

Mise au point d'une technique de quantification de *Rhodococcus equi* dans l'air et validation sur le terrain

Par :

- D. Philipot, J. Tapprest, C. Sévin, B. Carmouet, C. Laugier, F. Duquesne
- Anses Dozulé, Laboratoire de Pathologie Equine, 14430 Goustranville

Résumé

La rhodococcose est la première cause de mortalité chez le poulain de 1 à 6 mois. Les poulains s'infectent principalement par inhalation de poussières contaminées par *Rhodococcus equi* (*R. equi*) virulent et il est admis que c'est la capacité d'aérosolisation de *R. equi*, c'est-à-dire sa propension à être en suspension dans l'air, qui est l'aspect le plus critique de l'épidémiologie de la maladie. Pourtant, une seule technique de quantification de *R. equi* dans l'air a été publiée jusqu'à présent. Notre étude a permis de mettre au point et de valider un nouveau protocole de quantification de *R. equi* virulent en aérosol. Par ailleurs, les résultats obtenus dans 2 haras (un haras sain et un haras atteint) semblent confirmer que la mesure de la concentration en *R. equi* virulent dans l'air peut constituer un bon indicateur du risque d'un élevage vis-à-vis de l'apparition de cas de rhodococcose.

Mots clés : rhodococcose, *R. equi*, aérosol, quantification

Summary

Rhodococcosis is the leading cause of death for foals under 6 months. Foals become infected mainly by inhalation of dust contaminated with virulent *Rhodococcus equi* (*R. equi*). Several studies suggest that it is the propensity of virulent *R. equi* to remain in aerosol form that is the most critical aspect of the disease's epidemiology. However, only one technique for quantifying *R. equi* in the air has been published so far. Our study allowed to develop and validate a new protocol for quantifying *R. equi* in the air. Moreover, the results obtained in two farms (one unaffected farm and one endemically affected farm) seem to confirm that the measure of the concentration of virulent *R. equi* in the air may be a good indicator of the risk of a farm regarding rhodococcosis.

Key-words: rhodococcosis, *R. equi*, aerosol, quantification

Introduction

La Rhodococcose est la première cause de mortalité chez le poulain de 1 à 6 mois. Présente dans le monde entier, elle entraîne des pertes économiques considérables dans les élevages et constitue un réel défi, aussi bien en matière de diagnostic, de traitement que de prévention. L'infection à *Rhodococcus equi* (*R. equi*) chez le poulain affecte ses futures performances (Christley *et al.*, 1994). Les poulains s'infectent principalement par inhalation de poussières contaminées par *R. equi* et il est admis que c'est la capacité d'aérosolisation de *R. equi* qui est l'aspect le plus critique de la maladie (Giguère *et al.*, 1997). La connaissance des concentrations de *R. equi* en aérosol auxquelles les poulains sont exposés semble donc être un élément clé dans la prévention sanitaire de la rhodococcose. Pourtant une seule technique de quantification de *R. equi* dans l'air a été publiée jusqu'à présent (Muscatello *et al.*, 2006). Cette méthode a révélé certains écueils lors de sa mise en œuvre sur le terrain. Nos travaux avaient donc pour but de mettre au point une méthode de quantification fiable de *R. equi* en aérosol et de la valider sur le terrain.

1. Mise au point d'un protocole de quantification de *R. equi* en aérosol

Dans un premier temps, nous avons testé les performances de trois collecteurs d'air (le CIP 10M, l'Air idéal 3P® et la Pompe deluxe 224-PCEX8) en conditions expérimentales afin de déterminer celui qui répondait le mieux à notre objectif de quantification de *R. equi* dans l'air réalisable dans les conditions de terrain et permettant de s'approcher le plus possible de l'exposition réelle du poulain.

1.1. Présentation des principales caractéristiques des analyseurs microbiologiques

Tout d'abord, nous présentons rapidement les différents collecteurs d'air utilisés.

L'Air Ideal (distributeur Biomérieux): cet appareil est utilisé pour le contrôle microbiologique de l'air. Cet appareil a été utilisé par les auteurs australiens dans une étude incluant la quantification de *R. equi* en aérosol (Giguère *et al.*, 1997).

Caractéristiques : il possède un débit de 100 litres par minutes. La batterie permet une autonomie de 5 heures.

Mode de fonctionnement : il s'agit d'un échantillonnage par impaction. L'aspiration d'air est active, unidirectionnelle, avec impaction directe sur le milieu de culture (gélose ANC). La mise en culture est ainsi déjà réalisée lors du prélèvement (gain de temps) mais aucune dilution n'est possible. Les géloses ANC sont placées à 37°C et des lectures sont réalisées quotidiennement pendant 72 heures.

La pompe DELUXE (distributeur : ARELCO): cet appareil est utilisé habituellement pour la quantification des polluants.

Caractéristiques : elle possède un débit réglable de 1 à 4 litres par min. La batterie permet une autonomie de 8 heures.

Mode de fonctionnement : la pompe entraîne un flux d'air provoquant une aspiration à proximité d'une cassette. L'air est d'abord filtré à l'entrée de la cassette puis les bio-aérosols aspirés viennent s'impacter sur une membrane filtrante située au fond de la cassette. Il s'agit d'un échantillonnage par impaction.

Mise en culture : le filtre est récupéré sous PSM après ouverture de la cassette. Le filtre est déposé dans 5 ml de solution (saline + tween 80) puis l'ensemble est placé à 37°C avec agitation pendant 15 minutes. Des dilutions au $10^0, 10^{-1}, 10^{-2}$ sont ensuite réalisées. Puis 100µl de chaque solution sont ensemencés sur gélose ANC. Les géloses sont placées à 37°C et des lectures sont réalisées quotidiennement pendant 72 heures.

Le capteur individuel CIP 10M (distributeur : ARELCO): cet appareil développé initialement pour les travailleurs des mines (par le CHERCHAR : Centre d'Etudes et de Recherches de Charbonnage de France) a été ensuite adapté à l'analyse bactériologiques des aérosols.

Caractéristiques : il possède un débit de 10 litres par min. La batterie permet une autonomie de plus de 40 heures.

Mode de fonctionnement : Le CIP 10 M comporte dans sa partie supérieure une coupelle rotative d'échantillonnage pour micro-organismes contenant le milieu liquide BHI. L'air est aspiré au travers d'une fente de manière omnidirectionnelle puis est ensuite dirigé jusqu'au liquide de collecte. Le contact des particules collectées avec une surface liquide caractérise le mode d'échantillonnage par « impingement ».

Mise en culture : le liquide BHI est récupéré et dilué à $10^0, 10^{-1}, 10^{-2}$. Puis 100µl de chaque solution sont ensemencés sur gélose ANC. Les géloses sont placées à 37°C et des lectures sont réalisées quotidiennement pendant 72 heures.

1.2. Sélection d'un collecteur d'aérosol

Des mesures ont été réalisées avec les différents collecteurs d'aérosol en extérieur (parcelle en herbe et parcelle en terre) et à l'intérieur (box paillé) dans différentes situations (notamment variations de la hauteur de prélèvement et du volume prélevé).

Les parcelles et box ont été contaminés artificiellement. Pour cela, une souche de *R. equi* virulent issue de la souchothèque autopsie a été multipliée (incubation à 37°C pendant 24 h sur BHI Biomérieux, puis incubation sur solution BHI pour une 2^{de} période d'incubation de 48 h sous agitation). Un comptage des souches de *R. equi* présentes dans la solution a ensuite été réalisé puis la solution a été mélangée avec une quantité déterminée de crottins (préalablement contrôlés pour vérifier qu'ils étaient indemnes de *R. equi* initialement). Ces crottins (dont la concentration en *R. equi* est connue) ont été répartis sur les parcelles ainsi que sur le sol du box. Un contrôle périodique du niveau de contamination des parcelles par quantification de *R. equi* dans des prélèvements de terre a été réalisé pendant la période durant laquelle se sont déroulées les mesures de concentration de *R. equi* dans l'air.

1.2.1. Comparaison du CIP 10 M et de l'Air Ideal

Les deux appareils ont été testés dans des conditions strictement identiques en extérieur puis en box. Pour chaque essai, les conditions météorologiques étaient relevées (température, hygrométrie, vitesse du vent, présence de pluie).

Sur les parcelles contaminées, différents prélèvements ont été réalisés avec les 2 appareils. En effet, nous avons testé 2 hauteurs de prélèvement : 15 cm correspondant à la « position tête basse » d'un poulain et 1,15 m correspondant au « port de tête neutre » d'un poulain d'environ 4 mois. Nous avons également testé différents volumes de prélèvements (100 litres, 300 litres, 600 litres). En raison du débit supérieur de l'Air Idéal par rapport au CIP 10 M, les temps de prélèvements étaient différents selon l'appareil pour un volume d'air récolté identique (de 10 min à 60 min pour le CIP 10M, de 1 min à 6 min pour l'Air Idéal).

L'ensemble de ces prélèvements ont conduit à la culture de différentes bactéries (Staphylocoques, Streptocoques, entérocoques, Bacillus) et/ou moisissures. Cependant, aucun n'a permis la récolte de souches de *R. equi*. Ces prélèvements ont été réalisés à l'automne dans des conditions météorologiques défavorables à la mise en suspension de *R. equi* (temps pluvieux). Par ailleurs, les parcelles étaient inoccupées. Ces deux éléments peuvent sans doute expliquer, au moins partiellement, nos résultats négatifs pour *R. equi*. En revanche, la récolte d'autres types de bactéries et/ou moisissures et les manipulations fréquentes des différents appareils nous ont permis d'une part de sélectionner l'appareil le plus adapté aux conditions de terrain, d'en déterminer les paramètres d'utilisation envisageables et de déterminer les dilutions à effectuer avant ensemencement sur milieu de culture.

Dans le box paillé contaminé, différents prélèvements ont été réalisés avec les deux appareils en faisant varier la hauteur de prélèvement et le volume d'air récolté comme précédemment. Par ailleurs, nous avons introduit un paramètre supplémentaire puisque des prélèvements ont été réalisés avec et sans agitation de paille (pour provoquer ou non la mise en suspension de particules). Les prélèvements réalisés sans agitation de la paille ont amené une seule fois la culture de *R. equi* (Air Idéal, hauteur 15 cm, volume prélevé : 300 litres). Les prélèvements réalisés avec agitation de paille ont permis d'obtenir de meilleurs résultats avec la culture de colonies de *R. equi* pour les prélèvements réalisés avec les 2 appareils, pour les 2 hauteurs de prélèvements et pour des volumes de 100 litres et de 600 litres.

Ces résultats plus probants avec agitation de la paille semblent confirmer le rôle prépondérant des poussières dans la mise en suspension de *R. equi*. Par ailleurs, on retrouve un nombre de colonies de *R. equi* supérieur pour les prélèvements réalisés à 15 cm par rapport aux prélèvements réalisés à 115 cm. Enfin, le traitement bactériologique des prélèvements réalisés avec l'Air idéal se révèle problématique. En effet, l'aspect criblé de la boîte de culture nuit à une bonne lecture. D'autre part, la présence de moisissures envahissantes nuit fortement à la détection et au comptage des colonies de *R. equi*.

1.2.2. Essais complémentaires avec la pompe DELUXE

La pompe a été étalonnée sur un débit d'aspiration de 2 litres par minutes. Cette valeur est un compromis entre un début d'aspiration trop faible qui allongerait le temps de collecte et une valeur trop élevée qui pourrait être retenue pour responsable d'un impact trop violent sur la membrane filtre et donc d'une mise en culture infructueuse. Aucun des prélèvements réalisés sur la parcelle contaminée ou dans le box contaminé n'ont donné lieu à la culture de *R. equi*.

1.2.3. Choix de l'analyseur

Les résultats négatifs obtenus avec la pompe DELUXE, les difficultés de lecture et en particulier de comptage lors de l'utilisation de l'Air idéal (envahissement par des moisissures, aspect criblé de la boîte ne permettant pas de distinguer les colonies, impossibilité de réaliser des dilutions) sont les raisons essentielles qui nous ont amené à retenir le CIP 10 M.

Par ailleurs, d'autres critères étaient favorables au CIP 10 M :

- son poids léger, sa faible taille et son faible niveau sonore nous permettait d'envisager de le fixer sur un licol afin de réaliser des prélèvements avec l'appareil embarqué sur l'animal (pour être au plus près de l'exposition réelle),
- son débit d'air (10 litres par minutes) est assez proche du débit respiratoire d'un poulain,
- l'aspiration d'air est omnidirectionnelle,
- l'échantillonnage par « impingement » propre au CIP 10 M évite les écueils de l'échantillonnage par impaction de l'Air idéal et de la pompe Deluxe (risques de destruction des bactéries par choc lors de l'impaction).

Ces expériences nous ont permis de retenir le CIP 10M comme collecteur d'air fiable et de développer un protocole afin de quantifier *R. equi* virulent dans l'air.

1.3. Protocole de quantification de *R. equi* en aérosol retenu

Le protocole de quantification retenu inclut 3 phases. La phase de prélèvement est réalisée avec le CIP 10 M fixé au licol de la jument poulinière. La deuxième phase correspond à l'analyse bactériologique du milieu de culture après dilutions qui permet de quantifier *R. equi* dans le volume d'air prélevé. La 3^{ème} phase est représentée par une PCR (polymérase chain reaction) qui permet d'identifier les souches de *R. equi* dites virulentes. C'est une PCR spécifique de la protéine *VapA* codée par le gène *vapA* présent seulement chez les bactéries virulentes. L'ensemble du protocole permet la détermination de la concentration en *R. equi* virulent en UFC/m³ d'air pour un prélèvement.

1.3.1. Protocole de prélèvement

CIP 10M embarqué sur le licol de la jument poulinière suitée (Photo 1).

Photo 1 : Les appareils ajoutés au licol grâce à un baudrier. A droite de la jument, le CIP 10 MR quantifie *R. equi* dans la fraction alvéolaire (c'est-à-dire les particules de taille suffisamment petites pour atteindre les alvéoles pulmonaires). A sa gauche médialement, le CIP 10 M quantifie *R. equi* dans l'air total.

Photo 1: The devices have been added to the halter with the harnesses. On the right hand of the mare is the CIP MR that quantifies R. equi in the alveolar part of the air (that is to say small particles able to reach pulmonary alveoli). On her left hand is the CIP 10M that quantifies R. equi in the whole air.



La durée de prélèvement est de 1h30 soit un volume de 900 litres (débit d'air de 10 litres par minute) afin de maximiser nos chances de récolter des souches de *R. equi* en aérosol (il s'agit du temps maximum de prélèvement pour lequel on récupère encore une quantité suffisante de milieu liquide BHI permettant la réalisation de l'ensemencement bactériologique direct et des dilutions).

1.3.2. Protocole de bactériologie

Le liquide BHI est récupéré puis son volume est mesuré. Des dilutions successives sont ensuite réalisées et pour chacune 3 étalements avec un inoculum de 100 µl sont effectués (triplicata). Ces ensemencements sur gélose ANC sont placés 48 à 72 h à 37°C.

Chaque colonie est alors isolée sur gélose ANC pour une nouvelle incubation 48 à 72h à 37°C. La souche est enfin transférée sur tube Cryo-Billes identifié pour être conservée en souchothèque à -80°C mais aussi sur tube Eppendorf identifié avec 350 µl d'eau physiologique afin de réaliser la PCR.

1.3.3. Protocole PCR (polymerase chain reaction)

Cette étape permet d'identifier les souches de *R. equi* dites virulentes. C'est en réalité une PCR spécifique de la protéine *VapA* codée par le gène *vapA* présent seulement chez les bactéries virulentes. Les amorces choisies (Rhodo1 et Rhodo2) sont présentes dans le gène et s'hybrident pour être amplifiées par la suite (Takaï *et al.*, 1995). Le protocole respecte les étapes classiques d'une PCR : préparation de l'ADN, préparation du pré-mix, amplification, migration sur gel d'agarose, révélation.

L'ensemble du protocole permet la détermination de la concentration en *R. equi* virulent en UFC/m³ d'air pour un prélèvement.

De plus, l'utilisation ou non d'un système de filtration de l'air ajouté dans le CIP 10M permet de quantifier soit la concentration en bactéries dans l'air total prélevé soit la concentration en bactéries dans la fraction alvéolaire.

2. Validation sur le terrain

Nous avons ensuite souhaité valider ce protocole dans 2 haras : un haras indemne de Rhodococcose (H1) et un haras rencontrant des cas de manière récurrente (H2).

Le premier objectif était de valider le protocole sur le terrain. Le deuxième objectif était de tenter de mettre en évidence des différences notables entre les 2 haras en ce qui concerne la présence de *R. equi* dans le sol et dans l'air.

Ainsi, nous avons suivi au cours de la saison 2011 la quantité de *R. equi* dans l'air et dans le sol dans plusieurs surfaces de 2 haras ayant un statut bien distinct vis-à-vis de la rhodococcose.

2.1. Matériel et méthodes

Les haras retenus sont des haras les plus semblables possible à l'exception de leur statut vis-à-vis de la rhodococcose. Il s'agit de 2 haras de même vocation (élevage de Pur-Sang) et de taille comparable (en surface et effectifs). Le haras H2 connaît des cas de rhodococcose depuis 2006 avec 8 cas en 2010. Le haras H1 est en revanche indemne de rhodococcose.

Afin de réaliser un suivi des concentrations en *R. equi* sur une période de 3 mois, nous avons effectué 6 séances de prélèvements espacées de 15 jours dans chaque haras (12 séances au total). A chaque séance, des prélèvements d'air ont été réalisés dans 3 lieux différents (herbage, paddock, box). Lors des 2 premières séances, il s'agissait uniquement de prélèvements d'air alvéolaire (50% des particules de la fraction alvéolaire ont un diamètre inférieur à 4 µm). Au cours des 4 séances suivantes, il s'agissait de prélèvements d'air alvéolaire et de prélèvements d'air total (utilisation de 2 CIP portés par la même jument). Le protocole utilisé est celui décrit précédemment et permet la détermination de la concentration en *R. equi* total et de *R. equi* virulent en UFC/m³ d'air pour un prélèvement.

Ces prélèvements ont été couplés à des prélèvements de sol. Pour chacun des lieux dans lesquels des prélèvements d'air ont été réalisés, des prélèvements de terre ou au sol ont été réalisés et cela pour toutes les séances de prélèvements. Dans les box, la recherche de *R. equi* au sol a été effectuée grâce à des chiffonnettes spécifiques *Grosseron*. Dans les paddocks et herbages, des prélèvements de sol ont été effectués à l'aide d'une tarière dans 3 endroits distincts (entrée, auge et centre) et à 4 profondeurs différentes (surface, 5 cm, 20 cm et 50 cm de profondeur). Le protocole de mise en culture bactériologique des prélèvements de terre suivi d'une PCR spécifique de la protéine *VapA* codée par le

gène *vapA* permet d'obtenir au final la concentration en *R. equi* total et en *R. equi* virulent par gramme de terre.

Lors de nos visites dans les haras, nous avons également collecté les conditions climatiques et de terrain ainsi que des informations sur le haras et les animaux.

L'analyse statistique des résultats a été réalisée grâce au logiciel Statel version 2.6.

2.2. Résultats et Discussion

Seuls les principaux résultats sont présentés ici.

2.2.1 Prélèvements réalisés au sol

Dans les deux haras, pour chaque séance, nous n'avons jamais isolé *Rhodococcus equi* au sol dans les box dans lesquels nous avons réalisé les prélèvements d'air.

2.2.2 Prélèvements de terre

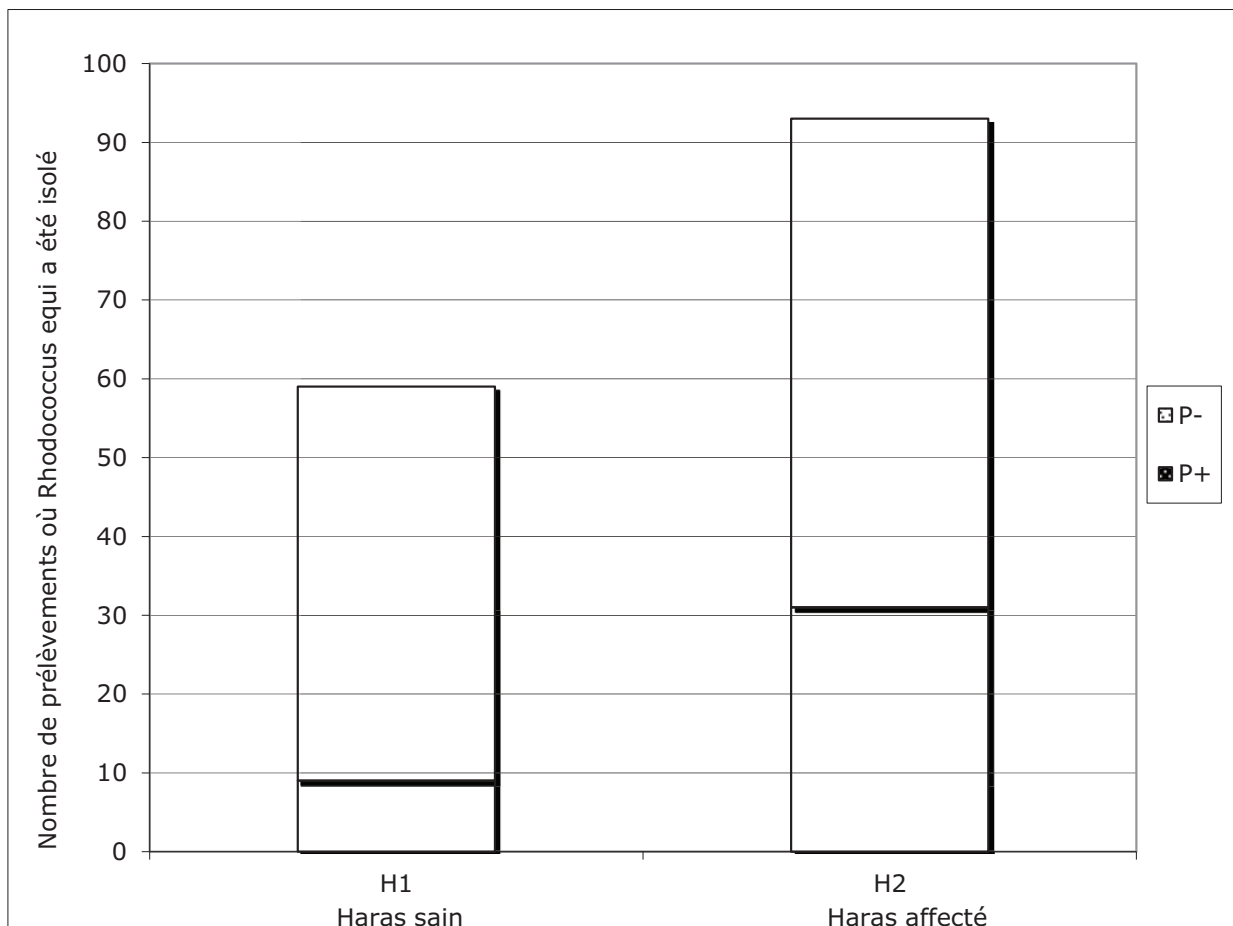
Au total, 144 prélèvements de terre ont été réalisés au cours de la campagne pour chaque haras.

Nous avons mis en évidence la présence de *R. equi* virulent dans le sol des 2 haras. Cela signifie que dans un haras indemne de rhodococcose (H1), des souches virulentes de *R. equi* sont présentes et donc que l'exposition des poulains à *R. equi* virulent existe.

Nous nous sommes ensuite intéressés à la comparaison entre les deux haras (figure I).

Figure I : Nombre de fois où *R. equi* virulent (P+) et non virulent (P-) a été isolé selon chaque haras. Les souches virulentes sont représentées en noir. Le haras H1 est le haras sain. Le haras H2 est le haras affecté.

Figure I: Frequency of detection of virulent (P+) and non virulent (P-) *R. equi* for each farm. Virulent strains are symbolized in black. H1 is the unaffected farm. H2 is the endemically affected farm.



La figure I montre que *R. equi* total et *R. equi* virulent ont été isolés sur un plus grand nombre de prélèvements de terre dans le haras H2. La différence entre les deux haras est statistiquement significative (test du Chi2, $p < 0,01$)

Nous avons par ailleurs constaté que, pour un nombre de prélèvements égal dans des surfaces semblables, les concentrations en *R. equi* virulent et non virulents sont plus importantes dans le haras H2. On peut dire que les concentrations moyennes en *R. equi* et en *R. equi* virulent sont plus élevées dans le haras H2 que dans le haras H1 (test de Wilcoxon, $p < 0,01$).

Selon la littérature (Cohen *et al.*, 2008 ; Martens *et al.*, 2000) *R. equi* virulent a été isolé dans les élevages qu'ils soient sains ou atteints. Ces études concluent que les concentrations en *R. equi* virulent ne sont pas significativement différentes entre les élevages indemnes et atteints. Nos résultats obtenus dans 2 haras avec un très grand nombre de prélèvements tendent de la même manière à montrer que *R. equi* virulent ou non est présent dans le sol quelque soit le statut sanitaire du haras. En revanche, la contamination du sol est significativement plus élevée dans le haras présentant des épisodes récurrents de rhodococcose (H2) par rapport au haras sain (H1). Ce résultat diffère des études antérieures (Cohen *et al.*, 2008 ; Martens *et al.*, 2000) mais il est difficile de comparer nos résultats à ceux de ces études puisque notre protocole de prélèvements est différent des leurs (notamment par la réalisation de prélèvements à 4 profondeurs différentes). Il serait nécessaire de réaliser des prélèvements dans un plus grand nombre d'élevages pour confirmer ou infirmer l'existence d'une différence entre haras indemnes et haras atteints.

Nous avons ensuite comparé les résultats en fonction de la profondeur du prélèvement.

R. equi total et virulent sont significativement plus fréquemment retrouvés aux faibles profondeurs (surface et 5 cm) qu'aux profondeurs plus importantes (20 cm et 50 cm) (test du chi2, $p < 0,001$) et sont en concentrations plus importantes à des niveaux superficiels qu'à des niveaux profonds (test de Wilcoxon, $p < 0,01$).

La possibilité d'aérosolisation de la terre située en surface ou à faible profondeur et la présence de la plupart des bactéries virulentes dans cette zone superficielle rend particulièrement intéressant ce résultat.

2.2.3 Prélèvements d'air

Nous n'avons jamais détecté de *R. equi* dans l'air d'un box. En revanche, *R. equi* a été retrouvé dans l'air des paddocks et des champs que ce soit dans le haras H1 ou dans le haras H2, avec des concentrations significativement plus importantes dans le haras H2 (test de wilcoxon, $p < 0,05$) (figure II).

Par ailleurs, *R. equi* virulent n'a jamais été retrouvé dans l'air du haras considéré sain H1 alors qu'il a été retrouvé à 5 reprises dans le haras malade H2 (4 fois dans l'air du paddock et 1 fois dans l'air du champ).

En conclusion, la présence de *R. equi* virulent dans l'air semble significativement liée au statut du haras. Ce paramètre mesurable pourrait permettre de différencier les haras selon leur statut vis-à-vis de la rhodococcose.

Conclusion

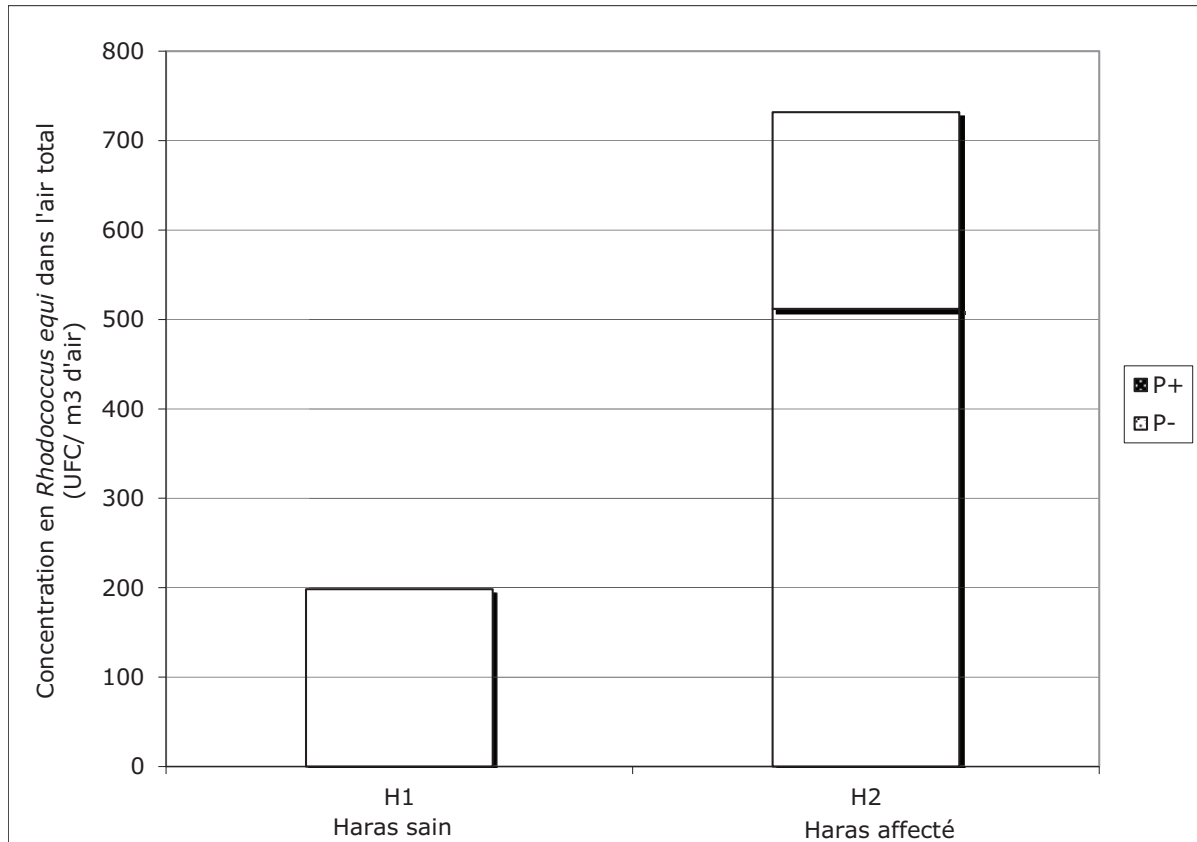
Cette étude nous a permis de mettre au point et de valider un nouveau protocole de quantification de *R. equi* virulent en aérosol. Par ailleurs, les résultats de l'étude dans 2 haras semblent confirmer que la mesure de la concentration en *R. equi* virulent dans l'air peut être un bon indicateur du risque d'un élevage vis-à-vis de l'apparition de cas de rhodococcose.

Cette nouvelle technique devrait permettre à moyen terme d'évaluer le risque global d'un élevage vis-à-vis de la rhodococcose, de déterminer les zones les plus à risque pour les poulains et d'évaluer objectivement l'efficacité de mesures sanitaires préventives (arrosage, retrait des crottins, chaulage).

Afin de confirmer les résultats de l'étude réalisée dans 2 haras, une enquête dans un plus grand nombre d'élevages est programmée en 2012.

Figure II : Concentration en *R. equi* virulents (P+) et non virulents (P-) dans l'air total selon chaque haras. Le haras H1 est le haras sain. Le haras H2 est le haras affecté.

Figure II: Virulent (P+) and non virulent (P-) *R. equi* concentrations in the air (total) for each farm. H1 is the unaffected farm. H2 is the endemically affected farm.



Remerciements

Ces travaux ont été financés par l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation. Nous remercions chaleureusement les docteurs Xavier D'Ablon et Julie Gatti de la clinique vétérinaire de la côte fleurie pour leur soutien et les renseignements apportés au cours de cette étude.

Références

- Christley, R.M., Hodgson, D.R. 1994. *Rhodococcus equi* pneumonia in foals and the effects on subsequent race performance. *Aust Equine Vet* 12,76-79.
- Cohen, N. D., Carter, C. N., Scott, H. M., Chaffin, M. K., Smith, J. L., Grimm, M. B., Kuskie, K. R., Takaï, S., Martens, R. J. 2008. Association of soil concentrations of *Rhodococcus equi* and incidence of pneumonia attributable to *Rhodococcus equi* in foals on farms in central Kentucky. *Am J Vet Res*, 69, 385-95.
- Giguere, S., Prescott, J.F. 1997. Strategies for the control of *Rhodococcus equi* infections on enzootic farms. In: Proceedings. Annu. Conv. AAEP, pp.65-70.
- Martens, R. J., Takaï, S., Cohen, N. D., Chaffin, M. K., Liu, H., Sakurai, K., Sugimoto, H., Lingsweiler, S. W. 2000. Association of disease with isolation and virulence of *Rhodococcus equi* from farm soil and foals with pneumonia. *J Am Vet Med Assoc*, 217, 220-5.
- Muscatello, G., Anderson, G.A., Gilkerson, J.R., Browning, G.F. 2006. Associations between the ecology of virulent *Rhodococcus equi* and the epidemiology of *R. equi* pneumonia on Australian thoroughbred farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(9), 6152-6160.
- Takaï, S., Ikeda, T., Sasaki, Y., Watanabe, Y., Ozawa, T., Tsubaki, S., Sekizaki, T. 1995. Identification of virulent *Rhodococcus equi* by amplification of gene coding for 15- to 17-kilodalton antigens. *J Clin Microbiol*, 33, 1624-1627.