

Variabilité et antigénicité de *Dermatophilus congolensis*

par M. VIGIER et J. BALIS

RÉSUMÉ

Les auteurs étudient plusieurs souches de *Dermatophilus congolensis* en provenance des différents territoires d'Afrique Occidentale, Centrale et de Madagascar. Ils concluent que ces souches à leur isolement sont comparables du point de vue des caractères morphologiques et biochimiques. Elles présentent de plus une structure antigénique très voisine, sinon identique. Toutefois de nombreuses mutations peuvent survenir, mutations s'accompagnant de variations morphologiques et biochimiques ainsi que d'une dégradation antigénique du germe.

De nombreux auteurs ont décrit les caractères biochimiques de *Dermatophilus congolensis*. Ceux-ci rassemblés en tableau par G. MEMERY (11) apparaissent très différents. Nous avons voulu étudier dans les mêmes conditions, diverses souches en provenance des laboratoires de recherches vétérinaires de Hann (Sénégal), Tananarive (Madagascar), Farcha (Tchad), Niamey (Niger). Entre temps un travail semblable effectué par Morris A. GORDON (8) concluait à l'identité des espèces isolées sous les noms de *Dermatophilus congolensis*, *Dermatophilus dermatonomus*, *Dermatophilus pedis* ou *Polysepta pedis*.

Rapidement nous nous sommes aperçus de la très grande « plasticité » de nos souches. Avec les subcultures, de nombreuses mutations sont apparues et, dans cette note, nous nous proposons de décrire les différentes variations morphologiques et biochimiques que nous avons observées. Une étude de l'antigénicité de *Dermatophilus congolensis* complète ce travail.

MATÉRIEL ET MÉTHODE EMPLOYÉS

Les cultures ont été effectuées constamment, en aérobiose, à la température de 37 °C en bouillon ou sur gélose tryptose additionnés de 5 p. 100 de sérum de zébu ou de cheval

Extrait de viande Liebig.....	5 g
Tryptose Difco.....	20 g
Extrait de levure Difco.....	2,5 g
Glucose.....	2 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Eau distillée, pH 7,4, QS.....	1.000 g

Pour la gélose tryptose on ajoute : Bacto agar Difco 25 p. 1.000.

1° Les caractères morphologiques décrits concernent des colonies âgées de 3 jours, moment où elles nous ont paru le plus caractéristiques. Les examens microscopiques ont été effectués sur des cultures en bouillon âgées de 48 heures.

2° Les caractères biochimiques ont été déterminés comme suit étant précisé que tous les milieux de culture furent additionnés de 5 p. 100 de sérum de cheval ou de zébu. La production de l'indol a été recherchée en eau peptonée ; la production d'acétyl-méthyl-carbinol et la réaction au rouge de méthyle en milieu Clark et Lubs ; la production d'hydrogène sulfuré en gélose au sous-acétate de plomb ou en milieu de Hajna-Rolland ; la présence d'une uréase en milieu urée Christensen ; l'action sur les glucides (acidification) en gélose inclinée ou en eau peptonée additionnées de rouge de phénol. La mise en évidence d'une β -galactosidase a été

effectuée suivant la méthode de L. LE MINOR et F. BEN HAMIDA et celle du pouvoir protéolytique sur sérum coagulé de zébu ou de cheval.

3° Les caractères antigéniques ont été étudiés par la méthode de précipitation en plaques d'Outcherlony. Les antigènes ou haptènes mettant en évidence les anticorps, ont été préparés ainsi : le filtrat d'une culture de 8 jours en bouillon tryptosé additionné de 5 p. 100 de sérum de zébu est lyophilisé et remis en solution avec un volume d'eau distillée égal au 1/10^e du volume initial, opération qui a pour but de concentrer les antigènes ou haptènes mis en présence des sérums.

SOUCHES ÉTUDIÉES

Les souches isolées en Afrique Occidentale, en Afrique Centrale et à Madagascar ont été numérotées ainsi :

Laboratoires de :

Hann	Farcha	Tananarive	Niamey
—	—	—	—
H ₁ H ₂ H ₃ H ₄ H ₅ H ₆ H ₇	F ₁ F ₂ F ₃	M ₂ M ₃ M ₄ M ₅	N ₁

Plusieurs d'entre elles ont subi des mutations. Nous avons sélectionné les mutants et une même souche peut se présenter sous plusieurs aspects ; ainsi, d'après les caractères des colonies du germe sur gélose tryptose-sérum, nous définissons trois formes : une forme R ou rugueuse, une forme I ou intermédiaire et une forme S (ou lisse), stade ultime de dégradation du germe.

1° La forme R ou rugueuse : elle semble être celle de toutes les souches de *Dermatophilus congolensis* à l'isolement. Les colonies sur gélose sont ridées, surélevées, adhérentes à la gélose et indissociables dans l'eau distillée.

2° La forme intermédiaire : (début de dégradation du germe) les colonies sont plates, ridées mais non adhérentes, plus facilement dissociables en eau distillée. Toutefois leurs suspensions ne sont pas stables, les germes étant autoagglutinables. Nous avons observé deux mutants de ce type que nous appellerons, M₅(I) et F₃(I), mutants pigmentés fortement en orange ou jaune pâle dont la description morphologique plus détaillée est donnée dans le tableau 1.

3° La forme S : (dégradation ultime du germe). Les colonies sur gélose sont lisses, brillantes,

facilement dissociables dans l'eau distillée. Toutefois leurs suspensions sont encore instables. Nous avons observé six mutants de ce type que nous désignerons M₅(S), M₃(S), N₁(S), F₁(S), H₄(S), H₂(S), mutants pigmentés ou non, à croissance faible ou luxuriante dont les caractères morphologiques très différents sont indiqués dans le tableau 1.

Ainsi, du point de vue biochimique, nous avons été amenés à étudier les différentes souches suivant leurs aspects variables ; toutefois, pour les souches H₄ et F₃, nous ne possédions pas la forme R originelle.

RÉSULTATS

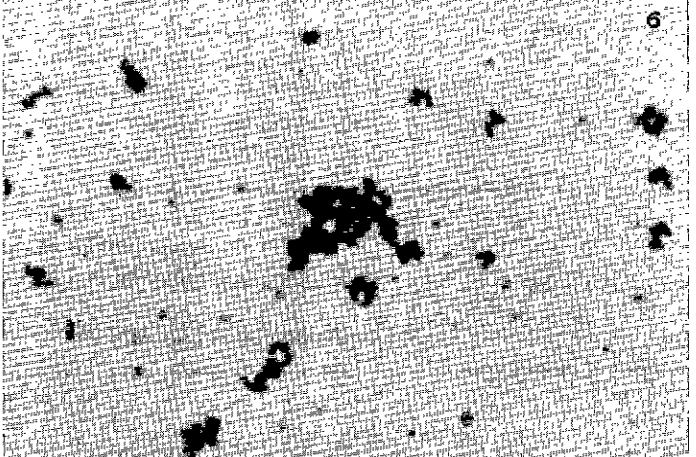
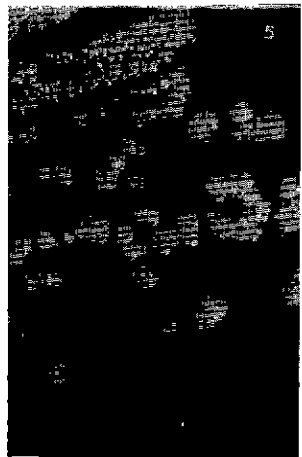
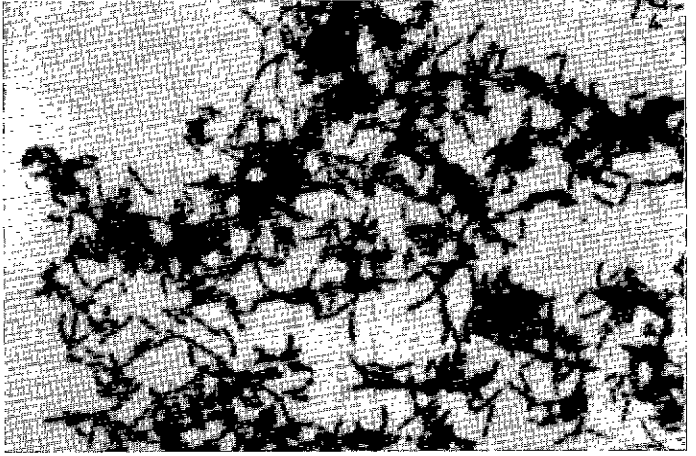
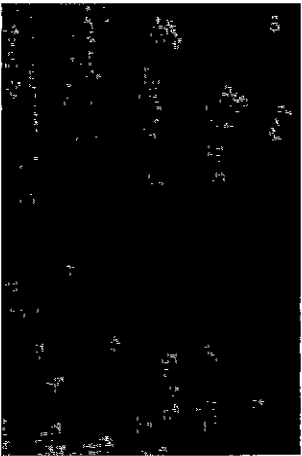
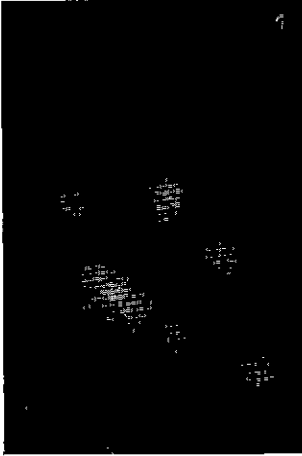
La sélection des mutants nous a permis d'obtenir des clones purs dont nous avons pu observer les caractères morphologiques et rechercher les caractères biochimiques et antigéniques.

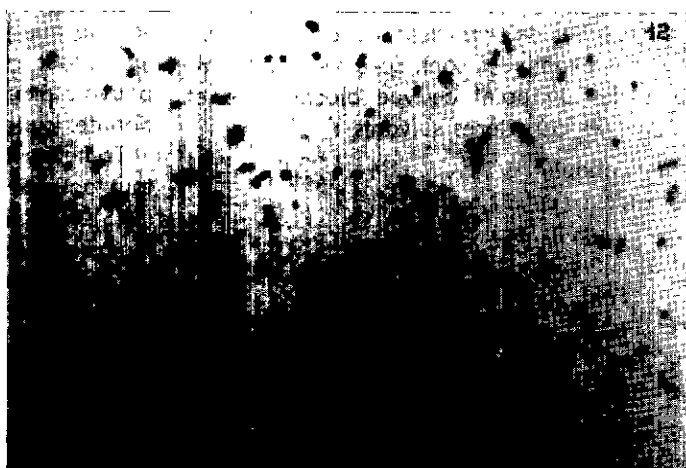
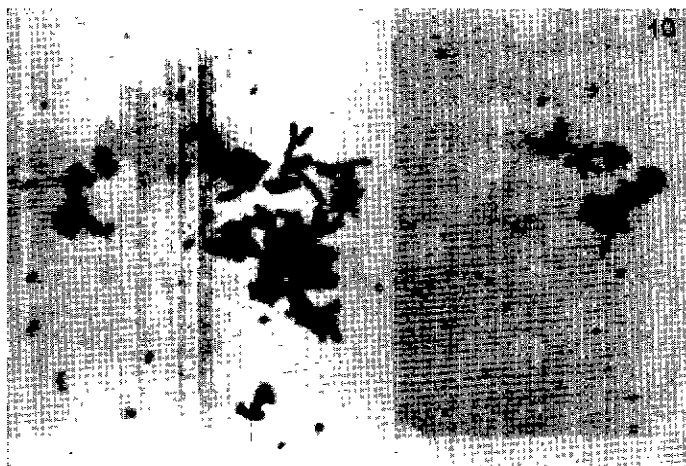
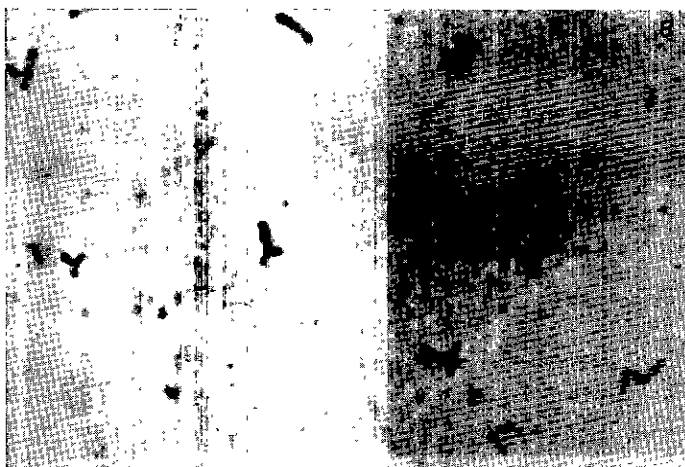
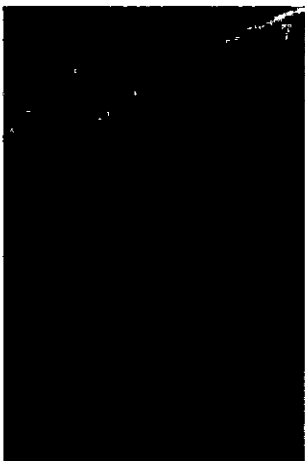
1° Caractères morphologiques : les germes à leur isolement donnent des colonies rugueuses telles qu'elles ont été précédemment décrites ; les mutations successives font apparaître ces colonies de plus en plus lisses et plus ou moins pigmentées tandis que les caractères morphologiques du germe se modifient. L'importance du stade mycélien diminue. Le cycle de *Dermatophilus congolensis* n'est plus apparent, ainsi dans le cas des mutants H₂(S) et H₄(S), variants pigmentés jaune vif, nous n'observons plus les formes mycéliennes ramifiées caractéristiques, mais toujours des amas de cocci rappelant des sarcines. Dans d'autres cas, M₃(S), N₁(S), F₁(S), le germe se présente sous la forme de corynebactéries plus ou moins petites, plus ou moins dispersées dans le milieu suivant le stade de dégradation du germe. L'exemple le plus frappant de ces mutations accompagnées de modifications morphologiques est fourni par la souche M₅, qui se présente sous trois formes, une forme rugueuse classique, une forme intermédiaire avec colonies plates, ridées orange, une forme lisse avec colonies lisses gris-bleu. On voit par les photos nos 2, 4 et 8, la dégradation mycélienne du germe. Au stade ultime, seules des formes en Y nous rappellent l'appartenance du germe à la famille des actinomycètes.

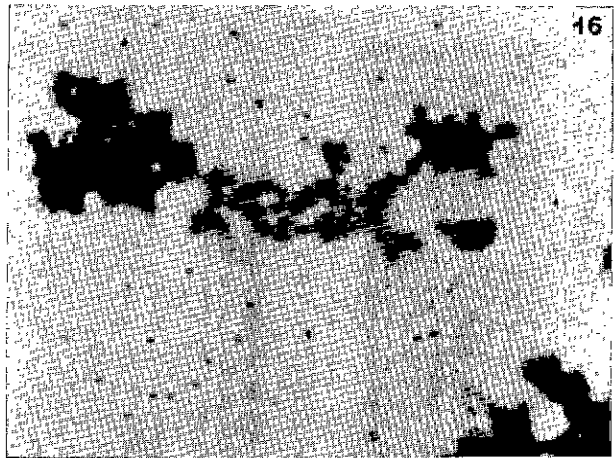
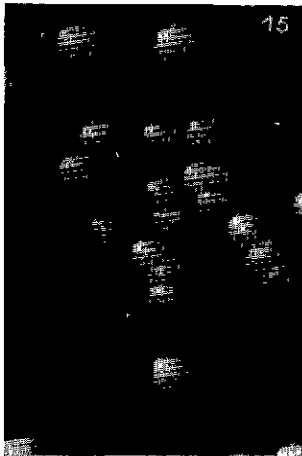
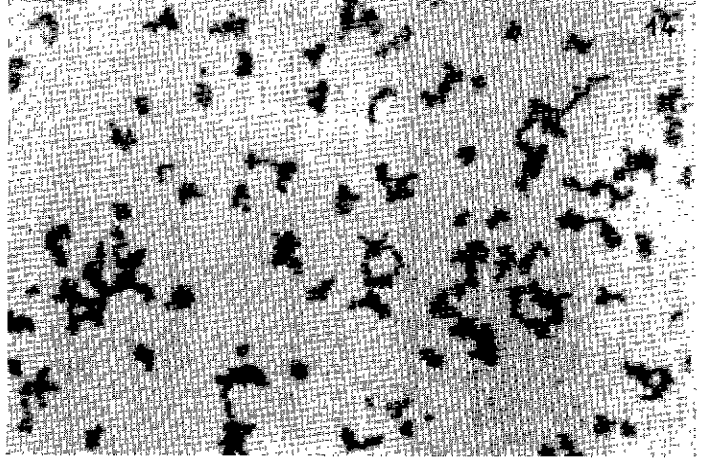
2° Caractères biochimiques : à ces modifications morphologiques s'ajoutent des variations

TABLEAU N°1

Variantes	Numéros des souches			Description morphologique
R Photos 1 - 2	H ₁ H ₂ H ₃ H ₄ H _{5H₆}	H ₇ M ₂ M ₃ M ₄ M ₅	F ₁ F ₂ N ₁	<p><u>Colonies sur gélose.</u> ridées, surélevées, adhérentes à la gélose, indissociables dans l'eau distillée.</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> flocons en suspension dans un liquide clair, voile peu important sec et ridé.</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> hyphes ramifiés et spores coccoïdes.</p>
I Photos 3 - 4		M ₅		<p><u>Colonies sur gélose.</u> plates ridées, non adhérentes à la gélose - orange</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> voile et dépôt gras pigmentés liquide clair non pigmenté.</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> raccourcissement des hyphes - peu de ramifications.</p>
I Photos 5 - 6			F ₃	<p><u>Colonies sur gélose.</u> plates ridées, non adhérentes à la gélose, jaune pâle</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> dépôt et voile granuleux pigmentés, liquide clair non pigmenté</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> formes rappelant de grosses corynébactéries ou des cocci.</p>
S Photos 7 - 8		M ₅		<p><u>Colonies sur gélose.</u> lisses brillantes, non adhérentes à la gélose, transparentes. gris bleuté.</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> trouble homogène léger.</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> éléments en voie de dégénérescence, formes en y. en navette, élément coryneiformes.</p>
S Photos 9 - 10		M ₃		<p><u>Colonies sur gélose.</u> lisses brillantes non adhérentes à la gélose. Transparentes - gris bleuté - (tendent à devenir opaque)</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> Trouble non homogène. Dépôt et voile granuleux.</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> corynébactéries en petits amas, fines, allongées avec granulations (spores?)</p>
S Photos 11 - 12			N ₁	<p><u>Colonies sur gélose.</u> lisses brillantes non adhérentes à la gélose - opaques.</p> <p><u>Bouillon.</u> trouble homogène</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> éléments coryneiformes en petits amas.</p>
S Photos 13 - 14			F ₁	<p><u>Colonies sur gélose.</u> petites, lisses, brillantes non adhérentes à la gélose, à croissance faible, se pigmentant lentement en marron clair (3 - 8 jours)</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> trouble léger homogène</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> petits éléments coryneiformes dispersés.</p>
S Photos 15 - 16		H ₄ et H ₂		<p><u>Colonies sur gélose.</u> lisses, hémisphériques, à croissance luxuriante, non adhérentes à la gélose, pigmentées en jaune vif.</p> <p><u>Culture en bouillon.</u> voile et dépôts très pigmentés, liquide clair non pigmenté.</p> <p><u>Morphologie microscopique.</u> amas coccoïdes rappelant des sarcines.</p>







dans les caractères biochimiques. De l'examen du tableau II, nous pouvons tirer les enseignements suivants :

a) les souches de *Dermatophilus congolensis* que nous avons examinées sont, sous leur forme R, comparables du point de vue biochimique et présentent les caractères suivants :

Sérum coagulé	±
Indole	—
SH ₂	—
RM	+
VP	—
Urée	+
Glucose	+
Lactose	—

b) avec les mutations apparaissent les modifications suivantes :

les mutants I ou S sont devenus RM- ; le pouvoir protéolytique des mutants H₂(S), et H₄(S) s'est exacerbé avec les subcultures ; de même il semble que les souches de *Dermatophilus congolensis*, tout en restant sous leur forme R, ont leur pouvoir protéolytique augmenté avec la répétition des cultures.

Toutefois beaucoup de mutants S ont perdu tout pouvoir protéolytique M₃(S), M₅(S), F₃(I), N₁(S), F₁(S). Les mutants (I) et (S) ont une activité moins grande vis-à-vis des glucides, excepté F₃(I) qui est la seule souche possédant une B-galactosidase. Au sujet de la réduction des nitrates, nous devons signaler que les souches M₃(S), M₃(I) et M₅(S) réduisent les nitrates en nitrites. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de nitrate réductase chez les formes R de *Dermatophilus congolensis* ; ce fait mérite toutefois d'être précisé.

TABLEAU N° II

Souches	Forme	Lieu d'isolement	Sérum coagulé	Indole	S H ₂	RM	VP	Urée	Glucose 1 p.100	Lactose 1 p.100	Lactose 10 p.100	βGalactosidase
H ₁	R	Afrique Occ.	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
H ₂	R	"	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
H ₂	S	"	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
H ₃	R	"	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
H ₄	S	"	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
H ₅	R	"	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
H ₆	R	"	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
H ₇	R	"	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
M ₂	R	Madagascar	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
M ₃	R	"	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
M ₃	S	mutant de M ₃ R	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M ₄	R	Madagascar	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
M ₅	R	"	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
M ₅	I	mutant de M ₅ R	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
M ₅	S	mutant de M ₅ (I)	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
F ₁	R	Tchad	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
F ₁	S	mutant de F ₁ R	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
F ₂	R	Tchad	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
F ₃	S	Cameroun	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
N ₁	R	Niger	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
N ₁	S	mutant N ₁ R	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

N.B. Les réactions RM, VP, la recherche de la β galactosidase et de la production d'indole furent effectuées le 4ème jour de culture. Les autres caractères biochimiques furent examinés au bout de 8 jours.

Cette variabilité des caractères biochimiques associée aux mutations des souches de *Dermatophilus congolensis* peut expliquer la diversité des opinions exprimées à ce sujet ; pour comparer les différentes souches de *D. congolensis* il est essentiel de les étudier sous leur forme rugueuse, à l'isolement.

c) Caractères antigéniques : c'est indirectement par la recherche des anticorps précipitants chez des animaux atteints de streptothricose naturelle étendue que nous avons été amenés à constater l'étroite parenté antigénique des différentes souches de *D. congolensis* (rapport annuel 1964 du laboratoire de Farcha).

Généralement avec la méthode par précipitation en gélose nous n'avons pu mettre en évidence chez les animaux atteints de streptothi-

cose qu'un, deux ou trois anticorps précipitants. Toutefois dans le sérum d'un zébu (n° 983) présentant une streptothricose étendue nous avons pu observer la présence de cinq anticorps. C'est ce sérum qui nous a permis de comparer les différentes souches de *D. congolensis* car, par hyperimmunisation, nous n'avons pu obtenir aucun sérum de cette qualité (cette expérience mérite toutefois d'être reprise avec des souches de *Dermatophilus congolensis* dont la qualité antigénique aura été bien établie). Si nous mettons le sérum 983 en présence du filtrat concentré de souches de provenance variable, nous obtenons des résultats comparables. La photo 17 montre bien la parenté des souches (lignes communes) et la dégradation antigénique avec les subcultures ; en effet les filtrats des souches 2-3, bien

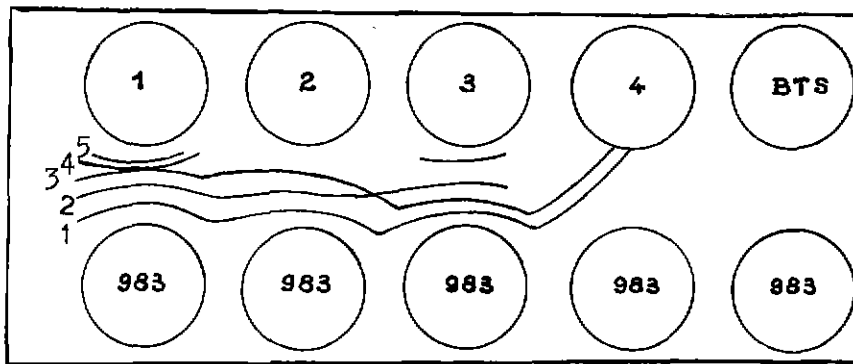
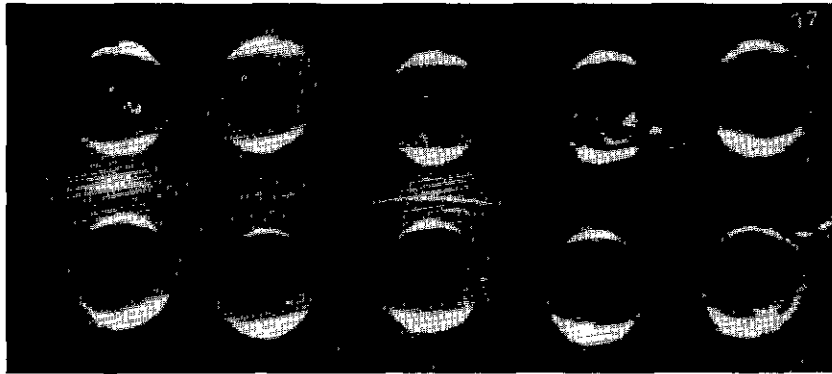


Photo 17 et schéma

1. — Filtrat concentré 10 fois, souche 1 rugueuse.
2. — Filtrat concentré 10 fois, souche 2 rugueuse.
3. — Filtrat concentré 10 fois, souche 3 rugueuse.
4. — Filtrat concentré 10 fois, souche 4 lisse.
5. — Bouillon tryptose sérum. Témoin.

Nous observons 5, 3 et 4 lignes de précipitation.

Les antigènes ou haptènes paraissent en concentration différente dans les filtrats.

que sous leur forme R ne permettent la mise en évidence que de trois ou quatre anticorps et le filtrat d'une souche S ne fournit aucune ligne de précipitation.

On peut toutefois extraire les lipopolysaccharides de ces souches S et les mettre en évidence par hémagglutination passive suivant la méthode décrite par P. PERREAU (12) (technique plus sensible que la précipitation en gélose). D'autre part, les lipopolysaccharides extraits d'une souche R ne semblent être responsables que d'une partie des lignes de précipitation ; en effet, en présence du sérum 983, les lipopolysaccharides ne donnent pas autant de lignes de précipitation

que le filtrat de la souche dont ils sont extraits, alors qu'un antigène obtenu par l'action des ultra-sons [P. PERREAU (12)] et notre filtrat concentré donnent des résultats comparables. Ainsi il apparaît que *Dermatophilus congolensis* a une structure antigénique très complexe et en dehors des lipopolysaccharides spécifiques qui semblent disparaître les derniers au cours de la dégradation antigénique du germe, il existe d'autres antigènes, probablement de nature protidique.

Pour étudier l'immunologie de la streptothricose, il est nécessaire de définir la qualité des différents anticorps que l'on voit successivement

apparaître. L'apparition de tel ou tel anticorps se traduit-elle par la guérison, une immunité, ou une hypersensibilité de l'animal malade? Ces anticorps persistent-ils et combien de temps? Telles sont les questions à résoudre. Sur deux animaux atteints de deux ou trois streptothricoses successives, huit mois après la guérison, nous n'avons pu mettre en évidence aucun anticorps par la méthode de précipitation en gélose, méthode peu sensible quantitativement. Tous ces faits méritent d'être précisés car ils permettront de juger de l'intérêt et de la possibilité d'une vaccination.

CONCLUSION

L'étude de ces souches en provenance de différents territoires d'Afrique Occidentale, Cen-

trale et de Madagascar nous permet de conclure que les souches de *D. congolensis* à l'isolement paraissent être semblables tant du point de vue des caractères culturaux que des caractères biochimiques et antigéniques. Toutefois ces souches sont très « plastiques ». Elles peuvent subir de nombreuses mutations se traduisant par des variations morphologiques, biochimiques et une dégradation antigénique. Il semble bien que certaines formes aberrantes de *D. congolensis* aient été prises pour des germes contaminants, notamment pour des corynebactéries. De plus, il apparaît que des différences dans les descriptions données de *D. congolensis* peuvent s'expliquer par ces mutations autant que par la variété des méthodes employées pour étudier le germe.

SUMMARY

Variability and antigenicity of *Dermatophilus congolensis*

Several strains of *Dermatophilus congolensis* from various countries of West Africa, Central Africa and Madagascar have been studied. According the conclusion of the authors, these strains when isolated are comparable in respect of their morphological and biochemical properties. In addition they show very closely related, if not identical, antigenic structures. However many mutations can occur, which are accompanied by some morphological and biochemical variations as well as by an antigenic degradation of the germ.

RESUMEN

Variabilidad y antigenicidad de *Dermatophilus congolensis*

Los autores estudian varias cepas de *Dermatophilus congolensis* de diferentes regiones de África Occidental, Central y de Madagascar. Según sus conclusiones estas cepas, cuando están aisladas, se parecen desde el punto de vista de los caracteres morfológicos y bioquímicos. Además tienen una estructura antigénica muy próxima, sino idéntica. No obstante numerosas mutaciones pueden ocurrir, acompañadas por variaciones morfológicas y bioquímicas así como por una degradación antigénica del germen.

BIBLIOGRAPHIE

1. AUSTWICK (P. C. K.). — Cutaneous streptothricosis mycotic dermatitis and Strawberry Foot Rot and the germ *Dermatophilus van Saceghem*. *Vet. Rev. Ann.*, 1958, 4 : 33.
2. BUCK (G.). — Actinomycose ou streptothricose cutanée des bovins de Madagascar (*Drodro-Boka*). *Bull. off. intern. Epiz.*, 1948, 29 : 117.
3. BUGYAKI (L.). — Dermatose contagieuse des ruminants et du cheval (streptothricose, Actinomycose cutanée). *Bull. Off. intern. Epiz.*, 1959, 51 : 237.
4. BULL (L. B.). — Dermatomycosis of the sheep (lumpy or matted wool) due to *Actinomyces dermatonomus* (n. sp.). *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci.*, 1929, 6 : 301.
5. CHODNIK (K. S.). — Mycotic dermatitis of the cattle in British West Africa. *J. Comp. Path.*, 1956, 66 : 179.
6. EDGAR (G. E.) et KEAST (J. C.). — A note on the susceptibility of horses and cattle to infection with mycotic dermatitis caused by *Actinomyces dermatonomus* (Bull). *Aust. vet. J.*, 1940, 16 : 120.
7. GORDON (M. A.) and EDWARDS (M. R.). — Micromorphology of *Dermatophilus congolensis*. *J. Bact.*, 1963, 86 : 1101.
8. GORDON (M. A.). — The genus *Dermatophilus*. *J. Bact.*, 1964, 88 : 509-522.
9. LE MINOR (L.) et BEN HAMIDA (F.). — Avantage de la recherche de la β galactosidase sur celle de la fermentation du lactose en milieu complexe dans le diagnostic bactériologique, en particulier des *Enterobactériaceae*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1962, 102 : 267.
10. MASON (J. H.) et BEKKER (J. G.). — Further notes on Lumpy Wool in South Africa. *Onderstepoort J. vet. Sci.*, 1934, 3 : 211.
11. MEMERY (G.). — La streptothricose cutanée. III. Bactériologie. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1961, 14 : 141.
12. PERREAU (P.) et CHAMBRON (J.). — Immunologie de la streptothricose cutanée des bovins. Essai de vaccination. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1966, 19 (3) : 263-274.
13. PLOWRIGHT (T. W.). — Cutaneous streptothricosis of the cattle in Nigeria. II. The aerobic Actinomyceete (*Nocardia* sp.) associated with the lesions. *J. comp. Path.*, 1958, 68 : 133.
14. Rapport annuel 1964. Laboratoire de Recherches vétérinaires de Farcha. Fort-Lamy. Tchad.
15. ROBERTS (D. S.). — Some features of the mycotic dermatitis organism. *Aust. Vet. J.*, 1957, 33 : 141.
16. ROBERTS (D. S.). — An ecological study of the mycotic dermatitis organism. *Aust. vet. J.*, 1957, 33 : 233.
17. ROBERTS (D. S.). — The life cycle of *Dermatophilus dermatonomus*, the causal agent of ovine mycotic dermatitis. *Aust. J. exptl. Biol. Med. Sci.*, 1961, 39 : 463.
18. SCHULZ (K. C. A.). — Mycotic dermatitis (Sonkobo-skin-disease) of cattle in the Union of South-Africa. *Bull. Epiz. Afr.*, 1955, 3 : 216.
19. SNIJDERS (A. S.) et JANSEN (B. C.). — A comparison of *Streptothrix bovis* and *Actinomyces dermatonomus*. *Bull. Epiz. Afr.*, 1955, 3 : 242.
20. STABLEFORTH (A. W.). — Cutaneous streptothricosis : a case in Great Britain. *Proceedings royal Soc. Med.*, 1937, 30 : 1955.
21. THOMPSON (R. E. M.). — A species of *Rhizobium* isolated from Strawberry Foot Rot in the sheep. *J. Path. Bact.*, 1954, 68 : 445.
22. VAN SACEGHÈM (R.). — Dermatose contagieuse (impétigo contagieux). *Bull. Soc. Path. exot.*, 1915, 8 : 354.
23. VAN SACEGHÈM (R.). — La dermatose, dite contagieuse, des bovidés. *Bull. agric. Congo*, 1934, 25 : 591.