

# **TROISIÈME PARTIE : DEVRIESEA AGAMARUM,** **UNE MALADIE ÉMERGENTE**

## **I- Généralités**

Les lézards du désert d'Afrique du nord, tels que les *Agames* ou *Uromastyx*, sont de nos jours, maintenus et élevés en captivité. Ces animaux souffrent fréquemment d'infections de la peau pouvant aboutir à des septicémies. Les bactéries corynéformes sont souvent rencontrées dans ce type d'affections, en tant qu'agent primaire ou en tant que facteur aggravant [38].

### **Découverte d'une bactérie jusqu'alors inconnue**

La première communication à propos de *D. agamarum* date de 2008 [26]. Cinq agamidés, du genre *Agama* et *Uromastyx* présentaient des dermatoses croûteuses, plus ou moins graves, dont l'origine était inconnue. Des prélèvements ont été réalisés afin d'étudier l'agent responsable.

La souche IMP1 a été isolée sur un mâle *Agama impalearis* présentant des lésions cutanées prolifératives et la souche IMP2 a été isolée d'un foie de femelle *Agama impalearis* morte d'une dermatose proliférative. Trois autres souches ont été isolées d'un *Uromastyx acanthinura* (souche UAC1) et d'un *Uromastyx geyri* (souche UGE1) présentant des chéilites. Enfin UGE2 fut isolée de la moelle osseuse d'un *U. geyri* mort d'une dermatose.

Les cinq souches montrent les mêmes caractéristiques biochimiques et sont inconnues des systèmes d'identification habituels. La souche retenue comme référence dans les études est IMP2.

## **II- Bactériologie**

### **a. Morphologie**

Ces bactéries Gram positives se présentent sous forme de courts bâtonnets (1 à 2  $\mu\text{m}$ ) non mobiles et sont non sporulées, par paire, ou en courtes chaînes [26].

## **b. Métabolisme et culture**

Les cinq isolats poussent convenablement après 24 heures d'incubation sur un agar Columbia à 5% de sang de mouton, de 25 à 42°C (température idéale : 37°C), dans tous types de conditions atmosphériques testés (la meilleure étant avec un CO<sub>2</sub> à 5%). Ils forment de petites colonies lisses et mucoïdes, entourées par une étroite zone d'hémolyse.

Les souches sont positives au test à 3% d'eau oxygène, positives pour l'activité de la  $\beta$ -galactosidase et catalase, mais aucune activité oxydase n'est observée. De l'acide est produit à partir du glycérol et de l'arbutine, mais l'amidon n'est pas hydrolysé. Elles sont uréase-négatives, pyrazinamidase-positives et Voges-Proskauer-positives. Le peptidoglycane de la paroi cellulaire est de type A4 $\gamma$  m-Dpm-D-Asp-D-Glu, avec le groupe  $\alpha$ -carboxyle du D-Glu en position 2 substitué par Gly. La menaquinone principale est MK8 et les lipides polaires principaux sont les phosphatidylglycérols, associés à quelques phospholipides et glycolipides non identifiés. Les acides aminés suivants sont présents : 14 :0, 15 :0 iso, 15 :0 anteiso, 16 :O, 16 :0 iso, 17 :0 iso et 17 :0 anteiso [26].

## **c. Taxonomie et classification**

Des analyses biochimiques ont été réalisées afin de comparer les propriétés de la bactérie inconnue (souche IMP2 de référence) avec celles de *Brachybacterium faecium* et *Dermabacter hominis*. Les caractéristiques phénotypiques ont aussi été répertoriées. Les résultats sont présentés dans le tableau 2 [26] :

Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques phénotypiques de la souche IMP2 de *D. agamarum* gen. Nov., sp. Nov., *Dermabacter hominis* (NCIMB13131T) et *Brachybactérium faecium* (LMG 19847T)

[26]

Souches : 1, IMP2 ; 2, *Dermabacter hominis* NCIMB 13131 ; 3, *B. faecium* LMG 19847.

Characteristic	1	2	3
Growth rate*	R	R	S
Haemolysis	+	-	-
Oxidase activity	-	-	+
Gelatin hydrolysis	+	+	-
Starch hydrolysis	-	+	+
Urease production	+	-	-
Nitrate reduction	+	-	+
Voges-Proskauer test	+	-	-
Alkaline phosphatase activity	-	+	-
Pyrazinamidase activity	+	-	-
Methyl $\alpha$ -D-glucopyranosidase activity	-	+	-
Acid production from:			
<i>N</i> -Acetylglucosamine	+	+	-
Amygdalin	-	+	-
Arbutin	+	-	-
D-Arabinose	-	-	+
L-Arabinose	-	-	+
D-Fructose	+	+	-
D-Galactose	+	+	-
Gentiobiose	-	+	-
Glycerol	+	-	-
Lactose	-	+	-
D-Mannose	+	+	-
Melezitose	-	+	+
Melibiose	+	+	-
Raffinose	+	+	-
D-Ribose	-	+	+
Trehalose	+	+	-

\*Growth rate (ou croissance) évaluée sur un agar Columbia à 5% de sang de mouton, à 37°C, sous condition microaérophiles. R, Rapid ; S, Slow.

De plus, la composition des cellules en acides gras de ces différentes bactéries a été comparée. Les résultats ont été rapportés dans le tableau 3 [26] :

Tableau 3 : Composition en acides gras (%) de la souche IMP2 de *D. agamarum* gen. nov., sp. nov., *Dermabacter hominis* et *Brachybacterium faecium*

[26]

Souches : 1, souche IMP2 ; 2, *Dermabacter hominis* NCIMB 13131 ; 3, *B. faecium* LMG 19847. Les compositions en acides gras inférieures à 1% ne sont pas notées, le pourcentage total n'est donc pas égal à 100. ND, Not Detected (non détecté).

Fatty acid	1*	2	3†
14:0 iso	ND	2.32	1.24
14:0	2.11	2.36	2.16
15:0 iso	4.70	13.92	9.83
15:0 anteiso	40.13	26.35	55.49
16:0 iso	5.65	18.89	7.46
16:0	9.59	3.62	4.04
17:0 iso	1.14	1.71	2.27
17:0 anteiso	33.31	30.82	13.42
18:0	ND	ND	1.76

La souche 1 contient aussi 3.35% d'alcool 16:0 N

La souche 3 contient aussi 1.35% d'un acide gras non identifié

Les analyses de lipides polaires et ménaquinones insaturées (8 unités isoprènes-MK8) ont aussi été réalisées. Les résultats sont présentés dans le tableau 4 [26] :

Tableau 4 : Composition en ménaquinone et lipides polaires (%)

[26]

Souches : 1, IMP2 (*Devriesea agamarum* gen. Nov., sp. Nov.) ; 2, *Dermabacter hominis* NCFB 2769 ; 3, *B. faecium* NCIB 9860. ND, Not detected.

Compound	1	2	3
MK-7	12	9	88
MK-8	83	21	11.5
MK-9	5	70	ND
Polar lipids*	PG, GL, PL	DPG, PG, PL, GL	DPG, PG, GL

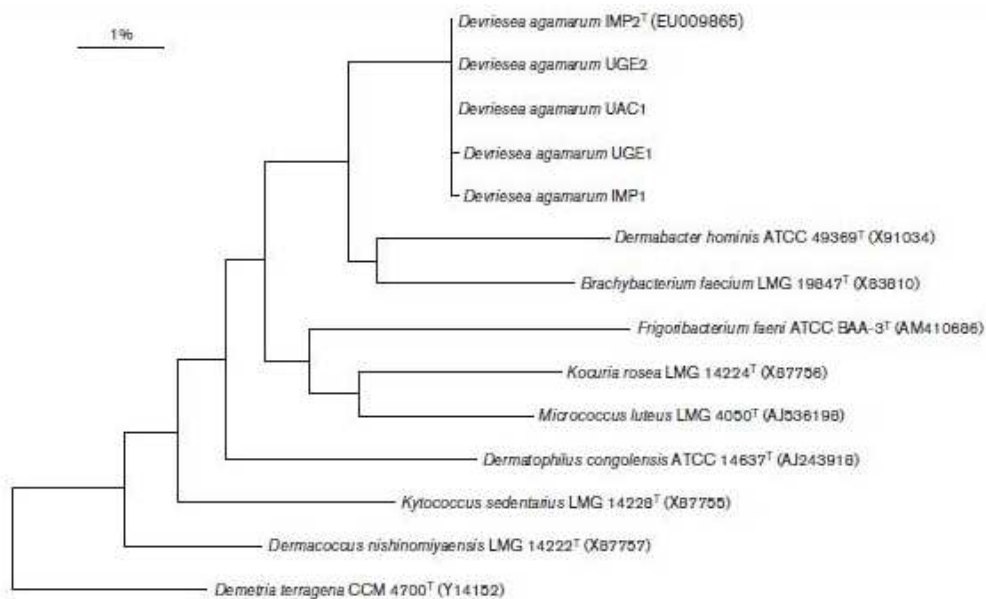
\*DPG, Diphosphatidylglycerol; GL, glycolipid; PG, phosphatidylglycerol; PL, phospholipid.

L'ADN de la souche IMP2 a été isolé afin de déterminer sa composition en G+C, qui était de 61mol%. Par la suite, l'ADN des cinq souches a été isolé et dégradé dans le but d'obtenir des nucléotides et de réaliser une analyse phylogénétique. Une amplification du gène de l'ARNr 16S a été réalisée par PCR et les produits séquencés. Ces séquences ont ensuite été comparées à celles de GenBank afin de construire un arbre phylogénétique. La quasi-totalité des séquences du gène de l'ARNr 16S (1470 nt) des cinq souches était identique (seule la souche UGE1 différait d'une nt, soit

257G). Les bactéries ayant les séquences les plus proches (à 95%) étaient les espèces de *Brachybacterium* et *Dermabacter hominis*. L'analyse numérique des séquences a révélé que les cinq souches occupaient une position phylogénétique distincte dans la classe *Actinobactéria*. Ce nouveau taxon fut appelé *D. Agamarum*. Les résultats de cette analyse numérique sont représentés dans la figure 2 [26] :

Figure 2 : Arbre phylogénétique basé sur le séquençage d'ARNr 16S, montrant la position de *D. agamarum* par rapport à ses plus proches voisins. Bar, 1% de séquences non similaires

[26]



### III- Épidémiologie

La Dermatose proliférative chronique causée par *D. Agamarum* est l'une des maladies les plus fréquemment diagnostiquées chez les lézards du désert (en particulier les *Uromastyx*), elle compromet donc la bonne maintenance en captivité de certains sauriens. Cette maladie semble être très contagieuse et peut atteindre un effectif entier de lézards en quelques mois [17, 26, 38]. Le tableau 5 montre les résultats de prélèvements cutanés réalisés sur des lézards captifs et sauvages. *D. agamarum* est, dans cette étude réalisée en 2008, la bactérie la plus fréquemment isolée.

Tableau 5 : Bactéries et/ou champignons isolés de cultures chez 28 lézards atteints de dermatoses

[17]

Wild caught (WC) or captive bred (CB)	Lizard species	Lesions	Bacteriological and/or mycological agent identified
CB	<i>Pogona vitticeps</i>	Dermatitis	No
CB	<i>P. vitticeps</i>	Cheilitis	<i>Devriesea agamarum</i>
WC	<i>Agama impalearis</i>	Dermatitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>A. impalearis</i>	Dermatitis/septicaemia	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>Physignathus concincinus</i>	Dermatitis	<i>Dermatophilus congolensis</i>
CB	<i>P. concincinus</i>	Dermatitis	<i>Staphylococcus aureus</i>
CB	<i>P. concincinus</i>	Dermatitis	<i>S. aureus</i>
CB	<i>P. concincinus</i>	Dermatitis	<i>S. aureus</i>
WC	<i>Uromastyx acanthinura</i>	Dermatitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. acanthinura</i>	Dermatitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. acanthinura</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. acanthinura</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. acanthinura</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. acanthinura</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>Uromastyx geyri</i>	Dermatitis/septicaemia	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. geyri</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
WC	<i>U. geyri</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
CB	<i>Crotaphytus collaris</i>	Dermatitis	<i>D. agamarum</i>
CB	<i>C. collaris</i>	Dermatitis	<i>D. agamarum</i>
CB	<i>C. collaris</i>	Cheilitis	<i>D. agamarum</i>
CB	<i>Iguana iguana</i>	Dermatitis	<i>Nannizziopsis vriesii</i>
CB	<i>I. iguana</i>	Dermatitis	No
CB	<i>I. iguana</i>	Dermatitis	No
CB	<i>I. iguana</i>	Dermatitis	No
CB	<i>I. guana iguana</i>	Dermatitis	<i>S. aureus</i>
CB	<i>I. iguana</i>	Dermatitis	<i>S. aureus</i>
WC	<i>Cyclura nubila</i>	Dermatitis	No

## a. Sources

Les lézards du désert semblent être prédisposés au développement de dermatoses associées à *D. Agamarum*, compromettant ainsi une maintenance convenable en captivité. *D. Agamarum* fait toutefois partie de la flore commensale de la cavité buccale de *Pogona vitticeps* ; il est donc considéré comme une espèce cible pour l'évaluation des traitements [17, 18].

Les affections dues à *D. Agamarum* semblent réapparaître facilement et régulièrement au sein de collections de lézards captifs car cette bactérie est capable de persister dans l'environnement [19]. De nombreux membres du phylum *Actinobacterium* sont largement retrouvés dans les écosystèmes terrestres et aquatiques, et plus particulièrement dans le sol [52]. Alors que certaines spores d'actinomycètes sont considérées comme étant résistantes dans l'environnement, ceci n'est pas démontré chez les autres Actinobactéries, telles que les coryneformes [5, 6, 26]. Toutefois, certaines coryneformes sont capables de résister, durant de longues périodes, à la privation de nutriments [5].

*D. Agamarum* peut persister dans les croûtes lézards infectés de 35 jours à 20°C et 57 jours à 30°C. Dans un environnement sec, *D. Agamarum* ne survit que 5 à 27 jours (en fonction de la

température), mais dans un environnement humide, à 25°C, *D. Agamarum* est retrouvé viable pendant plus de cinq mois [19].

## **b. Transmission**

*D. Agamarum* est une maladie contagieuse qui se transmet facilement au sein des élevages, directement, à partir d'individus déjà infectés ou indirectement, par un environnement contaminé. Certaines expériences montrent que la bactérie n'est pas capable de traverser la peau saine et de provoquer des lésions. Elle se développe donc à la faveur d'une effraction cutanée [17].

## **IV- Clinique**

### **a. Symptômes**

L'infection à *D. Agamarum* se présente sous forme de dermatite croûteuse sur le corps et la bouche, plus ou moins associée à une septicémie chez les lézards agamidés [17].

### **b. Lésions**

#### **i. Macroscopiques**

Les lézards infectés par *D. Agamarum* présentent des croûtes jaunâtres sur le corps et autour de la bouche. On peut donc parler de dermite proliférative hyperkératosique, associée à une chéilite [17].

#### **ii. Histologiques**

A l'examen histologique, on a :

- une hyperplasie modérée à sévère de l'épiderme associées à une ortho- ou parakératose
- Des croûtes sérocellulaires, dues à l'exsudation de protéines inflammatoires et cellules inflammatoires dégénérées
- Une colonisation extensive des couches cornées supérieures par une bactérie en bâtonnet gram positive

Une hyperhémie, un œdème modéré, et un afflux perivasculaire d'hétérophiles sont présents dans le derme [17].

## **c. Diagnostic**

### **i. Clinique**

Le diagnostic clinique repose sur l'observation des lésions présentes sur le corps de l'animal, et sur l'épidémiologie de la maladie (contagiosité).

### **ii. De laboratoire**

#### Prélèvements

Écouvillonnage des lésions dermiques, biopsies d'organes internes ou prélèvement de moelle osseuse sont des prélèvements réalisables pour le diagnostic de la maladie [17].

#### Culture bactérienne

Elles poussent convenablement en 24 à 48 heures sur un agar Columbia à 5% de sang de mouton, à 37°C et 5% de CO<sub>2</sub>. Elles forment de petites colonies lisses et mucoïdes, entourées par une étroite zone d'hémolyse [26].

#### Examen histologie

Les lésions présentes lors de dermatoses chez les reptiles sont peu discriminantes. C'est pourquoi il est important de réaliser un examen histologique, qui sera parfois le seul à nous permettre d'aboutir à un diagnostic. Il sera préférentiellement réalisé sous anesthésie générale.

## **d. Moyens de lutte**

### **i. Traitement**

L'infection par *D. agamarum* est probablement l'une des causes les plus importantes de dermatite bactérienne chez les lézards du désert, compromettant ainsi une bonne maintenance en captivité. Les traitements antibiotiques choisis empiriquement aboutissent souvent à un échec thérapeutique du à un manque de données concernant la sensibilité antimicrobienne de *D. agamarum* et l'absence d'un protocole de traitement établi.

L'enrofloxacin et le ceftiofur sont deux candidats pour le traitement de *D. agamarum*. Tout comme les autres quinolones de 3<sup>ème</sup> génération, l'enrofloxacin a une activité bactéricide large spectre contre les bactéries gram négatives et gram positives, et est souvent utilisé chez les reptiles. Le ceftiofur sodium est une céphalosporine semi synthétique de 3<sup>ème</sup> génération et a une activité contre certaines bactéries gram positives, négatives et anaérobies. Ces deux antibiotiques ont



montré une bonne efficacité dans les pyodermites du chien grâce à des concentrations de principe actif élevées au niveau cutané. Les fluoroquinolones semblent donc se concentrer sur des zones cutanées inflammées [18].

Les résultats des études *in vitro* concernant l'efficacité des différents antimicrobiens testés nous ont donné des résultats de concentration inhibitrice minimale (MIC) significativement différents pour le ceftiofur et l'enrofloxacin. L'échantillon de *D. agamarum* IMP2 utilisé pour l'infection expérimentale avait une MIC de 0,12µg/ml pour le ceftiofur, et 2µg/ml pour l'enrofloxacin.

La distribution des MIC était monomodale pour tous les antibiotiques, ceci indiquait donc une absence de résistance induite des différents isolats.

Les résultats *in vivo* nous ont montré que le ceftiofur à 5mg/kg/j en IM éliminait *D. agamarum* de tous les lézards infectés, 12 à 18 jours après l'inoculation, alors que les prélèvements des lézards traités à l'enrofloxacin étaient encore positifs à la fin de la durée de l'expérience.

Malgré l'efficacité du ceftiofur, une élimination de la bactérie nécessite souvent un débridement chirurgical des abcès [18].

## ii. Prévention

La bactérie non sporulée *D. agamarum* est capable de persister dans l'environnement, jusqu'à 57 jours dans les croûtes, et plus de 5 mois dans un milieu humide. La survie sur des surfaces sèches est par contre très limitée. Ces découvertes montrent qu'un environnement sec est nécessaire pour la maintenance de lézards du désert en captivité [9, 19].

En complément des traitements antimicrobiens, il est donc important de réaliser un nettoyage et une désinfection des surfaces du terrarium. Les produits désinfectants utilisables et efficaces sont : Le dettol à une concentration supérieure à 0,05%, l'éthanol, l'eau à 70°C, le cetrimide et la chlorexidine à plus de 0,1% et l'hypochlorite de sodium [19]. La faible sensibilité de *D. agamarum* à l'eau oxygénée peut être reliée à un haut niveau d'activité catalase/peroxydase dans les cellules bactériennes ou au fait que cette bactérie est une bactérie aéro ou anaérobie facultative [33]. Il faut donc privilégier d'autres produits désinfectants. L'efficacité de ces produits contre *D. agamarum* est présentée dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Résultats de différentes procédures de désinfection contre *D. agamarum*, basées sur des méthodes de dilution-neutralisation (procédure décrite par 'the European Suspension Test')

[19]

Product	Concentration (%)	Contact time (min)	P/F
Malacetic Otic (boric acid and peracetic acid)	0.015	5	F, except 1.0%
	0.05	15	
	0.1		
	0.5		
	1.0		
Dettol $C_8H_5ClO$	0.05	5	P, except 0.05% during 5, 15 and 30 min
	0.5	15	
	1.0	30	
Ethanol	70 (v/v)	2	P
		5	
		10	
Hot water	70°C	15	P
		30	
		60	
$H_2O_2$	0.3	5	F, except 3.0% during 30 min
	0.5	15	
	1.0	30	
	3.0		
HAC (cetrimide and chlorhexidine)	0.05	5	P, except 0.1 and 0.05% during 5 min
	0.1	15	
	0.5		
Chlorhexidine	0.05	5	P
	0.1	15	
	0.5		
NaOCl (sodium hypochlorite)	0.05	5	P
	0.1		
	0.3		
	0.5		

P (pass-réussi), réduction de 5-log ou plus ; F (fail-échoue), moins de 5-log de réduction ; HAC, hospital antiseptic concentrate.

Par ailleurs, *D. agamarum* faisant partie de la flore commensale de la cavité buccale de *Pogona vitticep*, il est déconseillé de le maintenir dans le même terrarium que des lézards particulièrement sensibles, tels que les *Uromastyx* [17].