

## Bacilles Gram (+) Genre Corynebacterium

### Caractères du genre :

- Bacilles de morphologie irrégulière : bâtonnets en massue - corynéformes (phase exponentielle) à cellules coccoïdes (phase stationnaire)
- Gram +, parfois faible ou irrégulier : présence de zébrures dues à des granulations métachromatiques
- Groupement en palissade, ou lettres de l'alphabet
- Non-sporulés
- Aérobie stricts ou facultatifs
- Catalase +
- Exigence en nombreux facteurs de croissance

### Conditions de multiplication :

- Croissance à des températures variables (18 à 40°C)
- Les corynébactéries rencontrées en pathologie sont exigeantes pour de nombreux facteurs de croissance, elles ne cultivent bien que sur milieux riches (addition de sang, de sérum ou d'hémoglobine).
- Comme la plupart des bactéries Gram +, elles résistent à certains antibiotiques comme la colymicine, l'acide nalidixique, et sont capables de réduire le tellurite.

### Biotopes :

De nombreuses corynébactéries et bactéries apparentées (*Arcanobacterium*, *Actinomyces* ...) existent à l'état saprophyte dans l'environnement (eau, sol, air, végétaux) et ne sont jamais ou occasionnellement retrouvées en pathologie.

D'autres, constituants normaux de la flore cutanée et muqueuse de l'homme, pourront être responsables de processus infectieux.

### Principales espèces et particularités :

- *Corynebacterium diphtheriae* : La pathogénicité des corynébactéries a longtemps été limitée à la diphtérie (angine pseudo-membraneuse, croup). Cette maladie est provoquée par la toxine diphtérique (toxine A-B à activité AOP-ribosylante), à action systémique, produite par les bactéries après colonisation de la gorge. Toutes les souches de *Corynebacterium diphtheriae* ne produisent pas cette toxine: le gène est porté par des bactériophages tempérés (phages B). Seules les bactéries lysogénisées par ces phages sont toxigènes. La production de toxine est également dépendante de la teneur en fer du milieu.

La diphtérie est devenue une maladie rare du fait de la mise en place d'une vaccination obligatoire (toxine diphtérique inactivée par la formaldéhyde, mais toujours immunogène => production d'anticorps neutralisant la toxine). Néanmoins la vaccination ne protège pas contre la colonisation de la gorge, le développement de porteurs asymptomatiques peut être un facteur de dissémination de la maladie lors d'épisodes épidémiques de diphtérie.

- De nouvelles pathologies dues à d'autres corynébactéries et liées à l'évolution des techniques hospitalières ont succédé à la diphtérie. On les rencontre essentiellement chez des sujets immunodéprimés ou souffrant d'affections prédisposantes. Les agents responsables sont notamment *C. ulcérans*, *C. pseudotuberculosis*, *C. ovis*, *C. pseudodiphthericum*...

- Les corynébactéries peuvent également présenter un intérêt biotechnologique: *C. glutamicum* est notamment utilisée pour la production d'acides aminés.

### Conduite de l'identification des Corynébactéries :

Examen microscopique: A partir d'échantillons cliniques, il est peu contributif dans le cas de la recherche de *C. diphtheriae* car ce type d'investigation manque de sensibilité ou peut au contraire donner lieu à de faux positifs (présence d'une flore saprophyte corynéforme).

L'examen à partir de cultures permet d'observer les formes caractéristiques, qui peuvent néanmoins varier en fonction de l'âge de la culture et du milieu utilisé.

Isolement: On dispose de différents milieux électifs ou sélectifs pour favoriser l'isolement de *C. diphtheriae* (entre autre) :

- Milieux électifs = milieu au sérum coagulé (à observer après 16-18h) ou milieu de Loeffler (+ riche, à observer après 6-12h). Ces milieux, ne contenant pas d'inhibiteurs, permettent l'isolement préférentiel des corynébactéries en favorisant tout simplement leur croissance - d'où l'importance des délais d'observation de ces milieux.

- Milieux sélectifs = GHT (gélose hémoglobine tellurite). La présence de tellurite dans le milieu inhibe la croissance des bactéries Gram (-) et constitue un indicateur de la capacité de réduction des corynébactéries (colonies noires).

Caractérisation biochimique: Elle repose sur l'étude de quelques caractères classiques (fermentation du glucose, du maltose, présence ou non d'une uréase ...), qui peut se faire sur galerie miniaturisée : API Coryné. Le tableau ci-dessous regroupe quelques caractères des principales espèces rencontrées en pathologie.

	sensibilité aux antibiotiques	catalase	Hémolyse $\beta$	Réduction des nitrates	Uréase	Gélatine	Glucose	Maltose	Dextrine	Mannitol	Xylose
<i>C. diphtheriae</i>	+	+	V	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>C. ulcerans</i>	+	+	+	-	+	- ou +	+	+	-	-	-
<i>C. pseudotuberculosis</i>	+	+	+	V	+	-	+	+	-	-	-
<i>C. xerosis</i>	+	+	-	+	-	-	+	V	+	-	-
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. equi</i>	+	+	-	V	V	-	-	-	-	-	-
<i>C. pyogenes</i>	+	-	+	-	-	+	+	+	V	V	+
<i>C. haemolyticum</i>	+	-	+	-	-	-	+	+	V	-	-
Groupe G2	-	+	-	-	-	-	+ ou +t	V	+ ou +t	-	-
Groupe JK	-	+	-	-	-	-	+	V	-	-	-

Uréase de Christensen :  
+ = 90% au moins des souches donnent un résultat positif  
- = 90 % au moins des souches donnent un résultat négatif  
V = entre 10 et 90 % des souches donnent un résultat positif  
+ t = positif tardivement (jusqu'à 4 jours d'incubation)

*C. diphtheriae* et *C. ulcerans* sont pathogènes, agents de la diphtérie.

Les autres espèces sont opportunistes et rencontrées dans divers prélèvements humains.

Mise en évidence de la toxine : peut se faire soit par mise en évidence de son caractère toxique, soit par mise en évidence de son caractère antigénique :

- Inoculation au cobaye: travail avec 2 animaux dont l'un est protégé par un sérum antidiphthérique.

- Immunodiffusion en gélose (test d'Elek): sur milieu enrichi, on place des disques imprégnés d'antitoxine diphtérique, puis on ensemence les germes en touche. En 24 à 48h, les souches toxigènes apparaissent entourées d'un halo correspondant aux lignes de précipitation toxine-antitoxine.