dehalococcoidetes</i>	



2.3.1.3 Genre <i>Anærolineae</i>	
2.3.1.4 Genre <i>Caldilineae</i>	
2.3.1.5 Genre <i>Ktedonobacteria</i>	
2.3.1.6 Genre <i>Chloroflexus</i>	
2.4 EMBRANCHEMENT, Autres GN	31
2.4.1 Phylum <i>Fusobacteria</i>	
2.4.2 Phylum <i>Acidobacteria</i>	32
2.4.2.1 Classification	
2.4.2.2 <i>Acidobacteria</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	
2.4.2.2.1 Genre <i>Acidobacterium</i>	
2.4.2.3 <i>Acidobacteria</i> de la grotte ornée de Magura	
2.4.2.4. <i>Acidobacteria</i> du gouffre de la Sambuy	
2.4.3 Phylum des <i>Gemmatimonadetes</i>	34
2.4.3.1 Genre <i>Gemmatimonas aurantiaca</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	
2.4.3.2 Genre <i>Gemmatimonas aurantiaca</i> dans la grotte ornée de Magura	
2.4.3.3 Genre <i>Gemmatimonas aurantiaca</i> dans Gouffre de la Sambuy	
2.4.3.4 Genre <i>Gemmatimonas</i>	
2.4.4 Phylum des <i>Nitrospirae</i>	34
2.4.4.1 <i>Nitrospirae</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	
2.4.4.2 <i>Nitrospirae</i> dans la grotte ornée de Magura	
2.4.4.3 <i>Nitrospirae</i> du gouffre de la Sambuy	
2.4.4.3.1 Genre <i>Nitrospira</i>	
2.4.4.3.2 Genre <i>Thermodesulfobivrio</i>	
2.4.4.3.3 Genre <i>Leptospirillum</i>	
2.5 EMBRANCHEMENT ALPHA PROTEOBACTERIA (BV2)	37
2.5.1 Généralités	37
2.5.2 Alpha protéobactéries dans <i>Four Windows Cave</i>	38
2.5.2.1 Genre <i>Herbaspirillum</i>	
2.5.3 Alpha protéobactéries dans la grotte de Magura	
2.5.4 Alpha protéobactéries dans le gouffre de la Sambuy	
2.5.4.1 Genre <i>Candidatus</i>	
2.6 BÉTA PROTEOBACTÉRIES	39
2.6.1 Généralités	39
2.6.2 <i>Béta protéobactéries</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	39
2.6.2.1 Genre <i>Alcaligenes</i> ;	
2.6.2.2 Genre <i>Duganella</i>	
2.6.2.3 Genre <i>Spirillum</i>	
2.6.2.3.1 Genre <i>Spirillum minus</i>	
2.6.3 <i>Béta protéobactéries</i> dans la grotte ornée de Magura	41
2.6.4 <i>Béta protéobactéries</i> dans le gouffre de la Sambuy	

2.7 GAMMA PROTÉOBACTÉRIES	41
2.7.1 Généralités	41
2.7.1.1 Genre <i>Acinetobacter</i>	
2.7.1.2 Genre <i>Moraxella</i>	
2.7.2 Gamma protéobactéries dans <i>Four Windows Cave</i>	43
2.7.3 Gamma protéobactéries dans la grotte ornée de Magura	43
2.7.3.1 Genre <i>Serratia</i>	
2.7.3.2 Genre <i>Pseudomonas</i>	
2.7.3.3 Genre <i>Stenotrophomonas</i>	
2.7.3.4 Genre <i>Comamonas</i>	
2.7.3.5 Genre <i>Obesumbacterium</i>	
2.7.4 Gamma protéobactéries dans le gouffre de la Sambuy	49
2.8 EMBRANCHEMENT DELTA PROTEOBACTERIE	49
2.8.1 Genre <i>Bdellovibrio</i>	50
2.8.1.2 Genre <i>Geobacter</i>	
2.8.1.3 Genre <i>Myxococcus</i>	
2.9. EMBRANCHEMENT EPSILON PROTEOBACTERIA (BV2)	53
2.9.1 Genre <i>Campylobacter</i>	53
2.10 EMBRANCHEMENT PLANCTOMYCETES (BACTÉRIES VERTES NON-SULFUREUSES)	55
2.10.1 Généralités	55
2.10.1.1 Phylum <i>Planctomycetes</i>	
2.10.2 <i>Planctomycetes</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	56
2.10.2.1 Genre <i>Verrucomicrobia</i>	
2.10.2.2 Genre <i>Negibacteria</i>	
2.10.3 <i>Planctomycetes</i> dans la grotte ornée de Magura	57
2.10.4 <i>Planctomycetes</i> dans le gouffre de la Sambuy	57
2.10.4.1 Genre <i>Gemmata</i>	
2.11 EMBRANCHEMENT SPHINGOBACTERIA (GROUPE FCB)	58
2.11.1 <i>Bacteroidetes</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	58
2.11.2 <i>Bacteroidetes</i> dans la grotte de Madura	58
2.11.2.1 Genre <i>Myroides</i>	
2.11.3 <i>Bacteroidetes</i> dans le gouffre de la Sambuy	59
2.12 EMBRANCHEMENT FIRMICUTES (BV3)	59
2.12.1 Généralités	59
2.12.2 Classe des <i>Bacilli</i>	59
2.12.2.1 Espèce <i>Bacillus Anthracis</i>	
2.12.2.2 <i>Firmicutes</i> dans <i>Four Windows Cave</i>	
2.12.2.3 <i>Firmicutes</i> de la grotte de Madura	



2.12.2.3.1 Espèce <i>Bacillus safensis</i>	
2.12.2.4 <i>Firmicutes</i> du gouffre de la Sambuy	
2.12.3 Phylum <i>Clostridia</i>	62
2.12.3.1 Genre <i>Clostridium</i>	
2.12.4 Genre <i>Listeria</i>	67
2.12.4.1 Espèce pathogène : <i>Listeria monocytogenes</i>	
2.13 MODIFICATION DE FLORE DANS LA PARTIE ORNÉE DE LA GROTTÉ DE MAGURA	68
2.13.1 Bactéries particulières prélevées dans la zone des dessins de la grotte de Madura	70
2.13.1.1 Espèce <i>E. asburiae</i>	
2.13.1.2 Genre <i>Sphingobacterium</i>	
2.14 RÈGNE DES ARCHAEA	71
2.14.1 Généralités sur les <i>Archaea</i>	71
2.14.2 Embranchement <i>Euryarchaeota</i>	73
2.14.2.1 Genre <i>Thermoplasma</i>	
2.14.2.2 Genre <i>Thermococcus</i>	
2.14.2.3 Genre <i>Methanopyrus</i>	
2.14.2.4 Genre <i>Methanococcus</i>	
2.14.2.5 Genre <i>Archaeoglobus fulgidus</i>	
2.14.2.6 Genre <i>Picrophilus oshimeia</i>	
2.14.3 Embranchement <i>Crenarchaeota</i>	75
2.14.3.1 Genre <i>Pyrodictium occultum</i>	
2.14.3.2 Genre <i>Sulfolobus</i>	
2.14.3.3 Genre <i>Thermoproteus lanax</i>	
2.14.4 Embranchement <i>Thaumarchaeota</i>	77
2.14.4.1 Genre <i>Cenarchaeum</i>	
2.14.5 Conclusions	77
CHAPITRE 3/ PATHOLOGIES PARASITAIRES EN SPÉLÉOLOGIE ET CANYONISME	79
3.1 PARASITISME	79
3.1.1 Protozoaires	79
3.1.2 Parasitisme interne des chauves-souris	81
3.1.3 Métazoaires	82
3.1.3.1 Vers intestinaux et vers plats	
3.1.3.2 Autres vers	
3.1.4 Parasitisme externe	83
3.1.4.1 La tique	
3.1.4.2 Famille des <i>Argasidés</i>	



3.1.4.3 Les punaises (hémiptères)	
3.1.4.3.1 Maladie de Chagas	
3.1.4.3.2 Hémiptères retrouvés dans l'endo-karst	
3.1.4.3.3 Prévention contre les <i>Argasidés</i>	
3.1.5 Les puces (<i>Siphonaptères</i>)	89
3.1.5.1 Les Siphonaptères dans l'endo-karst	
3.1.6 Les poux	89
3.1.6.1 Chez l'Homme (Anoploures)	
3.1.6.2 Poux des oiseaux et rongeurs (Mallophages)	
3.1.6.3 Prévention contre les puces et les poux	
3.1.7 Mouches poux	90
3.1.8 Nouvelles recherches sur le parasitisme des chauves-souris	91
3.1.9 Phlébotome	91
3.1.9.1 Biologie - morphologie	
3.1.9.2 Les phlébotomes dans le karst	
3.2 SYNUSIE DU GUANO	93
3.2.1 Bactériologie du guano des chauves-souris	91
3.3 CHAUVES-SOURIS ET DISSÉMINATION VIRALE	94
3.3.1 Virologie ; généralités et classification	94
3.3.1.1 Structure et classification des virus	
3.3.1.2 Classification des virus	
3.3.1.2.1 Virus à ADN	
3.3.1.2.2 Virus à ARN	
3.3.1.2.3 Virus à ADN ou à ARN à transcription inverse	
3.3.1.3 Autres classification par la morphologie et la forme des capsides	
3.3.2 Virus de la Rage	98
3.3.2.1 Description	
3.3.2.2 Épidémiologie	
3.3.2.3 Pathologie	
3.3.2.4 Diagnostic	
3.3.2.5 Prévention	
3.3.3 Virus Ebola	102
3.3.3.1 Réservoirs	
3.3.3.2 Épidémiologie	
3.3.3.3 Virologie de l'Ebola	
3.3.3.4 Symptomatologie	
3.3.3.5 Modes de transmission	
3.3.4 Explication de l'effet porteur sain des chauves-souris	104
3.4. RONGEURS	105
3.4.1 Généralités	105



3.4.2 Musaraignes	105
3.4.3 Souris	105
3.4.4 Rats	106
3.4.5 Rat-taupes	107
3.5 OISEAUX CAVERNICOLES	107
3.5.1 <i>Steatornis carpenis</i>	107
3.5.2 <i>Collocalis</i>	108
3.5.3 <i>Petrochelidon Fluva</i>	108
3.5.4 <i>Picathartes gymnocephalus</i>	108
3.5.5 Fientes des oiseaux	108
3.5.5.1 Le cas des fientes du pigeon	
3.6 MALADIES PARASITAIRES CONTRACTÉES PAR LES INSECTES	110
3.6.1 Genre <i>Borrelia</i>	110
3.6.1.1 Diversité du genre <i>Borrelia</i>	
3.6.1.2 Situation épidémiologique de la maladie de Lyme en France et en Europe	
3.6.1.3 Étiopathologie de la maladie de Lyme	
3.6.1.4 Pouvoir pathogène humain de <i>Borrelia</i>	
3.6.1.5 Diagnostic	
3.6.2 Genre <i>Rickettsia</i>	118
3.6.2.1 Actualités	
3.6.2.2 Arbre phylogénique des bactéries du genre <i>Rickettia</i>	
3.6.2.3 Vecteurs	
3.6.2.4 Extrait des Cours du Professeur Pierre Aubry	
3.6.2.5 Manifestations cliniques	
3.6.2.6 Particularités cliniques	
3.6.2.7 Infection à <i>Rickettsia helvetica</i>	
3.6.2.8 Diagnostic	
3.6.2.9 Traitement	
3.6.3 Genre <i>Ehrlichia</i>	128
3.6.3.1 Étiologie de l'ehrlichiose	
3.6.3.2 Reclassification dans le genre <i>Ehrlichia</i>	
3.6.3.3 Évolution de l'infection par la famille <i>Anaplasmataceae</i>	
3.6.3.4 Diagnostic	
3.6.4 Genre <i>Francisella</i>	132
3.6.4.1 Description	
3.6.4.2 Cycle de la bactérie	
3.6.4.3 Modes de transmission	
3.6.4.4 Réservoirs bactériens	
3.6.4.5 Pathologie	
3.6.4.6 Risque de tularémie dans les activités de spéléologie et canyonisme	



3.6.4.7 Prévention	
3.6.4.8 Prélèvements	
BIBLIOGRAPHIE	135

Introduction

La Commission Médicale de la Fédération Française de Spéléologie (CoMed) nous a confié la mission de rédiger une compilation sur les pathologies microbiologiques, pouvant être rencontrées lors des activités de spéléologie ou de canyonisme.

Le milieu karstique a fait l'objet de nombreuses études climatologiques, biologiques, entomologiques et zoologiques, notamment par l'Institut de Spéléologie, par le Laboratoire de Biologie Souterraine avec l'aide du Centre National de Recherche Scientifique (CNRS).

En 1920, Jeannel fonda avec Racovitza à Cluj (Roumanie), le premier institut de spéléologie ; Racovitza en assumant la direction et Jeannel la sous-direction. Outre ces deux fondateurs, il y a lieu de citer les chefs de file de la biospéologie C. Eigenmann (auteur d'une monographie essentielle sur les vertébrés cavernicoles américains, 1909) ; A. Vandel (fondateur et directeur du laboratoire souterrain du CNRS à Mouli, auteur de recherches essentielles sur le Protée (*Proteus anguineus* ou Salamandre blanche). Le premier traité sur la biospéologie date de 1964. On peut citer également les travaux de P.A. Chappuis (directeur adjoint de l'institut de Cluj et sous-directeur en 1948 du laboratoire souterrain du CNRS) : « *Recherches sur les mécanismes du peuplement hypogé* » ; de L. Fagne (travaux fondamentaux sur les araignées cavernicoles) ; de C. Koski (recherches sur la génétique des populations souterraines, théories d'ensemble sur les phénomènes d'évolution régressive). En 1977 René Ginet et Valise Decou font une synthèse dans un livre intitulé « *Initiation à la biologie et à l'écologie souterraine* »¹, référence entomologique et zoologique de la vie cavernicole.

À cette liste de personnalités et d'organismes officiels, s'ajoute une multitude de bénévoles passionnés de biologie souterraine, qui ont par leur action fait évoluer les observations et leurs développements scientifiques. Nous pouvons citer ainsi l'association *Troglorites*. Elle est en relation avec le Muséum d'Histoire Naturelle de Nice, elle a travaillé pour le Parc du Mercantour et est actuellement en charge d'une étude sollicitée par la Direction de l'Environnement de Monaco².

La Commission Scientifique de la FFS, animée et dirigée par MM. Didier Cahiol et Matthieu Thomas a fait des compilations de cavités ayant fait l'objet d'analyses microbiologiques. C'est sur ces études mondiales que nous axerons nos analyses.

La recherche bactériologique a été plus discrète et plus ponctuelle, car elle demande un investissement de laboratoire relativement important, aussi bien en produits qu'en matériels. De plus elle est plus problématique dans les prélèvements et leurs transports dans les conditions karstiques qui ne sont pas toujours très faciles pour respecter l'asepsie et les conditions de survie microbiennes, indispensables à une étude scientifique microbiologique correcte.

Il y a donc eu beaucoup moins d'investigations sur ce sujet. Cette branche de la microbiologie scientifique peut être utile à beaucoup d'industries comme la pharmacie, l'industrie biotechnologique et l'écologie environnementale... Par la connaissance de nouvelles souches microbiennes, ainsi que de leurs potentiels métaboliques et cataboliques pouvant déboucher sur la production de nouveaux médicaments, d'enzymes ou de colorants...

Nous savons également depuis des recherches réalisées lors d'études nosocomiales, que la flore commensale des personnes immergées temporairement dans un milieu microbien particulier peut se modifier légèrement.

Les spécificités du monde souterrain : les milieux souterrains constituent un écosystème très favorable pour les études scientifiques, car ils sont bien délimités et ils contiennent peu d'êtres vivants. Ils permettent de suivre l'évolution de la zone épigée.

Les caractéristiques physiques principales des cavités en milieu karstique sont : une absence de lumière, une humidité élevée et relativement constante, une température presque invariable (à partir d'une certaine profondeur) et le plus souvent fraîche ou même froide. L'obscurité absolue entraîne automatiquement l'absence complète de végétaux verts capables de photosynthèse. Certains micro-organismes sont cependant capables d'effectuer des synthèses organiques dans



l'obscurité, mais leur contribution à la balance énergétique de l'écosystème est quantitativement faible. Ils peuvent cependant intervenir dans l'alimentation du micro-biotope cavernicole.

Cette spécificité du karst ne peut qu'être à l'origine de spécificités microbiologiques du microbiote rencontré. Pour nous orienter sur les caractéristiques de la flore microbiologique pouvant vivre dans ce monde si particulier, nous analyserons les quelques études retrouvées dans la littérature. Au vu des connaissances actuelles, six ont retenu notre attention :

- *Four Windows Cave* au Nouveau-Mexique (États-Unis d'Amérique)
- La grotte ornée de Magura (Bulgarie)
- Le gouffre de la Sambuy en Savoie (France)
- La grotte de Lechuguilla qui se trouve au sein du Parc national de *Carlsbad caverns* (Nouveau Mexique) aux États-Unis d'Amérique (fin 2011).
- "*Nocardia jejuensis sp. nov., a novel actinomycete isolated from a natural cave on Jeju Island. Republic of Korea*"; Correspondence Soon Dong Lee. Department of Science Education, Cheju National University, Jeju 690-756, Republic of Korea
- La thèse de doctorat en médecine de Michel LUQUET de 1969, qui sera présentée dans la partie microbiologie atmosphérique et qui regroupe des analyses faites sur neuf cavités du territoire français.

Dans le domaine du canyonisme qui se pratique plus dans la zone épigée, que dans l'hypogée, la flore microbienne sera plus proche de nos connaissances habituelles, malgré cela, il nous a semblé intéressant d'analyser les effets du parasitisme ambiant et de la contamination aquatique, pouvant être à l'origine de pathologies spécifiques, parfois d'une extrême gravité.

Le médecin intervenant en spéléo-secours doit être informé des conditions microbiologiques du karst et des pathologies potentielles de cette flore, ceci afin de mieux cibler prophylaxie et thérapeutique. Le médecin généraliste doit lui aussi être attentif aux activités de plein air de son patient. La longueur des temps d'incubation des maladies sont bien souvent une des difficultés à l'origine des retards de diagnostic des pathologies contractées lors de ces activités.

Avant Propos

Afin de rendre la lecture plus accessible à tous, nous allons suivre deux types de présentation, l'une qui sera environnementale et qui partira de la flore du sol en allant vers la flore aquatique pour finir par la flore atmosphérique, tout ceci en suivant si possible le classement taxonomique pour avoir une synthèse réaliste de la microbiologie liée à l'environnement karstique.

CHAPITRE 1

GENÈSE DE LA VIE DU KARST

D'après de nombreux auteurs, les éléments organiques de la vie ont commencé à se structurer aux environs de 4,5 milliards d'années (Hadéen). Selon Alexandre Oparine et John Haldane, durant l'Archéen qui a suivi, l'atmosphère primitive sur terre est alors formée de méthane, d'ammoniac, de vapeur d'eau, de gaz carbonique et d'hydrogène qui sont dans leur ensemble des gaz réducteurs. À cette période il y a eu formation de « la soupe primordiale », résultante de réactions chimiques d'oxydoréduction entretenues par l'énergie solaire, le volcanisme et le magma — sources de chaleur et de niveau kéraunique^a élevé ; celle-ci a donné naissance aux briques élémentaires de la vie sur terre (formation des acides aminés et des composés organiques).

D'après Graham Cairns et Günter Wächtershäuser la présence d'argile et de pyrite, a dû jouer un rôle dans l'agglutination des molécules de base par les charges électromagnétiques de ces minéraux hydrophiles et la micro-cristallisation en feuillets de l'argile. Celle-ci a permis, par l'orientation hydrophile/hydrophobe et peut-être la polymérisation des briques élémentaires, une formation possible des protéines de base et même les prémisses de l'ARN. Mais il reste à ce jour beaucoup de choses à découvrir pour arriver à la complexité de la genèse de la vie actuellement observée.

L'évolution de la genèse bactérienne sur terre peut être estimée avant le Paléoproterozoïque ou Méso-archéen (3,6 à 3,2 milliards années). Les stromatolithes de la formation de Siyeh, datées du début précambrien soit 3,5 milliard d'années, en sont des traces (les stromatolithes sont des amas microbiens calcifiés). À cette époque la forme bactérienne était principalement en anaérobiose (ce qui est un caractère des germes telluriques) et la rudesse des conditions de vie laisse suggérer à un comportement extrêmophile³.

Actuellement les fossiles bactériens de cette période qui ont pu être observés ont été datés de 1,9 milliards d'années (présence du germe *Gunflintia*)⁴. Les bactéries ont donc existé avant toute vie végétale ou animale organisée (*métazoaires*).

Nous voyons donc qu'une grande partie de la diversité microbienne a eu un jour une origine tellurique. Il serait prétentieux et fastidieux de vouloir faire un recensement exhaustif des microorganismes, nous allons limiter cette diversité à ce que les bactériologistes appellent les microorganismes telluriques, c'est-à-dire ceux qui sont trouvés le plus communément dans le sol et pouvant être pathogènes pour l'Homme ou l'animal.

Les procaryotes sont les microorganismes dont l'ADN n'est pas inclus dans un noyau. Dans leurs formes unicellulaires ils portent le nom de bactéries. Les bactéries sont classées dans la classe des monères qui se divisent en deux sous-classes : archéobactéries et les eubactéries. Les archéobactéries se divisent en cinq phylums : *Crenarchaeota*^b, *Euryarchaeota*^c, *Korarchaeota*,

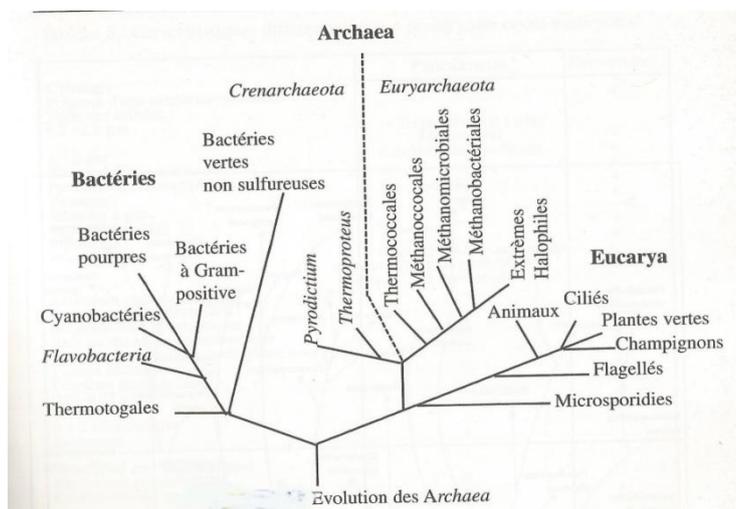


Diagramme extrait du Mémento de technique de microbiologie, Jean-Paul LARPENT et Monique LARPENT-GOURGAUD ed. Lavoisier

a/ niveau kéraunique : niveau d'énergie de la foudre, fréquente à cette période suite à l'effet de serre de cette atmosphère.

b/ crenarchaeota : sont thermophiles ou hyper-thermophiles (extrêmophiles).

c/ euryarchaeota : qui comprend les *Halobacteria*, *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Thermoplasmata*, *Thermococci*... Ce phylum est considéré comme étant la branche qui a pu relier les Archaea aux eucaryotes.

Nanoarchaeota^d, *Thaumarchaeota*^e. L'évolution bactérienne semble avoir suivie des ramifications qui n'ont pas toutes eues les mêmes finalités, c'est-à-dire la formation des *métazoaires*. D'après certains auteurs les *Euryarchaeota* seraient les ascendants les plus directs des *métazoaires*.

L'université Heinrich-Heine, à Düsseldorf, en Allemagne, a étudié 134 génomes d'archées et d'eubactéries, et ont comparé leurs génomes ; ils en ont conclu que le génome d'eubactérie est cinq fois plus présent dans les archées, qu'en sens inverse. Marc-André Selosse du Muséum d'histoire naturelle de Paris précise que ces résultats expliqueraient un paradoxe apparent du génome des eucaryotes, qui comporte des gènes des eubactéries et des archées : « *Les eucaryotes seraient nés de l'introduction, dans une archée ancestrale, de gènes d'eubactéries.* » Cette archée qui a donné les eucaryotes constitue un groupe différent des archées et elle aurait suivi une autre voie dans l'évolution. Cette différenciation a eu lieu aux environs de -2 milliards d'années.

Certains auteurs suggèrent une théorie où les eucaryotes (règne végétal et animal) se sont développés à partir d'une fusion entre des archéobactéries et des eubactéries, fusion elle-même découlant de l'évolution d'une relation symbiotique entre ces deux formes microbiennes (présence des chloroplastes microbiens dans les végétaux). Cette théorie est aujourd'hui largement acceptée en raison de la variété de faits connus qui la soutiennent.

1.1. GENÈSE MICROBIENNE DANS LE SOL

1.1.1 Bactéries autotrophes

Les organismes autotrophes pour le carbone peuvent se développer dans un environnement (ou un milieu de culture) purement minéral, ils sont capables de synthétiser tous les composants organiques des cellules uniquement à partir de substrats minéraux, de l'eau et du gaz carbonique. À l'origine les archéobactéries, qui étaient autotrophes, sont les plus répandues comparativement aux autres espèces animales ou végétales. Cette flore joue un rôle important car elle permet la vie dans les endroits les plus arides, sans substances organiques pour entretenir cette vie. On conçoit que ces microorganismes aient pu créer la matière organique, qui a été à l'origine du monde vivant, les bactéries hétérotrophes, dans un lointain passé.

Nous connaissons dans cette catégorie les genres chimio-lithotrophes qui tirent leur énergie de l'oxydation de composés minéraux, utilisent le CO₂ comme source de carbone, des composés minéraux variés comme source de pouvoir réducteur, H⁺ et électrons (substrat à oxyder = *carburant*), des accepteurs d'électrons variés (accepteur à réduire = *comburant*). Dans ces bactéries nous avons *Bacillus panctotrophus*, *Hydrogenomona* et ils vivent dans des environnements contenant de l'hydrogène. Ces bactéries transforment l'eau (oxyde d'hydrogène) et l'énergie est utilisée dans la synthèse de leurs constituants. Les *Carboxydomonas* qui puisent leur énergie dans l'oxydation du carbone minéral, les *Méthanomonas* qui peuvent oxyder le méthane pour obtenir leur énergie.

Vers la fin du Paléoprotérozoïque, vers -1,6 milliards d'années, il y a eu une augmentation significative du taux d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui a entraîné la disparition de la plupart des formes de vie. En effet, celles-ci étaient anaérobies et ne résistaient pas à l'augmentation du taux d'oxygène. Les seuls survivants furent ceux qui ont résisté aux effets oxydants de l'oxygène ou qui vivaient dans un environnement à l'abri de la présence d'air (tel que le sol et les fonds marins).

Il a été mis en évidence que les germes telluriques comme les archéobactéries, les eubactéries se sont individualisés progressivement vers -1,5 milliards d'années, lorsque la terre est passée de l'anaérobiose à l'aérobiose avec une adaptation d'une partie de la flore bactérienne à l'aérobiose. Cette augmentation de l'oxygénation de l'atmosphère a eu deux origines qui sont la formation d'oxygène par la réaction chimique d'oxydoréduction due au volcanisme et la formation par

^d *nanoarchaeota* : *Archaea* découvert en 2002 dans une cheminée au large de l'Islande. Les souches de ce microbe se retrouvent également sur l'Enroulement dorsale océanique (thermophiles et halophiles).

^e *thaumarchaeota* : comprend les *Nitrososphaerales*, *Nitrospumilales*...



l'absorption et la chimiosynthèse du gaz carbonique et la photosynthèse bactérienne. Celle-ci est due à :

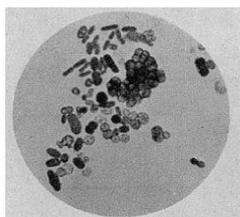
- Bactéries vertes (Chlorobactéries) et Bactéries pourpres (Rhodobactéries), sulfito-réductrices, anoxygéniques qui ont absorbé une partie du gaz carbonique.
- Bactéries vertes et pourpres non sulfito-réductrices (chlorophylliennes) et les Cyanobactéries qui sont productrices d'oxygène.

Les bactéries pourpres et vertes sulfito-réductrices réduisent l'anhydride sulfureux en soufre pour obtenir de l'énergie, elles fixent le CO_2 comme source de carbone pour leur constitution, elles ne produisent pas d'oxygène. Les bactéries vertes et pourpres non sulfito-réductrices et les cyanobactéries produisent de l'oxygène à partir du gaz carbonique par la lumière et par la fonction chlorophyllienne et fixe le carbone. Elles ont contribué à l'oxygénation de l'atmosphère terrestre et à la diversification des eubactéries.

Cycle de l'azote dans le sol

Dans le sol, les bactéries de nitrification enchaînent un cycle, qui part de l'air pour finir en éléments azotés pour nourrir les microorganismes, les insectes et les plantes. Les *Rhizobium* et *Azotobacter* fixent l'azote de l'air sous forme ammoniac (et ammoniacque). Étant donné que le *Rhizobium* vit en symbiose avec la végétation, nous avons peu de chances de trouver ce genre dans le karst. Mais il n'en est pas de même pour l'*Azotobacter* (les plus connues sont : **Az. chroococcum** et **Az. vinelandii**)⁵. Nous pouvons aussi mettre dans cette liste des germes ne possédant pas cette caractéristique comme l'entérobactérie du genre *Citrobacter*, qui fixe l'azote de l'air, que l'on peut trouver dans des sols chargés en matières organiques (les *Citrobacters* sont pathogènes pour l'Homme, donnant des gastroentérites et même des méningites chez le nouveau-né)⁶.

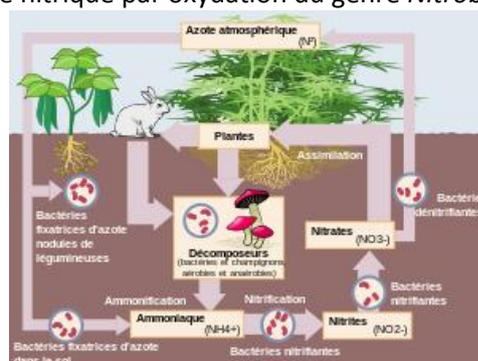
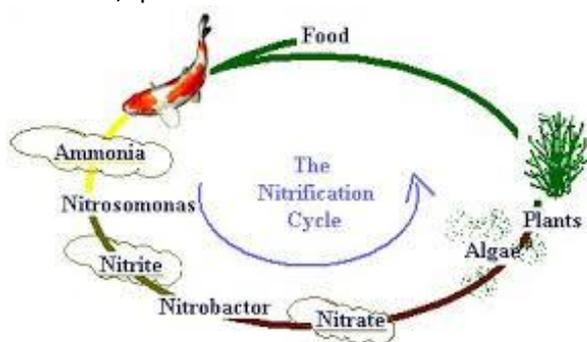
Azotobacters



(Photo : Azotobacter en bâtonnets et Kystes)

Les Azotobacters sont des bactéries mobiles et en forme de bâtonnets. Elles sont non pathogènes, ne peuvent pas causer de maladies chez les humains et les autres organismes. De nombreuses espèces produisent un mucus épais. Ces bactéries sont également remarquables pour la production de gros kystes, qui visent à protéger les bactéries quand elles sont dans un état de repos.

L'ammoniac que ces bactéries produisent par la fixation de l'azote de l'air est repris par les genres *Nitrosomonas* et *Nitrosococcus*, qui le transforment en nitrite par oxydation, donnant de l'acide nitreux, qui lui-même va être retransformé en acide nitrique par oxydation du genre *Nitrobacter*...



(Images [-www.Koipondcentral.com/articles/images/nitrificatio-cycles])

Nous voyons ainsi que la vie peut naître même dans des milieux très hostiles, grâce aux bactéries autotrophes, afin de créer les éléments vitaux qui permettront aux bactéries hétérotrophes de vivre.

1.1.2 Bactéries hétérotrophes

Les bactéries hétérotrophes sont saprophytes et demandent pour vivre d'avoir un apport plus ou

moins équilibré de substances organiques. Dans l'environnement karstique, pour que le développement bactérien se fasse, il doit y avoir un équilibre autotrophe et hétérotrophe. Ces équilibres vont permettre aux protozoaires de se développer grâce aux bactéries. Suite à cela, les insectes pourront vivre par la consommation de bactéries et de protozoaires...

Les champignons vont vivre aux dépens de cette flore microbienne, des insectes, et les insectes vont consommer les champignons, cela crée l'équilibre vital karstique. Les algues qui demandent une fonction chlorophyllienne sont présentes dans la zone épigée (surface du sol) et, sont très peu présentes dans le karst. Éventuellement, les genres algues rouges et cyanophycées peuvent être présents, étant moins exigeants dans ce type de métabolisme photosynthétique. Il en est de même pour les lichens, seuls ceux qui seront constitués par des algues rouges en symbiose avec les champignons peuvent être présents dans le karst.

De ce tableau, nous pouvons orienter nos recherches sur les éléments microbiens qui ont le plus de probabilité de se trouver dans le monde karstique.

1.1.3 La flore microbienne des sols

La zone épigée du sol analysée par Waksman⁷ — microbiologiste des sols —, relève pour les États-Unis d'Amérique :

Profondeur du prélèvement	Sol de Forêt en germes /g	Sol sableux en germes /g
Surface à 0 cm	3 Milliards	0,86 Milliard
À 10 cm	1,5 Milliard	0,67 Milliard
A 20 cm	0,6 Milliard	0,46 Milliard

Nous pouvons constater que les sols des forêts sont très chargés en bactéries et que le taux de contamination baisse rapidement avec la profondeur de prélèvement. Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans la flore microbienne au niveau quantitatif (nombre de germes) et qualitatif (biodiversité du sol) : le climat, la température ambiante, l'hygrométrie, la ventilation de l'air, la capacité de rétention en eau, la présence de matières organiques, la capacité d'échanges d'ions, l'aW du milieu, le pH et le rH du sol. Cela implique qu'il existe une variation saisonnière et locale de la flore microbienne des sols.

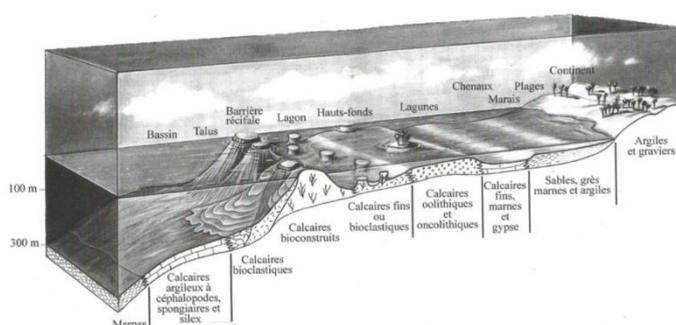
1.1.4 Genèse du karst

Le karst est un paysage qui peut apparaître dans des roches variées, que l'on peut regrouper en trois grandes familles :

- Les roches carbonatées qui correspondent à environ 10 % de la surface des continents et 30 % du paysage français (calcaires).
- Les roches sulfatées.
- Les roches salines.

Les roches carbonatées qui ont une origine marine, proviennent principalement de la calcification des êtres vivants : coquilles, restes d'oursins, coraux, squelettes, algues calcifiées, etc.

La constitution du karst, va varier en fonction du dépôt, de la profondeur marine où le dépôt s'est produit et de la distance à la côte au moment de la sédimentation. Il va aussi varier en fonction des pressions exercées par la charge supérieure de la sédimentation. Les calcaires sont d'autant plus gris qu'ils sont plus anciens. Le diagramme ci-dessous nous montre les différentes formes de karst et



Reconstitution de la plate-forme charentaise au Mésozoïque
(d'après Tournepiche, 1999).

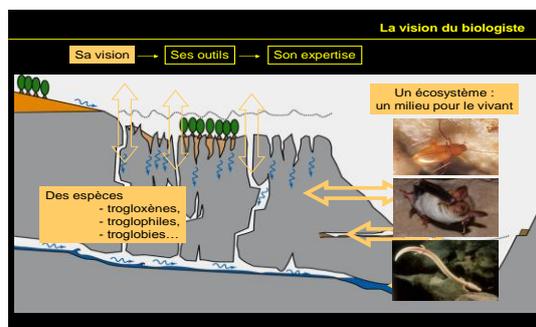
Schéma extrait de Précis de Karstologie de Jean-Noël SALOMON

leurs constitutions en fonction de la position au moment où la sédimentation s'est produite. Le schéma ci-contre nous montre la diversité des formes karstiques calcaires en fonction de leur origine marine et de l'intensité de l'activité biologique.

Les formes du karst ont pu émerger des fonds marins, là où la vie était intense c'est-à-dire sur le plateau continental. Les caractères lithologiques acquis initialement par les différentes roches se conservent en grande partie et jouent un rôle dans la karstification, une fois ces dernières émergées. Bien entendu, il existe des variations du faciès du paléo-environnement qui sont la résultante de multiples aléas tectoniques (la pression, les fissurations, les décollements de parois, les glissements de terrain, les alluvions dus au ruissellement et le comportement hydrogéologique de l'eau et des glaciations) qui ont forgé le karst actuel.

La flore microbiologique et la faune cavernicole vont s'adapter à ces différents milieux en gardant des traces génétiques de leur passé lointain.

Dans la partie karstique (endo-karstique) la profondeur doit être prise en considération à partir de l'endo-karst (cavité) qui est en partie aéré.



(Présentation Stage Équipier Scientifique 2011 – FFS)⁸

1.2 VIE BACTÉRIENNE DANS LE KARST

Les bactéries hétérotrophes sont saprophytes, elles ont besoin de substances organiques pour vivre. Dans le karst, les substances organiques proviennent en majorité de l'épi-karst, ainsi que de la symbiose entre bactéries autotrophes et bactéries hétérotrophes.

1.2.1 Contaminations anthropiques

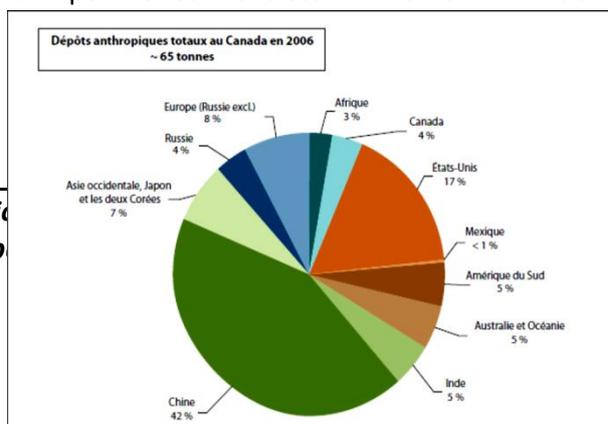
Si nous reprenons les observations faites par Waksman sur la zone épigée, nous pouvons conclure que les cavités profondes ont une contamination quasi nulle, sous réserve qu'elles restent fermées. À partir du moment où nous ouvrons une cavité, les possibilités de contaminations augmentent par l'air extérieur et par la pénétration d'insectes : animaux troglodèles (hôtes accidentels) ou troglodiles (partageant leur vie avec l'extérieur). Les microorganismes sont apportés par les déjections des insectes, par les gastéropodes, les arachnides, les coléoptères, les diptères, les lépidoptères... ou d'animaux (comme les chiroptères, les muridés...), et les animaux domestiques égarés. Leurs cadavres vont permettre le développement bactérien et fongique dans l'endo-karst. Le passage de l'eau plus ou moins polluée et le taux de l'humidité ambiante vont favoriser l'évolution de la contamination. Le facteur limitant sera le manque de matière organique qui limitera la contamination hétérotrophe.

Il est donc difficile d'évaluer les risques sans l'analyse de ces paramètres dans les cavités. C'est pour cela que l'étude qui va suivre, plutôt qu'informer sur les risques réels, va donner un aperçu des possibilités éventuelles de contamination intrinsèque et de ses conséquences en pathologie humaine⁹.

1.2.2 Pollution anthropique

Les cavités ont été souvent prises comme déversoir de détrit, comme fosse septique pour éliminer les eaux résiduelles, les eaux d'égouts, ou pour éliminer les déchets toxiques, radioactifs ainsi que des armes non utilisés par l'armée. Ces actions ont pour effet d'entretenir une contamination souterraine et une pollution plus ou moins organique des eaux, qui parcourent les réseaux karstiques¹⁰.

La pollution organique des cavités va entraîner une modification de la flore bactérienne initiale,



qui peut devenir de ce fait hétérotrophe c'est-à-dire de tendance plus pathogène. Les débris en fermentation et en décomposition vont être vecteurs d'une flore fongique, qui sera suivie par une flore microbienne dans son catabolisme. L'apport de substances azotées, hydrocarbonées et de graisses va entretenir une flore hétérotrophe, qui supplantera la flore autotrophe, ce changement de biotope peut entraîner des modifications de la faune cavernicole...

La présence de l'Homme sera également un paramètre de variation de cette flore par l'apport de sa propre flore commensale, (voir chapitre 6).

Dans les cavités ouvertes au public, la lumière devient un facteur de pollution par la modification de la flore fongique photo-blastique^f et bactérienne phototrophe^g.

Dépôts anthropiques totaux en fonction des pays



Composition relative en polluants gazeux

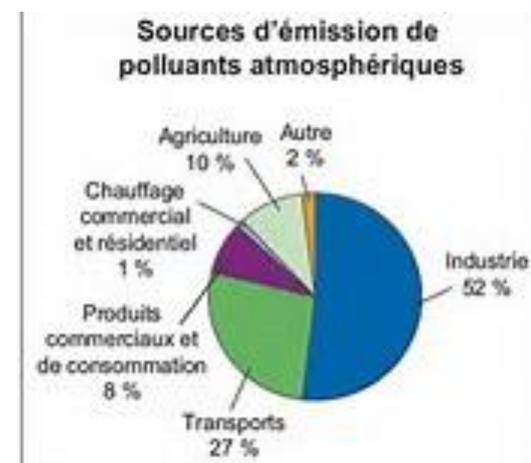
1.2.3 Pollution atmosphérique karstique

Le gaz carbonique ou dioxyde de carbone est plus lourd que l'air. Il est naturellement présent en plus grande quantité dans les cavités karstiques que dans l'air extérieur (formation des concrétions par dépôts de calcite et libération de CO₂). Il peut être très abondant

dans les cavités où l'activité hydrique est très agressive (sources très actives, chutes d'eau, qui dégazent le CO₂ dissous dans l'eau). Il est abondant dans les gouffres profonds et les avens où le volume d'air est faible. Mais depuis plusieurs années le taux de CO₂ augmente dans les cavités et doit être contrôlé régulièrement.

Cette augmentation est le reflet de la pollution atmosphérique locale. Ceci a pour effet de faire légèrement varier la flore aérobie pour une flore anaérobie. La décomposition de matières organiques (feuilles, bois, déchets ménagers...) peut être un élément de production de gaz carbonique, par la fermentation...

Les indicateurs de la présence importante de gaz carbonique sont : le dysfonctionnement des lampes acétylènes, l'accélération involontaire de la respiration, l'augmentation de la fréquence cardiaque et la sensation d'étouffement. Ces symptômes sont d'autant plus marqués lorsque l'on se baisse pour ramasser un objet.



<http://www.bing.com/images/search?q=Pollution+anthropique&qvvt=Pollution+anthropique&qvvt&FROM=IGRE#view=detail>

1.2.4 Pollution opportuniste

Il peut arriver que dans les cavités des cadavres d'animaux soient présents. Ils proviennent, soit d'animaux perdus qui n'ont pu sortir de la cavité ou soit de cadavres jetés volontairement par leurs propriétaires. Ces cadavres sont toujours une source nutritionnelle pour une flore fongique et bactérienne hétérotrophe. De ce fait il y a formation de contamination ambiante. Certaines maladies animales peuvent se transmettre à l'homme (enzootie) même après de temps relativement long. Il est important de prendre des précautions afin d'éviter tout contact avec cette pollution.

f/ photo-blastique : qui a besoin de la lumière pour se reproduire

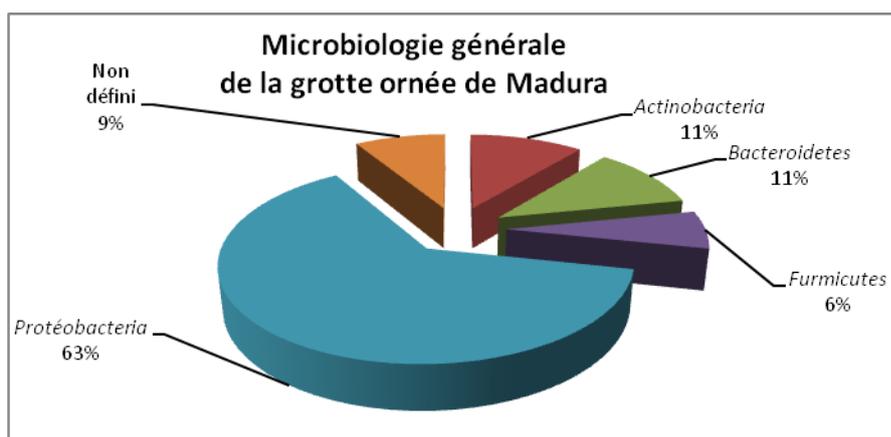
g/ phototrophe : qui a besoin de lumière pour synthétiser sa matière organique ; ex. : *Algues*, *Phytoplancton* ou *Planctomycetes*, ...

Description de la grotte : bien que située dans un environnement froid cette grotte est colonisée par des bactéries psychrophiles et psychrotolérantes (Schabereiter-Gurtner et al., 2002 ; Barton and Northup, 2007) ; elles sont résistantes à l'humidité, à l'absence de lumière et à la pauvreté en nutriments. La flore microbienne s'est organisée afin de survivre dans cet environnement hostile, les bactéries autotrophes ont permis de fixer l'azote de l'air et de former du salpêtre et ainsi entretenir la flore hétérotrophe existante. Cette grotte qui reçoit chaque année un nombre important de visiteurs, fait l'objet d'un suivi bactériologique afin d'éviter que la flore anthropique n'altère les ornements qui en font sa richesse. La grotte de Madura située sur une colline calcaire d'une hauteur de 461 m, date de 15 millions d'années. Elle est composée d'une galerie de calcaire du crétacé dont la longueur est de 240 m et de 3 700 m² au sol.

Méthodologie

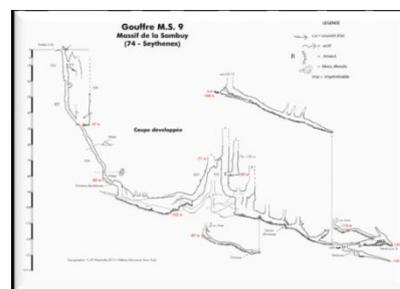
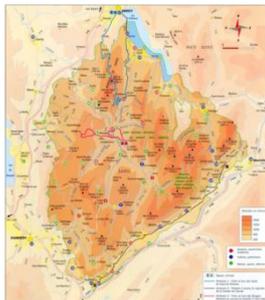
Analyse d'amplification et de restriction de l'ADNr 16s : les isolats ont été soumis à l'analyse de l'ADNr 16s afin de déterminer leur appartenance phylogénétique. L'ADN génomique d'un bouillon de culture des souches a été isolé en utilisant l'ADN bactérien *GenElute kit* (*Sigma*). Le gène de l'ARNr a été amplifié à partir de l'ADN extrait à l'aide d'amorces bactériennes spécifiques au gène ARNr 16s (Weisburg et al., 1991).

La répartition générale des procaryotes : dans cette étude 46 bactéries hétérotrophes ont été isolées et cultivées.



2.1.3 Gouffre de la Sambuy¹³

Situation de la cavité et Topographie



CAF Albertville (H.Manuse, Y. Tual)

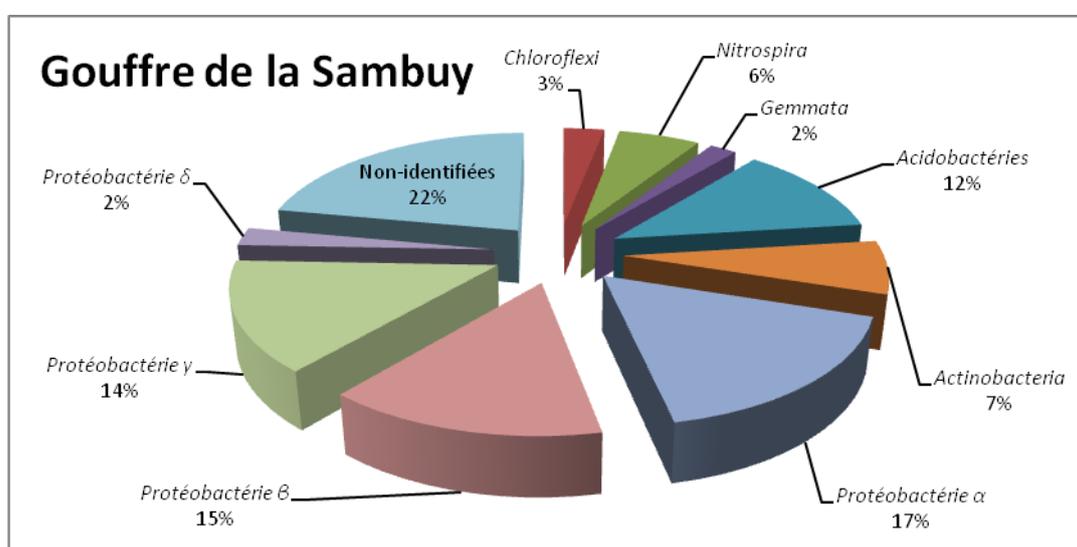


Conditions climatiques le 23 février 2013

À -30 m direction vers le bas	Galerie dans la partie centrale de la grotte à -100 m	Galerie au fond de la grotte
Section: 0,75 m ² Vitesse de l'air : 3,5m/s Température : -2,5 °C débit de l'air : 2,62 m ³ /s	Section : 2,4 m ² Vitesse d'air: 0, 3M/s Température:-0,4° C Débit: 0, 75m ³ /s	T° de l'air : 2,9° C Vitesse de l'air = 0,5 m/s Débit = 0, 75 m ³ /s

Méthodologie : la méthodologie employée en microbiologie est similaire à celle utilisée dans la grotte de Madura, c'est-à-dire une analyse de la diversité bactérienne par amplification PCR-clonage et par séquençage partiel de l'ARNr 16s pour les procaryotes et analyse de la diversité par ARNr 18s pour les eucaryotes.

Répartition des procaryotes



L'analyse microbiologique du sol des cavités se fera suivant un ordre taxonomique afin d'éviter les redondances dans les caractéristiques d'une même classe.

La Classification bactérienne

Afin de mieux suivre l'évolution de la classification bactérienne qui a fortement été remaniée, suite aux recherches sur les génomes, nous présenterons les procaryotes sous la forme d'une classification comprenant l'ordre suivant :

Embranchements _ Phylums _ Ordres _ Familles _ Genre _ Espèces

- Les Gram(-) sont composés d'une membrane formée d'une couche lipo-protéinique et d'une paroi muco-peptidique qui enveloppe la membrane cytoplasmique.
- Les Gram(+) n'ont pas de membrane lipo-protéinique, ils ne retiennent pas les colorant lipophiles.



Caractéristiques de classification

Classes	Gram
<i>Firmicutes</i>	(+)
<i>Actinobacteria</i>	(+)
<i>Protéobacteria</i>	(-)
<i>Enterobacteria</i>	(-)
<i>Non-proteobacteria</i>	(-)

Molécules membranaires interférant avec la phagocytose des bactéries et leur destruction

Micro-organismes	Composants de surface	Maladie
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Capsule polysaccharidique	Cryptococcose
<i>Streptococcus pyogènes</i>	Protéine M	Fièvre rhumatoïde
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Capsule polysaccharidique	Pneumonie
<i>Bacillus anthracis</i>	Capsule polypeptidique	Charbon
<i>Salmonella typhi</i>	Sucre aminé (antigène Vi)	Fièvre Typhoïde
<i>Escherichia coli</i>	Antigène K (polysaccharidique)	Diarrhée
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mucus polysaccharidique	Infection des brûlés
<i>Yersinia pestis</i>	Complexe protéine polysaccharidique	Peste bubonique
<i>Treponema pallidum</i>	Acide hyaluronique de l'enveloppe	Syphilis
<i>Staphylococcus aureus</i>	Protéine A	Infection, septicémie et infection de la peau

2.2 EMBRANCHEMENT ACTINOBACTERIA (BV5)

2.2.1 Classe *Actinobacteria*

Classification de Stackebrandt, Rainey & Ward-Rainey, 1997

Dans cet embranchement nous avons les sous classes suivantes :

- *Sous-classe des Acidimicrobidae*
 - *Ordre Acidimicrobiales*
- *Sous classe des Actinobacteridae*
 - *Ordre Actinomycetales*
 - *Ordre Bifidobacteriales*
 - *Ordre Nitriliruptorales*
- *Sous classe des Coriobacteridae*
 - *Ordre Coriobacteriales*
- *Sous classe des Rubrobacteridae*
 - *Ordre Rubrobacteriales*
 - *Ordre Solirubrobacterales*
 - *Ordre Thermoleophilales*

Winogradsky¹⁴ — pédo-microbiologiste russe —, nous cite la famille des *Actinomycetaceae* comme étant fort répandue dans les sols. Les graphiques de la flore des cavités (voir ci-dessus) nous confirment cette observation avec une forte présence *Actinobactéria*.



C'est donc par cette classe bactérienne *Actinobacteria* que nous allons commencer notre étude micro-organique des sols karstiques. Leur caractère acido-résistant les rapproche des fongiques et leur permet une meilleure adaptation aux conditions austères du sol.

Les *Actinomycètes* (*Actinobacteria* Lynn Margulis 1974) sont un groupe d'eubactéries de Gram(+). La plupart d'entre elles se trouvent dans le sol. Elles comprennent quelques-uns des principaux acteurs de la vie du sol, elles y jouent un rôle important dans la décomposition des matières organiques, comme la cellulose et la chitine. Certaines classifications font entrer le phylum *Actinobacteria* dans les α protéobactéries, ceci étant lié à la valeur élevée de (G+C).

***Actinobacteria* aérobies vivant principalement dans les sols**

Genres	Morphologie	Mobilité	Catalase
<i>Aeromicrobium</i>	Bâtonnet	(-)	(+)
<i>Arthobacter</i>	Bâtonnet où Coque	(±)	(+)
<i>Pimelobacter</i>	Bâtonnet	(+)	(+)
<i>Terrabacter</i>	Bâtonnet où Coque	(-)	(+)
<i>Agromyces</i>	Filamenteux	(-)	(-)
<i>Cellulomonas</i>	Bâtonnet où Coque	(±)	(+)

➤ **Ordre Actinomycetales** ; Ces organismes ont été pendant longtemps considérés comme des champignons car ils ont des formes filamenteuses, de 0,5 à 0,8 μ de diamètre. C'est un ordre qui est entre les bactéries et les fongiques, c'est cette ambiguïté qui lui donne une grande résistance dans les milieux hostiles. Bactéries de Gram(+) ayant tendance à donner des filaments ramifiés avec des cystes (fruits), appelés endospores, afin de résister à un milieu nutritif défavorable (par exemple la présence de myxomycètes dans le milieu). Généralement saprophytes, quelques espèces sont strictement pathogènes. Culture sur milieu Sabouraud + pénicilline ou milieu Lœwenstein. Cet ordre se divise en trois familles :

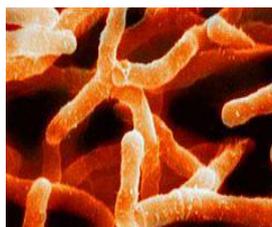
- Famille des *Actinomycetaceae*, bactéries sans mycélium, bacilles ou forme coccoïde. Pas de spores et non acido-alcool-résistantes (type respiratoire variable).
- Famille des *Mycobacteriaceae*, (aérobies préférentielles) acido-alcool-résistantes.
- Famille des *Dermatophilaceae*, mycélium divisé en éléments mobiles.

Dans le sol, les bactéries les plus remarquables par leur résistance et les plus proches de la flore fongique sont de l'ordre des *Actinomycetales* filamenteuses ou ramifiées. Dans cette catégorie nous allons étudier en particulier les genres :

- *Actinomycetaceae* (Actinomycose).
- *Nocardiaceae* (Nocardiose).
- *Streptomycetaceae* (les germes pathogènes de cette famille ont été déclassés dans les *Nocardia* après analyses génomiques).
- *Campylobacteraceae* (à l'origine de pathologies digestives).

Ces germes sont souvent recherchés par les laboratoires pharmaceutiques et l'industrie biotechnologique.

2.2.1.1 Genre *Actinomyces* ramifiés



(Images « -<http://translate.googleusercontent.com/actinomyces+israelii+symptômes> »)

Actinomyces israelii

A. israelii, est un germe de Gram(+) et anaérobie connu pour être commensal^h de l'Homme, c'est un pathogène opportuniste et une cause d'actinomycose¹⁵.

Actinomycose

L'actinomycose est une infection qui peut se présenter comme une pseudotumeur inflammatoire localisée dans un tissu sous-cutané, avec une colonisation du vagin, du côlon et de la bouche, dans ce dernier cas elle s'étend généralement au visage ou au cou. Il existe cependant d'autres formes souvent plus graves, pulmonaires, abdominales ou cérébrales. Il y a plusieurs formes : faciale par ramollissement des tissus ; pleuro-pulmonaire se caractérisant par l'apparition de lésions proches de celles de la tuberculose, mais se localisant essentiellement aux lobes pulmonaires inférieurs ; pelvienne ; et la forme généralisée se caractérisant par l'apparition de lésions multiples dans l'organisme concernant essentiellement la peau, les vertèbres et les viscères.

La maladie se développe souvent à la suite d'un traumatisme buccal, notamment les abcès dentaires ou une chirurgie dentaire. Elle se caractérise par des douleurs localisées dans la bouche, les poumons ou dans l'appareil digestif qui dans ce cas peut donner une diverticuliteⁱ, de la fièvre, des douleurs abdominales et une perte de poids. Dans des cas sévères, les *Actinomyces* pénètrent dans les os ou les muscles pour former des abcès qui se rompent ensuite pour libérer du pus. Les abcès d'actinomycose s'élargissent au fur et à mesure que la maladie progresse, souvent pendant des mois.

2.2.1.2 Famille *Nocardiaceae* ; Genre *Nocardia*



Nocardia

Les *Nocardia* sont constitués de coccobacilles, de formes filamenteuses ou, plus rarement, fragmentées ou en palissades se développant dans un schéma morphologique similaire à la ramification des hyphes fongiques^j. Gram(+), ils sont aérobies, non exigeants. **Nocardiaceae** se trouve couramment dans le sol et l'eau.



(Image « -www.fotofinder.com »)

De nombreux membres de cette famille intègrent des acides mycosiques dont l'acide spécifique LL-DAP^k et les sucres dont l'arabinose et le galactose, dans leurs parois cellulaires analysées par chromatographie. Le ***Nocardia* spp.** peut être confondu avec des fongiques lorsqu'on l'examine sous un microscope après une coloration de Gram. Les milieux de culture sont Sabouraud ou Læwenstein-Jensen ou milieu de Ogawa pH 6,8.

Pathogénicité et toxicité : les infections nocardiales sont principalement des infections opportunistes^{16,17}. Elles se manifestent sous trois formes principales : pulmonaires, généralisées ou cutanées¹⁸.

➤ Les infections pulmonaires entraînent habituellement une bronchopneumonie aiguë, chronique ou récidivante qui se propage parfois aux cavités et à la plèvre. Les symptômes sont notamment une toux, une dyspnée et de la fièvre. L'infection pulmonaire peut mener à des complications généralisées ou neurologiques comme une méningite et des abcès du cerveau, le taux de mortalité des patients est alors d'environ 50 %¹⁹.

h/ commensale : micro-organisme qui est l'hôte habituel d'un organisme sans lui causer de dommage.

i/ diverticulite : maladie digestive qui implique la formation de poches (diverticules) dans la paroi de l'intestin.

j/ hyphes fongiques : filaments mycéliens.

k/ LL-DAP : forme méso ou hydroxylée de l'acide 2,6,diaminopimélique.



➤ Les infections généralisées causées par *Nocardia* sont rares et surviennent souvent chez les personnes immunodéprimées.

➤ Les infections cutanées, appelées mycétomes, sont caractérisées par des pustules, de la fièvre, une lymphadénite douloureuse dans les ganglions lymphatiques environnants, un abcès et un écoulement jaunâtre ou blanchâtre granuleux.

Hôtes : il a été montré que les humains et une grande variété d'animaux (bovins, chats, chiens, poulets, canards, poissons, chèvres, moutons et porcs) étaient porteurs de la bactérie.

Épidémiologie : le genre *Nocardia* est distribué partout dans le monde, car il est souvent présent dans l'environnement et dans le sol, cependant, certaines espèces sont plus fréquentes dans certaines régions géographiques.

➤ *N. cyriacigeorgica*, *N. farcinica* et *N. nova* sont souvent trouvées dans les pays non tropicaux.

➤ *N. brasiliensis*, souvent à l'origine des lésions sous-cutanées, se retrouve dans les régions à climat tropical ou subtropical de l'Amérique.

➤ *N. asteroides* est habituellement l'agent étiologique de la nocardiose pulmonaire.

➤ *N. otitidiscaviarum* — qui se trouve aux États-Unis, en Inde, au Japon et en Tunisie — Nous rapportons un cas rare de nocardiose pulmonaire avec des abcès du cerveau causés par *Nocardia otitidiscaviarum* chez une femme âgée, atteinte d'une pathologie pulmonaire obstructive chronique.

➤ *N. intercellularis* et *N. caviae* qui sont des bactéries pénétrant dans l'organisme par voie surtout pulmonaire, parfois digestive et plus rarement dentaire, parfois à l'occasion d'un traumatisme avec atteinte osseuse. Les lésions sont suppuratives, chroniques, pseudo-tumorales, parfois à type de pustules ou d'ulcérations, survenant surtout chez l'enfant et intéressant la joue, le nez ou le front. L'évolution est bénigne sous antibiothérapie. Un terrain immunodéprimé doit toujours être suspecté²⁰.

Les cas sont sporadiques, la majorité survient chez les personnes de 21 à 50 ans et le ratio homme-femme est de 3/1.

➤ *N. sp arthritidis*

Agent pathogène isolé chez un patient atteint de polyarthrite rhumatoïde au Japon.

➤ *N. madurae* et *N. pelletieri*

Ces bactéries peuvent donner des mycétomes, fréquents dans les régions tropicales, qui sont des affections cutanées avec gonflement de la plante et du dos du pied, appelées « *Le Pied de Madura* ». Les principaux foyers sont l'Afrique sahélienne, l'Inde et le Mexique.

Symptômes du Pied de Madura

Le début est insidieux, indolore, pouvant durer des mois voire des années. La contamination s'effectue par de microtraumatismes (écharde de bois, épines d'arbustes, brûlures). Cela se manifeste d'abord par une sensation de pesanteur puis par l'apparition d'une tuméfaction qui augmente lentement mais progressivement. Puis apparaissent des fistules laissant sourdre du pus avec des grains de couleur différentes. La localisation la plus fréquente est le pied, surtout en Afrique où l'on marche pieds nus. La plante des pieds devient convexe, les orteils ne touchant plus le sol. L'aspect du pied en pomme d'arrosoir est typique, d'autres localisations sont possibles : cuisses, jambes, genoux, creux poplité, voire le membre supérieur (coude, bras, avant-bras, mains). Le mycétome peut affecter l'os sous-jacent. Avec un traitement antibiotique approprié, le mycétome guérit d'ordinaire en quelques semaines, quoique cela puisse prendre jusqu'à trois mois avant qu'il ne disparaisse complètement ; non traitée, l'amputation chirurgicale peut être le seul traitement efficace.

D'autres agents pathogènes fongiques et bactériens peuvent être à l'origine de cette pathologie, entre autres : *Actinomadura madurae*¹, *Madurella mycetomi*^m aux Indes et en Afrique.

¹ *Actinomadura madurae* : appartient à la classe des *Actinomyces*.



Dans une grotte naturelle sur l'île de Jeju, République de Corée, à la première analyse, il a été identifié un *Actinobacteria*. La séquence du gène ARNr 16s a été déterminée par l'analyse du produit PCR purifié et a été comparée à celles du genre *Nocardia*. Il a été révélé par l'analyse phylogénétique que l'organisme forme un clade distinct entre le *Nocardia salmonicidacluster* et le *Nocardia albabranche* dans la branche d'évolution occupé par le genre *Nocardia* et qui a été nommé *N. jejuensis*. (Department of Science Education, Cheju National University, Jeju 690-756, Republic of Korea).

Transmissibilité : la bactérie n'est pas transmissible d'une personne à une autre, mais plutôt par contact avec des souches présentes dans l'environnement.

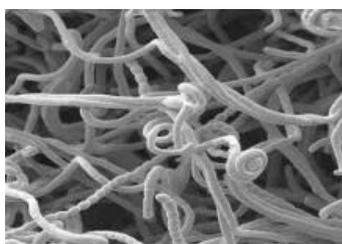
Réservoir : le sol, la végétation en putréfaction, les boues d'épuration, l'eau, les plantes et les tissus animaux (y compris les tissus humains) sont des réservoirs de la bactérie. Les bactéries du genre *Nocardia* sont des saprophytes et survivent dans le sol et les matières végétales en putréfaction.

Traitement : la plupart des espèces sont sensibles au triméthoprim-sulfaméthoxazole, à l'amikacine, à l'ampicilline, à la carbénicilline, aux céphalosporines à large spectre, à la minocycline, à l'érythromycine, à la ciprofloxacine, à la clindamycine, à l'imipénem et au cotrimoxazole, mais résistent à la pénicilline et aux agents antituberculeux et antifongiques.

Diagnostic : on peut recourir au test ELISA pour le dépistage des anticorps monoclonaux spécifiques de *Nocardia*, à la PCR, à des méthodes de dépistage séquentielles et à l'observation au microscope (crachats, pus) pour déterminer quelles espèces sont présentes chez l'hôte^{21,22}.

2.2.1.3 Genre *Streptomyces*.

Ordre Actinomycetales ; Famille Streptomycetaceae



(Image "hpt-
://labitacoradehmbloiddt.blogspot.com/20
11/12/dor-terra-majada-el-sagrad-
aroma-del".)

Streptomyces

Morphologie : ils apparaissent sous forme filamenteuse, ramifiée, portant des conidies et des arthospores en chaînes, généralement très longues. Gram(+).

Métabolisme : sucre (faible), protéolyse(+).

Culture : 15 jours sur gélose Sabouraud ou Læwenstein-Jensen, ou milieu de Menzies et Dade ou milieu Pridham pH 7,3. Les colonies sont pigmentées, elles évoquent des colonies de fongiques par leurs bords irréguliers et velus. Ils produisent un mycélium aérien calcaire avec beaucoup de ramifications (48-72 heures).

Habitat : ces microbes sont saprophytes du sol. Le domaine karstique est un milieu propice au développement du phylum des *Actinobacteria*, ce qui rend les investigations karstiques dans cette microflore très intéressantes aussi bien sur le plan médical que sur le plan biotechnologique. Ce sont des germes très recherchés par les laboratoires de biotechnologie et l'industrie pharmaceutique pour la production des antibiotiques et des enzymes.

2.2.2 *Actinobacteria* dans Four Windows Cave

Dans cette grotte sur trente identifications, huit appartenait au phylum *Actinobacteria*. La liste ci-dessous précise les spécificités des bactéries observées. Bactérie de Gram(+), avec une valeur de (Guanine + Cytosine) forte.

2.2.2.1 *Streptoalloteichus hindustanus*

Ordre Actinomycetales ; Famille Pseudonocardiaceae.

m/ *Madurella* : fongique du phylum Ascomyceta de la classe hyphomyceta.



Fédération Française
de Spéléologie

– Commission Médicale FFS (CoMed) –
Risques Biologiques en Spéléologie et Canyonisme



Il regroupe deux espèces, utilisées pour la production de certains antibiotiques :

- *Streptoalloteichus hindustanus* pour la production de tallysomycine, un antitumoral utilisé en chimiothérapie²³ ;
- *Streptoalloteichus tenebrarius*, classée il y a peu parmi les *Strepomyces*, pour la production d'aparamycine et de tobramycine²⁴.

2.2.2.2 *Actinobispora yunnanensis*

Classé dans les *Nocardioformes*ⁿ. Caractéristiques : Gram(-) ; aérobie ; sa paroi contient de l'acide méso-diaminopimélique ; (G+C = 71 %).

Morphologie : forme un mycélium fugace, qui se fractionne en forme de tiges de 90,3 à 0,6 µm de diamètre, avec une structure de surface composée d'un hyphes aérien clairsemé, irrégulièrement ramifié et qui porte une seule paires d'endospores aux parois lisses.

Pathologie : à ce jour aucune pathologie n'a été signalée.

2.2.2.3 *Pseudonocardia sulfidoxydans*

Caractéristiques : Gram(+) ; (G+C = 74 %).

Morphologie : bactérie constituée d'un mycélium aérien, ramifié et végétatif. Capables d'oxyder le diméthyl-disulfite et de le dégrader. Elle est présente dans les boues industrielles et est capable de croître sur 1,4 dioxane et les polluants toxiques qui sont considérés comme des cancérigènes.

Pathologie : non signalée.

2.2.2.4 *Pseudonocardia saturnea*

Genre de la famille des bactéries *Pseudocardiaceae*. Des membres de ce genre ont été découverts vivants sur la cuticule des fourmis coupe-feuilles. Ils forment des spores aériennes en zigzag et peuvent se retrouver sur la plaque pleurale^o de certains malades.

2.2.2.5 *Nocardiopsis dassonvillei*

Caractéristiques : bactérie aérobie ; Gram(+) ; anciennement *Nocardia dassonvillei*.

Pathologie : une des causes d'actinomycétome. « Rapport d'un cas de mycétome causé par *Nocardiopsis dassonvillei* chez un homme de 39 ans. Il avait plusieurs nodules de la face antérieure de la jambe droite juste au-dessous du genou. Quelques granules de couleur crème ont été vus dans l'exsudat. L'échantillon de biopsie a montré des granules Gram(+). Un actinomycète aérobie isolé de la lésion a été identifié comme *N. dassonvillei*. Nous pensons que c'est le premier cas signalé de mycétome causé par *N. dassonvillei*. »²⁵

2.2.2.6 *Frankia sp.*

Bactéries de l'ordre des *Actinomycetales*, de la famille *Frankiaceae*. Ce sont des bactéries Gram(+). Elles sont filamenteuses, fixatrices d'azote, et se développent par extension et ramification. Elles sont utilisées pour la production d'antibiotiques. Elles vivent dans le sol en association symbiotique avec les racines des plantes non légumineuses appelées « plantes actinorhiziennes » (essentiellement des arbres ou arbustes adaptés aux stress écologiques des sols comme la salinité élevée, les métaux lourds ou les pH extrêmes).

n/ nocardioformes : groupe hétérogène en forme de filaments qui se dissocient rapidement en petits éléments. Quelques genres produisent un mycélium aérien avec des chaînettes de spores. Ils se distinguent entre eux par le chimiotype de la paroi bactérienne entre présence ou absence d'acide mycolique et d'autres caractères chimiques. Ils en existent quatre groupes.

o/ plaques pleurales : zones de cicatrices de la plèvre, la membrane entourant les poumons et la doublant à l'intérieur de la cage thoracique. La cicatrisation est causée par des fibres d'amiante qui vont se loger dans cette plèvre. Habituellement les plaques pleurales ne provoquent pas de déficience respiratoire, elles sont un marqueur de l'exposition à l'amiante.



2.2.2.7 *Streptomyces galbus*

Ce *Streptomycète* isolé du sol, est un producteur d'antibiotique et de fongicide.

2.2.3 *Actinobacteria* de la grotte ornée de Magura

Dans cette grotte le phylum *Actinobacteria* représente 11 % de la flore totale.

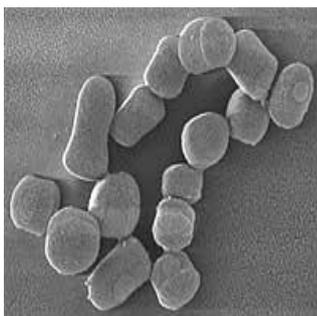
2.2.3.1 Genre *Arthrobacter*

Embranchement : *Actinobacteria* ; **Ordre :** *Actinomycetales* ; **Famille :** *Micrococcaceae*

Elles sont aussi appelées corynebactéries.

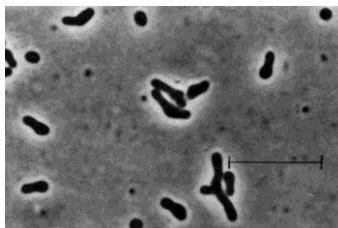
Arthrobacter

Morphologie : ils sont de coloration de Gram(+). La morphologie des cellules est variable selon les conditions de culture (bâtonnets à coccoïde), les cellules sont mobiles ou immobiles. En phase de croissance exponentielle, les *Arthrobacter* sont des bacilles irréguliers ramifiés et peuvent se diviser par cassure. Lorsqu'elles sont en phase stationnaire, les cellules prennent une forme coccoïde. Ce sont des bactéries aérobies, chimio-hétérotrophes. L'habitat principal de ces bactéries est dans le sol mais certaines espèces peuvent être isolées dans des biotopes différents (eaux usées, humus, animaux). Dans l'environnement, ces micro-organismes interviennent dans la biodégradation des hydrocarbures, des tanins et de la cellulose. Ils peuvent même dégrader certains herbicides et les pesticides.



Caractéristiques biochimiques : mobilité(-); catalase(+); développement à 17 °C; donne peu ou pas acide à partir du glucose; ADN-ase(+). Milieu de culture : gélose au sang.

Les espèces les plus connues du genre *Arthrobacter* sont :



*Arthrobacter globiformis*²⁶

Environnement : bactérie très fréquente dans le sol.

Caractéristiques : joue un rôle important dans l'oxydation de l'ammoniac pour former des nitrites. Elle a la faculté de détruire les pesticides dans les sols et de réduire le chrome hexavalent (qui est toxique).

- *Arthrobacter globiformis* : *Arthrobacter pasces*, *A. aurescens*, *A. ramosus* qui sont isolés du sol.
- *Arthrobacter creatinolyticus*, *A. cumminisi*²⁷ qui sont isolés des prélèvements humains. Ils sont fréquemment rencontrés dans les analyses cliniques et les contrôles nosocomiaux.
- *Arthrobacter ilicis* : responsable d'une maladie du houx.

2.2.3.2 Genre et espèce *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus est une bactérie Gram(+), sphérique, saprophyte faisant partie de la famille des *Micrococcaceae*. Aérobie obligatoire, *M. luteus* est une bactérie du sol, des poussières, de l'eau et de l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. La bactérie peut aussi coloniser la bouche, les muqueuses de l'oropharynx et des voies respiratoires supérieures chez l'Homme.

Bien que *M. luteus* ne soit pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent pouvant engendrer des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés. *M. luteus* est résistant à un potentiel hydrique réduit et peut tolérer la dessiccation et de fortes concentrations salines.



M. luteus est coagulase(-), sensible à la bacitracine, et forme des colonies jaunes brillantes sur un milieu Agar. Afin de le différencier de **Staphylococcus aureus**, un antibiogramme à la bacitracine peut être réalisé.

Il a été montré que **M. luteus** peut survivre dans des environnements oligotrophes durant de très longues périodes. Un travail récent de Greenblat et al. a démontré que **M. luteus** peut survivre durant au moins 34 000 à 170 000 ans sur la base d'analyses de l'ARN 16S²⁸.

Il sera plus développé dans la partie microbiologie atmosphérique du karst (chapitre 6).

2.2.4 Actinobacteria du gouffre de la Sambuy

Dans les prélèvements du gouffre de la Sambuy, l'ordre des Actinomycetales représentent 7 % de la flore totale analysée. Cette flore n'a pas été identifiée en genres et en espèces. Nous pouvons nous rapporter aux descriptions des pathologies généralement observées des *Actinobacteria*.

2.3 EMBRANCHEMENT EOBACTERIA

Les *eobacteria* sont un taxon de bactéries proposé par Cavalier-Smith afin de regrouper les *chlorobactéria* et *hadobacteria*. Les espèces de ce groupe n'ont pas de lipopolysaccharides.

Dans cette classe on trouve :

➤ Phylum *Deinococcus*

➤ Phylum *Chloroflexi*

2.3.1 Phylum *Chloroflexie*

Les *Chloroflexi* ou les *Chlorobacteria* contiennent des isolats présentant une diversité de phénotypes, dont les membres Gram(-) qui sont thermophiles, aérobies et se développent à des températures élevées. Organismes utilisant la lumière pour la photosynthèse, anaérobies et halophiles et qui utilisent les halogénés organiques (comme l'éthylène, des composés chlorés toxiques) comme sources d'énergie.

Depuis 2001 cependant de nouvelles classes ont été créés grâce à une espèce nouvellement découverte, le phylum *Chloroflexi*²⁹:

2.3.1.1 Genre *Thermomicrobia*

D'après Hugenholtz et Stackebrandt, 2004, c'est un phylum qui présente le phénotype des bactéries vertes non-soufrées. Elles sont thermophiles. Certains la considèrent comme une sous-division des bactéries vertes non-sulfurées dérivée de l'embranchement des *Chloroflexi*.

2.3.1.2 Genre *Dehalococcoidetes*

D'après Hugenholtz et Stackebrandt, 2004 : les deux espèces connues de *Dehalococcoidetes* ont une coloration Gram(-). Elles attaquent les alcools et les dérivés chlorés. Elles ont une seule enveloppe peptidoglycane à la place des pseudopeptidoglycanes. Elles résistent aux antibiotiques de peptidoglycane et à l'ampicilline et à la vancomycine.

2.3.1.3 Genre *Anaerolineae*

D'après Yamada and al., 2006 : cette *Anaerolinea thermolimosa* est un thermophile, non sporulé, connu dans l'industrie fromagère, non mobile, Gram(-), bactéries filamenteuses.

2.3.1.4 Genre *Caldilineae*

D'après Yamada and al., 2006 : cette bactérie de l'espèce *Caldilinea aerophila* est une bactérie filamenteuse thermophile. Elle est Gram(-), non sporulée.

2.3.1.5 Genre *Ktedonobacteria*

D'après Cavaletti and al., 2007, et Yabe and al., 2010 : cette bactérie est une bactérie thermophile; aérobie ; de Gram(+); elle forme des mycéliums végétatif sporulés ; croissance à 50 °C, avec aucune croissance observée à une température <28 °C et au-dessus de 60 °C ; pH d'activité de 5,4 à 8,7. Teneur en ADN (G+C = 54 %).

2.3.1.6 Genre *Chloroflexus*

Dans *Four Windows Cave* l'espèce qui a été identifiée est *Chloroflexus aurantiacus*.

➤ Espèce *Chloroflexus aurantiacus*



Photographies de chloroflexi :

Métabolisme : les *Chloroflexi* sont connus sous le nom de bactéries vertes non sulfureuses, ils présentent une diversité de phénotypes dont certains sont soit thermophiles aérobies, qui utilisent l'oxygène de l'air et peuvent pousser à des températures élevées, organismes phototrophes, ou soit des organismes d'halo-respiration anaérobie, qui utilisent les halogènes organiques (comme les éthanes chlorés toxiques et les polychlorophényles) comme sources d'énergie ; ils constituent l'essentiel des bactéries phototrophes anoxygéniques (qui n'utilise pas l'oxygène de l'air).

Morphologie : ils ont une structure filamenteuse, se déplacent par glissement. Ils ne peuvent pas fixer le dioxyde de carbone, ils sont donc photo-hétérotrophes. Une partie de cette famille est classée dans les *Thermomicrobia*. Leur pigment vert, le plus souvent se trouve dans des organites photosynthétiques appelés chlorosomes.

Il est de Gram(-), a une photosynthèse bactérienne de type II et contient une bactériochlorophylle(a) et dans les chlorosomes une bactériochlorophylle(c) qui lui donne la couleur verte. Il est isolé des sources chaudes. C'est un organisme thermophile qui peut se développer à des températures de 35 °C à 70 °C. *Chloroflexus aurantiacus* peut survivre dans l'obscurité si l'oxygène est disponible. Lorsqu'il est cultivé dans l'obscurité, *Chloroflexus aurantiacus* a une couleur orange foncé. Lorsqu'il est cultivé en plein soleil, il est vert foncé. Les bactéries individuelles tendent à former des colonies filamenteuses enfermées dans des gaines, qui sont appelés trichomes^p.

Il est phototrophe mais ne produit pas d'oxygène comme sous-produit de la photosynthèse. Il utilise la réduction du soufre composé tels que le sulfure d'hydrogène, les thiosulfates ou le soufre élémentaire. Cela contredit le nom de bactéries vertes non sulfureuses, mais les *Chloroflexi spp.*, peuvent également utiliser l'hydrogène (H₂) comme source d'électron.

Cette bactérie a suscité un grand intérêt dans l'évolution de la photosynthèse des plantes car elle nous a permis de comprendre l'évolution d'une photosynthèse anoxygénique vers une photosynthèse oxygénique.

Pathogénicité : à ce jour aucune pathogénicité n'a été signalée.

^{p/} **trichomes :** (du grec [τρίχωμα—trikhoma] qui signifie « croissance de poil »), ce sont de fines excroissances ou appendices chez les plantes et certains protistes. Leurs fonctions et leurs structures diffèrent. On peut citer comme exemple les poils, les poils glandulaires et les écailles.

2.4 EMBRANCHEMENT, AUTRES GN

Dans cet embranchement on trouve les phylums suivants :

- *Fusobacteria*
- *Acidobacteria*
 - Ordre *Acidobacteriales*
 - Ordre *Acanthopleuribacterales*
 - Ordre *Holophagales*
 - Ordre *Solibacterales*
- *Armatimonadetes*
 - Ordre *Armatimonadales*.
 - Ordre *Chthonomonadales*.
 - Ordre *Fimbriimonadales*
- *Caldiserica*
- *Deferribacteres*
- *Dictyoglomi*
- *Elusimicrobia*
- *Gemmatimonadetes*
- *Nitrospirae*
- *Synergistetes*

2.4.1 Phylum *Fusobacteria*

Classe *Fusobacteria* ; Ordre *Fusobacteriales* ; Famille *Fusobacteriaceae*

Fusobacterium est une bactérie filamenteuse anaérobie. Elle est Gram(-). Les *Fusobacterium* contribuent à plusieurs maladies humaines, y compris les maladies parodontales^q, le syndrome de Lemierre^r ou des ulcères cutanés tropicaux et pourrait être une des causes du cancer colorectal. Bien que plusieurs sources aient déclaré le *Fusobacterium* comme commensale dans l'oropharynx de l'homme, le consensus actuel est de toujours considérer *Fusobacterium* comme un agent pathogène³⁰.

Dans cet embranchement on a :

- ***Fusobacterium necrophorum*** : responsable du syndrome de Lemierre et serait responsable de 10 % des maux de gorge aigus et 21 % des maux de gorges récurrents. Il peut dans certain cas entraîner des méningites par thrombose des veines cérébrales et des infections urogénitales et des voies gastro-intestinales³¹. Cette bactérie est présente dans les sols, elle cause des infections chez les ovins appelées scalde elle peut survivre plusieurs centaines d'années dans la terre.
- ***Fusobacterium nucleatum*** : étrangère à la cavité buccale de l'homme et joue un rôle dans les maladies parodontales. Elle est réputée pour causer des infections mixtes humaines et animales.
- ***Streptobacillus moniliformis*** : commensal du rat, elle donne la fièvre de la morsure de rat ; fait partie de l'embranchement du *Fusobacteria* (voir les rongeurs chapitre 3).

Fièvre d'Haverhill ou fièvre Streptobacillaire

Espèce : *Streptobacillus moniliformis*

Streptobacillus moniliformis est une bactérie habituellement retrouvée dans la cavité buccale et les voies respiratoires supérieures du rat, cependant elle peut se comporter comme un pathogène opportuniste chez son hôte. Elle est isolée du naso-pharynx, du pharynx, de la trachée et de l'oreille

q/ maladies parodontales : on regroupe sous le terme de **maladies parodontales** les maladies touchant les tissus de soutien des dents. L'ensemble de ces tissus est appelé parodonte.

r/ Syndrome de Lemierre ou **septicémie post-anginale** ou encore **nécrobacillose** : maladie rare mais grave causée principalement par la bactérie *Fusobacterium necrophorum*, qui est la deuxième cause d'angines bactériennes, après les streptocoques hémolytiques du groupe A.



moyenne. 10 à 100 % des rats sont porteurs sains de ce germe.

Pathologie

Streptobacillus moniliformis peut se comporter comme un pathogène opportuniste et est alors responsable d'otites moyennes, de conjonctivites, de pneumonies en association avec des *Pasteurella* ou des mycoplasmes et elle est responsable de la Streptobacillose ou fièvre de Haverhill.

Transmission

La Streptobacillose est transmise par contact direct avec les sécrétions buccales, nasales et oculaires, ainsi que par morsure de rat contaminé. Il peut également y avoir transmission indirecte par consommation d'aliments et d'eau contaminés par des déjections. Le risque d'infection après morsure est d'environ 10 %.

Symptômes

En cas de morsure la plaie guérit sans complications. Le temps d'incubation est de 3 à 21 jours ; à la fin de cette période, on observe souvent l'apparition subite de fièvre avec céphalées, frissons et vomissements. L'un des principaux symptômes est une inflammation articulaire aiguë (arthrite) qui peut durer plusieurs mois. On a parfois une inflammation du pharynx ainsi que des taches cutanées de couleur rouge dues à l'infiltration de sang sous la peau (pétéchies) au niveau de la paume des mains, de la plante des pieds et des membres. La forme sévère de la maladie peut provoquer une endocardite fatale (inflammation de la membrane interne du cœur), une péricardite et une ténosynovite (inflammation de la gaine synoviale).

Diagnostic

On procède à un isolement du germe dans le sang (hémoculture) ou dans le liquide synovial. Cependant ces techniques sont difficiles à mettre en œuvre du fait de la difficulté de culture de *Streptobacillus moniliformis*. C'est pourquoi on préfère faire un diagnostic sérologique à partir du 10^{ème} jour ou encore un test d'hémagglutination sur lame. D'autres techniques comme un test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ou IFA (indirect immunofluorescence assay) peuvent être utilisés pour l'identification de cette bactérie chez les animaux de laboratoire mais ils ne sont pas disponibles pour le diagnostic chez l'homme. La streptobacillose est donc une maladie difficile à diagnostiquer, dont le nombre de cas est probablement sous-estimé.

Traitement

L'antibiothérapie donne d'excellents résultats, elle consiste en un traitement à la pénicilline G pendant 10 à 14 jours, que l'on renforce parfois de streptomycine pour détruire les formes L résistantes.

2.4.2 Phylum Acidobacteria

Les *Acidobacteria* forment une division du règne des bactéries, qui sont acidophiles. Bien que très peu étudiée, cette division contribue particulièrement aux écosystèmes.

2.4.2.1 Classification

- Classe : *Acidobacteriae* de Cavalier-Smith, 2002
 - *Acidobacteriaceae*
 - ✓ *Acidobacterium*
 - ✓ *Edaphobacter*
 - ✓ *Terriglobus*
- Classification de Fukunaga, Kurahashi, Yanagi, Yokota & Harayama, 2008
 - *Acanthopleuribacterales*
 - ✓ *Acanthopleuribacteraceae*
 - ✓ *Acanthopleuribacter*
 - Holophagales
 - Holophagaceae* (famille qui à deux genres):
 - ✓ *Geothrix*



✓ *Holophaga*

Dans cette dernière famille on a les genres suivants :

Classe : *Holophagae* ; Ordre *Holophagales* ; Famille *Holophagaceae*

➤ **Genre *Geothrix*** : l'espèce connue *Geothrix fermentans* est une bactérie anaérobie, en forme de bâtonnet. Elle mesure 0,1 µm de diamètre et varie de 2 à 3 µm en longueur. On la trouve habituellement dans les sédiments aquatiques tels que les aquifères. Elles ont un comportement chimio-organotrophe ; cet organisme est surtout connu pour sa capacité à utiliser les accepteurs d'électrons Fe (III), ainsi que des autres métaux au potentiel élevé.

➤ **Genre *Holophaga*** : ce germe Gram(-) est présent dans les lacs salés, cet *Acidobacteria* du genre *Holophaga* est retrouvé dans des proportions importantes dans les sédiments du lac Qinghai (Chine), cette observation semble être unique. Elle est connue sous l'espèce *Holophaga foetida*. C'est une bactérie homoacétogène, dégradant les méthoxylés composés aromatiques. Elle est anaérobie et en forme de batonnet.

Pour des raisons d'identification nous garderons la classification de 2002 pour les observations faites dans les cavités afin d'éviter toutes erreurs de réidentification.

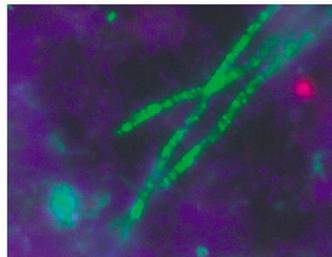
2.4.2.2 *Acidobacteria* dans *Four Windows Cave*

Ordre *Acidobacteriales* (donné par Cavalier-Smith 2002)

2.4.2.2.1 Genre *Acidobacterium*

Phylum *Acidobacteria* ; Ordre *Acidobacteriales* ; Famille *Acidobacteriaceae* ; Genre *Acidobacterium* ; Espèce *Acidobacterium Capsulatum*

Acidobacterium capsulatum



Bactérie acidophile et mésophile, de Gram(-) ; non sporulée ; mobile en forme de tiges individuelles ; reproduction par division cellulaire ; elle est anaérobie facultative ; chimio-organotrophe.

Les sucres et les pectines sont des substrats de croissance privilégiés. Capable de fermenter les sucres de plusieurs polysaccharides, y compris la cellulose ; H₂S et indol négatif à partir du tryptophane. NaCl inhibe la croissance à 1 % ; ADN valeur (G+C = 57,6 % de mol).

Les habitats sont les lieux humides et acides.

Habitat : le milieu de *Four Windows Cave* est particulièrement acide, de par son origine géologique (laves basaltiques).

Pathogénicité : non signalée à ce jour.

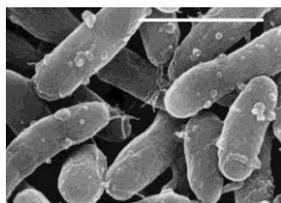
2.4.2.3 *Acidobacteria* de la grotte ornée de Magura

Les bactéries acidophiles n'ont pas été analysées dans cette cavité.

2.4.2.4. *Acidobacteria* du gouffre de la Sambuy

Dans ce gouffre il a été recensé 12 % (du génome) d'*Acidobacteries*, qui n'ont pas été identifiées

2.4.3 Phylum des *Gemmatimonadetes*



Gemmatimonadetes

Le premier et seul membre de ce phylum a été découvert en 2003 dans la boue d'un système de traitement des eaux usées. La bactérie a été nommée **Gemmatimonas aurantiaca**, c'est une Gram(-) en forme de tige, elle est aérobique et semble se reproduire par bourgeonnement.

2.4.3.1 Genre *Gemmatimonas aurantiaca* dans *Four Windows Cave*

Dans cette grotte aucun *Gemmatimonadetes* n'a été identifié ou n'a fait l'objet d'analyses particulières.

2.4.3.2 Genre *Gemmatimonas aurantiaca* dans la grotte ornée de Magura

Dans cette grotte aucun *Gemmatimonadetes* n'a été identifié ou n'ont fait l'objet d'analyses particulières.

2.4.3.3 Genre *Gemmatimonas aurantiaca* dans Gouffre de la Sambuy

Ordre *Gemmatimoniales* ; Famille : *Gemmatimonaceae* ; Genre *Gemmatimonas*

Cette bactérie a été identifiée dans cette cavité dans environ 2 % du génome analysé.

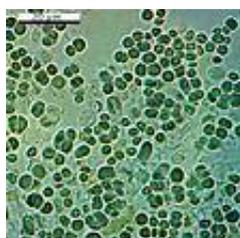
2.4.3.4 Genre *Gemmatimonas*

Espèce *Gemmatimonas aurantiaca*

Description et signification : le phylum des *Gemmatimonadetes* est un groupe bactérien très récemment décrit, dont les membres sont très répandus dans la nature, en particulier dans les habitats de sol. Il y a qu'un seul représentant cultivé de ce phylum qui est ***Gemmatimonas aurantiaca***. (Joseph et al.). C'est une bactérie Gram(-) en forme de bâtonnet aérobique qui est non sporulant. Il est mobile par l'utilisation de flagelles. ***G. aurantiaca T27T*** est une bactérie à croissance très lente. Il est capable de se développer non seulement par la respiration anaérobie dans des conditions anaérobiose, mais aussi dans des conditions aérobies. Il est de couleur orange.

Pathologie : ***G. aurantiaca*** ayant été récemment découvert, on ne sait pas si cette bactérie peut être pathogène.

2.4.4 Phylum des *Nitrospirae*



Nitrospirae

Le premier membre de ce phylum a été découvert en 1995, dans un tuyau en corrosion en fer dans un système de chauffage à Moscou. La bactérie a été nommée ***Nitrospira moscoviensis***, elle est Gram(-), organisme « azote » à morphologie en hélice ayant pour taille : longueur 0.9-2.2 x largeur 0.2-0.4 micromètres.

Ce phylum ***Nitrospirae*** comprend les genres suivants :

- *Leptospirillum*
- *Magnetobacterium*
- *Nitrospira*
- *Thermodesulfobivrio*



2.4.4.1 *Nitrospirae* dans *Four Windows Cave*

Dans cette grotte il n'a pas été analysé de germes de la division *Nitrospirae*.

2.4.4.2 *Nitrospirae* dans la grotte ornée de Magura

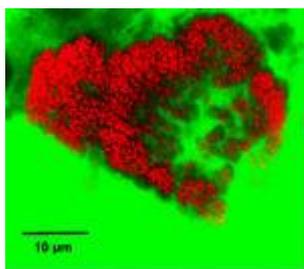
Dans cette grotte il n'a pas été analysé de germes de la division *Nitrospirae*.

2.4.4.3 *Nitrospirae* du gouffre de la Sambuy

Phylum *Nitrospirae* ; Ordre *Nitrospirales* ; Famille *Nitrospiraceae*

2.4.4.3.1 Genre *Nitrospira*

Dans le gouffre de Sambury le phylum *Nitrospirae* représentent environ 6 % des espèces microbiennes retrouvées.



(Photo : université de Vienne : Institut d'écologie et de biologie de la conservation)

Nitrospira

Morphologie : bactérie en hélice ayant pour taille $L = 0.9-2.2 \times l = 0.2-0.4$ micromètres, mobilité(+)

Caractéristiques : aérobie et anaérobie facultatif ; Gram(-) ; Indol(+); Catalase(+); Rhamnose(+); Citrate(+); Mannitol(+); VP(+)⁵ ; bactérie oxydant l'ammoniaque en acide nitreux pour donner des nitrites.

Milieu de culture : *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, enrichit en sulfate d'ammonium.

Cette bactérie joue un rôle dans la nitrification du sol et dans la transformation de l'ammoniaque en nitrite qui sera assimilé par les plantes. Elles sont très présentes dans les habitats marins. Dans les aquariums, par exemple, si le cycle d'ammoniaque/nitrite/nitrate est géré par ces bactéries, elles peuvent être pathogènes ou toxiques pour les poissons. Elle joue un rôle important dans les usines de traitement des eaux usées.

Pathogénicité : à ce jour cette bactérie semble être pathogène seulement sur les poissons. Il faudrait savoir si cette pathologie est due à des toxines produites par la bactérie ou à un métabolite qui serait non compatible avec la faune aquatique.

Dans le phylum *Nitrospirae*, il y a plusieurs genres et espèces tels que :

- Le premier membre de ce phylum, *Nitrospira marina*, a été découvert en 1985³².
- Le deuxième membre de ce phylum, *Thermodesulfovibrio yellowstonii*, a été découvert en 1994³³.
- Le troisième membre, *Nitrospira moscoviensis*, a été découvert en 1995³⁴.

Selon NCBI (10 janvier 2011), la classification de ces genres donne la liste suivante :

- *Leptospirillum* (ex-*Makrossian* 1972), Hippe 2000
- *Nitrospira*, (Watson and al., 1986)
- *Thermodesulfovibrio yellowstonii*, (Henry et coll. 1994 & Sekiguchi and al., 2008).

L'étude des données du gouffre de la Sambuy où nous retrouvons 6 % de *Nitrospirae*, ne spécifie pas les espèces et genres du phylum *Nitrospirae*. Nous allons examiner succinctement les différentes espèces qui ont été étudiées à ce jour dans ce genre bactérien.

s/ VP : réaction de Voges-Proskauer, formation acétoïne coloration rouge test positif.



2.4.4.3.2 Genre *Thermodesulfovibrio*

Thermodesulfovibrio



Morphologie : bactérie en forme de bâtonnets plus ou moins allongés, incurvés en moyenne 0,3 micromètre de large et 1,5 micromètre de long, mobiles au moyen d'un flagelle polaire.

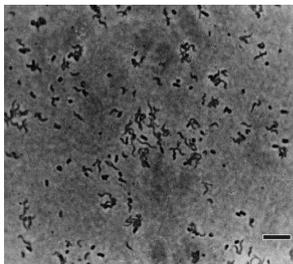
Caractéristiques : Gram(-); anaérobies; thermophiles (croissance entre 40 et 70 °C, optimum 65 °C); Les sulfates, thiosulfates et sulfites, jouent le rôle d'accepteurs d'électrons. En présence de sulfates la réduction se fait avec pour donneur d'électrons, l'hydrogène, comme des formiates, des pyruvates et des lactates. Dans ce genre on a identifié quatre espèces de **Thermodesulfovibrio**, désignées TGE-P1^T, TDV^T, TGL-LS1 et TSL-P1, qui proviennent du traitement des déchets et des eaux usées. Le contenu de l'ADN des souches présentes était (G + C = 29,5 à 45 % de mol). Les principaux acides gras cellulaires des souches ont été iso-C_{17:0}, iso-C_{16:0}, C_{16:0} et anti-iso-C_{15:0}. Les analyses phylogénétiques basées sur l'ARNr 16s révèlent que les souches appartiennent au clade **Thermodesulfovibrio**. Sur la base de leurs propriétés physiologiques, génétiques et chimio-taxonomiques, les souches TGL-LS1 (=JCM 13214) et TSL-P1 (=JCM 13215) ont été classés comme des souches de **Thermodesulfovibrio islandicus**.

Nous décrivons un vibrio sulfato-réducteur thermophile isolé de l'eau d'évacuation thermique dans le lac de Yellowstone (Wyoming, États-Unis), qui a été attribué au genre *Thermodesulfovibrio*. Le séquençage de l'ARNr 16s de la nouvelle souche a fourni la preuve que la bactérie trouvée dans le lac était **Thermodesulfovibrio**. Et que cette bactérie représente une lignée qui se ramifie au sein du domaine bactérien sulfato-réducteur, thermophile et qui est clairement distincte de la lignée phylogénétique. La souche trouvée appelée YP87 est décrite comme la souche de type du nouveau genre et espèce **Thermodesulfovibrio yellowstonii**.

Pathogénicité : à ce jour, il n'y a pas d'observation sur ce sujet.

2.4.4.3.3 Genre *Leptospirillum*

Leptospirillum



(Photo de : D.E. RAWLING, AI microbiologie)

Physiologie : bactéries de Gram(-) en forme de spirales, 0,3 et 0,5 microns de largeur et 0,9 à 3,0 microns de longueur.

Caractéristiques : aérobies obligatoires. Métaboliquement, elles sont strictement chimio-litho-autotrophiques, fixation du carbone à l'aide de fer ferreux comme donneur d'électrons et d'oxygène comme accepteur d'électrons. Pour *Leptospirillum* les espèces ont généralement peu de caractéristiques physiologiques distinctes, qui puissent les rendre identifiables; la plupart des chercheurs utilisent des analyses moléculaires pour les distinguer des autres bactéries.

L'étude de la structure génétique du *Leptospirillum* par le séquençage des ARNr 16 s dans certains isolats a démontré l'existence de nouvelles espèces de *Leptospirillum*. Il y a eu aussi plusieurs séquences de plasmides faits sur ***Leptospirillum ferrooxidans***. Le *Leptospirillum* est un genre de bactéries, qui oxydent le fer et qui jouent un rôle important dans la biolixiviation^t industrielle (conversion des métaux en une forme soluble) et la bio-oxydation (extraction des métaux). La raison de la domination de cette bactérie dans la bio-oxydation est très probablement due au fait que le ratio élevé de fer ferrique/ferreux inhibe toutes les espèces sauf les espèces de *Leptospirillum*. Cette

^{t/} **biolixiviation** : appelée aussi lixiviation biologique ou lixiviation bactérienne, c'est une technique d'extraction de métaux d'intérêts économiques d'une roche, mettant en jeu des micro-organismes capables de convertir ces métaux de la forme solide à la forme soluble, qui pourront ensuite être extraits. Cette méthode est également utilisée à des fins de purification de certains minéraux comme le quartz.



Leptospirilla contribue aussi fortement à l'acidification dans la dissolution des métaux dans le processus de drainage ; ceci rend *Leptospirilla* plus important que l'on pouvait y penser dans l'exploitation minière. Cette bactérie pose des problèmes dans les canalisations métalliques par la dissolution et l'oxydation des canalisations.

Pathogénicité : à ce jour aucune pathogénicité n'a été observée.

2.5 EMBRANCHEMENT ALPHA PROTEOBACTERIA (BV2)

2.5.1 Généralités

Population des α protéobactéries

- Nombre d'espèces : 1 488 classées sur la base de l'ARN 16S.
- Répartition actuelle : mondiale.

Les protéobactéries sont des bactéries qui possèdent de la bactériochlorophylle et qui utilisent la lumière comme source d'énergie ; cette branche bactérienne contient aussi quelques bactéries non-photosynthétiques. Les protéobactéries sont classées en quatre groupes (α , β , γ , δ) en fonction de la teneur en ADN (G+C = Guanine + Cytosine en pourcentage).

Les α protéobactéries sont un groupe très important de bactéries, dont une partie nous intéresse particulièrement pour leur adaptation à la vie dans l'eau et les sols et donc à la vie karstique. À des fins de présentation environnementale, l'analyse d'une partie des bactéries hélicoïdales de cette classe bactérienne, sera étudiée dans la partie de la parasitologie pour une meilleure compréhension du lien hôte-parasite et dans les risques aquatiques, notamment pour la leptospirose. Dans ce groupe nous trouvons de nombreux germes pathogènes qui se classent dans les groupes suivants :

Bactéries appartenant l'embranchement de α protéobactéries

- Bactéries phototropes
 - *Rhodobacters*
 - *Erythrobacter*
- Bactéries bourgeonnantes
 - *Blastobacter*
 - *Hyphomicrobium*
- Bactéries hélicoïdales, aérobies ou microaérophiles
 - *Vibrios*
 - *Helicobacters* ou *Campylobacters* (bactéries hélicoïdales, aérobies ou micro-aérophiles)
 - *Leptospira* (développé dans les risques aquatiques)
 - *Borrelia* (développé dans le parasitisme)
 - *Azospirillum* et *Herbaspirillum*
 - *Aquaspirillum*
- Bactéries en bâtonnet aérobies
 - *Agrobacterium*
 - *Bradyrhizobium*
 - *Rhizobium*
 - *Gluconobacter*
 - *Paracoccus*
 - *Nitrobacter*
 - *Thiobacillus*

(Liste donnée par Le mémento technique de microbiologie de Jean-Paul LARPENT et Monique LARPENT-GOURGAUD)

D'autres encore sont responsables de la fixation biologique de l'azote dans les sols. Nous nous intéresserons particulièrement aux *Helicobacter* qui sont particulièrement résistants dans les sols. Les *Helicobacter* sont résistants aux milieux acides grâce à une uréase puissante et donc résistent aux conditions karstiques. Les germes de la famille *Campylobacteraceae* font partie des *Helicobacter*.



2.5.2 Alpha protéobactéries dans *Four Windows Cave*

2.5.2.1 Genre *Herbaspirillum*

Phylum Protéobactéria ; Ordre Burkholderiales ; Famille Oxalobacteraceae

C'est une bactérie qui fixe l'azote dans le sol, elle a également été identifiée comme contaminant des réactifs du kit extraction ADN, ce qui peut conduire à un résultat erroné dans les analyses génotypiques³⁵.

Herbaspirillum seropedicae : présente dans les racines de graminée (le riz), oxyde l'ammoniac en nitrite. Pathogénicité : une cytotoxicité a été retrouvée³⁶.

2.5.3 Alpha protéobactéries dans la grotte de Magura

Dans les prélèvements effectués dans cette grotte nous n'avons pas pu identifier des germes appartenant aux α protéobactéries.

2.5.4 Alpha protéobactéries dans le gouffre de la Sambuy

Dans cette cavité les α protéobactéries représentent 17 % dont 7 % pour le phylum *Acidobacteria*. Vu que les identifications n'ont pas déterminé le genre et l'espèce, nous ne pouvons pas donner plus d'information que l'aspect général de ces α protéobactéries.

2.5.4.1 Genre *Candidatus*

Ordre Rhizobiales ; Famille Phyllobacteriaceae ; Genre *Candidatus*

Espèce *Candidatus magnetobacterium*



Candidatus magnetobacterium bavaricum

Morphologie : c'est l'une des plus grosses bactéries magnétostatiques connues, avec une forme en bâtonnet de 8 à 10 μm de long pour un diamètre de 1,5 à 2 μm . Elle est cependant très différente des autres bactéries magnétostatiques, partageant moins de 80 % de similitudes avec elles. Elle contient des globules de soufre, et pourrait utiliser du sulfure d'hydrogène H_2S pour produire son énergie métabolique par réaction d'oxydoréduction avec le fer. Au niveau du cytoplasme le fer ferreux est oxydé en fer ferrique dans la membrane d'un organisme appelé magnétosome. Dans cette membrane le fer ferrique moins soluble précipite et donne de nanocristaux de magnétite ($\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$), dont l'orientation sera soit Sud, soit Nord, du côté polaire de la bactérie mono-flagellée. Le champ magnétique est modifié en permanence en fonction de la température et le déplacement de nanoparticules de magnétite ou de greigite⁴. Mais l'orientation est toujours dans le sens polaire de la bactérie.

<http://en.wikipedia.org/wiki/File:magnetosome_chains_fainty_visible.jpg>

À ce jour, toutes les bactéries magnétostatiques contiennent un précipité, la magnétite ou greigite. Ces cristaux ou parfois des chaînes de cristaux, peuvent conserver l'enregistrement magnétique géologique, comme c'est le cas des magnéto-fossiles dont les plus anciennes proviennent du lit de craie du Crétacé au sud de l'Angleterre. Gunflint Chert rapporte que les magnéto-fossiles seraient vieux de 1,9 milliard d'années³⁷. Cette propriété bactérienne a fait rêver beaucoup de chercheurs qui ont imaginé utiliser ces propriétés pour cibler et orienter des éléments thérapeutiques dans l'organisme vivant³⁸.

u/ greigite : minéral de formule $\text{FeIIFeIII}_2\text{S}_4$. Ce minéral est l'équivalent soufré de la magnétite $\text{Fe(II)Fe(III)}_2\text{O}_4$. Ses propriétés magnétiques sont utilisées par certaines bactéries magnéto-tactiques, qui synthétisent des nano-cristaux de greigite afin de s'orienter par le champ magnétique terrestre.



2.6 BÉTA PROTEOBACTÉRIES

2.6.1 Généralités

Fonctions : fermentaires, saprophytes, nitrifiants, dénitrifiants, méthylotrophes, fixateurs d'azote, pathogènes.

Morphologie : coques, bâtonnets, spirilles.

Croissance : aérobies, anaérobies facultatives ou strictes, mésophiles.

Nutrition : chimio-organotrophes, lithoautotrophes.

Habitat : ubiquistes, pathogènes.

Ordres des β Protéobactéries

- **Ordre I Burkholderiales**
- **Ordre II Hydrogenophilales**
- **Ordre III Methylophilales**
- **Ordre IV Neisseriales**
- **Ordre V Nitrosomonadales**
- **Ordre VI Rhodocyclales**
- **Ordre VII Procabacteriales**
- **Beta-proteobacteria non classées** : *Chitinovorax*

Dans cette classe nous avons les bactéries suivantes :

- Aérobie : *Hydrogenomonas*, *Alcaligenes*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*...
- Aérobie facultative : *Chromobacterium*, *Spirillum*...
- Bactéries avec morphologies cocci, coccobacilli et aérobies : *Morococcus*, *Neisseria*, *Thiobacilli*...

2.6.2 Béta protéobactéries dans Four Windows Cave

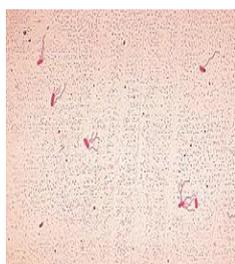
Les β protéobactéries qui ont été identifiées sont les suivantes :

2.6.2.1 Genre *Alcaligenes* ;

Ordre *Burkholderiales* ; Famille *Alcaligenaceae*

Alcaligenes

Genre de Gram(-), aérobie, autotrophe, bactéries en forme de bâtonnet, tiges ou cocci, calibrées à environ 0,5-1,0 μm diam. 0.5-1.0-2. 6 μm long. Les espèces sont mobiles avec un ou plusieurs flagelles péritriches et rarement immobiles. C'est un genre de bactéries non-fermentatives. En outre, certaines souches de *Alcaligenes* sont capables d'anaérobiose, mais ils doivent être en présence de nitrate ou de nitrite ; dans le cas contraire, leur métabolisme est en aérobose strict ; Glucose(-). *Alcaligenes* se trouve principalement dans le tractus intestinal des vertébrés, les matières en décomposition, l'eau et le sol.



Caractéristiques : dégrade les hydrocarbures et les pesticides ; fixe l'azote de l'atmosphère ; lipolytiques(+); psychrotrophes(+) se cultive à 20 °C ; protéolytique (-) ; oxydase(+); le tryptophane sert de source de carbone et d'azote. L'identification est difficile car il a un grand nombre de caractéristiques négatives.

Le genre *Alcaligenes* est divisé classiquement en trois espèces : *A. faecalis*, *A. odorans*, *A. dentrificans*. Une nouvelle espèce, *A. peichaudii*, a été décrite.

Alcaligenes faecalis provoque des septicémies nosocomiales chez les patients immunodéprimés³⁹.

Pouvoir pathogène : bactérie opportuniste, *Alcaligenes* est le plus souvent isolée en milieu hospitalier, dans des situations variées : infections urinaires, septicémies. Ces infections sont parfois consécutives à la contamination de liquides de perfusion ou de dialyse.

Sensibilité aux antibiotiques : les souches *Alcaligenes* sont généralement résistantes aux antibiotiques. L'activité des β lactamines, des aminosides, de l'acide nalidixique et du

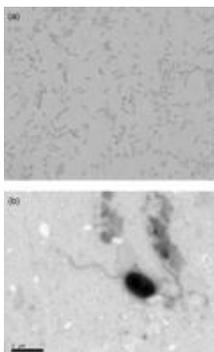


chloramphénicol est inconstante et doit être confortée par un antibiogramme. Les cyclines, la colistine et le triméthoprime-sulfaméthoxazole sont les produits les plus souvent actifs.

2.6.2.2 Genre *Duganella*

Ordre *Burkholderiales* ; Famille *Oxalobacteraceae*

Dans *Four Windows Cave* ce genre a été identifié sous l'espèce *Duganella zoogloeoides* ATCC 19544 (il y a cinq espèces actuellement connues).



Duganella zoogloeoides

Morphologie : cellule bactérienne courte, en forme de bâtonnet, mobile et non sporulé avec flagelles. Compte tenu des différences phénotypiques et génotypiques entre souche YIM 31327^T et *D. zoogloeoides*, une nouvelle espèce, *Duganella violaceinigra* sp est proposée.

Caractéristiques : cellules Gram(-), teneur en ADN (G + C = 62.8 mol %).

Milieu de culture : Plackett-Burman, incubation : bactérie mésophile, optimale à 28 – 30 °C et pH de 7,2.

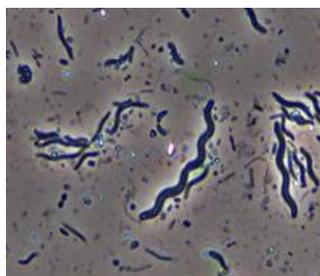
Cette bactérie a été isolée dans un échantillon de sol forestier recueilli dans la province du Yunnan⁴⁰, en Chine et a ensuite été étudiée à l'aide d'une approche polyphasique.

Pathogénicité : à ce jour nous n'avons pas de connaissance sur sa pathologie.

2.6.2.3 Genre *Spirillum*

Ordre *Nitrosomonadales* ; Famille *Spirillaceae*

Spirillum



Morphologie : Bactéries à Gram(-) ; allongée, en forme de spirale, cellules rigides. Certaines ont des touffes de flagelles aux deux pôles. Elles sont micro-aérophiles et se trouvent habituellement dans les plans d'eau douce stagnante, riches en matière organique. Il existe deux espèces de *Spirillum* dans la nomenclature, *Spirillum winogradskyi* et *Spirillum volutans*. La position taxonomique des trois autres espèces provisoirement portant le nom du genre *Spirillum* (*Spirillum minus*, *Spirillum pleomorphum* et *Spirillum pulli*) est incertaine, et ceux-ci n'ont aucun statut dans la nomenclature^{41,42}.

Milieu de culture : *acuaspirillum*.

Dans *Four Windows Cave*, il a été trouvé le *Spirillum volutans* et *Spirillum winogradskii*.

2.6.2.3.1 Genre *Spirillum minus*

Pathogénicité : la bactérie nommée provisoirement *Spirillum minus* est associée à la Fièvre par morsure de rat⁴³. La maladie dite « Fièvre par morsure de rat » est d'origine japonaise et a été appelée Symtômes de Fièvre de Sodoku.

Fièvre de Sodoku

Symptômes

- Incubation : Trois semaines après la morsure de rat apparaît un accès d'hyperthermie (fièvre élevée) s'associant à des frissons et quelquefois à des maux de tête. D'autre part le patient se plaint des myalgies (douleurs musculaires) et de troubles digestifs.

- À l'endroit de la morsure apparaît une ulcération (perte de peau) une adénopathie (ganglion volumineux et douloureux) à proximité et un prurit (démangeaisons).
- Ensuite la fièvre chute et l'on constate la cicatrisation de la morsure. Parallèlement les signes précédemment décrits disparaissent également en 3 à 7 jours.
- Survient à ce moment-là une éruption cutanée qui est constituée de plaques de coloration rouge dont les contours sont irréguliers, 20 jours à peu près après la morsure. Cette éruption disparaît rapidement.

Physiopathologie

Cette pathologie infectieuse particulièrement fréquente au Japon, en Chine, en Amérique du Sud et (moins souvent) en Europe est due à une morsure de rat et de surmulot entre autres. Le surmulot est un gros rat (*Rattus norvegicus*) provenant d'Asie et particulièrement fréquent dans toute l'Europe et en Amérique. Il s'agit en fait du rat d'égout ou rat gris.

Elle est due à une variété de bactérie découverte par Futaki : *Spirillum minus* appelée autrefois *Spirochaeta japonica*. Il s'agit en fait d'un spirochète. La maladie se transmet par la morsure de ces animaux qui sont contaminés.

D'autre part les conditions d'hygiène défectueuse et chez certains patients les problèmes immunitaires à type d'immunodépression (diminution de la capacité de défense de l'organisme) favorisent également la survenue de la maladie.

Diagnostic différentiel

Cette pathologie ne doit pas être confondue avec :

- La fièvre récurrente se caractérisant par l'apparition d'accès de fièvre à répétition et due à des spirochètes (*Borrelia*) transmis par des arthropodes (poux ou tiques).
- Le paludisme.
- La méningococcémie appelé également méningococciose caractérisant par l'apparition d'une fièvre élevée, des douleurs dans les articulations, du purpura et la présence de méningocoques dans le sang du patient.
- La fièvre streptobacillaire se différenciant de la fièvre par morsure de rat par le fait que cette maladie est le résultat d'une infection par une bactérie Gram négative (*Streptobacillus moniliformis* appelée également *Streptothrix murix*).

2.6.3 Béta protéobactéries dans la grotte ornée de Magura

Dans la liste des bactéries identifiée dans la grotte ornée de Magura, nous n'avons pas relevé la présence d'identification qui corresponde aux β protéobactéries.

2.6.4 Béta protéobactéries dans le gouffre de la Sambuy

Les β protéobactéries représentent 15 % de la flore microbienne totale. Mais aucune identification qui puisse nous permettre d'approfondir ce sujet.

2.7 GAMMA PROTÉOBACTÉRIES

2.7.1 Généralités

Ordres des gamma-protéobactéries

Ordre I : *Aeromonadales*

Ordre II : *Enterobacteriales*

Ordre III : *Legionellales*

Ordre IV : *Pasteurelles*

Ordre V : *Pseudomonadales*

Ordre VI : *Thiotrichales*

Ordre VII : *Vibrionales*

Ordre VIII : *Xanthomonadales*

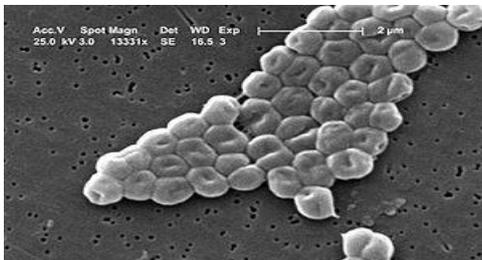


Ordre...

2.7.1.1 Genre *Acinetobacter*

Ordre *Pseudomonadales* ; Famille *Moraxellaceae* ; Genre *Acinetobacter*

Acinetobacter



Bactérie parfois diplococcique, mais le plus souvent en larges diplobacilles, immobiles et parfois capsulés. De coloration Gram(-), ou parfois variable. Ils sont importants comme microorganismes du sol où ils contribuent à sa minéralisation. Strictement aérobie. Oxydase(-), Nitrate(-), Résiste à la pénicilline. Uréase(-), indol(-), H₂S(-), milieux identifications agar Herellea et différentiel Sellers D à 37 °C pendant deux jours.

(<http://translate.googleusercontent.com/.../search?Q=acinetobacter+woffii&biw...>)

Habitat : les *Acinetobacter* sont largement distribués dans la nature et se retrouvent souvent dans le sol et les eaux. Ils peuvent survivre sur des surfaces humides ou sèches. Certaines souches ont été isolées à partir de denrées alimentaires et d'eaux de boissons.

Pathologie : chez les individus sains, les *Acinetobacter* sont fréquents sur la peau et sont considérés comme protecteurs contre les allergies. L'espèce *A. baumannii* est la deuxième bactérie isolée chez l'Homme. Chez les personnes immunodéprimées, plusieurs *Acinetobacter* peuvent causer des infections mortelles. *A. calcoaceticus* peut causer des pneumonies. Ces espèces présentent également un assez large degré de résistance aux antibiotiques. Le plus fréquemment, on les rencontre dans les septicémies, les suppurations ou dans diverses infections tant chez l'Homme que chez l'animal. Certaines espèces paraissent avoir un habitat exclusif dans l'environnement. Ces bactéries longtemps considérées comme d'une pathogénicité incertaine, peuvent cependant être responsables d'infections nosocomiales à caractère endémique pour lesquelles la transmission par les mains est démontrée. Les pneumonies et les infections du site opératoire en unités de soins intensifs sont les plus fréquentes. La résistance multiple aux antibiotiques des espèces les plus fréquemment rencontrées (*A. baumannii* et *A. lwoffii*) est source de difficultés thérapeutiques.

2.7.1.2 Genre *Moraxella*

Classification id^o ; Famille *Moraxellaceae*

Moraxella



Les *Moraxella* sont des coccobacilles à Gram(-) proches des *Acinetobacter* d'un point de vue morphologique. En effet, on parle pour ces deux bactéries de diplococcobacilles. Les *Moraxella* sont oxydase(+) et possèdent une nitratase. Sensible à la pénicilline. Culture agar Herellea D ou agar Sellers D.

Pathogénicité pour l'Homme

Les *Moraxella* ont une vie strictement parasitaire. Les *Acinetobacters* peuvent se comporter en saprophytes, pouvant être présents dans l'eau et le sol.

➤ *Moraxella lacunata*

Agent de conjonctivites subaiguës et bénignes chez l'Homme.

➤ ***Moxarella duplex varietas liquefaciens***

Agent d'ulcérations cornéennes graves avec hypopion^v, suppurations pulmonaires, septicémie, abcès, méningites. Infections de la gorge, du nez, du vagin.

2.7.2 Gamma protéobactéries dans *Four Windows Cave*

Dans cette grotte il a été identifié dans les γ protéobactéries des germes appartenant aux *Planctomycetes*, bactéries difficilement classées, proche des eucaryotes.

2.7.3 Gamma protéobactéries dans la grotte ornée de Magura

Les prélèvements ont été faits sur les parois rocheuses.

2.7.3.1 Genre *Serratia*

Ordre *Enterobacteriales* ; Famille *Enterobacteriaceae*

45 % des échantillons observés.

On trouve dans cette famille les genres suivants :

Telluriques	Pathogènes opportunistes Pourcentages de cas isolés
<i>S. grimesii</i> <i>S. glossinae</i> <i>S. nematodiphila</i> <i>S. proteamaculans</i> <i>S. rubidaea</i> <i>S. entomophila</i> <i>S. ficaria</i>	Germes pathogènes <i>S. marcescens</i> subsp. <i>marcescens</i> 88 % <i>S. odorifera</i> 2 % <i>S. rubidaea</i> 1 % <i>S. liquefaciens</i> 7 % D'autres espèces ont été isolées <i>S. fonticola</i> <i>S. plymuthica</i> <i>S. ureilytica</i> Quelques <i>Serratia</i> non identifiés ont causé des pathologies humaines.

Serratia



Morphologie : Bâtonnets Gram(-), anaérobies facultatifs, qui vivent dans le sol et l'eau, qui mesurent 0,9 à 2 μm de longueur et 0,5 à 0,8 μm de diamètre. Mobilité(+), elles possèdent un flagelle péritriche qui leur permet de nager et de se déplacer en faisceau en forme d'hélice (avec différenciation) et elles sont omniprésentes dans le sol, l'eau et à la surface des plantes⁴⁴.

Caractéristiques : Lactose(-) ; ONPG(+) ; H_2S (-) ; Gélatinase(+); Lipase(+); DNase(+). Les espèces du genre *Serratia* sont chimio-organotrophiques (décompose et fournit son énergie en partie par les matières organiques), ayant de faibles besoins nutritionnels (elles ne demandent que peu de nourriture car elles doivent être en partie autotrophe)..

Milieux de culture : agar Gassner, MK ; agar lactose bleu de bromothymol cystine, Mk ; agar xylose lysine désoxycholate. Culture à 37 °C. Spécificité en culture : les colonies sont pigmentées en rose ou rouge vif

Caractéristiques : de nombreuses espèces produisent un pigment rouge à rose, appelé prodigiosine, qui est plus facile à observer dans un milieu dépourvu de phosphate incubé à 30 °C plutôt qu'à 37 °C. On soupçonne que ce pigment possède des propriétés antibiotiques et d'autres propriétés thérapeutiques. Le *S. marcescens* produit un biofilm et également des β lactamases. Le

^v/ hypopion : pus dans les yeux.



S. marcescens ssp. sakuensis est capable de produire des endospores, alors que d'autres membres du genre ne le sont pas⁴⁵.

Pathogénicité et toxicité : les espèces de *Serratia* sont des agents pathogènes opportunistes, ils font partie des dix principales causes de bactériémie en Amérique du Nord. Elles sont à l'origine d'une multitude d'infections dont la septicémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite et, rarement l'endophtalmie. Les symptômes d'endophtalmie apparaissent rapidement après l'infection et peuvent comprendre une fièvre, un érythème, une douleur oculaire, un œdème périorbitaire et un hypopyon. Le taux de mortalité par septicémie due à *Serratia spp.* six mois après l'infection s'élève à 37 %⁴⁶.

Épidémiologie : leur distribution est mondiale. Les biotypes, les sérotypes et les biogroupes peuvent être spécifiques à une région. Les infections sporadiques sont considérées comme endémiques. Une épidémie peut résulter d'un contact de personne à personne avec une source commune. Les souches non pigmentées de *S. marcescens* risquent davantage de causer une infection que les souches pigmentées⁴⁷.

En 2007, une étude effectuée dans la région sanitaire de Calgary (Canada) a montré que 65 % des infections par des espèces de *Serratia* étaient en fait d'origine communautaire. Selon cette étude, 10,8 individus pour 100 000 habitants sont porteurs du pathogène et 0,9 personnes sur 100 000 développent une bactériémie chaque année. Le taux d'isolement de *Serratia* est plus élevé chez les personnes de plus de 60 ans. Dans la population de moins de 60 ans, le taux d'isolement chez les hommes et les femmes diffère légèrement (65,9 de cas positifs pour 100 000 chez les hommes et 36,5 pour 100 000 chez les femmes). La différence dans le taux d'isolement est surtout observable dans le cas des infections hospitalières. L'incidence ne varie pas selon la saison ou l'année⁴⁸.

Gamme d'hôtes : les différentes espèces du genre *Serratia* peuvent être hébergées par des plantes et des animaux (y compris les humains). La transmission peut se faire par ingestion d'aliments contaminés ou par contact direct. Une transmission nosocomiale ou par des personnes infectées est possible. Des vecteurs passifs peuvent également propager *Serratia*⁴⁹.

Sensibilité aux médicaments : les espèces de *Serratia* sont habituellement sensibles aux aminosides, aux fluoroquinolones et au co-trimazole. Les résistances sont nombreuses, les isolats de *Serratia spp.* (39-73 %) sont résistants à la gentamicine. Ils sont tous résistants aux pénicillines et à la céphalosporine.

Sensibilité aux désinfectants : les désinfectants phénoliques, l'hypochlorite de sodium à 1 %, l'éthanol à 70 %, le formaldéhyde, le glutaraldéhyde, l'iodophore, et l'acide peracétique sont efficaces contre *Serratia spp.*

Survie à l'extérieur de l'hôte : *S. marcescens* peut survivre de 3 jours à 2 mois sur des surfaces inanimées sèches et durant 5 semaines sur un plancher sec.

Diagnostic : suivant la localisation des symptômes, les espèces de *Serratia* peuvent être présentes dans les fèces, les exsudats de plaies, les échantillons respiratoires, le sang, les sécrétions oculaires et l'urine. Il faut sérotyper/biotyper la bactérie⁵⁰.

2.7.3.2 Genre *Pseudomonas*

Ordre *Pseudomonadales* ; Famille *Pseudomonadaceae*

20 % des échantillons observés dans la grotte de Magura.

Pseudomonas



Caractéristiques : bactéries de Gram(-), aérobies stricts, oxydase(+), dégradent le glucose par respiration, attaquent les sucres par voies oxydatives et non fermentatives. Généralement mobiles par ciliature polaire (monotriche ou lophotriche). Indol(-) ; Catalase(+); Nitrate(+); Lipase(+). Bactérie asporulée ; colonies souvent pigmentées.

Milieux : peu exigeantes ; Gélose pomme de terre glycinée ; Gélose bouillon nutritif glyciné ; développement en 48h à une température de culture 30 °C.



Dans la grotte de Magura, sur les six observations d'échantillons contenant des *Pseudomonas*, sur 33 échantillons observés, il y a eu :

- 4 échantillons contenant des *Ps. Fluorescens* ;
- 1 contenant des *Ps. Putida* ;
- 1 contenant des *Ps. Plecoglossicida*.

Propriétés particulières physiques et visuelles de certains *Pseudomonas*

- *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. putida*, produisent un pigment fluorescent jaune-vert, la *pyoverdine*, diffusible, soluble dans l'eau et insoluble dans le chloroforme.
- Des pigments de nature caroténoïde non diffusibles peuvent être produits par : *Ps. stutzeri*, *Ps. mendocina*, *Ps. vesicularis*.
- La majorité des souches de *Ps. diminuta* produit un pigment noir diffusible sur les milieux gélosés après quelques jours à incubation de 20 à 30 °C

Épidémiologie : leur distribution est mondiale. Ces bactéries sont largement répandues dans l'environnement, vivent dans le sol et l'eau. Elles se retrouvent sur les plantes, dans les matières organiques non vivantes (denrées alimentaires), entraînant parfois des altérations organoleptiques. Elles se rencontrent chez l'Homme ou l'animal au niveau des fosses nasales. Elles constituent pour la plupart une flore commensale. Certaines jouent un rôle pathogène. Le *Pseudomonas aeruginosa* est l'espèce la plus pathogène chez l'Homme et l'animal.

Elles occupent des niches écologiques variées mais se retrouvent plus particulièrement dans le sol et les milieux humides tels que les eaux douces, les eaux de mer, les eaux thermales. Elles peuvent survivre dans de l'eau distillée, voire se développer dans certaines solutions antiseptiques ou antibiotiques.

Elles se retrouvent en plus petite quantité dans les eaux riches en matières organiques (en particulier les eaux stagnantes), conséquence de la compétition entre microorganismes où les *Pseudomonas* ne sont pas les plus performants.

Caractéristiques spécifiques du *Pseudomonas aeruginosa* : il contient dans sa membrane externe des glycolyx (qui sont des alginates), et des protéines qui sont des porines^w, et peut produire un pili^x (facteur d'échange de plasmide). Il produit des exotoxines A et S ; des protéases (élastases et protéases alcalines) ; des hémolysines (phospholipide C et glycolipides) ; de la phosphatase alcaline et des endotoxines (LPS, lipide A).

Pathologie : le *Pseudomonas aeruginosa* est aussi connu sous le nom de bacille pyocyanique, bacille du pus bleu ou pyo. Pour que *Pseudomonas aeruginosa* devienne pathogène, l'organisme doit présenter une rupture de la barrière de protection, autrement dit une plaie au niveau de la peau ou des muqueuses.

Sont également sensibles à une infection par *Pseudomonas aeruginosa*, les individus présentant une défense immunitaire affaiblie, une diminution des gammaglobulines ou encore les personnes âgées ou présentant un diabète ou une autre pathologie (cancer, mucoviscidose). C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables ou immunodéprimés. Elle fait partie des germes couramment recherchés lorsque l'on procède à une analyse microbiologique d'un échantillon d'eau.

w/ porines : protéines membranaires formant des canaux permettant la diffusion de petites molécules hydrophiles à travers la membrane de cellulaire. Elles sont composées de feuillettes β (structure β =en feuille) formant une structure cylindrique ou tonneau β . Les porines sont des trimères, constituées de trois canaux cylindriques accolés. On les trouve dans la membrane externe des bactéries à Gram(-), mais également dans celle des mitochondries et des chloroplastes.

x/ pilis : organes d'échange de plasmide entre les bactéries, ce sont des formes tubulaires qui permettent de relier deux bactéries, ces pilis sont les organes qui vont jouer un rôle dans la résistance aux antibiotiques par l'échange de plasmide qui contiennent les facteurs chromosomiques de résistances.



➤ Symptomatologie

1) Voies aériennes inférieures : elle apparaît essentiellement chez le patient immunodéprimé. On constate l'apparition d'une pneumonie primaire survenant chez les patients ayant déjà une maladie pulmonaire chronique, au cours d'une insuffisance cardiaque, d'un sida, chez les personnes hospitalisées dans une structure de réanimation, celles qui sont soumises à une ventilation artificielle, les malades traités pour un cancer du sang. *Pseudomonas aeruginosa* peut se développer également chez les patients présentant une mucoviscidose. On peut aussi observer des infections de l'œil et des oreilles.

2) Septicémie : ce germe est fréquemment responsable de septicémies mortelles surtout chez le patient immunodéprimé. Ce sont les infections urinaires, des poumons, du système digestif, de la peau qui sont à l'origine de septicémies. Les symptômes en sont les suivants :

- **infections cutanées :** *ecthyma gangrenosum*. Ces lésions sont spécifiques, l'atteinte de la peau apparaissant chez certains patients septicémiques. Les lésions débutent par une vésicule de petite taille, de nature hémorragique, autour de laquelle s'organise une zone érythémateuse. L'évolution de cette lésion se fait vers une nécrose et une ulcération. L'*ecthyma gangrenosum* apparaît en petit nombre au niveau des fesses, du périnée, des extrémités du creux axillaire et moins souvent dans d'autres endroits. Les muqueuses qui peuvent être atteintes par cette pathologie sont celles de la bouche avec les gencives.
- **infection du système nerveux central :** ce sont généralement un traumatisme direct au niveau de la face, une intervention chirurgicale, une exploration à l'aide d'un instrument souillé, une infection des voies urinaires, des poumons, de l'endocarde, une maladie sous-jacente (cancer de la tête, du cou), etc. Ces pathologies surviennent chez les patients dans un état de faiblesse avancée et immunodéprimés.
- **infection auriculaire :** ce type d'infection est relativement fréquent et touche spécifiquement le conduit auditif externe, essentiellement chez les gens qui sont en contact fréquent avec l'eau. Cette bactérie est également à l'origine d'otite externe maligne apparaissant le plus souvent chez les personnes âgées et diabétiques. Elle a également été rapportée de façon occasionnelle chez des jeunes enfants présentant d'autres pathologies.
- **infection oculaire :** *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de kératite, d'ulcères de la cornée. Généralement, on retrouve un léger traumatisme de la cornée à l'origine d'une rupture de la membrane de protection de celle-ci, ce qui permet la pénétration des germes qui envahissent les tissus sous-jacents et provoquent l'infection et les ulcères. Ces ulcères sont également retrouvés à la suite du port de lentilles, essentiellement de lentilles souples. Également les patients qui ont eu un séjour en soins intensifs, qui ont présenté un coma, qui ont une irradiation oculaire ou une trachéotomie.

Contagion : cette bactérie semble pouvoir être facilement véhiculée par l'eau, par l'air et par des particules ou surfaces contaminées. La facilité de la contagion s'explique par son caractère omniprésent – par le fait qu'elle peut facilement transférer ou acquérir des gènes de « résistance antibiotique » à partir d'autres bactéries de souches proches, mais aussi d'espèces plus éloignées.

Thérapeutique : *Pseudomonas aeruginosa* est résistant à un grand nombre d'antibiotiques. Il ne faut donc jamais les traiter en monothérapie. Les antibiotiques actifs contre *Pseudomonas aeruginosa*⁵¹ sont les carbapénèmes, certaines fluoroquinolones (la ciprofloxacine à forte dose en est un exemple) ainsi que des céphalosporines de troisième génération (par exemple la ceftazidime).

Autres *Pseudomonas*

Les espèces les plus fréquemment rencontrées sont *Pseudomonas fluorescens*, *putida*, *cepacia*, *Xanthomonas maltophilia* et à un moindre degré *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudoaeruginosa* et *acidovorans*. Certaines espèces ont un pouvoir pathogène ou des caractères particuliers. Les



Pseudomonas sont réputés assez résistants aux antibiotiques avec toutefois de grandes disparités selon les espèces.

- Sont assez sensibles : *Ps. stutzeri*, *pseudoalcaligenes*, *testostroni*, *diminuta*, *vesicularis*.
 - Sont polyrésistants : *Ps. fluorescens*, *putida*, *cepacia*, *pickettii*, *acidovorans*, *diminuta*.
- L'antibiotypie constitue une aide au diagnostic d'espèce.

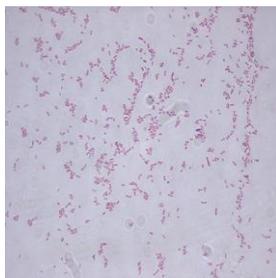
2.7.3.3 Genre *Stenotrophomonas*

Famille *Pseudomonadaceae*

7 % des échantillons observés dans la grotte de Magura.

Le genre *Stenotrophomonas* a été aussi appelé *Xanthomonas*

Stenotrophomonas



Morphologie : bâtonnet pléomorphe, formant des colonies jaune (aryloctane bromé). Gram(-), aérobie, psychrophile, dégrade la caséine, produit une lipase thermostable.

Caractéristiques : catalase(+), acétoïde et indol(-); Gélatinase(+), tween 80(+), amylase(+), cellulose(+). Ne fermente pas le glucose ; oxydase généralement(-) réaction trop faible pour être détectée ; réduction des nitrates en nitrites(-), Lysine décarboxylase (LDC) (+).

Milieu : Tampon KHPO_4 et K_2PO_4 + extrait de levure+ glucose+ amidon de pomme de terre+ KBr + agar => autoclave après ajouter chlorothanolil (15 mg/l)+ céphalexine (20mg/l) + kasugamycine (2mg/l) + gentamicine (2 mg/l)+ méthyl violet (30 $\mu\text{g/l}$) + vert de méthyl (60 $\mu\text{g/l}$).

Il est très répandu dans l'environnement (par exemple dans l'eau et le sol), mais s'avère pathogène surtout chez les patients immunodéprimés ou hospitalisés en soins intensifs. On le considère donc comme un pathogène nosocomial.

Le *Stenotrophomonas* est très bien protégé contre les antibiotiques grâce à une membrane très peu perméable et des enzymes de type β lactamases lui permettant d'hydrolyser les molécules de la classe des pénicillines et des céphalosporines. Son élimination requiert donc d'employer certaines associations d'antibiotiques auxquels il est sensible, comme le cotrimoxazole (triméthoprime-sulfaméthoxazole) ou l'association ticarcilline-acide clavulanique. Mais des résistances commencent à apparaître.

Pouvoir pathogène : le plus connu des *Stenotrophomonas* pour sa pathogénicité est le *S. maltophilia*. Il est connu pour des infections nosocomiales et des septicémies, souvent graves et difficiles à traiter en raison de la résistance multiple aux antibiotiques. Il cause des infections aussi diverses que méningites, endocardites, pneumonies... Cette bactérie touchant des patients déjà très affaiblis, et présentant des résistances importantes vis-à-vis des antibiotiques, l'infection par *Stenotrophomonas* a un taux élevé de mortalité.

Résistance naturelle *S. maltophili* : comme l'ensemble du genre, *S. maltophila* résiste naturellement aux antibiotiques, sauf au moxolactame, par production d'une métallo- β -lactamase (L1) de classe B et d'une β lactamase à sérine active (L2) de classe A hydrolysant les pénicillines et les céphalosporines, en particulier le céfotaxime. La β lactamase L2 est inductible et inhibée par l'acide clavulanique, ce qui explique la sensibilité de *S. maltophila* à l'association ticarcilline/acide clavulanique.

Résistance acquise : la possibilité cette bactérie de former un pili par lequel il peut échanger des plasmides associés à la résistance aux β lactamines ont été décrite chez *S. maltophila*. Leur rôle dans la résistance acquise n'a pas été clairement démontré et les enzymes correspondantes ne sont pas encore connues.



Traitement antibiotique contre les *S. maltophilia*, pour le traitement des mucoviscidoses : il a été observé que les infections chroniques, au *S. maltophilia*, étaient liées à des infections pulmonaires. Toutefois, à l'heure actuelle, on ignore si les personnes atteintes de mucoviscidose doivent suivre un traitement contre cette bactérie.

2.7.3.4 Genre *Comamonas*

Ordre *Burkholderiales* ; Groupe ARN III.es ; Famille *Comamonadaceae*

Il a été mis en évidence la présence d'un *Comamonas sp.* (BM_9_6), sur 3 % des échantillons prélevés.

Comamonas



Comamonas testosteroni
standardsingenomics.org

Morphologie : bactéries de Gram(-), (coloration rose), aérobies stricts, en bâtonnets droits ou légèrement courbés, longueurs moyennes, mobiles avec flagelles polaires, asporulées. Se présentent seuls ou en couples.

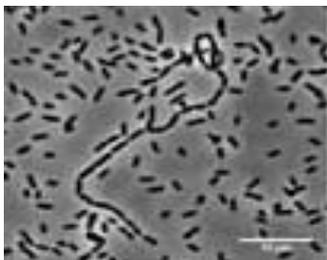
Physiologie : ils accumulent les poly-bêta-hydroxybutyrate (PHB) dans la cellule. Le mode de clivage par oxydation des diphénols est un test de diagnostic : méta clivage, spécifique de *C. acidovorans* et *C. testosteroni* ; non clivage en ortho et méta *C. terrigena* et *C. avenae*. Le *C. testosteroni* a la possibilité absorber la testostérone, et utilise le phénylacétate ou les maléate comme sources de carbone.

Milieu : culture peu exigeante, facile voir milieux *Pseudomonas* sans les antibiotiques.

Le genre *Comamonas* comprend :

Pathogénicité non connue	Pathogénicité connue
<i>C. terrigena</i> <i>C. avenae</i>	<i>C. acidovorans</i> aussi <i>Delftia acidovorans</i> (humaine) <i>C. testosteroni</i> (humaine) <i>C. kersterssi</i> (humaine) <i>C. andropogonis</i> (plantes et animaux)

Propriétés particulières de *Comamonas testosteroni*



Comamonas testosteroni CNB-2
bacmap.wishartlab.com

Dégradent des produits chimiques polluants, des déchets organiques, des pesticides. Possède une oxygénases(+) et une 3-hydroxystéroïde déshydrogénase qui catalyse la réduction réversible de l'androgène actif, la dihydrotestostérone en 5 alpha-androstane-3 alpha, 17 bêta-diol. Il a également l'activité vers les autres 3-alpha-hydroxystéroïdes et sur 9, 11 et 15-hydroxyprostaglandins. L'enzyme est spécifique à B en référence à l'orientation de NAD réduit ou le NADPH.

La famille *Comamonadaceae* qui inclut les genres *Comamonas acidovorans* et *C. delftia*⁵². Les *Pseudomonas testosteroni* et *Pseudomonas acidovorans* ont été reclassés, suivant des caractéristiques phénotypiques, des caractères chimio-taxonomiques et homologie de l'ADN, comme membres du genre *Comamonas* en 1987, dont *Comamonas terrigena* avait été une espèce unique depuis 1985. Le *Comamonas acidovorans* a depuis lors été reclassé comme *Delftia acidovorans*. Le *C. testosteroni* reçut son nom car il décompose la testostérone, bien que cette même propriété ait été démontrée pour d'autres espèces de *Pseudomonas* et certains champignons⁵³.

Symptomatologie du *Comamonas testosteroni* : on peut observer *Comamonas testosteroni* dans des pathologies abdominales surtout dans l'appendicite perforée. En Turquie et en Israël il y a eu 17 cas de bactériémie à cause de cette bactérie, de patients avec une appendicite aiguë perforée.

Cette bactérie s'est avérée être sensible aux antibiotiques courants, et a été combattue facilement même après avoir provoqué une bactériémie.

« C'est une bactériémie relativement rare et elle a été observée chez des personnes immunodéprimées ou sous traitement pour le cancer. À l'heure actuelle 27 cas ont été rapportés. La symptomatologie observée a été : fièvre entre 39 et 40 °C, douleurs thoraciques, pression artérielle élevée et tachycardie. La respiration était peu profonde, et la saturation en oxygène était de 92 %. Diminution des bruits dans les deux apex. La radiographie a révélé un infiltrat du lobe moyen droit. Le nombre de globules blancs était de 22 500 cellules/mm³ et le niveau de lactate était 1,7 unité. »⁵⁴

Thérapeutique : Céfépime, qui a été remplacée par la suite par ciprofloxacine, vancomycine et azithromycine. Traitement de 16 jours.

Diagnostic : l'hémoculture a démontré la présence de *C. testosteroni* et les analyses de crachats ont mis en évidence un *Ps. aeruginosa*.

Comamonas kersterssi : le *C. kersterssi* est incriminé dans les bactériémies de diverticuloses duodénales⁵⁵.

2.7.3.5 Genre *Obesumbacterium*

Ordre Enterobacteriales ; Famille Enterobacteriaceae

Représente 3 % des identifications de la grotte Magura.

Il y a deux espèces, *Obesumbacterium proteus* et *Obesumbacterium portée*.

C'est l'espèce *O. proteus* qui a été identifiée dans cette grotte, elle est aussi appelée *Hafinia paralvei*.

Morphologie : Gram(-) ; pléomorphes tringles de 0,8 à 2,0 µm de diamètre, 1,5 - 100 µm de long ; mobilité(-).

Caractéristiques : anaérobies facultatives ; température optimale de croissance 32 °C. Acidification du D-glucose et du D-mannose, très peu d'autres glucides sont fermentés, formation de gaz en cours de fermentation variable ; Nitrate réduit en nitrite ; les tests biochimiques des entérobactéries sont retardés ou négatif ; Lysine décarboxylase(+). ADN avec (C+G) mol de 48 à 49 %.

Milieu : croissance lente, formation de colonies inférieures à 0,5 mm de diamètre sur gélose ordinaire (ou PCA).

Habitat : se développe dans les produits de fermentation comme la bière et le sol.

Pathogénicité : non connue.

2.7.4 Gamma protéobactéries dans le gouffre de la Sambuy

Les γ protéobactéries représente 14 % de la flore totale ; n'étant pas identifiées cette classe n'a pas pu être analysée.

2.8 EMBRANCHEMENT DELTA PROTEOBACTERIE

Ils sont cités seulement dans le gouffre de la Sambuy pour une valeur de 15 % de la flore totale analysée. Ils représentent donc une proportion non négligeable de cette flore. Mais comme aucun genre de cet embranchement n'a été identifié dans ce gouffre, nous allons donc analyser en détail les genres les plus étudiés à ce jour.

Ils comprennent les ordres suivants :

- Les *Bdellovibrionales* : exemple le genre *Bdellovibrio*
- Les *Desulfovibrionales*
- Les *Desulfobacterales*
- Les *Desulfurellales*
- Les *Desulfuromonades* : exemple genre *Geobacter*
- Les *Myxococcales Myxobacteries*
- Les *Syntrophobacterales*

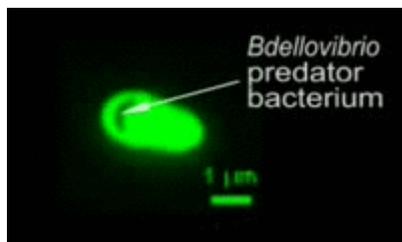
Dans cette étude nous avons retenu les genres suivants :



- *Bdellovibrio*
- *Geobacter*
- *Myxococcus*

2.8.1 Genre *Bdellovibrio*

Ordre *Bdellovibrionales* ; Famille *Bdellovibrionaceae*



Genre *Bdellovibrio*

Morphologie : en forme de petit bâtonnets Gram(-) ; aérobie strict. ils sont flagellés, engainés, monotriches, très mobiles

Culture : pas de culture possible en laboratoire sur milieu ; ils sont inhibés par le NaCl à 3,5 % mais demandent des ions Na pour vivre. Nitrogénase(-)

Les *Bdellovibrio* se rencontrent dans l'environnement aquatique (eaux douces, eaux de mer, eaux des égouts) et dans le sol. Cette bactérie est aussi communément trouvée dans les habitats artificiels, la rhizosphère des racines des plantes et le sol. On l'observe également dans le tractus intestinal de certains mammifères où il réduit les agents pathogènes de l'intestin. Le *B. bacteriovorus* est utile dans l'épuration des eaux usées, car il diminue le nombre de bactéries Gram-négatives.

Description et activité bactérienne : les *Bdellovibrio* ont la capacité de parasiter et de tuer les autres bactéries Gram(-)⁵⁶, telles que : *Alcaligenes*, *Campylobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Helicobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Legionella* et *Shigella*⁵⁷. *Bdellovibrio* ont ce que l'on appelle un mode de vie diphasique avec une phase de « chasse » motiles, libres et une croissance intracellulaire de parasite de phase⁵⁸. La phase intracellulaire de *Bdellovibrio* est limitée pour le périplasma, où la physiologie de la proie est modifiée en fonction du prédateur, formant un bdelloplast distinctif⁵⁹. De type sauvage *Bdellovibrio* sont des parasites obligatoires et doit vivre une partie de leur vie dans un hôte ou mourir⁶⁰.

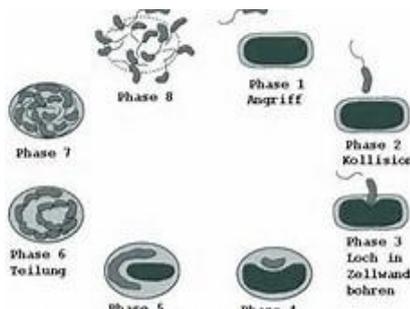
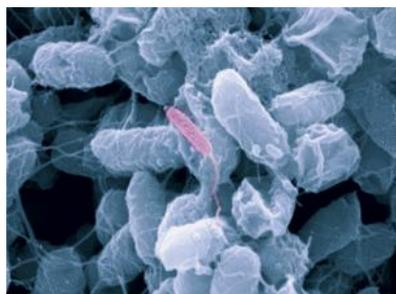
Toutefois, les chercheurs ont pu mettre en culture certaines souches de *Bdellovibrio* en laboratoire sur des proies comme *E. coli*, culture similaire aux cultures de bactériophages⁶¹. L'espèce la plus répandue, *Bdellovibrio bacteriovorus*, vit dans un large éventail d'environnements (eau douce, saumâtre, eau de mer, eaux usées, conduites d'eau, intestins d'animaux et autres eaux de réservoirs^{62,63}).

Le cycle de vie de *B. bacteriovorus* comprend cinq étapes. Tout d'abord, la bactérie se fixe à l'aide d'une extension de crochet qui décompose la paroi cellulaire externe par le biais de la libération de certaines enzymes dans la membrane externe de l'hôte. Ceci est suivi de la pénétration dans le périplasma et la réparation des dommages causés à la membrane cellulaire. Une fois que la bactérie est à l'intérieur du périplasma, elle introduit des enzymes hydrolytiques dans le cytoplasme de l'hôte. Cela augmente l'approvisionnement en nourriture de la bactérie grâce à la membrane interne de la cellule hôte « qui fuit ». La bactérie se développe ensuite et une fois qu'elle a épuisé toutes les ressources dans la cellule de l'hôte, elle se divise en 15 cellules mobiles. L'hôte est affaibli, il se produit une lyse cellulaire, libérant la progéniture *B. bacteriovorus*, qui sont alors prêts à trouver de nouvelles proies pour attaquer. Ce cycle de la vie prend à 3 heures 57'...

Lutte biologique et agents thérapeutiques : la capacité de *Bdellovibrio* à lyser les cellules bactériennes a suggéré l'utilisation de cette bactérie dans le domaine médical car elle semble cibler son action protéolytique dans le seul domaine bactérien et sur les bactéries Gram(-). Les récentes publications du génome de *B. bacteriovorus* par Rendulic et al ont indiqué une absence d'un type de système de sécrétion III, qui est fortement associée à une infection pathogène des organismes eucaryotes, comme les humains⁶⁴. Il n'y a aucun incident de signalés de *Bdellovibrio* bactéries envahissant les cellules de mammifères⁶⁵. Ce sont des éléments positifs pour l'utilisation



éventuelle de *Bdellovibrio* comme agents thérapeutiques chez les animaux et peut-être chez les humains.



Pénétration du *B. bacteriovorus* dans une bactérie

Pathogénicité : à ce jour aucune pathologie n'a été signalée.

2.8.1.2 Genre *Geobacter*

Ordre *Desulfuromonadales* ; Famille *Geobacteraceae*



Genre *Geobacter*

Morphologie : en forme de bâtonnets, anaérobie, Gram(-)

Caractéristiques : les *Geobacter* ont des propriétés qui les rendent utiles dans la biorestauration. Ils se sont avérés être les premiers organismes vivants ayant la capacité d'oxyder des composés organiques et des métaux, dont le fer et les métaux radioactifs ainsi que les composés du pétrole en donnant du dioxyde de carbone par l'utilisation d'oxyde de fer ou d'autres métaux disponibles comme les accepteurs d'électrons.

Historique : la première espèce de *Geobacter* (initialement désigné souche GS-15) a été isolée à partir de sédiments de la rivière Potomac, juste en aval de Washington D.C. en 1987. Cet organisme, qui est connu comme *Geobacter metallireducens*, a été le premier organisme vivant trouvé pouvant oxyder des composés organiques. En d'autres termes, *Geobacter metallireducens* gagne son énergie à l'aide d'oxyde de fer (minéral abondant dans les sols et les sédiments) de la même manière que les humains utilisent de l'oxygène.

D'autres espèces de *Geobacter* ont par la suite été isolées dans une multitude d'environnements. Ils fournissent des modèles aidants à la compréhension des transformations du fer dans la biotechnologie moderne et peuvent expliquer des phénomènes géologiques, tels que l'accumulation massive de magnétite.

Espèces de *Geobacter* connues

<i>G. argillaceus</i>	<i>G. grbiciae</i>	<i>G. pickeringii</i>
<i>G. bemidjensis</i>	<i>G. hydrogenophilus</i>	<i>G. sulfurreducens</i>
<i>G. bremensis</i>	<i>G. metallireducens</i>	<i>G. thiogenes</i>
<i>G. chapellei</i>	<i>G. pleophilus</i>	<i>G. uraniireducens</i>

Biorestauration : certaines espèces de *Geobacter* sont également intéressantes en raison de leur rôle dans la restauration de l'environnement. Par exemple, l'élimination de pollutions par des dérivés du pétrole dans les eaux souterraines polluées par oxydation de ces composés organiques en dioxyde de carbone ainsi que la captation de contaminants métalliques radioactifs dans les eaux souterraines.



Bioénergie : *Geobacter* joue un rôle important dans les digesteurs anaérobies des eaux usées, dégradant les contaminants organiques en produisant du méthane, un biocarburant important.

Électrosynthèse microbienne : la capacité des *Geobacter* à oxyder des composés organiques est prometteuse dans la stratégie de production de bioélectricité, surtout dans des zones éloignées de toute activité humaine et technologique.

Bio-utilisation du dioxyde de carbone : il s'agit d'un procédé convertissant le dioxyde de carbone en carburant et autres produits biologiques utiles. Piloté grâce à la technologie solaire utilisant la photo-électrosynthèse, cela offre la possibilité d'utiliser la lumière du soleil et le dioxyde de carbone afin d'obtenir des composés organiques bien plus utiles et durables que les procédés à base de biomasse.

Bioélectronique : *Geobacter* ont de nouvelles propriétés électroniques qui peuvent avoir des applications pratiques. Par exemple, ils peuvent former des films conducteurs hautement cohésifs qui ont des conductivités rivalisant avec ceux des polymères conducteurs synthétiques. La conductivité des films de *Geobacter* résulte d'un réseau de nanofils microbiens, minces (environ 3 nm), filaments de protéines conduisant les électrons sur toute leur longueur de manière identique aux conducteurs métalliques. Ainsi, les *Geobacter* offrent la possibilité de réaliser des capteurs électroniques et autres dispositifs fonctionnant sous l'eau et pouvant facilement coupler des interfaces biologiques et abiotique, à base de matières premières peu onéreuses, comme l'acide acétique (le vinaigre, par exemple).

Étude génome de *Geobacter* : les génomes de plusieurs espèces de *Geobacter* ont été séquencés et incorporés dans un modèle informatique qui peut prédire le métabolisme de *Geobacter* dans différentes conditions environnementales.

2.8.1.3 Genre *Myxococcus*

Ordre *Myxococcales* ; Famille *Cystobacterineae* ; Genre *Myxococcus*



Genre *Myxococcus*

Morphologie : en forme de bâtonnets, elles réalisent une fructification, aérobie, mobiles par glissement avec libération de substances muqueuses ; ils possèdent des myxospores, Gram(-). Le C+G = 67 - 71 % (très élevé). Elles sont bactériolytiques ; soit cellulolytiques ; leur paroi est composée de mucopeptides.

Culture : les colonies sont jaunes, verdâtres, rouges ou violettes. Les pigments sont des esters de caroténoïdes-glicosides-acide gras.

Les différentes espèces *Myxococcus*

<i>M. coralloides</i>	<i>M. stipitatus</i>
<i>M. flavescens</i>	<i>M. virescens</i>
<i>M. fulvus</i>	<i>M. xanthus.</i>
<i>M. macrosporus</i>	

Historique : les *Myxococcales* ont été découvertes en 1941 par Charles William Beebe. Cette bactérie distingue par son aptitude à se regrouper en « essaim », c'est-à-dire qu'elle ne va plus fonctionner individuellement, mais possède un « esprit » de groupe comme les fourmis ou les abeilles. Cette bactérie a de nombreuses applications pour l'homme.

Environnement : elle vit préférentiellement sur la surface de la terre dans des milieux inhabités avec un pH compris entre 5 et 8. Cependant elle peut survivre à des pH extrêmes grâce à sa forme sporulée. Cette bactérie préfère les surfaces riches en matière organique car c'est sa substance



nutritive, mais on peut la retrouver dans des milieux avec peu ou pas de matière organique comme le sable ou sur des surfaces rocheuses. Elle peut également se retrouver dans des milieux liquides comme l'eau douce.

Biotechnologie : cette bactérie peut produire différentes substances. Vivant au détriment d'autres microorganismes, elle sécrète dans le milieu extérieur des enzymes hydrolytiques pour dégrader les autres organismes présents. C'est d'ailleurs par cette production d'enzymes hydrolytiques que certains médicaments sont créés. En effet ces enzymes hydrolytiques permettent de dégrader les levures, moisissure ou entérobactéries ; ces enzymes peuvent donc être utilisés comme antibiotiques. La bactérie va donc se nourrir d'autres micro-organismes en les dégradant. Par cette dégradation *Myxococcus* va pouvoir récupérer les nutriments disponibles.

Particularité du *Myxococcus xanthus* : il a un cycle de vie complexe notamment régulé par l'interaction entre cellules. En effet dans la sphère bactériologique, certaines bactéries ont développé la capacité d'interagir entre elles. On appelle ces interactions la multicellularité. On peut définir la multicellularité comme la condition d'un organisme pour lequel les activités des différentes cellules qui le composent sont coordonnées et en contact suffisamment proche pour interagir.

Particularité dans la formation de bio-concrétions : récemment il a été mis en évidence que les bactéries peuvent être à l'origine de minéralisations carbonatées. Elles ont été proposées comme méthode pour empêcher la décomposition du carbonate des pierres ornementales. Cependant cette méthode possède deux défauts majeurs qui sont une trop faible protection en profondeur (seulement quelques micromètres) et une obstruction des pores de la pierre. Nous pouvons penser que les spéléotèmes observés dans certaines cavités sont plus ou moins orientés par ce monde microbien.

Pathogénicité : à ce jour pas de pathologie particulière signalée.

2.9. EMBRANCHEMENT EPSILON PROTEOBACTERIA (BV2)

Les Epsilonproteobacteria ou Protéobactéries ϵ

Il comprend :

- les *Campylobacterales*
- les *Nautiliales*

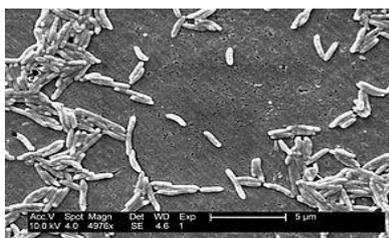
Les Protéobactéries ϵ ont la forme de bâtonnets droits, courbes ou en hélice. Elles possèdent un ou plusieurs flagelles qu'elles utilisent pour leur locomotion. Leur longueur varie de 0,5 à 5 μm .

Mode de vie : certaines de ces bactéries vivent près des sources hydrothermales, mais la plupart ont un mode de vie parasitique ou symbiotique. Ces dernières vivent dans les voies digestives ou génitales des mammifères. Bon nombre d'entre elles sont pathogènes.

2.9.1 Genre *Campylobacter*

Ordre *Campylobacterales* ; Famille *Campylobacteraceae*

Campylobacter



Campylobacter est une bactérie légèrement spiralée ou incurvée, elle est sporulée et possède un ou deux flagelles polaires, de Gram(-), micro-aérophile, oxydase(+), non sporulant (présence d'une capsule), bactéries très mobiles, présentes dans l'intestin de nombreux animaux, oiseaux, d'élevage notamment. Se cultive sur milieux sélectifs de CAMP ou *Campylobacter agar*, à 37 à 42 °C en conditions micro-aérophiles pendant 44 à 48 h.

(Fig.7 : Image_ http://common.wikimedia.org/wiki/file:campilobacter_fetus_01.jpg)



Campylobacter pyloridis* anciennement appelé *Helicobacter pylori

C. pyloridis est une bactérie dont la structure externe est hélicoïdale (d'où son nom *Helicobacter*), munie de flagelle, et qui infecte la muqueuse gastrique. 80 % des ulcères gastroduodénaux sont causés par des infections de *C. pyloridis*, même si, chez beaucoup d'humains infectés, la maladie reste asymptomatique⁶⁶.

Campylobacter jejuni* et *coli

C. jejuni et *C. coli* sont la première cause de pathologie entérique d'origine bactérienne dans les pays industrialisés. Une infection, à *C. jejuni* et *C. coli*, peut engendrer, dans de rares cas, des neuropathies auto-immunes sévères (syndromes de Guillain-Barré et de Miller-Fisher). Les symptômes caractéristiques de l'infection comprennent une diarrhée aqueuse (les selles pouvant contenir des globules rouges ou des globules blancs), une entérocolite inflammatoire, des douleurs abdominales, de la fièvre, des nausées et des vomissements. Ces symptômes disparaissent généralement après une semaine. Un des principaux vecteurs de la pathologie est le réservoir intestinal des oiseaux et des volailles⁶⁷.

Statistiques sur les *Campylobacters* chez l'homme

Campylobacters chez l'homme par type de prélèvement				
Espèce	Selles	Sang	Autre	Total (%)
<i>C. jejuni</i>	3 071	156	44	3 271 (68)
<i>C. coli</i>	808	46	19	873 (18,2)
<i>C. fetus</i>	89	289	72	450 (9,4)
<i>C. upsaliensis</i>	33	4	3	40 (< 1)
<i>C. lari</i>	20	7	3	30 (< 1)
<i>C. sputorum</i>	3	3	2	8 (< 0,1)
<i>C. hyointestinalis</i>	4			4 (< 0,1)
<i>A. cryaerophila</i>	1			1 (< 0,1)
<i>H. cinaedi</i>	2	3	1	6 (< 0,1)
<i>Campylobacter</i> sp.	78	26	13	115 (2,4)
<i>C. jejuni</i> ssp <i>doylii</i>	5		2	7 (< 0,1)
<i>Helicobacter pylori</i>			2	2 (< 0,1)
Total	4 114	534	161	4 807
%	85,6	11,2	3,2	

www.ins.sante.fr/recherche/index2.asp?txtQuery=Campylobacter

La maladie

Incubation : les symptômes de cette maladie apparaissent habituellement deux à cinq jours après l'infection, mais la durée de la période d'incubation peut aller de un à dix jours.

Symptômes cliniques

- Les plus courants dans les infections à *Campylobacter* sont la diarrhée (accompagnée souvent de sang dans les selles), les douleurs abdominales, la fièvre, les céphalées, les nausées et/ou les vomissements. Ces symptômes durent habituellement entre trois et six jours.
- Les décès par campylobactériose sont rares et ne concernent habituellement que les très jeunes enfants et les personnes âgées ou encore les individus souffrant déjà d'une autre maladie grave comme le sida.
- Des complications telles que bactériémie (présence de bactéries dans le sang), hépatite ou pancréatite (infections du foie et du pancréas respectivement) et fausse-couche ont été rapportées avec divers degrés de fréquence.
- On peut également observer des complications post-infection : arthrite réactive (inflammation douloureuse de l'articulation qui peut durer plusieurs mois) et troubles neurologiques comme le syndrome de Guillain-Barré, une forme de paralysie offrant des similitudes avec la poliomyélite et pouvant entraîner des dysfonctionnements respiratoires et neurologiques sévères, voire le décès dans un petit nombre de cas.



Sources et transmission : les espèces du genre *Campylobacter* se retrouvent chez la plupart des animaux à sang chaud. Elles sont présentes chez les animaux destinés à l'alimentation humaine tels que volailles, bovins, porcs, ovins, autruches et crustacés, et chez les animaux de compagnie tels que chiens et chats. C'est une zoonose particulière sur la volaille.

On pense généralement que la principale voie de transmission est alimentaire et passe par la consommation de viandes et de produits dérivés de la viande insuffisamment cuits ou encore de lait cru ou contaminé. L'eau ou la glace contaminée sont aussi sources d'infection. Une certaine proportion des cas résulte du contact avec une eau contaminée dans le cadre d'activités récréatives.

Physiopathologie : *C. jejuni* est une bactérie invasive mais dont le mécanisme de pathogénicité n'est pas encore connu au niveau moléculaire. Il n'a pas été possible d'individualiser des souches plus pathogènes. Cette bactérie fabrique également un toxine qui distend le cytosquelette. La propension de *C. fetus* à donner des infections systémiques a été mise sur le compte de sa résistance à la phagocytose du fait la présence d'une capsule. Le mimétisme moléculaire entre le lipopolysaccharide de certains sérogroupes de *C. jejuni* et les terminaisons de la myéline est à l'origine du syndrome de Guillain-Barré

Traitement : un traitement antimicrobien (érythromycine, tétracycline, quinolones) est recommandé dans les cas invasifs (lorsque la bactérie envahit les cellules de la muqueuse intestinale et endommage les tissus) ou pour éliminer les porteurs sains (individus qui hébergent *Campylobacter* dans leur organisme et continuent de l'excréter tout en restant asymptomatiques).

Possibilité de contamination en *Campylobacter* dans le karst : le vecteur des *Campylobacter* est surtout animal, ce sont des bactéries commensales du tube digestif de nombreux oiseaux. C'est dans ce cadre, que la contamination bactérienne peut être transmise lors d'explorations spéléologiques dans les entrées de cavités qui servent d'abri à ces volatiles.

2.10 EMBRANCHEMENT *PLANCTOMYCETES* (BACTÉRIES VERTES NON-SULFUREUSES)

2.10.1 Généralités

Dans les Planctomycetes, on trouve les classes suivantes :

- *Chlamydiae*
- *Lentisphaerae*
 - *Ordre Lentisphaerales*
 - *Ordre Oligosphaerales*
 - *Ordre Vicvallales*
- *Planctomycetes*
 - *Ordre Phycisphaerales*
 - *Planctomycetales*
- *Verrucomicrobia*
 - *Ordre Puniceicoccales*
 - *ordre Opitutaes*
 - *Ordre Chthoniobacterales*
 - *Ordre Verrucomicribiales*
- *Poribacteria*

2.10.1.1 Phylum *Planctomycetes*

Bactéries difficilement classées, proche des eucaryotes par la présence d'une membrane nucléaire dans ce procaryote. Les bactéries *Planctomycetale* ont une division de cellule polaire, de type levure. Au cours de la division, les cellules attachent leur pôle végétatif aux surfaces avec des tiges ou des substances excrétées. La cellule mère est conservée et une nouvelle cellule fille est formée,



contrairement à la fission binaire où la cellule-mère se divise en deux cellules-filles égales. Une cellule mobile est issue de cette séparation.

2.10.2 Planctomycetes dans *Four Windows Cave*

Elles ont été observées dans *Four Windows Cave* et dans le gouffre de Sambury dans une proportion d'environ 4 % de la flore totale.

2.10.2.1 Genre *Verrucomicrobia*

Le nom *Verruco* vient du fait que cette bactérie a des turgescences de sa paroi comparable à des verrues ; il représente 2 % des identifications du gouffre de la Sambury.

Sous Ordre *Chlamydiales* ; Ordre *Verrucomicrobiales* ;

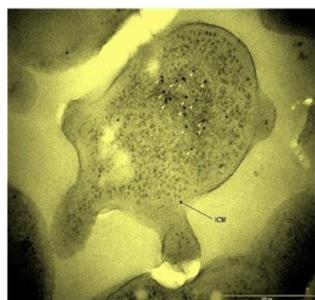
Famille *Verrucomicrobiaceae* ; Genre *Verrucomicrobia* ; Espèce *spinosum*

La taxonomie couramment acceptée est basée sur la *List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature*⁶⁸ et la phylogénie repose sur le Gène ARNr 16s.

Les analyses du gène codant pour l'ARNr 16s, ont mis en évidence qu'une partie du génome des *Verrucomicrobia* était constituée de la même codification que les *Chlamydia* (cette appartenance n'a pas l'approbation de tous les microbiologistes mais en absence de classification elle est la seule à être envisageable pour le moment).

Genre *Verrucomicrobium* ; Espèce *spinosum*

Verrucomicrobia



(Photo de : BMC _ Microbiol. 2009; 9:5)

Morphologie : bactéries Gram(-), coccoïdes ou en forme de bâtonnet avec une structure cellulaire particulière avec des protubérances ressemblant à des verrues. Elles sont une exception qui les rend proches des cellules procaryotes, par leurs caractéristiques culturelles et atypiques dans le règne bactérien.

Selon les espèces elles peuvent être aérobies ou anaérobies stricts ou facultatives.

Habitat : aquatique ou terrestre (sol). Elles sont trouvées à des températures froides (eaux antarctiques) où dans des sources chaudes (75 à 90 °C). D'autres espèces vivent dans des environnements extrêmes, riches en sulfure, pH forts ou faibles.

Caractéristiques biochimiques : elles ont besoin des hydrates de carbone pour leur énergie, elles peuvent utiliser le méthane. Elles ont un rôle dans la dégradation de la cellulose (comme *V. spinosum*). Ce genre figure parmi les bactéries présentes dans le tube digestif humain et constituant de la microflore intestinale.

Pathologie : dans cette même famille on trouve l'espèce *Akkermansia muciniphila* (nom donné par un microbiologiste hollandais à ce *Verrucomicrobia*), qui est une bactérie anaérobie stricte, isolée des déjections fécales humaines ; elle utilise la mucine gastrique comme source d'énergie et d'azote (représente environ 1 % des bactéries intestinales). Cette observation pose le problème des risques en cas de déficience de protection intestinale par la mucine (chimique et bactérienne). Ce qui peut être considéré comme un facteur pathogène du tractus gastro-intestinal⁶⁹.

2.10.2.2 Genre *Negibacteria*

Sous-règne *Negibacteria* ; Infra-règne *Glidobacteria*



(Photo : *E. coli*)

Negibacteria

Les *Negibactéries* se caractérisent par une paroi à deux membranes⁷⁰ : une membrane plasmique et une membrane externe. Cette structure particulière peut être qualifiée de diderme ou de bimembranée.

2.10.3 *Planctomycetes* dans la grotte ornée de Magura

Dans cette grotte aucun *planctomycetes* n'a été identifié ou n'ont fait l'objet d'analyses particulières.

2.10.4 *Planctomycetes* dans le gouffre de la Sambuy

Les *Planctomycetes* représentent 10 % de la flore observée. Dans ce gouffre il a été identifié 3 % de *Chloroflexi* qui ont largement été décrits dans la partie de *Four Windows Cave*.

2.10.4.1 Genre *Gemmata*

Représente environ 2 % de l'identification du gouffre de la Sambuy.

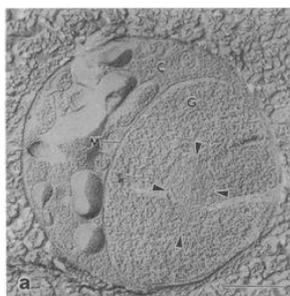
Ordre *Planctomycetales* ; Famille *Planctomycetaceae*

La particularité de cette famille *Planctomycetaceae* est l'absence de peptidoglycane dans la membrane externe.

Analyse génomique : dans le génome du *Gemmata obscuriglobus*, les fonctions de contrôle du métabolisme, de la biosynthèse, du transport, de la traduction et de la réplication de l'ADN sont identiques à ceux rencontrés chez les bactéries, cependant certains gènes ont été trouvés dans le génome des eucaryotes, comme l'intégrine alpha-V et la protéine inhibiteur de la trypsine (Jenkins and al. 2002)⁷¹.

Structure cellulaire et métabolisme

Gemmata



(Photo: www.microsotranslator.com/bv.aspx?microbewiki.kenyon.edu/index.php/File/Gemmata J.P.G.)

Morphologie : ces bactéries sont aérobies chimio-hétérotrophes ; leurs membranes cellulaires ne sont pas constituées par du peptidoglycane et présentent des structures de puits sur leurs surfaces cellulaires. Dans leurs membranes cellulaires, il y a une bicouche lipidique qui est censée protéger les cellules contre la lyse par choc osmotique, ce qui peut remplir un rôle important dans la stabilisation des *Planctomycètes* dans leurs milieux oligotrophes osmotiquement stressant. Les bactéries liées aux espèces des genres *Gemmata* et *Isosphaera* ont été isolées du sol, de l'eau douce et d'une solution d'ampicilline de laboratoire. Un nucléoside double-membrane-délimitée a été observé dans des isolements de *Gemmata* apparentés, mais pas dans l'*Isosphaera*. Cette observation peut relier les *Gemmata* aux eucaryotes⁷².

Écologie : les genres *Gemmata* et *Isosphaera* ont été isolées du sol, de l'eau douce et cette bactérie a été retrouvée dans des perfusions d'ampicilline en milieu hospitalier.

Jonquille obscuriglobus, une bactérie sphérique, a été isolée dans un barrage d'eau douce. Au cours d'une étude qui a analysé la diversité « planctomycète » semblable d'une usine de traitement des eaux usées, les échantillons prélevés dans des digesteurs aérobies, anaérobies et anoxiques ont mis en évidence 3,8 % de *Gemmata* (Chouari et al. 2003).

Bactéries à reproduction bourgeonnante : les bactéries *Planctomycetale*, ont une division de cellule polaire, de type levure.

Pathologie : à ce jour aucune pathologie particulière n'a pu être attribuée au genre *Gemmata*.

2.11 EMBRANCHEMENT SPHINGOBACTERIA (GROUPE FCB)

Ce phylum des *Bacteroidetes* on trouve les classes suivantes :

- *Fibrobacteres*
- *Chlorobi*
 - Ordre *Chlorobiales*
 - Ordre *Ignavibacteriales*
- *Bacteroidetes*
 - Ordre *Bacteroidales*
 - Ordre *Cytophagales*
 - Ordre *Flavobacteriales*
 - Ordre *Sphigobacteriales*

Classe *Bacteroidetes* sera traité dans la partie des risques microbiologiques atmosphériques du karst (chapitre 6). Toutefois les prélèvements de la grotte ornée de Magura ont identifié une bactérie de cet embranchement sur les parois rocheuses de la cavité, elle ne peut donc pas être analysée comme une simple bactérie atmosphérique karstique. Cette bactérie est du genre *Myroides*.

2.11.1 *Bacteroidetes* dans *Four Windows Cave*

Dans cette grotte il n'a pas été signalé ou analysé de bactéries appartenant aux *Bacteroidetes*.

2.11.2 *Bacteroidetes* dans la grotte de Madura

Dans cette grotte il a été identifié 10,9 % de *Bacteroidetes*.

2.11.2.1 Genre *Myroides*

Ordre *Flavobacteriales* ; Famille *Myroidaceae*

Cette famille se compose de deux genres :

- *Myroides*
- *Psychromonas*⁷³

Le genre *Myroides* a été déplacé vers la famille des *Flavobacteriaceae* et *Psychromonas* famille *Psychromonadaceae* à l'ordre *Alteromonadales*⁷⁴.

La souche qui a été identifiée dans la grotte de Magura est la souche *Myroides SP (HE 663456)*.

Dans ce genre on a ***Myroides odoratum*** qui est un agent pathogène connu⁷⁵.

- Caractéristiques : *Myroides* est Gram(-); aérobies, immobiles, oxydase(+).
- Culture : gélose de MacConkey, incubation 37 °C. Il produit en culture, un pigment jaune et une odeur fruitée.
- Avec un équilibre des bases nucléique G + C de 36,2 % et 38,6 %

Une publication issue du *Department of Medicine, Finch University of Health Sciences/The Chicago Medical School, Chicago, Illinois*, signale que des *Flavobacterium* de Gram(-) ont été reclassés dans les *Myroides*. Le ***Myroides odoratum***, une des espèces, a été signalée dans des infections opportunistes. Cependant, son pouvoir pathogène est mal défini et les données sont encore en analyse. Bien que les infections causées par cette bactérie, soient rares, elle est résistante à plusieurs antibiotiques. Il a été rapporté un cas de bactériémie par ***Myroides odoratum*** qui a progressé vers un choc septicémique. Après identification de la bactérie, la réalisation d'un antibiogramme a permis l'administration d'antibiotiques efficaces.

Symptomatologie : ces bactéries se comportent comme des pathogènes opportunistes. Elles peuvent causer des cellulites bactériennes, des fasciites nécrosantes⁷⁶, des infections des voies



urinaires⁷⁷, des infections de plaies opératoires, des ventriculites⁷⁸ et des endocardites. Des infections nosocomiales ont également été signalées.

Diagnostic et analyses : il a été isolé dans l'urine humaine, les fèces, les débridages de plaie, les crachats et le sang, mais son pouvoir pathogène n'est pas bien défini, et des infections cliniques causées par cet organisme sont rares. Nous rapportons un cas de bactériémie et cellulite microbienne due à *M. odoratum*.

Le cas d'une personne de 62 ans, atteinte de diabète sucré, compliquée par une maladie vasculaire périphérique :

- essoufflement, détresse respiratoire légère ;
- malaise général ;
- anorexie et légère fièvre pendant 3 à 4 jours ;
- hypotension à 88/60 mm Hg ;
- l'examen physique a révélé un œdème à l'extrémité du membre inférieur droit et un ulcère superficiel, inflammatoire et qui s'étendait à la face antérolatérale distale de la jambe droite avec écoulement purulent et érythème ;
- à noter aussi un ulcère profond d'environ 1 cm de diamètre avec des marges indurées sur la surface plantaire au niveau du premier métatarse, avec un écoulement odorant nauséabond.
- le taux de leucocytes était de $11 \times 10^9/l$ avec 80 % de neutrophiles et 19 % de mononucléaires. La radiographie du pied n'a révélé aucun signe d'ostéomyélite.
- le patient a été traité empiriquement par de la ceftazidime et de la gentamicine en attendant d'autres cultures. L'ulcère du pied droit a été débridé.

Environnement : les *Myroides* sont des espèces couramment retrouvées dans les sols et l'eau, mais ne sont pas des composants habituels de la microflore humaine.

2.11.3 *Bacteroidetes* dans le gouffre de la Sambuy

Dans cette grotte il n'a pas été signalé ou analysé de bactéries appartenant aux *Bacteroidetes*.

2.12 EMBRANCHEMENT *FIRMICUTES* (BV3)

2.12.1 Généralités

Principales classes :

- *Bacilli*
 - Ordre *Bacillales*
 - Ordre *Lactobacillales*
- *Clostridia*
 - Ordre *Clostridiales*
 - Ordre *Halanaerobiales*
 - Ordre *Thermoanaerobacterales*
 - Ordre *Natranaerobiales*
- *Erysipelotrichi*
- *Thermolithobacteria*
- *Tenericuts Mollicutes*
 - Ordre *Mycoplasmatales*

2.12.2 Classe des *Bacilli*

Ordre *Bacillales* ; Famille *Bacillaceae*

Genre *Bacillus* : une grande partie du règne *Bacteria* de classe des *Firmicutes*, la Famille *Bacillaceae* sera développée dans la partie des contaminations atmosphériques (chapitre 6), nous nous limiterons aux *Bacilli* qui peuvent être présents dans l'environnement karstique et tellurique.



2.12.2.1 Espèce *Bacillus Anthracis*



Bacillus Anthracis

C'est une bactérie Gram(+), aérobie et anaérobie facultative. Elle sporule et ses spores sont hautement résistantes. Lors de l'infection, elles germent et produisent des facteurs de virulence. Les spores ne se divisent pas, mais peuvent survivre des dizaines d'années dans le sol en attendant l'occasion d'infecter un nouvel hôte. Leur destruction est très difficile car elles résistent à la sécheresse, à la chaleur et à de nombreuses substances désinfectantes.

Morphologie : *Bacillus anthracis* est un bacille de grande taille, 5 μ de long sur 1 μ de large, aux extrémités coupées net. Il est immobile, on le rencontre, soit isolé, soit en forme de chaînettes, qui lui ont valu l'appellation de « Bacille en tire-bouchon ». *Bacillus Anthracis* est capsulé et sa capsule ne se forme que dans les milieux albumineux⁷⁹.

Les caractéristiques différentielles entre *B. anthracis* et *B. cereus* sont résumées dans le tableau suivant :

Définition	<i>B. anthracis</i>	<i>B. cereus</i>
Lécithinase	\pm	+++
Hémolyse	\pm	+++
Salicine	-	+
Gélatinolyse	Lentement	Rapide
Acétyl-carbinol	+	-
Pouvoir pathogène sur cobaye	Septicémie (mort)	Lésion locale hémorragique
Sensibilité à la pénicilline.	+	-

Culture : sur gélose sans peptone, incubation 37 °C en boîte de Pétri, colonies grisâtres, de 4 à 5 mm, rugueuses (qui donnent des colonies lisses), à bords festonnés (« tête de méduse »).

En milieu liquide : le bouillon reste clair, les grumeaux sédimentent au fond du tube.

La gélatinisation : dans l'ensemencement par piqûre centrale sur gélose, à la partir de la piqûre il se forme des filaments latéraux de plus en plus petits vers le fond du tube : « sapin renversé ». Liquéfaction lente (3 - 4 jours).

***B. anthracis* :** il est encore connu sous le nom de bactérie charbonneuse ou Bacille de Davaine ; c'est une bactérie très pathogène pour les animaux (bovins, ovins chevaux, porcs, carnivores sauvages) qui donne la fièvre charbonneuse, maladie septicémique le plus souvent d'évolution rapide et fatale. La spore est centrale et non déformante, on ne la trouve pas dans les produits pathologiques car la sporulation ne se fait pas *in vivo* ; elle exige la présence d'oxygène libre et une température comprise entre 16 et 40 °C.

Pathologie humaine et symptomatologie : chez l'Homme, la porte d'entrée la plus fréquente est constituée par de petites blessures cutanées. Après un à trois jours d'incubation il apparaît une petite vésicule (« pustule maligne ») qui s'entoure d'une zone œdématisée où peuvent apparaître des vésicules secondaires. Il n'y a guère de suppuration, mais les vésicules se transforment en escarres recouvertes d'une croûte noirâtre. À ce stade, la maladie est parfaitement curable (mortalité inférieure à 1% des cas traités) mais si elle n'est pas reconnue, la généralisation par voie



lymphatique survient après quelques jours et la septicémie devient rapidement mortelle. La porte d'entrée digestive (consommation de viande d'un animal charbonneux) n'existe que dans les pays à hygiène déficiente. Il en va de même pour la pneumonie par inhalation (*woolsorter's disease*), heureusement rare.

Épidémiologie : au point de vue épidémiologique, deux groupes professionnels sont exposés :

- Les personnes en contact avec les animaux atteints.
- Les personnes manipulant des produits d'origine animale souvent importés de pays où le charbon animal est encore répandu.

Les cavités karstiques abritent souvent des cadavres d'animaux dans leurs parties supérieures, ce qui peut être un risque de contamination lors de présence de plaies ou de blessures.

Facteurs de virulence

- Sa capsule, composée uniquement d'acides poly D-glutamique, lui permet d'échapper à la phagocytose.
- La production de deux toxines, composées de trois protéines distinctes : l'antigène protecteur, le facteur œdémogène et le facteur léthal. Lorsque les deux premières protéines sont associées, elles forment la toxine œdémogène, tandis que lorsque l'antigène protecteur est associé au facteur léthal, il y a formation de la toxine létale. Ces dernières agissent en synergie avec la capsule directement sur la virulence de la bactérie.

Enzymes et toxines

- Le bacille du charbon ne secrète pas d'hémolysine.
- On décrit trois substances isolées de l'œdème d'animaux infectés, ne se retrouvant en culture que si le milieu est très riche :

Facteur I = EF
Edema Factor

Facteur II = PA
Protective Antigen

Facteur III = LF
Lethal Factor

Chacun de ces facteurs est immunogène mais leur action pathogène est complexe : chacun d'eux injecté pur n'est guère toxique alors que le mélange est léthal.

Antigènes (Ag) : la capsule polypeptidique a les propriétés d'une haptène. Elle joue un rôle dans la pathogénie puisque les souches sans capsule sont avirulentes. Toutefois, la possession d'Ac. anticapsulaires (induits par exemple en injectant des bacilles tués) ne confère pas de résistance à l'infection.

Méthodes de diagnostic

- Examen microscopique de la sérosité de la pustule.
- Culture de cette sérosité.
- Hémoculture si menace de septicémie.

Immunité : la vaccination des animaux à l'aide de bacilles vivants atténués se pratique dans les régions où le charbon est encore abondant et cause d'importantes pertes économiques⁸⁰.

Prophylaxie : les animaux morts doivent être manipulés avec des précautions d'hygiène adaptées.

Traitement : le bacille du charbon est sensible à divers antibiotiques (pénicillines, macrolides, tétracyclines...). Sauf contre-indication, la pénicilline sera toujours le premier choix.

La revue scientifique *PLOS One* a publié le 27 janvier un article présentant la découverte d'une nouvelle sorte de bactériophage pouvant intervenir dans le traitement du *Bacillus anthracis*.

2.12.2.2 Firmicutes dans *Four Windows Cave*

Dans cette grotte il n'a pas été signalé ou analysé de bactéries de la classe des *Firmicutes*.



2.12.2.3 Firmicutes de la grotte de Madura

Dans la grotte de Magura, on a identifié le *Bacillus safensis* (HQ696447).

2.12.2.3.1 Espèce *Bacillus safensis*

Bactérie Gram(+), aérobie(+), chimio-hétérotrophe. Ses cellules de tailles variées de 0,5 à 0,7 µm de diamètre et de 1 à 1,2 µm de longueur. Les bactéries sont mobiles et utilisent des flagelles polaires pour leur locomotion. Les cellules sont considérées comme mésophile, car elles peuvent croître à des températures variant entre 10 et 50 °C avec un optimum 30 à 37 °C. Elle est halophile, supporte une eau contenant de 0 à 10 % sel et un pH de 4 à 8, optimum du pH 5,6⁸¹.

Cette souche s'avère également sporulée, résistant à l'eau oxygénée et au rayonnement UV. Cette bactérie est capable de produire des hormones végétales et de bloquer les métaux lourds dans les sols agricoles.

Remarque : nous pouvons observer que dans les résultats d'identification nous trouvons dans le karst des bactéries halophiles, alors que ce karst a été sorti des fonds marins il y a des millions d'années. Ces bactéries deviennent de ce fait des traceurs de la bio-paléontologie.

Pathogénicité : pas de pathologie signalée à ce jour.

2.12.2.4 Firmicutes du gouffre de la Sambuy

Dans cette grotte il n'a pas été signalé ou analysé de bactéries de la classe des Firmicut

2.12.3 Phylum *Clostridia*

2.12.3.1 Genre *Clostridium*

Clostridium



(Fig.9 :
http://translate.googleuser.com/contant.com/.../file : Clostridium_botulinum/)
(Photo *Clostridium botulinum*)

Morphologie : très homogène. Bacilles (7 à 8 µx2µ) à faces parallèles ou légèrement convexes. Généralement mobiles (ciliature péritriche), parfois capsulés, Gram(+). Ils sont capables de sporuler suivant les conditions du milieu. La spore peut être, soit en position centrale, soit en position terminale, soit non déformante, soit déformante. Arrondie ou ovale, la spore déforme toujours un peu la bactérie. Elle peut être en position subterminale ou terminale.

Culture : gélose profonde, sur milieux TSN avec pasteurisation 80 à 85 °C ou gélose de Willis avec hémolyse sang de lapin ou mouton, en anaérobiose (peut être tenue par de la vaseline et présence de thiosulfate dans le milieu). Ils sont sulfite-réducteurs(±), ont un catabolisme très puissant et dégradent de nombreuses substances. La sporulation est (±) en fonction des variétés. Pour le *C. perfringens* culture sur milieu de Willis + néomycine ou milieu TSN + Cyclosérine à 47 °C

Habitat : les anaérobies se rencontrent

- soit dans les sols, où ils sont capables de se multiplier de façon autonome et de jouer un rôle non négligeable dans les cycles du carbone et de l'azote (anaérobies telluriques).
- soit dans les cavités naturelles de l'Homme et des animaux.
 - Cavités digestives : tous les anaérobies telluriques ou non telluriques.
 - Cavités bucco-pharyngées, voies respiratoires, exceptionnellement voies génitales.

Catabolismes toxiques : ils sont capables de produire

- la neurine qui est un dérivé de la choline ;
- l'histamine qui est un dérivé de l'histidine (entre dans les problèmes de réactions allergiques) ;
- la phénylacylamine, type phényéthylamine dérivé de la phénylamine.
- la tryptamine, dérivé du tryptophane.

Catabolismes fétides : ils produisent par leur catabolisme de l'hydrogène sulfuré, des alcools, des thiols et surtout des amines de décarboxylations



- soit fixes : putrescine (tétraméthylènediamine), cadavérine (pentaméthylène-diamine) ;
- soit volatiles : alcoylamines.

Cette diversité de catabolisme sert à identifier les bactéries.

Toxinogène bactérienne

- Toxines protéiques : ce sont des toxines endocellulaires qui diffusent dans le milieu extérieur. Pouvoir toxique très élevé. Pouvoir antigénique marqué, facilement identifiable par les antitoxines spécifiques. Elles sont facilement transformables en anatoxines.
- Toxines glucido-lipido-polypeptidiques. Pouvoir toxique faible, peuvent facilement se transformer en anatoxines, elles sont thermostables.

Caractéristique antigéniques : toutes les bactéries anaérobies possèdent des facteurs antigéniques somatiques O et aussi des facteurs antigéniques flagellaires H.

Pouvoir pathogène : leur pouvoir pathogène naturel est très varié : atteintes profondes (pleurésie, abcès du cerveau...) et septicémies. La part microbienne anaérobie témoigne d'un pouvoir pathogène occasionnel. Leur isolement n'aura donc de signification que dans un contexte clinique et bactériologique particulier^{82,83}.

Classe des Clostridiiums

On les classe en quatre groupes :

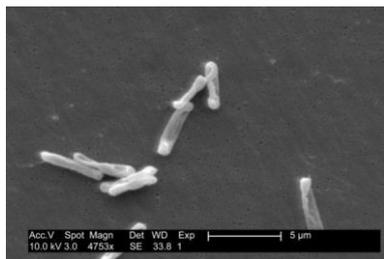
Groupe I – Clostridiiums (+) pathogènes, produisant du gaz, qui ont un pouvoir saccharolytique

Nom	Résistance au milieu	Toxines	Pathologie
<i>Cl. difficile</i>	RAS	Toxine A (entérottoxine) qui se fixe sur l'épithélium digestif, les récepteurs spécifiques de la bordure en brosse intestinale. Toxine B (Cytotoxine) active en présence de la Toxine A (A & B sont thermolabiles), Le <i>Cl. Difficile</i> peut se fixer sur la barrière digestive et sécréter des toxines.	Diarrhée avec mucus et sang. Incubation de 4 à 10 jours. Il est résistant à beaucoup d'antibiotique. Connue dans les maladies nosocomiales. Sur les personnes immunodéprimés ; sous traitement pour le cancer ; sous antibiothérapie.

➤ ***Clostridium difficile***

Clostridium présent dans les sols. Il est appelé ainsi par le fait, qu'il a un développement très lent en culture. Il a une spore terminale peu déformante. Il a une coloration de Gram(+) pour la bactérie et Gram(-) pour la spore. Identification de ce fait par culture et test ELISA. Une nouvelle souche, appelée « BI », « NAP1 », ou « ribotype 027 », est apparue depuis 2003, causant des infections plus sévères (probablement en raison d'une production plus importante de toxines) et plus récidivantes.

Clostridium difficile



Morphologie : au microscope, ce sont des bacilles allongés avec une extrémité légèrement renflée. Le germe lui-même est Gram(+) mais sa spore est Gram(-).

Culture : optimale dans un milieu à base d'TSN ou agar-agar à 37 °C. Lorsque les conditions deviennent difficiles, la bactérie produit alors des spores pouvant survivre. Il est résistant à la plupart des antibiotiques et en cas de perturbation de la flore digestive par l'administration de ces derniers, il peut alors se développer de façon importante.

Symptomatologie : la diarrhée (définie généralement comme l'excrétion d'au moins trois selles liquides en 24 heures) est la manifestation la plus commune de l'infection. Les selles sont habituellement très abondantes et présentent une odeur caractéristique. L'infection à *Clostridium* doit être d'autant plus suspectée si le patient a reçu une antibiothérapie à spectre large (céphalosporines ou clindamycine en particulier). La colite pseudomembraneuse est la forme la plus sévère de la maladie qui est accompagnée d'une diarrhée très importante, de crampes abdominales, de fièvre et d'hyperleucocytose. Cette forme de la maladie peut évoluer vers un mégacôlon toxique, une urgence chirurgicale pouvant devenir fatale. En effet, en cas de perforation du côlon, une péritonite s'installe et nécessite une intervention chirurgicale urgente par laparotomie.

Groupe II - Clostridiiums pathogènes, produisant du gaz, hydrolysant la gélatine et possédant un pouvoir saccharolytique. Produisent H₂S, responsable de toxi-infections plus ou moins graves.

Nom	Résistance au milieu	Toxines	Pathologie
<i>Cl. botulium</i>	< à 120 °C	Neurotoxique de - A à H.	Intoxication neuromusculaire généralisée
<i>Cl. oedematiens</i>	< à 85 °C 15 mn	α létale β lécithinase nécrosante. γ lécithinase hémolytique id. Cl. septicum δ . hémolysine oxygénolabile δ hémolysine oxygénostable μ Hyaluronidase.	- Œdème blanc rosé, crépitant, rapidement généralisé avec signes toxiques. - Hépatite nécrosante du mouton et de l'Homme. - Œdème toxique de la tête
<i>Cl. septicum</i>	< à 85 °C 15 mn	α létale, nécrotique, hémolytique. β désoxyribonucléase γ hyaluronidase. δ hémolysine (voisine de la streptolysine O)	Œdème local extensif avec hémorragies et phlyctènes, crépitant + syndrome général grave toxi-infection
<i>Cl. chauvoei</i>	30 mn 100 °C	α toxine létale \neq de Cl. septicum δ hémolytique \cong Cl. septicum	Charbon symptomatique du bœuf
<i>Cl. histolyticum</i>	< 85 °C 15 mn		- Gangrène ni gazeuse ni fétide, avec myolyse complète - Appendicites gangréneuses



Groupe III - Clostridiiums peu pathogènes, produisent peu de gaz, hydrolysent la gélatine, produisent du H₂S, digèrent le lait, ont un pouvoir saccharolytique faible. Responsables de toxi-infections gangréneuses.

Nom	Résistance au milieu et culture	Toxines	Pathologie
<i>Cl. sporogènes</i>	< 85°C 15 mn Gaz très putrides	Pas de toxine	- Gangrène en association avec d'autres anaérobies - Syndromes intestinaux avec fermentations putrides
<i>Cl. sordelli</i>	< 85°C 15 mn Gaz très putrides	Toxine létale	Gangrène gazeuse putride
<i>Cl. bifermentans</i>	< 85°C 15 mn	Pas de toxine	- Gangrène rare - Gangrène gazeuse en association
<i>Cl. aerofoetidum</i>	< 85°C 15 mn		- Gangrène gazeuse rare - Appendicite

Groupe IV - Pathogènes, produisent peu de toxines et sont variables dans leurs catabolismes ; il y a deux germes : *Clostridium tetani* saprophyte et *Clostridium perfringens*.

➤ ***Clostridium botulinum***

Bactérie du groupe II, thermorésistante, il résiste jusqu'à une température de 120 °C. Il est producteur de toxines protéiques neurotoxiques. Il y a huit types de toxines identifiées avec attribution d'une lettre pour chacune (A à H). La plupart des souches produisent un seul type de neurotoxine mais on a décrit aussi des souches productrices de multiples neurotoxines. Parmi les *Clostridium botulinum*, seuls les types A, B, E, et F causent la maladie chez les humains, tandis que les types C et D causent la maladie chez les vaches, les oiseaux et d'autres animaux, mais pas chez l'Homme. Absorbée par la bouche, non attaquée par le suc gastrique, la toxine franchit la barrière digestive et gagne les cellules nerveuses. Elle dissocie la transmission nerveuse au niveau des plaques neuromusculaires (blocage de l'acétylcholine). Ainsi elle intervient seule dans la pathologie du botulisme qui est une intoxication pure.

➤ ***Clostridium perfringens (Welchia perfringens)***

C. perfringens est toujours présent dans la nature et peut être une composante normale de la végétation en décomposition, des sédiments marins, du tractus intestinal des humains et d'autres vertébrés, des insectes et du sol. Les infections dues à *C. perfringens* entraînent des nécroses tissulaires, des bactériémies, des emphysèmes, des cholécystites et des gangrènes gazeuses. La toxine impliquée est connue comme β toxine, qui s'insère dans la membrane plasmique des cellules, produisant des lacunes dans la membrane qui perturbent la fonction cellulaire normale. L'action de *C. perfringens* sur les cadavres est connue. Dans les intoxications alimentaires, il résiste à une température de 105 °C (plats cuisinés). Les symptômes comprennent généralement des crampes abdominales, de la diarrhée, des vomissements, de la fièvre, et disparaissent généralement dans les 24 heures. De très rares cas mortels d'entérites nécrotiques à *Clostridium* ont été rapportés avec le « type C » produisant une β toxine puissamment ulcérigène fréquemment rencontrée en Papouasie Nouvelle Guinée.

Clostridium tetani

Clostridium tetani



Caractéristiques : anaérobie, Gram(+).

Morphologie : bâtonnet mobile de 3 à 4 μ sur 0,5 μ , (ciliature péritriche). La spore (diamètre de 1,5 à 2 μ m c'est-à-dire nettement plus grosse que la largeur de la bactérie) est terminale : image en baguette de tambour. Bacille sporulé à spores déformant en son extrémité. Cette bactérie est capable de sécréter des neurotoxines.

Culture : assez lente de 36 h à 48 h et fastidieuse, incubation 33 °C, optimum pH7 et très strictement anaérobie. Gélose VF profonde donne des colonies chevelues. La culture a une odeur de « corne brûlée ».

On rencontre ce bacille sur la terre entière, il existe sous deux formes :

- une **forme endosporulée** : lorsque les conditions extérieures sont défavorables, le bacille se protège sous cette forme que l'on retrouve dans le sol et les déjections de mammifères.
- une **forme végétative** : lorsque les conditions sont favorables, le bacille est capable de sécréter sa toxine neurotrope et ainsi provoquer une infection.

Les toxines du groupe II (Raynaud) à l'électrophorèse sont proches des β globulines.

Étiologie : il se trouve sur les sols humides et calcaires, il peut aussi être présent dans le tube digestif des ruminants et chez l'Homme où il a été recensé dans 5 % des cas analysés

Pouvoir pathogène : *Clostridium tetani* provoque des symptômes caractéristiques appelés tétanos. Une multiplication, même minime et discrète, dans une plaie entraîne la production d'une toxine neurotrope, la tétanospasmine, qui, soit par voie nerveuse, soit par voie sanguine, va se fixer sur les gangliosides^y des neurones du système nerveux central, provoquant le blocage des synapses inhibitrices, d'où contractures (opisthotonos) et paralysies spastiques par interférence avec le métabolisme de l'acétylcholine.

La période d'incubation moyenne est d'une semaine, mais peut aller de deux jours à deux ou trois semaines, en fonction de la quantité de toxine produite plus ou moins rapidement. On cite parfois des incubations plus longues (plusieurs mois) : il s'agit alors de spores restées dormantes, qui se réveillent lors d'un deuxième contact.

C'est par ce mécanisme qu'on explique les cas heureusement rares de « tétanos spontané ». Les cas à incubation courte sont généralement les plus graves (tétanos aigu). Mais il semble qu'un indice de gravité plus fidèle soit fourni par l'intervalle qui sépare l'apparition des premières contractures (généralement à la mâchoire) des convulsions spastiques : si cet intervalle est inférieur à 48 heures, le pronostic est mauvais.

Au total, la mortalité reste élevée : entre 50 et 60 % au niveau mondial, et environ 25 % en France⁸⁴ malgré les traitements intensifs (mort en asphyxie par spasmes du larynx et des muscles respiratoires). En principe, toute plaie non désinfectée peut être tétanigène.

Les causes favorisantes sont celles qui assurent l'anaérobiose nécessaire : tissus mal irrigués dans des plaies irrégulières et déchiquetés, présence de corps étrangers (épines, échardes, etc.) ou présence d'une flore pyogène associée qui consomme l'oxygène.

Actuellement, une bonne partie des tétanos survient après des plaies minimes chez un sujet qui n'est pas à jour de sa vaccination et qui n'a pas consulté de médecin.

On peut citer comme cas particuliers les tétanos compliquant des ulcères de jambes chroniques et mal soignés, le « *tetanus neonatorum* » provenant de la plaie ombilicale, toujours très grave.

^{y/} **gangliosides** : identifie un sphingoglycolipide dont la structure de base est un lactosylcéramide et qui possède toujours un oligosaccharide présentant un ou plusieurs acides sialiques (acide N-acétylneuraminique). Les gangliosides existent dans la membrane plasmique de la plupart des cellules, et sont abondants dans celle des neurones. Ils interviennent probablement dans la protection des membranes contre l'environnement extérieur et dans la réception de molécules extra-cellulaires. Par exemple, le ganglioside GM1 qui est le récepteur de la toxine tétanique.



En 1973, l'OMS estimait entre 50 000 et 100 000 la mortalité annuelle mondiale par tétanos surtout en pays tropicaux ; en 2011, l'OMS estimait à 61 000 les décès dus au tétanos néonatal et à 12 000 ceux par tétanos non-néonatal (dont <1 000 chez les enfants de moins de cinq ans)⁸⁵.

Diagnostic : le diagnostic est uniquement clinique : il n'y a que peu de bacilles dans la plaie et ils sont difficiles à isoler. Il est possible de rechercher la présence d'anticorps (Ac) antitoxines afin de vérifier la vaccination.

Vaccination : le calendrier vaccinal 2013 a allongé les intervalles des rappels de vaccins diphtérie-tétanos-poliomyélite (DTPolio) chez l'adulte : ceux-ci sont désormais de vingt ans entre 25 et 65 ans. Un intervalle de dix ans est maintenu au-delà de cet âge.

Le Haut conseil de la santé publique considère que les données relatives aux durées de protection conférées par les vaccins tétaniques autorisent une modification des recommandations relatives à la prévention du tétanos dans le cadre de la prise en charge des plaies. Devant une plaie, l'administration immédiate d'une dose d'anatoxine tétanique est recommandée lorsque la personne n'est pas à jour de ses vaccinations selon le calendrier vaccinal en vigueur. Si, en outre, la plaie est majeure ou susceptible d'avoir été contaminée par des germes d'origine tellurique, l'administration d'une dose d'immunoglobulines tétaniques complètera cette prévention.

Le HCSP précise également, qu'outre la prévention immédiate du tétanos, l'administration d'anatoxine tétanique doit s'inscrire dans une optique de mise à jour du statut vaccinal de la personne concernée. Un tableau résumant les conduites à tenir en fonction du statut vaccinal du patient figure dans cet avis.

Schéma vaccinal

Primovaccination avec un vaccin combiné : une dose à l'âge de 2 et 4 mois suivie d'une dose de rappel à 11 mois (DTPolio).

Rappels ultérieurs :

- à 6 ans : une dose de vaccin DTCaPolio ;
- entre 11 et 13 ans : une dose de vaccin dTcaPolio ;
- à 25 ans : une dose de dTcaPolio, ou, si la personne a reçu une dose de vaccin coquelucheux depuis moins de 5 ans, une dose de dTPolio ;
- à 45 ans : une dose de dTPolio ;
- à 65 ans : une dose de dTPolio ;
- à 75 ans, 85 ans, etc. (intervalle de dix ans au-delà de 65 ans) : une dose de dTPolio.

Période de transition :

Toute nouvelle primovaccination doit suivre le nouveau calendrier vaccinal.

Pour toute personne ayant déjà reçu un ou des vaccins avant la mise en place de ce nouveau calendrier vaccinal, la transition est la suivante (cf. Tableau 3.8) :

2.12.4 Genre *Listeria*

2.12.4.1 Espèce pathogène : *Listeria monocytogenes*

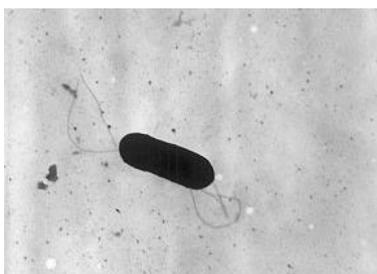
Ordre *Bacillales* ; Famille *Listeriaceae* ; Genre *Listeria*

Listeria monocytogenes

Morphologie : bacille de Gram(+), aéro-anaérobie facultatif, qui est présent dans le sol, les végétaux et l'eau et qui possède une catalase(+), il est mobile à 20° C.

Il peut être commensal pour certaines personnes (environ 1 à 10 % des personnes).

Bâtonnets courts et réguliers (0,4 à 0,5 µm de diamètre et 0,5 à 2 µm de longueur) avec une extrémité arrondie, cellules isolées ou en chaînettes. Elles font parfois des angles en V entre-elles. Bactérie généralement non capsulée et flagellée en péritriches. Dans les cultures âgées elles peuvent devenir Gram(-). **Culture** : incubation entre 20 à 25° C, sur gélose au sang après un enrichissement, les colonies développées (entre 24 et 28 h) ont un diamètre entre 0,5 et 1,5 mm, arrondies et translucides en goutte de rosée, elles sont vert et gris bleuté, faiblement convexes. Avec un β hémolyse sur gélose au sang facultative selon les espèces. Température optimale de croissance de 30 à 37° C. Identification : test de CAMP(+) avec le *Staphylococcus aureus* et CAMP(-) avec le *Rhodococcus equi* et galerie API (Rhamnose(+), Xylose(-) ; la présence d'une enzyme, la D-aminopeptidase, permet de différencier les souches de *Listeria monocytogenes*.



La sérotypie de *Listeria* révèle 14 antigènes somatiques et 5 antigènes flagellaires qui conduisent à 20 sérovars. Le *L. monocytogenes* est caractérisé par 16 sérovars et seulement 3 caractérisent 95 % des listérioses humaines.

Écologie, rôles pathogènes et épidémiologie : la listériose est une anthroponose. Ce germe est répandu chez nombre d'espèces animales, soit comme commensal (intestin des bovidés, oiseaux et même de l'homme), soit comme agent de septicémies avec abcès multiples et monocytes (élevage de souris, lapins) ou encéphalites (moutons, chèvres). Il est de plus très résistant dans les milieux extérieurs et peut se trouver dans la terre, le foin, les débris végétaux, etc. La bactérie peut résister à des séjours de 5 à 12 mois dans l'eau, de 7 mois dans la paille et plus d'un an dans les matières fécales.

Symptômes : la bactérie ingérée dans une nourriture quelconque peut traverser la paroi intestinale et induire divers symptômes tel un état pseudo-grippal apparemment bénin, notamment chez la femme enceinte.

Les symptômes sont plus importants :

- chez le fœtus et le nouveau-né (méningite néo-natale notamment, ou fausse couche, ou encore *granulomatosis infantiseptica* résultant de la contamination transplacentaire permise par deux protéines de la *Listeria* (appelées InIA et InIB) qui s'apparient à des récepteurs qui sont respectivement la E-cadherine et Met, permettant à la bactérie de se coller au placenta puis de le traverser⁸⁶. Des cas de méningites néo-natales seraient, d'après Seeliger, dus à la présence de listérias dans la flore vaginale de la mère. Il semble toutefois que ce commensalisme vaginal n'ait été détecté qu'en Allemagne.
- Chez les adultes ou jeunes immunodéprimés, il est probable qu'on ne repère que le sommet de l'iceberg dont la base est constituée par des infections non détectées, le germe étant peu pathogène pour l'homme normal. L'épidémiologie est mal connue : un antécédent de contact animal manque dans une bonne moitié des cas.



La période d'incubation est longue (2 à 70 jours, souvent entre 1 et 2 mois) ce qui rend le diagnostic plus difficile. De plus, il n'y a aucun signe extérieur que les aliments sont contaminés.

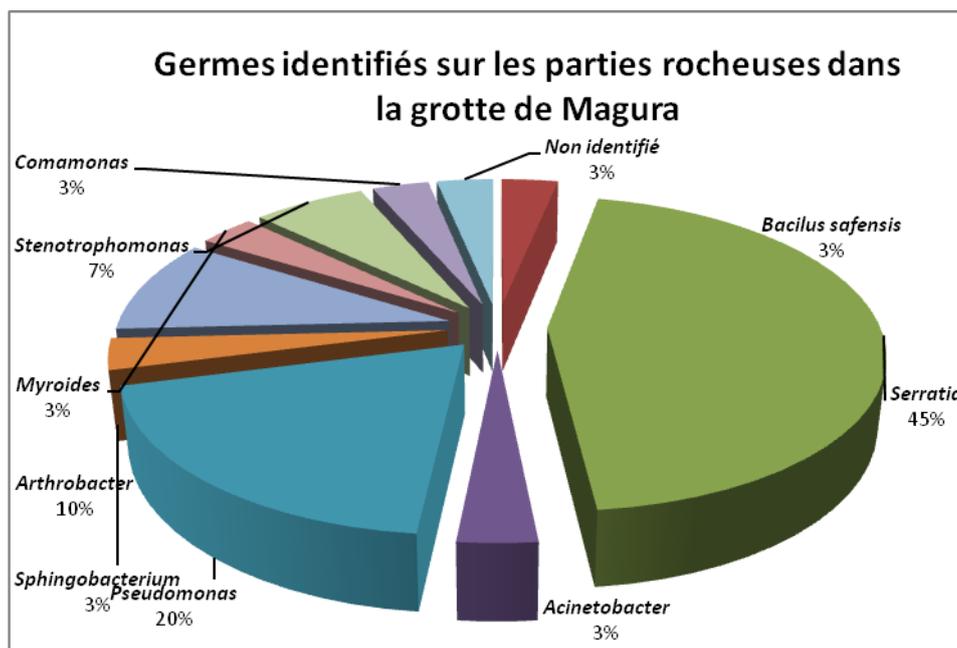
Dépistage : l'infection est identifiée dans le sang, le liquide céphalo-rachidien ou d'autres prélèvements par les laboratoires de bactériologie. Le laboratoire peut alors donner des indications utiles à la thérapeutique. La sérologie est d'un emploi limité. Des méthodes de typages moléculaires très précises et toujours applicables sont utilisées. Le typage s'effectue sur les protéines et l'ADN (PCR). Le typage par les protéines est réalisé par électrophorèse d'isoenzyme (*Multilocus enzymes analysis*) sur protéines de (ADH, G6PDH, fumarase...).

Traitement : il n'existe pas de vaccination. La sensibilité des *Listeria* pour les antibiotiques a peu évolué depuis plusieurs décennies. L'ampicilline et l'amoxicilline gardent toujours leur place et leur association avec les aminosides est fortement bactéricide. Les tétracyclines sont actives et les quinolones ont été utilisées avec succès comme l'association sulfamide-triméthoprim.

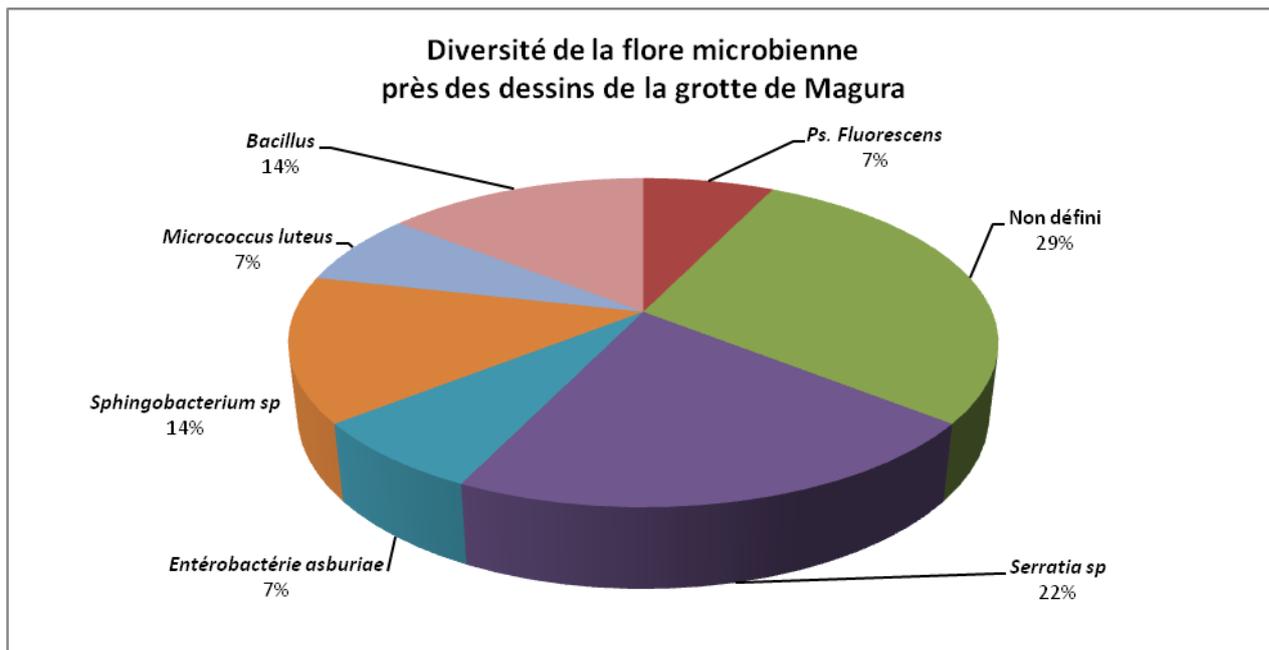
Mais les résultats restent aléatoires et dépendent surtout de l'état du système immunitaire du patient. La thérapie est efficace si elle est entreprise tôt. Le traitement est nécessairement de quelques semaines dans le cas de listériose.

2.13 MODIFICATION DE FLORE DANS LA PARTIE ORNÉE DE LA GROTTÉ DE MAGURA

Les résultats des prélèvements de la grotte de Magura au niveau de la partie ornée, montrent des différences comparativement aux prélèvements réalisés sur les parties rocheuses cette même cavité. Dans le graphique suivant, nous avons la répartition des fréquences en valeurs relatives des germes identifiés sur les parties rocheuses :



Et dans le graphique ci-dessous nous avons la répartition des fréquences en valeurs relatives des germes identifiés dans la partie proche des dessins :



La différence que nous pouvons observer, entre la partie rocheuse de la grotte et la proximité des dessins, consiste en une présence significative de *Bacilli*, d'*Entérobactéries* (*E. asburiae*) et de *Sphingobacterium* et une importante partie non-identifiée.

Nous pouvons penser que les peintres ont dû apporter des matières organiques pour leurs réalisations, ce qui a pu entretenir une flore hétérotrophe et anthropique. Les visites en ces points précis peuvent aussi jouer un rôle dans cette modification de la flore microbienne. Cela nous fait penser aux observations des études qui font ressortir les échanges microbiens entre les lieux et les personnes qui les fréquentent.

2.13.1 Bactéries particulières prélevées dans la zone des dessins de la grotte de Madura

Dans les prélèvements faits sur les parties ornées de la grotte l'espèce d'*Enterobacter* observée, est *Enterobacteria asburiae*.

➤ **Genre *Enterobacteria***

Classe γ protéobactéria ; Ordre *Enterobacteriales* ; Famille *Enterobacteriaceae*

Espèce *E. asburiae*

Morphologie : les espèces du genre *Enterobacter* sont des bacilles Gram(-) anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 μm de diamètre et 1,2 à 3 μm de longueur. La majorité de ces bactéries sont encapsulées. Ils se déplacent grâce à des flagelles péritriches et ils peuvent former un pili. Ils donnent un test de Voges-Proskauer positif.

Culture : leur température optimale de croissance est de 30 °C.

Entérobactéries d'origine fécale	Entérobactérie d'origine tellurique	Entérobactéries pathogènes
<i>E. cloacae</i> <i>E. aerogenes</i>	<i>E. amnigenus</i> <i>E. dissolvens</i> <i>E. intermedius</i> <i>E. nimipressuralis</i>	<i>E. asburiae</i> <i>E. gergovia</i> <i>E. hormaechei</i> <i>E. sakazakii</i> (méningite) <i>E. taylorae</i>

Pathologie : les espèces du genre *Enterobacter*, en particulier *E. aerogenes* et *E. cloacae* qui sont fécales ont été associées à des épidémies nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes. Les espèces du genre *Enterobacter* pathogènes peuvent causer de nombreux types d'infections, y compris abcès cérébraux, pneumonie, méningite, septicémie et infection de plaies, infections des voies urinaires et des infections de la cavité abdominale ou des intestins. Les Entérobactéries peuvent produire des β -lactamases et avoir une résistance aux antibiotiques β -lactamines.

Transmission : peuvent avoir pour origine la voie fécale et peuvent être transmis de l'Homme à l'Homme par les mains.

2.13.1.1 Espèce *E. asburiae*

Ce sont des bacilles Gram(-) isolés dans le sol et l'eau.

Pathologie : *Enterobacter asburiae* entre dans l'épidémiologie des entérobactéries (voir ci-dessus) et peuvent aussi produire des infections des tissus mous avec formation de nécroses.

2.13.1.2 Genre *Sphingobacterium*

Il a été trouvé et identifié dans cette partie de la grotte, l'espèce *Sphingobacterium sp*

Classe *Sphingobacteria* ; Ordre *Sphingobacteriales* ; Famille *Sphingobacteriaceae*

Morphologie : en forme de bâtonnet, ces bactéries ont une taille comprise entre 0,3 à 0,6 microns de largeur et 0,5 à 0,6 microns de longueur. Gram(-). Elles n'ont pas de flagelles et sont immobiles (certains Bacteroidaceae peuvent se déplacer en glissant) ; aérobic(+). Les colonies sont de couleur jaunâtre habituellement au bout de quelques jours. Elles ont une paroi de peptidoglycane plus mince.

Caractéristiques : activité oxydative du carbone et de divers hydrate de carbone chimio-organotrophe ; l'uréase(+) est présente chez certaines espèces, comme *Sphingobacterium spiritivorum* et *S. canadense* ; l'indol(-) ; test de la phosphatase(-) ; catalase(-) ; oxydase(+). Une caractéristique importante est la possession de sphingophospholipide. Ces sphingolipides servent également pour faire une différenciation avec la famille des Flavobacteriaceae. Une autre caractéristique importante pour la différenciation est la présence dans cette bactérie de ménaquinone. Il vit dans le sol, l'eau, sur les plantes, et peut être présente dans les aliments

Milieu de culture : gélose de MacConkey ou glucose au sang de cheval ; incubation : température optimale de croissance de 26 °C;

Principales espèces connues : *S. multivorum* : cette espèce est à DNA-se(+); amylase(+) et uréase(+). Yaabuchi rapporte que le *Sphingobacterium* montre une forte concentration (G + C) dans son ADN, qui lui donne une meilleure stabilité en raison de la liaison hydrogène entre les paires de nucléotides. Cette bactérie à une forte résistance aux médicaments.

Pathologie : elle a été impliquée dans des infections septiciques nosocomiales, qui ont été mise en évidence par des analyses sérologiques⁸⁷. Elle a été suspectée dans les problèmes de mucoviscidose et mise en évidence dans les voies respiratoires de patients atteints de cette maladie sans que l'on puisse faire un rapprochement entre la bactérie et la maladie⁸⁸.

Une étude italienne a eu pour objectif d'évaluer l'épidémiologie de l'infection par *Sphingobacterium* dans une cohorte de patients atteints de fibrose kystique (FK) et de mucoviscidose, chez lesquels avait été découvert cette bactérie ; les paramètres suivants ont été relevés : sensibilité aux antibiotiques, empreintes génétiques des souches isolées et analyse de certains résultats cliniques sur les patients.

Dans l'ensemble des patients, ces infections n'étaient pas associées à une détérioration de la fonction pulmonaire au cours de la période de suivi, bien que le rôle exact de ce micro-organisme dans la pneumopathie CF soit inconnu et que le nombre de patients infectés était faible. Malgré cela cette étude pourrait représenter un point de départ important pour la compréhension de l'épidémiologie et le possible rôle pathogène de *Sphingobacterium* dans les patients atteints de mucoviscidose.



2.14 RÈGNE DES ARCHAEA

Nous ne pouvons pas parler du monde microbien karstique, sans évoquer ces précurseurs de la vie microbienne, qui ont survécu jusqu'à aujourd'hui. Ces organismes microbiens ont dû résister à tous les bouleversements géologiques et aux pires conditions climatiques pour parvenir jusqu'à nous. Elles nous révèlent aujourd'hui les adaptations qu'elles ont dû produire pour s'adapter et survivre. Leurs biotopes cavernicoles leur ont permis de survivre à l'abri des changements de l'épi-karst qui se sont succédés depuis quelques millions et même milliards d'années. En cela réside l'intérêt de l'étude de cette flore microbienne.

Les bactéries ont su surmonter tous ces bouleversements malgré la simplicité de leur organisation. C'est là un mystère que seules la biochimie et la génétique nous permettent de comprendre. Qu'elles aient pu ainsi se reproduire, évoluer, dans un milieu aussi austère que l'endo-karst, dans un espace aussi restreint sans pour cela disparaître.

La recherche en biotechnologie devient de plus en plus demandeuse d'une flore peu courante qui puisse lui apporter de nouvelles enzymes ou bioproduits pharmaceutiques. Il est donc important pour eux de connaître la flore adaptée à des milieux très spécifiques comme le karst. De nombreuses découvertes scientifiques ont été inspirées par la nature. C'est là tout l'intérêt que nous apporte l'étude approfondie des *Archaea*, afin de faire évoluer la recherche pharmaceutique.

2.14.1 Généralités sur les *Archaea*

D'apparence souvent semblable à ces dernières, les archées ont longtemps été considérées comme des bactéries extrémophiles particulières, jusqu'à ce que les recherches phylogénétiques sur les procaryotes, débutées en 1965, aboutissent à leur différenciation, avec les travaux de Carl Woese et George E. Fox⁸⁹. Cette vision s'est depuis largement imposée aux microbiologistes, mais demeure contestée par certains scientifiques, tel Thomas Cavalier-Smith. Pour lui les *archaea*, appelées *Archaeobacteria*, ne sont qu'un embranchement (*phylum*) des *Unibacteria* dans le règne des bactéries⁹⁰.

Du point de vue de leur génétique, leur biochimie et leur biologie moléculaire, les archées sont des organismes aussi différents des bactéries que des eucaryotes. Les enzymes réalisant la réplication de l'ADN, la transcription de l'ADN en ARN ainsi que la traduction de l'ARN messager en protéines chez les archées sont apparentées à celles des eucaryotes et non à celles des bactéries, de même que la présence d'histones dans le matériel génétique des archées rapproche ces dernières des eucaryotes et les distingue des bactéries. En revanche, les gènes des archées ne possèdent pas d'introns et leur ARN messager ne subit pas de modification post-transcriptionnelle, ce qui est le cas également chez les bactéries mais pas chez les eucaryotes. Par ailleurs, certaines archées possèdent des voies métaboliques qui n'existent ni chez les bactéries ni chez les eucaryotes, comme la méthanogène chez les archées méthanogènes, tandis que les archées dans leur ensemble sont dépourvues d'acide gras synthétase, contrairement à la fois aux bactéries et aux eucaryotes : elles font un usage très limité des acides gras, et leur membrane plasmique est constituée essentiellement d'éther-lipides, à la différence des bactéries et des eucaryotes. Un autre trait propre aux archées est la présence chez certaines d'entre elles d'une paroi cellulaire constituée de pseudo-peptidoglycane, ou *pseudomuréine*.

Ces caractères de différenciation entre les *Eubacteria* et les *Archaea* incitent à étudier et à explorer le potentiel enzymatique et biochimique de ces *Archaea*.

Origine des prélèvements

Nous avons vu dans le chapitre I (Genèse de la vie), qu'il y a eu une évolution des *Archaea* vers les eucaryotes et les métazoaires, en passant plus ou moins directement des *Archaea* aux eucaryotes par l'intermédiaire des *Archaea* appelées *Euryarchaeota*...

La **grotte de Lechuguilla** se trouve au sein du parc national de *Carlsbad caverns* (Nouveau Mexique — États-Unis d'Amérique). Fin 2011, elle développait 210 km de réseau pour un dénivelé de 489 m,



ce qui en fait une des plus grandes grottes du monde et une des plus profondes du continent américain.



La salle de bal du chandelier dans la grotte de Lechuguilla

La découverte en 1988 de cette grotte de Lechuguilla a été un événement dans le monde de la spéléologie. En effet, cette cavité est renommée pour le caractère spectaculaire de ses paysages souterrains : ses concrétions sont d'une beauté rare ; on lui décerne souvent le titre de « plus belle grotte du monde ». Dans les grottes, le gypse qui ne se trouve d'ordinaire qu'à l'état de fragments, forme dans cette grotte d'exceptionnelles colonnes.

Des vasques géantes ou lacs immenses parsèment, à 400 mètres de profondeur, le dédale de Lechuguilla. L'eau, verdie par certaines particules gazeuses, accroît l'étrangeté d'un paysage sous-marin fait de bulbes de calcite que les spéléologues hésitent à troubler pour découvrir de nouvelles galeries.

Cette grotte a été principalement étudiée pour sa flore d'Archées c'est pour cela que nous l'avons retenue dans cette étude. Il a été trouvé deux embranchements d'Archaea qui sont les *Euryarchaeota* et les *Crenarchaeota*. Nous allons étudier ces deux types d'Archaea.

2.14.2 Embranchement *Euryarchaeota*



Halobacterium souche NRC-1
(dans la photo chacune des cellules mesures environ 5 µm)

Euryarchaeota

Les Archaea méthanogènes, qui produisent du méthane, sont actuellement aussi présents dans le tube digestif des vertébrés (ruminants et même l'Homme).

Les Archaea halophiles qui résistent aux fortes concentrations salines.

Certains Archaea extrêmophiles qui peuvent résister au pH très bas et aux fortes températures.

Classe des *Euryarchaeota*

<i>Aciduliprofundum</i>	<i>Achaeblobi</i>	<i>Methanomicrobia</i>	<i>Nanohaloarchaea</i>
<i>Methanomethylophilus</i>	<i>Halobacteria</i>	<i>Methanopyri</i>	<i>Thermococci</i>
<i>Micrarchaeum</i>	<i>Methanobacteria</i>	<i>Methanococci</i>	<i>Thermoplasmata</i>
<i>Parvarchaem</i>			

Les *Euryarchaeota* qui ont fait l'objet d'une identification dans la grotte *Lechuguilla Cave*, par PCR sur ARNr 16s sont des genres et espèces suivantes :

- *Thermoplasma acidophilum*
- *Thermococcus celer*.
- *Methanopyrus sp*
- *Methanococcus Vannielli*
- *Archaeoglobus fulgidus*.
- *Picrophilus oshimeia*

2.14.2.1 Genre *Thermoplasma*

Ordre *Thermoplasmatales* ; Famille *Thermoplasmataceae*

Espèce trouvée dans la cavité : *Thermoplasma acidophilum*





Thermoplasma acidophilum

Morphologie : elle est constituée de cellule de taille d'environ 1 µm.

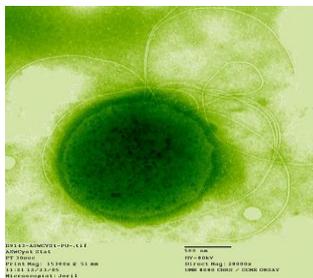
Caractéristiques : Archaea thermophile et acidophile de caractère aérobie facultatif dont la respiration cellulaire utilise le soufre et le carbone comme élément d'oxydoréduction. Elle est dépourvue de paroi cellulaire qui se limite à une simple membrane plasmique constituée de lipo-glycanes qui contient des éthers lipidiques du type tétra éther. On pense que ce sont les lipoglycanes qui assurent la résistance à l'acidité et à la température.

Écologie : on a pu étudier son développement en portant sa température à 59 °C avec un pH de 2. Sa croissance est optimale à 56 °C et un pH 1,8

Pathologie : à ce jour elle n'a pas été étudiée sur les être humains.

2.14.2.2 Genre *Thermococcus*

Classe *Thermococci* ; Ordre *Thermococcales* ; Famille *Thermococaceae*



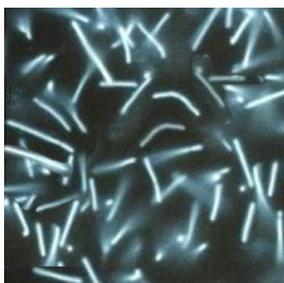
Thermococcus gammatolerans
dite souche EJ 3T

Thermococcus acidophilum

Il est principalement isolé au niveau des événements de cheminées hydrothermales des dorsales océaniques mais également de sources hydrothermales côtières ou terrestres. Ce sont des espèces extrémophiles, qui peuvent se développer dans une gamme de température comprise entre 77 et 97 °C. La souche ci-jointe est très tolérante à la radioactivité, se développe à des températures de 55 à 95 °C, sa température optimale de croissance étant à 88 °C, dans une eau légèrement acide, à pH 6,0 à 20 g/L de sel Na Cl.

2.14.2.3 Genre *Methanopyrus*

Classe *Methanopyri* ; Ordre *Methanopyrales* ; Famille *Methanopyraceae*



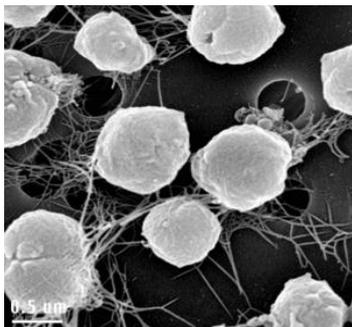
Methanopyrus kandleri

Genre *Methanopyrus*

Morphologie : ce genre est en forme de bâtonnet. Il s'agit d'un micro-organisme hyperthermophile (optimum de croissance est à 98 °C). Il est isolé de cheminée hydrothermale sous-marine à 2.000 m de profondeur à des températures de 84 et 110 °C. La souche 116 a été découverte dans le panache de fumées noires du champ hydrothermal. Il peut survivre et se reproduire à 122 °C. Il vit dans un environnement d'hydrogène riche en dioxyde de carbone et comme les autres bactéries méthanogènes réduit ce dernier en méthane.

2.14.2.4 Genre *Methanococcus*

Classe *Methanococcus* ; Ordre Méthanococcales ; Famille *Methanococcaceae*



Methanocaldococcus jannaschii
Photos de B. Boonyaratanakornkit et D. S. Clark, génie chimique, G. Vrdoljak, Electron Microscope Lab, University of California Berkeley

Genre *Methanococcus*

Ils sont mésophiles, sauf le thermophile de l'espèce **M. termolithotrophicus** et hyperthermophile **M. jannaschii**. Ce dernier a été découvert à la base d'une cheminée de fumées blanches à 21° latitude Nord sur l'East Pacific Rise. **Methanococcus** a été le premier génome Archaea qui a été complètement séquencé. Ce génome a révélé de nombreux éléments semblables aux eucaryotes. Aucune différence n'a été notée dans la somme G+C de l'ADN des gènes des thermophiles comparativement aux mésophiles de *Methanococcus*. Cependant, il y a une différence au niveau des protéines. Les protéines thermophiles ont plus de radicaux hydrophobiques sur ses protéines, moins d'acides aminés et moins les résidus polaires comparativement aux protéines des *Methanococcus* mésophiles.

Pathogénicité : à ce jour il n'y a pas d'information sur le sujet.

2.14.2.5 Genre *Archaeoglobus fulgidus*

Classe *Archaeoglobi* ; Ordre *Archaeoglobales* ; Famille *Archaeoglobus*



Archaeoglobus fulgidus

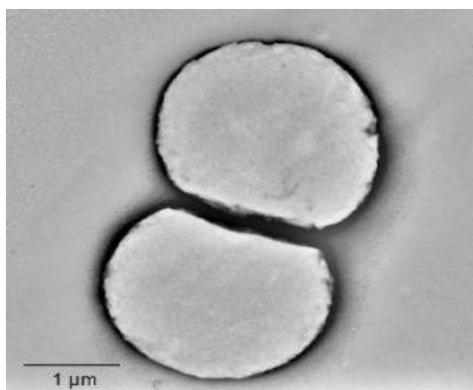
Métabolisme : organisme de métabolisation du soufre. Les *Archaeoglobus* connus sont anaérobies, la plupart sont hyperthermophiles. Ils sont réducteurs de sulfate comme les bactéries sulfite-réductrices. Les *Archaeoglobus* ont une croissance à des températures très élevées.

Écologie : la plupart de ces *Archaeoglobus* se trouvent dans des environnements hydrothermaux comme des sources d'eau chaude, des puits de pétrole et des cheminées hydrothermales. Les espèces *Archaeoglobus* forment des sulfures de fer qui sont connus pour entraîner la corrosion des aciers et fontes dans l'industrie pétrolière et dans les systèmes de traitement.

2.14.2.6 Genre *Picrophilus oshimeae*

Classe *Thermoplasmata* ; Ordre *Thermoplasmatales* ; Famille *Picrophilaceae*

Espèce *Picrophilus oshimeae*

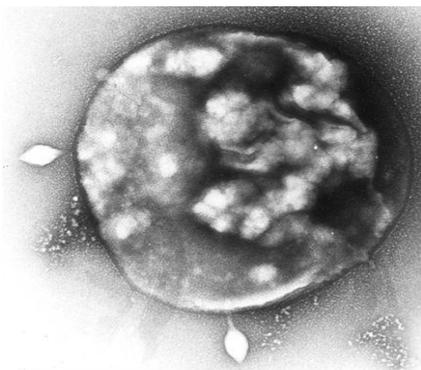


Picrophilus torridus

Picrophilus oshimeae

Les *Picrophilus* sont les microorganismes les plus acidophiles connus, pouvant se développer à un pH de -0,06. Ils ont une acidophile obligatoire, ils ne peuvent pas maintenir l'intégrité de leur membrane plasmique pour des pH supérieurs à 4. Bien qu'elles soient liées d'un point de vue phylogénétique aux autres espèces de Archaea classe des *Thermoplasmata*, celles du genre *Picrophilus* ont une couche S sur leur paroi cellulaire, ce qui les distingue des genres *Thermoplasma* et *Ferroplasma*.

2.14.3 Embranchement *Crenarchaeota*



Micrographie électronique d'une cellule du genre *Sulfolobus* infectée par le virus STSV1 (*Sulfolobus tengchongensis spindle-shaped virus 1*).
photo : Garrity & Hot 2002

Crenarchaeota

Elles avaient d'abord été considérées comme extrêmophiles par le fait que toutes les cellules cultivées jusqu'à récemment étant thermophiles, voire hyperthermophiles, comme *Pyrolobus fumarii* étant capable de se développer dans une eau à 113 °C, mais par le fait qu'elle constitue le phylum qui semble le plus abondant des Archaea du milieu marin, nous pouvons penser que le comportement thermophile n'est pas un comportement exclusif. Elles ont été distinguées des autres archées sur la base de leur séquence d'ARNr, mais d'autres caractéristiques biochimique ont appuyé cette distinction, notamment l'absence d'histones dans leur matériel génétique, bien que certaines d'entre elles se sont révélées posséder malgré tout des histones.

Les *Crenarchaeota* comptent de nombreuses espèces anaérobies obligatoires qui exigent du soufre pour leur développement, comme le genre *Sulfolobus*. Le *Sulfolobus* est thermophile et organotrophe (il exige des sucres pour son énergie).

Milieu marin : depuis 1992, le séquençage des gènes appartenant à la *Crenarchaea* en milieu marin^{91,92} a expliqué l'abondance de lipides membranaires des *Crenarchaea*. Ces teneurs abondantes peuvent expliquer la facilité de cette *Archaea* à fixer le carbone et le comportement lipophile de sa membrane externe. Des séquences d'ADN de *Crenarchaea* ont été également trouvées dans le sol et les milieux d'eau douce, ce qui suggère que ce phylum est omniprésent dans la plupart des environnements⁹³.

Cet embranchement ne comprend qu'une classe, les *Thermoproti* comprenant les ordres suivants :

- *Acidilobales*
- *Desulfurococcales*
- *Fervidococcales*
- *Sulfolobales*
- *Thermoproteales*

Les *Crenarchaea*, mis en évidence dans la grotte *Lechuguilla Cave*, sont les espèces suivantes :

- ***Pyrodictium occultum***
- ***Sulfolobus acidoaldarium***
- ***Thermoproteus lanax***

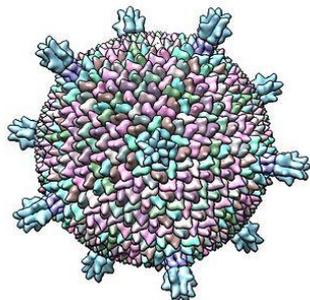
2.14.3.1 Genre *Pyrodictium occultum*

Ordre *Desulfurococcales* ; Famille *Pyrodictiaceae*

Le *Pyrodictium occultum* est thermophile, anaérobie strict, chimio-litho-autotrophe. Il a été isolé des fonds marins volcaniques. La croissance a lieu entre 85 et 110 °C, avec un optimum de croissance à 105 °C. Les cellules forment un réseau.

2.14.3.2 Genre *Sulfolobus*

Ordre *Sulfolobales* ; Famille *Sulfolobaceae*



Reconstitution d'un *Sulfolobus*
grâce à la cryo-microscopie électronique

Sulfolobus acidocaldarius

Ces organismes aérobies sont chimiotrophes et lithotrophes, leur énergie proviennent de l'oxydation du soufre ou du sulfure d'hydrogène H_2S pour produire de l'acide sulfurique ; ils utilisent du dioxyde de carbone comme source de carbone.

Ce sont des cellules coccoïdes, irrégulières et flagellées. Ces microorganismes sont à la fois hyperthermophiles (optimum de croissance 75 °C) et acidophiles (pH optimal de croissance proche de 2 ou 3). Le **S. acidocaldarius** a ainsi été isolé de sources chaudes acides volcaniques, où la température peut atteindre 90 °C et un pH oscillant entre 1 et 5. Elles nécessitent de surcroît une température supérieure à 55 °C pour se développer⁹⁴.

Ce genre à un intérêt industriel, il est étudié pour sa thermorésistance.

Génotype : il a été entièrement séquencé. La teneur en (G+C) est 37 % d'ADN circulaire, avec 2 292 protéines décodées. Au sein de ces 2 292 décodages de gènes de protéines, 305 sont exclusifs à *Sulfolobus acidocaldarius* et 866 gènes sont spécifiques au genre *Sulfolobus* en général⁹⁵.

Pathogénicité : à ce jour par d'information à ce sujet.

2.14.3.3 Genre *Thermoproteus lanax*

Classe *Thermoproti* ; Ordre *Thermoproteales* ; Famille *Thermoproteaceae*

Il s'agit d'organismes hyperthermophiles autotrophes flagellés en forme de bâtonnets qui se développent en réduisant le soufre ; lorsqu'elles sont cultivées, ces archées croissent cependant bien plus rapidement par respiration avec le soufre. Leur membrane cellulaire est constituée de lipides particuliers formés de dérivés du glycérol liés par des liaisons éther (et non ester) à des acides gras ramifiés à C20 ou C40. Les doubles liaisons sont généralement conjuguées. La membrane cellulaire est constituée d'une simple couche lipidique dont les molécules sont constituées de deux extrémités polaires autour d'un segment aliphatique. Les bâtonnets ont une longueur de 4 à 100 µm et se reproduisent par bourgeonnement à l'extrémité des cellules. Ces archées ont été retrouvées dans des sources chaudes acides comme celles d'Islande, d'Italie, d'Amérique du Nord, de Nouvelle Zélande, des Açores et d'Indonésie. Leur température optimale de développement est d'environ 85 °C.

2.14.4 Embranchement *Thaumarchaeota*

C'est un embranchement proposé en 2008 après le séquençage du génome de *Cenarchaeum symbiosum* qui avait révélé des divergences sensibles avec les autres membres du phylum hyperthermophile des *Crenarchaeota*.

Dans cet embranchement nous avons les ordres suivants :

- *Cenarchaeales*
- *Nitrosopumilales*
- *Nitrososphaerales*

Les principales espèces de cet embranchement sont : *Nitrosopumilus maritimus*, *Nitrososphaera viennensis* et le *Nitrososphaera gargensis*. Tous ces organismes sont chimio-litho-autotrophes par oxydation de l'ammoniac et pourraient jouer un rôle important dans les cycles biologiques tels que le cycle de l'azote et du carbone.

Les *Thaumarchaeota* mis en évidence dans la grotte *Lechuguilla Cave* sont de l'espèce *Cenarchaeum symbiosum*.

2.14.4.1 Genre *Cenarchaeum*

Ordre *Cenarchaeales* ; Famille *Cenarchaeaceae* ; Genre *Cenarchaeum*

Morphologie : la structure cellulaire de *Cenarchaeum symbiosum* est en forme de bacille. L'analyse génétique de cet archéen montre qu'il utilise un cycle de Krebs incomplet. Un shunt de pentophosphate a également été découvert dans l'analyse génétique.

Écologie : le *C. symbiosum* est un *Archaea* psychrophile et vit à des températures allant de 8 à 18 °C. Il vit en symbiose dans les tissus des éponges d'eau tempérée comme celle de l'*Axinella Mexicana* à environ 10-20 m de profondeur dans l'océan Pacifique près de Santa Barbara en Californie. C'est la découverte de la première symbiose impliquant cette espèce. Le *C. symbiosum* pousse à des températures environ 10 °C, beaucoup plus faible que beaucoup d'autres *Crenarchaeota*. Le *C. symbiosum* n'a pas encore été cultivé en laboratoire, mais peut être récolté en grandes quantités dans les tissus des éponges hôtes.

2.14.5 Conclusions

Cette description des *Archaea* nous permet de bien voir la différence importante qui existe entre les *Archaea* et les *Bacteria*. Il est intéressant d'observer que les *Archaea*, qui sont pour la plupart dans le biotope marin, se trouvent dans notre cas dans des cavités qui sont sorties du milieu marin depuis des millions d'années et que cette vie s'est perpétuée malgré la sortie du milieu aquatique.

Dans ce règne, il y a un fort comportement extrêmophile sans pour cela qu'il soit une généralité. Les comportements thermophiles et hyperthermophiles sont obtenus en partie par une protection lipidique de la membrane externe des *Archaea*, cette protection peut avoir plusieurs fonctions :

- Les matières grasses sont hydrophobes ce qui crée une séparation entre la phase hydrophile qui conduit la chaleur du milieu et la partie lipidique, qui crée une liaison dite hydrophobe. Cette séparation va ralentir le réchauffement du microorganisme. Mais ne peut à elle seule expliquer cette hyperthermophilie.
- Cette membrane hydrophobe va permettre aussi aux microorganismes de pénétrer dans des composés hydrophobes, comme les composés carbonés (charbon, pétrole, les huiles...) et ainsi que dans certains composés soufrés, afin de pouvoir utiliser ces matières premières dans l'activité autotrophe.

Le comportement hyper acidophile des *Archaea* va permettre à ce microorganisme de pouvoir atteindre des composés cellulosiques ou poly-glucidiques, qu'il ne serait pas possible de digérer par voie enzymatique.

Ce comportement hyper-acidophile nous amène à poser la question de l'éventuel devenir des *Archaea* hyper-acidophiles lorsqu'ils sont ingérés par un vertébré vu que le pH gastrique est un pH relativement bas entre 2 et 4 ce qui aurait l'effet de rendre le microorganisme actif ?

La même question peut se poser avec le comportement hydrophobe dans le réservoir gastrique et la muqueuse gastrique ? Toutes ces interrogations rendent ce règne intéressant à connaître et à étudier.



CHAPITRE 3

PATHOLOGIES PARASITAIRES

EN SPÉLÉOLOGIE ET CANYONISME

La spéléologie et le canyonisme nécessitent dans la majorité des cas, des marches d'approche plus ou moins longues qui peuvent être l'occasion d'un contact entre l'Homme et l'entomo-biotope qui occupe l'épi-karst (le milieu externe), notamment en canyonisme où elle est souvent pratiquée en tenue de bain avec les jambes découvertes ce qui augmente fortement les risques d'attaques parasitaires.

Dans le milieu karstique les animaux troglaphiles^z vont devenir des vecteurs et des réservoirs parasitaires entre le milieu externe et le milieu interne du karst. Certains parasites vont devenir troglaphiles et s'accommoderont au milieu karstique, ils seront vecteurs de contamination directe de l'Homme.

Les chauves-souris et les oiseaux troglaphiles sont les principales espèces suspectées d'apporter au milieu karstique les parasites externes. Les animaux troglaxènes^{aa} comme les rats, les souris, les musaraignes seront aussi des réservoirs et des vecteurs de parasites, mais leurs activités opportunistes du karst leur confèrent un rôle moins important dans la contamination. On peut y ajouter également des invertébrés comme les gastéropodes, les plathelminthes qui dans leur cycle vital peuvent devenir des réservoirs de parasitisme interne.

Le parasitisme va exister sous deux formes de transmission : une forme interne à l'hôte infecté et une forme externe au sein du vecteur qui pourra être l'insecte ou le mollusque qui feront la liaison entre deux animaux ou entre l'animal et l'Homme.

3.1 PARASITISME

3.1.1 Protozoaires^{bb}

Ce sont des organismes unicellulaires, mobiles au moins à un stade de leur développement. Ce n'est pas vraiment un règne animal, aujourd'hui ils sont placés dans le règne des protistes. Les protozoologistes ne s'accordent toutefois pas encore quant à leur classification, et de nombreux manuels présentent une classification très différente de celle adoptée par Hickman et Roberts⁹⁶.

L'apparente simplicité des protozoaires est trompeuse. En fait, la cellule unique des protozoaires est plus complexe que la cellule animale typique. Toutes les fonctions nécessaires à la vie sont remplies par cette cellule unique. Ce sont les organelles de cette cellule qui remplissent le rôle des tissus et organes des animaux plus complexes.

Écologie : la structure protozoaire est performante car la vie protozoaire est présente sous tous les climats et dans tous les habitats. On peut les trouver :

- à l'état libre (en milieu aqueux ou humide) ;
- comme parasite (maladie) ;
- comme symbiote.

z troglaphile : (*zoologie*) qualité d'un animal qui vit dans les cavernes mais peut en sortir.

aa troglaxène : (*biospéléologie*) désigne les animaux qui ne font que visiter le milieu souterrain, et cela, non loin de la zone d'entrée.

bb/ protozoaire : en biologie, le terme protozoaire [*protozoa*], du grec ancien, [*proto-*], premier et du suffixe [*-zoa*], animal) désigne les eucaryotes unicellulaires hétérotrophes qui ingèrent leur nourriture par phagocytose, contrairement aux deux autres types de protistes (végétaux, algues et fongiques unicellulaires).



La modification d'un plan structural de base, en vue de rendre les protozoaires capables d'occuper tous les habitats et de nombreux modes de vie, est appelée radiation adaptative. Cette radiation adaptative permet de réduire la compétition entre des animaux semblables à l'origine, ce qui permet l'accroissement de la diversité.

On peut donc distinguer dans les protistes^{cc} :

- Les protophytes (affinité végétale) : ils ont un pigment qui leur assure l'autotrophie *via* la photosynthèse. Ils possèdent également des constituants des cellules végétales comme l'amidon et la cellulose.
- Les protozoaires : ils doivent se procurer les substances vitales dans l'environnement. Ils font partie du règne animal, mais ce ne sont pas des métazoaires, car ils sont unicellulaires.
- Les formes intermédiaires : exemple, le genre *Euglena* qui possède des chloroplastes mais si il est élevé à l'obscurité, il devient un hétérotrophe irréversible.

Classification générale des protozoaires					
Embranchement	Sous-Emb.	Super-classe	Classes	Sous-classes	Exemples
Sarcomastigophores flagellés	Mastigophores flagellés		Zoomastigophores		<i>Choanoflagellés</i> <i>Trypanosoma</i> <i>Leishmania</i> <i>Trichomonas</i> <i>Joenia</i> <i>Trichonympha</i>
	Opalines				<i>Opalines</i>
	Sarcodines	Rhizopodes	Lobosiens	Gymnamoebiens	<i>Chaos diffluens</i> <i>Entamoeba histolyca</i>
				Thecamoebiens	<i>Diffugia</i> <i>Euglypha</i>
			Granuloreticuloses	Foraminifères	
		Actinopodes	Acanthaires		
		Heliozoaires			
Apicomplexes (<i>Apicomplexa</i>)			Sporozoaires	Grégarines	<i>Stylophalus longicollis</i>
				Coccidies	<i>Plasmodium falciparum</i> <i>Aggregata eberthi</i> <i>Toxoplasma</i> <i>Eimeria perforans</i>
				Hypostomates	
				Suctoriens	
			Oligohymenophores	Hymenostomates	<i>Paramecium</i>
				Péritriches	<i>Vorticella</i>
Polymenophores	Sirotriches	<i>Stentor</i> <i>Stylonychia</i>			
Myxozoaires				<i>Mycobolus pfeifferi</i>	

cc/ protistes : ils regroupent tous les organismes vivants eucaryotes unicellulaires d'affinité animale ou d'affinité végétale, car il est aujourd'hui établi qu'à ce niveau d'organisation la distinction entre les deux grands règnes n'a pas la signification fondamentale qu'elle revêt chez les êtres vivants supérieurs.



Les protozoaires sont connus pour leurs actions parasitaires sur l'Homme, les animaux, les insectes. Chez l'Homme les plus connus sont les suivants :

- Protozoaires Rhizopodes : **Entamoeba histolytica**, agent de l'amibiase.
- Protozoaires Flagellés : **Trypanosomatidés kinetoplastida**, agent de la trypanosomiase (les autres trypanosomiasés sont « la maladie du sommeil » causée par le **Trypanosoma brucei** et la « maladie de Chagas » par le **Trypanosoma cruzi**).
- Protozoaires Apicomplexa : **Toxoplasma gondii**, agent de la toxoplasmose.
- Protozoaires Apicomplexa : **Plasmodium falciparum**, agent du paludisme.
- Plathelminthes Trematodes : Digènes, **Schistosoma mansoni**, agent de la bilharziose intestinale.
- Plathelminthes Cestodes : Cyclophyllidiens, **Hymenolepis nana**, ténia nain.
- Plathelminthes Cestodes : Cyclophyllidiens, **Taenia sp**, ver solitaire.

Cette liste n'est pas exhaustive, elle donne simplement une idée de la diversité des formes parasitaires dues aux protozoaires.

Les protozoaires du karst : « Les quelques travaux, qui ont été faits dans le domaine souterrain, qui est assez particulier, montrent que les eaux et les limons souterrains, émergés ou immergés, hébergent une microfaune de protozoaires variée et suffisamment abondante pour que l'on puisse les considérer comme éléments réguliers de la communauté vivante de l'hypogée.

On doit à Gittleson et Hoover (1969) un recensement des protozoaires dans le domaine souterrain, ils ont comptabilisé une liste regroupant 29 ordres, 155 genres et 379 espèces, ces nombres nous montrent la diversité des protozoaires du monde hypogé.

Mais mise à part certaines espèces de foraminifères interstitiels prélevés par Brodsky (1928) dans des puits d'eau saumâtre du désert du Karakorum ou encore celles trouvées dans un lac saumâtre de la grotte de Kaptar-khana par Birstein (1965), les protozoaires souterrains (Flagellés, Rhizopodes, Ciliés) qui ont été décrits jusqu'à maintenant appartiennent aux mêmes espèces que ceux des milieux de la surface ; on n'a pas pu mettre en évidence l'existence de formes adaptées aux seules conditions de l'environnement souterrain. Par contre, les protozoaires ciliés qui vivent dans le littoral marin montrent une extrême diversité et une remarquable adaptation morphologique à ce milieu interstitiel (Delamare, Deboutteville, 1969) mais ils ne sauraient être tenus pour des cavernicoles. »⁹⁷

3.1.2 Parasitisme interne des chauves-souris

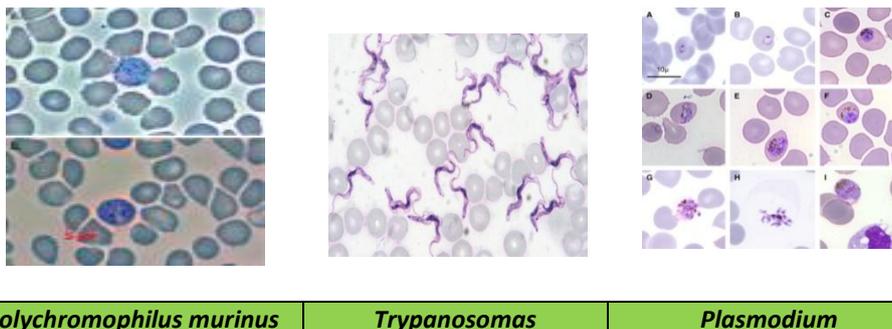
Les chauves-souris sont des réservoirs d'une microfaune⁹⁸ qui contient un grand nombre de parasites intestinaux.

- Protozoaires Flagellés (dont certains sont pathogènes pour l'Homme).
- Protozoaires Rhizopodes.
- Protozoaires Ciliés (qui sont habituellement adaptées au littoral marin).

La découverte des hématozoaires remonte à 1899 en Afrique centrale où Dionisi a signalé dans le tube digestif d'un microchiroptère^{dd} — le **Micropterus schreibersi** —, des hématozoaires du nom de **Polychromophilus melanipherus** et **P. murinus**. Les recherches qui ont suivi, ont mis à jour chez les chauves-souris d'autres protozoaires : **Hepatocystis epomorphis**, **Plasmodium roussetti**, **Nycteria medusififormis**, **Nycteria congolensis** et **Plasmodium voltaicum**. Il a été trouvé plusieurs types des protozoaires du genre **Trypanosomas**, qui sont : **T. vespertilionis**, **T. megadermae**, **T. morinorum**, **T. heybergi**

dd/ microchiroptères : (*Microchiroptera*) constituait jusqu'à récemment un sous-ordre des chiroptères. On les appelait également « chauves-souris insectivores », « chauves-souris utilisant l'écholocation », « petites chauves-souris » ou « vraies chauves-souris ». Ils mesurent de 4 à 16 cm. Ils peuvent consommer des petits animaux (lézards, grenouilles...) et être des buveurs de sang des mammifères.





Dans les régions malgaches, il a été mis en évidence la présence, dans le sang des chauves-souris, de parasites du phylum *Apicomplexa* de la classe des *Aconoidasida* de la famille des *Haemoproteidae*. Les espèces de cette famille produisent des pigments et n'ont pas de cycle asexué dans le sang.

Les genres de cette famille sont :

- Genre *Johnspretia* (selon Landau, Chavatte et Beveridge, 2012)
- Genre *Haemocystidium* (selon Castellani et Willey 1904, Telford, 1996)
- Genre *Haemoproteus* (selon Kruse, 1890)
- Genre *Paleohaemoproteus* (selon Poinar et Telford, 2005)
- Genre *Sprattiella* (selon Landau et coll., 2012)

Une étude publiée en 2003, réalisée par plusieurs missions sur l'inventaire de la faune malgache, organisées conjointement par le *World Wildlife Fund for Nature* et l'Institut Pasteur de Madagascar, a évalué la prévalence et la densité parasitaire des hémoparasites chez 440 chauves-souris appartenant à 14 espèces, collectées sur cinq grottes de Madagascar, réparties dans différents milieux bioclimatiques. Vingt et un pour cent des chauves-souris se sont révélées positives à la présence d'hémoparasites à l'examen microscopique d'un frottis sanguin, avec par ordre de fréquence *Haemoproteidae* (15,7 %), microfilaires (7 %) et *Trypanosoma* (0,7 %). Ces 93 chauves-souris appartiennent à seulement quatre espèces... Ces quatre espèces présentant des parasites sont endémiques de la région malgache :

- Chauves-souris *Miniopterus manavi* pour :
 - *Haemoproteidae* (38 %)
 - microfilaires (23 %)
 - *Trypanosoma* (2 %)
- Chauves-souris *Myotis goudoti* pour :
 - *Haemoproteidae* (24 %)
 - microfilaires (1 %)
- Chauves-souris *Miniopterus gleni* pour :
 - *Haemoproteidae* (23 %)
- Chauves-souris *Triaenops furculus* pour :
 - *Haemoproteidae* (4 %)

Le portage parasitaire n'est pas lié au sexe des chauves-souris.

Chez *Miniopterus manavi*, les échantillons les plus représentatifs ont une prévalence de microfilaires nettement supérieure. Dix espèces de chauve-souris se sont révélées négatives à l'examen microscopique des hémoparasites. Cette étude est la première à mettre en évidence des hémoparasites chez les chauves-souris malgaches. Elle soulève nombre de questions relatives à la distribution de ces parasites par espèces et familles de chauve-souris, à leur pathogénicité, et à leur mode de transmission vectorielle⁹⁹.



3.1.3 Métazoaires^{ee}

3.1.3.1 Vers intestinaux et vers plats

L'embranchement du règne animal des vers plats est appelé **Platyhelminthes**. En français on parle de **Plathelminthes** : ce groupe se compose de 20 000 espèces qui sont en partie parasites des animaux et de l'Homme. Il comporte quatre classes qui correspondent chacune à des adaptations à un milieu précis¹⁰⁰ :

- les *Turbellaria* comme les planaires (parasites des vertébrés en biologie marine). Ils sont les mieux connus sous terre. Ils sont représentés par les planaires d'eau douce.
- les *Monogènes* qui sont des parasites d'organismes aquatiques (parasite des amphibiens) et de chauves-souris.
- les *Trématodes* (douves du foie [ou Clonorchose] hermaphrodites, les Schistosomes [ou bilharzies] dont les sexes sont séparés), qui sont des parasites ayant pour réservoir parasitaire un gastropode.
- les *Cestodes*, comme le ver solitaire ou ténia, ou les nombreux cestodes qui peuvent infecter les animaux, dont les oiseaux qui peuvent les transporter d'un continent à l'autre.

3.1.3.2 Autres vers

- **Némathelminthes** : les *Nématodes* sont des vers ronds libres, qui se rencontrent dans des environnements très diversifiés, eaux douces, saumâtre ou salées. Certaines espèces de némathelminthes sont parasites, pour les vertébrés et l'Homme (*Ascaris*, *Dracunculus*, *Onchocerca*).
 - **Acanthocéphale** : petit animal vermiforme parasite de vertébrés dont la taille varie entre 1 mm et 70 cm. Ils sont caractérisés par un proboscis^{ff} rétractable.
 - **Plagiorchis** : genre des douves (***Digenea trématodes***)
 - ***Plagiorchis lutrae*** : peut se trouver dans les loutres.
 - ***Plagiorchis megalorchis*** : peut se trouver dans les oiseaux sauvages.
 - **Lecithodendrium** : *Trématodes* parasites de mollusques et de vertébrés. La sous-classe des *Aspidogastrea* plus petite se compose d'une centaine d'espèces qui se nourrissent principalement de mollusques, mais peuvent aussi infecter des tortues et des poissons.
- Nous pouvons constater que cette liste comprend de nombreux parasites, qui ont des possibilités de vie aquatique, ce qui peut les rendre vecteurs principal ou secondaire pour l'Homme dans les traversées aquatiques. La présence de proboscis dans certaines espèces peut nous laisser penser à la possibilité de morsure et d'hémato-succions (hématophagie).

3.1.4 Parasitisme externe

3.1.4.1 La tique

Acarien de la famille des *Ixodidae*, famille contenant 13 genres et environ 650 espèces.

Parasite de la zone épigée : de façon générale les tiques ont une activité dans la zone épigée et sont présentes dans les broussailles, les maquis, les arbustes...

La tique est morphologiquement constituée de deux parties : la tête qui est différenciée et qui a une action buccale par un organe piqueur et suceur et le corps qui est le réservoir sanguin et nutritif.

Ixodes ricinus vit de deux à six ans. À chacun des trois stades de son développement, cette tique prend un unique repas sanguin qui lui permet de passer au stade suivant. Trois hôtes sont nécessaires à son développement. Les individus de chaque stade partent en quête d'une proie à parasiter durant la belle saison, avec des variations selon la latitude. Les larves se nourrissent sur de



^{ee/} **métazoaire** (nom de taxon : **Metazoa**, du grec [*meta*], après et [*zōon*], animal, par opposition aux protozoaires) : nom de clade désignant les animaux. Les organismes ainsi qualifiés sont des eucaryotes multicellulaires mobiles et hétérotrophes.

^{ff/} **proboscis** : appendice de forme allongée situé sur la tête de certains animaux vertébrés et invertébrés. Il s'agit généralement d'un organe de succion ou de fixation.

petits rongeurs et sur certains oiseaux, ainsi que les petits mammifères domestiques et sauvages. La tique femelle meurt après avoir pondu ses œufs. La tique mâle adulte ne se nourrit pas ou ne se gorge que très partiellement.

Les *Ixodes* semblent très sensibles au climat et en particulier à la douceur des températures hivernales et aux températures nocturnes de la belle saison. Les déplacements des nymphes d'*Ixodes ricinus* sont essentiellement nocturnes et sont fortement influencés par les conditions thermo-hygrométriques (J.-L. Perret, 2000) avec deux précisions importantes :

- En laboratoire, ces déplacements doublent (en moyenne) quand la température augmente de 10 °C, ce à partir de 15 °C.
- De plus, quand l'atmosphère est plus sèche et plus chaude, les déplacements de cet arthropode^{gg} sont plus nombreux et se font sur une distance qui peut doubler.

Le réchauffement climatique pourrait donc exacerber la circulation de tiques telles que l'*I. ricinus*, et fortement augmenter le risque de piqûres et étendre ainsi les zones endémiques de la maladie parasitaire.

Risque de contamination : elle est liée à la densité des tiques dans les endroits fréquentés par l'Homme et au taux d'infection des tiques par le *Borrelia*, la période de risque maximum se situe en avril et mai lors du pic d'activité des tiques. Les cas cliniques apparaissent généralement à partir du mois de mai. Un pic secondaire de cas est également observé en septembre et octobre.

Nourriture de la tique : Stone B.F.¹⁰¹ en 1983 détaille le comportement de la tique lors de la piqûre, « Une fois sur l'hôte, elles se déplacent afin de trouver une zone fortement vascularisée puis s'ancrent solidement à l'aide de leur hypostome^{hh}. Lorsque les tiques se préparent à insérer l'hypostome dans la peau de l'hôte, un flux de salive est produit puis envoyé vers les pièces buccales. Un flux de ciment entre dans la plaie et baigne l'hypostome et les chélicères (crochet de la tête des arachnides). Ce ciment durcit très rapidement et permet aux parties buccales d'être fermement fixées. Afin d'éviter toute réaction de défense de l'hôte, la tique a développé des adaptations lui permettant de dissimuler sa présence. Elle se fixe généralement dans un endroit discret et de façon indolore. Ses chélicères sont capables de couper l'épiderme sans douleur, sa salive digère progressivement les tissus de l'hôte et d'ouvrir graduellement la voie à la pénétration de l'hypostome dans la peau, sans éveiller l'attention de l'hôte. Par la suite, la tique alterne des cycles d'ingestion du sang et de sécrétion salivaire.

Cependant, cette insertion de l'hypostome à travers la peau de l'hôte cause des dommages au niveau de l'épiderme et du derme tels que la rupture locale de vaisseaux sanguins. Cette effraction de la barrière cutanée devrait normalement provoquer la mise en place de réactions comme la vasoconstriction et la coagulation ainsi qu'une réaction inflammatoire.

Les sécrétions salivaires de la tique contiennent en effet des substances protéiques et des antigènes, susceptibles d'activer les réponses immunitaires de l'hôte. En conséquence, la fixation de la tique ne pourrait pas se prolonger plusieurs jours sans l'intervention primordiale de substances inhibitrices de la réponse inflammatoire présentes dans les glandes salivaires.

Pour contourner les défenses de l'hôte, des composants de la salive agissent à proximité immédiate du site de morsure, maintenant le sang liquide et prévenant les réactions inflammatoires et immunitaires tout au long de l'absorption de sang par la tique. »

gg/ arthropodes : (*Arthropoda*), du grec [*arthron*], articulation, et [*podos*], pied, aussi appelés « articulés » ; forment un embranchement d'animaux invertébrés dont le plan d'organisation est caractérisé par un corps segmenté formé de métamères hétéronomes munis chacun d'une paire d'appendices articulés et recouvert d'une cuticule ou d'une carapace rigide, qui constitue leur exosquelette, dans la plupart des cas constitué de chitine.

hh/ hypostome de la tique est la structure de fixation barbelée associée avec les pièces buccales des arachnides parasites.



Évolution de la fixation de la tique dans le temps et modifications morphologiques



L'image ci-contre montre l'évolution morphologique de l'*Ixodes ricinus* dans les 96 heures qui suivent la morsure. C'est au cours de cet intervalle que la tique se gorge de sang et que les bactéries potentiellement présentes chez l'hôte vont être ingérées par la tique et seront transmises ensuite par la salive de la tique à un autre hôte lors d'une autre intrusion (comportement vecteur de la tique).

<<http://www.bing.com/images/search?q=anaplasmosse+humain&qpv=anaplasmosse+humaine&FORM=IGRE#view>>

Parasites dans l'endo-karst : les chauves-souris hébergent en effet une foule de parasites externes qui leur sont plus ou moins strictement inféodés ; ils appartiennent pour la plupart aux groupes des Acariens (famille des *Spinturnicidés*, des *Argasidés* et des *Ixodidés*) et des Insectes. La famille des *Spinturnicidés* comprend de nombreuses espèces d'acariens (genre *Spinturnix*) qui vivent uniquement sur les chauves-souris, en effet ce parasite ne peut pas survivre hors de leur hôte.

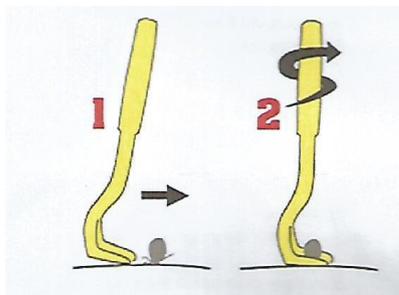
Certains *Ixodidés* sont plus spécifiques aux chauves-souris. La famille des *Ixodidae* est très commune dans les grottes d'Asie, d'Afrique et aussi d'Europe où elle est représentée par la tique spécifique des chiroptères — *Ixodes vespertilionis* — qui a porté aussi le nom d'*Eschatocephalus vespertilionis*. Ce sont des parasites temporaires, hématophages. En dehors de ces moments l'*Ixode* vit librement et ne dépend plus de sa proie dans ses déplacements (processus identique à celui des autres espèces parasites de divers mammifères, tels que chien, lapin, chat, etc...). On peut alors les trouver fréquemment immobiles, sur les parois de certaines grottes, ce sont de petits invertébrés de couleur brune au corps ovoïde dont l'aspect et le volume varient de la valeur d'une lentille à un gros pois selon les prises de repas.

***Ixodes* dans l'écosystème karstique** : en Europe, deux espèces de tiques *Ixodes* des chauves-souris sont connus¹⁰². La tique de la chauve-souris à longues pattes (*Ixodes vespertilionis*) a une vaste gamme d'hôtes et une distribution dans le monde entier. En conséquence, il a été signalé également dans la plupart des pays Européens¹⁰³. En revanche, *I. simplex* est hautement spécialisée de la chauve-souris *Miniopterus schreibersii*, et elle est généralement (bien que géographiquement généralisée), en petit nombre comme le prouve les quelques d'enquêtes en cours¹⁰⁴. Cela peut être attribuée en partie aux difficultés dans son diagnostic, qui n'est pas toujours clair¹⁰⁵. La relation taxonomique des espèces de tiques des chauves-souris sont également un sujet de débat ; autrefois, elles étaient classées en tant que membres séparés en sous-genres (respectivement *Eschatocephalus* et *Pomerantzevella*), qui ont été ultérieurement jugée synonyme¹⁰⁶. En outre, *I. vespertilionis* est généralement prélevée soit sur des chauves-souris¹⁰⁷, soit sur les murs de la grotte¹⁰⁸, mais *I. simplex* provient presque exclusivement des chauves-souris¹⁰⁹. *I. vespertilionis* s'est avéré être présent à l'extérieur des grottes (par exemple caves ou greniers des maisons, des trous d'arbres¹¹⁰ ; cette espèce peut également infester les humains¹¹¹ et peut transporter des *Bartonellae*¹¹². Toutefois, *I. simplex* est peu susceptible de se nourrir de sang humain et son vecteur potentiel infectieux reste à élucider. Récemment, au cours d'un recensement des tiques de grottes en Hongrie¹¹³. Il a été observé, que certains spécimens sont morphologiquement différents de *I. vespertilionis* et *I. simplex*. Arthur¹¹⁴ a également rapporté l'existence de tiques de chauves-souris, qui présentent des caractéristiques intermédiaires entre *I. vespertilionis* et *I. simplex*. Par conséquent, l'objectif principal de cette étude était de recueillir un grand nombre de tiques de grottes, afin de clarifier leur taxonomie statuée sur les bases morphologiques et moléculaires.

Prévention : elle est limitée à la lutte et à la protection vectorielle :

➤ Ports de vêtements longs, répulsifs (DEET 15 à 30 %) sur la peau exposée, traitement des vêtements par des acaricides de contact à base de perméthrine.

- Utilisation d'un répulsif de synthèse pour les parties découvertes, proscrit chez la femme enceinte et les jeunes enfants.
- L'examen fréquent de la peau après passage en zone infectée est recommandé, afin de pouvoir rapidement retirer la tique. Il faut utiliser obligatoirement un « tire tique » et effectuer le retrait par une rotation dans le sens antihoraire à l'aide de l'instrument.
- Le retrait de la tique peut être réalisé à l'aide d'une pince fine ou un tire*tique ou simplement avec les ongles, en agrippant la tique le plus près possible de la peau.



Le tire*tique est une sorte de « mini-pied de biche » en fonction de la grosseur de la tique, il existe deux ou trois tailles différentes.

Passer les dents du tire*tique sous la tique, la soulever légèrement tout en faisant un mouvement de rotation dans le sens antihoraire.

- La zone est en suite désinfectée et une surveillance locale attentive est menée pendant trente jours afin de détecter une rougeur extensive, signe d'érythème migrant qui sera alors traité.

3.1.4.2 Famille des *Argasidés*

Les *Argasidés* sont une famille de tiques qui regroupe les tiques à tégument dépourvu de sclérisation, dites tiques molles. Ces tiques sont connues au Yucatan, au Mexique, aux Antilles. Elles portent leurs larves sur son corps et les libèrent lorsqu'elles ont trouvé une proie pour qu'elles puissent se nourrir. Chacune des tiques femelles acheminent entre cent à quatre cents nymphes sur leur dos. Ces petites nymphes sont très attachées à leur mère. Quand les chercheurs ont essayé les retirer de



leur mère, elles reprennent leur position sur leur mère.

Au voisinage de ces parasites on trouve souvent les chiroptères de la famille des *Phyllostomatidés*. La famille des *Phyllostomatidés* est la seule autre famille de chauves-souris à feuille nasale. On les appelle *Rhinolophes* américains et elles sont répandues entre le sud-est des États-Unis et le nord de l'Argentine, ainsi que dans la plupart des Antilles. Cette famille de chiroptères est représentée par :

- *Chilonycteris fuliginosa torrei* => habitat : Mexique, Pérou, Sud-Ouest Brésil, Guyana. Parasité par *Antricola*.

- *Phyllonycteris poeyi* => (Gundlach [1860] l'appelle « vampire des fleurs »). Cette espèce est connue à Cuba, l'île des pins et Hispaniola. Parasité par *Ornithodoros*.

Ils se concentrent dans les zones à température et humidité très élevées. Les parasites qui les habitent, les *Argasidés*, sont assez spécifiques de leur hôte.

Les *Argasidés* dans l'endo-karst

La famille des *Argasidés* possède deux parasites des chiroptères, qui sont *Antricola marginatus* et *Ornithodoros vigerasi*, qui se révèlent très intéressants par leur biologie et leur écologie. Ils sont spécifiques à certaines espèces de chiroptères. Ces deux espèces se rencontrent dans les grottes chaudes de Cuba où elles atteignent une densité allant jusqu'à 2 millions d'exemplaires par m². Selon le D^r Cerny, de l'Institut de parasitologie de Prague, il semble qu'elles se nourrissent du jus de guano (ce qui augmente leur pathogénicité), car leur appareil buccal a en partie régressé. Les larves, de l'*Antricola marginatus*, peuvent, à l'occasion, se fixer sur la peau humaine, et leurs piqûres sont très douloureuses après trois secondes de contact seulement.



3.1.4.3 Les punaises (hémiptères)

➤ Europe : punaise *Cimex*

Espèce décrite par Leonard Jenyns en 1839. *Cimex pipistrelli* est inclus dans le genre *Cimex* et la famille des punaises de lit.

➤ Amériques : certaines punaises appelées réduves (punaises du genre *Panstrongylus*, *Triatoma* ou *Rhodnius*) sont des vecteurs de maladies, notamment la maladie de Chagas.

Le genre *Triatoma* (synonyme *vinchuca*). Ordre *Hemiptera* ; Famille *Reduviidae* ; espèce *Triatoma infestans*, insecte piqueur hématophage d'Amérique tropicale. C'est un vecteur du *Trypanosoma cruzi*, qui porte la maladie de Chagas dans ses excréments.

Écologie : on les trouve essentiellement dans les habitations et sur les sols. La poussière qui les camoufle se colle sur les larves grâce à une sécrétion adhésive. Les adultes sont nocturnes et attirés par la lumière. Ils peuvent striduler (signalisation sonore) en frottant l'extrémité de leur rostre dans un sillon strié de leur thorax.

En général, le réduve a un corps de forme allongée, et souvent assez plate. La tête, également allongée, est petite et munie de deux grands yeux, et d'un rostre qui lui sert à transpercer ses proies. La longueur de l'insecte varie en 1 et 3 cm selon l'espèce. Ce sont des insectes carnivores, qui chassent d'autres insectes pour s'en nourrir. Naturellement, comme les punaises éliminent une grande quantité d'insectes nuisibles, la majorité est considérée comme des insectes utiles.

Au début de l'été, on ne voit que des nymphes, mais en fin de juillet, les adultes sont prêts à la reproduction. La femelle va ensuite déposer les œufs sur les branches des plantes. La durée de vie des réduves ne dure que quelques mois, de la nymphe à l'insecte adulte.



Insecte vecteur

Triatoma infestans



Harpactorinae <i>Rhynocoris iracundu</i>	Réduviinae <i>Reduvius personatus</i>	Triatominae <i>Rhodnius prolixus</i>
--	---	--

➤ Afrique : *Afrocimex leleupi*, vecteurs de protozoaires hématozoaires signalés au paragraphe des protozoaires.

3.1.4.3.1 Maladie de Chagas

La maladie de Chagas affecte actuellement 8 à 10 millions de personnes, tuant environ 50 000 personnes chaque année¹¹⁵. On peut estimer que 100 millions d'individus (25 % de la population latino-américaine) sont potentiellement exposés au risque de contracter la maladie.

Répartition des zones endémiques

La maladie est présente dans presque toutes les Amériques, du sud des Etats-Unis au nord de l'Argentine ; la plupart du temps dans des zones rurales pauvres, d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud¹¹⁶. Les pays non endémiques (dont l'Europe) comptent de nombreux cas d'importation¹¹⁷ (probablement de l'ordre de 50 000 cas en Espagne par exemple¹¹⁸).

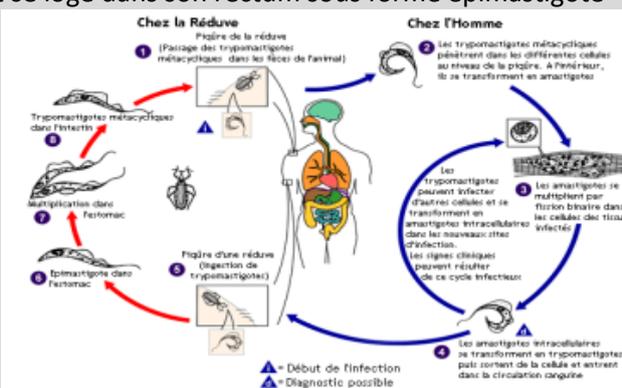
Transmission (extrait du cours de Ludovic Baene, février 2002)

L'agent pathogène responsable de la maladie est *Trypanosoma cruzi* (zooflagellé sanguicole). Il est transmis à l'Homme par une piqûre d'un hémiptère hématophage, grosses punaises appartenant à la famille des Réduvidés et à la sous-famille des Triatomines. La piqûre est accompagnée de déjections contenant les trypanosomes, l'inoculation du vecteur se faisant alors par toute plaie ouverte par grattage suite à la piqûre ou par les yeux, la bouche avec les mains infectées.

Cycle parasitaire

L'insecte vecteur transmet donc le parasite circulant lors d'une morsure en laissant ses défécations sur la peau de l'animal ou de l'Homme. L'agent pathogène, sous forme trypomastigoteⁱⁱ, se multiplie et se différencie en une forme amastigote^{jj} intracellulaire. Cette nouvelle forme continue à se multiplier à son tour en envahissant d'autres cellules de l'organisme et redonne une forme trypomastigote circulante dans le sang. Le cycle se ferme si un insecte prend du sang sur l'organisme infecté. Dans l'insecte, le parasite se reproduit et se loge dans son rectum sous forme épimastigote^{kk}.

➤ « La plupart des espèces sauvages de triatomines sont associées à des nids de vertébrés forestiers ; elles sont dites "triatomines sylvatiques" ; on les retrouve associées à plus de 150 espèces animales, dans des terriers de rongeurs, de tatous, ou dans des arbres creux avec les chiroptères (22 espèces de chauves-souris)¹¹⁹, des oiseaux, des paresseux, des singes ou des opossums. Un petit nombre d'espèces (5 % environ du total des espèces connues) vivent dans les habitations humaines ou à proximité, souvent dans les abris d'animaux domestiques (niches, poulaillers...). Ces espèces sont dites "domestiques". De nombreuses espèces "sylvatiques" sont supposées avoir un comportement qui évolue vers une "semi-domestication". Plus de trente espèces de mammifères ont été identifiées comme étant réservoir de *T. cruzi* en Amazonie brésilienne. Les hôtes connus incluent des marsupiaux, des édentés, des chauves-souris, des rongeurs, des carnivores et des primates » (Coura et coll., 2002).



On trouve des triatomines vers le nord, jusqu'au 41° de latitude (Salt Lake City) et vers le sud jusqu'au 46° (Bahia Blanca), entre les altitudes 0 et 4 500 mètres.

Caractéristiques cliniques

➤ **La période d'incubation** est de 5 à 14 jours.

➤ **L'infection se produit en 3 étapes :**

- **phase aiguë** : les symptômes sont fièvre et adénopathies. Si le point de piqûre est conjonctival, le patient peut développer une conjunctivite unilatérale et un œdème périorbitaire. Cette évolution des symptômes est désignée par le terme de « Signe de Romaña ». La phase aiguë est habituellement asymptomatique, mais peut présenter des manifestations à type de légère hépatosplénomégalie et myocardite. Certains cas aigus (10 à 20 %) s'atténuent en deux à trois mois pour faire place à une phase chronique asymptomatique qui peut amener à une phase chronique symptomatique après plusieurs années.
- **phase de latence** : phase sans signes cliniques à durée indéterminée.
- **phase chronique** : implique des séquelles irréversibles cardio-vasculaires (arythmie, cardiopathies), gastro-intestinales (mégaoesophage, mégacôlon).

ii/ **trypomastigote** : forme sanguicole du trypanosome chez le vertébré. Le flagelle gagne l'avant du corps où il peut, soit s'arrêter (trypomastigote métacyclique ou "stumpy") soit se prolonger sous forme de flagelle libre (trypomastigote en division ou "slender"). Ces formes se déplacent librement dans le sang et les liquides tissulaires. Seules les "slender" se multiplient et se reproduisent en 6 heures par divisions binaires et longitudinales. Seules les formes trapues, "stumpy" ou métacycliques, se développent chez l'insecte

jj/ **amastigote** : dépourvu de flagelle (filament mobile permettant à certains parasites de se déplacer).

kk/ **épimastigote** : forme de trypanosomidé dont le kinétoplasme du flagelle est situé juste devant le noyau.

Diagnostic

La trypanosomiase américaine se détecte par la présence de l'agent causal dans le sang après examen au microscope ou par des techniques immunologiques de détection d'anticorps spécifiques.

3.1.4.3.2 Hémiptères retrouvés dans l'endo-karst

Parmi les insectes parasites externes des chiroptères, on trouve des *Hémiptères* (telles les *Cimex pipistrelli*, en Europe, et *Afrocimes leleupi*, en Afrique).

3.1.4.3.3 Prévention contre les *Argasidés*

- Ports de vêtements longs, répulsifs (DEET 15 à 30 %) sur la peau exposée, traitement des vêtements par des acaricides de contact à base de perméthrine.
- Lors d'une piqûre d'argasidés, qui est douloureuse. Il faut éviter de se gratter car il y a risque de contamination, il est préférable de désinfecter la peau et d'appliquer un anesthésique cutané (éventuellement un antiseptique, comme le cétrimide) pour éviter de se gratter.

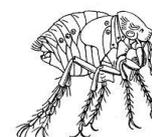
3.1.5 Les puces (*Siphonaptères*)

Elles appartiennent à l'ordre des *Aphanaptera* (1 800 espèces) et en majorité à la famille des *Ischnopsillidés* ou *Pulicidae* dans le cas des parasites des rats comme le genre *Xenopsylla*. Les puces passent par quatre stades de développement : œuf, larve, nymphe et adulte. La durée du cycle biologique dépend de l'espèce en cause, de la température, de l'humidité et de l'accès à la nourriture. Selon les conditions, une puce devient adulte en deux à plusieurs mois.



Xenopsylla cheopis joue un rôle dans la transmission de la peste (on estime à plus d'une centaine le nombre d'espèces impliquées dans cette transmission). C'est aussi le vecteur de rickettsioses, autres zoonoses du rat.

Chez les chauves-souris on trouve un genre de puce, appartenant à la famille des *Hectopsyllidae* dont on connaît l'*Hectosylla* et *Tunga*.



Puce *Tunga* : ces puces parasitent habituellement les mammifères terrestres et dans quelques cas, les oiseaux et les chauves-souris. Puces de quelques millimètres, brun pâle, avec six pattes solides, qui courent rapidement sous le pelage des chauves-souris, elles possèdent un appareil buccal qui peut traverser la peau de leur hôte en absorbant le sang. Les femelles sont en général immobiles et restent attachées au même endroit pendant de longues périodes de temps, peut-être jusqu'à leur mort¹²⁰.

3.1.5.1 Les Siphonaptères dans l'endo-karst

Les chauves-souris sont parasitées par des puces, qui appartiennent à la famille des *Ischnopsillidés*.

3.1.6 Les poux

Ordre *Anoplura* ou *Neoptera* (230 espèces), parasite des mammifère (l'Homme y compris), aptère^{ll}, très petit et hématophage ; possède un appareil buccal piquer et suceur qui peut pénétrer dans les vaisseaux sanguins. Ils ont six pattes terminées par des crochets (pour se retenir aux poils). Incapables de tout mouvement sur une surface horizontale et lisse, les anoploures ne peuvent abandonner leur hôte que pour un autre sujet. Leur température de développement est de 28 à 32 °C, ils peuvent vivre de 6 à 8 semaines.



Pediculus humanus capitis

ll/ aptères : oiseaux ou insectes qui ont perdu l'usage de leurs ailes ou qui n'ont pas d'ailes.

3.1.6.1 Chez l'Homme (Anoploures)

On peut trouver le plus fréquemment trois types de poux :

- ***Pediculus humanus capitis*** (dit poux de tête).
- ***Pediculus humanus humanus*** ou ***corporis*** (dit poux de vêtement).

La femelle pond des œufs ovoïdes (4 à 10 œufs [ou lentes] par jour, et ce pendant 3 à 5 semaines) de 1 mm de long à coque ponctuée et pourvue d'un opercule. Les lentes sont collées sur un support (cheveu pour ***P. humanus capitis*** et fibres textiles des vêtements au contact de la peau pour ***P. humanus humanus***).

- ***Phthirus inguinalis*** exclusivement humaine (dit poux du pubis ou morpion).

La femelle pond 3 œufs par jour. Les œufs prennent 6 ou 8 jours pour éclore, et il y a trois stades de nymphes qui prennent 10 – 17 jours avant d'être adulte, faisant un cycle de vie total de l'œuf à l'adulte de 16 à 25 jours. Les adultes vivent jusqu'à 30 jours. Les morpions se nourrissent de sang et prennent 4 à 5 repas par jour.

Le danger de ces parasites est qu'ils irritent fortement la peau et qu'ils sont porteurs de maladies graves comme la peste ; ***Rickettsia prowazekii***, ***Borrelia recurrentis*** et ***Bartonella quintana***, responsables respectivement du typhus exanthématique^{mm}, de la fièvre récurrente à poux et de la fièvre des tranchées¹²¹.



Pediculus humanus humanus
ou ***corporis***



Phthirus inguinalis

3.1.6.2 Poux des oiseaux et rongeurs (Mallophages)



Photo : Trimenopon;
Service de dermatologie ENVL

Chez les oiseaux et certains mammifères, ce sont des poux de l'ordre *Mallophage*, Ils comprennent 2 500 espèces, ils sont de toute petite taille (1 à 1,5 mm pour la femelle), forme aplatie, aptères, sans métamorphose. Ils passent toute leur vie sur l'hôte. Ils se nourrissent des sécrétions de la peau, des poils, des plumes et provoquent des irritations de la peau. Très rarement, ils se nourrissent de sang. Le cycle de reproduction dure 3 semaines. Ils ont un organe buccal qui est un organe broyeur.

3.1.6.3 Prévention contre les puces et les poux

- Ne pas toucher les animaux qui risquent d'être des vecteurs : chauves-souris, rat, et autres petits rongeurs.
- Il faut se débarrasser des poux de corps en changeant complètement de vêtements.
- Lavage des vêtements à plus de 50 °C ; saupoudrage avec des insecticides le moins toxique possible pour l'Homme.

3.1.7 Mouches poux (Classe Diptères ; Sous-Classe Pupipares)

Ce sont des diptères de l'ordre *Streblidés*. Les *Streblidés* sont une sous-famille des *Hippoboscoidea*ⁿⁿ qui sont parasites des chauves-souris. Mouche pou est une famille contenant environ 200 espèces dans le monde entier, insectes ectoparasites qui sucent le sang des animaux à sang chaud, mammifères ou oiseaux.



mm/ exanthème : manifestation cutanée caractéristique d'une maladie infectieuse et contagieuse, notamment fièvre éruptive (dite exanthématique dans le cas du typhus exanthématique de la rickettsiose).

nn/ hippoboscoidea : forment une nombreuse famille d'insectes diptères piqueurs et hématophages, ailés, qui parasitent les oiseaux ou les mammifères. Cette famille comporte plus de 200 espèces.

Ces diptères de la famille des *Nycteribiidés* (*Nycteria*, *Basilia*, *Penicillidia*) sont en réalité privés d'ailes, ils sont donc des aptères ; mesurant quelques millimètres, brun pâle, avec six pattes solides, on les voit parfois courir rapidement à travers le pelage d'une chauve-souris tenue en mains ; ils enfoncent leur appareil buccal à travers la peau de leur hôte et en absorbent le sang. D'autres *Streblidés* parasites de chauves-souris sont les *Ascodipteron* et *Paradyschiria*. Pourvus normalement de leurs deux ailes, ils ont des yeux réduits, sinon absents ; cette dégénérescence est bien entendu consécutive ici à une adaptation à la vie souterraine.

➤ **Ascodipteron**^{oo} : genre trouvé en Afrique, Asie et Australie, les principales espèces sont *Ascodipteron phyllorinae*, *Ascodipteron africanum*, *Ascodipteron lophotes*.

➤ **Paradyschiria** : mouches poux ectoparasites des chauves-souris au Pérou.

3.1.8 Nouvelles recherches sur le parasitisme des chauves-souris

Les nouvelles recherches sur le parasitisme des chauves-souris ont mis à jour 23 nouvelles espèces d'ectoparasites, dont 17 appartiennent aux diptères. Les études actuelles donnent la liste des parasites suivants :

➤ **Mouches poux**

- Ordre *Diptera* : *Anastrebla caudiferae*, *Anatrichobius scorzai*, *Aspidoptera phyllostomatis*.
- Ordre *Diptera* : *Megistopoda aranea*, *M. proxima*, *Metelasmus pseudopterus*, *Noctiliostrebla aitkeni*, *N. dubia*, *Paradyschiria fusca*, *Paradyschiria sp.*
- Ordre *Diptera* : *Strebla chropteri*, *Strebla diaemi*, *Trichobius parasiticus*, *Xenotrichobius noctilionis*.
- Ordre *Nycteribiidae* : *Basilia carteri*, *B. plaumanni*, *B. neamericana*.

➤ **Puces**

- Ordre *Siphonaptera* : *Myodopsylla isidori*, *Tungidae*, *Rhynchopsyllus*, *Craneopsylla*.

➤ **Hémiptères**

Les hémiptères sont un ordre d'insectes, sous-classe des ptérygotes, section des néoptères, super-ordre des hémiptéroïdés.

Les membres de cet ordre sont caractérisés par leurs deux paires d'ailes dont l'une, en partie cornée, est transformée en hémélytre

- Ordre *Hemiptera* : *Hesperoctenes fumarius*, *H. vicinus*

➤ **Punaise**

- Ordre *Cimicidae* : *Latrocimex spectans*

Pour beaucoup de parasites, on a montré une préférence pour une espèce donnée de chiroptères (c'est le phénomène de la spécificité parasitaire) ; de même, on a constaté que chez certains, le degré d'association est plus accentué que chez d'autres. Enfin certaines espèces de chauves-souris sont beaucoup plus infectées de parasites que d'autres, les plus parasitées étant les espèces dont le comportement grégaire est le plus accentué.



3.1.9 Phlébotome

Le *Phlebotominae* est de l'ordre des *Diptera* et du sous-ordre des *Nématocères*, de la famille des *Psychodidae* selon Lameere, 1936 et col. Ce sont de tous petits insectes hématophages, qui peuvent être vecteurs de maladies touchant les humains comme la bartonellose, l'arbovirose, la leishmaniose des genres bactériens *Leishmania*, *Bartonella*, *Phlebovirus* et *Vesiculovirus*.

oo Ascodipteron : un des exemples les plus remarquables de la spécialisation à une existence parasitaire de mouche pou. Il a été décrit par Adensamer en 1896 en un seul exemplaire trouvé ancrée dans la membrane aile dorsale d'une chauve-souris (*Phyllorhina sp.*) aux Indes orientales néerlandaises. Par la suite M. Frederick Muir a trouvé un certain nombre d'individus d'une autre espèce, ancrée dans la peau à la base de l'oreille, sur dix-sept spécimens de chauves-souris du nom de *Miniopterus schreibersi*.



Phlebotomus sp *male*

Phlébotome (femelle), vecteur de la leishmaniose

3.1.9.1 Biologie - morphologie

L'observation des phlébotomes est difficile du fait de leur petite taille, de leur couleur pâle et de leur vol rapide et saccadé. Ils fréquentent de plus des lieux obscurs, et la brièveté de leurs déplacements les rend discrets. La découverte des larves est encore plus délicate : elles vivent en général dans des milieux peu accessibles et sont parfois enterrées au sein de débris organiques divers.

Cependant, les adultes de plusieurs espèces gravitent au voisinage de l'Homme et les femelles se nourrissent à ses dépens. Ils piquent à la tombée de la nuit, plus rarement pendant le jour, dans les habitations ou à proximité.

Certains se nourrissent sur les animaux à sang chaud et se rencontrent dans les clapiers, les porcheries, les étables, les écuries, les chenils, les poulaillers et dans les terriers.

D'autres piquent les animaux à sang froid et s'observent à l'entrée des gîtes de ces animaux et sous l'écorce des arbres, près des nids de lézards.

On peut également trouver des phlébotomes dans les grottes et les cavernes, vivant aux dépens des chauves-souris ou d'autres vertébrés habitant ces lieux.

Dans les régions sèches et arides, ils s'abritent pendant le jour dans les crevasses du sol, d'où ils ne sortent qu'à la faveur de la fraîcheur et de l'humidité de la nuit, dans les terriers des petits rongeurs où ils trouvent le calme, l'obscurité et l'humidité nécessaires à leur développement.

D'autres se multiplient en grand nombre dans les forêts humides des régions équatoriales.

En certaines saisons, on peut recueillir de nombreux individus appartenant à diverses espèces aussi bien dans les anfractuosités des gros arbres qu'à l'entrée des terriers. Pour déloger les phlébotomes des refuges inaccessibles, l'emploi de la fumée de tabac donne de bons résultats.

Seules les femelles sont hématophages.

L'aire de répartition des phlébotomes est très étendue ; on les rencontre sur tous les continents, mais ils ne dépassent pas certaines latitudes. Ils n'ont pas été signalés dans les pays nordiques ; ils sont très rares en Amérique du Nord et peu abondants en Australie. Ils sont fréquents dans le Bassin méditerranéen et en Afrique du Nord. Ils abondent dans les zones tropicales et équatoriales de l'Afrique, de l'Amérique.

3.1.9.2 Les phlébotomes dans le karst

Quelques espèces de *Diptères* de la famille des *Psychodides* peuplent les grottes d'Afrique Centrale comme les *Phlebotomus mirabilis* et les *Spelaeophlebotomus gigas*. Bernard Vattier (1971) les considère comme des cavernicoles en phase d'instabilité. Ces moustiques hématophages sont dépigmentés, leurs yeux sont petits et le nombre d'œufs par ponte est très faible et le cycle de leur développement, qui s'effectue tout entier dans le domaine souterrain, dure plus longtemps que celui des espèces voisines.

À côté de ces intéressantes espèces de diptères, quelques autres espèces sont considérées comme de vrais cavernicoles (Adam, 1965 et Vandel, 1969), c'est le cas des *Anopheles hamoni* (moustique de la famille des *Culicidés*) le cycle vital de ce diptère se déroule en effet tout entier à l'intérieur de quelques grottes d'Afrique Centrale. Les larves de moustique vivent dans de petites accumulations d'eau souterraine. Elles se nourrissent du guano des chauves-souris ; après métamorphose, les adultes sucent le sang des mammifères.

Comme les adultes, les larves d'anophèles fuient la lumière, les premiers sont incolores et les secondes sont presque translucides. Il est intéressant de remarquer que chez *Anopheles hamoni*, cavernicole, le cycle de maturation des ovules suivi de la ponte des œufs dure 15 jours au lieu de deux à trois jours chez les espèces de la zone épigée comme l'*A. gambiae*. Le stade pré-imaginal (larve et nymphe) dure 24 jours chez l'*A. hamoni* contre 11 chez le l'*A. gambiae*. Chez les diptères souterrains les temps d'évolution sont augmentés comparativement aux mêmes espèces de l'écosystème épigé.

3.2 SYNUSIE^{PP} DU GUANO

« Au sein du domaine souterrain, le guano constitue un milieu très spécialisé par ses caractéristiques biologiques particulières vis-à-vis de tous les autres biotopes cavernicoles terrestres, c'est l'un des plus faciles à délimiter dans l'espace. Son origine n'est pas unique, si dans nos régions il provient essentiellement des chauves-souris insectivores, dans d'autres régions il peut aussi être issu de chiroptères frugivores et des oiseaux, soit pollinivores, soit nectarivores, soit piscivores et peut être constitué des déjections d'oiseaux ou d'orthoptères cavernicoles. Sa composition varie selon son ancienneté, son degré de fermentation, son volume et selon sa structure (tassé, aéré, compacté). Donc le guano va être un support de flore microbienne à la fois aérobie et anaérobie, un support de flore fongique importante qui peut être un foyer de flore fongique pathogène et dans les grottes chaudes un foyer éventuel d'histoplasme. La communauté biologique qui peuple le guano est constituée essentiellement par une faune guanophile et guanobie, et des mangeurs de guano — les guanophages — et les animaux carnivores qui se nourrissent des précédents... La communauté souterraine du guano va être présente surtout dans les grottes chaudes qui sont effectivement les plus peuplées de toutes les biocénoses, en nombre et en densité d'individus et en biomasse.

Les études qui ont été faites sur les guanophages ont montré que le plus grand nombre des individus se trouve dans les 5 à 10 premiers centimètres de l'épaisseur du guano...

Le groupe zoologique le plus massivement représenté est celui des Acariens avec la présence éventuelle de tiques et argaridés très abondantes dans les grottes chaudes ; puis viennent ensuite les Collembolés (Hypogastruridés et Onychiuridés) ; ensuite les Diptères (Hélomyzidés, Phoridés, Lycoriidés, Psychodidés) ; suivis par les Coléoptères saprophages (Cryptophagidés, Colydiidés, Ptinidés) ; viennent ensuite les Lépidoptères (papillons avec nombreuses espèces Tinéidés) ; suivis des Oligochètes (vers Lombricidés et Enchytraedés) ; les Crustacés isopodes (Porcellionidés, Trichoniscidés) ; les Myriapodes diplopodes (sorte de millepattes). Quant aux formes guanophiles carnivores qui se nourrissent des précédents, ce sont surtout des Myriapodes Chilopodes (Lithobiidés) dont certaines espèces peuvent cracher du venin appelé "forcipules" et certains Coléoptères (Staphylinidés, Histéridés, Carabidés)¹²². »

En 1943 Jannel, suite à sa visite des grottes de Shmoni au Kenya, fait la description suivante, saisissante : « D'une chambre obscure contenant des nuées de chauves-souris de toutes tailles... Sur les parois courent de grands Gryllides, des Arachnéides, des Phrynes géantes, de grands Réduviides, sur le sol du guano en fermentation... ».

3.2.1 Bactériologie du guano des chauves-souris

Les analyses de guano de chauves-souris pratiquées en Bulgarie et publiées dans *Les identifications microbiologiques sur la grotte ornée de Magura*¹²³, ont détaillé les résultats suivants :

pp/ synusie : l'ensemble des organismes vivants suffisamment proches par leur espace vital, leur comportement écologique et leur périodicité pour partager à un moment donné un même milieu.



Analyse des bactéries hétérotrophes extraites

Les codes de prélèvements dans la cavité *	Coloration de Gram	Parent le plus proche sur la base de similarité de séquences ADNr 16s
B1	Gram négatif	<i>Enterobacter 2B1C sp.</i> (EU693561)
B2	Gram négatif	<i>Pseudomonas fragi</i> (AB685688)
B6 (B11)	Gram négatif	<i>Enterobacter asburiae JCM6051</i> (NR_024640)
B7	Gram négatif	<i>Sphingobacterium Ag8 sp.</i> (JN257086)
CB11	Gram négatif	<i>Serratia a101-87 de sp.</i> (HM468088)

Les bactéries retrouvées dans cette étude sont les suivantes :

- **Enterobacter** : elles font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles Gram(-), anaérobies facultatifs mesurant 0,6 à 1 µm de diamètre et 1,2 à 3 µm de longueur ; ils se déplacent grâce à un flagelle péritriche^{qq}. Ils produisent un acide à partir de la fermentation du glucose, leur température optimale de croissance est de 30 °C. Quatre-vingt pour cent des bacilles sont encapsulés. Les espèces du genre *Enterobacter* peuvent causer de nombreux types d'infections, notamment abcès cérébral, pneumonie, méningite, septicémie, infection des plaies, infection des voies urinaires et infection de la cavité abdominale ou des intestins.
- **Pseudomonas fragi** : psychophile^{rr}, Gram(-) qui est responsable de la détérioration du lait, il est non fluorescent à la différence de nombreux autres membres du genre *Pseudomonas*. *P. fragi* ne produit pas des sidérophores. L'analyse basée sur l'analyse des ARNr 16s, l'a placé dans le groupe *Pseudomonas chlororaphis*. Les *Pseudomonas* peuvent être des germes pathogènes opportunistes, qui sont résistants à de nombreux antibiotiques.
- **Enterobacter asburiae** : c'est un des germes Gram(-) coliforme isolés en clinique. Pathogènes opportunistes, ils colonisent principalement le tractus gastro-intestinal des humains et de animaux.
- **Sphingobacterium** : **Phylum Bacteroidetes** ; **Ordre Sphingobacteriales** ; **Famille Sphingobacteriaceae**. Ils contiennent un sphingolipide surtout constitué de sphingosines ramifiées. Ils ont été soupçonnés d'être à l'origine de péritonites et de septicémies.
- **Serratia** : une des γ protéobactéries, elle a une pathogénicité opportuniste pouvant provoquer des infections urinaires, des surinfections de plaies, des pneumonies, des septicémies. En médecine vétérinaire, *Serratia marcescens* est un agent de la mammite chez la vache laitière.

3.3 CHAUVES-SOURIS ET DISSÉMINATION VIRALE

En août 2013, *Emerging Infectious Diseases* a publié sur le web, l'annonce que le Syndrome respiratoire du Moyen-Orient (plus connu sous le nom MERS), maladie virale mortelle, découverte il y a plus d'un an, aurait été transmis à l'Homme par les chauves-souris. Cet article n'a pas été très surprenant vu que les chauves-souris sont des animaux porteurs sains de nombreuses sources virales comme la rage et l'Ebola (*La Recherche* de décembre 2013).

qq/ péritriche : on appelle **ciliature péritriche** un système de flagelles recouvrant de tous côtés la surface d'une bactérie. Ces filaments mobiles permettent à la bactérie de se déplacer en tournoyant dans un milieu liquide (mobilité hésitante). Les salmonelles ainsi que la plupart des autres *Enterobacteriaceae* sont parmi les bactéries munies d'un tel système de propulsion.

rr/ psychophile : ou psychrotolérant ou cryophile, type d'organisme adapté et capable de survivre à des températures froides par exemple dans les mers polaires ou les abysses, 90 % du volume des océans est en dessous de 5 °C (41 °F), les sols gelés ou dans les glaciers. ...



3.3.1 Virologie ; généralités et classification

3.3.1.1 Structure et classification des virus

Les virus ont une taille variant de 30 à 450 nm environ, ce qui implique que la plupart d'entre eux ne pourra pas être observée par un microscope optique. La forme et la structure des virus peuvent cependant être étudiées en microscope électronique, en spectroscopie de résonance magnétique nucléaire, et, de façon très courante, par cristallographie aux rayons X.

Les virus peuvent être classés selon les genres d'hôtes qu'ils infectent :

- *Zoovirus* (cellule animale) ;
- *Phytovirus* (cellule végétale) ;
- *Fongivirus* (cellule de champignon) ;
- *Bactériophages* (virus infectant des bactéries, catégorie comprenant les virus les plus complexes).

Une autre classification s'appuie sur la forme géométrique de leur capsid^{ss} (souvent une hélice ou un icosaèdre) ou sur la structure du virus (présence ou absence d'une enveloppe lipidique par exemple).

Le système de classification le plus largement utilisé distingue les virus selon le type d'acide nucléique qu'ils utilisent comme matériel génétique et la méthode de réplication qu'ils emploient pour pousser la cellule hôte à produire de nouvelles particules virales.

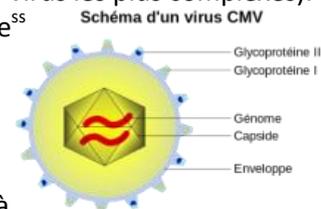
On distingue :

- les virus à ADN (subdivisés en virus à ADN double brin, et les virus à ADN simple brin, moins fréquents) ;
- les virus à ARN (subdivisés en virus à ARN simple brin à polarité positive, virus à ARN simple brin à polarité négative, et les virus à ARN double brin, moins fréquents).

Le génome des virus à ARN peut être codé suivant deux directions différentes :

- soit les gènes sont stockés dans la direction 5'→3' (polarité positive ou +), comme celle dans laquelle les gènes sont codés dans l'ARN messager des cellules,
- soit dans la direction opposée (polarité négative ou -).

Les classifications basées sur les caractéristiques phylogénétiques ne peuvent pas être utilisées dans le cas des virus, car les virus ne partagent pas d'origine commune.



3.3.1.2 Classification des virus

Il en existe deux classifications qui font autorité :

- Classification de Baltimore, proposée par David Baltimore, lauréat du prix Nobel de médecine en 1975, qui est basée sur le type d'acide nucléique des virus (ADN ou ARN) et son mode d'expression.
- Classification de l'*International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)*, qui utilise une méthode assez semblable à celle existant pour les êtres vivants où les virus sont rangés par ordre, famille, sous-famille, genre et espèce.

Ces deux méthodes de classifications ne sont pas antagonistes et peuvent tout à fait s'intégrer l'une à l'autre, car la classification de l'*ICTV* reprend certains critères de la classification Baltimore.

La taxinomie des virus est similaire à celle des organismes cellulaires :

- Ordre (-*virales*)
- Famille (-*viridae*)
- Sous-famille (-*virinae*)
- Genre (-*virus*)
- Espèce

Cependant, le Code de nomenclature géré par l'*ICTV* diffère des autres sur plusieurs aspects. Pour l'essentiel, les noms des ordres et des familles sont mis en italiques et les noms des espèces ne

ss/ capsid : structure qui entoure le génome, l'acide nucléique (ADN ou ARN). Elle est constituée de très nombreuses unités protéiques qui se regroupent pour former des ensembles structuraux identiques appelés capsomères.

suivent pas la nomenclature binomiale mais sont souvent de la forme [*Virus*] de la [*maladie*]. La définition des ordres est très récente et a été délibérément lente ; à ce jour, seuls trois ont été nommés et la plupart des familles ne sont pas classées. En 2012, 96 familles et environ 2 600 espèces virales sont décrites¹²⁴.

Vu le grand nombre de virus existants, nous ne vous donnerons qu'un exemple de classification :

3.3.1.2.1 Virus à ADN

L'information génétique de ces virus est stockée sous forme d'ADN.

➤ Groupe I – Virus à ADN à double brin

- Ordre des Caudovirales (bactériophages à queue).
 - Famille des *Myoviridae* - exemple *phage T4*
 - Famille des *Siphoviridae* - exemple *phage λ*
 - ...
- Non attribué
 - Famille des *Adenoviridae* - exemples kératites, angines ou diarrhées.
 - Famille des *Herpesviridae* - exemples les *virus humains de l'herpès* ou le VZV (virus varicelle-zona), Infection bovine rhino-pharyngée.
 - Famille des *Papovaviridae* - exemples Papillimavirus ou Polyomavirus (virus simien 40)
 - Famille des *Poxviridae* - exemples *virus de la vaccine*, *virus de la variole*
 - ...
 - Genres non classés
 - *Mimivirus* - exemple *Acanthamoeba polyphaga mimivirus*

➤ Groupe II – Virus à ADN à simple brin

- Bactériophages non classés
 - Famille des *Inoviridae*
 - Famille des *Microviridae*
- Virus non classés
 - Famille des *Nanoviridae*
 - Famille des *Parvoviridae* - exemples *virus de Norwalk* ou *Parvovirus B19* (qui dépend d'une co-infection à adénovirus pour la croissance)
 - ...
- Genres non classés
 - *Anellovirus* - exemple *Torque teno virus*
 - ...

3.3.1.2.2 Virus à ARN

L'information génétique est stockée sous forme d'ARN.

➤ Groupe III – Virus à ARN double brin

- Famille des *Reoviridae* - exemples *Rotavirus* ou *Orthoreovirus*
- ...
- Genres non classés
 - *Endornavirus* - exemple *Vicia faba endornavirus*
 - ...

➤ Groupe IV – Virus à ARN simple brin à polarité positive (Virus (+)ssARN ou de type ARN messager)

- Ordre des *Nidovirales* (Virus « nidifiés »)
 - Famille des *Coronaviridae* - exemple *Coronavirus*
 - ...
- Non attribué
 - Famille des *Caliciviridae* - exemple *virus de Norwalk*



- Famille des *Flaviviridae* - exemples *virus de la Fièvre jaune*, *virus du Nil occidental*, *virus de l'hépatite C*, *virus de la dengue*
- Famille des *Hepeviridae* - exemple *virus de l'hépatite E*
- Famille des *Narnaviridae* - virus à ARN nus
- Famille des *Picornaviridae* - exemples *virus de la Poliomyélite*, *Rhinovirus*, *virus de l'hépatite A*, *Coxsackie A virus* et *Coxsackie B virus*, *Virus de la fièvre Aphteuse*
- Famille des *Togaviridae* - exemple *Rubivirus (virus de la rubéole)*
- ...
- Famille des *Virgaviridae*, regroupant six genres¹²⁵
 - Genre *Tobamovirus* - espèce-type *Virus de la mosaïque du tabac (Tobacco mosaic virus)*
 - ...
- Genres non classés (virus végétaux)
 - Genre *Sadwavirus* - exemple *Satsuma dwarf virus*
 - ...

➤ Groupe V – Virus à ARN simple brin à polarité négative

- Ordre *Mononegavirales* (virus à polarité négative non-segmentés)
 - Famille des *Bornaviridae* - *Borna disease virus*
 - Famille des *Filoviridae* - exemples *virus Ebola*, *virus de la Fièvre hémorragique de Marbourg*
 - Famille des *Paramyxoviridae* - exemples *virus de la rougeole*, *virus des oreillons*
 - Famille des *Rhabdoviridae* - exemple *virus de la rage*
- **Virus à polarité négative segmentés**
 - Famille des *Arenaviridae* - exemples *virus de la Fièvre de Lassa*, *virus Junin (fièvres d'Amérique du Sud)*
 - Famille des *Bunyaviridae* - exemple *Brunyavirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus*.
 - Famille des *Orthomyxoviridae* - virus de l'influenza A, B, et C (virus de la grippe)
 - **Genres non classés**
 - Genre *Deltavirus* - exemple *virus de l'hépatite delta*.
 - Genre *Tenuivirus* - exemple *Rice stripe virus*.
 - Genre *Varicosaivirus* - exemple *Lettuce big-vein associated virus*.
 - ...

3.3.1.2.3 Virus à ADN ou à ARN à transcription inverse

➤ Groupe VI – rétrovirus à ARN simple brin

L'information génétique est codée sous forme d'ARN. Une enzyme associée au virus, la transcriptase inverse, crée de l'ADN à partir de l'ARN pour assurer la réplication dans une cellule hôte.

- Famille *Retroviridae* - exemples VIH-1, HTLV (lymphome)
- ...

➤ Groupe VII – Pararétrovirus à ADN double brin

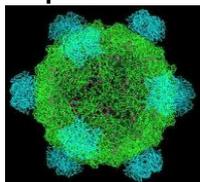
L'information génétique est codée sous forme d'ADN. La réplication se base sur l'ARNm.

- Famille *Hepadnaviridae* - exemple *virus de l'hépatite B*
- ...



3.3.1.3 Autres classification par la morphologie et la forme des capsides

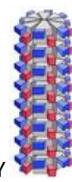
Capsides



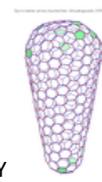
Structure de la capsid du phage phi X174 qui possède une symétrie icosaédrique



Capside icosaédrique d'un adénovirus



Capside à structure hélicoïdale. Les capsomères (en gris) sont des protéines dont la partie N-terminale est en bleu et la C-terminale en rouge.

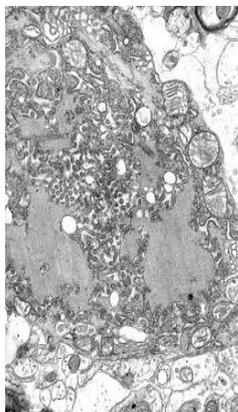


Capside de HIV-1

3.3.2 Virus de la Rage

La rage est une zoonose assez commune qui touche surtout les mammifères, l'Homme étant un hôte accidentel.

3.3.2.1 Description



Virus du groupe : V ; Ordre : Mononegavirales ; Famille Rhabdoviridae ; Genre : Lyssavirus

La famille des Rhabdoviridae comprend :

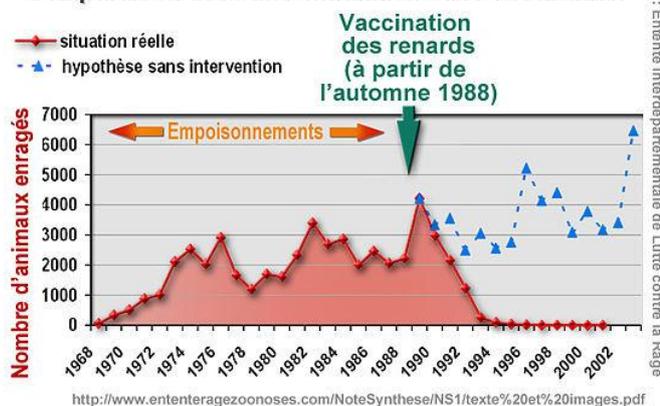
- **Les vesiculovirus**
 - Les virus de la stomatite vésiculaire.
- **Les lyssavirus**
 - Le virus de la rage.
 - Le virus de la chauve-souris de Lagos.
 - Le virus de la chauve-souris australienne.
 - Le virus de la chauve-souris européenne.
- **Les ephemerovirus**
 - Le virus de la fièvre éphémère bovine.
- **Les novirhabdovirus**
 - Le virus de la tête de serpent.
 - La septicémie hémorragique virale.
 - Le virus de la nécrose hématopoïétique.

Le genre *Lyssavirus* fut identifié en 1903 par Paul Remlinger¹²⁶. Ce sont des virus enveloppés, leur génome est une molécule d'ARN, de polarité négative de forme hélicoïdale. À ce titre, ils présentent une grande sensibilité aux agents physico-chimiques de désinfection et donc une faible résistance dans le milieu extérieur (il ne supporte pas les températures de 38 à 40 °C, il devient inactif en peu de temps cependant une fois dans un organisme il est protégé).

3.3.2.2 Épidémiologie

France : graphe ci-contre (d'après les chiffres de l'AFSSA) montrant l'inefficacité des campagnes d'empoisonnement et de piégeage du renard faites en France dans le cadre de la lutte contre la rage (réapparue dans le pays en 1968), et la très grande et rapide efficacité des campagnes de vaccination des renards débutées en 1988 (largage d'appâts vaccinant à partir d'hélicoptères). Dans le domaine vétérinaire, écosystémique, écoépidémiologique et

Evolution de la rage en France de 1968 à 2001 Comparaison avec une simulation sans vaccination



cynégétique, cette zoonose est suivie par l'ONCFS avec le réseau SAGIR et l'appui de laboratoires spécialisés, dont le LERPAS (Laboratoire d'études sur la rage et la pathologie des animaux sauvages).

Dans le domaine médical :

- **Rage chez l'Homme** : en France métropolitaine, les derniers cas de rage sur des êtres humains, remontent à 1924 (un cas mortel en Guyane française en 2008), cependant des voyageurs peuvent être contaminés à l'étranger, dans les pays à risques, et revenir malades¹²⁷. La maladie est considérée comme éradiquée depuis le début de l'année 2001, bien qu'elle puisse encore subsister dans un réservoir animal représenté en particulier par quelques renards du nord et de l'est de la France, et par les chauves-souris¹²⁸. Il y a en revanche un risque permanent provenant des animaux importés illégalement, en particulier les chiens des pays de l'Europe de l'Est et du Maroc (malgré la sanction de cinq ans de prison et 75 000 € d'amende).
- **Rage chez le chien** : des cas récents en provenance du Maroc ont été constatés en 2004 et 2008¹²⁹.
- **Rage chez le chat** : fin octobre 2013, un cas de rage est officiellement déclaré et reconnu dans le Val-d'Oise. Un chaton tricolore a été importé de l'étranger et est décédé le 28 octobre 2013. L'apparition de ce cas de rage est prise très au sérieux par l'OMS car ce chaton aurait facilement pu contaminer d'autres animaux ou même des humains entre le 8 et le 28 octobre 2013.
- **Rage chez les chauves-souris** : bien qu'il soit fort peu probable que des chauves-souris transmettent le virus à l'Homme, quelques cas positifs de rage de ces animaux sont sous surveillance étroite. Cette rage est différente de la rage vulpine, c'est un virus cousin avec de notables différences tant dans son expression (il peut rester à l'état latent pendant très longtemps) que dans ses espèces cibles. La seule recommandation est de ne toucher les chauves-souris qu'en cas de nécessité absolue et de le faire avec des gants¹³⁰. La maladie chez les chauves-souris vampires n'est pas connue avec précision. En Guyane, des anticorps antirabiques ont été détectés sur des animaux ne présentant pas de symptômes.

Allemagne : depuis 1998, l'Allemagne a détecté 642 animaux atteints par la rage, dont quarante-quatre animaux domestiques, 422 renards et 115 chauves-souris. Cependant, depuis 2001, seuls huit cas d'animaux domestiques ont été confirmés. Cinq humains sont morts de la rage. Le 28 septembre 2008, l'Allemagne a déclaré à l'Organisation mondiale de la santé animale avoir vaincu la rage sur son territoire¹³¹.

Suisse : l'apparition de la maladie par voie terrestre de cas provenant d'animaux sauvages est improbable. Cependant, le cas de chauves-souris ou d'animaux importés porteurs n'est pas exclu. D'ailleurs, depuis cette date, deux cas ont été constatés : un cas de chauve-souris infectée a été rapporté en 2002 dans le canton de Genève et le cas d'un chien importé d'Afrique du Nord en 2003, dans le canton de Vaud.

Grèce : le 1^{er} mars 2013, les autorités grecques ont rapporté la survenue d'un cas de rage chez un chat domestique dans une ferme de la région de Thessalie. Selon l'OMS, les pays voisins de la Grèce sont considérés comme à haut risque de rage. La Grèce est indemne de rage depuis 1987. Les événements survenus depuis octobre 2012 et l'extension du foyer devraient rapidement entraîner la perte du statut indemne.

Déclaration obligatoire

En Belgique, en France et en Suisse, cette maladie est sur la liste des maladies infectieuses à déclaration obligatoire^{tt}.

^{tt} Dans certains pays, dont la France, certaines maladies animales sont à déclaration obligatoire. En 1997, la Commission de génie génétique (CGG) a publié un tableau de ces zoonoses pour la France, avec le nom de l'affection, les principales espèces touchées, l'existence ou non d'un vaccin, un indice de gravité par maladie. Pour la faune sauvage, ces questions sont en France également suivies par le réseau SAGIR.



Mode de transmission : la transmission peut aussi se faire par voie aérosol, via les muqueuses ; c'est, par exemple ce qui se passe dans les cavernes habitées par des chauves-souris enragées. Deux cas de spéléologues ayant contracté la rage après avoir été en contact avec des aérosols provenant de chauves-souris enragées ont été rapportés... De façon plus rare, la transmission peut aussi intervenir dans une chirurgie par transmission cornéenne.

3.3.2.3 Pathologie

Incubation

Durant la période d'incubation de la maladie, le sujet ne transmet pas le virus, qui est indétectable selon les techniques de diagnostic actuelles. Vu sa fragilité dans le milieu extérieur, l'entrée du virus dans l'organisme ne se fait que par le biais d'une effraction de la peau ou par les muqueuses buccale ou oculaire.

Dans la moitié des cas, cette phase dure moins de deux mois, dans 80 % des cas, elle dure moins de trois mois. Un cas observé a atteint 163 jours. La période d'incubation est le plus souvent de trois à douze semaines mais peut atteindre deux ans, durée d'incubation observée pour la dernière fois dans les années trente.

Excrétion du virus : la phase d'excrétion débute avant l'apparition des premiers signes cliniques. Elle débute dans 80 % des cas seulement trois jours avant la déclaration de la maladie, dans 15 % des cas six jours avant, et enfin dans seulement 5 % des cas dans les huit jours. Il faut enfin noter que la phase d'excrétion ne précède pas toujours la déclaration de la maladie¹³².

Symptomatologie : l'incubation est variable, comprise entre 12 jours et plusieurs années¹³³.

Les premiers signes sont non spécifiques, à type de douleurs au niveau du point d'inoculation. Il peut exister un prurit, une réaction locale¹³⁴. La maladie se poursuit par l'apparition de signes neurologiques : troubles des fonctions cérébrales supérieures, anxiété, confusion, agitation avec troubles du comportement avec insomnies, hallucinations et d'éventuels délires avec état d'agitation, pouvant être compliquées par des convulsions, une fièvre. Une hydrophobie serait présente plus fréquemment lorsque la transmission a été faite par un chien¹³⁵.

La production de grande quantité de salive et de larmes avec difficulté de déglutition sont typiques des phases avancées. Parfois, se développe également en fin d'évolution une hydrophobie : la vue de liquide provoque une peur irraisonnée, alors que le contact entraîne des sensations de brûlures insoutenables. Seuls les cas de rage « furieuse » (90 % des cas) montreront les symptômes d'hydrophobie. Les cas restants de rage amorphe ne présenteront pas ce symptôme¹³⁶.

La mort, quasiment inévitable, survient de deux à dix jours après les premiers symptômes même si l'incubation peut prendre plusieurs mois.

Dans un tiers des cas¹³⁷, la maladie prend la forme d'une paralysie ascendante ressemblant au syndrome de Guillain-Barré^{uu}.

Physiopathologie de l'infection rabique : beaucoup de questions se posent sur le plan de la physiopathologie de l'infection rabique. La plupart des pathologistes qui ont eu à examiner des préparations histologiques ont été surpris par la relative absence ou inconstance des lésions visibles, contrairement à ce qui est observé avec la plupart des virus neurotropes. Par exemple, les lésions de démyélinisation sont peu fréquentes dans le cas de la rage.

On sait que dans la rage la réponse immune a un effet globalement protecteur. Par contre, dans certaines conditions elle peut également avoir des effets immuno-pathogéniques. Il semble par exemple, que dans certaines conditions des animaux sensibilisés meurent plus rapidement de la rage ou que les signes de paralysie sont directement liés à l'intervention de certains paramètres

uu/ Syndrome de Guillain-Barré (SGB) ou syndrome de Guillain-Barré-Strohl : maladie auto-immune inflammatoire du système nerveux périphérique. Il s'agit aussi de l'une des maladies neuromusculaires les plus fréquentes. Elle comporte plusieurs formes cliniques distinguées par les tests électrophysiologiques. La forme habituelle est myélinique (c'est-à-dire par atteinte initiale de la myéline) et guérit le plus souvent en quelques semaines sans séquelles. La forme axonale (c'est-à-dire par lésion de l'axone) est plus rare mais aussi plus sévère et peut laisser des séquelles à long terme.



immunologiques. Ces éléments, cependant ne permettent pas d'imputer à la réponse immunitaire un rôle pathogène dans l'expression de la maladie. Il en est de-même pour le rôle de l'interféron dont l'effet protecteur n'est pas confirmé. L'effet de la réaction inflammatoire observées au cours de l'infection est généralement peu prononcée et parfois absente et elle ne peut être considérée comme responsable de la mort rabique. L'accumulation de matériel viral dans le cytoplasme, ou l'expression de protéines virales sur les membranes des cellules infectées, ne semble pas avoir un effet direct sur le comportement létal de l'infection.

3.3.2.4 Diagnostic

Le diagnostic est fait soit par la recherche d'ADN viral dans une biopsie cutané au niveau de la nuque¹³⁸, soit par la recherche d'anticorps antirabiques, dont la présence est inconstante et retardée.

Condition de prélèvement pour le diagnostic

Le choix des prélèvements

Étant donné que la période d'incubation de la maladie peut avoir une durée très variable sur plusieurs mois et même des années, les prélèvements seront différents en fonction de la période d'incubation.

Le choix des prélèvements conditionne la sensibilité du diagnostic ainsi que les techniques de diagnostic qui seront mises en œuvre, en phase tardive d'expédition

Prélèvements	Durée d'évolution clinique		Température d'expéditions
	0-8 jours	>8 jours	
Salive	+++	+++	-20°C
Urine	+++	??	-20°C
Biopsie de peau (au niveau de la nuque)	+++	++	-20°C
Sérum	+	++	-20°C
Liquide céphalorachidien	(+)	(+)	-20°C

La valeur (+) sont le critère d'intérêt.

Sérologie : le titrage des anticorps rabiques permet d'apprécier le degré de l'immunité chez les sujets en cours de traitement antirabique ou vaccinés préventivement. Les experts de l'OMS considèrent qu'un individu vacciné doit présenter un taux d'anticorps supérieur à 0,5 unités internationales (UI)/ml. La détection des anticorps rabiques n'a en revanche qu'un intérêt limité dans le diagnostic de la rage. En effet les anticorps n'apparaissent qu'en phase ultime de l'évolution de la maladie. Le titrage des anticorps par séro-neutralisation s'effectue sur culture cellulaire (épreuve rapide de réduction des foyers fluorescents). Un délai de 24 heures est nécessaire pour l'obtention du résultat. Une technique de titrage des anticorps par ELISA, moins lourde et plus rapide, est très largement utilisée en routine.

Le diagnostic biologique portant sur la détection des acides nucléiques viraux : la technique de transcription inverse suivie de l'amplification en chaîne par polymérase (RT-PCR) a aussi été appliquée au diagnostic de la rage. L'amplification du gène N par PCR présente une corrélation parfaite avec les techniques usuelles de diagnostic. Les amorces oligonucléotidiques nécessaires à cette amplification sont définies dans des zones de la séquence présentant une forte conservation afin d'obtenir un spectre d'amplification le plus étendu possible au sein des *Lyssavirus*. Cette technique, de par sa grande sensibilité, est particulièrement adaptée au diagnostic *intra-vitam* chez l'Homme à partir d'échantillons de salive, d'urine, de liquide céphalo-rachidien et de biopsie de peau (au niveau de la nuque).



Techniques de routine de diagnostic biologique : le diagnostic vise à détecter les composants viraux ou les anticorps produits en réponse à ces composants viraux. Les cibles du diagnostic de la rage sont le virus infectieux, la nucléocapside virale qui s'accumule dans le cytoplasme des cellules infectées, les acides nucléiques viraux composés d'acide ribonucléique (ARN génomique, ARN antigénomique et ARN messenger). Les techniques de laboratoire utilisées doivent permettre de donner un résultat dans un délai bref, compatible avec l'urgence du traitement antirabique, ainsi qu'avec l'application efficace des mesures de prophylaxies sanitaires et médicales chez les animaux exposés.

Trois types de techniques sont employés pour le diagnostic de routine :

- l'immunofluorescence directe sur empreinte de cerveau qui est la technique de référence ;
- l'isolement du virus rabique sur cellules en culture (neuro-blastomes murins) ;
- diagnostic (*RREID* pour *Rapid Rabies Enzyme Immuno Diagnosis*) qui est un ELISA sandwich basé sur l'immunocapture de la nucléocapside du virus rabique.

L'évolution de l'épidémiologie de la rage pose des problèmes de diagnostic, de typage et de traitement des patients et à terme de contrôle de l'extension de la rage. Les progrès des protocoles de prise en charge, des produits biologiques de traitement (vaccins et immunoglobulines) ainsi que des techniques de laboratoire permettent de répondre à la plupart de ces problèmes. Néanmoins, le coût de ces mesures reste malheureusement hors d'atteinte d'une partie importante de l'humanité.

3.3.2.5 Prévention

Un vaccin préventif contre la rage existe et reste recommandé en France pour les voyageurs, professionnels et chiroptérologues risquant d'être exposés au virus¹³⁹. Il est injecté aux personnes dont l'activité est un facteur de risque d'infection. Les vétérinaires ou les personnes se rendant dans certains pays comme l'Inde en sont des exemples. Ce vaccin préventif ne dispense pas d'une vaccination curative.

La maladie peut être prévenue à condition de s'y prendre avant que n'apparaissent les premiers signes, c'est-à-dire pendant la période d'incubation, en appliquant une vaccination curative. Des rappels doivent être faits régulièrement pour que la vaccination reste efficace. Il est utile de retirer autant que possible le matériel infecté après la morsure s'il y a lieu.

Une équipe a proposé d'utiliser des virus mutants thermosensibles ou « *avirulents* » de la souche CVS, avec des conclusions suggérant que « *les mutants avirulents semblent plus prometteurs que ceux obtenus avec les mutants thermosensibles* »¹⁴⁰.

On a longtemps préparé les vaccins contre la rage à partir de tissus nerveux, mais, en 1991, le traité de G. M. Baer¹⁴¹ réservait la place de choix, d'une part aux vaccins obtenus par cultures sur embryons de canards (PDEV : *Purified duck embryo vaccine*) et, d'autre part à trois types de vaccins préparés sur culture de cellules :

- les vaccins sur cellules diploïdes humaines (HDCV : *Human diploid cell culture rabies vaccine*) (RabivacMR) ;
- les vaccins purifiés sur cellules VERO (PVRV : *Purified Vero cell rabies vaccine*) : VerorabMR, ImovaxMR, Rabies veroMR, TRC VerorabMR ;
- les vaccins purifiés sur cellules embryonnaires de poulet (PCECV : *Purified chick embryo cell vaccine*).

Ces vaccins sont très supérieurs aux vaccins préparés sur tissus nerveux, aussi bien du point de vue de l'efficacité que de l'innocuité.

L'OMS recommande l'abandon complet des vaccins antirabiques sur tissus nerveux¹⁴².

3.3.3 Virus Ebola

3.3.3.1 Réservoirs

Le réservoir naturel du virus Ebola pourrait être des chauves-souris, notamment l'espèce de la roussette d'Égypte¹⁴³. Des anticorps d'*Ebolavirus zaïre* ont été détectés dans le sérum de trois



espèces de chauves-souris frugivores tropicales : *Hypsignathus monstrosus*¹⁴⁴, *Epomops franqueti*¹⁴⁵ et *Myoncteris torquata*¹⁴⁶. Le virus n'a cependant jamais été détecté chez ces animaux¹⁴⁷. Si les chauves-souris frugivores de la famille des *Pteropodidae* constituent vraisemblablement le réservoir naturel du virus Ebola^{148,149}, on a trouvé des éléments génétiques de filovirus dans le génome de certains petits rongeurs, de chauves-souris insectivores, de musaraignes, de tenrecidés^{vv} voire de marsupiaux¹⁵⁰, ce qui tendrait à prouver une interaction de plusieurs dizaines de millions d'années entre ces animaux et les filovirus.

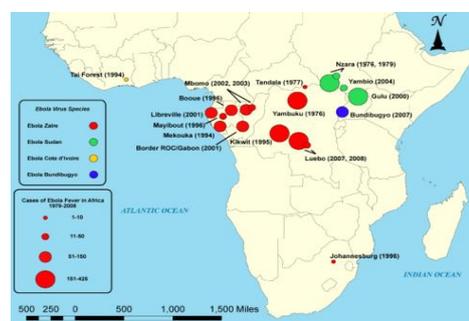
Les chauves-souris seraient ainsi des porteurs sains et contribueraient significativement au réservoir naturel du virus Ebola. On pensait jusqu'à présent qu'elles contaminaient d'abord un autre animal avant que le virus n'atteigne les populations humaines, mais elles pourraient également contaminer les humains directement : selon l'IRD^{ww}, dans certaines circonstances, des chauves-souris pourraient en effet transmettre directement le virus Ebola à l'Homme¹⁵¹.

Les porcs domestiques sont sensibles aux virus Ebola par infection des muqueuses¹⁵². Ils développent alors une maladie respiratoire grave pouvant être confondue avec d'autres maladies respiratoires porcines, associée à une diffusion élevée de la charge virale dans l'environnement, exposant ainsi les porcs sains à l'infection¹⁵³.

3.3.3.2 Épidémiologie

Foyers de fièvre hémorragique Ebola de 1979 à 2008 illustrant la distribution géographique des différentes espèces virales¹⁵⁴ :

- virus Ebola en rouge ;
- virus Soudan en vert ;
- virus Forêt de Taï en orange ;
- virus Bundibugyo en bleu.



<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:EbolaSu mit2.png?uselang=fr>

3.3.3.3 Virologie de l'Ebola

Virus du groupe V ; Famille *Filoviridae* ; Genre *Ebolavirus*

Il existe plusieurs types d'*Ebolavirus*¹⁵⁵ :

- Espèce : *Ebolavirus zaire*
- Espèce : *Ebolavirus soudan*
- Espèce : *Ebolavirus reston*
- Espèce : *Ebolavirus forêt de Taï*
- Espèce : *Ebolavirus bundibugyo*

Les virus Ebola sont des virus à l'apparence filamenteuse. Chez l'Homme et les autres primates, il provoque la maladie à virus Ebola, qui a causé plusieurs épidémies¹⁵⁶. Cette maladie, pour laquelle il n'existe pas de traitement homologué, a un taux de létalité allant de 25 % à 90 % chez l'humain ; elle affichait ainsi un taux de 39,8 % au 4 janvier 2015 (8 235 morts sur 20 747 cas recensés)¹⁵⁷. La transmission entre humains se fait principalement par contact direct avec des fluides corporels.

vv/ tenrecidés ou *Tenrecidae*) famille, la seule du sous-ordre des *Tenrecomorpha*. Elle est constituée de petits mammifères insectivores, la plupart endémiques de Madagascar. Les *Tenrecinae*, variante malgache des hérissons, et celui des *Oryzorictinae*, variante des musaraignes et des taupes, sont les deux groupes majeurs. La place de la famille des Tenrecidés est actuellement débattue, mais elle reste le plus souvent classée dans les *Afrosoricida*. Elle se divise en quatre sous-familles.

ww/ IRD : L'Institut de recherche pour le développement est un établissement public français sous la tutelle des ministères chargés de la Recherche et de la Coopération, remplaçant l'Office de la recherche scientifique et technique outre-mer (ORSTOM). Cet organisme participe à des recherches scientifiques et techniques par le biais d'accords signés entre la France et certains développements. Ces programmes de recherche destinés à apporter une aide au développement des pays du Sud s'orientent autour des sciences humaines et sociales (géographie, sociologie...), des sciences de la santé (maladies infectieuses, grandes endémies, nutrition, environnement) et des sciences de la nature (hydrologie, pédologie, géophysique, ichtyologie...).



3.3.3.4 Symptomatologie

La période d'incubation varie de 2 à 21 jours, le plus souvent de 4 à 9 jours.

La maladie à virus Ebola se caractérise par une soudaine montée de fièvre accompagnée d'une fatigue physique, de douleurs musculaires, de céphalées ainsi que de maux de gorge. Débute ensuite une diarrhée souvent sanglante (appelée « diarrhée rouge » en Afrique francophone¹⁵⁸), puis les vomissements, les éruptions cutanées et l'insuffisance rénale et hépatique. Des hémorragies internes et externes surviennent ensuite, suivies du décès par choc cardio-respiratoire dans 50 à 90 % des cas. Les signes hémorragiques peuvent être très frustes à type d'hémorragies conjonctivales. Elles peuvent aussi être profuses à type d'hématémèse et de melaena. La contagiosité des malades est donc très variable si bien que 5 à 10 particules virales d'Ebola suffisent à déclencher une multiplication du virus dans un nouvel hôte.

Le décès survient dans un tableau de choc avec défaillance multi-viscérale, au bout de 6 à 16 jours¹⁵⁹. Les cas non mortels peuvent entraîner des séquelles neurologiques, hépatiques ou oculaires. L'espèce *Ebolavirus zaïre* semble plus dangereuse que l'espèce *Ebolavirus soudan*, avec une mortalité atteignant 60 à 90 % des cas¹⁶⁰.

3.3.3.5 Modes de transmission

Interhumaine

Le contact direct avec les liquides organiques (sang, vomi, diarrhée, sueur, salive...) d'une personne infectée est la principale voie de contamination interhumaine.

Selon les conclusions de l'OMS à la date d'octobre 2014, les liquides les plus contaminants sont actuellement le sang, les selles et les vomissements. Le virus a été détecté dans le lait maternel et l'urine. La salive et les larmes peuvent également représenter un risque, bien que les données scientifiques ne soient actuellement pas concluantes selon l'OMS. À l'inverse, le virus entier vivant n'a jamais été isolé dans la sueur et la propagation du virus par la toux et les éternuements est « rare voire inexistante » selon les observations actuelles de l'OMS, entre autres les données épidémiologiques de la flambée actuelle ne correspondent pas aux caractéristiques des virus transmis par voie aérienne, comme ceux de la rougeole et de la varicelle ou du bacille de la tuberculose¹⁶¹.

« Il est donc recommandé d'éviter les contacts avec le guano et les chauves-souris quelque soit le lieu ! Car ils sont toujours porteurs d'une flore microbienne, virale et fongique et d'une faune qui peut être parasitaire. »

3.3.4 Explication de l'effet porteur sain des chauves-souris

Lin-Fa Wang¹⁶², qui dirige l'équipe chargée d'étudier les chauves-souris au laboratoire australien de la santé animale, à Geelong, est convaincu que la taille de la population de chiroptères n'explique pas en totalité les résistances aux maladies et aux virus des chauves-souris qui les rendent porteurs sains. D'après lui la réponse se trouve dans leurs systèmes immunitaires, car la plupart des virus ont été isolés dans des individus sains, ce qui laisse à penser que les animaux ont des capacités remarquables à héberger des virus pendant de longues périodes sans symptôme apparent. Son laboratoire de recherche a apporté la preuve de cette hypothèse sur des chauves-souris insectivores et frugivores. Dans ces deux espèces, manquaient des fragments de génome qui contiennent les gènes responsables de la détection de l'ADN microbien et du déclenchement de la réponse inflammatoire.

En outre les gènes de réparation de l'ADN semblent avoir évolué plus vite chez les chauves-souris que chez les autres mammifères. D'après l'auteur il signale, que pour voler, les chauves-souris dépensent une grande quantité d'énergie ce qui endommage leur ADN ; les chauves-souris qui auraient acquis lors de leur évolution un mécanisme particulier de réparation de l'ADN, seraient plus résistantes aux attaques microbiennes et virales.



3.4. RONGEURS (Famille des Muridés, Soricides)

3.4.1 Généralités

Dans la partie proche de la zone épigée, entre l'épikarst et l'endokarst, se situe l'aire de nidation des *Muridés* et *Soricidés*, ceci essentiellement pour des raisons climatiques ou de protection contre d'autres prédateurs...

Il faut toutefois noter que le livre de René Ginet et Vasile Decou¹⁶³, ne contient pas de chapitre spécifique sur les *Soricidae* et les *Muridae*. La raison de cette impasse peut venir du fait que ces familles sont troglodéennes et n'ont une activité souterraine qu'opportuniste.

Les dégâts constatés sur les équipements de progression souterraine laissés en place (cordes, sangles), et sur les installations électriques mises en place dans certaines cavités nous amène à prendre en compte les risques biologiques liés à ces rongeurs

Cependant pour des animaux omnivores, compte tenu de l'absence de nourriture en quantité suffisante, ils ne seront que des troglodéennes opportunistes.

3.4.2 Musaraignes

Dans cette zone épigée on peut trouver des Musaraignes du genre *Crocidura*.

Ordre Soricomorpha ; Famille Soricidae ; Sous-famille Crocidurinae ; Genre Crocidura



Espèce *Crocidura suaveolens*

Espèce principalement nocturne, active toute l'année, vivant dans des endroits broussailleux et secs. Les jeunes musaraignes peuvent se déplacer ensemble en file. Son régime alimentaire est à base d'insectes, d'araignées, de gastéropodes, de vers ou de petits vertébrés. Elle consomme aussi quelques fruits. Cette espèce est petite. Son poids varie de 6 à 9 grammes.



Espèce *Crocidura russula*

La **Musaraigne musette** ou **Crocidure commune** (*Crocidura russula*) est un insectivore. C'est un animal allongé à la tête fine au museau pointu. Les dents sont blanches. Le pelage est roussâtre sur le dos, plus pâle sous le ventre. La queue présente de longs poils blanchâtres. Le poids varie de 6 à 14 grammes. C'est une espèce principalement nocturne, active toute l'année.

Écologie : on la trouve en Europe occidentale, Asie. En France dans le pourtour méditerranéen, la vallée du Rhône, la façade atlantique jusqu'à la pointe de la Bretagne, îles comprises, et aux îles Anglo-normandes.

Pathologie : c'est un animal sans agressivité, seul sa parasitologie peut être éventuellement un réservoir d'infection.

3.4.3 Souris

Ce type de rongeur défini par le nom commun de souris, appartient à l'ordre des *Rodentia* et est réparti sur plusieurs familles :

- *Dipodidae* (souris sauteuses)
- *Heteromyidae*
- *Muridae*
 - genre *Apodemus* (mulots)
 - genre *Mus*
 - genre *Pseudomys* (fausses souris)
 - etc.



Une souris est un nom du vocabulaire courant qui désigne plusieurs sortes de mammifères rongeurs ayant généralement une petite taille, un museau pointu, des oreilles rondes, un pelage gris-brun et une queue relativement longue. Ce nom ne correspond pas à un niveau précis de la classification scientifique des espèces. Autrement dit, il s'agit d'un nom vernaculaire dont le sens est ambigu en biologie car il désigne une partie seulement des différentes espèces classées dans l'ordre des *Rodentia*, et notamment dans la famille des Muridés qui regroupe à la fois des souris, mais aussi des rats, campagnols, mulot, etc. En revanche, mis à part une vague similitude d'apparence, les chauves-souris forment un groupe d'animaux bien différents : l'ordre des Chiroptères. La souris chicote, elle émet un cri ressemblant à un petit crissement.



Espèce Mus musculus (souris grise)

Animal nocturne, généralement assez craintif. La maturité sexuelle est atteinte vers l'âge de cinq à six semaines : 45 jours pour les mâles, 40 à 45 jours pour les femelles. L'espèce est nidicole. Une femelle peut mettre au monde de 5 à 15 portées par an. La durée de gestation est de 18 à 21 jours et il y a généralement entre 5 et 12 petits par portée, 18 au maximum. Elle peut entamer une nouvelle gestation toutes les six semaines.

Parasites : elle peut être infectée par de nombreux endoparasites et par quelques ectoparasites dont certaines espèces de tiques et de puces. *Mus musculus* pourrait même peut-être constituer l'hôte originel de la puce (*Leptopsylla segnis*)¹⁶⁴. Les parasites jouent un rôle dans la régulation de ses populations, la souris pouvant aussi être une espèce-réservoir pour certains pathogènes.

Aspects sanitaires : la plupart des rongeurs sont susceptibles d'être réservoirs et/ou vecteurs de nombreux pathogènes et parasites (externes ou internes), dont certains peuvent être transmis à l'Homme (ex. : maladie de Lyme transmise par des tiques, mais dont le réservoir principal semble être, en Amérique du Nord, la souris à pattes blanches).

Certaines espèces de souris sont commensales de l'Homme ou pénètrent occasionnellement dans les habitations, entrepôts, poulaillers, etc. Elles peuvent transmettre diverses maladies par leurs urines et leurs excréments, par morsure, par des fomites (contamination par contact) ou encore *via* les tiques, puces ou poux qu'elles véhiculent. Dans la nature, ce sont les prédateurs carnivores qui sont leurs régulateurs, ou occasionnellement des épidémies, des incendies de forêts, des inondations, etc.

3.4.4 Rats

Embranchement Chordata ; Ordre Rodentia ; Famille Muridae ; Genre Rattus

Espèce Rattus norvegicus « Rat brun ou Surmulot »



Espèce Rattus norvegicus

Le rat adulte a une taille comprise entre 20 à 28 cm sans compter la queue. Chez le rat brun la queue du rat est donc plus courte que son corps avec sa tête, contrairement au rat noir qui est plus petit et a une queue plus longue que son corps. Les rats sauvages ont une espérance de vie de 18 mois seulement. Le rat brun est omnivore opportuniste. Il se nourrit de tout ce qu'il parvient à dérober à d'autres animaux. Un rat mange et boit par jour l'équivalent de 10 % de son poids.

Environnement et prolifération : chez le rat brun, la maturité sexuelle survient entre 50 et 60 jours après la naissance. La maturité sexuelle à l'âge de 5 à 6 semaines seulement, et ce chez les deux sexes. La reproduction du rat cesse entre 12 et 18 mois. Le rat brun est un animal extrêmement prolifique. Une seule femelle peut donner naissance à une soixantaine de petits par an. La femelle



peut être à nouveau fécondée quelques heures après la mise-bas. La rate accouche en moyenne de 6 à 12 petits par portée et peut avoir 4 à 7 portées par an. La durée de gestation chez le rat est de 20 à 24 jours.

Réservoir de germes pathogènes : le rat est un porteur sain de nombreuses maladies ;

- Leptospirose
- Salmonellose
- Rage
- Trichinose
- Pathologie parasitaire avec pour vecteur le *Xenopsylla cheopis* (puce de rat).
 - Typhus murin (Rickettsiose).
- Peste qui est transmise par le bacille *Yersinia pestis*.
- Pathologies transmises par morsure et égratignures de rat.
 - Sodoku (fièvres de la morsure de rat par le *Spirillum minus*).
 - Fièvre par morsure de rat due à *Streptobacillus moniliformis*, appelée fièvre d'Haverhill ou fièvre streptobacillaire.

3.4.5 Rat-taupes

Genres et espèces :

- *Bathyergus janetta* (Thomas & Schwann, 1904)
- *Bathyergus suillus* (Schreber, 1782)
- *Heterocephalus glaber* (trouvé pour la première fois par George Robert Waterhouse, 1810-1888)

Ordre *Rodentia* ; Sous-ordre *Hystricomorpha* ; Famille *Bathyergidae*



Heterocephalus glaber

<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nacktmull.jpg?uselang=fr>



Bathyergus janetta

<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bathyergus_janetta_Smit.jpg?uselang=fr>

Bathyergus est un genre qui appartient à l'ordre des rongeurs. Ce genre rassemble une partie des rats-taupes. Il a été décrit pour la première fois en 1811 par le zoologiste allemand Johann Karl Wilhelm Illiger (1775-1813).

Pathogénicité : pas observations particulières actuelles.

3.5 OISEAUX CAVERNICOLES

Quelques espèces d'oiseaux sont qualifiées de troglophiles, parmi ceux-ci on trouve :

3.5.1 *Steatornis carpenis*

Bien qu'il soit cantonné très loin de nos cavernes, il vit en Amérique Équatoriale où il est connu localement sous le nom de *guacharo*, de *murraca*, de *diablotin*, de *brid*. Ce genre d'oiseau appartient à la famille des *Stéatornithidés* et à l'ordre *Caprimugiformes*. Ce sont des oiseaux dont les deux sexes sont extérieurement impossibles à distinguer. Leur plumage roux sur le dessus porte d'étroites bandes noires à plumage marron, les parties inférieures sont plus pâles, brun



avec des taches blanches couvrant la tête. Particulièrement frappant est la grosse touffe de poils à la racine du bec. Ils sont frugivores.

3.5.2 *Collocalis*

Il s'agit des *Salanges*, Classe *Aves*, Ordre *Apodiformes*, Famille *Apodidae*. Oiseaux, qui ressemblent aux hirondelles, ils sont très communs dans le sud-est de l'Asie et l'Australie. Ces oiseaux pénètrent par centaines de milliers dans les grottes et dans certaines cavités naturelles du Kalimantan (Bornéo). Ils vont parfois à de très grandes distances des entrées naturelles, seulement pendant leurs périodes de reproduction.

3.5.3 *Petrochelidon Fluva*

Oiseau de la famille des *Hirundinidès* (dont le type est l'hirondelle). Cette espèce existe à l'état épigé, en Amérique, au sud de l'Afrique, en Inde et en Australie. Ils nichent dans des grottes et se reproduisent dans les milieux souterrains.

3.5.4 *Picathartes gymnocephalus*

Le *Picatharte de Guinée* est une espèce d'oiseau appartenant à la famille des *Picathartidae*, de taille moyenne, avec un long cou et une longue queue. Le *Picatharte de Guinée* a les parties supérieures gris-noir et les parties inférieures blanches. Il mesure de 38 à 41 cm de longueur, la queue comptant pour près de 18 cm. Les adultes pèsent de 200 à 250 grammes. Il utilise sa longue queue brun foncé pour s'équilibrer, et ses cuisses sont musclées. La tête est presque dénuée de plumes, et la peau mise à nu y est jaune vif, à l'exception de deux grandes taches noires circulaires situées juste à l'arrière des yeux. Il est présent en Afrique occidentale et plus spécialement au Gabon. Ce sont des oiseaux insectivores, diurnes qui quittent la grotte le matin et le soir.



Dans les oiseaux cavernicoles nous pouvons trouver dans les grottes africaines des espèces voisines des étourneaux, les *Xenocopsychus*, *Ansorgei* (*Syutnidé*) et en Australie des *Origma rubricata* (*Muscipidé*). Cette sorte de roitelet fabrique des nids globuleux suspendus au plafond dans certaines grottes. Dans nos régions nous pouvons noter quelques corneilles, autres choucas ou même mouettes et cormorans qui peuvent être troglodytes nichés dans des zones proches des cavités, mais qui n'ont rien à voir avec la faune hypogée troglodyte ou troglodyte.

3.5.5 Fientes des oiseaux

Par leurs guanos et leurs parasites, les oiseaux sont aussi des réservoirs parasitaires, viraux et bactériens, qui peuvent transmettre des maladies d'autant plus qu'ils sont en partie des migrateurs apportant la possibilité d'une enzootie due à leur réservoir digestif (exemple, des maladies virales comme *Influenza* [ils sont porteurs sains] ou bactériennes comme les *Campylobacters*, *Salmonella*, *Enterobacter*... ou des pathologies comme l'ornithose^{xx}). Chez les oiseaux migrateurs leurs déjections

xx/ ornithose : chlamydie aviaire, qui est appelée aussi psittacose, provoquée par la bactérie *Chlamydophila psittaci*. Il s'agit de zoonoses potentiellement graves, répandues dans le monde entier. La contagion de l'Homme par les oiseaux donne une maladie transmissible par inhalation de poussières contaminées, par les déjections d'oiseaux infectés, ou suite à une morsure du fait de l'excrétion de l'agent pathogène par les oiseaux infectés. Ces derniers peuvent éventuellement être des porteurs asymptomatiques. Ces maladies sont courantes et difficiles à éviter dans les élevages avicoles et très rarement contractées en côtoyant des oiseaux isolés. Aucun cas de transmission *via* l'alimentation, ni interhumaine n'a été détecté. Cette zoonose revêt un caractère sporadique. Les professions avicoles (éleveurs, transporteurs ou vendeurs d'oiseaux, travailleurs des abattoirs de volailles, magasins d'oiseaux, vétérinaires...) y sont les plus exposées, par contact avec des fientes, même déshydratées, poussières, aérosols contaminés. Cela peut inclure des cas sporadiques ou une présence endémique ; l'incubation est de 5 à 19 jours. Les risques comportent une maladie souvent bénigne (fièvre, céphalées intenses, myalgies et toux sèche), avec formes aggravées rares (pneumopathies atypiques sévères voire mortelles), et parfois des formes non respiratoires : cardiaques, neurologiques, hépatiques, rénales, si aucun traitement n'est prescrit.

comme celles des chauves-souris peuvent être un support pour le développement fongique ; une source de contamination (tel que l'histoplasmosse, l'aspergillose, les candidoses, cryptococcose...), pouvant, soit donner des réactions allergiques, soit produire des infections mycosiques.

3.5.5.1 Le cas des fientes du pigeon

D^r Bernard Lefebvre, vétérinaire spécialiste des Maladies du Pigeon :

*« De nombreux microbes (bactéries, levures, virus...) peuvent être hébergés par les pigeons comme par toute espèce animale. Certains d'entre eux sont susceptibles de transmettre une maladie à l'Homme qui les élève ou les héberge. Parmi ceux-ci, les plus fréquemment isolés chez les pigeons d'élevage sont des salmonelles (**Salmonella tiphymurium var Copenhagen**), des levures (**Candida albicans**). Par contre, les Chlamydie de l'ornithose sont rarement isolées. Quant aux Campilobacter, on ne les isole jamais car... on ne les recherche pas puisque qu'ils ne sont pas responsables de maladie chez le pigeon.*

Le virus de West Nile qui sévit aux États Unis ne semble pas avoir fait son apparition en France sur la population de pigeons sauvages ou domestiques.

Il faut ajouter à cette liste une maladie non infectieuse : "La maladie du poumon des éleveurs d'oiseaux" qui est une maladie d'origine allergique.

Campilobacter jejuni est très fréquemment retrouvé dans le tractus digestif des volailles (jusqu'à 80 % dans les élevages de poules pondeuses avec jusqu'à 25 % des œufs contaminés par les fientes à la surface de la coquille). Cette bactérie est responsable d'une zoonose : la consommation de viande de volailles représente un risque très significatif dans l'apparition des diarrhées humaines...

*Dans une étude datant de 1999 sur des pigeons parisiens, **Candida albicans** a été isolé dans 68 % des jabots mais seulement 20 % des intestins. Si la maladie candidose existe chez l'Homme, on ne peut pas dire que celle-ci soit transmise par des contaminants extérieurs. C'est plus un terrain immunodéprimé (SIDA) ou des facteurs locaux qui favorisent l'implantation des levures sur la peau ou, plus souvent, sur les muqueuses digestives.*

*La **Salmonella tiphymurium var Copenhagen** est très régulièrement isolée dans des élevages dans lesquels sévit la paratyphose. C'est même une "dominante pathologique" et la maladie est un motif de consultation extrêmement fréquent. Des salmonelles sont régulièrement responsables de Toxi Infection Alimentaire Collective chez l'Homme. (...) La maladie chez l'Homme apparaît toujours après ingestion d'aliments contaminés et non pas par simple contact. Pour cette raison, et bien que la maladie soit très fréquente dans les élevages de pigeons, je n'ai jamais observé de transmission de la maladie aux éleveurs de pigeons.*

*Le **Chlamydia psittaci** est responsable de l'ornithose chez le pigeon (psittacose chez les perroquets et... chlamydie chez l'Homme). Attention cependant à ne pas confondre l'ornithose avec d'autres chlamydioses humaines (**Chlamydia trachomatis**) ou animales (**Chlamydia felis** chez le chat). Bien que certaines enquêtes sérologiques semblent montrer une large diffusion de la bactérie parmi les populations sauvages de pigeons, quand j'utilise des techniques modernes de recherche de la bactérie (PCR) je n'en trouve que très rarement dans les pigeons d'élevage. Pour des raisons budgétaires, cette technique de recherche n'a pas été utilisée dans les études concernant les populations de pigeons sauvages. Chez le pigeon, la bactérie donne des signes de coryza (inflammation des voies respiratoires) mais aussi des troubles de la reproduction (mortalité en coquille, mortalité au nid) et des arthrites. Chez l'Homme, la bactérie est responsable d'un syndrome grippal voire d'une grave pneumonie. Cependant, le traitement adapté (Doxycycline) permet de guérir rapidement les personnes atteintes. La maladie se transmet par voie aérienne essentiellement lors du nettoyage des colombiers, dans des espaces mal ventilés ou encore lors de la manipulation de carcasses en abattoir. Mais je n'ai eu connaissance que de très peu de cas de cette maladie chez les éleveurs de pigeons. Cependant, lors de syndrome grippal ne guérissant pas spontanément (ou après traitement antibiotique non spécifique de la chlamydie) en quelques jours, il faut envisager l'hypothèse de la chlamydie chez les éleveurs d'oiseaux.*



Enfin, et c'est probablement la maladie la plus fréquemment rencontrée chez les éleveurs d'oiseaux et de volailles, la "maladie du poumon des éleveurs d'oiseaux" mérite une attention toute particulière. Il s'agit d'une maladie d'origine immunitaire ; c'est une allergie aux poussières et autres particules véhiculées par les oiseaux. La maladie évolue sous une forme aiguë ou chronique. Dans la forme aiguë, l'éleveur ressent une gêne respiratoire dans les dix minutes qui suivent son entrée dans le colombier. Cette gêne est aggravée lors du nettoyage des installations. Il suffit de quitter le colombier pour recouvrer la bonne santé en quelques heures. Cette forme de la maladie est donc facile à diagnostiquer. La forme chronique est plus sournoise car les signes n'apparaissent qu'après une longue période d'exposition et entraîne petit à petit des lésions irréversibles du poumon qui perd progressivement ses fonctions d'oxygénation du sang. Dans ma pratique quotidienne je rencontre assez souvent des éleveurs allergiques et atteints de "maladie du poumon des éleveurs d'oiseaux", je n'ai rencontré que très rarement des éleveurs atteints de la chlamydie. Par contre, je n'ai jamais rencontré de personnes ayant eu une affection digestive à *Campilobacter*, à salmonelles ou à *Candida* en rapport avec la possession de pigeons. Le risque d'attraper des maladies d'origine aviaire pour de simples passants en ville est donc négligeable. »¹⁶⁵

MALADIES PARASITAIRES SUSCEPTIBLES D'ÊTRE CONTRACTÉES EN CANYON ET EN SPÉLÉOLOGIE

Les activités de plein air sont un lieu de rencontre possible entre les insectes, les microbes et le randonneur, le canyoniste ou le spéléo. Il est important d'être informés de ces dangers afin d'évaluer le risque.

Au cours de la pratique du canyonisme, il y a souvent des marches d'approche, effectuées en maillot de bain dans des broussailles lors de périodes chaudes des mois d'été. Ce sont des circonstances augmentant le risque de contamination par des insectes. Les rivières traversées peuvent être aussi contaminées par des bactéries ou des protozoaires qui dans certaines conditions sont pathogènes.

Le réchauffement climatique entraîne des modifications des zones de zoonose et d'enzootie, ce qui peut faire émerger de nouveaux risques, qui n'avaient pas cours antérieurement dans nos pays (la bilharziose par exemple).

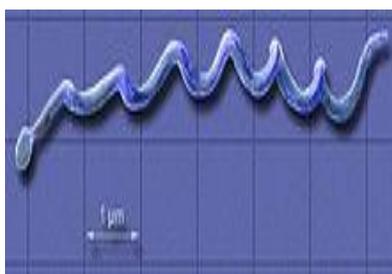
Les explorations de plus en plus lointaines visant à découvrir et explorer grottes et canyons dans les pays du monde entier, peuvent être à l'origine de nouveaux risques encourus par les membres de ces expéditions. Notre étude sera étendue à ces parasitismes lointains qui sortiront du cadre de nos risques locaux. Connaître ces risques permet de mieux les appréhender et d'appliquer les mesures de prévention adaptées.

3.6 MALADIES PARASITAIRES CONTRACTÉES PAR LES INSECTES

Quatre types de parasitismes ont ce type de transmission : la Borréliose (maladie de Lyme), la Rickettsiose, l'Ehrlichiose et la Franciselliose (tularémie).

3.6.1 Genre *Borrelia*

Embranchement *Spirochaetes* ; Ordre *Spirochaetales* ; Famille *Spirochaetaceae*



(Fig.6 : Image_http//

Borrelia

Morphologie : les bactéries présentent un diamètre cellulaire de 0,3 à 0,4 µ, une longueur de 20 à 30 µ, avec un appareil locomoteur constitué d'une quinzaine de fibrilles (flagelles internes). Les *Borrelia* se protègent durablement en s'agrégeant dans des granules coccoïdoformes (structure ronde dite « cyste »).

Culture : sous huile de vaseline (anaérobiose totale), milieux de type Galloway. Identification sérologique difficile



[commons.wikimedia.org/.../BorreliaDrawing.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:BorreliaDrawing.jpg) et mal comprise. Bon développement sur la membrane chloro-allantoïde d'œufs de poule embryonnés. T° de culture 33 à 35 °C.

3.6.1.1 Diversité du genre *Borrelia*

Les borrelies peuvent être :

- **soit commensales** (sur les muqueuses de l'individu) et elles posent alors des problèmes d'identification différentielle avec les tréponèmes pathogènes (genre *treponema*) ;
- **soit pathogènes pour l'Homme** : on distingue les fièvres récurrentes.
 - transmises par les poux (appartenant à la fièvre récurrente mondiale).
 - transmises par les tiques (fièvre récurrente africaine).
- **soit pathogènes pour les animaux** comme les volailles.

Borrelia recurrentis

Les poux sont infectés par des bactéries acquises en piquant des humains infectés. Ces bactéries se multiplient ensuite dans l'intestin du pou et réinfectent des humains *via* la salive du pou. Éviter d'écraser les poux sur la peau, ce geste augmente la pénétration de la salive du pou dans la peau.

Borrelia duttonii

Agent de la fièvre récurrente africaine, transmise par les argasidés, avec la même action que *B. recurrentis*. Il est transmis par des tiques de type *Ornithodoros* (*O. kellevi* des chauves-souris), uniquement dans les zones géographiques correspondant au biotope, mais certains patients peuvent avoir été infectés lors de voyages lointains, et des épidémies sporadiques sont constatées en Europe. Après 2 à 18 jours d'incubation, les symptômes apparaissent (fièvre, frissons et douleurs diffuses).

Borrelia burgdorferi (maladie de Lyme)

Le borrelia se développe dans une tique de type *Ixodes scapularis* (ou *I. dammini*) ou dans un hôte vertébré. La piqûre cause chez l'Homme la maladie de Lyme. À partir du point de pénétration cutanée, ces borrelies vont migrer dans la peau autour de la plaie et ensuite diffuser dans l'organisme pour se localiser dans différents organes. Dans tous les cas, le stade primaire de la maladie est généralement signalé par une tâche rouge de taille croissante (érythème^{yy} migrant) apparaissant autour de la piqûre, puis par un état grippal (frissons, fièvre, maux de tête) passer. *Borrelia burgdorferi* a été la première à avoir été isolée (en 1982 seulement) comme agent de la maladie de Lyme. Elle est surtout présente en Amérique du Nord, mais aussi, avec d'autres, responsable de la maladie de Lyme en Europe (très fréquente en Allemagne). Elle est transmise en Europe principalement par la tique *Ixodes ricinus*.

3.6.1.2 Situation épidémiologique de la maladie de Lyme en France et en Europe

En France, pour la période allant de 2009 à 2011, l'estimation annuelle de l'incidence nationale de la borreliose de Lyme était en moyenne de 43 cas/100 000 (27 000 cas par an) et stable au cours des trois années.

Les régions de l'Est de la France sont les plus touchées avec la répartition suivante :

- plus de 100/100 000 pour l'Alsace et la Meuse ;
- de 50 à 100/100 000 pour Champagne-Ardenne, l'Auvergne, la Franche-Comté, le Limousin ; la région Rhône-Alpes ;
- inférieure à 50/100 000 pour le Centre, la Basse-Normandie et l'Aquitaine.

Le nombre moyen d'hospitalisations par an est de 954 (1,5 /100 000 habitants), les enfants de 5 à 9 ans et les adultes de 50 à 64 sont les plus touchés. Les forestiers et chasseurs sont les principaux groupes à risques¹⁶⁶.

yy/ érythème : rougeur congestive de la peau, disparaissant à la pression.



En Europe, le nombre de cas annuels moyen est estimé entre 65 000 et 85 000 avec d'importantes variations régionales (côte de la Baltique en Suède, Slovénie, région du Brandebourg en Allemagne). Un pic diagnostique d'érythème migrant est rapporté en juin et juillet dans la majorité des pays du nord et du centre de l'Europe et un second pic dans les pays du sud de l'Europe à la fin de l'été et au début de l'automne.

3.6.1.3 Étiopathologie de la maladie de Lyme

Incubation : moyenne 7 à 14 jours ; extrêmes : 1 à 180 jours.

Clinique phase primaire : de deux à trente jours après la morsure de la tique infectante, un érythème migrant apparaît sous forme de macule ou de papule érythémateuse centrée sur le point d'inoculation. La bordure annulaire de la lésion s'étend de façon centrifuge tandis que le centre s'éclaircit. L'érythème migrant est chaud au toucher mais, habituellement ni prurigineux, ni douloureux, il peut passer inaperçu.



N'importe quel point du corps peut être mordu, y compris le cuir chevelu, toutefois les membres inférieurs constituent la localisation préférentielle de l'érythème migrant.

Parfois, le point de morsure présente une induration de quelques millimètres de diamètre. Ainsi, l'érythème migrant est défini comme étant une lésion érythémateuse, ni indurée, ni prurigineuse, ni squameuse, d'au moins 5 cm de diamètre. Mais son diagnostic doit être évoqué devant toute lésion même minime, son extension en quelques jours le confirme. Il est donc important de ne pas confondre érythème migrant et inflammation locale consécutive à la morsure de tique. En absence de traitement, l'érythème migrant peut atteindre plusieurs dizaines de centimètres. La lésion disparaît spontanément en trois à quatre semaines mais peut récidiver. Sous traitement l'érythème migrant régresse en moins d'une semaine : les complications précoces et tardives sont évitées. Durant les quelques heures à quelques jours qui suivent la piqure, l'érythème migrant peut s'accompagner d'arthralgies touchant asymétriquement une ou plusieurs articulations, de myalgies et de signes généraux modérés et peu spécifiques (fébricule et asthénie).

Phase secondaire

➤ **Manifestations neurologiques** : les neuro-borrélioses constituent le mode de révélation le plus fréquent au stade disséminé de la maladie de Lyme en France. Par ordre de fréquence, on retrouve : méningo-radiculites hyperalgiques^{zz} avec méningites lymphocytaires, localisation crânienne fréquente (paralysie faciale), méningites isolées, myélites aiguës^{aaa}, encéphalites.

Les neuro-borrélioses sont surtout dues à **B. garinii**.

Des atteintes radiculaires à prédominance sensitive apparaissent dans le territoire de la morsure, généralement au bout d'un mois (soit d'une semaine à six mois). Ces douleurs irradient selon un trajet grossièrement radiculaire. Elles sont souvent plus intenses la nuit et répondent mal aux antalgiques et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens. À l'examen, il existe souvent des troubles subjectifs de la sensibilité (paresthésies). Les réflexes ostéo-tendineux peuvent être abolis.

La méningite lymphocytaire, très fréquente mais discrète et pauci-symptomatique, se traduit par des céphalées sans raideur méningée. Précoce, elle survient dans les deux semaines suivant la morsure et peut régresser spontanément. La paralysie faciale, la plus fréquente des atteintes des nerfs crâniens, se rencontre surtout chez les enfants.

Des atteintes purement périphériques, des polyneuropathies sont décrites. Les manifestations neurologiques centrales pures sont plus rares. Elles se traduisent par des encéphalites peu sévères responsables de troubles de la concentration, de la mémoire et parfois de signes d'irritation pyramidale.

^{zz/} **méningo-radiculites hyperalgiques** : inflammation des méninges rachidiennes et des racines nerveuses.

^{aaa/} **myélites aiguës** : inflammation de la moelle osseuse et de la moelle épinière.



➤ **Manifestations cardiologiques** : ce sont des troubles de la conduction qui apparaissent deux à quatre semaines après la morsure de tique (bloc auriculo-ventriculaire, sino-ventriculaire, intra-ventriculaire). Il s'agit plus rarement d'une péricardite ou d'une myocardite. Ce sont des manifestations peu fréquentes en France.

➤ **Manifestations dermatologiques** : lymphocytome^{bbb} borrélien, un à deux mois après la piqûre, lésions multiples d'érythème chronique migrant identiques à la lésion primaire à l'exception du point de piqûre central absent. Des macules rouges, ovale ou arrondies apparaissent à différents endroits du corps à l'exception des paumes et plantes et peuvent persister plusieurs semaines. Elles sont rares en France.

Le lymphocytome cutané bénin se présente sous l'aspect d'une lésion indolore nodulaire unique ou multiple, rouge brun ou violacée, siégeant préférentiellement au niveau du lobe de l'oreille, de la région périmamelonnaire ou du scrotum. Cette lésion apparaît quelques semaines à quelques mois de la morsure.

➤ **Manifestations rhumatologiques** : mono-arthrite d'apparition brusque ou oligo-arthrite (grosses articulations), atteinte prépondérante du genou survenant une semaine à six mois après la morsure. Asymétrique et peu inflammatoire, cette mono- ou oligo-arthrite évolue par poussées de plusieurs semaines et peut céder spontanément pour récidiver quelques semaines plus tard. Elle touche préférentiellement le genou et moins souvent l'épaule et le coude. Classiquement le genou devient brutalement chaud, rouge, gonflé et douloureux. Des myosites sont décrites. Manifestations plus fréquentes aux États-Unis.

➤ **Manifestations oculaires** : elles se manifestent sous forme d'uvéite, de conjonctivite, d'endophtalmie, de neuropathie ischémique antérieure aiguë, de névrite optique, de papillite ou de paralysie oculomotrice.

Phase tertiaire

Les complications peuvent succéder aux manifestations précédentes en l'absence de traitement ou en cas de traitement inefficace.

➤ **Manifestations neurologiques** : neuro-borréliose tardive, plus de six mois après la piqûre ; encéphalomyélites^{ccc} chroniques, polyneuropathies axonales^{ddd}, méningite chronique.

➤ **Manifestations rhumatologiques** : l'arthrite de Lyme correspond à des poussées d'arthrite récidivante d'évolution chronique mais elle est rarement à l'origine d'érosions ostéocartilagineuses visible à la radiologie.

➤ **Manifestations neurologiques** : elles peuvent se traduire par des polyneuropathies axonales à l'origine de paresthésies des extrémités et des atteintes radiculaires asymétriques. Les nerfs crâniens ne sont pas touchés.

- Encéphalo-myélites chroniques, polyneuropathies sensitives axonales
- Anomalies du LCR (liquide céphalo-rachidien)

➤ **Manifestations cutanées** : l'acrodermatite chronique atrophiante (ou maladie de Pick-Herxheimer) survient un à huit ans après l'inoculation. Elle débute par des plaques ou nodules violacés de localisations unilatérale de préférence sur la face d'extension des membres, s'étendant depuis le site de la morsure de tique et pouvant se bilatéraliser. Son évolution vers une atrophie de l'épiderme donne à la peau un aspect flétri ou chiffonné et une coloration brun-rougeâtre.

➤ **Autres manifestations** pouvant être observées :

- Asthénie, algies diffuses, plaintes cognitives
- L'antibiothérapie ne modifie pas l'évolution

➤ **Symptômes non spécifiques** pouvant survenir à tous les stades.

bbb/ lymphocytome : variation du nombre et de la taille des lymphocytes.

ccc/ encéphalomyélites : affection touchant le cerveau et la moelle épinière.

ddd/ polyneuropathies axonale : différentes neuropathies touchant les fibres nerveuses dans leurs prolongements et leurs protections ou axones.



Dans le cadre de syndrome algique général, des arthragies peuvent survenir à n'importe quel stade de la maladie et accompagner une autre manifestation évocatrice de la maladie. Isolées elles ne doivent pas être considérées comme un signe de la maladie de Lyme.

Statistiques étiologiques

Sur 1 222 cas étudiés par le CNR (2006-2009) :

- 1 040 (85 %) étaient des érythèmes migrants.
- 60 (5 %) des atteintes articulaires.
- 59 (5 %) des atteintes neurologiques.
- 42 (3 %) des atteintes cutanées.
- 16 (1 %) des atteintes ophtalmologiques ou cardiaques.

Étiologie et vecteurs de la borréliose

Nom germe	Maladie	Vecteur	Pays	Nom germe	Maladie	Vecteur	Pays
B. coriaceae	<i>la borrelia humaine, fièvres récurrentes</i>	Non défini	Non défini	B. hermsii	fièvre récurrente, mais avec plus de rechutes et mortalité supérieure	tiques <i>Ornithodoros</i> espèces-réservoir (des rongeurs)	Non défini
		Non défini	Europe et Asie				
	B. afzelii	coresponsable de la maladie de Lyme	Non défini	Europe et Asie	B. spielmani	agent de fièvre récurrente	pou <i>Pediculus humanus</i>
B. garinii	coresponsable de la maladie de Lyme	Tiques	Non défini				
B. parkeri	agent fièvre			B. valaisiana	fièvre récurrente		

3.6.1.4 Pouvoir pathogène humain de *Borrelia*

Sur les 36 espèces de borrelies connues, 12 sont pathogènes pour l'Homme causant la maladie de Lyme ou d'autres types de borrelioses. La même tique ou vecteur peut inoculer plusieurs borrelies au même patient. Ces trois facteurs contribuent sans doute à expliquer la grande variété et variabilité des symptômes chez les patients victimes de borrelioses. Une grande partie des borrelioses sont asymptomatiques ou guérissent spontanément. Une part encore mal évaluée est responsable de maladies graves et invalidantes, souvent difficiles à détecter dans leur première phase, d'autant qu'une partie des tests disponibles ne détectent pas toutes les borrelies ou sont d'interprétation difficile. De plus, certains symptômes peuvent n'apparaître que des années après la piqûre d'une tique. Les borrelies devraient être attaquées par les globules blancs, mais elles leurs échappent parfois facilement. Elles peuvent aussi être tuées par des virus bactériophages qui sont encore mal connus mais qui ont pu être observés et photographiés (phagothérapie)^{167,168}.



3.6.1.5 Diagnostic

Stratégie diagnostique en phase primaire

Recherche des anticorps par les tests d'antigène : les antigènes les plus communément impliqués font partie des réactifs ELISA ou de l'Immunoblot. Les anticorps présents dans le sérum des sujets infectés réagiront avec les seuls antigènes présents dans le réactif conduisant à une réponse positive, il faudra donc bien cibler l'anticorps de l'espèce bactérienne recherchée.

Détection d'anticorps

- Immunofluorescence indirecte (IFI) : méthode quantitative assez sensible et spécifique mais la qualité de lecture est liée à l'opérateur.
- Dépistage ELISA : méthode quantitative habituellement plus sensible que l'IFI. ELISA est automatisable et la lecture de son résultat ne dépend pas de son utilisateur.
- Confirmation Western blot : utilisée en seconde intention, cette méthode quantitative permet de confirmer la positivité d'un résultat positif douteux par IFI ou ELISA, face à une symptomatologie évocatrice.

Les IGM spécifiques apparaissent entre 2 à 4 semaines après la morsure de tique ; leur taux sérique présente un pic entre les 6 et 8^{ème} semaine puis diminue en 4 à 6 mois. Les IgG spécifiques apparaissent entre 6 à 8 semaines, parfois plus tardivement ; puis leur taux sérique diminue très lentement ou persiste au fil des années. Ainsi, au cours des 4 à 5 semaines suivant une morsure de tique, la sérologie est inutile mais prend toutes sa valeur au bout de 6 semaines, face à un tableau clinique évocateur.

Une sérologie positive ne permet pas de différencier une infection active d'une infection ancienne (traitée ou non) ou asymptomatique. Elle peut rester positive après un traitement antibiotique surtout s'il est institué tardivement.

Dans le cas de neuro-borreliose, la sérologie est fréquemment positive mais, son titre restant peu élevé, elle doit être couplée à la recherche d'anticorps dans le liquide céphalorachidien. Dans la forme tertiaire, la réponse sérologique est forte.

Cependant, l'interprétation du résultat sérologique reste difficile

- Une sérologie faussement négative peut s'observer au début de l'infection cutanée, en cas de formation de complexes immuns ou de traitement précoce limitant les anticorps.
- Une sérologie faussement positive peut être liée à une réaction croisée avec d'autres microorganismes, notamment d'autres spirochètes (syphilis), ou à une maladie auto-immune.

Cinétique de l'immunité : dans la borreliose de Lyme le développement de l'immunité chez le sujet piqué par une tique est tardif. Cette évolution progresse lentement au cours des trois phases caractéristiques de la maladie.-Au cours de la phase primaire, les IgM n'apparaissent que deux à six semaines après la morsure de la tique et seulement dans 40 à 60 % des cas. La recherche des anticorps ne présente donc aucun intérêt dans cette phase.

Au cours de la phase II les anticorps sont présents dans 70 à 90 % des cas : ainsi, devant un résultat négatif il peut être utile de refaire un dosage quatre à six semaines plus tard afin de vérifier une éventuelle ascension des anticorps ou de faire une ponction lombaire en présence de signes neurologiques.

Enfin, les anticorps sont en général présents dans la phase III de la maladie.

Interprétation des résultats : on peut ainsi admettre que devant un résultat douteux ou négatif associé à un tableau clinique évocateur un second prélèvement permettra de conclure. Des résultats positifs dans les deux classes d'anticorps conduisent à la réalisation d'un Immunoblot afin de confirmer le résultat.

L'interprétation de ces résultats doit aussi prendre en compte que : Les anticorps peuvent persister longtemps même en cas de traitement efficace.

- Les contrôles sont inutiles pour le suivi d'un traitement.

- Une baisse de la protéine VlsE peut permettre de conclure à un succès thérapeutique. Mais l'absence de diminution ne signe pas un échec thérapeutique ou une indication à retraiter, tout dépend de la clinique.
- La présence d'anticorps peut être due à une infection préalable passée inaperçue.
- Un traitement antibiotique précoce, avant tout prélèvement à visée diagnostique, lors de la phase I, peut retarder l'apparition des anticorps et provoquer des résultats faussement négatifs.

Situations au cours desquelles la sérologie n'a pas d'indication

- Dépistage systématique des sujets exposés
- Piqûre de tique sans manifestation clinique
- Érythème migrant typique.

Méthodes de confirmation qualitatives : elles sont appelées Western blot ou Immuno-empreinte. Le principe est basé sur le transfert sur une membrane après migration sur gel de poly-acrylamide, des protéines (antigènes) de *Borrelia* séparés en fonction de leur poids moléculaire, sur laquelle réagissent les anticorps présents chez le patient. Utiles pour le contrôle sérologique systématique des patients traités.

Confirmation de l'efficacité du résultat : pour la confirmation de l'efficacité du traitement et de l'absence risque d'évolution vers la phase III. Il est possible de faire une analyse microbiologique sur le liquide céphalorachidien (analyse lourde), mais qui s'avérera plus significative pour définir l'efficacité de la thérapie administrée.

PCR en laboratoires spécialisés : par amplification génétique, l'ADN spécifique de *Borrelia burgdorferi* peut être cherché dans un échantillon biologique (biopsies cutanées ou synoviale ou liquide céphalorachidien). Il n'existe pas de kits commerciaux et cet n'est actuellement pas inscrit à la nomenclature des actes de biologie médicale.

Culture sur milieux sélectifs : la culture de *Borrelia*, à partir de biopsies cutanées ou synoviales surtout et plus rarement de liquide céphalorachidien est très lente (plusieurs semaines) et de très faible rendement (de 0 à 10 %) sauf au stade d'érythème migrant.



Borrelia
Observée au microscope
électronique à transmission
(Source : CNR des des Borrelia)

Traitements antibiotique de la maladie de Lyme

Forme clinique	Chez l'adulte ou l'enfant de plus de 8 ans			Chez l'enfant de moins de 8 ans
Érythème migrant sans complication cardiaque ou neurologique	1^{ère} intention	2^{ème} intention	Chez la femme enceinte	
	Durée : 14 jours			
	Voie orale			
	Doxycycline 2 fois 100 mg/jour ou Amoxicicline 3 à 4 g par jour	Céfuroxime 2 fois 500 mg/jour ou (d'activité plus incertaine, à n'utiliser qu'en cas de contre-indication à anoxicilline) Azithromycine 1 fois 500 mg par jour ou Clarithromycine 2 fois 500 mg / jour érythromycone 4 fois 500 mg par jour	Amoxicilline 3 à 4 fois 1 g/jour ou (d'activité plus incertaine, à n'utiliser qu'en cas de contre-indication à anoxicilline) Azithromycine 1 fois 500 mg par jour	Amoxicilline 50 mg par kg en 3 prises ou Céfuroxime axetil 30 mg/kg par jour en 2 prises ou (d'activité plus incertaine, à n'utiliser qu'en cas de contre-indication aux β-lactamines et aux cyclines : Érythromycine 30 mg/kg par jour en 2 à 3 prises.
Phase II ou Secondaire Signes Neurologiques Cardiaques Articulaires	1^{ère} intention	2^{ème} intention	Chez la femme enceinte	
	Durée : 21 jours			
	Voie parentérale IM ou IV	Voie parentérale IV voie orale	Voie parentérale IM ou IV	
	Ceftriaxione 2 g par jour	Amoxicilline 6 à 8 g par jour Pour les formes articulaires Voie orale possible	Ceftriaxione 2 g par jour	Ceftriaxione 75 à 100 mg/kg par jour
Phase III Ou Tertiaire	1^{ère} intention	2^{ème} intention	Chez la femme enceinte	
	Durée : 28 jours			
	Voie parentérale IM plutôt que IV		Voie parentérale IM plutôt que IV	



Signes : Neurologiques Cutanés Articulaires	Ceftriaxone 2 g par jour		Ceftriaxone 2 g par jour	Ceftriaxone 75 à 100 mg/ Kg par jour
--	-----------------------------	--	-----------------------------	--

Aucune antibioprophylaxie n'est réalisée face à une morsure de tique, sauf pour la femme enceinte. Actuellement, aucun vaccin contre la maladie de Lyme n'est disponible¹⁶⁹.

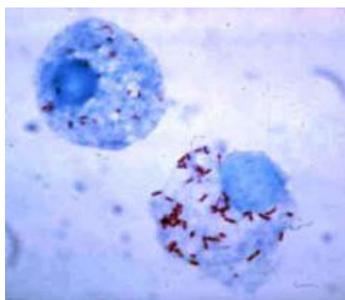
Prévention de la maladie de Lyme : (Voir la tique page 76).

3.6.2 Genre *Rickettsia*

Classe Alpha Proteobacteria ; Ordre Rickettsiales ; Famille Rickettsiaceae

La famille *Rickettsiaceae* regroupe actuellement le genre *Rickettsia*, le genre *Orientia* et les bactéries de la famille des *Anaplasmataceae* avec les genres *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* et *Wolbachia*. Dans la famille *Anaplasmataceae*, *Ehrlichia sennetu* infeste les monocytes et les macrophages, et provoque l'éhrlichiose humaine que l'on appelle fièvre ganglionnaire ou mononucléose infectieuse japonaise, et *E. chaffeensis* à l'origine de l'éhrlichiose américaine et qui a pour vecteur *Amblyomma americanum* (tique).

Morphologie du *Rickettsia*



En forme de petit bâtonnet (0,3 µm de diamètre et de 1 à 2 µm de long), se multipliant par scissiparité et par un cycle de développement complexe. Bactéries intracellulaires strictes, elles sont incapables de prendre la coloration de Gram ; elles sont cependant colorées par le colorant de Giemsa et ont des similitudes avec les bactéries à Gram(-). Ces bactéries n'ont pas de flagelles (à quelques exceptions).

Les parois des bactéries contiennent de l'acide muramique. Le glutamate est oxydé pour produire de l'ATP (la bactérie peut utiliser l'ATP de la cellule). Les espèces parasitées par la bactérie sont associées au réticulo-endothélium cellulaire et à l'endothélium vasculaire ou avec les érythrocytes des vertébrés, et il en est de même avec certains arthropodes (qui sont les vecteurs). Les *Rickettsia* sont immobiles, parasites obligatoires, la forme coccoïde se multiplie seulement dans les vacuoles des cellules de l'hôte parasité¹⁷⁰.

Les *Rickettsia* sont de très petites bactéries susceptibles d'occasionner des infections sévères chez les mammifères et chez l'Homme. Le genre *Rickettsia* se compose à ce jour de 25 espèces et de dizaines de souches encore mal connues. La majorité de ces bactéries est associée à une tique qui leur sert de vecteur et souvent de réservoir. Les autres sont vectorisées par des poux, des puces ou des *thrombiculidés* (galle). Parmi les 16 rickettsioses connues actuellement, plusieurs ont d'abord été considérées comme étant non pathogènes pour l'Homme. On supposait aussi à tort que chaque rickettsiose se cantonnait à un seul continent.

Les rickettsioses sont des maladies infectieuses, ré-émergentes, polymorphes, potentiellement mortelles, mondialement répandues. À n'en pas douter, de nombreuses pathologies inexplicables résultent encore de rickettsioses méconnues. En conséquence, toute *Rickettsia* isolée chez une tique doit *a priori* être suspectée d'être pathogène.

3.6.2.1 Actualités

Les avancées récentes dans le domaine de la biologie moléculaire ont entraîné des modifications dans leur taxonomie. Ainsi *Coxiella burnetii* et *Bartonella spp.* ne sont plus incluses au sein de l'ordre des *Rickettsiales*.

➤ ***Coxiella burnetii*** : bactérie intracellulaire, agent de la fièvre Q — pathologie à polymorphisme



clinique —, qui peut être contractée par inhalation ou par voie *per os* ou par voie parentérale (tiques).

➤ **Bartonellaceae** : bactérie mobile par flagelles polaires (un à dix flagelles) qui se développe dans les milieux de culture classiques. La bartonellose est une maladie transmise de l'Homme à l'Homme par l'intermédiaire d'un phlébotome. Chez l'Homme cette maladie semble avoir été sous-estimée. Le chien semble rarement porteur sain mais le chat l'est souvent. Bien que cette possibilité ait été initialement contestée, certaines tiques semblent pouvoir véhiculer la maladie d'animal à animal, ou de l'animal à l'Homme. C'est le cas d'*Ixodes ricinus* qui a par exemple été trouvée porteuse en Allemagne d'*Ehrlichia*, de *Borrelia burgdorferi* et de *Bartonella*, avec donc de possibles co-infections. On connaît 19 espèces de *Bartonella*, une dizaine étant pathogènes pour l'Homme, parfois de manière persistante, chez des immunodéprimés, mais aussi chez des patients immunocompétents, les trois plus fréquentes étant *B. henselae*, *B. quintana* et *B. bacilliformis*. Il a été plusieurs fois récemment montré que des bartonellies antérieurement réputées ne pas infecter l'Homme, étaient finalement aussi des pathogènes pour l'Homme ; c'est le cas pour

***Bartonella clarridgeiae*.**

- La maladie peut être associée à un purpura de Hench-Schönlein.
- La maladie est parfois confondue avec une mononucléose infectieuse.
- Des co-infections sont possibles, notamment avec la maladie de Lyme.
- L'œil peut être atteint, avec éventuellement, une neurorétinite pouvant être causée par plusieurs *Bartonella* dont *Bartonella grahamii*. Remarque : certaines borrelies susceptibles de co-infecter l'organisme avec des *Bartonellies* peuvent aussi infecter les yeux.

Bartonella bacilliformis est une bactérie à vie intracellulaire facultative. Elle présente un tropisme à la fois pour les érythrocytes et pour les cellules endothéliales vasculaires. Elle provoque la fièvre d'Oroya qui s'accompagne d'un parasitisme des hématies proche de 100 % en phase aiguë pouvant aboutir à une hémolyse intense. *B. bacilliformis* adhère à l'hématie induisant des déformations de sa membrane cytoplasmique, en particulier une invagination de cette membrane avec constitution d'une vacuole intracellulaire dans laquelle les bactéries vont se répliquer.

La *Verrue du Pérou* correspond à une invasion par le *B. bacilliformis* des cellules endothéliales des capillaires. Cellules qui prolifèrent d'où la formation de papules et de nodules angiomateux.

Traitement de la Bartonellose : le chloramphénicol est efficace.

3.6.2.2 Arbre phylogénique des bactéries du genre *Rickettsia*¹⁷¹

L'étude basée sur la comparaison des séquences du gène codant l'enzyme citrate synthase^{eee}, nous indique que *R. tsutsugamushi* ou typhus des broussailles se différencie des autres rickettsioses.

Nous pouvons constater qu'il existe un nombre important de *Rickettsia*, ce qui peut expliquer la diversité des symptômes observés et la difficulté de définir la pathologie exacte.

3.6.2.3 Vecteurs

Historiquement les *Rickettsia* sont classées en trois groupes définis par des caractéristiques sérologiques, un quatrième groupe non pathogène pour les vertébrés vient d'être identifié par



eee/ citrate synthase : première enzyme intervenant dans le cycle de Krebs. La citrate synthase permet la transformation d'une molécule d'acétyl-coA et d'une molécule d'oxaloacétate en citrate. Cette transformation nécessite de l'eau, elle permet aussi le relargage de la coenzyme A. Cette réaction permet de lier l'acétyl-CoA à la fonction cétone de l'oxaloacétate pour former le citrate. Cette réaction est irréversible ($\Delta G^\circ = -32 \text{ kJ/mol}$), elle oriente le flux du cycle, l'énergie est fournie grâce au clivage de la liaison thioester de l'acétyl-CoA.



séquençage de l'ADN :

 <p>(Photo de pou de corps : Pediculus humanus var. corporis)</p>	<p>1. Le groupe des typhus (<i>Typhus Group</i> : TG) : transmis par les déjections des poux et des puces (R. canada exceptée).</p>
 <p>(Photo : Dermacentor variabilis, vecteur principal de la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses)</p>	<p>2. Le groupe des fièvres pourprées (<i>Spotted Fever Group</i> : SFG), à l'exception de R. akari ce sont des bactéries transmises par les tiques (essentiellement <i>Ixodidae</i>) On parlait jadis de groupe boutonneuse-pourprée, qui distinguait les éruptions boutonneuses des pourprées qui entraînent des ecchymoses.</p>
	<p>3. Le groupe du typhus des broussailles (<i>Scrub Typhus Group</i>) apparenté au genre <i>Orientia</i>, proche du groupe boutonneux dont il pourrait n'être qu'un sous-groupe de l'O. tsutsugamushi est désormais exclu des <i>Rickettsiales</i>. Elle est transmise exclusivement par les larves hexapodes de <i>Trombiculidés</i> (Leptotrombidium deliense) et occasionne le typhus des broussailles (<i>scrub typhus</i>), endémique dans l'est asiatique et l'ouest de l'Océanie.</p>
	<p>4. Le groupe ancestral, non pathogène pour les vertébrés, vient d'être identifié par séquençage de l'ADN, il comprend Rickettsia bellii et probablement Rickettsia canadensis.</p>

M. FOISSAC, C. SOCOLOVSKI et D. RAULT, juin 2013

Tableau des caractéristiques des *Rickettsia*

Groupes	Espèces	Maladies	Vecteurs	Réservoirs
2 espèces	R. prowazekii	Typhus épidémique ou exanthématique	Poux <i>Pediculus humanus humanus</i>	Homme
	R. typhi	Typhus murin ou endémique	Puces <i>Xenopsylla cheopis</i>	Rat
18 espèces	R. conorii , R. rickettsii R. akari	Fièvre à tiques américaine La fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses	Tiques, famille <i>Ixodidae</i> <i>Dermacentor variabilis</i> <i>Dermacentor andersoni</i>	Rongeurs Chiens
26 espèces	R. conorii subsp conorii , R. conorii israelensis R. rickettsii R. africae R. akari R. felis R. mooseri	Fièvre à tiques Européenne La fièvre boutonneuse méditerranéenne	Tiques <i>Rhipicéphalus sanguineus</i> <i>Ixodes ricinus</i> <i>I. hexagonus</i>	Rongeurs Lapin Chiroptères
3 espèces	R. felis R. conorii R. akari	Dont la fièvre boutonneuse à puces	Puces <i>Siphonaptera</i>	Chat Oiseaux Chiroptères
2 espèces	R sibirica subsp.	La lymphangite ^{fff} à tique	Tiques	Oiseaux

fff/ lymphangite : à tique, un peu comme l'infection par *R sibirica subsp mongolotimona*e, elle se traduit le plus souvent par

– **Commission Médicale FFS (CoMed)** –

Risques Biologiques en Spéléologie et Canyonisme



	<i>mongolotimonae</i> <i>R. slovacae</i>	LAR	<i>Dermacentor spp</i>	& rongeurs
2 espèces	<i>R. africae</i> <i>R. conorii subsp. nov</i> (Afrique sud)	Fièvre Africaine atypique	Tiques Famille des <i>Ixodidae</i> <i>Amblyomma</i> <i>variegatum</i>	Beaucoup d'espèces
1 espèce	<i>Classe Orientia</i> <i>O. tsutsugamushi</i>	Typhus de broussailles	Acariens : ≈ mesurant de quelques mm à 0,4 mm <i>Trombiculidae</i>	Rongeurs Souris Taupes Musaraignes Autres rongeur
1 espèce	<i>R. akari</i>	Fièvre vésiculeuse ou Rickettsia pox varicelliforme	Acariens <i>Liponyssoides</i> <i>sanguineus</i>	Souris Taupes Musaraignes

Tableau extrait du Mémento technique de microbiologie de Jean-Paul LARPENT, Monique LARPENT-GOURGAUD

3.6.2.4 Extrait des Cours du Professeur Pierre Aubry

(Mise à jour le 6 janvier 2014)

Épidémiologie : les tiques sont à la fois le vecteur et le réservoir des *Rickettsia* qui sont transmis de génération en génération par voie transovarienne. En conséquence, la répartition géographique de chaque espèce de bactérie est superposable à celle de son (ses) vecteur(s). La répartition saisonnière de la maladie transmise est le reflet fidèle du cycle de d'activité de l'espèce de tique réservoir. Selon une récente étude allemande portant sur 124 rongeurs et insectivores, il semblerait que les micromammifères pourraient jouer un rôle d'hôte réservoir pour certaines *Rickettsia spp.*, notamment *R. felis* et *R. helvetica*. En Europe, les oiseaux jouent un rôle primordial dans la dissémination des *Rickettsia* du groupe SFG.

En France métropolitaine différentes espèces de *Rickettsia* peuvent être rencontrées :



Rickettsia conorii conorii, *R. conorii israelensis* appartenant à son complexe et *Rickettsia massiliae* (fréquente sur tout le pourtour méditerranéen et en France), sont intimement associées à *Rhipicephalus sanguineus* (ci-dessous).



Rickettsia helvetica, quant à lui, infecte *Ixodes ricinus* (ci-contre).

Elles possèdent exactement la même distribution géographique que leur vecteur et que la maladie de Lyme. Leur prévalence dans les tiques peut atteindre 66 % dans les hautes végétations, mais en moyenne en Europe la prévalence va de 4 à 16 %. Les investigations menées en Suisse conduisent à penser que les grands mammifères et les chats pourraient être le réservoir de la maladie. Probablement aussi les hérissons (*Erinaceus europaeus*) car ils sont souvent lourdement infestés de tiques et de puces. S. Speck et ses collaborateurs ont analysé 471 *Ixodes ricinus* et 755 *I. hexagonus* collectés sur 26 hérissons en Allemagne et 7 en Grande-Bretagne, la PCR (gltA) a montré une prévalence minimale des rickettsies de 11,7 % indifféremment dans les deux espèces de tiques. Le séquençage partiel du gène ompB a permis d'identifier *Rickettsia helvetica* comme étant la seule

une escarre du cuir chevelu associée à des adénopathies cervicales douloureuses. Cependant le LAR se traduit dans 40 % des cas par une lymphangite s'étendant de l'escarre à une adénopathie satellite.



espèce présente.

Plus de la moitié des hérissons ont des tiques, qui portent des rickettsies, ce qui signifie qu'ils pourraient appartenir au cycle biologique de la maladie. En Alsace, selon une enquête de la MSA portant sur 379 ouvriers forestiers, la séroprévalence était de 9,2 %.

Épidémiologie en Europe

Pays	Année	Espèces animales	Activité personnes	Vecteurs	Rickettsies trouvées	Pourcentage de positifs
Allemagne Étude sur des personnes	2006 Étude sur personnes		286 Chasseurs		<i>R. helvetica</i> <i>R. aeschlimanii</i>	6,29 % des personnes
Allemagne Sarre & Saxe	2008 Étude sur vecteurs			<i>Ixodes ricinus</i>	<i>R. helvetica</i>	66 % de tiques
Allemagne Étude sur des hérissons		26 hérissons	471 755	<i>Ixodes ricinus</i> <i>I. hexagonus</i> trouvés	<i>R. helvetica</i>	11,7 % dans les deux espèces de tiques
France (Alsace) Étude sur personnes			379 Forestiers		<i>R. slovaca.</i> <i>R. conorii</i>	9,2 % des personnes
France & Suisse & Slovaquie Étude sur les vecteurs	Étude sur maladies de Lyme atypiques			<i>Dermacentor marginatus</i> <i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>R. helvetica</i>	
Slovaquie Étude sur les vecteurs	Étude sur vecteurs	Mésanges charbonnières		<i>Ixodes arboricola</i>		44 % sur les tiques 24,5 % sur les oiseaux
France Corse	Étude sur vecteurs	Propagation due aux oiseaux		<i>Hyalomma spp</i>	<i>R. aeschimannii</i>	
France	Étude sur vecteurs	Propagation due aux oiseaux		<i>Hyalomma asiaticum</i>	<i>R. mongilotimonae</i>	
Dom Tom	Étude sur personnes			<i>Amblyomma Variegatum</i> & <i>A. hebroeum</i>	<i>R. africae</i>	
Espagne Études sur vecteurs				<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>R. spp</i>	49 % des tiques
Italie Étude sur vecteurs	2006 Études sur vecteurs			<i>Ixodes ricinus</i>	<i>R. helvetica</i> <i>R. monacensis</i> <i>R. limoniae</i>	6,1 % tiques
Pays bas Étude sur vecteurs	2005			<i>Ixodes ricinus</i> <i>Dermacentor spp</i>	<i>R. helvetica</i> <i>R. raoultii</i>	24 % 14 % tiques

3.6.2.5 Manifestations cliniques

Les *Rickettsiæ* se multiplient fréquemment à leur point d'inoculation pour donner une escarre. Leur tropisme pour les cellules endothéliales des petits vaisseaux sanguins explique l'apparition de vascularite, d'inflammation péri-vasculaire et de thrombose. La conséquence de ces atteintes se traduit par l'apparition d'un purpura autour des lésions capillaires.



Les péri-vascularites provoquent les atteintes viscérales : gangrène de la peau et des tissus, signes d'encéphalite. La bactérie peut provoquer des syndromes fébriles et des méningites. Elle ne se développe d'ailleurs pas aussi fréquemment dans le noyau des cellules hôtes que ces dernières et occasionne des atteintes cliniquement moins spectaculaires, ce qui explique sans doute qu'elle ait été reconnue plus tardivement.

Le syndrome grippal est l'un des premiers signes, il associe une fièvre élevée d'installation brutale, avec parfois céphalées, arthralgies, myalgies, nausées, vomissements. Non traitée, cette fièvre peut durer plusieurs semaines avec des céphalées, des malaises, un état de prostration.

Des complications graves peuvent survenir, elles incluent défaillance rénale, *purpura fulminans*, pneumopathie sévère, gangrène... La rapidité de la mise en œuvre du traitement contribue pour beaucoup à réduire la sévérité de l'atteinte.

Deux rickettsioses se singularisent par leurs caractères cliniques :

- Deux européennes causées
 - À la saison froide par *R. slovaca*.
 - Au printemps par *R. sibirica subsp mongolotimonae*.
- L'autre africaine qui semble être une infection bénigne, elle se caractérise par des adénopathies, et des escarres multiples.

Orientations diagnostiques : le type de morsure tient à la stratégie de recherche d'hôtes des tiques. La première, de loin la plus fréquente, est l'attente passive en embuscade (*ambush strategy*). Les tiques attendent sur la végétation le passage d'un hôte pour s'y accrocher (tiques de type européennes comme *Ixodes ricinus* et les *Dermacentor spp*). La morsure de tique est le plus souvent unique. La seconde stratégie est l'attaque (*hunter strategy*) où les tiques attaquent les hôtes qui passent à leur proximité (*Amblyomma hebraeum*^{ggg} et *A. variegatum*). Cette stratégie se traduit le plus souvent par plusieurs morsures simultanées et donc des taches noires multiples. Certaines espèces de tiques sont susceptibles d'utiliser ces deux stratégies, en fonction des conditions climatiques.

3.6.2.6 Particularités cliniques

Typhus épidémique ou exanthématique

Il est transmis par les puces de rat — *Xenopsylla cheopis*^{hhh} — ou de chat — *Ctenocephalides felis*ⁱⁱⁱ. La maladie a une répartition mondiale. Après incubation de 7 à 14 jours, la période d'état se caractérise par une fièvre aiguë associée à des frissons, des céphalées, des myalgies. La fièvre atteint 39 °C-41 °C avec agitation et confusion mentale. Ensuite vers les 4^{ème} et 7^{ème} jours une éruption de type maculo-papuleuse rosée aux contours mal définis, parfois pétéchiale, apparaît sur le tronc, épargnant le visage, la paume des mains et la plante des pieds. En règle générale l'évolution est favorable, mais on peut observer des tableaux sévères avec atteintes neurologiques, rénales, hépatiques ou respiratoires dans 4 % des cas ; la mortalité peut se produire en absence de traitement, en particulier en cas d'antécédents médicaux ou de déficit en G6PD.

Dans le cas des maladies non traitées, une rechute peut apparaître plusieurs années plus tard

ggg/ *Amblyomma hebraeum* : tique parasitant trois-hôtes qui transmet *Ehrlichia ruminantium*, (rickettsie cause de la cowdriose — maladie infectieuse mortelle des ruminants. Elle provoque également des morsures graves. *Amblyomma variegatum*, est également une tique à trois hôtes, transmettant la cowdriose, la fièvre Q (*Coxiella burnetii*) et la maladie du mouton de Nairobi (*Nairobi sheep disease*). Appelé aussi *tropical bont tick*.

hhh/ *Xenopsylla cheopis* : une des puces du rat qui joue le rôle de principal vecteur dans la transmission du bacille de la peste, *Yersinia pestis* (on estime à plus d'une centaine le nombre d'espèces de puces impliquées dans cette transmission). C'est aussi le vecteur du Typhus murin, une autre zoonose du rat.

iii/ *Ctenocephalides felis* : (selon Bouche [1835]) puce du chat, insecte siphonaptère qui est connu comme l'ectoparasite le plus fréquent du chat et du chien en zone tempérée. On peut aussi la rencontrer sur au moins 50 espèces de mammifères à travers le monde. Elle peut parfois pulluler sur des animaux de ferme (veaux par exemple). Une autre puce, *Ctenocephalides canis* (selon Curtis) semble spécifique du chien mais elle est peu fréquente en France.



(maladie de Brill-Zinsser).

Typhus murin ou typhus endémique

Il est transmis à l'Homme par les poux et mêmes puces du rat ou du chat. La pénétration dans l'organisme se fait par des lésions de grattage, par les muqueuses ou par inhalation et peut-être par piqûres. Il est dû au **R. mooseri**. L'incubation est de 6 à 13 jours suivie d'une fièvre et d'escarres multiples. La maladie débute progressivement avec des céphalées, des myalgies et une toux sèche. L'éruption cutanée se produit entre le 3^{ème} et le 5^{ème} jour.

Typhus de brousse ou des broussailles

C'est une zoonose, rurale endémique dans l'est du continent asiatique et dans l'ouest du Pacifique, l'Homme en est l'hôte accidentel. Elle est due à **Orientia tsutsugamushi**, transmis par les piqûres de larves d'acariens de *Trombididés* du genre *Leptotrombidium* (qui vivent dans les broussailles de régions pré-forestières). Les réservoirs des bactéries sont des rongeurs, des lapins et des porcs. L'infection augmente actuellement, elle est plus fréquente chez les voyageurs, de 1996 à 2008 elle a été de 16 cas sur 99 355 voyageurs (étude du réseau surveillance GeoSentinel).

Étude Clinique : après la piqûre, apparaît une papule indolore, puis une lésion croûteuse à pourtour érythémateux formant l'escarre noirâtre, avec adénopathie satellite, un syndrome fébrile aigu et une éruption maculo-papuleuse qui se produit à 5 à 8 jours après la piqûre ; accompagnée de délire, elle débute par le tronc et s'étend aux extrémités. Une adénopathie avec splénomégalie est retrouvée dans un tiers des cas. L'incubation totale est de 6 à 21 jours. La maladie se traduit par une fièvre de 40 à 41 °C. On note la fréquence et la gravité des manifestations extra-cutanées : neurologiques (céphalées), pulmonaires et cardiaques (détresse cardiorespiratoire) avec mortalité de 3 à 30 % selon les zones géographiques, ainsi que des myalgies et des infections conjonctivales.



Leptotrombidium : genre d'acariens de la famille des **Trombiculidae**, qui sont capables d'infecter les humains avec fièvre (infection **Orientia tsutsugamushi**) grâce à leur morsure. La forme larvaire (appelée *aoûtats*) se nourrit sur des rongeurs, mais aussi parfois les humains et les autres grands mammifères.

La fièvre africaine à tique

Elle est liée à la morsure d'**Amblyomma hebraeum**, qui transmet **Rickettsia africae**. Il y a une forte prévalence chez l'Homme d'anticorps dirigés contre **R. africae** en Afrique. Elle se singularise fréquemment par des escarres multiples localisées le plus souvent aux membres inférieurs, ainsi que par une fièvre modérée, une éruption maculo-papuleuse dans 50 % des cas, souvent même vésiculeuse ; atteignant la paume des mains et la plante des pieds. Les cas groupés sont fréquents et aucune forme sévère n'a encore été observée.



La fièvre boutonneuse méditerranéenne.

Cette maladie est endémique dans le pourtour méditerranéen, elle peut aussi survenir en Europe centrale et en Afrique, quel que soit la tranche d'âge des individus. Elle est due à des puces ou « *cat flea typhus* » maladie émergente due au **R. conorii subsp. conorii**. La transmission se fait par la tique du chien après une piqûre (vecteur et réservoir). C'est un *Ixodidae* : **Rhipicephalus sanguineus**. Elle est présente autour de la méditerranée, elle peut survenir en Europe centrale et en Afrique.



Étude clinique : Après une incubation de 6 à 7 jours, il apparaît au niveau de la piqûre une escarre cutanée d'inoculation ou tache noire, unique, à rechercher au niveau du cuir chevelu, des aisselles, du pli de l'aîne, du scrotum. Elle peut être absente, soit passée inaperçue, soit la contamination est conjonctivale. L'escarre s'accompagne d'un syndrome fébrile bruyant, fièvre à 39 °C, céphalées, myalgies. Puis au 3^{ème} jour, il apparaît une éruption maculeuse puis maculo-papuleuse siégeant au niveau du tronc, des membres, puis sur tout le corps (évolution centrifuge), y compris les paumes et les plantes, s'étendant en 1 à 3 jours, quelquefois purpurique, témoin d'une forme sévère. Elle dure de 10 à 20 jours, et est suivie d'une fine desquamation. Cette éruption est présente dans 97 % des cas. Des manifestations extra-cutanées sont associées dans 5 à 6 % des cas :

- hépato-splénomégalie^{jjj} (en particulier chez l'enfant) ;
- atteinte neurologique : stupeur ou syndrome confusionnel, convulsions (formes graves) ;
- atteinte méningée (le LCR est normal) ;
- atteinte cardiovasculaire : collapsus initial^{kkk}, bradycardie^{lll} (forme grave), modification de l'ECG ;
- atteinte pulmonaire avec image réticulo-nodulaires hilifuges^{mmm}, voir œdème en aile de papillons (formes graves) avec hypoxémieⁿⁿⁿ ;
- hypercapnie^{ooo} ;
- atteinte rénale aigüe de mécanismes physiopathologiques différents, insuffisance rénale aigüe fonctionnelle, nécrose tubulaire aigüe, glomérulonéphrite extra-capillaire^{ppp}.

La maladie qui est généralement bénigne, peut être sévère dans les cas de déficit immunitaire, la mortalité est de 1 à 5 %. Il peut y avoir des anomalies biologiques avec syndrome inflammatoire, thrombopénie et augmentation des LDH^{qqq}.

Cette espèce semble originaire des régions sèches subdésertiques, où une souche se serait adaptée au chien (probablement à partir du chacal) et est devenue endophile (domestique). Avec les échanges et déplacements de chiens, la souche est devenue cosmopolite. En France, sa distribution est essentiellement méditerranéenne, ailleurs elle serait transportée par les vacanciers et chasseurs au retour de promenades ou de parcours de chasse dans une zone infestée.

3.6.2.7 Infection à *Rickettsia helvetica*

Il provoque un syndrome grippal estival comportant fièvre prolongée, céphalées, arthralgies, myalgies. Elle est habituellement dépourvue d'éruption, d'escarre ou de lymphadénopathies^{rrr}.

Toutefois des cas de septicémie, d'éruption et d'escarre sont possibles. Un premier cas de méningite a été identifié chez une suédoise de 56 ans, en Suède, des cas de paralysie faciale et de surdité subite ont pu être rattachés dans 10 à 20 % des cas à différentes espèces de *Rickettsia*. Il a été signalé

jjj/ hépato-splénomégalie : augmentation de volume du foie et de la rate.

kkk/ collapsus initial : chute du remplissage sanguin des vaisseaux, tachycardie et hypotension annonçant un état de choc.

lll/ bradycardie : ralentissement de la fréquence cardiaque.

mmm/ réticulo-nodulaires hilifuges : lésion pulmonaire en forme de masse arrondie à zone centrale nécrosée, entourés d'une couche épithélioïde avec des vaisseaux sanguins et des cellules géantes et une couche périphérique de lymphocytes.

nnn/ hypoxémie : diminution de la quantité d'oxygène transportée dans le sang. La pression partielle en O₂ diminue (synonyme généralement d'un mauvais échange entre les alvéoles pulmonaires et les capillaires sanguins).

ooo/ hypercapnie ou l'hypercarbie : phénomène qui survient lorsque la pression partielle de CO₂ dans le sang artériel normalement voisine de 5,3 kPa ± 0.5 (40 mmHg ± 4) devient trop importante. On parle alors de surcharge du sang artériel en CO₂.

ppp/ glomérulonéphrite extra-capillaire : atteinte inflammatoire des glomérules (unité vasculaire de filtration du rein), souvent consécutive à une infection. Elle est à l'origine d'une insuffisance rénale, d'évolution aiguë ou chronique, temporaire ou définitive.

qqq/ LDH : la lactate déshydrogénase est utilisée en diagnostic comme marqueur de dommage tissulaire. Comme la LDH est abondante dans les globules rouges, elle peut servir de marqueur de l'hémolyse. Un échantillon sanguin qui aurait été traité de façon incorrecte peut avoir des activités élevées faussement-positives de LDH à cause des dommages aux érythrocytes. La LDH-4 est un marqueur des problèmes rénaux.

rrr/ lymphadénopathies : atteinte des ganglions lymphatiques qui augmentent de volume, pouvant devenir douloureux, inflammés (lymphadénite). Tout processus inflammatoire (infectieux, tumoral...) peut être à l'origine d'une lymphadénopathie.

que la bactérie peut aussi occasionner des atteintes chroniques se manifestant par des arrêts cardiaques (cette observation n'a cependant pu être confirmée par l'isolement de la bactérie).

La fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses

Elle a pour synonyme : « Typhus à Tiques » ; « Fièvre de Malvoisie » (en Colombie) ; « Fièvre de Sao Paulo » ou « Fièvre maculosa » (au Brésil) et « Fièvre manchada » (au Mexique). La maladie est provoquée par *Rickettsia rickettsii*, une bactérie qui est transmise aux humains par une tique dure (*Dermacentor*).



La maladie peut être difficile à diagnostiquer au début. Elle a été longtemps considérée comme étant de loin la plus sévère de toutes les rickettsioses, avec une mortalité de 5 % environ. C'est une fièvre éruptive dépourvue d'escarre d'inoculation et même d'éruption, dans environ 10 % des formes.

Elle est due *Amblyomma americanum* (une tique parasitant trois hôtes différents, qui provoque des piqûres douloureuses avec paralysie, elle transmet la fièvre Q, la tularémie et la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses. Cette tique est appelée aussi Lone Star Tick).

Les infections par *R. rickettsii*, *R. massiliae* et par *R. raoultii* présentent la particularité de ne pas répondre au traitement par la rifampicine. La réalisation d'un bilan biologique initial durant la première semaine d'évolution, permet le plus souvent d'observer une leucopénie, une thrombopénie ou une élévation modérée des transaminases. Ces anomalies, très évocatrices, orientent vers les sérologies de seconde intention, qui confirmeront le diagnostic.

La fièvre vésiculeuse ou rickettsiose varicelliforme ou *Rickettsialpox*

Elle est due à *Rickettsia akari*. Elle a été décrite à New York en 1946. Elle est transmise par *Liponyssoides sanguineus* (qui est classé dans les mites sanguicoles microscopiques), ectoparasite des souris. C'est une rickettsiose retrouvée aux Etats-Unis, en Croatie, en Slovénie, en Ukraine, en Turquie, en Afrique du Sud.

Étude clinique : l'incubation est de 7 à 10 jours. Il apparaît au niveau de la piqûre une papule érythémateuse, puis une vésicule, puis une escarre avec adénopathie satellite. Le début est brutal avec fièvre élevée, frissons, myalgies, photophobie, puis une éruption à type de papules érythémateuses centrées sur une vésicule ou une pustule (souvent discrète). L'évolution est favorable en 3 semaines (même sans traitement). Le diagnostic différentiel doit être fait avec la varicelle, d'où son nom de rickettsiose varicelliforme.

3.6.2.8 Diagnostic

Le diagnostic de rickettsiose repose d'abord sur des données cliniques et surtout épidémiologiques (lieu de résidence du patient, la notion de voyage récent en zone d'endémie, la saison, l'espèce de tique vectrice, le réservoir : chien, chat..., l'activité du sujet : profession, loisirs...).

➤ Diagnostic sérologique

La détection des anticorps spécifiques est habituellement possible après 2 à 3 semaines d'évolution de la maladie. Il n'existe que très peu de réactions croisées avec des espèces non-rickettsiennes. D'ailleurs, la réaction de Weil-Felix^{sss} utilise l'existence de réactions croisées de trois souches de *Proteus* utilisées comme antigènes (*P. vulgaris* OX2, *P. vulgaris* OX19 et *P. mirabilis* OXK).

sss/ Réaction de Weil-Felix : test d'agglutination pour divers rickettsioses (comme le typhus et la fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses) à l'aide de souches particulières des bactéries du genre *Proteus* qui ont des antigènes commun avec les rickettsies à identifier.



De fortes réactions croisées sont par contre fréquentes entre les différentes espèces de *Rickettsia*, il est d'ailleurs possible que ces réponses sérologiques soient accompagnées d'une séroprotection croisée. Le sérodiagnostic de rickettsiose repose sur la fixation du complément, et sur l'immunofluorescence-IgM qui est plus précoce. Concernant l'interprétation des résultats, il est nécessaire de rappeler qu'en zone d'endémie, les sérologies positives sur un seul sérum peuvent témoigner simplement de l'existence d'une cicatrice sérologique.

Les sérums doivent être testés en fonction de l'origine géographique des prélèvements (Europe, Asie, Amérique ou Afrique). C'est la raison pour laquelle ils doivent toujours être accompagnés d'une fiche de recueil des renseignements épidémiologiques et cliniques (fiche établie par le CNR des *Rickettsia*, d'autres fiches sont aussi disponibles sur son site). Ces sérums sont quantifiés en IgG et IgM.

Il est recommandé d'adresser un second sérum à 10-15 jours d'intervalle du premier, afin d'objectiver une ascension des titres, ou une séroconversion. La fièvre à tique africaine se traduit par une séroconversion plus tardive qu'au cours des autres rickettsioses. Les IgM apparaissent environ 25 jours après le début des symptômes, les IgG après 28 jours. En conséquence, il faut demander un second sérum tardif, au moins quatre semaines après le début des symptômes.

Il existe un test de diagnostic rapide (TDR) qui consiste en la détection des anticorps IgG, IgM, IgA de *O. tsutsugamushi*. Il est développé dans le sérum, le plasma et le sang total. Sa sensibilité serait de 99 % et sa spécificité de 96 %.

Seuils de positivité utilisés au Centre National des Rickettsioses (Marseille) :

- Fièvre boutonneuse méditerranéenne (*Rickettsia conorii*) : IgG > 128 et IgM > 6
- Infections à *R. africae* et *R. slovaca* : IgG > 64 et IgM > 32
- Autres rickettsioses : IgG > 64 et IgM > 32

➤ Diagnostic direct

• Par culture

L'isolement et l'identification des *Rickettsia* sont difficiles et ne se font pas en routine. Ces bactéries peuvent être mises en évidence par immunofluorescence directe d'une biopsie cutanée ou du vecteur. Pour accroître les chances de succès de l'examen, les biopsies doivent être prélevées avant tout traitement, envoyées en carboglace et exploitées dans les délais les plus courts possibles.

Pour le diagnostic des rickettsioses comme pour celui de la leishmaniose, il est habituel de prélever une biopsie, ce geste aussi technique qu'inconfortable pour le patient n'est pas totalement dénué de risque. Une technique novatrice, pratiquement aussi sensible, sur papier filtre, pourrait bientôt lui succéder.

L'identification ne repose plus maintenant sur l'utilisation fastidieuse d'anticorps monoclonaux, mais essentiellement sur l'amplification génique et le séquençage.

• Amplification génique

Le diagnostic peut être confirmé par PCR, les méthodes moléculaires sont d'ailleurs nettement plus sensibles que la culture. Toutefois l'antibiothérapie précoce réduit aussi significativement la sensibilité de la PCR, au point qu'un résultat négatif n'exclut pas formellement une infection active.

Selon l'étude du CNR publiée en février 2012, la *Real-time PCR* est peu coûteuse et réduit le délai de diagnostic des rickettsioses, elle pourrait être largement employée par les laboratoires de biologie moléculaire. Dans cette hypothèse elle devrait être intégrée aux outils diagnostics existants.

3.6.2.9 Traitement

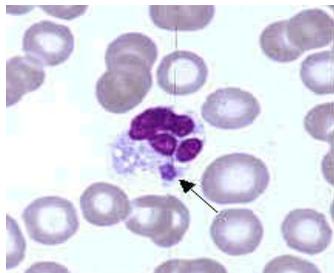
Une thérapie probabiliste (doxycycline ou fluoroquinolones) et un traitement symptomatique doivent être entrepris devant toute suspicion de rickettsiose avant la confirmation de diagnostic.



3.6.3 Genre *Ehrlichia*

Classe *Alpha protéobactéria* ; Ordre *Rickettsiales* ; Famille *Anaplasmataceae*

Ehrlichia



Ce sont des bactéries Gram(-) qui peuvent infecter l'Homme ou l'animal. Agent de maladie toujours transmissible par les tiques. Elles sont intracellulaires strictes avec un tropisme particulier pour les cellules sanguines (leucocytes, plaquettes) et les cellules endothéliales. Cette famille comprend les dix genres suivants : *Aegyptianella*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Eperythrozoon*, *Haemobartonella*, *Cowdria*, *Neorickettsia*, *Neoehrlichia*, *Paranaplasma* et *Xenohaliotis* qui sont des formes pathogènes pour l'Homme ou les animaux. Les *Ehrlichia* se divisent selon un cycle voisin des *Chlamydia*. Le relargage des particules infectieuses se fait par éclatement du phagosome. Les *Ehrlichia* sont transportés entre les cellules par le biais d'organes de la cellule hôte, qui sont les filopodes (actines) pendant les étapes initiales de l'infection, alors que dans les dernières étapes, qui sont l'éclatement du phagosome, ces filopodes vont protéger les bactéries contre les anticorps et les macrophages.

Genre *Cowdria* : Dans ce genre le *Cowdria ruminantium* est pathogène pour le mouton, la chèvre et les ruminants, il est transmis par les tiques. Il donne des péricardites, les cellules cibles de la bactérie sont les cellules endothéliales. La tique vectrice est l'*Amblyomma*.

Genre *Neorickettsia* : dans ce genre le *Neorickettsia helminthoeca* est un parasite d'un helminthe *Nanophyetus salmincola* qui a un cycle parasitaire complexe faisant intervenir d'une part des escargots (*Oxytrema silicula*) et d'autre part les saumons de rivière. L'hôte final est souvent le chien, qui se contamine par la nourriture (par consommation du saumon), les symptômes sont une anorexie, une déshydratation, des vomissements et une diarrhée. Les cibles de la bactérie sont les macrophages.

Genre *Anaplasma* : l'espèce pathogène *Anaplasma marginale* est génotypiquement très proche des *Ehrlichia*. C'est un parasite des érythrocytes des ruminants qui est transmis par des arthropodes vecteurs. Les animaux infectés sont les bœufs, les zébus, les bisons et les antilopes. C'est une bactérie de 0,3 à 1 µm de diamètre. Elle se multiplie par fission binaire à l'intérieur d'une vacuole dans l'érythrocyte.

Traitement : la tétracycline inhibe la multiplication de la bactérie.

Genre *Eperythrozoon* : affecte les ovins et caprins, transmis par un arthropode hématophage, ils sont localisés à la surface ou à la périphérie des globules rouges et sont à l'origine d'anémies, d'ictères et de fièvre.

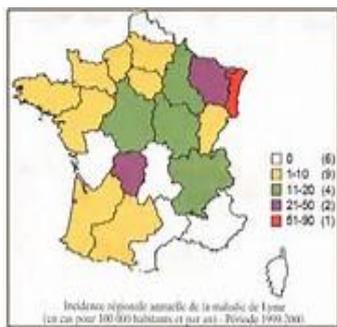
Genre *Haemobartonella* : épiérythrocytaire, il est transmis par les poux aux vertébrés.

Genre *Aegyptianella* : intraérythrocytaire, il est transmis aux oiseaux par les tiques.



3.6.3.1 Épidémiologie des *Anaplasma* spp.

Anaplasmosse et l'ehrlichiose



Répartition de l'anaplasmosse pour 100 000 habitants en France

Ce sont les régions du Nord-est et du Centre de la France qui sont le plus touchées par la maladie. Les régions du midi semblent pour le moment plus épargnées.

Les phases les plus virulentes sont présentes au cours des mois de mai à octobre, du au cycle de développement des vecteurs, mais aussi à la température qui permet aux vecteurs d'avoir une plus grande activité et un déplacement plus fréquent. Mais il faut toutefois rester vigilant sur les morsures qui pourraient être produites hors de ces périodes.

<http://www.bing.com/images/seaeh?q=anaplasmosse+humaine&qv=anaplasmosse+humaine&FORM=IGRI#view=detail&id=8AB4739287DAB5E7D80A02CDB769376510FEA5DB&selectedindex28>

3.6.3.2 Étiologie de l'ehrlichiose

Le terme d'ehrlichiose regroupe (sous des symptômes proches ou identiques) deux groupes de maladies, chacun de ces groupes étant différents en terme épidémiologique et étiologique. On a l'Ehrlichiose Monocytaire Animale (EMA) et l'Ehrlichiose Monocytaire Humaine (EMH) également nommée « Ehrlichiose à *Ehrlichia chaffeensis*¹⁷² » et Anaplasmosse humaine.

L'ehrlichiose a d'abord été décrite chez l'animal. Des infections humaines à *Ehrlichia* n'ont été diagnostiquées que plus récemment, avec d'abord l'ehrlichiose du Japon en 1953, et beaucoup plus tardivement (en 1987) l'Ehrlichiose Monocytaire Humaine avant que ne soit découverte en 1994 l'Ehrlichiose Granulocytaires Humaine¹⁷³.

Il a été mis en évidence que ces bactéries pouvaient infecter l'Homme et l'animal ; deux autres espèces *Ehrlichia canis*¹⁷⁴ et *Ehrlichia ewingii* sont responsables de l'ehrlichiose canine, elles ont été récemment décrites comme pathogènes chez l'Homme.

Les espèces pathogènes pour l'Homme, qui jusqu'à ces dernières années étaient les plus connues sont : l'*Ehrlichia sennetsu* qui donne la fièvre glandulaire et l'*Ehrlichia chaffeensis* qui donne l'ehrlichiose américaine ; ils ont pour cibles les monocytes et les macrophages.

3.6.3.3 Reclassification dans le genre *Ehrlichia*¹⁷⁵

L'évolution de la détection et des techniques analytiques génétiques ont mis au jour cinq espèces qui ont démontré leurs pathogénicités humaines :

- *Anaplasma phagocytophilum* qui provoque l'anaplasmosse granulocytaire humaine, il est endémique à la Nouvelle-Angleterre et dans les régions du Pacifique du Nord des États-Unis.
- *Ehrlichia ewingii* qui provoque l'ehrlichiose *ewingii* humaine qui infecte principalement les cerfs et les chiens et la forme la plus courante dans les États du sud et du sud-est des États-Unis.
- *Ehrlichia chaffeensis* qui provoque l'ehrlichiose Monocytaire Humaine est courante dans les États du sud des États-Unis.
- *Ehrlichia canis* qui a été détecté chez l'homme.
- *Neorickettsia sennetsu* qui provoque la fièvre glandulaire et qui a pour cible les monocytes et les macrophages. Cette maladie a seulement été trouvée au Japon et Malaisie. Les vecteurs du *N. sennetsu* sont des trématodes parasites chez les poissons. Les bactéries infectent ceux qui se nourrissent de poisson mal cuit ou poisson cru (selon le CDC). Les bactéries envahissent les monocytes et les macrophages. L'infection provoque la *Sennetsu fever*, qui est le principal symptôme avec des maux de tête, frissons, maux de gorge, insomnie.



3.6.3.4 Évolution de l'infection par la famille *Anaplasmataceae*

Phases de l'infection d'un globule blanc par *Ehrlichia* et *Anaplasma* :

1. Pénétration d'une *Ehrlichia* dans le cytoplasme.
2. à 3) Formation d'une vacuole.
3. Reproduction dans une morula (groupe circulaire de bactéries ressemblant au stade morula en embryologie).
4. Émission de bactéries infectantes (par lyse du phagosome) avec protection des bactéries par les filopodes.

Les *Anaplasma* et les *Ehrlichia* sont des bactéries zoonotiques intracellulaires obligatoires (elles ne peuvent se développer qu'à l'intérieur de certains globules blancs ou érythrocytes de leur hôte). Si on les colore, elles apparaissent en microscopie comme des « cocci » de 1 à 3 µm de diamètre.

Dans la phase aiguë de la maladie elles forment des « morulae » pathognomonique (spécifique organisation de ces bactéries, qui n'apparaissent cependant que dans 1 à 42 % des polynucléaires neutrophiles) circulant pour l'anaplasmose et dans les monocytes et macrophages pour l'EMH¹⁷⁶.

La formation de *morula* est une caractéristique de cette famille de bactéries pathogènes, c'est un élément majeur du diagnostic. La bactérie peut aussi constituer des morulas dans les phagosomes et les macrophages de la rate, du foie, des poumons, des reins, de la moelle osseuse et du liquide céphalo-rachidien (détectées après biopsie)¹⁷⁷.

La maladie s'exprime (une à trois semaines après la morsure de la tique) par un syndrome grippal aigu et non spécifique (avec fièvre dans 98 % des cas), il apparaît des céphalées (81 % des cas), des myalgies (68 % des cas) et signes digestifs possibles (anorexie, nausées, vomissements, douleurs abdominales dans 50 % des cas environ), ou de la conjonctivite. Parfois, des pharyngites, avec une toux ou des lymphadénopathies sont observées (25 % des cas), avec aussi un état confusionnel dans environ 25 % des cas¹⁷⁸.

Les symptômes peuvent comporter une pneumopathie atypique associée, ce qui est fréquent aux États-Unis, et une pneumonie interstitielle qui a été décrite en Alsace en 2002¹⁷⁹.

Des éruptions cutanées sont plus fréquentes dans l'EMH, dans environ 30 % des cas (elles sont rares en cas d'anaplasmose granulocytaire, environ 2 %), principalement dans la première semaine, leur répartition est indépendante de la localisation de la morsure.

Formes cliniques : elles varient en modalités et intensités, de formes asymptomatiques (selon S. Dumler aux États-Unis seuls 1 % des cas seraient diagnostiqués, les autres étant infra-cliniques ou faisant l'objet d'erreurs de diagnostic) à des formes mortelles et nosocomiales (qui ont été observée dans un cas en Chine). Le décès est dû à une septicémie, une détresse respiratoire aiguë, rhabdomyolyse^{ttt}, hémorragies, neuropathies périphériques ou à des infections opportunistes ou nosocomiales avec éventuelles complications graves : rénales, hépatiques ou cardiaques. Parfois 50 à 60 % des malades (aux États-Unis) meurent dans les formes graves^{180,181}. Un diagnostic et des soins précoces atténuent la gravité des épisodes.

Une hypothèse (établie à partir de cas d'animaux, mais à confirmer) serait que des infections répétées pourraient ensuite dégénérer en phase chronique sévère¹⁸².

Gravité de l'infection

- Pour l'EMH (Ehrlichiose monocytique humaine) : 60 % des malades sont hospitalisés, avec 2 à 3 % de décès.
- Pour l'anaplasmose : 28 à 54 % des malades sont hospitalisés (selon les sources) avec 7 à 10 % de décès.

ttt/ rhabdomyolyse : rupture (par écrasement mécanique ou intoxication) des cellules musculaires striées avec libération, par les cellules détruites, de myoglobine (équivalent de l'hémoglobine, permettant la respiration musculaire) qui est retrouvée dans les urines (myoglobulinurie) et leur donne une coloration brune.



Quand le malade guérit, il y a le plus souvent guérison spontanée sans traitement après 10 jours de fièvre chez l'enfant ; mais l'adulte est victime d'une infection plus chronique, avec fièvre rémittente durant 3 à 11 semaines.

Le risque de décès est élevé en cas de déficit immunitaire.

3.6.3.5 Diagnostic

Les prélèvements sanguins, permettent, surtout la première semaine des manifestations, de l'infection, de caractériser la maladie :

- leucopénie dans 60 % des cas,
- thrombocytopénie dans 68 % des EMH et 90 % des anaplasmoses,
- anémie modérée dans 50 % des cas,
- inclusions caractéristiques (*morulae* ou corps élémentaires) dans le cytoplasme des neutrophiles.

Insuffisance rénale dans 70 % des cas, élévation modérée des transaminases hépatiques dans 86 % des cas¹⁸³, et LDH et bilirubine qui sont élevées dans tous les cas testés. Le frottis sanguin (coloré) montre (mais pas toujours facilement pour un non spécialiste) des *morulae* pathognomoniques. Les *morulae* ne sont visibles que dans 1 à 42 % des polynucléaires neutrophiles circulant pour l'anaplasmose (et dans les monocytes et macrophages pour l'EMH)¹⁸⁴.

Il en existe aussi dans les phagosomes des macrophages de la rate, du foie, des poumons, des reins, de la moelle osseuse et du LCR (détectées à l'autopsie)¹⁸⁵.

➤ Diagnostic sérologique

L'immunofluorescence indirecte (IFI), à partir de la troisième semaine, peut souvent confirmer le diagnostic. Un test Elisa existe maintenant pour l'anaplasmose humaine, basé sur l'antigène recombinant HGE 44 et qui semble dépourvu de réactions croisées avec la borréliose de Lyme, la syphilis, la polyarthrite rhumatoïde et l'ehrlichiose¹⁸⁶.

➤ Diagnostic PCR

La PCR permet maintenant une confirmation en 24 à 48 heures, ce qui permet de limiter les risques de complications (rares mais graves) par un traitement précoce.

Un cas clinique d'ehrlichiose est certain aux conditions suivantes :

- taux d'anticorps anti-**A. phagocytophilum** augmentant d'au moins quatre fois le titre entre la phase aiguë et la convalescence, avec un minimum de 1/64 ;
- PCR est positive ;
- des *morulae* sont identifiées dans les leucocytes et le taux d'anticorps anti- A. phagocytophilum est positif (selon les seuils de positivité de chaque laboratoire) ;
- coloration immuno-histo-chimique de l'antigène **A. phagocytophilum** positive (sur biopsie ou tissus d'autopsie) ;
- culture d'**A. phagocytophilum** positive.

Un cas est dit probable, si :

- syndrome grippal avec sérologie au moins égale à 1/80 en IFI ;
- ou si des *morulae* sont visibles dans les frottis sanguins¹⁸⁷.

En cas de traitement très précoce, la sérologie peut ne pas se positiver (la PCR permet alors un diagnostic de certitude). La sérologie est positive chez 100 % des autres convalescents et peut le rester jusqu'à 4 ou 5 ans après l'infection. Une sérologie positive n'indique cependant pas nécessairement une infection aiguë (2/3 au moins des séroconversions sont asymptomatiques). Quelques réinfections documentées dans les deux ans suivant une infection par **A. phagocytophilum** montrent que l'immunité n'est pas durable ou pas toujours durable¹⁸⁸. Seule l'évolution de la sérologie permet de conclure.



En cas de complications neurologiques, l'étude du liquide céphalo-rachdien (LCR) montre une pléiocytose^{uuu} avec *morulae* dans les phagosomes des leucocytes. L'immunocytologie et la PCR prouvent aussi la présence d'*Ehrlichia* ou d'*Anaplasma* dans le LCR¹⁸⁹.

3.6.4 Genre *FRANCISELLA*

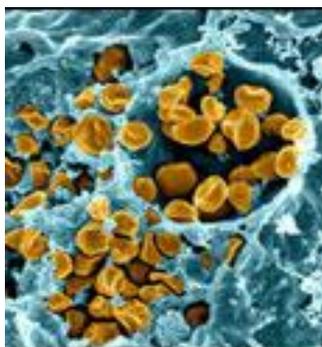
3.6.4.1 Description

**Embranchement *Proteobacteria* ; Classe *Gamma-proteobactéria* ; Ordre *Thiotrichales*
Famille *Francisellaceae***

Genre *Francisella*

(Mc Coy and Chapin 1912 ; Dorofe'ev 1974)

Le genre *Francisella* comporte trois espèces ***F. tularensis* subsp *tularensis***, ***F. tularensis* subsp *novicida*** et ***F. tularensis* subsp *holarctica***. Ce sont de très petits coccobacilles à la limite de la visibilité au microscope optique (0,3 - 0,6 μ). Ils sont immobiles, bactérie Gram(-), ils pénètrent dans les organismes par inoculation ou ingestion et ont une multiplication à la fois intra et extracellulaire. Il s'agit d'un germe fastidieux nécessitant des milieux de culture enrichis pour sa croissance. L'étude de l'ARNr 16s montre que le genre *Francisella* appartient au groupe gamma des *Proteobacteria* et est proche des *Coxiella* et *Legionella*. La bactérie isolée du tique ***Wolbachia persica*** est en réalité une *Francisella*.



Le génome de ***F. tularensis*** a été séquencé et est relativement petit puisqu'il mesure seulement 1 892 819 paires de bases. Les auteurs du séquençage ont analysé les voies métaboliques et ont trouvé une proportion élevée de voies métaboliques incomplètes expliquant la nature fastidieuse des besoins nutritionnels de la bactérie et donc le fait que celle-ci soit un parasite obligatoire. Le ***F. tularensis*** est l'agent étiologique de la tularémie qui atteint l'Homme accidentellement. La biologie, les génomes et les capacités de la virulence de ces organismes sont sous enquête active dans les établissements de recherche dans le monde entier.

« Après les travaux d'Olfsujev et al., de Jellison et al., d'Aikimbaev et d'Olfsujev et Meschcheryakova en 1983, plusieurs sous-espèces de ***F. tularensis*** sont maintenant validées :

- ***F. tularensis* subsp. *tularensis*** (ancien biovar *tularensis*, ancien type A), espèce la plus virulente
- ***F. tularensis* subsp. *holarctica*** (ancien biovar *holarctica* ou encore *paelearctica*, ancien type B), moins pathogène, était jusqu'en 1998, la seule rencontrée en Europe et au nord des États-Unis et au Canada.
- ***F. tularensis* subsp. *mediasiatica* (strain FSC147)** sévit en Asie et est comparable à ***F. tularensis* subsp. *holarctica*** pour sa virulence. »¹⁹⁰.



Culture de *Francisella tularensis*

Le milieu de culture utilisé est le milieu de Francis : gélose fondue et maintenue à 48 °C avec glucose 1 %, cystéine 1 %, sang défibriné stérile de lapin 10 %. C'est une bactérie facultative intracellulaire nécessitant une cystéine de croissance.

3.6.4.2 Cycle de la bactérie

La tularémie est une maladie infectieuse protéiforme rencontrée exclusivement dans l'hémisphère nord. La maladie, de même que son agent étiologique, a été identifiée pour la première fois en 1911 en Californie lors d'une épidémie de « pseudo peste » chez des rongeurs. Par la suite des infections à

^{uuu}/ Présence en abondance de cellules dans un tissu ou liquide.

F. tularensis ont été diagnostiquées dans de nombreuses espèces animales. Une des particularités de cette maladie est d'être acquise par contact direct avec un animal infecté. Il s'agit d'une bactérie extrêmement contagieuse. **F. tularensis** a été classée dans le groupe de risque A par le CDC et doit, à ce titre être manipulé dans des laboratoires de biosécurité de type P3. Ceci est d'autant plus important que le risque de contamination du personnel de laboratoire est important, ce dont témoigne la survenue récente de trois cas de pneumonies sévères à **F. tularensis** chez des employés de laboratoire aux Etats-Unis.

F. tularensis est une bactérie intracellulaire facultative qui est capable d'infecter la plupart des types de cellules, mais principalement infecte les macrophages de l'organisme hôte. L'entrée de **F. tularensis** dans le macrophage s'effectue *via* la phagocytose et la bactérie est séquestrée depuis l'intérieur de la cellule infectée par un phagosome. Puis **F. tularensis** est libérée de ce phagosome dans le cytosol et prolifère rapidement. Finalement la cellule infectée subit l'apoptose^{vvv}, et les bactéries de la progéniture sont libérées pour initier de nouveaux cycles d'infection.

3.6.4.3 Modes de transmission

La voie de contamination la plus fréquente est cutanéomuqueuse. **F. tularensis** pénètre dans les tissus par une brèche cutanée ou en traversant la peau saine lors de contact direct avec des animaux atteints ou par piqûre de tiques.



Deux espèces sont impliquées : les *Ixodes* et les *Derma-centors* qui jouent un rôle à la fois dans la dissémination de la maladie au sein des populations d'animaux sauvages et dans la transmission à l'Homme.



Plus rarement, la contamination peut être causée par des piqûres d'insectes *Tabanidea* (insectes diptères) appelés communément taons.

Il existe souvent un parallèle entre les épidémies de tularémie chez l'Homme et chez les animaux sauvages.

Une transmission par aérosols liée à la manipulation d'animaux infectés ou de produits contaminés est également possible tout comme la transmission par voie digestive par ingestion d'eau contaminée ou de viande insuffisamment cuite. Il n'existe pas de cas décrit de transmission de personne à personne de **F. tularensis**. Il n'est donc pas nécessaire d'isoler les patients atteints de tularémie.

3.6.4.4 Réservoirs bactériens

Lapins, lièvres et les rongeurs sont particulièrement sensibles et souvent meurent en grand nombre lors d'épidémies¹⁹¹.

3.6.4.5 Pathologie¹⁹²

Prévalence : en France la tularémie est une maladie à déclaration obligatoire depuis 2002. La fréquence basée



vvv/ apoptose : (ou la **mort cellulaire programmée**) est le processus par lequel des cellules déclenchent leur autodestruction en réponse à un signal. C'est l'une des voies possibles de la mort cellulaire, qui est physiologique, génétiquement programmée, nécessaire à la survie des organismes multicellulaires. Elle est en équilibre constant avec la prolifération cellulaire. Contrairement à la nécrose, elle ne provoque pas d'inflammation : les membranes ne sont pas détruites, du moins dans un premier temps, et la cellule émet des signaux (en particulier, elle expose sur le feuillet externe de sa membrane plasmique de la phosphatidylsérine, un phospholipide normalement constitutif de son feuillet interne) qui permettront sa phagocytose par des globules blancs, notamment des macrophages.

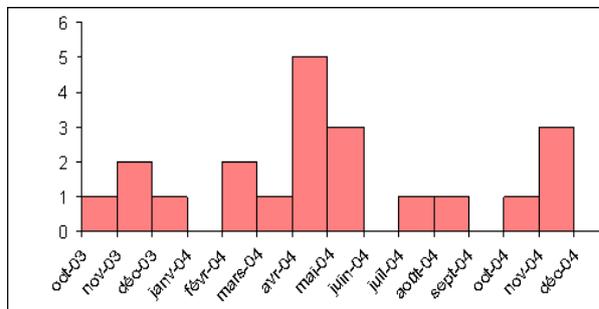


sur la déclaration est de 25 cas en 2002-2003 et de 21 cas en 2004 sa répartition est présentée sur la carte ci-contre.

Il existe deux pics d'incidence annuels : de juin à août (tiques), et en hiver en raison de la chasse. Cependant, des cas estivaux peuvent également survenir chez des individus mordus par des tiques. Des bouffées épidémiques surviennent tous les 3 ou 4 ans au moment des pics de population des petits mammifères.

La tularémie est une maladie professionnelle chez les gardes forestiers, les équarisseurs, les bouchers, les cuisiniers, les fermiers, les vétérinaires et les personnels de laboratoire.

Signes cliniques : l'incubation dure 3 à 5 jours après la contamination, le début est brutal et associe une fièvre, des frissons, des maux de tête, une sensation de malaise, une perte d'appétit et une fatigue. Parfois se rencontrent une toux, des douleurs musculaires, des vomissements, des douleurs abdominales et une diarrhée.



On distingue six formes principales de tularémie :

- Forme **ulcéro-glandulaire** qui est la conséquence d'une piqûre de tique infectée ou plus rarement de la pénétration de la bactérie à travers la peau lésée. Elle associe une lésion cutanée ulcérée parfois une escarre et un ganglion dans le territoire de drainage.
- Forme **cutanée**



- Il existe des formes cutanées pures (escarre d'inoculation plus ou moins associé à des éléments éruptifs) qui peuvent être confondues avec le charbon ou une rickettsiose.
- Une forme sans lésion cutanée est appelée glandulaire pure. La tularémie fait partie des étiologies des adénites et peut être confondue avec la maladie des griffes du chat.
- Lorsque la bactérie est apportée par les mains à travers la conjonctive il se forme des ulcères ou des nodules de la cornée définissant la **forme oculo-glandulaire**.

L'évolution de ces formes est en général bénigne.

- Une autre forme de tularémie est la **forme septicémique** ou pseudo-typhoïdienne qui se traduit par de la fièvre sans aucun des signes décrits ci-dessus.
- Si la bactérie est inhalée, lors des manipulations de viande contaminée ou lors d'une exposition accidentelle par exemple, elle va déterminer une **forme pulmonaire** sévère. Enfin la bactérie peut pénétrer l'organisme par ingestion d'eau ou de nourriture contaminée et déterminer une forme digestive (pharyngite ou gastro-entérite).

Ces formes sont en règle très graves avec un décès dans 30 à 60 % des cas.



3.6.4.6 Risque de tularémie dans les activités de spéléologie et canyonisme

Les risques dans ces activités peuvent être à la fois dans les marches d'approche et dans le lieu d'activité du au parasitisme (tiques, mouches). Pour la spéléologie la présence de cadavres dans les entrées de cavité, peut attirer des diptères qui peuvent être vecteurs dans le cas d'une enzootie.

3.6.4.7 Prévention

- Utilisation d'insectifuge.
- Porter des gants lorsque vous manipulez des animaux malades ou morts.

3.6.4.8 Prélèvements

- Biopsie d'adénopathies ou biopsie cutanée (à congeler à -80°C , puis à envoyer en carboglace) + une partie en formol à 10 % conservé à température ambiante.
- Sérum (deux tubes secs, bouchon rouge).
- Sang sur tube hépariné
- Hémocultures qui sont de moins en moins utilisées.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- René GINET et Vasile DECOU, *Initiation à la biologie et à l'écologie souterraines*, éd. J.-P. DELARGE, 1989
- 2- www.troglorites.fr/index.htm
- 3- James F. KATING, and TAZWELL, "Admospheric composition and climate on the early", ed. Archive, septembre 2006
- 4- E. ZETTLER and al., *Env. Sci. & Tech.*, 47, 7137, 2013 (publié dans *La Recherche* N°479 septembre 2013)
- 5- Serge FOUNTIER, Denise PICHOD-VIALE, Alain LEPRETRE, Dominique et Christophe LUCZARK, *Ecosytèmes*, éd. Dunod, 4^e éd. 2008
- 6- J.A. LAKE, "Origin of the eukaryotic nucleus determined by rate-invariant analysis of rRNA sequences", *Nature*, vol.331, n°6152, 1988, pp. 184–6
- 7- S. A. WAKSMAN, *Principles of soil microbiology*, Baillière, Tindall, Londres, 1927
- 8- FFS : Présentation Stage Équipier Scientifique, 2011
- 9- Thierry MONTESINOS et Sophie BERNARD, *Nemausa spécial N°6*, Association spéléologique Nîmoise, *Guide des cavernicoles*, 6 & 7, 2013
- 10- Commission nationale pour la protection des cavernes et du karst, FFS



- 11- Diana E. NORTHUP, Cynthia A. CONNOLLY, Amanda TRENT, Vickie M. PECK, Michael N. SPILDE, W. Calvin WELBOURN, and Donald O. NATVIG, "The Nature of Bacterial Communities in Four Windows Cave, El Malpais National Monument, New Mexico, USA", *AMCS Bulletin* 19 / SMES Boletín 7, pp. 119-125, 2004
- 12- Iva TOMOVA, Irina LAZARKEVICH, Anna TOMOVA, Margarita KAMBOUROVA, and Evgenia VASILEVA-TONKOVA, "Diversity and biosynthetic potential of culturable aerobic heterotrophic bacteria isolated from Magura Cave, Bulgaria", *International Journal of Speleology*, 42 (1), pp. 65-76. Tampa, FL (USA), January 2013
- 13- Didier CAILHOL, Isabelle DOMAIZON, Émilie CHALMIN, Fabien HOBLÉA, Hélène MANUSE, and Yann TUAL, "Characterization of prokaryotic and eukaryotic diversity in microbial mats from the gouffre de la Sambuy, Seythenex, Savoie, France", *Karst and Microorganisms*, 22nd International Karstological School Classical karst, Jun 2014, Postojna, Slovenia, <https://hal.archives-ouvertes.fr/halsde-01023697>
- 14- Jacques DUCHE, *La biologie des sols*, p. 22, PUF, 1962
- 15- W. LEVINSON, *Examen de la microbiologie médicale et l'immunologie*, McGraw Hill, 2010
- 16- P.R. MURRAY, E.J., BARON, J.H. JORGENSEN, M.L. Landry, and M.A. PFALLER, (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed.). Washington, ASM Press, 2007
- 17- K.J. RYAN, and C.G. Ray, (Eds.), *Sherris Medical Microbiology, an introduction to infectious disease*. (4th ed.). New-York, McGraw-Hill, 2004
- 18- M. GOODFELLOW, "Nocardia and Related General" In A. BALOWS and B.I. DUERDEN (Eds.), *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, London, Arnold, 1998, p 463
- 19- P.N. ACHA; and B. SZYFRES, *Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals* (3rd ed.), Washington, D.C., Pan American Health Organization, 2003
- 20- François TREMOLIERES, Experts, *Nocardiose pulmonaire*, 2009
- 21- T. JIMENEZ, A.M. DIAZ, and H. ZLOTNIK, "Monoclonal antibodies to Nocardia asteroides and Nocardia brasiliensis antigens", *Journal of Clinical Microbiology*, 28 (1), 1990, pp.87-91
- 22- M. XIAO, F. KONG, T. C. SORRELL, Y. CAO, O. C. LEE, Y. LIU, V. SINTCHENKO, and S. C. CHEN, "Identification of pathogenic Nocardia species by reverse line blot hybridization targeting the 16S rRNA and 16S-23S rRNA gene spacer regions", *Journal of Clinical Microbiology*, 48 (2), 2010, pp. 503-511, doi:10.1128/JCM.01761-09
- 23- Koji TOMITA, Yasukazu NAKAKITA, and al., "New Genus of the Actinomycetales: *Streptoalloteichus hindustanus* gen. nov., nom. rev.; sp. nov., nom. rev.", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 37, n° 3, juillet 1987, p. 211-213
- 24- Tomohiko TAMURA, Yuumi ISHIDA and al, "Classification of *Streptomyces tenebrarius* Higgins and Kastner as *Streptoalloteichus tenebrarius* nom. rev., comb. nov., and emended description of the genus *Streptoalloteichus*", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 58, n° 3, mars 2008, p. 688-691
- 25- *Arch Dermatol* 1985 ; 121:pp. 1332-1334
- 26- Martin ESCHBACH and al., "Members of the genus *Arthrobacter* grow anaerobically using nitrate ammonification and fermentative processes: anaerobic adaptation of aerobic bacteria abundant in soil", *FEMS Microbiology Letter*, 223: n°2, pp. 227-230, 2003
- 27- Guido FUNKE et al., "Characteristics of *Arthrobacter cummingsii*, the most frequently encountered *Arthrobacter* species in human clinical specimens" *Journal of Clinical Microbiologie*, 36: pp. 1539-1543, 1998
- 28- C.L. GREENBLAT, J. BAUM, B.Y. KLEIN, S. NACHSHON, V. KOLTUNOV, and R.J. CANO, "Micrococcus luteus – Survival in Amber", *Microbial Ecology*, vol. 48, n° 1, 2004, p. 120–127
- 29- J.P. EUZÉBY, "List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet", *Int. J. Syst Bacteriol* 47 (2): 590–2. doi:10.1099/00207713-47-2-590, 1997
- 30- S.H. ALIYU, R.K. MARRIOTT, M.D. CURRAN, and al., "Real-time PCR investigation into the importance of *Fusobacterium necrophorum* as a cause of acute pharyngitis in general practice", *J Med Microbiol*, vol. 53, 2004, p. 1029–35
- 31- L. HAGELSKJAER KRISTENSEN, and J. PRAG., "Human necrobacillosis, with emphasis on Lemierre's syndrome", *Clin Infect Dis*, vol. 31, n° 2, 200, p. 524–532



- 32-** Stanley WATSON, Eberhard BOCK, Frederica W. VALOIS, John B. WATERBURY, and Ursula SCHLOSSER, “*Nitrospira marina* gen. nov. sp. nov. : a chemolithotrophic nitrite- oxidizing bacterium”, *Arch. Microbiol* 144, 1986, pp. 1-7
- 33-** E.A. HENRY, R. DEVEREUX, J.S. MAKI, C.C. GILMOUR, C.R. WOESE, L. MANDELCO, R. SCHAUDER, C.C. REMSEN, and R. MITCHELL, “Characterization of a new thermophilic sulfate-reducing bacterium *Thermodesulfovibrio yellowstonii*, gen. nov. and sp. nov.: its phylogenetic relationship to *Thermodesulfobacterium commune* and their origins deep within the bacterial domain”, *Arch. Microbiol.*, 1994 Jan;161(1):62-9
- 34-** S. EHRICH, D. BEHRENS, E. LEBEDEVA, W. LUDWIG, and E. BOCK, “A new obligately chemolithoautotrophic, nitrite-oxidizing bacterium, *Nitrospira moscoviensis* sp. nov. and its phylogenetic relationship”, *Arch Microbiol*, vol. 164, n 1, 1995, pp. 16-23
- 35-** S. SALTER, M. COX, E. TURE., S. CALUS, W. COOKSON, M. MOFFATT, P. TURNER, J. PARKHILL, N. LOMAN, and WALKER, “Reactive contamination can affect seriously microbiome-based sequence analysis”, *BioRxv*. Doi :10.1101/007187. 2014
- 36-** A.C.Q. MARQUES, K.S. PALUDO, C.B. DALLAGASSA, M. SUREK, F.O. PEDROSA, E.M. SOUZA, L.M. CRUZ, J.J. LIPUMA S.M. ZANATA, F.G.M. REGO, and C.M.T. FADEL-PICHETH..“Biochemical characteristics, adhesion, and cytotoxicity of environmental and clinical isolates of *Herbaspirillum spp*” *J. Clin. Microbiol.* 53: pp. 302–308. doi:10.1128/JCM.02192-14, 2015
- 37-** Shih-Bin Robin CHANG, and Joseph Lynn KIRSCHVINK, “Magnetofossils, the magnetization of sediments, and the evolution of magnetite biomineralization”, *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 17: pp. 169-195, 1989
- 38-** Z.M. SAIYED, S.D. TELANG, and C.N. RAMCHAND, “Application of magnetic techniques in the field of drug discovery and biomedecine.” *Biomag. Res. Tech. Biomed. Central* 1 (1): 2.doi : 10.1186/1477-044X-1-2. PMC 212320. PMID 145217 20, 2003
- 39-** Lisa SAIMAN, Chen YUNHUA, Tabibi SETAREH, San Gabriel PABLO, Zhou JUYAN, Liu ZHENLING, Lai LENA, and Susan WHITTIER, “Identification and Antimicrobial Susceptibility of *Alcaligenes Xylosoxidans* Isolated from Patients with Cystic Fibrosis” *Journal of Clinical Microbiology* 39.11 (2001): 3942-945. NCBI. Web. 27 May 2014. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88468/>>
- 40-** W.J. LI, Y.Q. ZHANG, D.J. PARK, C.T LI., L.H. XU, C.J. KIM, and C.L. JIANG, “*Duganella violaceinigra* sp. nov., a novel mesophilic bacterium isolated from forest soil” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2004, 54, pp. 1811-1814
- 41-** George GARRITY, Don Krieg JUGE, Noel BRENNER, and James T. STALEY(dir.), “The Proteobacteria, partie C: Alpha-, Beta, Delta and Epsilonproteobacteria” *Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology*, Volume two, New York: Springer. pp. 354-361, 2005
- 42-** Martin DWORKIN, Stanley FALKOW, Eugene ROSENBERG, Karl-Heinz SCHLEIFER, and Erko STACKEBRANDT, “Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses”, *The Prokaryotes* vol. 5: Springer Science & Business Media
- 43-** François MANIEZ (dir.), “*Spirillum*”, *Dorland Dictionnaire médical bilingue français-anglais/anglais-français*, Issy-les-Moulineaux : Elsevier-Masson, 2009
- 44-** F. GRIMONT, and P.A.D. GRIMONT, “The genus *Serratia*”, *The Prokaryotes*, 3, 1992, pp. 2822–2848
- 45-** B. AJITHKUMAR, V.P. AJITHKUMAR, R. IRIYE, Y. DOI, and T. SAKAI, “Spore-forming *Serratia marcescens* subsp. sakuensis subsp. nov., isolated from a domestic wastewater treatment tank”, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 2003, p. 253
- 46-** M.A. MARINELLA, and R. WARWAR, “Endogenous endophthalmitis due to *Serratia marcescens*”, *Southern Medical Journal*, 91(4), p.388, 1998
- 47-** H.J. ENGEL, P.J. COLLIGNON, P.T. WHITING, and K.J. KENNEDY, “*Serratia* sp. bacteremia in Canberra, Australia: a population-based study over 10 years”, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 2009
- 48-** K.B. LAUPLAND, M.D. PARKINS, D.B. GREGSON, D.L. CHURCH, T. ROSS, and J.D. PITOUT, “Population-based laboratory surveillance for *Serratia* species isolates in a large Canadian health region”, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 27(2), pp. 89-95. doi: 10.1007/s10096-007-0400-7, 2008



- 49- M. CSUCOS and C. CSUCOS, *Microbiological obseration of water and wastewater*, United States: CRC Press,1999
- 50- D.J. BIEDENBACH, G.J. MOET, and R.N. JONES, "Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002)", *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 50(1), pp. 59-69. doi: 10.1016/j.diagmicrobio, 2004
- 51- http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa#cite_note-39
- 52- P.H. GILLIGAN, LUM G, VANDAMME, and al, "*Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Brevundimonas, Comamonas, Delftia, Pandoraea and Acidovorax*" in : MURRAY, BARON, JORGENSEN, et al., dir. *Manual of Clinical Microbiology*. 8th éd. Washington, DC: ASM Press; 2003:pp. 729-744.
- 53- R.S. WEYANT, C.W. MOSS, R.E. WEAVER, and al., "*Identification of unusual pathogenic gram-negative aerobic and anaerobic optional Bacteria.*" 2nd ed. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1996
- 54- B.E. ATKINSON, D.L. SMITH, and W.R. LOCKWOOD, "*Pseudomonas testosteroni sepsis.*", *Ann Intern Med*. 1975; 83:pp. 369-370
- 55- Onya OPOTA, Barbara NEY, Giorgio ZANETTI, Katia JATON, Gilbert GREUB, and Guy PROD'HOM; "Comamonas Kerstersii bacteremia in a patient with diverticulosis", *J. Clin. Microbiol.* August 2014 52:8 3134
- 56- N. MARKELOVA "Predacious bacteria, *Bdellovibrio* with potential for biocontrol.", *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2010
- 57- *Ibid.*
- 58- C. LAMBERT, C. CHANG, M. CAPENESS, and E. SOCKETT, "The first Bite— Profiling the predatosome in the bacterial pathogen *Bdellovibrio*," *PLoS One*, 2010
- 59- C LAMBERT, L. HOBLEY, C. CHANG, A. FENTON, M. CAPENESS, and L SOCKETT, "A predatory patchwork: Membrane and surface structures of *Bdellovibrio bacteriovorus*" *Advances in Microbial Physiology*, 2008
- 60- S. RENDULIC, A. GOESMANN, F. MEYER, E. SOCKETT, S. SCHUSTER, P. JAGTAP, A. ROSINUS, M. EPPINGER, C. BAAR, C. LANZ, H. KELLER, C. LAMBERT, and K. EVANS "A predator unmasked: Life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective" *Science*, 2004
- 61- N. MARKELOVA, *op. cit.o*
- 62- C. LAMBERT, C. CHANG, M. CAPENESS, and E. SOCKETT, *op. cit.*
- 63- E. SOCKETT, and C. LAMBERT, "*Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance?" *Nature Reviews Microbiology*, 2004, DOI: 10.1038/nrmicro959
- 64- C LAMBERT, L. HOBLEY, C. CHANG, A. FENTON, M. CAPENESS, and L SOCKETT, *op. cit.*
- 65- *Ibidem*
- 66- Chuan ZHANG, Nobutaka YANADA, Yun-Lin WU, Min WEN, Takeshi MATSUHISA, and Norio MATSUKURA, "Helicobacter pylori infection, glandular atrophy and intestinal metaplasia in superficial gastritis, gastric erosion, erosive gastritis, gastric ulcer and early gastric cancer", *World journal of gastroenterology*, WJG, vol. 11, n° 6, 2005, pp. 791-796
- 67- M.E. JONSSON, M. CHRIÉL, M. Norström, and M. HOFSHAGEN, "Effect of climate and farm environment on *Campylobacter* spp. colonization in Norwegian broiler flocks", *Preventive Veterinary Medicine*, 2012
- 68- R-S GUPTA, V. BHANDARI and H-S NAUSHAD, "Molecular signatures for the PVC clade (Planctomycetes, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Lentisphaerae) of bacteria provide insights into their evolutionary relationships", *Frontiers in microbiology* 3, 2012
- 69- M. DERRIEN, E.E. VAUGHAN, C.M. PLUGGE, and W.M. DE VOS, "Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium", *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, ISSN 1466-5026, 2004, vol. 54 (5), pp. 1469-1476
- 70- D. AUBERT « *La transition bimembranées/unimembranées : une révolution au royaume des bactéries* », 2013 hal- 01063767
- 71- Cheryl JENKINS, Vishram KEDAR, and John A. FUERST, "Gene discovery within the planctomycete division of the domain Bacteria", *Genome Biology*, vol. 3, n 6, 2002, research0031.1–0031.11



- 72- J. WANG, C. JENKINS, R-I WEBB, and J-A FUERST, "Isolation of Gemmata-like and Isophaera -like Planctomycete bacteria from soil and freshwater", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, n° 1. American Society for Microbiology, pp. 417-422, 2002
- 73- "The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria", *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol.1 (D.R. BOONE and R.W. CASTENHOLZ, eds.), Springer-Verlag, New York, 2001, pp. 465-466
- 74- George M. GARRITY, *Bergey's Manual of systematic Bacteriology 2*, Edition. Springer, New York, 2005. vol. 2. Part A: *Introductory Essays*
- 75- P. BENEDETTI, M. RASSU, G. PAVAN, A. SEFTON, and G. PELLIZZER, "Septic shock, pneumonia, and soft tissue infection due to *Myroides odoratimimus*: report of a case and review of *Myroides* infections", *Infection* **39** (2), 2011, pp. 161–165
- 76- P.R. HSUEH, J.J. WU, T.R. HSIUE, and al. "Bacteremic necrotizing fasciitis due to *Flavobacterium odoratum*." *Clin. Infect. Dis.* 1995;21:pp. 1337-1338
- 77- A. YAGCI, N. CERIKCIOGLU, M.E. KAUFMANN, and al. "Molecular typing of *Myroides odoratimimus* (*flavobacterium odoratum*) urinary tract infections in a Turkish hospital. ", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis.* 2000;19: pp. 731-732.
- 78- D.E. MAC FARLANE, P. BAUM-THUREEN, and I. CRANDON, "*Flavobacterium odoratum* ventriculitis treated with IV cefotaxime.", *J. Infect. Dis.*, 1985;11: pp. 233-238.
- 79- G. BOSERET, A. LINDEN et J. MAINIL, *Bacillus anthracis*, Faculté de médecine vétérinaire, université de Liège www2.fmv.ulg.ac.be/BACILLUSANTHRACIS.pdf
- 80- Hervé BAZIN, John LIBBEY, *L'Histoire des Vaccinations*, Eurotext, 2008
- 81- Masataka SATOMI, Myron T. LA DUC, and Kasthuri VENKATESWARAN, "Bacillus safensis sp. nov., isolated from spacecraft and assembly-facility surfaces", ed. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(8) : pp. 1735-1740. doi :10.1099/ijms. 0.64189-0. ISSN 1466-5026, 2006
- 82- J.D. HALL, L.M. MC CROSKEY, B.J. PINCOMB, and C.L. HATHEWAY "Characterization of an organism that produces type E botulinal toxin but which resembles *Clostridium butyricum* from the feces of an infant with type E botulism.", *J. Clin. Microbiol.* 21, 1985, pp. 654-655, PMC 271744
- 83- J.-P. LARPENT, M. LARPENT- GOURGAUD, *Memento technique de microbiologie*, 3^e ed., Londres New York, Tec-doc, 1990, pp. 173-247
- 84- https://fr.wikipedia.org/wiki/Clostridium_tetani#cite_note-1
- 85- *Cause specific mortality 2000-2011*, WHO [archive] (publication OMS)
- 86- "Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis", en ligne sur le site de *Nature*.
- 87- J. FRENEY, W. HANSEN, C. PLOTON, H. MEUGNIER, S. MADIÉ, N. BORNTÉIN, and J. FLEURETTE "Septicemia caused by *Sphingobacterium multivorum*", Laboratoire de Biologie - Virologie de la faculté de Médecine Alexis Carrel, 69008 Lyon
- 88- L. SAIMAN, Y. CHEN, S. TABIBI, P. SAN GABRIEL, J. ZHOU, Z. LIU, and L. LAI, "Identification and antimicrobial susceptibility of *Alcaligenes xylooxidans* isolated from patients with cystic fibrosis", *J. Clin. Microbiol.* 2001 ;39. DOI 10.1128/JCM.39.11, pp. 3942-3945, 2001
- 89- Carl R. WOESE, and George E. FOX, "Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 74, n° 11, 1^{er} novembre 1977, pp. 5088–5090
- 90- T. CAVALIER-SMITH, "Only six kingdoms of life", *Proc. R. Soc. Lond. B* 271: pp. 1251-1262, 2004
- 91- J.A. FUHRMAN, K. MCCALLUM, and A.A. DAVIS, "Novel major archaeobacterial group from marine plankton", *Nature* 356 (6365): 148–9, 1992
- 92- E.F. DELONG, "Archaea in coastal marine environments". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (12): 5685–9, 1992
- 93- S.M. BARNES, C.F. DELWICHE, J.D. PALMER, and N.R. PACE, "Perspectives on Archaeal diversity thermophily and monophyly from environmental rRNA sequences", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (17): 9188–93, 1996



- 94- Thomas D. BROCK, Katherine M. BROCK, Robert T. BELLY, and Richard L. WEISS, "Sulfolobus: A new genus of sulfur-oxidizing bacteria living at low pH and high temperature", *Archiv. für Mikrobiologie*, vol. 84, n° 1, mars 1972, p\$*. 54-68
- 95- Lanming CHEN, Kim BRÜGGER, Marie SKOVGAARD, Peter REDDER, Qunxin SHE, Elfar TORARINSSON, Bo GREVE, Mariana AWAYEZ, Arne ZIBAT, Hans-Peter KLENK, and Roger A. GARRETT. "The Genome of Sulfolobus acidocaldarius, A Model Organism of the Crenarchaeota", *Journal of Bacteriology*, July 2005. 187(14): pp. 4992–4999
- 96- Cleveland P. HICKMAN Larry ROBERTS, and Allan LARSON, *Integrated Principle of Zoology*, 11th edition, McGraw-Hill Companies, 2001
https://www.usc.es/export/sites/default/gl/investigacion/grupos/malaterra/publicaciones/Invertebrados_Lecciones/PART_II_Hickmanx_Robertsx_Larson_Integrated_Principles_of_Zoology.pdf&rct=j&frm=1&q=&esrc=s&sa=U&ei=qyH6VLr0GsKrUYTFgJgN&ved=0CBQQFjAA&usg=AFQjCNGT-jdRmE9BQc23qag2FJNjWo2MXQ
- 97- René GINET et Vasile DECOU, *op. cit.*
- 98- *Ibidem*
- 99- V. RAHARIMANGA, F. ARIEY, S.-G. CARDIFF, S.-M. GOODMAN, A. TALL, D. ROUSSET et V. ROBERT, « Hémoparasites des chauves-souris à Madagascar », *Arch. Inst Pasteur de Madagascar*, 69 (1&2) : p. 70-76, 2003
- 100- *World Register of Marine Species*, consulté le 14 décembre 2013
- 101- B.F. STONE, M.A. COMMINS, and D.H. KEMP, "Artificial feeding of the Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus* and collection of paralysing toxin", *Int. J. Parasitol.*, oct;13(5):447-54, 1983
- 102- J. NOSEK, and W. SIXL: "Central-European Ticks (*Ixodoidea*). Key for determination", *Jahrbuch der naturwissenschaftlichen Abteilung Joanneum* 1972, 1/2: pp.61–92
- 103- D.R. ARTHUR: "The Ixodes ticks of Chiroptera (*Ixodoidea*, *Ixodidae*)", *J. Parasitol.* 1956, 42: pp. 180–196
- 104- M. SEVCIK, J. KRISTOFIK, M. UHRIN, and P. Benda: "New records of ticks (*Acari: Ixodidae*) parasitising on bats in Slovakia", *Vespertilio* 2010, 13/14: pp. 139–147
- 105- B.F. STONE, M.A. COMMINS, and D.H. KEMP, *op cit.*
- 106- C.M. CLIFFORD, J.E. KEIRANS, and G.M. KOHLS: "Systematics of the subfamily *Ixodinae* (*Acarina: Ixodidae*). 1. The subgenera of *Ixodes*", *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1973, 66: pp. 489–500
- 107- D.R. ARTHUR, *op cit*
- 108- S. HORNOK, R. KOVÁCS, M.L. MELI, J. KONTSCHÁN, E. GÖNCZI, M. GYURANECZ, Á. DÁN, V. MOLNÁR, and R. HOFMANN-LEHMANN: "First detection of bartonellae in a broad range of bat ectoparasites", *Vet Microbiol* 2012, 159:pp. 541–543
- 109- J. NOSEK, and W. SIXL; D.R. ARTHUR, *op. cit.*; S LOURENCO: "Ecology of a host-parasite system. A study in temperate cavedwelling bats". Portugal : PhD Thesis, University of Lisboa ; 2008
- 110- D.R. ARTHUR, *op. cit*
- 111- K PIKSA, M NOWAK-CHMURA, K SIUDA: "First case of human infestation by the tick *Ixodes vespertilionis* (*Acari: Ixodidae*)". *Int J Acarol* 2013, 38:1–2.
- 112- D.R. ARTHUR, *op. cit.*
- 113- *Ibidem*
- 114- J. NOSEK, and W. SIXL *op. cit.*
- 115- Yves CARLIER, "Chagas Disease (American Trypanosomiasis)" [archive] *eMedicine*, 27 février 2003
- 116- K.M. BONNEY, "Chagas disease in the 21st Century: a public health success or an emerging threat?" [archive], *Parasite* 2014;21,11. PMID 24626257 [archive] DOI : 10.1051/parasite/2014012
- 117- Centers for Disease Control (CDC), "*American Typanosomyiasis Fact Sheet*", [archive], consulté le 24 septembre 2006
- 118- J. GASCON, C. BERN, and M.J. PINAZO, "Chagas disease in Spain, then United States and other non-endemic countries", [archive], *Acta Trop.*, vol. 115, issues 1-2, 2010, pp. 22-27



- 119- file:///C:/Documents%20and%20Settings/dubois/Local%20Settings/Temporary%20Internet%20Files/Content.IE5/TTN2L5YX/cours%5B1%5D.pdf
- 120- Stephan M. BLANK, Christian KUTZSCHER, Juan F. MASELLO, Robert L. PILGRIM, and Petra QUILLFELDT, "Stick-tight fleas in the nostrils and below the tongue: evolution of an extraordinary infestation site in *Hectopsylla* (Siphonaptera: Pulicidae)", *Zoological Journal of the Linnean Society*, 149 (1), 2007, pp. 117-137
- 121- Mike SERVICE, *Medical Entomology for Students* (5th ed.). Cambridge: Cambridge University Press, 2012
- 122- René GINET et Vasile DECOU, *op. cit.*
- 123- Iva TOMOVA, Irina LAZARKEVICH, Anna TOMOVA, Margarita KAMBOUROVA, and Evgenia VASILEVA-TONKOVA, "Diversity and biosynthetic potential of culturable aerobic heterotrophic bacteria isolated from Magura Cave, Bulgaria", *International Journal of Speleology*, 42 (1), pp. 65-76. Tampa, FL (USA), January 2013
- 124- <http://ictvonline.org>
- 125- Michael J. ADAMS, John F. ANTONIW, and Jan KREUZE, "Virgaviridae : a new family of rod-shaped plant viruses", in *Springer, Archives of Virology*, jan. 2009
- 126- Patrick BERCHE, *Une histoire des microbes*, Montrouge, John Libbey Eurotext, juin 2007, 307 p., p. 117
- 127- « Rage premier décès en France depuis plus de 10 ans », *Le Figaro*, 3 avril 2014
- 128- « La rage chez les chauves-souris », sur www.pasteur.fr, 27 juin 2007
- 129- Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche, « Recherche des personnes et animaux en contact avec les trois animaux enrégées », sur agriculture.gouv.fr, 18 mars 2008.
- 130- François TREMOLIERES, *op. cit.*
- 131- Bulletin Hebdomadaire International N°392, 27 mars 2013
- 132- Dominique BICOUD et Marc ARTOIS, « Rage canine erratique en Europe : risque d'épidémie/épizootie ? », *Épidémiologie et santé animale*, n° 47, 2005, p. 93-101
- 133- NS CROWCROFT, and N THAMPI, "The prevention and management of rabies", *BMJ*, 2015;350:g7827
- 134- T. HEMACHUDHA, J. LAOTHAMATAS, C.E. RUPPRECHT, "Human rabies: a disease of complex neuropathogenetic mechanisms and diagnostic challenges", *Lancet Neurol.*, 2002;1:101-9
- 135- UDOW SJ, MARRIE RA, JACKSON AC, "Clinical features of dog and bat-acquired rabies in humans", *Clin. Infect. Dis.*, 2013;57:689-96
- 136- K.J. RYAN, and C.G. Ray, *op. cit.*
- 137- Tomohiko TAMURA, Yuumi ISHIDA and al, *op. cit.*
- 138- *Arch Dermatol* 1985, *op. cit.*
- 139- Haut Conseil de la santé publique (2013), « Avis relatif à la vaccination antirabique préventive post-exposition et suivi sérologique des personnes régulièrement exposées au virus de la rage (voyageurs, professionnels chiroptérologues) », Avis publié le 22/02/2013 dans le rapport *Vaccination antirabique préventive*, publié le 22 février 2013
- 140- F. BUSSEREAU, P COULON et A FLAMAND (1982) « L'utilisation de mutants thermosensibles et avirulants de virus rabique comme vaccin vivant », *Rev. Sci. Tech. Off. int Epiz.*, 1(4), p. 1121-1131
- 141- VODOPIJA, and H.F CLARK, "Human vaccination against rabies", CRC Press, 1991, 2^e éd., pp. 577-578 and pp. 580-585
- 142- OMS, « Rage », sur www.who.int/fr, décembre 2008 (consulté le 16 février 2010)
- 143- "Rousettus" [archive], sur nic.funet.fi (consulté le 23 novembre 2014)
- 144- "Hypsignathus" [archive], sur nic.funet.fi (consulté le 23 novembre 2014)
- 145- "Epomops" [archive], sur nic.funet.fi (consulté le 23 novembre 2014)
- 146- "Myonycteris" [archive], sur nic.funet.fi (consulté le 23 novembre 2014)
- 147- Heinz FELDMANN, and Thomas W. GEISBERT, "Ebola haemorrhagic fever", *The Lancet*, vol. 377, no 9768, 2011, pp. 849-862



- 148-** Eric M. LEROY, Brice KUMULUNGUI, Xavier POURRUT, Pierre ROUQUET, Alexandre HASSANIN, Philippe YABA, André DÉLICAT, Janusz T. PAWESKA, Jean-Paul GONZALEZ, and Robert SWANEPOEL, "Fruit bats as reservoirs of Ebola virus", *Brief Communications*, vol. 438, n° 7068, 2005, pp. 575-576
- 149-** Herwig LEIRS, James N. MILLS, John W. KREBS, James E. CHILDS, Dudu AKAIBE, Neal WOOLLEN, George LUDWIG, Clarence J. PETERS, Thomas G. KSIAZEK and al., "Search for the Ebola Virus Reservoir in Kikwit, Democratic Republic of the Congo: Reflections on a Vertebrate Collection", *Journal of Infectious Diseases*, vol. 179, n° suppl. 1, 1999, pp. 155-163
- 150-** J.Taylor DEREK, Robert W LEACH, and Jeremy BRUENN, "Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes", *BMC Evolutionary Biology*, vol. 10, 22 juin 2010, p. 193
- 151-** « Les chauves-souris transmettraient directement Ebola à l'Homme » [archive] [PDF], IRD, avril 2009 (consulté le 17 sept. 2014)
- 152-** "Study Finds Pigs Susceptible To Virulent Ebola Virus Can Transmit The Virus Other Animals" *Medical News*, 12 mai 2011
- 153-** *Ibidem*
- 154-** *Ebola Hemorrhagic Fever Distribution Map* [archive], Centers for Disease Control and Prevention.
- 155-** Jonathan S. TOWNER, and al., "Newly Discovered Ebola Virus Associated with Hemorrhagic Fever Outbreak in Uganda", *PLoS Pathogens*, vol. 4, n°11, 2008
- 156-** « Infections par les Filovirus, les Arenavirus et les Hantavirus », pages 723 et suivantes de l'ouvrage du Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales (CMIT)
- 157-** WHO: Ebola Response Roadmap Situation Report [archive] publié le 31 décembre 2014 sur le site de suivi de l'épidémie de l'Organisation mondiale de la santé.
- 158-** David WARRELL, Timothy M. COX, John FIRTH, and Estée TÖRÖK, *Oxford Textbook of Medicine: Infection*, Oxford University Press, 2012, p. 202
- 159-** Heinz FELDMANN, and Thomas W. GEISBERT, "Ebola haemorrhagic fever", *The Lancet*, vol. 377, n° 9768, 5 mars 2011, pp. 849-862
- 160-** Sylvain BAIZE, and al., "Emergence of Zaire Ebola Virus Disease in Guinea - Preliminary Report", *The New England Journal of Medicine*, 2014
- 161-** Milanga MWANATAMBWE, Nobutaka YAMADA, Satoru ARAI, Masumi SHIMIZU, Kazuhiro SHICHINOHE, and Goro ASANO, "Ebola Hemorrhagic Fever (EHF): Mechanism of Transmission and Pathogenicity", *Journal of Nippon Medical School*, vol. 68, n° 5, oct. 2001
- 162-** Kai KUPFERSCHMIDT, « Les chauves-souris représentent-elles une menace ? », ed. La Recherche, décembre 2013, N°482, p. 58 (publié dans *Science*, N° 341, 948, 2013 par Karine GUERROUCHE)
- 163-** René GINET et Vasile DECOU, *op. cit.*
- 164-** J.-C. BEAUCOURNU, D. KOCK et K.MENIER ; « La souris *Mus musculus L.*, 1758 est-elle l'hôte primitif de la puce *Leptopsylla segnis* (Schönherr, 1811) (*Insecta Siphonaptera*) ? », *Biogeographica*, 1997, 73, p. 1-12
- 165-** <http://www.lausanne.ch/view.asp?DocID=22420>
- 166-** Pour la France, les données d'incidence proviennent de la surveillance nationale du Réseau Sentinelles, du Centre national de référence des *Borrelia* (Paris puis Strasbourg depuis 2012), des études régionales de l'InVS. Les données de séroprévalence proviennent de la Mutualité sociale agricole (MSA). Les données d'hospitalisations ont été extraites du PMSI. Les données concernant l'hospitalisation sont publiées ici grâce à l'aimable autorisation du D^r Thomas HANSLIK (APHP, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne-Billancourt).
- 167-** K. KOBRYN, and G. CHACONA: "ResT, a telomere resolvase encoded by the Lyme disease spirochete", *Mol. Cell.*, 9: pp. 195-201, 2002
- 168-** J. HOVIUS, W., A.P. VAN DAM, and E. FIKRIG (université d'Amsterdam): "Tick-host-pathogen interactions in Lyme borreliosis", *Trends Parasitol.*, sept. 23(9); 434-8 Epub, 2007 Jul 25
- 169-** Catherine CHUBILLEAU, Delphine DAUBE et Cyrille GILLES, *Cellule interrégionale d'épidémiologie Centre-Ouest*, DRASS du Centre - 25 bd Jean Jaurés - 45004 Orléans Cedex1



- 170-** Jean-Paul LARPENT, Monique LARPENT–GOURGAUD, *Mémento technique de microbiologie*, éd. Lavoisier Tec. Doc., 3^e édition, 2000, p. 405
- 171-** M.E. EREMEEVA, V.F. IGNATOVICH, G.A. DASCH, D. RAOULT, and N.M. BALAYEVA, “Genetic, biological and serological differentiation of *Rickettsia prowazekii* and *Rickettsia typhi*”, in *Rickettsia and rickettsial diseases*, J. Kazar, R. Toman, editors, Bratislava, Veda, 1996, pp. 43-50
- 172-** B.E. ANDERSON, J.E. DAWSON, D.C. JONES, and K.H. WILSON. “*Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis”, *J. Clin. Microbiol.* 1991;29: pp. 2838-2842
- 173-** J.S. DUMLER, and J.S. BAKKEN. “Ehrlichial diseases of humans: emerging tick-borne infections”, *Clin. Infect. Dis.* 1995;20: pp. 1102-1110
- 174-** K. MAEDA, N. MARKOWITZ, R.C. HAWLEY, M. RISTIC, D. COX, and J.E. MCDADE. “Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia”, *N. Engl. J. Med.*; 316: pp. 853-856, 1987
- 175-** J.S. DUMLER, A.F. BARBET, C.P. BEKKER, et coll., « Réorganisations des genres dans l'ordre des *Rickettsiales*, familles *Rickettsiaceae* et *Anaplasmataceae*: unification de certaines espèces avec passage partiel d'*Ehrlichia* avec *Anaplasma*, de *Cowdria* avec *Ehrlichia* et d'*Ehrlichia* avec *Neorickettsia*, descriptions des six combinaisons d'espèces nouvelles et désignation d'*Ehrlichia equi* comme [Agent de l'EGH] comme synonymes subjectifs d'*Ehrlichia phagocytophila* », *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51 (Pt 6): 2145–65, 2001
- 176-** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition, Release 2.0, 2002, Springer-Verlag, New York, 284 pages
- 177-** J.S. BAKKEN, “Human ehrlichioses: newly recognized infections transmitted by ticks” *Annu. Rev. Med.* 1998; 49: pp. 201-213
- 178-** P. BROUQUI, and D. RAOULT. “Human ehrlichiosis”, *N. Engl. J. Med.* 1994 ;330:1760-1.
- 179-** V REMY, Y HANSMANN, S DE MARTINO, D CHRISTMANN, and P. BROUQUI. “Human Anaplasmosis Presenting as Atypical Pneumonitis in France” *Clin. Infect. Dis.* 2003 ; 37 : pp. 846-848
- 180-** A.N. BILLINGS, G.J. TELTOW, S.C. WEAVER, and D.H. WALKER. “Molecular characterization of a novel *Rickettsia* species from *Ixodes scapularis* in Texas”, *Emerging Infectious Diseases*, 1998. 4(2): pp. 305-309
- 181-** M.A. MARINELLA, and R. WARWAR, *op. cit.*
- 182-** Edward B. BREITSCHWERDT, Barbara C. HEGARTY, Susan I. HANCOCK, “Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii* and *Bartonella vinsonii*” *J.Clin.Microbiol.*, 1998. 36(9): pp. 2645-2651
- 183-** M.A. MARINELLA, and R. WARWAR, *op. cit.*
- 184-** Jesse L. GOODMAN, Curtis NELSON, Blaise VITALE, John E. MADIGAN, J. Stephen DUMLER, Timothy J. KURTTI, and al., “Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis” *N. Engl. J. Med.*; 334:209-215, jan. 25, 1996
- 185-** B.E. DUNN, T.P. MONSON, J.S. DUMLER, C.C. MORRIS, A.B. WESTBROOK, J.L. DUNCAN, J.E. DAWSON, and al. “Identification of *Ehrlichia chaffeensis* morulae in cerebrospinal fluid mononuclear cells”, *J. Clin. Microbiol.*, 1992 aug; 30(8):2207-10
- 186-** E FIKRIG. “New test developed for serodiagnosis of human granulocytic ehrlichiosis”, *J. Clin. Microbiol.* 1999 ; 37 : pp. 3540- 3544, Reuters Health
- 187-** A.M. LEBECH, K. HANSEN, P. PANCHOLI, L.M. SLOAN, J.M. MAGERA, and D.H. PERSING, “Immunoserologic evidence of Human Granulocytic Ehrlichiosis in Danish patients with Lyme neuroborreliosis”, *Scand. J. Infect. Dis.*, 1998 ; 30 (2): 173-6.
- 188-** P.H. GILLIGAN, LUM G, VANDAMME, and al, *op. cit.*
- 189-** *Ibidem*
- 190-** Extrait du cours préparé par le Professeur A. PHILIPPON (faculté de Médecine Paris V, université René Descartes),
- 191-** J. ELLIS, P.C.F. OYSTON, M. GREEN, and R.W. TITBALL, “Tularemia”, *Clin. Microbiol. Rev.* 2002;15; pp. 631-646.
- 192-** P. LARSSON, and al., “The complete genome sequence of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia”, *Nat. Genet.* 37, 2005, pp. 153-159

