

# 1 Étude bibliographique

## 1.1 GÉNÉRALITÉS SUR *RHODOCOCCUS EQUI*

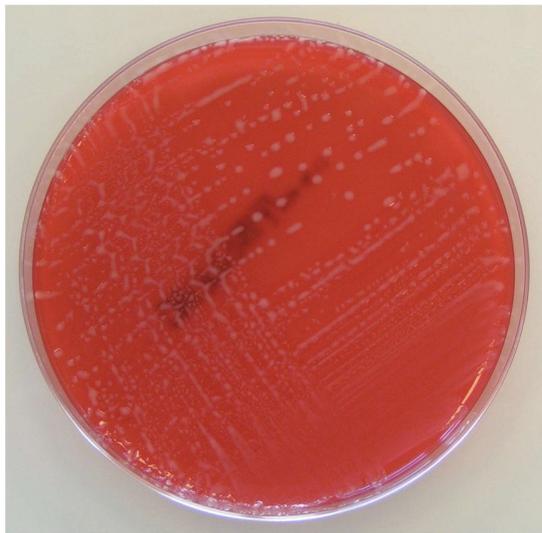
### 1.1.1 Caractères généraux

*Rhodococcus equi* a été décrite pour la première fois par Magnusson en 1923 chez un poulain développant une bronchopneumonie purulente (Magnusson, 1923). Connue initialement sous le nom de *Corynebacterium equi* et *Mycobacterium equi*, *Rhodococcus equi* est une bactérie intracellulaire qui se loge dans les macrophages. C'est une bactérie ubiquiste saprophyte et opportuniste. Elle appartient à la famille des Nocardiaceae, de l'ordre des Actinomycetales. C'est une bactérie :

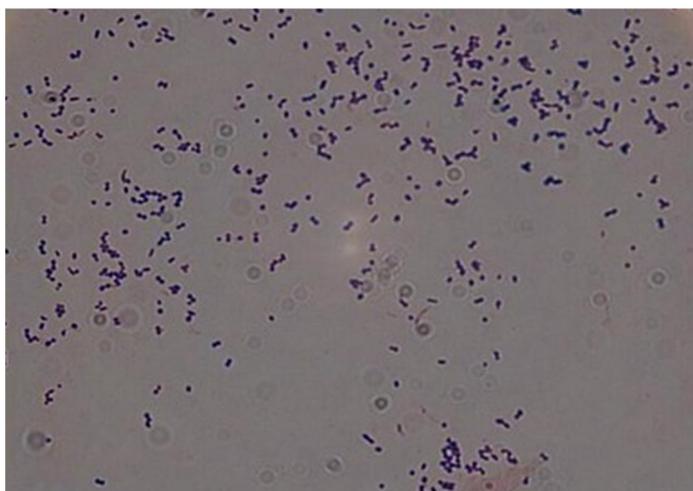
- Gram positive,
- immobile qui ne possède pas de flagelle,
- non sporulée,
- capsulée,
- aérobie stricte,
- catalase positive,
- pléomorphe, pouvant varier d'une forme cocobacillaire à bacillaire,
- à caractère acido-résistant.

La photographie n° 1 présente l'aspect des colonies de *Rhodococcus equi* en culture sur une boîte Columbia à l'Acide Nalidixique et à la Colimycine. Sur la photographie n° 2, la bactérie est visible après coloration de Gram.

*Photographie n° 1: Colonies de Rhodococcus equi en culture sur une boîte Columbia à l'Acide Nalidixique et à la Colimycine (ANC) (Courtoisie de Corinne Sévin)*



*Photographie n° 2: Coloration de GRAM d'un frottis de Rhodococcus equi (Courtoisie de Corinne Sévin)*



## 1.1.2 Facteurs de virulence

*Rhodococcus equi* se réplique à l'intérieur des macrophages. Cette prolifération intracellulaire conduit à la mort nécrotique du macrophage et est associée à des lésions massives du tissu pulmonaire.

### 1.1.2.1 Paroi cellulaire

La paroi de *Rhodococcus equi* est constituée de peptidoglycanes et d'arabinogalactanes. Des acides mycoliques sont fixés sur les lipoglycanes formant ainsi une barrière perméable aux composés hydrophiles. Ces acides mycoliques jouent un rôle négligeable dans la virulence de *Rhodococcus equi* (Sydor *et al.*, 2008). Le lipoarabinomannan est un complexe composant l'enveloppe cellulaire des mycobactéries et favoriserait l'adhérence des bactéries aux macrophages équins et donc leur pénétration intracellulaire (Garton *et al.*, 2002).

### 1.1.2.2 L'*equi factor*

L'*equi factor* est constitué de la phospholipase C et de la cholestérol oxydase. Cette enzyme est présente chez les souches virulentes et non virulentes. Le rôle de l'*equi factor* reste méconnu mais il pourrait contribuer à une dégénérescence des macrophages.

### 1.1.2.3 Plasmides

Les souches virulentes sont caractérisées par leur capacité à survivre et se répliquer dans les macrophages. Cette capacité leur est conférée par la présence d'un plasmide de virulence d'environ 80 à 90 kilobases (Giguère *et al.*, 1999). De nombreuses souches portant le plasmide de virulence ont été identifiées et sont très répandues dans le monde. Cependant, il n'y a pas de lien entre le type de plasmide de virulence et l'origine de la souche de *Rhodococcus equi*, qu'elle soit isolée lors d'une autopsie de poulain affecté par une bronchopneumonie à *Rhodococcus equi*, de prélèvements provenant de l'environnement ou bien d'échantillons de matières organiques (Duquesne *et al.*, 2010). Le plasmide de virulence a été séquencé et comporte 69 cadres ouverts de lecture dans 3 régions fonctionnelles (Takai *et al.*, 2000). Deux d'entre elles contiennent des gènes semblables à ceux codant des protéines impliquées dans la conjugaison et la répllication des plasmides. Cela laisse à penser que le plasmide de virulence peut être transféré de souches virulentes à des souches non virulentes. La troisième région est un îlot de pathogénicité de 27,5 kilobases codant pour 7 protéines associées à la virulence (vap A, C, D, E, F, G et H) et 4

protéines extracellulaires. Vap A est une lipoprotéine immunogène de 15 à 17 kilodaltons. La fonction exacte de vap A est encore inconnue mais son expression est nécessaire à la pathogénicité chez le poulain (Giguère *et al.*, 1999). Une étude sur 154 poulains suspects de bronchopneumonies à *Rhodococcus equi* a mis en évidence le gène vap A dans 98% des cas confirmant ainsi son rôle déterminant dans la virulence (Haïtes *et al.*, 1997; Monego *et al.*, 2009). La quasi-totalité des souches isolées chez des poulains contiennent et expriment vap A mais ceci n'est pas vérifié chez les autres espèces. Un second plasmide dont la taille varie entre 79 et 100 kilobases a été identifié et exprime vap B et non vap A (Makrai *et al.*, 2002). Chez les sujets affectés par *Rhodococcus equi* dans l'espèce humaine, vap A ou vap B peuvent être retrouvées.

### **1.1.3 Expression du plasmide de virulence in vitro et mise en culture de *Rhodococcus equi***

*Rhodococcus equi* est une bactérie ubiquiste dans le sol qui est répandue dans les matières fécales des herbivores. Aussi, l'expression des gènes de l'îlot de pathogénicité dépend au moins de 5 facteurs : la température, le pH, le stress oxydatif, le fer et le magnésium.

#### **1.1.3.1 Température, pH, stress oxydatif**

L'expression de certains gènes dépend des conditions environnementales. C'est notamment le cas du gène du plasmide de virulence vap A. Ainsi, l'expression maximale de vap A se produit pour une température de 37 °C et un pH de 5,0 (Meijer et Prescott, 2004). De plus, l'expression de vap A et vap G est stimulée lors d'un stress oxydatif (Benoit *et al.*, 2002).

#### **1.1.3.2 Teneur en oligo-éléments de l'environnement**

Dans une moindre mesure, les gènes de l'îlot de pathogénicité sont régulés par des oligo-éléments tels que le fer, le magnésium et le calcium (Ren et Prescott, 2003).

#### **1.1.3.3 Milieux de culture et besoins nutritifs**

*Rhodococcus equi* utilise du glycérol, des acides lactique, pyruvique, malique et succinique. Sur des milieux ordinaires, à 37 °C en atmosphère ordinaire, *Rhodococcus equi* se développe correctement. Les colonies sont visibles au bout de 16 à 18h. Elles sont lisses, rondes, translucides et muqueuses. Sur gélose ordinaire, elles se développent en 24 à 48 heures

d'incubation et prennent une coloration rosée caractéristique. Elles mesurent 1 à 3 mm de diamètre.

## 1.2 GÉNÉRALITÉS SUR LA RHODOCOCCOSE

### 1.2.1 Symptomatologie

#### 1.2.1.1 Formes cliniques chez les équidés

La rhodococcose affecte préférentiellement les poulains âgés de 3 semaines à 6 mois. La forme pulmonaire est la plus fréquemment rencontrée. Elle peut parfois être associée à une autre forme.

##### 1.2.1.1.1 Forme respiratoire

L'infection à *Rhodococcus equi* se manifeste par une bronchopneumonie pyogranulomateuse abcédée (Muscatello, 2011). Les signes cliniques sont le plus souvent insidieux et non spécifiques au début de la maladie rendant difficile un diagnostic précoce. Les signes cliniques les plus évocateurs sont une hyperthermie, une tachypnée, une dyspnée ainsi qu'une dilatation des naseaux. Une tachycardie est également présente. Dans des cas sévères, une cyanose des muqueuses peut survenir. La présence de toux et de jetage muco-purulent est inconstante. Cette forme peut également apparaître chez le cheval adulte lors d'une immunodépression marquée.

##### 1.2.1.1.2 Autres formes

- ✓ Forme abdominale.

La forme digestive (entérocolite et abcédation des nœuds lymphatiques digestifs) se manifeste rarement isolément. Elle est en général associée à une forme respiratoire (Zink *et al.*, 1986). Lors de forme digestive isolée, les poulains présentent des symptômes très frustrés. De la diarrhée et des signes de coliques peuvent être présents mais de manière inconstante. Lors de forme mixte (forme pulmonaire et digestive), les symptômes les plus fréquents sont une

hyperthermie, des signes respiratoires et un amaigrissement. Comme lors de forme digestive isolée, la diarrhée est inconstante malgré la présence de lésions digestives (Ainsworth 1998. Giguère, 1997; Mauger 2009).

✓ **Forme musculo-squelettique**

Lors d'infection du système musculo-squelettique, les symptômes dépendent de la localisation lésionnelle : boiterie lors d'atteinte des membres (arthrites septiques et ostéomyélite des os longs), signes d'ataxie, parésie voire paralysie lors d'atteinte vertébrale. Ainsi, les signes cliniques les plus souvent rencontrés sont une effusion synoviale ainsi qu'une boiterie. Dans le cas d'ostéomyélite des corps vertébraux, le diagnostic est tardif lorsque l'infection s'étend à l'espace épidual provoquant alors une parésie ou une ataxie ou bien un syndrome de queue de cheval. Les poulains présentent également un amaigrissement, un retard de croissance et une hyperthermie (Mauger, 2009; Chaffin et Martens, 1997).

Par ailleurs, lors de forme(s) pulmonaire et/ou digestive, certains poulains développent des polyarthrites/synovites aseptiques (à médiation immune) qui ne semblent pas entraîner de boiterie. La polysynovite à médiation immune affecte principalement les articulations tibio-tarsienne ou fémoro-tibiale (Sellon, 2007).

### **1.2.1.2 La rhodococcose chez les autres espèces**

*Rhodococcus equi* peut également infecter d'autres espèces, domestiques ou sauvages. *Rhodococcus equi* a déjà été isolé chez les camélidés (Kinne *et al.*, 2011), les porcs, les bovins, les ovins, les caprins, les crocodiles, les chiens et les chats (Takai *et al.*, 2003). Les lésions sont limitées à une infection cutanée ou une abcédation des nœuds lymphatiques (Farias *et al.*, 2007).

*Rhodococcus equi* peut affecter l'homme provoquant des bronchopneumonies principalement chez les individus immunodéficients. C'est le cas des personnes atteintes par le SIDA (Topino *et al.*, 2010) ou ayant subies une transplantation (Tse *et al.*, 2008). Parmi les patients ayant contracté une pneumonie à *Rhodococcus equi*, le taux de mortalité chez les patients atteints par le VIH est de 55% contre 20% chez les individus immunodéprimés non atteints par le SIDA et 11% chez les individus immunocompétents (Kedlaya *et al.*, 2001).

## 1.2.2 Épidémiologie

À travers le monde, le taux de morbidité chez les poulains âgés de moins de 6 mois varie de 5 à 17% (Hillidge, 1987). Les taux de mortalité sont variables d'un élevage à l'autre. Ceux-ci sont compris entre 12,5 et 42% (Chaffin *et al.*, 2003b). La rhodococcose apparaît de manière sporadique dans la majorité des élevages. Cependant, elle touche certains d'entre eux de manière endémique chaque année. Dès lors, ces élevages éprouvent de réelles difficultés à éradiquer la maladie. À ce jour, il n'a pas été mis en évidence de prédisposition de race ou de sexe. Le moment auquel s'infecte les poulains n'est pas clairement défini. La pneumonie à *Rhodococcus equi* affecte principalement les poulains entre 3 semaines et 6 mois. Pourtant, l'hypothèse d'une infection possible dès les premiers jours de vie du poulain a été émise. Ainsi *Rhodococcus equi* a été isolé dans les fèces de poulains âgés de 3 jours (Horowitz *et al.*, 2001).

## 1.2.3 Conséquences économiques

L'infection à *Rhodococcus equi* entraîne des pertes économiques directes et indirectes. En effet, le coût du traitement d'un poulain est élevé. De plus, la rhodococcose influe probablement de manière néfaste sur les performances des futurs animaux (Dorothy M. Ainsworth, 1997). Une grande partie des poulains touchée par la rhodococcose ne survit pas ou bien ne courent jamais. Néanmoins certains poulains atteints de rhodococcose ont obtenu ensuite des résultats satisfaisants en course (Christley, 1994).

## 1.2.4 Pathogénie de l'infection

### 1.2.4.1 Mode de contamination

La contamination du poulain s'effectue principalement par inhalation de la bactérie. Il est suspecté que *Rhodococcus equi* présent dans l'air, libre en suspension ou transporté par des aérosols, se dépose sur la muqueuse du tractus respiratoire inférieur. *Rhodococcus equi* colonise l'épithélium bronchiolaire et pénètre dans les macrophages alvéolaires

### 1.2.4.2 Modalités de l'infection

Il a été étudié expérimentalement chez la souris qu'avec la délétion du plasmide de virulence vap A, *Rhodococcus equi* n'est plus capable de se répliquer puis de détruire les macrophages (Jain *et al.*, 2003). Ce plasmide est donc essentiel. La bactérie interagit avec un récepteur de surface du macrophage puis est phagocytée. Une fois dans le macrophage,

*Rhodococcus equi* virulent se multiplie. Cette réplication a pour conséquence la destruction du macrophage infecté. D'autres facteurs tels que la capsule de polysaccharides, la présence de lipoglycanes et de l'enzyme cholestérol oxydase contribue également à la virulence.

#### **1.2.4.3 Sensibilité du poulain et mécanismes de protection**

Potentiellement, tous les poulains peuvent être exposés à *Rhodococcus equi* dans les premiers temps de leurs vies. Pourtant la plupart d'entre eux ne contractent pas la maladie. Puisque les adultes immunocompétents résistent à cette infection, il est probable que les poulains malades présentent un déficit immunitaire.

Plusieurs études suggèrent que la majorité des poulains s'infectent à la période durant laquelle l'immunité d'origine maternelle a chuté alors que l'immunité propre du poulain est encore insuffisamment développée. Les travaux de Zink *et al.* 1986 mettent en évidence un début des signes cliniques chez des poulains âgés de moins de 2 mois en général et la venue de la mort entre l'âge de 1 et 4 mois dans la plupart des cas avec une moyenne de 11 semaines. Dans une autre étude portant sur 54 poulains autopsiés atteints de rhodococcose, l'âge moyen de la mort était similaire: 70 +/- 21 jours (Takäi *et al.*, 1994). Enfin, dans une étude réalisée à partir de 199 cas autopsiés, la fréquence d'infection à *Rhodococcus equi* est la plus importante chez des poulains morts à l'âge de 1 à 6 mois (Mauger, 2009). Ainsi, c'est au cours de la période de 1 à 3 mois, appelée période de sensibilité que l'on observe le plus souvent les infections à *Rhodococcus equi*. Au cours de leurs premières semaines de vie, les poulains bénéficient d'une protection immunitaire grâce aux anticorps colostraux. Ce n'est qu'au cours du troisième mois que leur système immunitaire propre prendra le relais de l'immunité passive.

En ce qui concerne l'immunité innée, les macrophages et les neutrophiles semblent jouer un rôle important. Ainsi les souris possédant des macrophages déficients sont davantage susceptibles à l'infection à *Rhodococcus equi*. Chez la souris, la présence d'un déficit de neutrophiles la première semaine après l'infection provoque des symptômes plus sévères et les concentrations tissulaires en *Rhodococcus equi* sont augmentées (Martens *et al.*, 2005).

### 1.2.5 Lésions observées

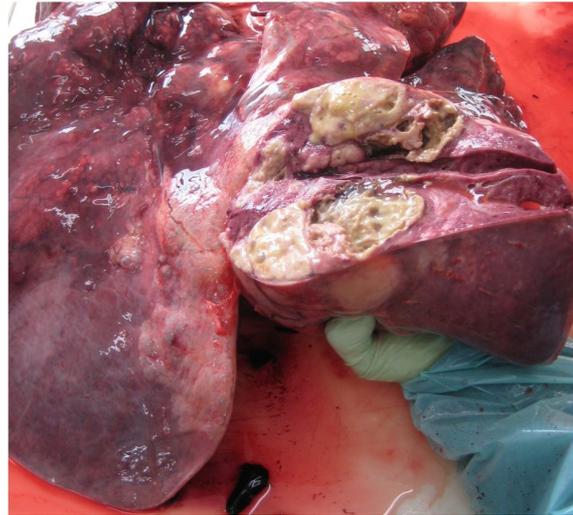
Chez les poulains atteints par la forme pulmonaire (photographie n° 3), une bronchopneumonie suppurative caractérisée par des abcès disséminés dans le parenchyme (à pus crémeux ou caséux) et ainsi qu'une lymphadénite suppurative des nœuds lymphatiques trachéobronchiques et médiastinaux sont mis en évidence. Les cas de pleurésie sont plus rares (Mauger 2009).

Dans le cas des formes intestinales (photographie n° 4), les lésions prédominantes sont une hypertrophie et une abcédation des nœuds lymphatiques caecocoliques et mésentériques, une typhlocolite ulcérate et une hyperplasie et/ou abcédation et/ou ulcération des formations lymphoïdes du tractus digestif (Mauger, 2009).

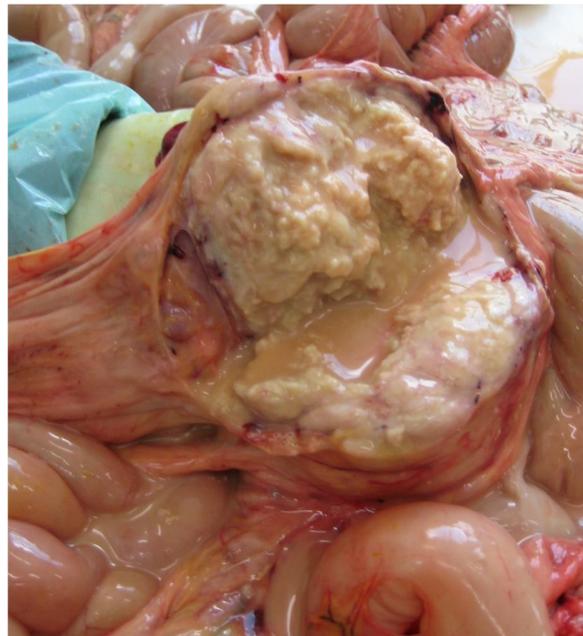
Cette atteinte digestive est la forme extra-pulmonaire la fréquemment rencontrée. En effet, des lésions caractéristiques de la forme abdominale étaient présentes à l'autopsie dans 25% (Mauger, 2009) à plus de 50% des cas de rhodococcose, le plus souvent associées à des lésions pulmonaires (Zink *et al.*, 1986).

Les lésions musculo-squelettiques les plus fréquentes sont les arthrites septiques et des ostéomyélites métaphysaires. Des ostéomyélites/arthrites vertébrales accompagnées de suppuration musculaire peuvent également être rencontrées (Mauger, 2009). Les lésions rachidiennes sont souvent associées à une pachyméningite suppurée (inflammation de la dure-mère avec épaissement) (Chaffin et Martens, 1997).

*Photographie n° 3: Forme pulmonaire. Autopsie d'un poulain au laboratoire de pathologie équine*



*Photographie n° 4: Forme intestinale. Autopsie d'un poulain au laboratoire de pathologie équine*



## 1.2.6 Moyens diagnostiques

Il est difficile de diagnostiquer la rhodococcose précocement. Si les signes cliniques sont assez peu spécifiques au stade initial de la maladie, les modifications hématobiochimiques telle qu'une hyperfibrinogénémié associée à une leucocytose neutrophilique peuvent être mis en évidence relativement tôt (Prescott, 1991). La radiographie et surtout l'échographie thoracique sont des outils complémentaires fiables pour détecter la présence des abcès pulmonaires. Le diagnostic de laboratoire repose sur la réalisation d'une aspiration trans-trachéale. Un antibiogramme peut également être réalisé sur la souche isolée. Enfin, des tests sérologiques sont envisageables mais possèdent de faibles sensibilité et spécificité (Martens *et al.*, 2002a).

## 1.2.7 Traitements

L'antibiothérapie constitue la clé de voûte dans le traitement de la rhodococcose. L'association érythromicine-rifampicine permet d'améliorer le pronostic des poulains atteints (Giguère et Prescott, 1997). L'azithromycine et la clarithromycine ont été proposés pour remplacer l'érythromycine dans le traitement érythromycine-rifampicine de la rhodococcose (Giguère *et al.*, 2004). L'association clarithromycine-rifampicine semble avoir un meilleur résultat dans le traitement de la rhodococcose que l'association érythromycine alors que l'association azithromycine-rifampicine n'a que l'avantage de réduire le nombre d'administrations par jour (Giguère *et al.*, 2004). La tulathromycine a également été récemment proposée et semble être un traitement prometteur (Venner *et al.*, 2007). Une thérapie adjuvante est conduite avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens, des bronchodilatateurs et des mucolytiques.

# 1.3 LES MÉTHODES DE QUANTIFICATION DE *RHODOCOCCLUS EQUI*

## 1.3.1 Technique de mise en culture

Un milieu sélectif, inhibant le développement d'autres micro-organismes, a été développé pour *Rhodococcus equi* (Woolcock *et al.*, 1979). Ce milieu à base de trypticase soja agar est supplémenté avec de l'acide nalidixique (20 µg/ml), de la novobiocine (25 µg/ml), de l'actidione (40 µg/ml) et du potassium tellurite (0,005 %) ; il est appelé NANAT. Un deuxième milieu sélectif a été développé plus récemment. Il s'agit d'un milieu Mueller-Hinton agar supplémenté avec de la ceftazidime (20 µg/ml) et de la novobiocine (25 µg/ml) ; il est dénommé CAZ-NB.

Une étude comparative de ces deux milieux a mis en évidence que le milieu NANAT était plus favorable au développement de *Rhodococcus equi* mais que le nombre de souches virulentes comptabilisées sur milieu CAZ-NB était malgré tout supérieur (Muscatello *et al.*, 2007).

### 1.3.2 Quantification dans le sol

En ce qui concerne la quantification de *Rhodococcus equi* dans le sol, des protocoles similaires ont été décrits (Takai *et al.*, 1987; Debey *et al.*, 1987; Prescott *et al.* 1984). Le principe consiste à prélever un échantillon de terre sur la surface concernée, d'en peser 1 g puis de le diluer dans un volume d'eau distillée ou une solution tampon et d'effectuer des dilutions au 1/10<sup>ème</sup>. Chacune des dilutions a été mise en culture sur 2 milieux NANAT. Ces milieux inoculés sont ensuite incubés à 37 °C pendant 3 jours.

### 1.3.3 Quantification dans les fèces

Pour ce qui est de la quantification dans les fèces, différentes méthodes ont été décrites. Pour les premières, les fèces ont été prélevés au sol ou bien directement dans le rectum (Takai *et al.*, 1987; Prescott *et al.*, 1984). Le protocole utilisé est identique au premier décrit pour la quantification dans le sol.

Une autre étude propose un protocole de quantification de *Rhodococcus equi* dans les fèces (Grimm *et al.*, 2007). Dans cette étude, une fois prélevés au sol ou dans le rectum, les fèces sont réfrigérés à +4°C puis congelés à -20 °C dans les 48 heures. Pour chaque prélèvement, 1 g a été mélangé avec 5 g de PBS (tampon phosphate). Des dilutions successives au 1/10<sup>ème</sup> ont été effectuées. Un volume de 100 µl de chaque suspension a été inoculé sur un milieu NANAT modifié. Les cultures réalisées en duplicata ont été placées à +34 °C pendant 48 heures. Le milieu NANAT modifié est fabriqué à base de bouillon de bœuf (300 ml), eau distillée (600 ml), peptone (20 g), chlorure de sodium (5 g), extrait de levure (5 g), glucose (5 g), dithionite de sodium (0,2g), thiosulfate de sodium (1,2 g), phosphate de potassium (2 g), agar (15 g). Après traitement, le milieu a été supplémenté avec de l'acide nalidixique (20 µg/ml), de la novobiocine (25 µg/ml), de l'actidione (40 µg/ml) et du potassium tellurite (3,5 %). Le nombre de colonies de *Rhodococcus equi* est ensuite calculé en UFC/g de terre. Une technique d'immunoblotting permet ensuite de détecter vap A et donc les *Rhodococcus equi* virulents.

### 1.3.4 Quantification dans l'air

Différentes tentatives de quantifications de *Rhodococcus equi* dans l'air sont présentées. Dans la première (Takai *et al.*, 1987), le site de prélèvement était situé au box à un mètre du sol. Ainsi les couvercles de deux boîtes NANAT sont ôtés. Après 15 minutes, les boîtes sont refermées et incubées à +37 °C pendant 3 jours.

Plus récemment, une deuxième technique a été proposée (Muscatello et Browning, 2004). Dans cette étude, un système portable de prélèvement d'air a été utilisé, le M Air T portable Air tester, fabriqué par la SAS Millipore dans lequel est pacé un milieu de culture NANAT. Il s'agit d'un appareil impacteur permettant d'aspirer 140 litres d'air par minute. Le système d'impaction entraîne les micro-organismes contre un milieu solide lors de l'aspiration. Pour ces prélèvements, l'appareil est placé à 5 cm du sol pendant la durée nécessaire pour aspirer 500 litres d'air. Les boîtes NANAT sont ensuite incubées à +37 °C pendant 48 heures. L'hybridation d'un produit de PCR spécifique du plasmide VapA permet ensuite de détecter et de quantifier *Rhodococcus equi* virulent.

## 1.4 FACTEURS DE RISQUES DE LA RHODOCOCCOSE ET PRÉVENTION

### 1.4.1 Charge en *Rhodococcus equi* dans le sol et dans l'air

Plusieurs études rapportent l'existence d'un lien entre la présence de *Rhodococcus equi* dans le sol et les pneumonies à *Rhodococcus equi* chez les poulains fréquentant ces surfaces. Ainsi, lors d'une enzootie de pneumonie à *Rhodococcus equi* dans un élevage, des prélèvements de terre ont mis en évidence la bactérie aux endroits où évoluaient les poulains atteints mais son absence dans les autres lieux. Les plus fortes concentrations ont été retrouvées aux lieux où la poussière était particulièrement visible (Smith et Robinson, 1981).

Les caractéristiques physico-chimiques des sols de 21 élevages indemnes et de 24 élevages touchés par la rhodococcose ont été analysées et comparées (Cohen *et al.*, 2008). Il s'agissait de prélèvements de surface dans les zones fréquentées par les poulains. Aucune différence significative n'a été rapportée en ce qui concerne le pH ou la salinité du sol, les

quantités de nitrates, phosphore, potassium, calcium, magnésium, sodium, soufre, zinc, fer, manganèse ou cuivre dans le sol.

Plus récemment, une étude a comparé la présence de *Rhodococcus equi* virulent dans les sols de deux groupes de haras, l'un avec des cas récurrents de rhodococcose (33 élevages) et l'autre non affecté (33 élevages). L'échantillon de terre était prélevé en surface. Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différences significatives. La présence de *Rhodococcus equi* virulent dans le sol ne permet donc pas de préjuger de la prévalence de la rhodococcose dans un élevage (Martens *et al.*, 2000).

Une autre étude a étudié la présence de *Rhodococcus equi* dans les sols deux groupes de haras, l'un indemne, l'autre affecté par la rhodococcose. Cette présence a été quantifiée en UFC par gramme de terre prélevé en surface. *Rhodococcus equi* virulent a été mis en évidence dans tous les haras. De nouveau, il a été démontré qu'il n'y a pas d'association entre la prévalence de la rhodococcose et la quantité de *Rhodococcus equi* virulent (Chaffin *et al.*, 2003a).

Une enquête a tenté de déterminer si les juments constituaient une source de *Rhodococcus equi* importante pour leurs poulains (Grimm *et al.*, 2007). Au sein d'un même élevage, les prélèvements ont été réalisés sur les 171 juments, 2 fois avant et 2 fois après le poulinage. *Rhodococcus equi* virulent a été mis en évidence au moins une fois chez chaque jument et à chaque prélèvement pour 36% d'entre elles. Parmi les 171 poulains, 31% ont développé une pneumonie à *Rhodococcus equi*. Les résultats montrent que les concentrations fécales en *Rhodococcus equi* total ou virulent ne sont pas significativement différentes chez les juments dont le poulain a été affecté par la rhodococcose.

Si la majorité des études ont montré que la charge en *Rhodococcus equi* virulent dans le sol ne constitue pas un facteur de risque de rhodococcose, sa présence dans l'air semble être un facteur déterminant. La technique proposée par Muscatello et Browning a été employée pour étudier la relation entre la concentration en *Rhodococcus equi* virulent dans l'air et la prévalence des pneumonies à *Rhodococcus equi* (Muscatello *et al.*, 2006a). Ces prélèvements d'air ont été réalisés dans des zones présentant un défaut d'enherbement, notamment les couloirs dans lesquels sont regroupés les poulains ou bien le pourtour des paddocks. Les concentrations mesurées s'échelonnent de 0 à 136 UFC/m<sup>3</sup> d'air. L'interprétation des résultats conduit à affirmer qu'il existe un lien entre la prévalence de la rhodococcose et *Rhodococcus equi* dans l'air, aussi bien en terme de concentration que de proportion.

En déterminant les concentrations en *Rhodococcus equi* dans deux élevages connaissant des cas récurrents de rhodococcose, une étude a montré qu'il n'y avait pas de variations selon le temps (Kuskie *et al.*, 2011). Ces mesures ont été menées avec un biocollecteur d'air à impaction, le MAS-100 Eco fabriqué par Merck INC dans lequel ont été placés des milieux NANAT. Il permet d'aspirer l'air à un débit constant de 100 litres par minute. Ces mesures ont mis en évidence que les concentrations en *Rhodococcus equi* étaient plus élevées au paddock qu'au box.

Cependant, il est à noter qu'elles sont plus importantes lorsque les chevaux sont présents lors du prélèvement et ce quelque soit la surface.

Auparavant, une étude avait montré dans 3 élevages atteints par la rhodococcose de manière endémique que l'air au box présentait une concentration en *Rhodococcus equi* plus importante au box qu'au paddock avec une probabilité 17,3 fois plus importante de détection (Muscatello *et al.*, 2006b).

#### 1.4.2 Facteurs de risque liés à la structure et aux pratiques d'élevage

Une étude cas témoins, comparant un groupe de haras atteints de manière endémique (29 élevages) et un groupe de haras indemnes (63 élevages) en France, a mis en lumière des facteurs de risque de rhodococcose pulmonaire liés à la structure de l'élevage (Tapprest *et al.*, 2012). Ainsi, le facteur de risque prépondérant est l'exposition des poulains à la poussière. D'autres facteurs interviennent tels que le dépassement des capacités maximales d'accueil des poulinières, la présence de naissances tardives et l'utilisation des mêmes équipements médicaux pour les juments résidentes et juments de passage. Ces équipements sont une barre d'échographie ou d'insémination. Ces facteurs sont également mis en exergue par une étude cas-témoins américaine concernant 138 élevages (Chaffin *et al.*, 2003a). Ainsi, les élevages de grande taille avec un grand nombre juments et de poulains sont significativement associés à une plus grande prévalence des pneumonies à *Rhodococcus equi*. Dans cette même enquête, les cas de pneumonies étaient associés à la présence d'un environnement jugé subjectivement comme poussiéreux par les observateurs. Il a été démontré qu'une faible hygrométrie du sol et une faible hauteur de pâturage sont significativement associés à une concentration élevée en *Rhodococcus equi* virulent dans l'air et d'après cette même étude, à une plus forte prévalence de pneumonies à *Rhodococcus equi* (Muscatello *et al.*, 2006a).

L'influence des pratiques d'élevage a été évaluée dans une enquête cas-témoins comportant 64 élevages (Chaffin *et al.*, 2003a). Il ressort que, par rapport aux élevages indemnes, les élevages affectés encadrent davantage les naissances, réalisent davantage de tests pour évaluer l'immunité passive, administrent davantage du plasma hyperimmun, vaccinent davantage les juments et les poulains contre l'infection à *Streptococcus equi* et établissent une lutte antihelminthique plus régulière. En conclusion, la pneumonie à *Rhodococcus equi* n'est pas associée à une mauvaise conduite d'élevage. Une étude menée sur 220 poulains a tenté de mettre en évidence des facteurs de risque intrinsèques au poulain dans des élevages endémiques. Il apparaît que les risques qu'un poulain développe une pneumonie à *Rhodococcus equi* sont liés à l'élevage et à l'année (Chaffin *et al.*, 2003b). Ces observations semblent souligner le rôle important que remplissent les facteurs environnementaux tels la quantité de précipitations ou la présence de poussières dans les surfaces où évoluent les poulains.