

# Actualités sur la diphtérie, zoonose, à l'occasion du centenaire des anatoxines par Gaston Ramon

par Alain PHILIPPON<sup>1</sup>

## RÉSUMÉ

Après 10 ans passés dans la préparation peu gratifiante de sérums antidiphtérique, antitétanique, anti-gangréneux et antivenimeux, le vétérinaire Gaston Ramon a mis au point les anatoxines diphtérique et tétanique dès 1923. Son sens aiguisé de l'observation l'amena à tester le formol pour une meilleure conservation des sérums antitoxiques et finalement découvrir la floculation, le titrage *in vitro* des toxines et enfin leur inactivation (formol + chaleur) sans perdre leur pouvoir immunogène, ouvrant ainsi la voie des vaccins par anatoxines. Lors de l'injection de toxines aux chevaux, il nota que la présence d'un abcès génait une meilleure production d'antitoxines, y compris chez l'animal multivacciné. Ces observations allaient permettre d'autres découvertes capitales dont les adjuvants de l'immunité, les vaccinations associées et les rappels vaccinaux. Bien que le plus souvent cité, il n'obtint jamais le Prix Nobel de Médecine. Si la diphtérie reste très minoritaire dans les pays pratiquant la vaccination par anatoxine, elle est devenue une zoonose due à *Corynebacterium ulcerans*, transmise surtout par le chat et le chien et capable de synthétiser la toxine diphtérique véhiculée par un prophage.

## MOTS-CLÉS :

Gaston Ramon, vaccin, anatoxine, diphtérie, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans*.

<sup>1</sup>Professeur émérite, Faculté de Médecine Paris Cité.

Courriel : fephillips66@gmail.com

Cet article a été préalablement publié par le *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. La *Revue de Biologie Médicale* remercie l'Académie Vétérinaire de France et Alain Philippon, son auteur, pour leur aimable autorisation de publication dans nos colonnes.

## INTRODUCTION

L'année 1923 est marquée par la découverte par un vétérinaire, le docteur Gaston Ramon, d'un nouveau type de vaccin antitoxine, l'anatoxine diphtérique, obtenue en inactivant la toxine diphtérique par le formol et la chaleur (Ramon, 1923). Jusqu'alors, les vaccins étaient vivants atténués depuis Edward Jenner avec la vaccine vers 1790, les vaccins de Louis Pasteur contre le choléra des poules, le charbon ovin, le rouget du porc ou encore la rage, en particulier chez le chien et le lapin entre 1872 et 1882 et enfin en 1921, le vaccin antituberculeux chez les bovins, puis le nouveau-né avec le BCG (Bilié Calmette Guérin). Cette toute nouvelle étape de la vaccination, ouverte par la découverte du vaccin antidiphtérique, est suivie en 1925 par la vaccination antitétanique également proposée par Gaston Ramon (Figure 1). Un tel succès planétaire dans la prévention d'au moins deux importantes maladies infectieuses, la diphtérie et le tétanos, justifie d'en rappeler certains faits, un siècle après, d'autant que ce vétérinaire reste le candidat le plus souvent cité (155 fois entre 1930 et 1953) au prix Nobel de Médecine sans l'obtenir ([https://www.nobelprize.org/nomination/archive/show\\_people.php?id=7930](https://www.nobelprize.org/nomination/archive/show_people.php?id=7930)). Le nombre de vies sauvées a été récemment estimé à, au moins, 60 millions ([www.linternaute.com/actualite/societe/1421062-les-30-inventions-qui-ont-sauve-le-plus-de-vies/1421522-vaccin-diphterie-et-tetanos](http://www.linternaute.com/actualite/societe/1421062-les-30-inventions-qui-ont-sauve-le-plus-de-vies/1421522-vaccin-diphterie-et-tetanos)).



Fig. 1 - Gaston Ramon (Wikimedia commons).

## LA DIPHTÉRIE EN 1923

Cette maladie infectieuse et contagieuse propre à l'homme est due au bacille de Klebs-Löffler (*Corynebacterium diphtheriae*) découvert en 1884. Cette bactérie produit une toxine provoquant des lésions locales, congestives, hémorragiques et enfin nécrotiques au point de pénétration dans l'organisme, le plus souvent, la gorge. Vers 1820, Pierre Bretonneau distingue la diphtérie des autres angines «couenneuses». Il observe la formation d'un réticulum de fibrine constituant la «fausse membrane» ou en grec, «*diphthera*» donnant le nom à la maladie. Sa gravité dépend de la localisation de celle-ci, l'atteinte du larynx entraînant la forme suffocante ou croup, et surtout de la diffusion de la toxine par voie sanguine, génératrice de diverses lésions organiques (nerveuses, rénales, surrénales...) susceptibles d'entraîner la mort. Armand Trousseau décrivait déjà, en 1861, les paralysies diphtériques et la forme maligne de cette maladie. On parle donc de toxi-infection, frappant surtout les enfants.

Au XIX<sup>e</sup> siècle, la diphtérie était la première cause de mortalité infantile en Europe. Cette angine touchait jusqu'à 30 000 personnes par an en France et tuait un enfant infecté sur deux. En 1894, Émile Roux annonça qu'un sérum équin riche en anticorps contre cette toxine faisait chuter la mortalité de moitié. Ainsi la sérothérapie antidiphtérique précédera la vaccination par l'anatoxine découverte trente ans plus tard par Gaston Ramon. Cette découverte tardive obtenue en plusieurs étapes mérite d'être contée (Ramon, 1957).

## DÉCOUVERTE DE LA RÉACTION DE FLOCCULATION (1922)

Gaston Ramon, diplômé de l'École Vétérinaire d'Alfort, entre en 1911 à l'annexe de l'Institut Pasteur de Garches pour être affecté à la production de sérums (Ramon, 1957). Pendant près de 10 ans, sa tâche ingrate consiste, sous la direction du vétérinaire Alexis Prévot, à immuniser des chevaux, et produire des sérums antidiphtérique, antitétanique, antigangréneux, voire antivenimeux... (Figure 2). La demande par les armées était particulièrement importante lors du premier conflit mondial. Afin d'éviter la contamination microbienne des sérums et suite à la demande d'Émile Roux, directeur de l'Institut Pasteur, il a l'idée d'adjoindre du formol aux sérums afin d'éviter les contaminations accidentelles. Il avait appris au cours de ses études vétérinaires que l'adjonction du contenu d'un dé à



**Fig. 2 - Prélèvement de sang contenant des antitoxines à l'annexe de l'Institut Pasteur de Garches** (<https://phototheque.pasteur.fr>).

coudre de formol dans un litre de lait l'empêchait de tourner. De plus, il utilisa le chauffage à 55 °C qui avait été largement utilisé plusieurs années auparavant par Louis Pasteur pour la conservation des vins envoyés en Angleterre (pasteurisation) (Ramon, 1957).

Désireux d'effectuer des recherches et malgré l'opposition d'Alexis Prévot, il obtient d'Émile Roux en 1920, un minuscule local de quelques mètres carrés à Garches près de son logement, mais sans aucun laborantin. Disposant de toxines et d'antitoxines, d'un bain-marie, de tubes de verre, de seringues et de pipettes, Gaston Ramon découvre fortuitement que l'adjonction de formol destinée à éviter les contaminations au mélange toxine-antitoxine préalablement chauffé à 37 °C entraînait une réaction de floculation : de fins flocons, visualisés dans le tube de verre grâce à une vieille lampe de projection, apparaissaient d'abord uniformément répartis, puis s'agglutinaient (Ramon, 1957). Cette floculation était d'autant plus intense que les mélanges de la toxine et d'antitoxine s'étaient mutuellement saturés. Cette observation permet alors une nou-

velle méthode de dosage *in vitro* de l'antitoxine diphtérique, plus rapide et moins dispendieuse que l'épreuve *in vivo* d'Ehrlich par injection au cobaye. Ainsi à 10 ml de filtrat diphtérique est ajouté 1, 0,9, 0,8, 0,7... ml de sérum antidiphtérique d'origine chevaline. La floculation ou forme d'immunoprécipitation est un phénomène d'agrégation de matières en suspension et les flocons sédimentent permettant un processus d'enrichissement. Ce procédé est utilisé pour la préparation des anatoxines diphtérique et tétanique, respectivement en 1923 et 1925 ou encore pour titrer l'antitoxine diphtérique (Ramon, 1957).

### DÉCOUVERTE DE L'ANATOXINE DIPHTÉRIQUE (1923)

En 1888, Émile Roux et Alexandre Yersin montrent que le bacille de la diphtérie (*C. diphtheriae*) produit une toxine. Puis Emil von Behring, assisté de Kitasato Shibasaburō dans le laboratoire de Robert Koch à Berlin, découvre l'antitoxine diphtérique en 1890 dans le sang des cobayes inoculés avec de la toxine diphtérique, préalablement traitée au trichlore d'iode, autre antiseptique. En 1894, Émile Roux annonce après des essais à grande échelle qu'un sérum riche en anticorps contre la toxine diphtérique, préparé chez le cheval, fait chuter la mortalité infantile de moitié (Bazin, 2008).

Finalement, ce n'est qu'en 1923 que Gaston Ramon démontre que la toxine diphtérique ayant subi l'action simultanée d'une petite quantité de formol (3-5 ml/l) et de la chaleur (40-42 °C) pendant un mois se transforme en un dérivé inoffensif qui conserve intact son pouvoir vaccinant : il lui donne le nom d'anatoxine diphtérique (Ramon, 1923). En Angleterre à la même période, Alexander-Thomas Glenny obtient par hasard une forme atténuée de toxine diphtérique qu'il dénomme « *toxoid* » en immunisant des chevaux avec un lot de toxine préparé dans un grand récipient ayant été au préalable en contact avec du formol, car non autoclavable (Bazin, 2008).

Gaston Ramon s'injecte l'anatoxine pour bien montrer son innocuité, puis à quelques condisciples qui consentent aussi à vacciner leurs enfants et à les mettre ensuite en contact avec des malades ou des convalescents de diphtérie (Bazin, 2008). Après quelques essais, la vaccination par l'anatoxine est introduite en France à partir de 1927 et obligatoire à partir de 1938 pour les enfants âgés d'un an à 14 ans. Elle avait déjà été rendue obligatoire dans l'armée française en 1930 (Ramon, 1957).

## AUTRES DÉCOUVERTES VACCINALES (1925-1926)

### Anatoxine tétanique

Avant la découverte de l'anatoxine tétanique, divers essais ont eu lieu comme l'indique lui-même Gaston Ramon : « nous rappellerons les toutes premières tentatives d'immunisation antitétanique active effectuées par notre collègue Henri Vallée et Louis Bazy, durant la guerre 1914-1918, chez des blessés hospitalisés, à l'aide de mélanges préparés extemporanément, de toxine tétanique et de liquide de Gram (que nous leur fournissions d'ailleurs nous-même), mélanges en tout point semblables à ceux que nous utilisions à l'époque pour l'immunisation des chevaux producteurs de sérum antitétanique et que Vallée et Bazy employaient chez leurs blessés sous le couvert de l'antitoxine spécifique » (Ramon, 1957). En 1923, l'anatoxine tétanique est obtenue selon la même méthode que l'anatoxine diphtérique et en 1925, Gaston Ramon vaccine les animaux domestiques en collaboration avec Pierre Descombey. De 1925 à 1927, les essais de vaccination sont poursuivis sur plus de 300 chevaux de façon à préciser les conditions d'une immunisation pleinement efficace : double injection, perfectionnement de l'immunité par l'emploi de substances adjuvantes et par l'injection de rappel, on peut alors passer à l'homme... et les premiers vaccinés sont des militaires du Val-de-Grâce avec la collaboration de Pr. Christian Zoeller (Ramon, 1957). Ce procédé d'inactivation a été étendu dès 1924 aux venins introduisant la notion d'anavenins ainsi qu'à d'autres microorganismes tels l'anatoxine botulinique, celle du bacille de Preisz-Nocard (*Corynebacterium pseudotuberculosis*)...

### Vaccins associés

Dès 1923-24, Gaston Ramon établit le « principe des vaccinations anatoxiques (diphtérique, tétanique, etc.) », puis en 1926, celui des « vaccinations associées » en ajoutant l'anatoxine diphtérique aux vaccins bactériens antityphoïdique et antiparatyphoïdique (vaccin T.A.B. = triple associé bactériologique) (Ramon, 1957). La pratique séparée de trois vaccinations (antidiphtérique, antitétanique, antityphoïdique) exige sept à neuf injections à espacer d'une quinzaine de jours, sans compter les injections de rappel. Cette vaccination triple est alors rendue obligatoire dans l'armée dès 1931.

### Adjuvants de l'immunité

Gaston Ramon remarque que, chez certains chevaux producteurs de sérums, la présence d'une forte

réaction inflammatoire (abcès) au point d'injection de la toxine est corrélée à l'augmentation du taux sérique d'antitoxines. Continuant ses observations, il constate qu'un abcès n'est pas nécessaire pour cette forte production d'anticorps, un simple œdème inflammatoire suffit. Cette observation le met sur la voie des adjuvants de l'immunité. À cette fin, il ajoute au début à l'anatoxine des substances inertes, difficilement résorbables, comme le tapioca, le chlorure de calcium, ou encore l'alun... (Ramon, 1957). Ainsi le « principe des substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité » est introduit en 1925. Poursuivant patiemment ses titrages, il démontre que des injections de rappel à intervalles relativement éloignés entraînent, par une exaltation d'anticorps, un renforcement considérable de l'immunité.

## LA DIPHTÉRIE EN 2023 : PLUTÔT UNE ZOONOSE

Grâce à Gaston Ramon, la vaccination a été si efficace que la maladie a pratiquement disparu dans les pays la pratiquant. Cependant, à la suite à la chute de l'empire soviétique dans les années 1990, une recrudescence de cas de diphtérie est observée chez l'homme (Zakikhany & Efstratiou, 2012). À l'heure actuelle, il est possible de constater que la diphtérie sous la forme d'une angine pseudo-membraneuse a pratiquement disparu en France et dans les autres pays pratiquant la vaccination. Néanmoins, quelques cas sont rapportés annuellement avec aussi d'autres localisations, en relation avec l'immigration, du moins dans certains départements d'outre-mer ou encore et surtout chez les propriétaires de chats ou de chiens. Ainsi, la diphtérie est devenue une zoonose si l'on considère que plus de la moitié des cas sont en relation avec un animal, porteur d'une souche de *Corynebacterium ulcerans* et non de *C. diphtheriae*, rarement *Corynebacterium pseudotuberculosis* ([www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/diphtherie](http://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/diphtherie)). D'ailleurs, lors d'une séance commune de l'Académie Nationale de Médecine et de l'Académie Vétérinaire de France, tenue le 9 mars 2006 et intitulée : « les zoonoses, passé, présent et à venir », nous avons évoqué le terme de : « future maladie émergente » avec le développement de la zoothérapie ([www.persee.fr/doc/bavf\\_0001-4192\\_2006\\_num\\_159\\_2\\_8913](http://www.persee.fr/doc/bavf_0001-4192_2006_num_159_2_8913)). L'observation de diverses infections chez l'homme avec une souche de *C. ulcerans* toxigène est maintenant mondiale, mais avec une préférence pour les pays européens (Both et al. 2015 ; Dias et al. 2011 ; Hacker et al. 2016 ; Otshudiema et al. 2021). Tiwari et al. (2008) rapportent 38 cas mortels lors d'infection à *C. ulcerans*, producteur de toxine.

## Le réservoir animal

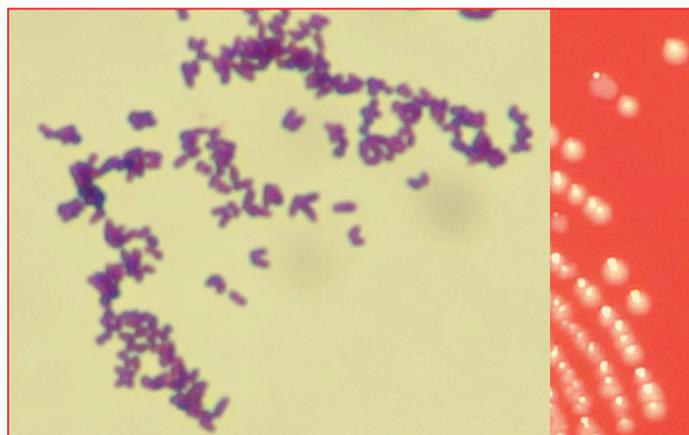
La notion de transmission de *C. ulcerans* du bétail à l'homme date surtout des années 1980 et persiste depuis (Bostok *et al.* 1984, Hart, 1984, Hacker *et al.* 2016). Cependant cette corynébactérie a été isolée depuis dans divers réservoirs animaux sauvages (cerf, dromadaire, écureuil, hérisson, hibou, orque, panthère, putois, rat, renard, sanglier, singe) et domestiques (chat, chèvre, chien, cheval, porc, vache) (Abbott *et al.* 2020 ; Berger *et al.* 2013 ; Berger *et al.* 2019 ; Boschert *et al.* 2019 ; Boschert *et al.* 2014 ; Bostock *et al.* 1984 ; Eisenberg *et al.* 2014 ; Eisenberg *et al.* 2015 ; Hart *et al.* 1984 ; Hoefler *et al.* 2022 ; Katsukawa *et al.* 2016a ; Katsukawa *et al.* 2016b ; Marini *et al.* 2014 ; Morris *et al.* 2005 ; Olson *et al.* 1988 ; Seto *et al.* 2008 ; Sting *et al.* 2015 ; Tejedor *et al.* 2000 ; Thomas *et al.* 2022 ; Zendri *et al.* 2021).

## L'épidémiologie

Si diverses espèces animales peuvent transmettre *C. ulcerans* à l'homme, il convient d'avoir à l'esprit, la prédominance d'une part, des espèces domestiques comme le chat et le chien et d'autre part, de souches toxigènes (Tableau 1). Les femmes sont nettement plus exposées en raison des soins prodigués à l'animal, particulièrement au moment de son repas. En général, l'âge du patient est supérieur à 60 ans. Cette borne liée à l'âge s'explique par le fait que, comme pour la vaccination antitétanique, les vaccinations par anatoxine génèrent une immunité de longue durée. Dans les rares cas de survenue plus précoce, l'infection humaine peut être liée à un état d'immunodépression ou à une activité professionnelle plus exposée, éleveur de porc ou étudiant vétérinaire (Berger *et al.* 2013 ; Lartigue *et al.* 2005 ; Taylor *et al.* 2010 ; Yoshimura *et al.* 2014).

Pays	Patient	Âge	Clinique	Toxine	Animal	Référence
Allemagne	F	86	Laryngopharyngite	+	Chat	Berger <i>et al.</i> 2011
	H	53	Lésion cutanée	+	Chien	Meinel <i>et al.</i> 2015
			Lésion cutanée	+	Chat, chien	Jenssen <i>et al.</i> 2017
	H		Diptérie cutanée	+	Porcs	Berger <i>et al.</i> 2011
	H	53	Fasciite nécrosante	+	Chiens	Meinel <i>et al.</i> 2015
Belgique	F	72	Ulcération jambe	+	Chat	Detemmerman <i>et al.</i> 2013
Danemark	H	61	Lésion cutanée	-	Chien	Fuursted <i>et al.</i> 2015
France	F	47	Laryngopharyngite	+	Chien	Lartigue <i>et al.</i> 2005
	F	71	Laryngopharyngite	+	Chien	Aaron <i>et al.</i> 2006
	F	80	Cellulite	+	Chat	Vandentorren <i>et al.</i> 2014
	F	52	Diptérie cutanée	+	Chat, chien...	Levi <i>et al.</i> 2021
Grande-Bretagne	H	20	Amygdalite	+	Animaux	Taylor <i>et al.</i> 2010
	F	67	Infection cutanée	+	Chat, chien	Moore <i>et al.</i> 2015
	F	67	Laryngopharyngite	+	Chien	Haywood <i>et al.</i> 2017
	F	60	Lésion cutanée (doigt)	+	Chien	Othieno <i>et al.</i> 2019
Italie	F	70	Pneumonie		Chien	Monaco <i>et al.</i> 2017
Japon	F	55	Péritonite	-	Chien	Kimura <i>et al.</i> 2011
	F	37	Abcès sous-cutané	+	Chat	Urakawa <i>et al.</i> 2014
	H	55	Abcès ganglionnaire	+	Chat	Yoshimura <i>et al.</i> 2014
	F	66	Laryngopharyngite	+	Chat	Otsuji <i>et al.</i> 2017
	F	66	Pneumonie	+	Chat	Yasuda <i>et al.</i> 2018
	F	63	Dyspnée membrane	+	Chat	Wake <i>et al.</i> 2021
	F	73	Pneumonie	+	Chat, chien	Takahashi <i>et al.</i> 2023
Suisse	H	29	Ulcère cutané	-	Chat	Corti <i>et al.</i> 2012

**Tableau 1 - Revue de la littérature sur les infections humaines à *Corynebacterium ulcerans* et réservoir animal.**



**Figure 3 - Examen microscopique après coloration de Gram et culture de 24 heures sur gélose au sang.**

### La bactérie

Le diagnostic bactériologique d'une corynébactérie telle que *C. ulcerans* ne pose pas de difficulté particulière. En l'absence de localisation oropharyngée, mais plutôt cutanée, il s'agit d'un diagnostic le plus souvent fortuit. L'examen direct oriente aisément vers une corynébactérie en présence de bacilles à Gram-positif (1-8  $\mu$ /0,3-0,8  $\mu$ ), droits ou incurvés avec des renflements (poire ou massue) et quelquefois, des formes ramifiées avec une disposition particulière en caractères chinois ou encore en palissade (Figure 3). La rareté d'isolement de cette espèce explique l'absence de certains milieux spécifiques préparés à l'avance tels que le milieu de Loeffler ou celui de Tinsdale. Aussi l'isolement est-il plutôt obtenu en 24-48 heures sur gélose au sang (Figure 3) et l'identification, soit avec une galerie API Coryne, soit en disposant d'un équipement MALDI-TOF (Möller *et al.* 2020 ; Rau *et al.* 2019).

Cependant, la réelle difficulté est de rechercher la production de toxine (test d'Elek, PCR, multiplex en temps réel, séquençage génomique) et de confirmer le diagnostic bactériologique, d'autant que la taxonomie de ce genre a évolué avec la création de nouvelles espèces (Badell *et al.* 2019 ; Melnikov *et al.* 2022 ; Seth-Smith & Egli, 2019). Aussi l'envoi le plus rapide possible au Centre National de Référence correspondant (Institut Pasteur) est-il nécessaire, d'autant que *C. ulcerans* entre maintenant dans les corynébactéries du complexe *diphtheriae*, donc soumise à déclaration obligatoire en France ([www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/](http://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/)). Une troisième espèce, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, transmise à l'homme par les petits ruminants, pourrait également produire la toxine, ce qui n'a pas été le cas en France en 2020.

### CONCLUSION

Après la découverte des vaccins vivants atténués, le plus souvent par Louis Pasteur dès les années 1880 contre le choléra des poules, le charbon ovin, le rouget du porc, la rage canine, puis par les pastoriens Calmette et Guérin contre la tuberculose bovine, puis humaine, une deuxième étape triomphante des vaccins allait honorer un autre pastorien, le vétérinaire Gaston Ramon. Celui-ci avec la découverte des toxines atténuées ou anatoxines (diphthérique, tétanique) a permis la presque disparition de la diphtérie et du tétanos lors de vaccinations obligatoires. Il est étonnant que de simple vétérinaire occupé à produire des sérums ou antitoxines chez le cheval pendant 10 ans, tâche ingrate il est vrai, Gaston Ramon se soit servi de cette longue expérience grâce à son sens de l'observation très aigu et son esprit curieux pour proposer ses inestimables découvertes et ce, en moins de cinq ans (1923-1928), à savoir le vaccin antidiphthérique, le vaccin antitétanique, les adjuvants de l'immunité, les vaccinations associées et les rappels vaccinaux. Cependant je ne cite que ses découvertes les plus importantes (<https://webext.pasteur.fr/biblio/ressources/histoire/ramon.php>). On comprend ainsi qu'il fût le savant le plus souvent remarqué par l'Académie suédoise entre 1930 et 1953 sans toutefois être honoré par le Prix Nobel de Médecine ([www.nature.com/articles/nature.2016.20781](http://www.nature.com/articles/nature.2016.20781)). Le premier centenaire du vaccin antidiphthérique justifiait une telle reconnaissance d'autant qu'au paradigme bien compréhensible d'« Une Médecine » des années 1890 ait succédé celui tout aussi justifié d'« Une Santé » des années 2010. Enfin, le nobélisé pastorien, Charles Nicolle, n'avait pas prévu ce curieux destin d'une maladie infectieuse humaine, la diphtérie, devenant

une zoonose transmise plutôt par l'animal de compagnie (chat, chien), et ceci, grâce à un corynéphage baladeur, porteur du gène tox.

**Conflit d'intérêt : aucun.**

## REMERCIEMENTS

Merci à Jean-Pierre Jegou, Michel Thibier et Jean-Paul Rousseau qui ont bien voulu relire ce manuscrit.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aaron L, Heurtebise F, Bachelier MN, Guimard Y. Angine diphtérique pseudomembraneuse autochtone liée à *Corynebacterium ulcerans*. *Rev Méd Interne* 2006 ; **27** : 333-5.
- Abbott Y, Efstratiou A, Brennan G, Hallanan S, Leggett B, Leonard FC, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* associated with upper respiratory infections in cats and dogs. *J Small Anim Pract* 2020 ; **61** : 554-60.
- Badell E, Guillot S, Tulliez M, Pascal M, Panunzi LG, Rose S, et al. Improved quadruplex real-time PCR assay for the diagnosis of diphtheria. *J Med Microbiol* 2019 ; **68** : 1455-65.
- Bazin H. *L'histoire des vaccinations*. John Libbey-Eurotext ; 2008, 471 p.
- Berger A, Boschert V, Konrad R, Schmidt-Wieland T, Hörmansdorfer S, Eddicks M, et al. Two cases of cutaneous diphtheria associated with occupational pig contact in Germany. *Zoonoses Public Health* 2013 ; **60** : 539-42.
- Berger A, Huber I, Merbecks SS, Ehrhard I, Konrad R, Hörmansdorfer S, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in woman and cat. *Emerg Infect Dis* 2011 ; **17** : 1767-69.
- Boschert V, Berger A, Konrad R, Huber I, Hörmansdorfer S, Zöls S, et al. *Corynebacterium* species nasal carriage in pigs and their farmers in Bavaria, Germany: implications for public health. *Vet Rec* 2014 ; **175** : 248.
- Bostock AD, Gilbert FR, Lewis D, Smith DC. *Corynebacterium ulcerans* infection associated with untreated milk. *J Infect* 1984 ; **9** : 286-8.
- Both L, Collins S, de Zoysa A, White J, Mandal S, Efstratiou A. Molecular and epidemiological review of toxigenic diphtheria infections in England between 2007 and 2013. *J Clin Microbiol* 2015 ; **53** : 567-72.
- Corti MA, Bloemberg GV, Borelli S, Kutzner H, Eich G, Hoelzle L, et al. Rare human skin infection with *Corynebacterium ulcerans*: transmission by a domestic cat. *Infection* 2012 ; **40** : 575-8.
- Detemmerman L, Rousseaux D, Efstratiou A, Schirvel C, Emmerechts K, Wybo I, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in human and non-toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* in cat. *New Microbes New Infect* 2013 ; **1** : 18-9.
- Dias AA, Santos LS, Sabbadini PS, Santos CS, Silva Junior FC, Napoleão F, et al. *Corynebacterium ulcerans* diphtheria: an emerging zoonosis in Brazil and worldwide. *Rev Saude Publica* 2011 ; **45** : 1176-91.
- Eisenberg T, Kutzer P, Peters M, Sing A, Contzen M, Rau J. Nontoxigenic tox-bearing *Corynebacterium ulcerans* infection among game animals, Germany. *Emerg Infect Dis* 2014 ; **20** : 448-52.
- Eisenberg T, Mauder N, Contzen M, Rau J, Ewers C, Schlez K, et al. Outbreak with clonally related isolates of *Corynebacterium ulcerans* in a group of water rats. *BMC Microbiol* 2015 ; **15** : 42.
- Fuursted K, Søres LM, Crewe BT, Stegger M, Andersen PS, Christensen JJ. Non-toxigenic tox gene-bearing *Corynebacterium ulcerans* in a traumatic ulcer from a human case and his asymptomatic dog. *Microbes Infect* 2015 ; **17** : 717-9.
- Hacker E, Antunes CA, Mattos-Guarraldi AL, Burkovski A, Tauch A. *Corynebacterium ulcerans*, an emerging human pathogen. *Future Microbiol* 2016 ; **11** : 1191-208.
- Hart RJ. *Corynebacterium ulcerans* in humans and cattle in North Devon. *J Hyg (Lond)* 1984 ; **92** : 161-4.
- Haywood MJ, Vijendren A, Acharya V, Mulla R, Panesar MJ. Multidisciplinary approach to the management of a case of classical respiratory diphtheria requiring percutaneous endoscopic gastrostomy feeding. *BMJ Case Rep* ; 2017 : bcr2016218408.
- Hoefler A, Herrera-León S, Domínguez L, Gavín MO, Romero B, Piedra XBA, et al. Case study investigation group. zoonotic transmission of diphtheria from domestic animal reservoir, Spain. *Emerg Infect Dis* 2022 ; **28** : 1257-60.
- Jenssen C, Schwede I, Neumann V, Pietsch C, Handrick W. Hautund Weichteilinfektionen durch *Corynebacterium ulcerans*. *Dtsch Med Wochenschr* 2017 ; **142** : 1609-12.
- Katsukawa C, Komiya T, Umeda K, Goto M, Yanai T, Takahashi M, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a hunting dog and its diphtheria toxin antibody titer. *Microbiol Immunol* 2016a ; **60** : 177-86.
- Katsukawa C, Umeda K, Inamori I, Kosono Y, Tanigawa T, Komiya T, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a wild bird (ural owl) and its feed (shrew-moles): comparison of molecular types with human isolates. *BMC Res Notes* 2016b ; **9** : 181.
- Kimura Y, Watanabe Y, Suga N, Suzuki N, Maeda K, Suzuki K, et al. Acute peritonitis due to *Corynebacterium ulcerans* in a patient receiving continuous ambulatory peritoneal dialysis: a case report and literature review. *Clin Exp Nephrol* 2011 ; **15** : 171-4.
- Lartigue MF, Monnet X, Le Flèche A, Grimont PA, Benet JJ, Durrbach A, et al. *Corynebacterium ulcerans* in an immunocompromised patient with diphtheria and her dog. *J Clin Microbiol* 2005 ; **43** : 999-1001.
- Levi LI, Barbut F, Chopin D, Rondeau P, Lalande V, Jolivet S, et al. Cutaneous diphtheria: three case-reports to discuss determinants of re-emergence in resource-rich settings. *Emerg Microbes Infect* 2021 ; **10** : 2300-2.
- Marini RP, Cassidy PK, Venezia J, Shen Z, Buckley EM, Peters Y, et al. *Corynebacterium ulcerans* in ferrets. *Emerg Infect Dis* 2014 ; **20** : 159-61.
- Meinel DM, Konrad R, Berger A, König C, Schmidt-Wieland T, Hogardt M, et al. Zoonotic transmission of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* strain, Germany, 2012. *Emerg Infect Dis* 2015 ; **21** : 356-8.
- Melnikov VG, Berger A, Sing A. Detection of diphtheria toxin production by toxigenic corynebacteria using an optimized Elek test. *Infection*. 2022 ; **50** : 1591-5.

- Möller J, Musella L, Melnikov V, Geißdörfer W, Burkovski A, Sangal V. Phylogenomic characterisation of a novel corynebacterial species pathogenic to animals. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2020 ; **113** : 1225-39.
- Monaco M, Sacchi AR, Scotti M, Mancini F, Riccio C, Errico G, et al. Respiratory diphtheria due to *Corynebacterium ulcerans* transmitted by a companion dog, Italy 2014. *Infection* 2017 ; **45** : 903-5.
- Moore LSP, Leslie A, Meltzer M, Sandison A, Efstratiou A, Sriskandan S. *Corynebacterium ulcerans* cutaneous diphtheria. *Lancet Infect Dis* 2015 ; **15** : 1100-7.
- Morris WE, Uzal FA, Cipolla AL. Pyogranulomatous meningoencephalitis in a goat due to *Corynebacterium ulcerans*. *Vet Rec* 2005 ; **156** : 317-8.
- Olson ME, Goemans I, Bolingbroke D, Lundberg S. Gangrenous dermatitis caused by *Corynebacterium ulcerans* in Richardson ground squirrels. *J Am Vet Med Assoc* 1988 ; **193** : 367-8.
- Otshudiema JO, Acosta AM, Cassidy PK, Hadler SC, Hariri S, Tiwari TSP. Respiratory illness caused by *Corynebacterium diphtheriae* and *C. ulcerans*, and use of diphtheria antitoxin in the United States, 1996-2018. *Clin Infect Dis* 2021 ; **73** : e2799-806.
- Otsuji K, Fukuda K, Endo T, Shimizu S, Harayama N, Ogawa M, et al. The first fatal case of *Corynebacterium ulcerans* infection in Japan. *JMM Case Rep* 2017 ; **4** : e005106.
- Othieno R, Mark K, Etherson M, Foster G, Murray S, Kalima P, et al. A case of cutaneous toxigenic *Corynebacterium ulcerans* likely acquired from a domestic dog. *Access Microbiol* 2019 ; **1** : e000025.
- Ramon G. Sur le pouvoir flocculant et sur les propriétés immunisantes d'une toxine diphtérique rendue anatoxique (anatoxine). *C R Acad Sci* 1923 ; **177** : 1338-40.
- Ramon G. *Quarante années de recherches et de travaux*. Toulouse, Impr. régionale, 1957, 911 p.
- Rau J, Eisenberg T, Peters M, Berger A, Kutzer P, Lassnig H, et al. Reliable differentiation of a non-toxigenic tox gene-bearing *Corynebacterium ulcerans* variant frequently isolated from game animals using MALDI-TOF MS. *Vet Microbiol* 2019 ; **237** : 108399.
- Seth-Smith HMB & Egli A. Whole genome sequencing for surveillance of diphtheria in low incidence settings. *Front Public Health* 2019 ; **7** : 235.
- Seto Y, Komiya T, Iwaki M, Kohda T, Mukamoto M, Takahashi M, et al. Properties of corynephage attachment site and molecular epidemiology of *Corynebacterium ulcerans* isolated from humans and animals in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2008 ; **61** : 116-22.
- Sting R, Ketterer-Pintur S, Contzen M, Mauder N, Süß-Dombrowski C. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* isolated from a free-roaming red fox (*Vulpes vulpes*). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2015 ; **128** : 204-8.
- Takahashi Y, Utsumi S, Sugiura G, Fujizuka K, Suzuki H, Nakamura M. *Corynebacterium ulcerans* pneumonia treated with venovenous extracorporeal membrane oxygenation: a case report. *Int J Infect Dis* 2023 ; **126** : 145-7.
- Taylor J, Saveedra-Campos M, Harwood D, Pritchard G, Raphaely N, Kapadia S, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* infection in a veterinary student in London, United Kingdom, May 2010. *Euro Surveill* 2010 ; **15** : 19634.
- Tejedor MT, Martin JL, Lupiola P, Gutierrez C. Caseous lymphadenitis caused by *Corynebacterium ulcerans* in the dromedary camel. *Can Vet J* 2000 ; **41** : 126-7.
- Tiwari TS, Golaz A, Yu DT, Ehresmann KR, Jones TF, Hill HE, et al. Investigations of 2 cases of diphtheria-like illness due to toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. *Clin Infect Dis* 2008 ; **46** : 395-401.
- Thomas A, Slifka AM, Hendrickson SM, Amanna IJ, Slifka MK. Active circulation of *Corynebacterium ulcerans* among nonhuman primates. *Microbiol Spectr* 2022 ; **10** : e0089422.
- Urakawa T, Seto J, Yamamoto A, Nakajima T, Goto S. Subcutaneous abscess formation in the upper extremity caused by toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. *J Med Microbiol* 2013 ; **62** : 489-93.
- Vandentorren S, Guiso N, Badell E, Boisrenoult P, Micaelo M, Troché G, et al. Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* in a fatal human case and her feline contacts, France, March 2014. *Euro Surveill* 2014 ; **19** : 20910.
- Wake K, Kikuchi J, Uchida M, Nemoto M, Kaji Y, Yokoyama T, et al. Transmission of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* infection with airway obstruction from cats to a human. *Acute Med Surg* 2021 ; **8** : e705.
- Yasuda I, Matsuyama H, Ishifuji T, Yamashita Y, Takaki M, Morimoto K, et al. Severe pneumonia caused by toxigenic *Corynebacterium ulcerans* infection, Japan. *Emerg Infect Dis* 2018 ; **24** : 588-91.
- Yoshimura Y, Tachikawa N, Komiya T, Yamamoto A. A case report and epidemiological investigation of axillary lymph node abscess caused by *Corynebacterium ulcerans* in an HIV-1-positive patient. *Epidemiol Infect* 2014 ; **142** : 1541-4.
- Zakikhany K, Efstratiou A. Diphtheria in Europe: current problems and new challenges. *Future Microbiol* 2012 ; **7** : 595-607.
- Zendri F, Isgren CM, Sinovich M, Richards-Rios P, Hopkins KL, Russell K, et al. Case report: toxigenic *Corynebacterium ulcerans* diphtheria-like infection in a horse in the United Kingdom. *Front Vet Sci* 2021 ; **8** : 650238.