

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb de Blida-I



Facultés des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie et physiologie cellulaire
Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
Spécialité : Microbiologie –bactériologie

Thème

***Recherche et identification des germes
incriminés dans les gastroentérites: Etude de
l'antibiorésistance***

Structure d'accueil : Laboratoire central de
bactériologie de Boufarik-BLIDA

Présenté par :

M^{elle} BOUCHAMA Meriem

Soutenu le : 14 /06 /2015

M^{elle} YKHLEF Saida

Devant le jury:

M^r. GUEDIOURA .A	Maître assistant A - Université Blida I	Président
M^{me} BOULKOUR.S	Maître assistante A - Université Blida I	Examinatrice
M^{me} ZERKAOUI .A	Maître assistante A - Université Blida I	Promotrice
M^{me} LASSAS .K	Médecin spécialiste en microbiologie	Copromotrice

Année universitaire: 2014 – 2015

Remerciements

Tout d'abord nos remerciements à « Allah » qui nous a donné la force, la santé, le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Nos plus grands remerciements, s'adressent à nos chers Parents pour leur éducation et leur orientation vers le bon chemin au cours de notre vie.

Nos sincères remerciements à notre chère promotrice Madame ZERKAOUI pour sa présence, son aide précieuse et ses conseils judicieux.

Notre copromotrice Madame LASSAS qui a été patiente avec nous et qui a donné son mieux pour achever ce travail.

Ainsi nous remercions les membres du jury d'avoir bien voulu examiner notre travail à savoir : M^R GUEDIOURA qui a accepté à le présider et Madame BOULKOUR d'avoir accepter de l'examiner

Enfin, nous tenons à remercier tout les enseignants et les employeurs de laboratoire de Boufarik.

Et toute les amies qui ont contribués de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail.

Merci

Meriem et Saida

Dédicace

Je dédie ce modeste travail a mon meilleur père qui a quitté

Cette vie mais qui reste toujours dans mon cœur et que

J'ai l'honneur d'être sa fille.

A ma très chère mère qui a beaucoup

Sacrifié pour notre bonheur,

A qui je suis reconnaissante et obéissante que dieu la protège.

A mes chers frères: Mohamed, Hichem, Sofiane, Riyad,

Alaeadine, Abdelfattah.

A toute la famille YAKHLEF.

A ma chère copine et binôme Meriem et toute sa famille

A mes meilleures ami(es) : Soumia, Fatima, Farida, Hafsa,

A toute ma promotion de Microbiologie-bactériologie

A tous ceux qui m'aiment

Saida

Dédicace

Je dédie ce travail :

A l'être le plus cher de ma vie ; ma mère.

A mon très cher père qui a quitté cette vie mais qui reste toujours dans mon cœur.

A mes sœurs Nadjat, Affaf

A mes frères Yacine, Mustapha

A ma chère copine et binôme Saida et toute sa famille

A mes amies Hanène, Soumia, Fatima

A toute la famille : BOUCHAMA

A toute ma promotion de Microbiologie-bactériologie

Meriem

Résumé

Les gastro-entérites aiguës bactériennes sont caractérisées par leur faible fréquence mais, si une antibiothérapie est insaturée elle doit être rapide, d'où l'utilité de connaître l'évolution des bactéries entéropathogènes à savoir leurs sérotypes et profils antibiotiques.

Le but de notre travail est l'étude des gastro-entérites bactériennes aiguës.

Notre travail s'est déroulé au niveau de l'unité de laboratoire centrale de bactériologie de Boufarik, du 1^{er} Mars au 31 Mai 2015, où 374 prélèvements de selles ont été analysés. Une coproculture standard a été réalisée pour tous les prélèvements à savoir culture, enrichissement, identification biochimique, et un sérotypage, ainsi qu'un antibiogramme selon les recommandations du CLSI pour toute bactérie entéropathogène isolée.

Les résultats de l'étude ont permis de constater qu'avec seulement 24% de cas positifs, les bactéries isolées étaient principalement des Salmonelles soit 75.5%. Les *Shigella* et *E.coli* entéropathogènes ont été isolés respectivement dans 20% et 4.5% des cas. Et aucun *Campylobacter*, *Vibrio* et *Yersinia enterocolitica* n'a été isolé.

Les profils antibiotiques obtenus ont permis de relever des résistances élevées à certains antibiotiques dont 100% de résistance des *E.coli* entéropathogènes à Ampicilline, 75% à Cotrimoxazole, de 50% à Amoxicilline et à Céfotaxime.

Il en ressort de cette étude que les diarrhées bactériennes sont plus fréquentes chez les adultes supérieures à 15 ans d'où l'importance de sensibiliser la population au lavage des mains et à l'hygiène alimentaire.

Mots-clés : bactéries entéropathogènes ; coprocultures ; gastro-entérites aiguës ; profils antibiotiques.

Absrtact

The bacterial acute gastroenteritis are characterized by their low frequency but, antibiotic treatment is established it must be fast, where from the utility to know the evolution of enteropathogenic bacteria to know their serotypes and profiles antibiotics.

The purpose of our work is the study of the actue gastroenteritis caused by bacteria.

Our work took in the bacteriology unit of central laboratory of Boufarik , of 1st March on May 31th ,2015, which 374 stool were analysed. A standard stool culture was realized for all the takings to know culturs .enrichment, biochemical identification, a serotype, and an antibiogramme according to the recommendations of the CLSI for any enteropathogenic bacteria isolated.

The results of acute revealed that with only 24% of positive cases, thus the isolates bacteria were mainly *Salmonella* with 75.5% of all positive cases .*Shigella* and enteropathogenic *E.coli* were isolated respectively in 20% and 4.5% of cases.

Although *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* and *Vibrio* was systematically made ,any one of these three bacteria were isolated .

Antibiotic profiles obtained during the study have identified high resistance to certain antibiotic including 100% of enteropathogenic *E.coli* to Ampicilline 75% to Cotrimoxazole , of 50% to Amoxicilline and to Céfotaxime .

It emerges from this study that the bacterial diarrheas are more frequent at where from the importance to make sensitive the population in the wash of hands and in the food hygiene.

Keywords: acute gastroenteritis; Antibiotic profiles; enteropathogenic bacteria; stool culture

ملخص

ينتشر التهاب المعدة و الأمعاء الجرثومي الحاد بنسبة منخفضة ، و لكن إذا ثبت العلاج بالمضادات الحيوية يجب أن تكون سريعة ، و بالتالي الحاجة إلى معرفة تطور البكتيريا المعوية و هي بمعرفة الأنماط المصلية الخاصة بهم و ملامح المضادات الحيوية .

الهدف من عملنا هو دراسة التهاب المعدة و الأمعاء الحاد التي تسببها البكتيريا المعوية استغرق العمل لدينا في وسط وحدة مختبر علم الجراثيم بمستشفى بوفاريك ، من 1 مارس إلى 31 ماي 2015 ، حيث قمنا بتحليل 374 عينة براز و تم وضعها في أوساط ملائمة لنمو و تخصيب البكتيريا و التحديد البيوكيميائي و المصلي لها

و القابلية على النحو الموصى به من قبل معهد المقاييس و المواصفات المخبرية لجميع البكتيريا المعزولة المضرة بالامعاء و كشفت نتائج الدراسة أن 24% فقط من الحالات الايجابية قد سجلت ، وهكذا كانت البكتيريا المعزولة أساسا السالمونيلا بنسبة 75.5% و تم عزل الشجيلا و بكتيريا اشيرشيا كولي المضرة بالأمعاء على التوالي في 20% و 4.5% من الحالات .

ونسجل عدم عزل أي بكتيريا من نوع يرسينيا و عطيفة البكتيريا الملتوية أو بكتيريا الضمة في العينات المدروسة .

قد حددت ملامح المضادات الحيوية التي تم الحصول عليها مقاومة عالية لبعض المضادات الحيوية بما في ذلك 100% من مقاومة بكتيريا اشيرشيا كولي الى الامبيسيلين . 75% كوتريموكسازول و 50% إلى الاموكسيسيلين و السيفوتاكسيم .

حسب الدراسة التي قمنا بها نستنتج أن الإسهال البكتيري هو الأكثر شيوعا عند الكبار الذين يفوق سنهم 15 سنة ولأهمية الوعي غسل اليدين و النظافة الغذائية .

الكلمات المفتاحية : البكتيريا المعوية، البراز،التهاب المعدة و الأمعاء الجرثومي الحاد ، ملامح المضادات الحيوية.

Liste des Figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Anatomie du tube digestif	1
Figure 2	Plaqué de Peyer	2
Figure 3	Mécanisme entéro-invasif des toxi-infections alimentaires à tropisme intestinal, mettant en jeu des <i>Shigella</i>	4
Figure 4	Mécanisme d'action des entéro-toxines	5
Figure 5	<i>Salmonella</i>	13
Figure 6	<i>Shigella</i>	13
Figure 7	<i>Escherichia coli</i>	14
Figure 8	<i>Campylobacter</i>	15
Figure 9	Récipient stérile pour prélèvement des selles	21
Figure 10	Schéma d'isolement des germes pathogènes retrouvés dans les selles	22
Figure 11	Aspect de la salmonelle après coloration de Gram observée au microscope optique à l'objectif X 100	25
Figure 12	Aspect des colonies de <i>Salmonella typhimurium</i> sur Hektoen.	27
Figure 13	Aspect des Entérobactéries sur TSI	28
Figure 14	Aspect de test ONPG	29
Figure 15	Aspect du test uréase	29
Figure 16	Aspect du test indole	30
Figure 17	Aspect du test TDA	31
Figure 18	Agglutination sur lame	32
Figure 19	Schéma des étapes à suivre lors du sérotypage d' <i>Escherichia coli</i>	33
Figure 20	Schéma récapitulant la technique de sérotypage des <i>Salmonelles</i>	35
Figure 21	Schéma d'identification antigénique de <i>Shigella</i>	36
Figure 22	Antibiogramme d'une souche de <i>Salmonella mineur</i>	37
Figure 23	Distribution des prélèvements par sexe	38
Figure 24	Répartition des prélèvements selon l'âge	39

Figure 25	Répartition des prélèvements selon les services	40
Figure 26	Répartition des prélèvements selon les signes cliniques	41
Figure 27	Répartition des prélèvements selon aspect des selles	42
Figure 28	Distribution des bactéries responsables des gastroentérites	43
Figure 29	Répartition des prélèvements selon l'antibiothérapie	43
Figure 30	Distribution des cas positif et négatif	44
Figure 31	Distribution des cas positif en fonction d'âge	45
Figure 32	Distribution des cas positif en fonction de sexe	45
Figure 33	Distribution des cas positif selon les services	46
Figure 34	Répartition des bactéries en fonction du service	47
Figure 35	Répartition des bactéries en fonction de l'âge	48
Figure 36	Répartition des espèces et sérotypes responsables de diarrhée	49
Figure 37	Aspect de <i>Salmonella typhi</i> sur Hektoen (photo originale)	49
Figure 38	Aspect de <i>Salmonella typhi</i> sur TSI (photo originale)	49
Figure 39	Antibiogramme de <i>Salmonella typhi</i>	52

Liste des Tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau I	Caractères relatifs aux conditions de croissance de <i>Campylobacter</i> .	15
Tableau II	Caractère biochimiques des entérobactéries	31
Tableau III	Résistance d' <i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène aux antibiotiques	50
Tableau IV	Résistance de <i>Shigella</i> aux antibiotiques	51
Tableau IIV	Résistance de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques	52

Glossaire

Mots	Signification
Asthénie	État de faiblesse générale caractérisé par une diminution du pouvoir fonctionnel de l'organisme, non consécutive au travail ou à l'effort et ne disparaissant pas avec le repos
Anorexie	Diminution ou arrêt de l'alimentation, par perte d'appétit ou refus de se nourrir.
Iléon	Partie terminale de l'intestin grêle, située entre le jéjunum et le cæcum (début du gros intestin).
Thrombopénie	Abaissement du nombre des plaquettes, au-dessous de 150 000 par millimètre cube de sang.

(Wainsten, 2006)

Liste d'abréviations

GALT	Gut associated lymphoid tissue
IgA	Les immunoglobulines A
E.O.S	Extremely Oxygen Sensitive
ETEC	<i>Escherichia coli</i> entérotoxigène
EIEC	<i>Escherichia coli</i> entéro-invasifs
EHEC	<i>Escherichia coli</i> entéro-hémorragique
SHU	Syndrome hémolytique et urémique
EPEC	<i>Escherichia .coli</i> entéro-pathogènes
TIAC	les toxi-infections alimentaires collectives
Ag O	Antigène somatique « O »
H ₂ S	Le sulfure d'hydrogène, ou hydrogène sulfuré
PH	potentiel hydrogène
O ₂	Oxygène
CO ₂	Dioxyde de carbone
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
SFM	Bouillon au sélénite-cystine
SFB	Selenite F Broth
TSI	Triple Sugar Iron
ONPG	Orthonitrophenyl β-galactosidase
HK	Hektoen
HKD	Hektoen direct
TDA	Tryptophane désaminase
Ag	Antigène
Ac	Anticorps
OMA/ OMB	Mélanges anti O

CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
AMP	Ampiciline
AMC	Amoxiciline+Ac Clavulanique
CTX	Cefotaxcime
CS	Colistine
CZ	Céfazoline
COT	Cotrimoxazole
CIP	Ciprofloxacine
AK	Amikacine
GM	Gentamicine
C	Chloramphénicol
IMP	Imipenem
AN	Acide Nalidixique

Table des matières

Introduction.....	1
Chapitre I : Rappels Bibliographiques	
I-1 Anatomie du tube digestif	2
I-2 Système immunitaire de tube digestif	3
I-3 Rappel sur la flore intestinale normale.....	4
I-4 Définition de la gastro-entérite	4
I-5 Principaux mécanisme à l'origine d'infections gastro intestinales.....	5
I-5-1 Mécanisme entéro-invasif.....	5
I-5-1-1 Invasion avec destruction cellulaire	5
I-5-1-2 Invasion sans destruction cellulaire.....	6
I-5-2 Mécanisme entéro-toxinique	6
I-6 Agent responsables d'infection gastro-intestinales et leurs manifestations cliniques.....	7
I-6-1 Etiologies bactériennes.....	7
I-6-1-1 Agents responsables du mécanisme entéro-invasif.....	7
a. Les Shigelles	7
b. Salmonelles.....	7
c. <i>Escherichia coli</i> invasif	8
d. <i>Campylobacter</i>	8
I-6-1-2 Agents responsables du mécanisme entérotoxinique	9
a. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
b. <i>Clostridium perfringens</i>	10
c. <i>Bacillus cereus</i>	10
d. <i>Escherichia coli</i> entéro-pathogènes.....	10
e. <i>Vibrio cholerae</i>	10
I-6-2 Etiologies virales.....	10
I-6-2 -1 Les rotavirus.....	10
I-6-2-2 Les Adénovirus	11
I-6-3 Étiologies parasitaires.....	11

I-6-3-1 <i>Entamoeba histolytica</i>	11
I-6-3-2 <i>Giardia intestinalis</i>	11
I-6-4 Autres étiologies	11
I-7 Etude des principaux agents responsables d'infections gastro- intestinales à caractère invasif	12
I-7-1 Famille des Enterobacteriaceae.....	12
I-7-1-1 Taxonomie	12
I-7-1-2 Structure antigénique des Enterobacteriaceae.....	12
A. Antigène somatique « O ».....	12
B. Antigène Flagellaire « Ag H ».....	13
C. L'antigène capsulaire « Ag Vi ».....	13
❖ <i>Salmonella</i>	13
-Caractères cultureux	13
-Caractères biochimiques	14
❖ <i>Shigella</i>	14
-Caractères cultureux	14
-Caractères biochimiques.....	14
❖ <i>Escherichia coli</i>	15
-Caractères cultureux.....	15
- Caractères biochimiques.....	15
I-7-2 Familles des Campylobacteriaceae.....	15
I-7-2-1 Taxonomie	15
I-7-2-2 Caractères cultureux	16
I-7-2-3 Caractères biochimiques	17
I-7-2-4 Caractères antigéniques.....	17
I-8 Diagnostic des agents responsables d'infections gastro-intestinales	17
I-8-1 Prélèvement et transport	17
I-8-2 Examen macroscopique.....	18
I-9-3 Examen microscopique	18
I-8-4 Mise en culture « coproculture »	18
I-8-5 Typage moléculaire	18

I-9 Traitement.....	19
I-10 Sensibilité aux antibiotiques	19
I-10-1 <i>Salmonella</i>	19
I-10-2 <i>Shigella</i>	19
I-10-3 <i>Escherichia coli</i>	19
I-10-4 <i>Campylobacter</i>	20
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
II-1 Lieu de l'étude	21
II-2 Objectifs.....	21
II.-2-1 Population étudiée	21
II-2-2 Questionnaire.....	21
II-3 Matériel et méthodologie	21
II- 3-1 Matériel.....	21
II-3-1-1 Equipement du laboratoire.....	21
II-3-1-2 Milieux de culture.....	21
a- Les milieux d'isolement sélectifs.....	21
b- Les milieux d'enrichissement sélectifs.....	21
c- Les milieux d'identification.....	21
d- Milieu pour antibiogramme.....	22
2-3-1-3 Réactifs.....	22
2-3-1-4 Autres.....	22
2-3-2 Méthodologie.....	22
2-3-2-1 Prélèvement de selles.....	22
2-3-2-2 Coproculture.....	24
a- L'examen macroscopique des selles.....	24
➤ Préparation de la suspension de selle	24
b- L'examen microscopique des selles.....	24
➤ L'état frais	24
➤ Coloration de Gram.....	25
c-Technique de recherche, d'isolement et d'identification de <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> <i>Escherichia coli</i> entéropathogène (EPEC).....	26
d -La lecture des boites après incubation.....	27
e - Identification biochimique.....	28

❖ Etude de métabolisme glucidique.....	28
-Etude de l'utilisation des trois sucre avec production de gaz et H ₂ S sur milieu TSI.	28
-Recherche de β-galactosidase ou test à l'ONPG.....	29
❖ Etude de métabolisme protidique.....	30
-Recherche de l'uréase.....	30
-Recherche du la tryptophanase	31
-Recherche du tryptophane désaminase.....	31
f- Identification antigénique	32
• Sérotypage d' <i>E.coli</i> enteropathogène	33
• Sérotypage de <i>salmonella</i>	35
• Sérotypage de <i>Shigella</i>	37
g. Antibiogramme.....	37

Chapitre III : Résultats et discussions

III-1 Etude générale	39
III-1-1 Répartition des prélèvements selon le sexe.....	39
III-1-2 Répartition des prélèvements selon l'âge.....	40
III-1-3 Répartition des prélèvements selon les services...	41
III-1-4 Répartition des cas selon les signes cliniques.....	41
III-1-5 Répartition des cas selon l'aspect des selles.....	42
III-1-6 Répartition des prélèvements selon les germes pathogènes	43
III-1-7 Antibiothérapie	44
III-2 Etude des cas positif par apport à des cas négatif.....	45
III-2-1 Pourcentage des cas positif des selles.....	45
III-2-2 Répartition des cas positif selon l'âge	45
III-2-3 répartition des cas positif selon le sexe	46
III-2-4 Répartition des cas positif selon les services	47
III-2-5 Répartition des bactéries en fonction du service.....	48
III-2-6 Répartition des bactéries identifiées selon l'âge.....	48
III-2-7 Répartition des espèces et sérotypes responsables de diarrhée.....	50
III-3 Résistance des bactéries aux antibiotiques	51
III-3-1 Résistance d' <i>Escherichia coli</i> entéropathogène aux antibiotiques.....	51

III-3-1 Résistance de <i>Shigella</i> aux antibiotiques.....	51
III-3-1 Résistance de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques.....	52
Conclusion.....	54
Références Bibliographiques.....	55
Annexes	

Introduction

Introduction

Aujourd'hui, l'hygiène de vie est un sujet d'actualité. Garder un corps sain est pratiquement le souci de tout être humain désireux de mener une existence médicalement et physiquement convenable.

Une des conditions essentielles pour bénéficier d'une bonne santé est sans aucun doute l'assurance d'une alimentation équilibrée et profitable à notre organisme.

Afin de tirer profit de la nourriture, nous devons disposer d'un transit intestinal en excellent état. Il est donc impératif de veiller à son intégrité et à la sauvegarde de la flore qui y réside. Il y a des germes naturellement présents dans notre organisme, ils sont de surcroît indispensables à notre survie. À côté de cette flore résidente, la flore de transit, d'une densité bien inférieure. Cette dernière représente un véritable écosystème ou coexistent des interactions entre les micro-organismes et l'hôte qui les héberge. Cet écosystème intestinal possède en outre la capacité de s'opposer à l'implantation et à la multiplication des bactéries pathogènes. (Carré, 2004).

Ils provoquent des maladies, des intoxications collectives et des épidémies sévères, laissant dans leurs sillages d'importantes pertes humaines.

Les infections gastro-entériques sont d'une importance telle que nous les retrouvons classées juste après les infections respiratoires. Malgré l'inexistence de statistiques au niveau national,

La population algérienne est très sensible aux germes responsables de diarrhées et de dysenterie et autres plusieurs étiologies sont à l'origine de troubles, de perturbations et de dysfonctionnement de la flore intestinale. Parmi elles : les Salmonelles, les Shigelles et les infections à *Escherichia coli* (EPEC). Elles sont toutes d'un diagnostic facile et leur traitement est aujourd'hui maîtrisé. Cependant, au niveau des laboratoires des germes tels que *Compylobacter* sont souvent négligés au point que les examens les ignorent. Ils sont pathogènes et leur effet est très sévère. Ils sont aujourd'hui des sujets de recherche.

Nos objectifs sont :

*Étude de la prévalence ainsi que la détermination des différents agents étiologiques responsables d'infections gastro-entériques avec une recherche systématique de trois types bactériens : *Salmonella*, *Shigella*, et éventuellement *Escherichia coli* (EPEC) chez les enfants moins de deux ans.

*Déterminer le profil antibiotique des germes précités.

Chapitre I: Rappels Bibliographiques

I-1 Anatomie du tube digestif

L'appareil digestif permet la transformation et l'assimilation des aliments ingérés. Il est donc la porte d'entrée à tous les micro-organismes associés à la voie orale. Il est constitué de trois parties : les éléments de la cavité buccale, les glandes annexes et les éléments du tube digestif. Ce dernier est divisé en trois parties (fig1) (Elaine et *al.*, 2014) :

- ✚ **L'œsophage** : transporte les aliments ingérés vers l'estomac.
- ✚ **L'estomac** : permet d'assurer la digestion des aliments grâce à ses fonctions mécaniques et chimiques.
- ✚ **Les intestins** : comportent l'intestin grêle et le gros intestin. Leurs fonctions est d'assurer l'assimilation des aliments par l'organisme.

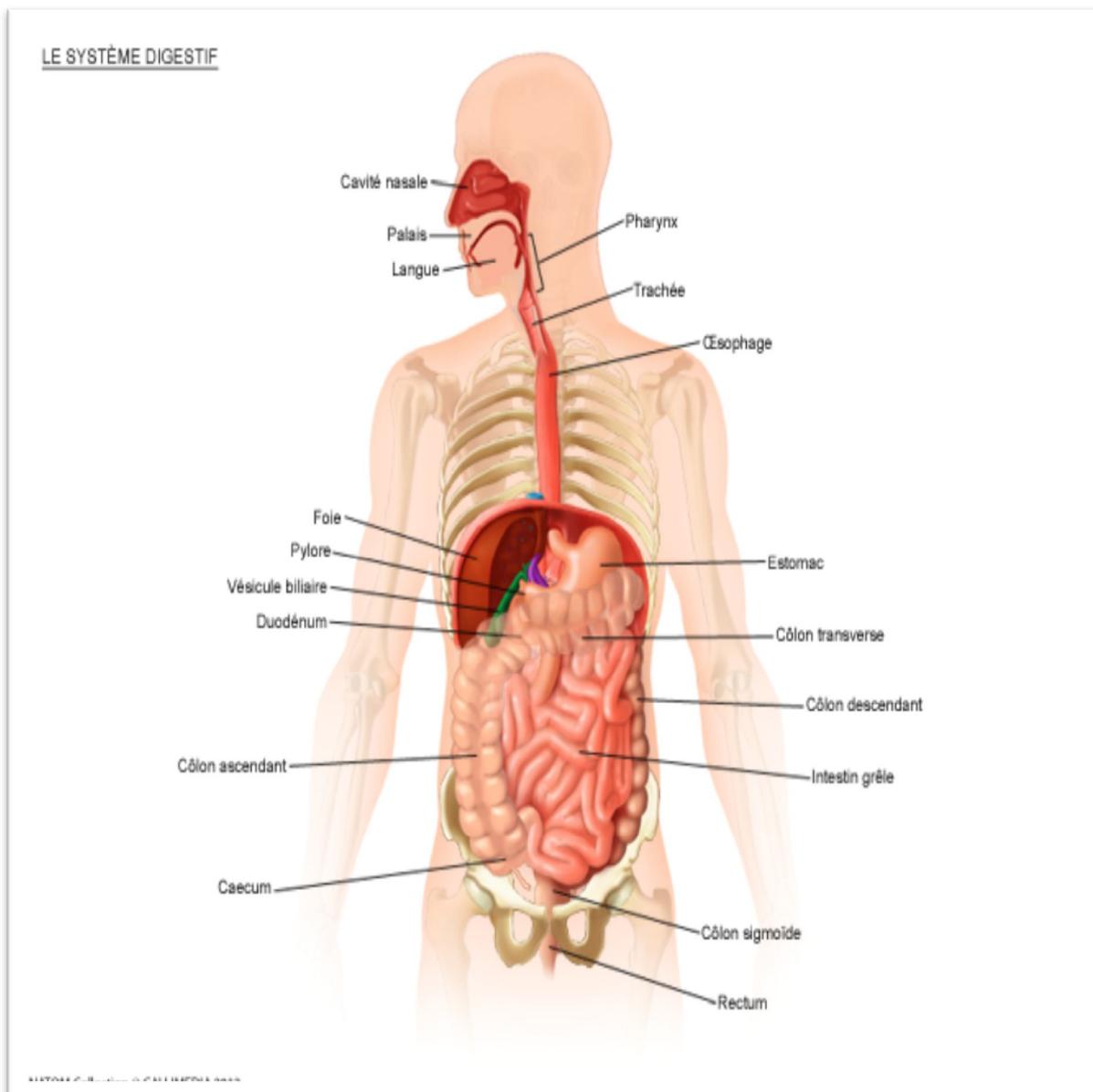


Figure 1: Anatomie du tube digestif (Elaine et *al.*, 2014).

I-2 Système immunitaire de tube digestif : (GALT: gut associated lymphoid tissue; fig 2)

Celui-ci comprend : les plaques de Peyer et les formations lymphoïdes de l'appendice. Ce sont de volumineux agrégats de follicules primaires ou secondaires siégeant dans le chorion de la muqueuse de la partie terminale de l'iléon. Ils sont proches de la lumière intestinale, dont ils ne sont séparés que par un épithélium. Aminci et dépourvu de villosité. Dans l'épithélium, les cellules M (lettre provenant de *microfold* = microrepli) captent, par leur surface lumineuse, les antigènes du tube digestif et les transfèrent sans dégradation vers les lymphocytes sous-jacents. (Homberg,1999).

Le chorion de la muqueuse appendiculaire est épaissi par la présence d'un abondant tissu lymphoïde sur toute sa circonférence. Les antigènes peuvent pénétrer dans ces formations lymphoïdes à partir de la lumière intestinale et entraînant une stimulation antigénique. Les lymphocytes B et T transforment en immunoblastes mais sont incapables de murir en plasmocytes ou en lymphocytes T sensibilisés. Les lymphocytes vont, à la suite d'une stimulation antigénique, migrer vers les ganglions mésentériques, où ils se différencient en plasmocytes, puis regagnent, par intermédiaire du canal thoracique, la circulation sanguine, puis la *lamina propria* de l'intestin. Ces plasmocytes sécrètent des IgA qui sont déversées en partie dans la lumière intestinale d'où leur nom d'Ig sécrétoires de type surtout IgA, et à faible degré IgM, IgG ou IgE, (Homberg,1999) :

- Les lymphocytes intra-épithéliaux :

Les lymphocytes T particuliers sont insinués entre les cellules épithéliales.

- Les lymphocytes sous-épithéliaux :

Il s'agit d'infiltrats de lymphocytes B et de plasmocytes essentiellement de classe IgA sous-jacents à l'épithélium intestinal, qui vont donner naissance aux IgA sécrétoires.

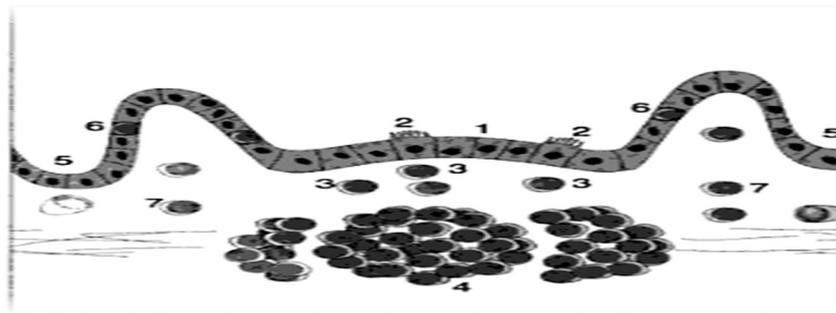


Figure 2 : Plaque de Peyer (Homberg,1999)

1 :l'épithélium intestinal, **2** : les cellules M, **3** : la zone sous jacente contient des lymphocytes T et B isolés, **4** : des amas sous muqueux de lymphocyte B entourés de lymphocyte T, **5** : la muqueuse intestinal, **6** : l'épithélium cylindrique héberge quelques lymphocytes T isolés, **7** : les lymphocytes B synthétisent des IgA sécrétoires.

I-3 Rappel sur la flore intestinale normale

Dès la naissance, le milieu intestinal est progressivement habité par une flore normale qui joue un rôle important dans l'équilibre physiologique, Cette flore représente tout au long de la vie, une barrière naturelle contre les agents entéro-pathogènes. (Carre et *al.*, 2000)

La flore fécale normale est riche et très variée (10^{12} - 10^{14} germes /g de selles), constituée par un quart de bactéries à Gram négatif et trois quart de bactéries à Gram positif. Elle est représentée par plus de 400 espèces ; La presque totalité de ces bactéries sont des anaérobies stricts : *Eubacterium*, *Bactéroïdes*, *Peptococcus*, *Clostridium*, ainsi qu'un grand nombre d'espèces qui ne sont pas répertoriées et sont désignées comme E.O.S (Extremely Oxygen Sensitive) c'est-à-dire espèce pour qui l'oxygène est nocif. Les bactéries aéro-anaérobies ne représentent qu'environ 1‰ de la flore totale. *Escherichia coli*, l'espèce prédominante parmi les Entérobactéries, n'est présent qu'à raison de 10^7 corps bactériens par gramme. (Goulet, 2009).

D'autres Enterobacteriaceae peuvent être retrouvées en quantité bien moindre : *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*. Les autres espèces bactériennes sont présentes à des taux de l'ordre de 10^3 bactéries par gramme ou moins. Ce sont : les Entérocoques, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, quelques levures sont aussi présentes (Goulet, 2009).

A savoir que, cette flore peut subir des fluctuations en fonction de l'âge, de l'alimentation, des médicaments et de l'environnement (Gronlund et *al.*, 1999). Cependant, deux événements principaux sont susceptibles de modifier cet équilibre complexe et d'entraîner des troubles digestifs graves. Ces événements sont selon Alm et *al.*, (2008) :

- ✚ L'implantation dans l'intestin d'une espèce bactérienne pathogène normalement absente en situation physiologique.
- ✚ Destruction par les antibiotiques de la majorité de la flore résidente physiologique créant un déséquilibre et favorisant la prolifération d'espèces comme : *S.aureus*, *Clostridium difficile*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* ou *Candida albicans* etc. Ce phénomène est appelé : Dysmicrobisme.

I-4 Définition de la gastro-entérite

La gastro-entérite désigne un état inflammatoire de la muqueuse digestive.

La gastro-entérite aiguë se définit comme la présence simultanée d'une inflammation, et d'une infection de la muqueuse du tube digestif. D'origine principalement infectieuse, elle se caractérise par l'apparition brutale de selles trop liquides et abondantes, (et/ou de vomissement) au moins trois fois par 24 heures, mais persistant moins de 07 jours. (Bouhnik, 1993).

I-5 Principaux mécanismes à l'origine d'infections gastro intestinales

I-5-1 Mécanisme entéro-invasif

Ce mécanisme correspond à la pénétration des bactéries dans les cellules de l'épithélium intestinal superficiel ou profond. Il s'exerce essentiellement au niveau de l'iléon et du colon et est responsable d'un syndrome clinique de type dysentérique c'est-à-dire : selles multiples mais peu abondante, contenant du sang des glaires et du pus dans un contexte fébrile. Histologiquement, il existe des ulcérations accompagnées d'une intense réaction inflammatoire de la *lamina propria*. (Pilly, 2008).

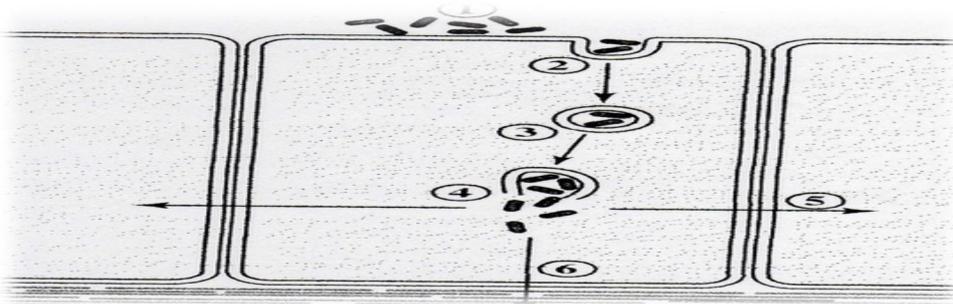


Figure 3 : Mécanisme entéro-invasif des toxi-infections alimentaires à tropisme intestinal, mettant en jeu des *Shigella*. (Pilly, 2008).

L'adhésion bactérienne (1), est suivie de la formation d'une vésicule d'endocytose emprisonnant les germes. Ce sont en fait les bactéries elles-mêmes qui induisent la formation de la vésicule, les entérocytes sont, en effet, dépourvus de propriétés de phagocytose (2) et (3), Cette vésicule est rapidement détruite et libère les bactéries dans le cytoplasme où les *Shigella* se multiplient (4), les bactéries envahissent les cellules voisines (5), Dans un deuxième temps se produit une extension verticale de l'infection (6). (Pilly, 2008).

D'après Mathan et *al.*, (1995), Les principaux agents bactériens agissant par ce mécanisme sont :

- Les Salmonelles non typhiques
- Les Shigelles
- *Campylobacter*
- *Escherichia coli* invasifs

Signalons que ces bactéries à mécanismes essentiellement entéro-invasif peuvent élaborer des toxines qui renforcent leur pouvoir pathogène.

I-5-1-1 Invasion avec destruction cellulaire

Il y a invasion avec multiplication de la bactérie à l'intérieur des cellules épithéliales, dissémination suivie d'une destruction de l'épithélium. Ceci induit une réaction immunitaire avec afflux de polynucléaires et formation d'abcès, par contre il n'aura pas de passage au-delà

de la *lamina propria*, ni de désamination et ni de multiplication extra-intestinal (Goldberg et *al.*, 1993 ; Pilly, 2008).

I-5-1-2 Invasion sans destruction cellulaire

Il y a traversée intracellulaire de l'épithélium par la bactérie au sein d'une vacuole de phagocytose, sans entrainer la mort cellulaire. Puis prise en charge par les macrophages résidants dans le tissu sous-épithélial. Les Salmonelles colonisent très rapidement le tissu lymphatique et peuvent ensuite être libérées dans le sang circulant entrainant une septicémie à «point de départ lymphatique». (Goldberg et *al.*, 1993 ; Pilly, 2008).

NB : Certaines Salmonelles se multiplient dans les macrophages et restent viables durant de longues périodes même en présence d'antibiotique. Ce phénomène peut expliquer le portage prolongé souvent constaté d'une gastroentérite. (Gledel et *al.*, 1988)

I-5-2 Mécanisme entéro-toxinique

Ce mécanisme consiste la production par les bactéries responsables fixées à la surface de la muqueuse digestive, d'une entéro-toxine qui provoque une sécrétion d'eau et d'électrolytes par l'entérocyte en stimulant l'adénylcyclase membranaire, il s'exerce essentiellement au niveau de l'intestin grêle. Il n'y a ni lésion anatomique de la muqueuse ni bactériémie. Le syndrome clinique déclenché est de type diarrhée aqueuse cholériforme, caractérisé par l'abondance et la fréquence des selles, trop liquides ; (fig4).

C'est le cas d'*Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC), *Vibrio cholerae* et *Clostridium perfringens*.

En revanche pour *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, la toxine est préformée dans l'aliment et l'ingestion de ce dernier contaminé cause l'infection. (Pilly, 2008).

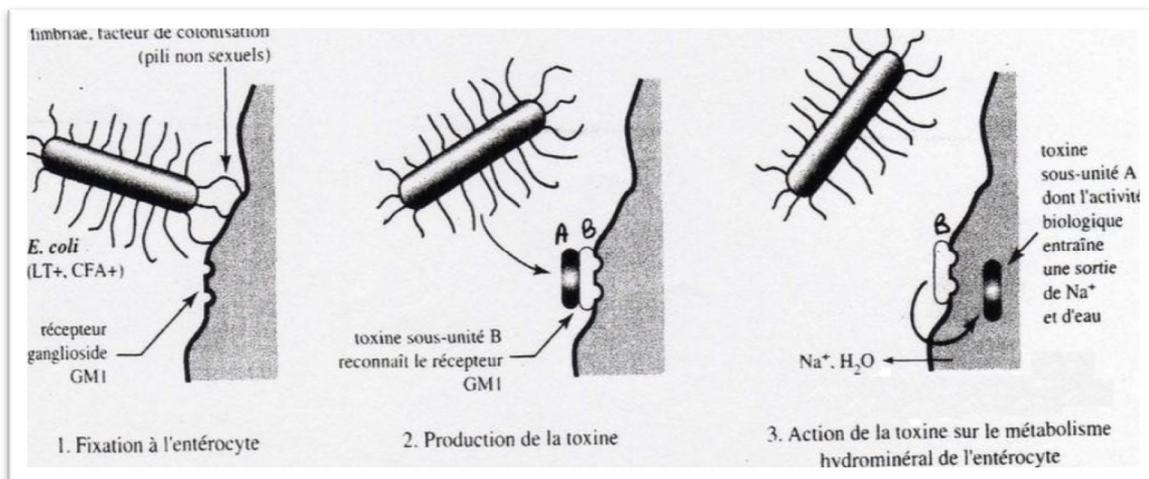


Figure 4 : Mécanisme d'action des entéro-toxines (Pilly, 2008).

I-6 Agents responsables d'infections gastro-intestinales et leurs manifestations cliniques

I-6-1 Etiologies bactériennes

I-6-1-1 Agents responsables du mécanisme entéro-invasif

a. Les Shigelles

Bactéries essentiellement associées à l'homme, les Shigelles ne sont pas retrouvées dans la nature en dehors de l'environnement humain. La contamination féco-orale se fait par contact direct avec des sujets malades ou des porteurs asymptomatiques, ou par contact indirect à partir d'eau et d'aliment ou d'objets contaminés par les selles de malades. Sans traitement, les bactéries peuvent être retrouvées jusqu'à 3 à 4 semaines après l'arrêt des symptômes, mais des portages de plusieurs mois sont décrits dans les zones d'endémie. (Bennish et *al.*, 1991 ; Kosek et *al.*, 2003).

La dose minimale infectante est très faible (10 à 100 bactéries), elle est en partie liée à une relative résistance à l'acidité gastrique, ce qui explique la persistance de l'infection dans les pays industrialisés malgré leur bon niveau sanitaire. (Bennish et *al.*, 1991 ; Kosek et *al.*, 2003).

Dans les pays en voie de développement, la dysenterie bacillaire due à *S.dysenteriae* (espèce la plus virulente du genre) est responsable de mortalité élevée surtout chez les jeunes enfants. (Bennish et *al.*, 1991 ; Kosek et *al.*, 2003).

Dans les pays développés, les Shigelloses sont peu fréquentes et principalement dues à des espèces d'une virulence moindre telle que *S.flexneri* ou *S.sonnei*, par contre *S.boydii* est surtout répandue en Asie du Sud-Est, et présente une virulence intermédiaire. (Taylor et *al.*, 1986 ; Tauxe et *al.*, 1988).

Après 1 à 3 jours d'incubation, les Shigelles provoquent classiquement un syndrome dysentérique (coliques, selles sanglantes et purulentes) accompagné de fièvre et de vomissements, mais ce tableau n'est pas toujours aussi typique et des formes plus graves peuvent être observées. (Hartemann et *al.*, 2009).

b. Salmonelles

Les Salmonelles sont largement répandues dans la nature, dans le tractus gastro-intestinal des mammifères domestiques ou sauvages, des reptiles, des oiseaux et des insectes. Elles peuvent donner lieu à des foyers très importants, atteignant parfois une échelle nationale lorsqu'un aliment commercialisé à large diffusion se trouve contaminé. Les Salmonelles sont pathogènes, causent un large spectre de maladies chez l'homme et chez l'animal. Certaines Salmonelles, comme *S.typhi* et *S.paratyphi*, sont particulièrement adaptées à l'homme, n'ayant pas d'autre hôte naturel connu, et sont responsables d'infections sévères. D'autres Salmonelles comme *S.typhimurium* ainsi que *S.enteritidis* ont de multiples hôtes naturels, et

infectent de nombreux animaux ainsi que l'homme, chez lequel elles entraînent des infections le plus souvent bénignes. (Haghebert et *al.*, 1999 ; Pennec et *al.*, 2003).

La contamination des aliments est directement ou indirectement liée à un contact avec les excréments d'animaux, ou à un milieu souillé par ces matières. Elle peut être aussi le fait de porteurs sains humains, la dose infectante est de 10^5 germes/gramme d'aliment. (Malvy et *al.*, 2002).

Seule une multiplication des *Salmonella* dans l'aliment contaminé consommé cru ou insuffisamment cuit (œufs ou préparations à base d'œufs, volailles, produits de charcuterie, fromage au lait cru...) peut être à l'origine d'infection gastro-intestinale. Cette multiplication se produit à l'occasion de fautes commises sur la chaîne alimentaire en générale une rupture de la chaîne du froid. (Hennesy et *al.*, 1996).

Après 12 à 36 heures d'incubation, les Salmonelloses se manifestent par une diarrhée, accompagnée de vomissements et de douleurs abdominales. Elles peuvent entraîner des bactériémies et se compliquer de septicémies ou de foyers secondaires. La dose infectante est de 10^5 bactéries par gramme d'aliment. (Hartemann et *al.*, 2009).

c. *Escherichia coli* invasif

Escherichia coli constitue la bactérie aéro-anaérobie la mieux représentée de la flore commensale du côlon. La plupart des souches sont donc dépourvus de pouvoir entéropathogène. Les infections intestinales à *E.coli* sont dues à certains sérotypes disposant de plasmides leur conférant leurs propriétés entéro-pathogènes. (Guillet et *al.*, 2002).

Parmi toutes les souches d'*E.coli* commensales habituelles du tube digestif, seuls deux sérotypes peuvent être responsables de diarrhées invasives et cela d'après Anglaret et *al.*, (2002) et Denis et *al.*, (2010) :

E.coli entéro-invasifs (EIEC) responsables de syndrome dysentérique proche de la Shigellose ; caractérisé par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnés d'une diarrhée aqueuse qui évolue rapidement en une dysenterie (selles contenant du sang et du mucus).

E.coli entéro-hémorragique (EHEC) retrouvés au cours des colites hémorragiques et du syndrome hémolytique et urémique (SHU) typique ; ce sont des bactéries potentiellement mortelles.

Les symptômes peuvent aller de la diarrhée simple à une diarrhée sanglante et abondante. Les manifestations sont les plus graves chez les enfants de moins de 8 ans et chez les personnes de plus de 65 ans. Le syndrome hémolytique et urémique (SHU) se manifeste entre autres par une anémie hémolytique, une thrombopénie et insuffisance rénale aiguë. (Guillet et *al.*, 2002).

d. *Campylobacter*

Les espèces du genre *Campylobacter* sont retrouvées chez la plupart des animaux à sang chaud et ou destinés à l'alimentation humaine tels que les volailles, bovins, porcs, ovins,

autruches et crustacés. On les retrouve également chez les animaux de compagnie tel que les chiens et les chats (DeBoer et *al.*, 1990).

La principale voie de transmission est alimentaire et passe par la consommation de viandes et de produits dérivés de la viande insuffisamment cuits ou encore de lait cru ou contaminé. L'eau ou la glace contaminée sont aussi des sources d'infection. (DeBoer et *al.*, 1990).

La dose infectante peut être très faible environs une centaine de germes par gramme d'aliment.

Ils sont, à tort, insuffisamment recherchés dans notre pays, alors que dans d'autres pays ils sont décrit comme étant une importante cause de diarrhée et responsable de nombreux petits foyers de toxi-infections alimentaires (DeBoer et *al.*, 1990).

Typiquement, les premiers signes dans une infection à *Campylobacter* apparaissent après 3 à 4 jours d'incubation ou plus. Il s'agit de signes digestifs : diarrhée inflammatoire, douleurs abdominales avec parfois présence de sang dans les selles dans un contexte de signes généraux variables : fièvre en général modérée, asthénie, anorexie, céphalées. Mais moins intenses que lors d'une infection à *Salmonella spp* ou *Shigella spp*. Les vomissements sont peu fréquents, car une atteinte gastrique est rare.

Les symptômes sont spontanément résolutifs en une semaine alors que la bactérie peut persister dans les selles pendant plusieurs semaines, d'où des rechutes possibles. Dans certains cas, *Campylobacter* peut entraîner des convulsions chez le nourrisson ainsi qu'une déshydratation. Des études ont démontré son implication possible et après plusieurs années dans la survenue d'une manifestation neurologique particulière, le syndrome de Guillain Barré (Freney et *al.*, 2007).

I-6-1-2 Agents responsables du mécanisme entérotoxinique

Bien que ne faisant pas l'objet de notre étude (à l'exception des EPEC), nous ne pouvons ignorer le rôle majeur joué par les agents à mécanisme entéro-toxinique dans les infections gastro-intestinales à savoir :

a. Staphylococcus aureus

C'est l'un des principaux agents incriminés dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). L'aliment est souvent contaminé par un sujet (cuisinier...) porteur cutané symptomatique (furoncle, panaris...) ou asymptomatique. (Anglaret et *al.*, 2002).

Les aliments les plus fréquemment incriminés sont ceux qui subissent des manipulations importantes (salades composées, pâtisserie...), les aliments conservés, réchauffés ou congelés. (Anglaret et *al.*, 2002).

L'incubation est très courte (1heure à 6 heures). Le tableau clinique associe une diarrhée aqueuse abondante (peuvent entraîner une déshydratation sévère) et des vomissements, sans fièvre. La symptomatologie est due à la toxine préformée dans les aliments avant qu'ils ne soient ingérés. Par conséquent, ni la coproculture ni l'antibiothérapie ne sont donc

nécessaires. L'enquête épidémiologique peut cependant rechercher la toxine dans les aliments et le germe chez les sujets présumés à l'origine de la contamination. (Malvy et *al.*, 2002).

b. Clostridium perfringens

Ce bacille à Gram positif, sporulé est souvent impliqué dans les toxi-infections alimentaire. Les aliments incriminés sont souvent des viandes peu cuites ou préparées à l'avance, puis consommées le lendemain. L'incubation moyenne est de 9 à 15 heures. L'entérotoxine provoque la formation de pores perturbant la perméabilité membranaire des cellules intestinales. Le tableau clinique n'est pas spécifique, d'évolution rapide et favorable. Cependant des formes graves avec nécrose intestinale ont été décrites. (Daube, 1992 ; Anglaret et *al.*,2002 ;Malvy e *al.*, 2002).

c. Bacillus cereus

C'est également une cause rare de toxi-infection alimentaire, à partir de viandes peu cuites, sauces ou riz préparés à l'avance. Comme pour le Staphylocoque, la toxine est préformée dans les aliments. Le tableau est non spécifique. (Malvy et *al.*, 2002).

d. Escherichia coli entéro-pathogènes

E. coli entéro-pathogènes (EPEC) sont la cause des diarrhées infantiles persistantes, souvent épidémiques dans les pays en voie de développement. Certains sérotype d'EPEC ont également été incriminés au cours du syndrome urémique typique. (Denis et *al.*, 2010).

e. Vibrio cholerae

C'est l'agent du choléra. L'homme est le seul réservoir du germe, et la contamination est féco-orale par consommation d'eau ou d'aliments souillés. C'est une maladie extrêmement contagieuse.

Le diagnostic peut être confirmé par l'examen direct des selles à l'état frais puis par culture sur milieux sélectifs. (Denis et *al.*, 2010).

I-6-2 Etiologies virales

I-6-2 -1 Les Rotavirus

Les rotavirus humain du groupe A sont ubiquitaires et constituent la principale étiologie (environ 40%) des diarrhées de l'enfant avant 5 ans. Le nombre de rotaviroses est estimé à 140 millions de cas par an, dont 18 millions de diarrhées sévères responsables de 800.000 décès. La mortalité est essentiellement observée dans les pays en voie de développement. Dans les pays industrialisés, les rotavirus sont responsables d'une morbidité importante et sont l'une des principales causes d'hospitalisation des nourrissons. (De Rougemont et *al.*, 2010).

Dans les pays tempérés, les épidémies à rotavirus sont saisonnières. Elles surviennent pendant l'hiver avec un pic en décembre-janvier. La transmission est essentiellement féco-orale,

interhumaine véhiculée directement par les mains ou indirectement par les surfaces et objets contaminés. Les rotavirus sont la première cause d'infections nosocomiales en pédiatrie en France. (Parez, 2000).

I-6-2-2 Les Adénovirus

Les adénovirus entériques sont susceptibles d'entraîner des diarrhées chez les enfants et les adultes. A la différence des autres adénovirus ils sont difficiles à cultiver, leur détection se fait par des tests rapides (ELISA, Agglutination, immunochromatographie). (Fox et *al.*, 1977 Fleury, 2009).

I-6-3 Étiologies parasitaires

I-6-3-1 *Entamoeba histolytica*

L'amibiase intestinale est due à *Entamoeba histolytica* responsable d'un syndrome dysentérique en règle non fébrile (contrairement aux Shigelles) leur transmission se fait par voie féco-orale (Diamond et *al.*, 1978 ; Perronae, 1990).

I-6-3-2 *Giardia intestinalis*

La giardiase est secondaire à l'ingestion de kystes de *Giardia intestinalis* ; l'infestation est souvent asymptomatique (Perronae, 1990 ; Wolfe et *al.*, 1990).

I-6-4 Autres étiologies

Diarrhées post-antibiotiques « Dysmicrobisme »

Depuis le début de leur utilisation, de nombreux antibiotiques ont été accusés d'entraîner des troubles digestifs.

Clostridium difficile est le meilleur exemple illustrant le phénomène de dysmicrobisme.

Il s'agit d'un bacille Gram positif, anaérobie strict, sporulé, saprophyte de tube digestif .lors d'un déséquilibre de l'écosystème bactérien au niveau du côlon, provoqué généralement par une antibiothérapie, *C. difficile* est capable de proliférer, et certaines souches toxigènes vont produire des toxines en grande quantité. (Beaugerie, 1996).

Sa symptomatologie variable allant de la simple diarrhée aiguë à la colite pseudomembraneuse qui peut s'avérer mortelle dans 10 à 20% des cas en l'absence de traitement. Dans sa forme complète, on observe une altération de l'état général avec une fièvre élevée à 39-40°C, des douleurs abdominales violentes et une diarrhée parfois sanglante (Nizou et *al.*, 1997).

I-7 Etude des principaux agents responsables d'infections gastro-intestinales à caractère invasif

La majorité des bactéries causant des infections gastro-intestinales faisant l'objet de notre étude appartiennent principalement aux familles des Enterobacteriaceae, Campylobacteriaceae.

I-7-1 Famille des Enterobacteriaceae

Cette famille comprend des bacilles Gram négatif, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, non sporulés, par fois capsulés.

Ils sont aéro-anaérobies facultatifs, se cultivent sur milieux ordinaire, dégradant le glucose par voie fermentative et sont dépourvus d'oxydase.

I-7-1-1 Taxonomie

Domaine: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre: Enterobacteriale

Famille: Enterobacteriaceae

I-7-1-2 Structure antigénique des Enterobacteriaceae

A. Antigène somatique « O »

Les entérobactéries possèdent un antigène somatique AgO, de nature polysaccharidique se trouvant au niveau de la paroi .il est formé de trois régions selon Gledel et Corbion (1991) et Humbert et *al.*, (1998):

Région I : qui est constituée de polysaccharides, responsables de la spécificité somatique qui est déterminée par la nature des sucres, leur séquence et leur mode de liaison .cette partie est donc la base de la différenciation des différents sérotypes.

Région II : appelée également core ou partie basale, elle est constituée par des polysaccharides elle peut être commune à tous les sérovars d'une même espèce (cas des Salmonelles), où diffère d'un sérovar à un autre (cas des *E.coli*).

Les mutations qui affectent soit la synthèse des chainons dans la région I, soit l'attachement des chainons spécifiques au core ou bien la synthèse du core, rendent les bactéries autoagglutinables (rough ou R).

Région III : ou lipide A : elle est responsable des propriétés toxiques et pyrogènes de l'endotoxine

Les antigènes O donnent lieu à la formation d'anticorps agglutinant, les agglutinations sont granulaires, difficiles à dissocier par agitation.

B. Antigène Flagellaire « Ag H »

C'est un polymère de flagelline (protéine de structure des flagelles). Son développement optimum s'obtient sur les milieux semi liquides. Cet antigène est thermolabile, détruit par la chaleur à 100°C et par les enzymes protéolytiques. Il résiste au formol et perd son agglutinabilité par les anticorps en présence d'alcool et d'acide phénique. (Dumas, 1958 ; Humbert et *al.*, 1998).

C. L'antigène capsulaire « Ag Vi »

Cet antigène est considéré comme un antigène de surface, il est distinct de l'antigène somatique et de l'antigène flagellaire. L'antigène Vi rend les germes inagglutinables par les anticorps O quand il est abondant. Il ne se développe pas si les cultures sont effectuées au dessous de 25°C et au dessus de 40°C. Un chauffage à 100°C le détruit et les germes deviennent agglutinables par les anticorps O. Il est de nature glucidolipidopolypeptidique. (Dumas, 1958)

Les entérobactéries responsables d'infections diverses principalement des infections entériques sont :

❖ *Salmonella*

Ce genre comprend deux principales espèces, à savoir *Salmonella bongori* et *Salmonella enterica*, cette dernière comprend (Euzeby, 2008) :

<i>Salmonella enterica</i> spp.typhi ;	} Les Salmonelles majeures
<i>Salmonella enterica</i> spp.paratyphi A et B ;	
<i>Salmonella enterica</i> spp.typhimurium ;	} Les Salmonelles mineures
et <i>Salmonella enterica</i> spp. enterica .	

Caractères cultureux

Leur température optimale de croissance est de 35°C à 37°C. Après 18 à 24h d'incubation sur milieu gélose ordinaire, les colonies ont un diamètre de 3 à 4 mm, elles sont à contour réguliers, bombées, lisses, présentant un aspect brillant et humide sur milieux sélectifs solides contenant des agents chimiques inhibiteurs tels que : le vert brillant, le sélénite ...etc.

Permettant pour les Salmonelles une croissance presque normale, alors que ces agents retardent ou même inhibent les autres groupes des entérobactéries.

Cette propriété est utilisée pour la préparation des milieux d'enrichissement et d'isolement des *Salmonella*. (Joly et Reynaud, 2002 ; Delarras, 2007 ; Euzeby, 2008).

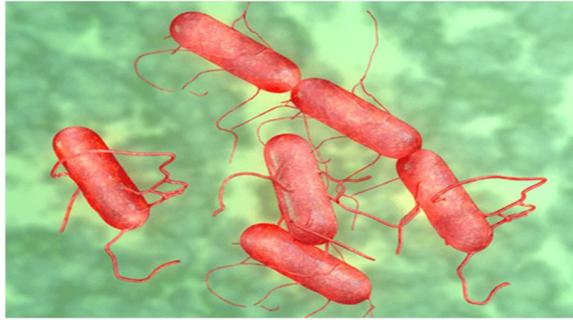


Figure 5 : *Salmonella* (Gourreau et al., 2008).

Caractères biochimiques

Les Salmonelles fermentent le glucose avec une production du gaz, à l'exception de *Salmonella typhi* qui est gaz négatif, elles sont lactose, saccharose et β -galactosidase négatif à l'exception des sous espèces Arisonae et Diarizonae, elles produisent de l' H_2S à l'exception de *S. paratyphi A*. Elles sont lysine décarboxylase positive, indole ; uréase et tryptophane désaminase négatifs, ce qui les différencie des autres espèces d'entérobactéries. (Joly et Reynaud, 2002 ; Delarras, 2007 ; Euzeby, 2008).

❖ *Shigella*

Ce genre comprend : *Shigella dysenteriae* ; *Shigella flexneri* ; *Shigella boydii* et *Shigella sonnei*.

Caractères cultureux

Après 24 heures d'incubation à 37°C, sur milieu lactosé, *Shigella* donne des colonies couleur du milieu, sans H_2S de taille moyenne (2 à 3 mm), rondes et brillantes à bords réguliers ne se distinguant en rien des autres entérobactéries. (Berche, 2003 ; Avril, 2000).



Figure 6 : *Shigella* (Bonnefoy et al., 2002).

Caractères biochimiques

Les Shigelles fermentent le glucose sans production du gaz à l'exception de quelques souches de *S. flexneri* et *S. boydii* ne fermentant ni le saccharose ni le lactose, elles ne produisent pas d' H_2S et sont lysine décarboxylase, uréases et tryptophane désaminase négatifs.

L'indole et la β -galactosidase peuvent être variables selon la souche. (Berche, 2003 ; Avril, 2000).

❖ *Escherichia coli*

Caractères cultureux

Escherichia coli ou colibacille est une bactérie asporulée mesurant 2 à 4 μ de long sur 0.4 à 0.6 μ de large.

C'est une bactérie fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche.

Ce germe non exigeant, sur gélose ordinaire donne des colonies lisses, brillantes et homogènes

En 24 heures d'incubation à 37°C, sur milieux lactosés, la culture fait varier l'indicateur de PH vers l'acidification. (Lobril, 1998).

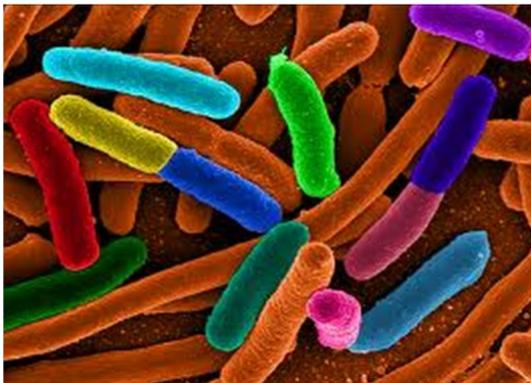


Figure 7: *Escherichia coli* (Max Sussman, 1997).

Caractères biochimiques

Les souches d'*E.coli* fermentent le glucose avec production de gaz, dégradent le lactose et sont β -galactosidase positive, de même elles sont indole et lysine décarboxylase positives, elles n'utilisent pas le citrate comme source de carbone et sont uréase tryptophane désaminase et H₂S négatifs. (Edler, 2001).

I-7-2 Familles des Campylobacteriaceae

I-7-2-1 Taxonomie

Règne : Bacteria

Embranchement : Proteobacteria

Classe : Epsilonproteobacteria

Ordre : Campylobacteriales

Familles : Campylobacteriaceae

Genre : *Campylobacter*

Espèces : *Campylobacter jejuni* } Espèces thermotolérantes
Campylobacter coli }
Campylobacter lari }
Campylobacter fetus

Les bactéries du genre *Campylobacter* sont des bacilles Gram négatif, asporulés, incurvés, en virgule ou en forme de « S » ou de forme spiralée, de 0.2 à 0.5µm de diamètre sur 0.5 à 5 µm de longueur. Ces bacilles peuvent évoluer vers une forme coccoïde considérée le plus souvent comme une forme de dégénérescence. Ils ont une mobilité caractéristique en « vol de moucheron » grâce à un flagelle situé à l'une ou aux deux extrémités de la cellule. (Vandamme et al., 1991).

I-7-2-2 Caractères cultureux

Campylobacter est exigeants, pour croître cette bactérie a besoin d'un milieu riche (enrichi en sang ou en charbon), rendu sélectif par l'addition d'antibiotiques, d'une atmosphère micro aéroophile (5% d'O2, 10% de CO2, 85% de N2), et d'une température de 37°C jusqu'à 42°C (pour les espèces thermophiles). (Ferron, 1989). (Tableau I)



Figure 8 : *Campylobacter* (Odongo, 1992).

Tableau I : Caractères relatifs aux conditions de croissance de *Campylobacter*.

	Optimum de croissance	Inhibition de la croissance
Température	40-42°C	<30°C->45°C
PH	6.5-7.5	<4.9->9
O ₂	3-5%	0-15 à 19%
CO ₂	10%	-
Activité de l'eau	0.997	<0.987
NaCl	0.5	>2%

(Colin., 2006)

I-7-2-3 Caractères biochimiques

Les Souches de *Campylobacter* sont des microorganismes chimioorganotrophes, à métabolisme respiratoire. Ils ne fermentent pas et n'oxydent pas les hydrates de carbone (Vandamme et *al.*, 1991)

Ils tirent leur énergie des acides aminés ou des métabolismes intermédiaires du cycle de Krebs (Winn et Konemann, 2006).

Les souches de cette espèce ont une réaction d'oxydase positive, catalase variable n'hydrolysent ni la gélatine ni l'urée. (Vandamme et *al.*, 1991).

Ils n'hydrolysent pas l'hippurate (à l'exception d'une seule espèce : *Campylobacter jejuni* (Steinhauserova et *al.*, 2001). Ils sont dépourvus de lipase et de lécithinase. (Butzler, 2004 ; Snelling et *al.*, 2005).

. I-7-2-4 Caractères antigéniques

Deux types d'antigènes ont été décrits chez *Campylobacter jejuni* (Ferron, 1989) :

- Un antigène thermolabile de nature protéique correspondant en partie au flagelle.
- Un antigène thermostable de nature lipopolysaccharidique.

Des études ont montré que plusieurs souches de *Campylobacter jejuni* présentent un polysaccharide capsulaire de haut poids moléculaire et thermostable qui jouerait un rôle dans la pathogénicité de cette espèce (Karlyshev et Wren, 2001).

I-8 Diagnostic des agents responsables d'infections gastro-intestinales**I-8-1 Prélèvement et transport :**

Les matières fécales sont recueillies dès l'émission dans un récipient propre, un écouvillonnage rectal peut se révéler utile notamment chez le nourrisson et le petit enfant, des biopsies de muqueuses rectales ou coliques peuvent également être effectuées et seront analysées comme des matières fécales. Le prélèvement doit être acheminé rapidement au laboratoire pour éviter la prolifération des bactéries commensales rendant la recherche des bactéries pathogènes plus difficile, ou bien conservé à 4°C pendant 12 à 24h. (Caquet, 2008).

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignements contenant des renseignements concernant le patient et son état, elle doit préciser. (Bouhnik et *al.*, 1993) :

- Le nombre d'émission par 24h
- Volume des selles par 24h
- Aspect macroscopique : selles fécales, afécales aqueuses, glaireuses, mucopurulentes, sanguinolentes, solides....etc.
- Les symptômes : douleurs abdominales, nausées, vomissements, fièvre, altération de l'état générale, déshydratation ...etc.

- Evénements récents : aliment suspect prise d'antibiotiques, contexte épidémiologique, séjour à l'étranger, hospitalisation ...etc.

I-8-2 Examen macroscopique

L'aspect et la consistance des selles devront être examinés .la présence de glaires, du pus ou du sang est en faveur d'un phénomène entéro-invasif ou syndrome dysentérique, alors que les selles aqueuses orientent plutôt vers un phénomène entéro toxigène ou syndrome cholériforme. (Denis et *al.*, 2010).

I-8-3 Examen microscopique

Il comprend de manière systématique la réalisation d'un état frais, d'une coloration du Gram et /ou bleu de méthylène. Ils permettent de visualiser une flore déséquilibrée, l'absence ou la présence de leucocytes, traduisant dans ce dernier cas une infection liée à des germes invasifs ou des germes non invasifs altérant la muqueuse par le biais de toxines. Par ailleurs, la présence de certains germes ayant une mobilité ou une morphologie évocatrice peut orienter la coproculture. (Denis et *al.*, 2010).

I-8-4 Mise en culture « coproculture »

Le but de coproculture est de tenter d'isoler au sein d'une flore complexe un nombre limité de bactéries réputées pathogènes.

Lorsque l'on pratique une coproculture, il faut utiliser des milieux sélectifs d'isolement et des milieux d'enrichissement pour retrouver les bactéries pathogènes parmi la flore normale .ces milieux sont utilisés en fonction du contexte clinique.

La coproculture standard comprend la recherche systématique des *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, et *Yersinia*.

Dans un contexte particulier, nous rechercherons *Vibrio Cholerae* (selles aqueuses abondantes, retour de zones d'endémie), *Clostridium difficile* (diarrhée poste antibiotique), *Clostridium perfringens* et *Bacillus cereus* en cas de toxi-infection alimentaire (TIAC). (Denis et *al.*, 2010).

I-8-5 Typage moléculaire

La PCR est considérée comme une technique sensible et son application fournit une description rapide et précise de la prévalence d'une bactérie donnée. Il existe dans la matière fécale des inhibiteurs de la PCR comme les sels biliaires, des produits de dégradation de l'hémoglobine et des polysaccharides complexes. (Maher et *al.*, 2003).

Cependant les inhibiteurs peuvent être surpassés en utilisant des kits commerciaux comme cela a été démontré dernièrement dans une étude effectuée au Liban sur *Campylobacter* (Maher et *al.*, 2003).

I-9 Traitement

La réhydratation constitue le principal traitement des infections gastro-intestinales. Elle a permis une diminution très significative de la mortalité infantile dans les pays en voies de développement (Meyers, 1995). Son efficacité est liée à l'utilisation de solutés de réhydratation par voie orale, adaptés aux pertes liquidiennes.

Le traitement antibiotique vient en second plan dans le cas où la symptomatologie persiste.

Les antibiotiques ont pour but de réduire le risque de diffusion extracolique donc de bactériémie, de diminuer la contagiosité des selles (Salmonelloses, Shigelloses, infections à *E.coli* à *C.difficile* ou choléra) et en fin de limiter la durée de la diarrhée sur des terrains fragilisés.

NB : Dans le cas des Salmonelles, les personnes qui, au décours de la maladie, continuent d'éliminer des *Salmonella* dans leurs selles (porteurs sains), ne doivent pas être traitées par des antibiotiques ceux-ci sélectionnent des souches résistantes et sont sans action sur la durée du portage ; seules les mesures d'hygiène sont à préconiser.

I-10 Sensibilités aux antibiotiques :**I-10-1 *Salmonella***

Le traitement antibiotique n'est pas systématique pour toutes les Salmonelloses digestives seules les formes sévères d'entérite chez le nourrisson ou chez le vieillard, sont traitées par des antibiotiques. Les Salmonelles sont sensibles aux Fluoroquinolones, Cotrimoxazole, Céphalosporines 3ème génération de et l'Azithrimycine. (Moulin et *al.*, 2002).

I-10-2 *Shigella*

Les Shigelles sont irrégulièrement sensibles aux antibiotiques .c'est au cours d'une épidémie de Shigellose au Japon que des plasmides de résistance transférables ont été découverts, aussi aujourd'hui le traitement doit être guidé par les résultats d'un antibiogramme (Ashkenazi et Cleary, 1991).

Toutefois elles peuvent être sensibles à l'Ampicilline, Triméthoprine, Sulfaméthoxazole (Bactrim®), Ceftriaxone ou chez les adultes, Ciprofloxacine.

I-10-3 *Escherichia coli*

E .coli est une espèce naturellement sensible aux antibiotiques actifs sur les bacilles Gram négatif. Des résistances à la plupart des antibiotiques peuvent apparaître rendant nécessaire la pratique d'un antibiogramme (Gomez et Cleary, 1994).

La résistance acquise aux β -lactamines concerne le plus souvent les pénicillines : Ampicilline, Ticarcilline, Pipéracilline (40% des souches) par la production de β -lactamases plasmidiques, Les inhibiteurs des β -lactamases tel que l'acide Clavulanique, Tazobactam, Sulbactam restaurent l'activité des antibiotiques.

Rarement chez cette espèce, on observe une résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération par production de β -lactamases à spectre étendu dérivées des précédentes.

I-10-4 *Campylobacter*

Les souches de *Campylobacter* sont naturellement résistantes à divers antibiotiques : Vanomycine, Bacitracine, Novobiocine, Colimycine, Streptogamines B et Trimenthoprime.

Les résistances naturelles de ces antibiotiques sont probablement dues à l'incapacité à traverser la membrane interne. De plus *C.jejuni* et *C. coli* peuvent acquérir une résistance vis-à-vis des β -lactamines (par production de β -lactamases). (Berry et *al.*, 1989).

Toutefois des cas de résistance acquise ont également été constatés vis-à-vis de nombreux autres antibiotiques : les Tétracyclines, les Fluoroquinolones (l'Acide Nalidixique et la Ciprofloxacine) (Bourgeois et *al.*, 1996).

La résistance aux chloramphénicol, l'Erythromycine et la Gentamicine reste faible à quasi nulle. (Freney et *al.*, 2007).

Les macrolides et plus particulièrement l'Erythromycine qui est l'antibiotique de choix sont irrégulièrement actifs et doivent être testés *in vitro*. (Fauchère et Avril, 2002).

Chapitre II: Matériel et Méthodes

II-1 Lieu de l'étude

Cette étude est réalisée dans le cadre de la préparation d'un projet de fin d'études portant sur les gastro-entérites aiguës d'origine bactérienne. Elle a été menée au niveau de l'unité de bactériologie du laboratoire central de Boufarik, sur une période de 3 mois allant de 1 Mars à 31 Mai 2015.

II-2 Objectifs

Cette étude a pour buts :

L'identification biochimique et antigénique des bactéries responsables de gastro-entérites aiguës ;

L'étude du profil antibiotique des bactéries entéropathogènes grâce à la réalisation d'un antibiogramme.

II-2-1 Population étudiée

Cette étude a fait l'objet d'analyse de 374 prélèvements des selles des patients hospitalisés au service d'infectieux, au service de pédiatrie et les externes oscultés au niveau du même hôpital.

II-2-2 Questionnaire

Un questionnaire a été soumis aux patients, afin de relever les éventuels signes cliniques.

(Annexe 1)

II-3 Matériel et méthodologie

II-3-1 Matériel

II-3-1-1 Equipement du laboratoire

Le matériel de l'unité de bactériologie du laboratoire central de Boufarik est cité en Annexe 2.

II-3-1-2 Milieux de culture

La composition des milieux qui ont servi à notre étude est rapportée dans l'Annexe 3.

a- Les milieux d'isolement sélectifs

- Milieu Hektoen
- Gélose nutritive

b- Les milieux d'enrichissement sélectifs

- Bouillon au sélénite-cystine (SFM)
- Bouillon au sélénite (SFB)

c- Les milieux d'identification

- Gélose TSI

- Gélose nutritive incliné
- Eau Peptonée Exemple d'indole
- Milieu Ferguson

d-Milieu pour antibiogramme

- Milieu Mueller- Hinton simple

II-3-1-3 Réactifs

- Réactif Kovacs
- Perchlorure de fer

II-3-1-4 Autres

- Eau distillée en tube de 10 ml
- Eau physiologique en tube de 10 ml
- Additifs de Hektoen
- Disque d'antibiotique
- Disque d'ONPG
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Fuchsine diluée au 1/10
- Alcool 65° et 90°
- Huile à immersion

II-3-2 Méthodologie

II-3-2-1 Prélèvement des selles

Les prélèvements reçus au laboratoire sont les premières selles du matin recueillies dans un récipient propre par les infirmiers pour les patients hospitalisés, les selles sont acheminées rapidement au laboratoire, le transport doit être inférieur à une heure de temps, afin d'éviter la pullulation de la flore intestinale. Les prélèvements doivent être accompagnés d'une fiche de renseignements.(fig 9)



Figure 9 : Récipient stérile pour prélèvement des selles

Les différentes étapes de la coproculture sont illustrées dans la figure suivante :

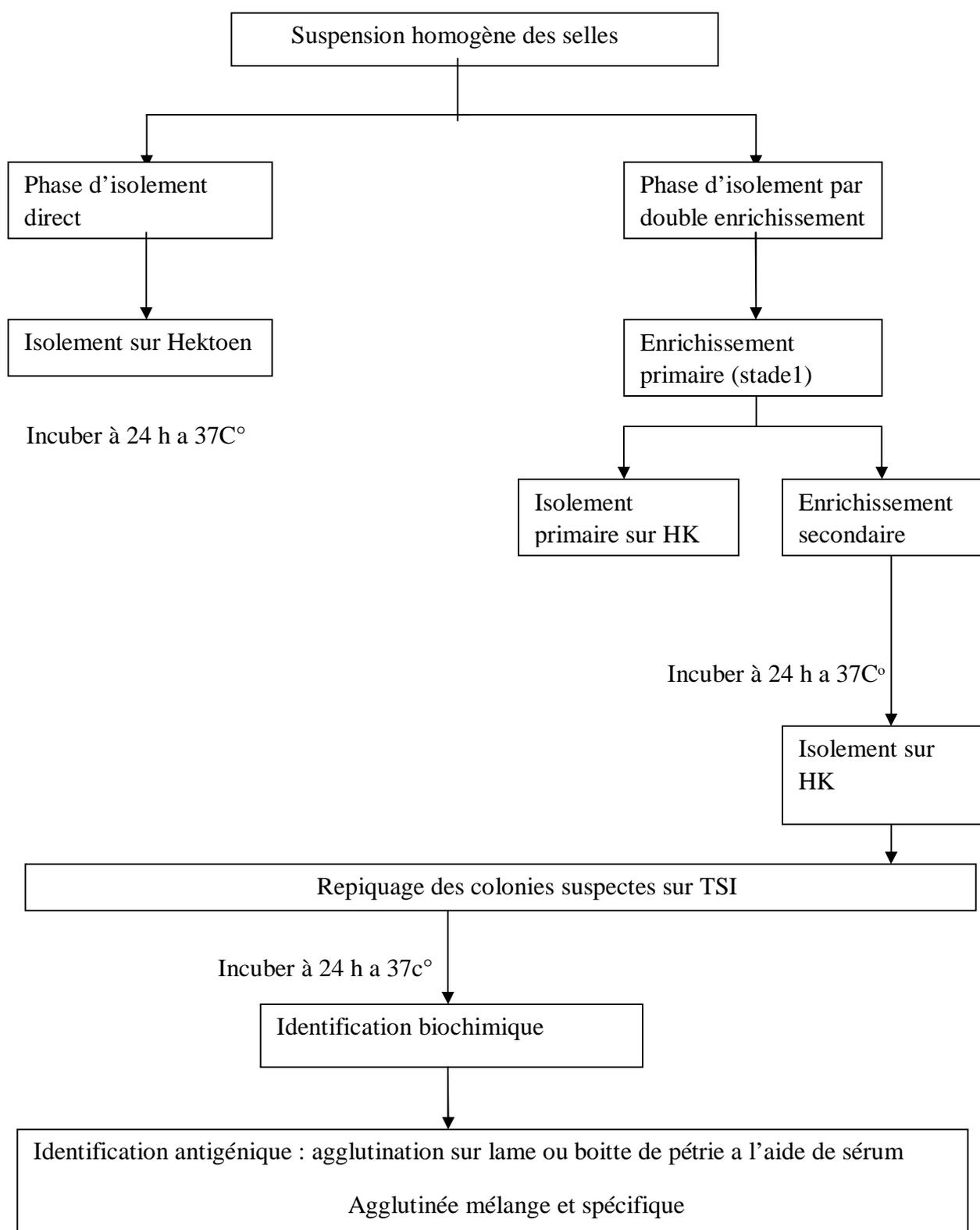


Figure 10 : Schéma d'isolement des germes pathogènes retrouvés dans les selles

II-3-2-2 Coproculture

Tous les prélèvements reçus au laboratoire ont fait l'objet d'une coproculture standard, à savoir la recherche d'Entérobactéries Entéropathogènes

a- L'examen macroscopique des selles

L'examen macroscopique est une étape d'orientation qui consiste en une description de la couleur et de l'aspect de la selle. Ainsi, les selles pathologiques peuvent être : liquides fécales, eau de riz et ou aqueuses ou bien molles, glaireuses et ou sanguinolentes, avec parfois présence de pus.

➤ Préparation de la suspension de selle

La préparation de la suspension de selle est une étape importante dans la coproculture car elle permet de réaliser les examens microscopiques ainsi que les différentes cultures.

La préparation de la suspension varie en fonction de la consistance de la selle :

-Pour une selle pâteuse ou bien molle, une quantité équivalente au volume d'une noix est prélevée à l'aide d'embout puis transférée dans un tube à vis contenant 10 ml d'eau physiologique ;

-Pour une selle glaireuse et ou sanguinolente, la dilution se fait dans une petite quantité d'eau physiologique, moins de 5 ml, car la selle peut être afécale avec un nombre de bactéries faible

-Une selle liquide est étudiée sans dilution, la suspension doit être homogène, pour cela on utilise un agitateur de type « Vortex ».

b- L'examen microscopique des selles

Nous avons effectué un examen à l'état frais entre lame et lamelle de suspensions de selle ayant un aspect diarrhéique liquide afin de déceler la présence d'hématies et de leucocytes.

L'examen microscopique est réalisé en deux étapes :

➤ L'état frais

Principe : Il repose sur la mise en évidence d'une réaction inflammatoire, l'appréciation de la flore fécale et la mobilité particulière de certaines bactéries.

Technique : A l'aide d'une anse de platine, déposer une goutte de la suspension de selle au centre de la lame propre et dégraissée. Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.

Lecture : Elle se fait sur microscope optique à l'objectif 40× afin d'apprécier :

- La flore intestinale d'aspect polymorphe en distinguant les bacilles, les coccobacilles et les cocci

- La mobilité particulière en vol de moucheron pour *Campylobacter* et *vibrio*
- La présence d'une réaction inflammatoire à type de leucocytes ou d'hématies en donnant une appréciation à savoir, rare, quelques ou nombreux des éléments observés.

➤ **Coloration de Gram**

Principe : Il permet de mettre en évidence la morphologie des bactéries et la caractérisation de leur paroi et d'apprécier l'équilibre de la flore intestinale.

Technique : Elle se déroule en deux étapes, la préparation du frottis et la coloration :

***Préparation du frottis :**

- Prendre une lame propre et dégraissée en y inscrivant le numéro correspondant au prélèvement
- Déposer, à l'aide d'une anse de platine, une goutte de la suspension de selle. Etaler la goutte afin de confectionner un frottis fin et homogène
- Sécher le frottis dans un séchoir ou sur la paillasse et le fixer dans la flamme du bec bunsen par trois passages

***Coloration :**

- Recouvrir la lame de violet de gentiane, laisser agir 1 minute
- Rejeter le violet en l'entraînant avec la solution de lugol
- Laisser le lugol agir sur le frottis pendant 1 minute
- Décolorer à l'alcool 90°, la lame est tenue inclinée à l'aide d'une pince. La durée de décoloration doit être de 3 à 4 secondes, vérifier que la dernière goutte est claire
- Stopper la décoloration par un rinçage à l'eau
- Rincer l'autre face de la lame
- Faire une contre-coloration avec de la fuchsine diluée au 1/10, laisser agir 10 à 20 secondes -
- Rincer à l'eau
- Sécher à la chaleur de l'étuve.

Lecture :

Déposer sur la lame une goutte d'huile à immersion et observer au microscope à l'objectif $\times 100$. Nous apprécions alors :

Le pourcentage des deux types de bactéries de flore, en distinguant les bactéries colorées en violet, dites Gram positif, des bactéries colorées en rose, dites Gram négatif. Une flore équilibrée est composée de 60 à 70% de bacilles à Gram négatif avec présence de 30 à 40% de bacilles à Gram positif.

La morphologie et mode de groupement des bactéries, nous pouvons ainsi distinguer des bacilles en forme de bâtonnet, des formes intermédiaires dites coccobacilles qui peuvent être groupés en chaînette, en amas, ou en diplocoque, ou bien des forme sphériques appelées cocci. Une flore équilibrée est constituée de 4/5 de bacilles et 1/5 de cocci.

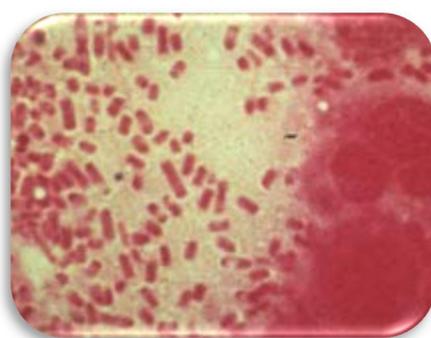


Figure 11 : Aspect de la Salmonelle après coloration de Gram observée au microscope optique à l'objectif X100 (Gourreau et al., 2008)

c-Technique de recherche, d'isolement et d'identification de *Salmonella*, *Shigella* et *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC)

Jour 0 : Jour de réception du prélèvement de selles :

La suspension se fait comme suit : une noisette de selle est diluée dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 9% puis mélangée avec vortex jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Une goutte de la suspension seraensemencée par la technique des quatres quadrants sur milieu Hektoen.

Ce dernier est appelé : Hektoen direct (HKD)

Par la suite quelques gouttes de suspension sont versées dans un tube contenant 10 ml de bouillon d'enrichissement SFB additionné d'un disque de sélénite, le contenu de ce dernier le rend électif pour les Salmonelles. Cette étape est appelée : Premier enrichissement.

Jour 1 : Depuis la réception du prélèvement

L'identification biochimique se fait par l'ensemencement des colonies suspectes dans une mini galerie biochimique classique contenant un milieu urée indole et TSI.

Pour l'enrichissement et l'isolement nous ensemençons une goutte de SFB D sur milieu Héktoen que nous appellerons : Héktoen I, puis nous préparons un deuxième enrichissement en versant quelques gouttes du SFB D dans un autre SFB (bouillon plus disque de sélénite) qui sera appelé SFB I.

Les boîtes, les milieux d'enrichissement, l'urée ainsi que les milieux TSI sont incubés à 37°C pendant 24h.

NB : Il faut veiller à ne pas sceller les tubes de TSI à cause de la production de gaz par les germes gazogènes.

Jour 2 :

Les mêmes étapes de celle du premier jour seront suivies afin d'augmenter les chances d'isoler les bactéries pathogènes

La lecture des TSI et urée indole issu du premier jour sera réalisée.

A partir du deuxième enrichissement nous ensemençons une gélose Hektoen qui sera appelée : Hektoen II. L'ensemble des milieux sera incubé 24h à 37 °C.

Jour 3 :

Une fois la bactérie identifiée en tant que Salmonelle, Shigelle ou EPEC, un antibiogramme sera effectué permettant de déterminer le profil de sensibilité de la bactérie aux antibiotiques sur lequel le clinicien se basera pour réadapter l'antibiothérapie si elle a déjà été entamée.

Ainsi, le résultat final de la recherche des Salmonelles, Shigelles et EPEC est obtenu en moyenne après 3 à 6 jours.

d- La lecture des boîtes après incubation

Les colonies suspectes apparaissent vertes (couleur du milieu) car elles sont lactose négatif (Lac^-) avec ou sans centre noir (production ou non de H_2S), ils sont les caractéristiques des Salmonelles. Ainsi que les colonies vertes brillantes sont représentées les Shigelles.

Elles peuvent être repérées dès le premier jour de culture à partir de Hektoen direct ou bien après enrichissement sur SFB (HK I et HKII).

Hektoen Direct :

Chez les enfants dont l'âge est inférieur ou égal à 2 ans, les colonies suspectes sont de couleur jaune-saumon ou lactose positif (Lac^+), sans centre noir (H_2S^-), plates, non muqueuses et régulières, ils sont les caractéristiques des EPEC.

Hektoen I et II :

Les colonies suspectes sont vertes avec un centre noir (H_2S^+).



Figure 12 : Aspect des colonies de *Salmonella typhimurium* sur Hektoen. (Gourreau et al.,2008)

e- Identification biochimique

L'identification biochimique consiste en l'étude du métabolisme glucidique (TSI, test à l'ONPG) et protidique urée, indole, TDA.

❖ Etude de métabolisme glucidique

-Etude de l'utilisation des trois sucre avec production de gaz et H_2S sur milieu TSI

Principe : Ce milieu complexe permet de confirmer la fermentation du glucose avec ou sans production de gaz et orienter l'identité du germe par l'étude de l'attaque du saccharose, lactose et production d' H_2S .

Technique : A l'aide d'une pipette pasteur, prélever une colonie. Ensemencer la pente du TSI par stries serrées puis le culot par piqure centrale. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

Lecture :

Culot jaune	—————→	Glucose positif
Culot rouge	—————→	Glucose négatif
Pente jaune	—————→	Lactose et ou saccharose positif
Pente rouge	—————→	Lactose et ou saccharose négatif
Noircissement entre la pente	—————→	H_2S positif

et le culot ou tout le culot

Formation de bulles dans la masse \longrightarrow Production de gaz
du milieu ou contre la paroi

La figure 13 présente les différentes bactéries sur milieu TSI après incubation :



Figure 13 : Aspect des Entérobactéries sur TSI (Denis et al .,2012)

-Recherche de β -galactosidase ou test à l'Orthonitrophenyl- β -galactosidase

Principe : Certaines bactéries possèdent une enzyme intracellulaire, la β -galactosidase, capable de dégrader le lactose en glucose et galactose.

Le test à l'ONPG est une méthode simple et rapide qui permet de rechercher directement cette enzyme. Nous utilisons pour cela un substrat synthétique, l'ortho-nitrophényl- β -D-galactopyranoside, composé incolore, qui est scindé par l'enzyme en libérant l'orthonitrophénol un composé jaune en solution.

Technique : A partir du TSI, réaliser une suspension bactérienne dense dans 0.5 ml d'eau physiologique. Ajouter à l'aide d'une pince un disque d'ONPG.

Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture : (fig. 14)

Coloration jaune du milieu \longrightarrow ONPG positive

Couleur inchangée du milieu \longrightarrow ONPG négative

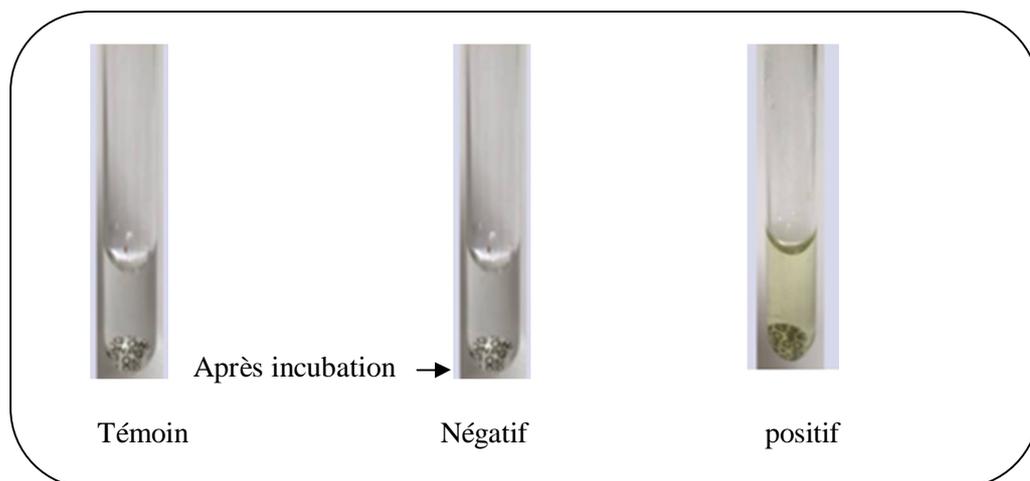


Figure 14 : Aspect de test ONPG (Meyer et al., 2004)

❖ Etude de métabolisme protidique

L'étude du métabolisme protidique est réalisée sur milieu de Ferguson qui permet de rechercher trois enzymes.

-Recherche de l'uréase

Principe : l'hydrolyse de l'urée libère de l'ammoniaque qui alcalinise le milieu et fait virer l'indicateur coloré du jaune au rose fuchsia.

Les bactéries qui possèdent une uréase active réaliseront la réaction suivante :



Technique : A partir du TSI réaliser une suspension bactérienne dans 1 ml du milieu de Ferguson. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture (fig. 15)

Uréase positive \longrightarrow virage de l'indicateur coloré du jaune au rose fuchsia

Uréase négative \longrightarrow milieu de couleur inchangée

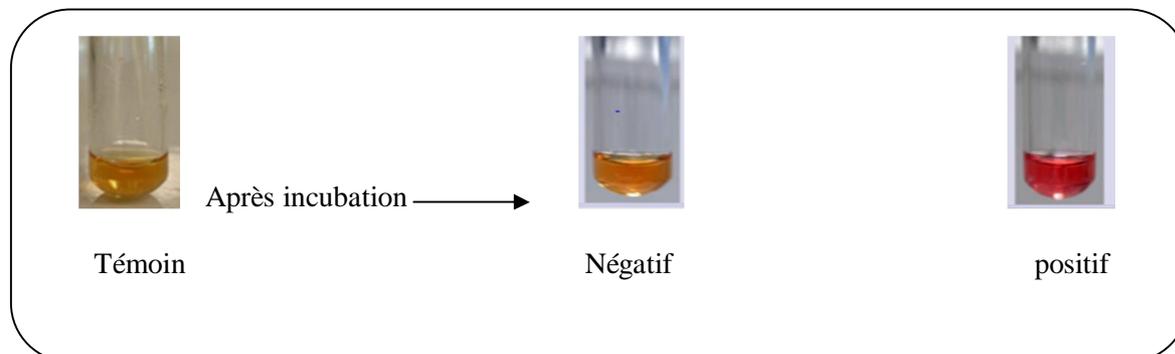


Figure 15 : Aspect du test uréase (Denis et al., 2012)

Après lecture de l'uréase, le milieu Ferguson est partagé en deux afin de rechercher la tryptophanase et le tryptophane désaminase :

-Recherche de la tryptophanase :

Principe : La tryptophanase hydrolyse le tryptophane en indole qui réagit avec le réactif de kovacs et forme un anneau rouge.

Technique : Ajouter dans le milieu servant à la recherche de la tryptophanase 2 à 3 gouttes de kovacs. La lecture est immédiate.

Lecture (fig. 16)

Indole positif \longrightarrow formation d'un anneau rouge
 Indole négatif \longrightarrow formation d'un anneau incolore ou verdâtre

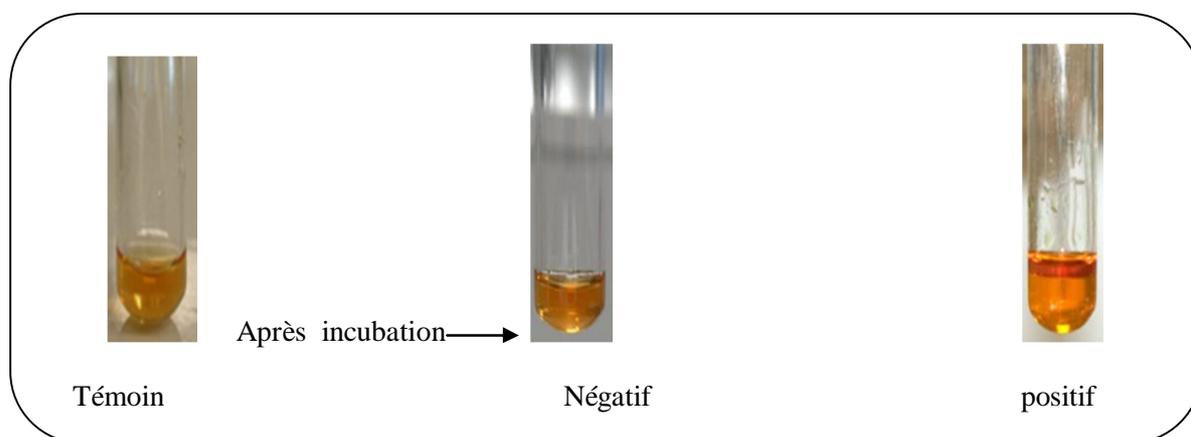


Figure 16 : Aspect du test indole (Koneman,2006)

-Recherche du tryptophane désaminase

Principe : Le tryptophane désaminase catalyse la transformation du tryptophane en acide indole pyruvique qui donne un précipité marron en présence du perchlorure de fer.

Technique : Ajouter dans le milieu de Ferguson servant à la recherche de la TDA 2 à 3 gouttes de perchlorure de fer.

Lecture :(fig. 17)

TDA positive \longrightarrow obtention d'un précipité marron
 TDA négative \longrightarrow pas de précipité

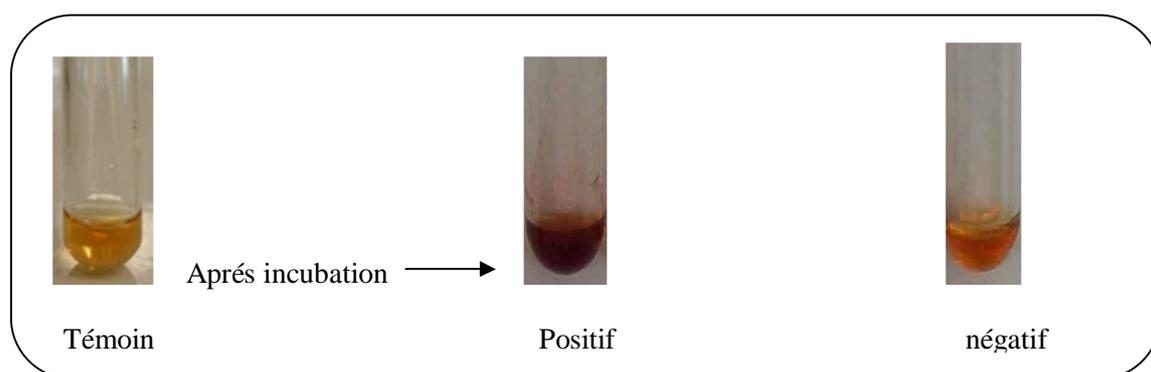


Figure 17: Aspect du test TDA (Denis et al .,2012)

Le tableau II résume les caractères biochimiques différentiels des entérobactéries entéro-pathogènes et les entérobactéries de la flore digestive.

Tableau II : Caractère biochimiques des entérobactéries

Espèce	Glucose	Lactose/ saccharose	H ₂ S	Gaz	ONPG	Uréase	Indole	TDA
<i>E.coli</i>	+	+	-	+	+	-	+	-
<i>Salmonella</i>	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>Shigella</i>	+	-	-	-	+ /-	-	+/-	-
<i>Proteus</i>	+	-	+ /-	+ /-	-	+ /-	+ /-	+
<i>Citrobacter</i>	+	-	+/-	+	+	-	-	-
<i>Edwardseilla</i>	+	-	+	-	-	-	+	-

f- Identification antigénique :

Pour toute identification biochimique positive une identification antigénique est nécessaire.

Principe : En présence d'un antigène et l'anticorps correspondant dans des concentrations idéales, il se forme des complexes Ag/Ac, c'est-à-dire des liaisons entre les immunoglobulines et les molécules antigéniques de façon à former un réseau.

Technique : Sur une plaque en verre pour agglutination , nettoyée préalablement à l'alcool 60°, déposer une goutte d'eau physiologique avec un peu de colonies , émulsionner .si l'agglutination est négative alors la souche n'est pas auto-agglutinable. Le sérotypage peut se poursuivre.

-Déposer une goutte de sérum à tester, à l'aide d'une anse de platine prélevé un peu de colonie, l'émulsionner de façon à obtenir un trouble homogène dans la goutte.

-Agiter la plaque par mouvements lents et circulatoires pendant 30 secondes à 1 minute et observer.

Lecture :(fig. 18)

- Apparition d'agglutinats fins et granulaires ; agglutination positive
- Trouble laiteux : agglutination négative

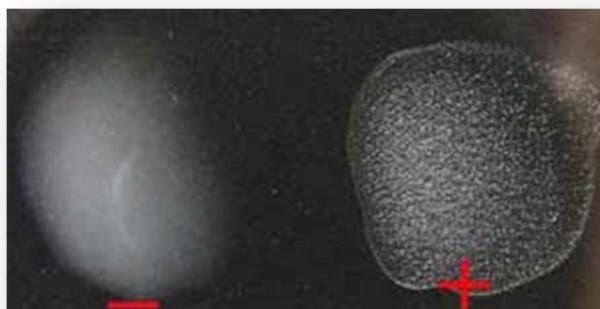


Figure 18: Agglutination sur lame

Les techniques de sérotypage diffèrent en fonction de la bactérie à sérotyper.

- **Sérotypage d'*E.coli* enteropathogène**

Dans les selles des enfants âgés de 0 à 2ans, les *E.coli* isolées ne pouvaient être enteropathogènes que si elles appartenaient à l'un des 12 sérotypes responsables de diarrhée chez cette catégorie d'enfants, d'où l'utilité de sérotyper les *E.coli* isolées des selles. Nous disposons d'un sérum nonavalent (9 sérotypes) et un trivalents IV (3 sérotypes).le sérotypage se fait selon la méthode suivante :

- Si les testes d'agglutination avec les sérums nonavalents et trivalents IV sont négatifs, nous concluons que la souche d'*E.coli* est non entéro-pathogène.
- Si l'agglutination avec le sérum nonavalent est positive, nous testons alors les sérums trivalents I, II, III puis les sérums monovalents correspondant au trivalents ayant donné une agglutination positive et nous donnons le sérotype d'*E.coli*.

-Le schéma suivant représente la technique de sérotypage des souches d'*E.coli* :

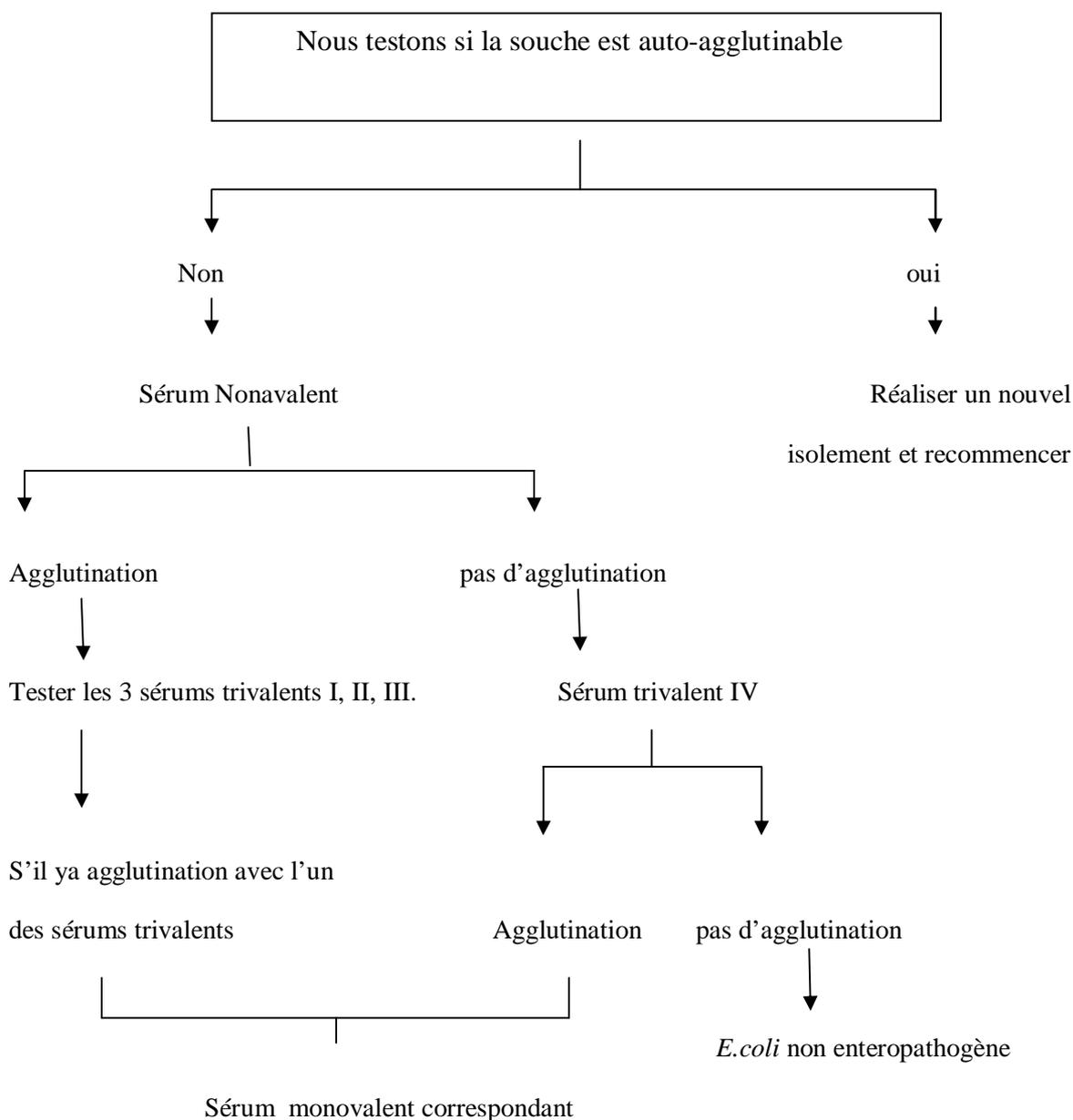


Figure 19 : Schéma des étapes à suivre lors du sérotypage d'*Escherichia coli*

- **Sérotypage de *Salmonella***

Il est basé sur le schéma de Kauffmann-White qui permet une classification des sérotypes selon leurs formules antigéniques, déterminée grâce à l'antigène O et l'antigène H. (Annexe 4)

Le sérotypage se fait comme suit :

- Tester les antisérums O, mélanges OMA et OMB, pour déterminer les antigènes O majeurs :
 - Si l'agglutination dans OMA, tester alors les antisérums mono ou divalents et conclure que la souche appartient à l'un des groupes O : 2(A), O : 4(B), O : 9(D), O : 3(E), O : 21(L).
 - Si l'absence d'agglutination dans OMA, tester OMB, si l'agglutination est positive, tester les antisérums mono ou divalents et conclure que la souche appartient à l'un des groupes O : 8(C), O : 11(F), O : 13(G), O : 6,14(H).

Tester les antisérums H adaptés au groupe déterminé précédemment pour déterminer les antigènes H de la souche en mettant en suspension des bactéries obtenues à partir d'une culture pure de TSI ou sur gélose nutritive inclinée dans une goutte de sérum (nous prélevons de l'eau de condensation se trouvant dans le tube). L'agglutination est plus rapide que pour les facteurs « O », elle est floconneuse et facilement dissociable par agitation du fait de la rupture des flagelles.

Le schéma ci-après illustre les étapes de l'agglutination des souches de *Salmonella*. (fig. 20).

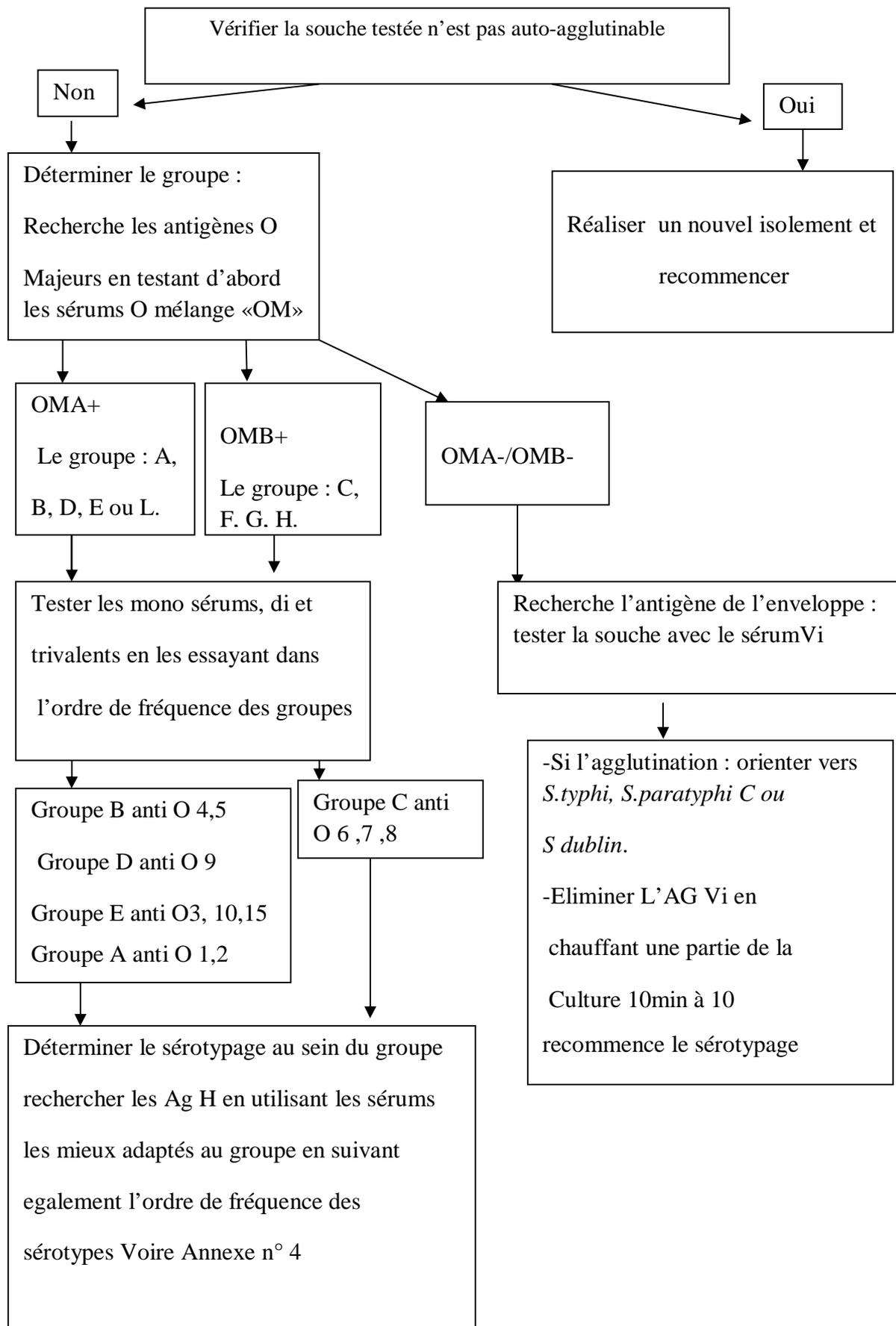


Figure 20 : Schéma récapitulant la technique de sérotypage des *Salmonelles*

- **Sérotypage de *Shigella***

Afin de déterminer avec précision le sérotypage, l'agglutination se fait avec le sérum monovalent de *Shigella sonnei*, le sérum polyvalent de *S.flexneri*, les trois polyvalents C1, C2 et C3 de *S. boydii*, et enfin les polyvalents A1 et A2 de *S. dysenteriae* (fig. 21)

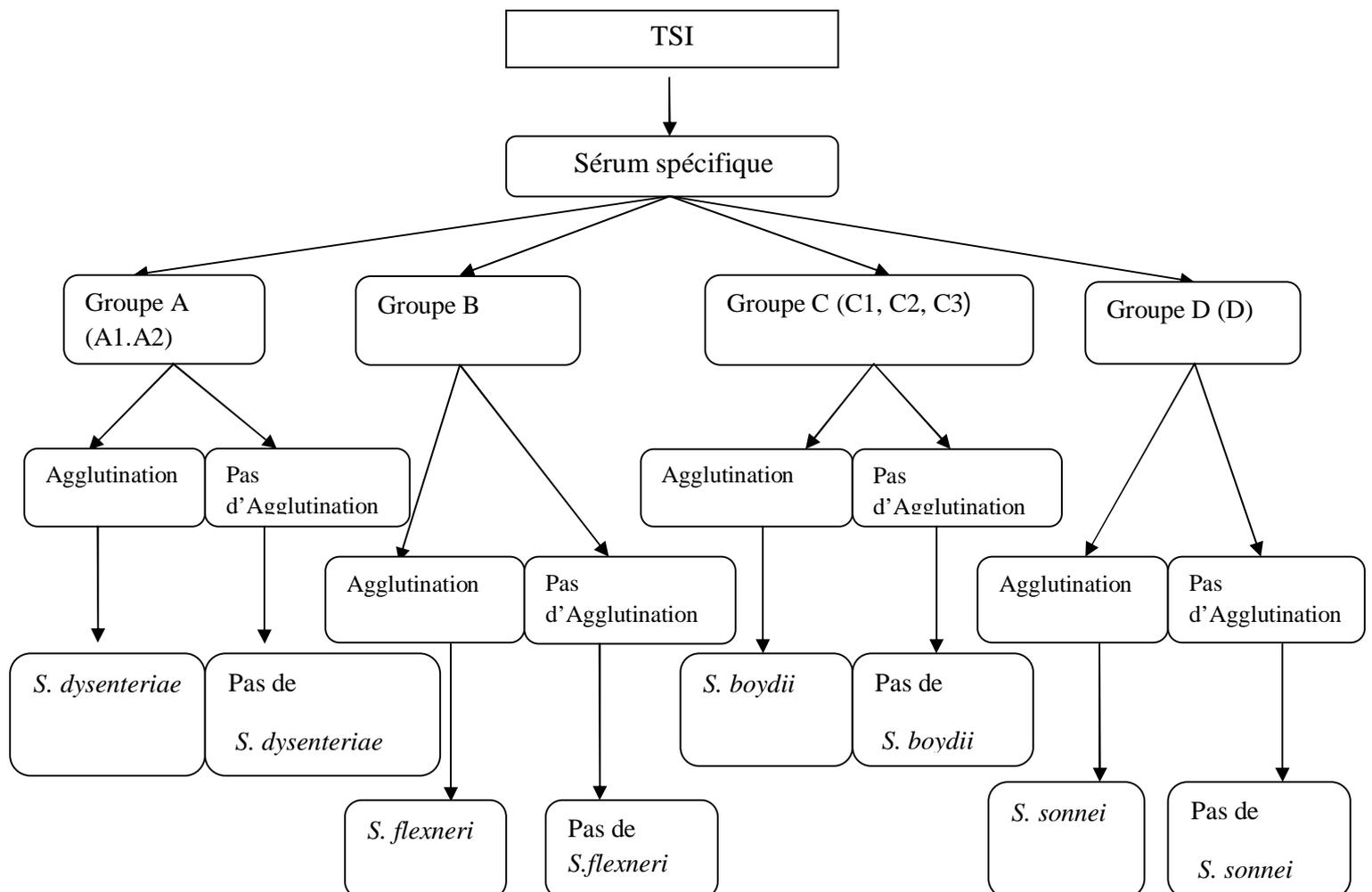


Figure 21 : Schéma d'identification antigénique de *Shigella*

g- Antibiogramme

Pour toute identification biochimique et ou antigénique positive un antibiogramme est réalisé selon les recommandations du CLSI.

Principe : Il consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci et ainsi de déterminer l'activité in vitro de ces antibiotiques présumés actifs sur la bactérie. Donc la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique.

Technique :

- A partir une culture bactérienne pure de 18 heures, prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile, quelques colonies.
 - La pipette est déchargée dans 5 à 10 ml d'eau physiologique. Homogénéiser la suspension
 - A l'aide d'un densitomètre, vérifier que l'opacité de la suspension bactérienne est de 0.5 sur l'échelle de Mac Farland
 - Tremper un écouvillon dans la suspension puis l'essorer sur la paroi du tube
 - Ensemencer la totalité de la gélose Muller-Hinton en stries serrées. Répéter cette opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, finir l'ensemencement en pressant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose
 - Appliquer les disques d'antibiotiques à l'aide d'un applicateur antibiotique. Le disque d'Amoxicilline + Acide clavulanique doit être distant 25mm d'une Céphalosporine de troisième génération comme le Céfotaxime afin de mettre en évidence une β -lactamase à spectre élargi.
- C'est le test de synergie qui peut mettre en évidence la présence d'une β -lactamase à spectre élargi surtout pour le groupe 0 et 1 des entérobactéries selon leurs profils antibiotiques sauvages vis-à-vis des β -lactamines.
- Presser à l'aide d'une pince chaque disque pour s'assurer de son application
 - Incuber à 37°C pendant 24heures.

Lecture :(fig. 22)

Elle se fait par la mesure de diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. Nous lisons l'antibiogramme de la souche pathogène et classer la bactérie dans l'une des catégories, sensible, intermédiaire ou résistante aux antibiotiques testés.



Figure 22: Antibiogramme d'une souche de *Salmonella mineur* (photo originale)

Chapitre III: Résultats et discussions

III- Résultats et discussions :

Le laboratoire de Boufarik au niveau du quel nous avons effectué notre stage pratique est considéré comme étant le centre fondamental de l'hôpital. Ce dernier s'intéresse également à la réalisation des examens de contrôle microbiologique et s'intéresse également aux enquêtes d'épidémies déclarées.

L'analyse des résultats obtenus au cours de notre travail permet de donner un aperçu sur les agents infectieux et leurs profils antibiotiques mais aussi les caractéristiques épidémiologiques et cliniques des diarrhées aiguës chez les enfants et l'adulte.

L'examen de coproculture des selles des **374** individus, dont nous constatons la présence de certaines espèces bactériennes et les différents résultats obtenus sont présentés comme suit :

III-1 Etude générale :

III-1-1 Répartition des prélèvements selon le sexe :

La classification des prélèvements de selle reçus au laboratoire en fonction du sexe est donnée dans la figure 23.

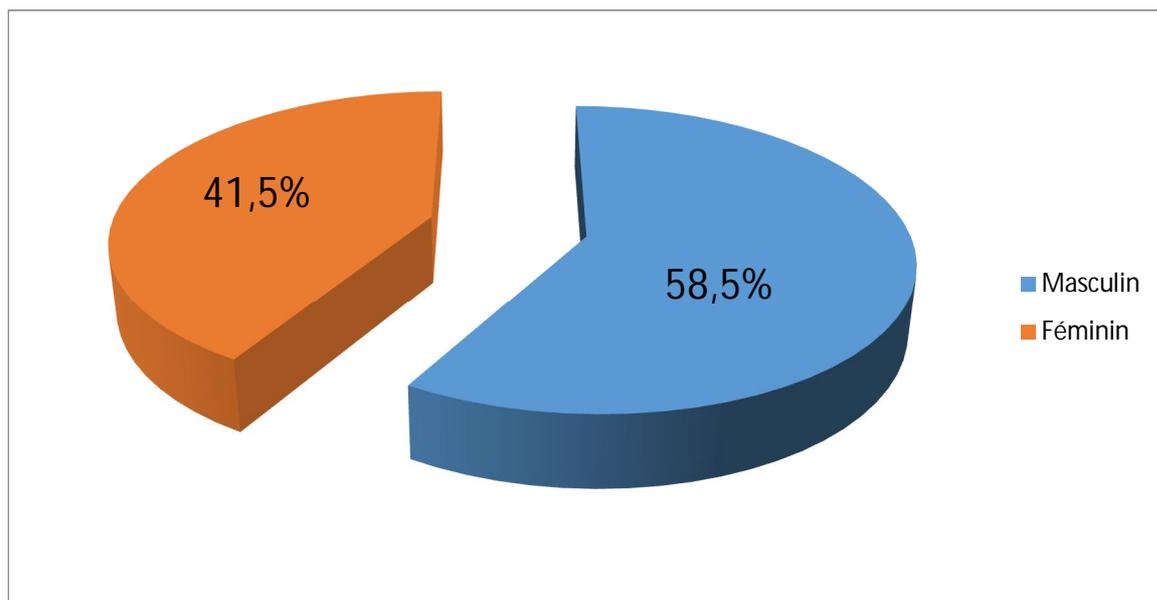


Figure 23 : Distribution des prélèvements par sexe

La répartition des prélèvements selon le sexe montre une prédominance du sexe masculin avec un pourcentage 58.50%, sur le sexe féminin avec un pourcentage 41.50%,

La prédominance de sexe masculin s'explique notamment par :

- Mauvaise pratique d'hygiène et de fabrication des aliments à cause du manque de l'information et de formation. Ainsi ces aliments sont responsables de certains troubles digestifs chez les consommateurs d'aliment de rue, dont la majorité est consultées par les jeunes de 21 à 30 ans et de sexe masculin (Kouassi Bernard, 2008).

III-1-2 Répartition des prélèvements selon l'âge

L'âge a été mentionné chez 374 patients et est rapporté dans la figure 24.

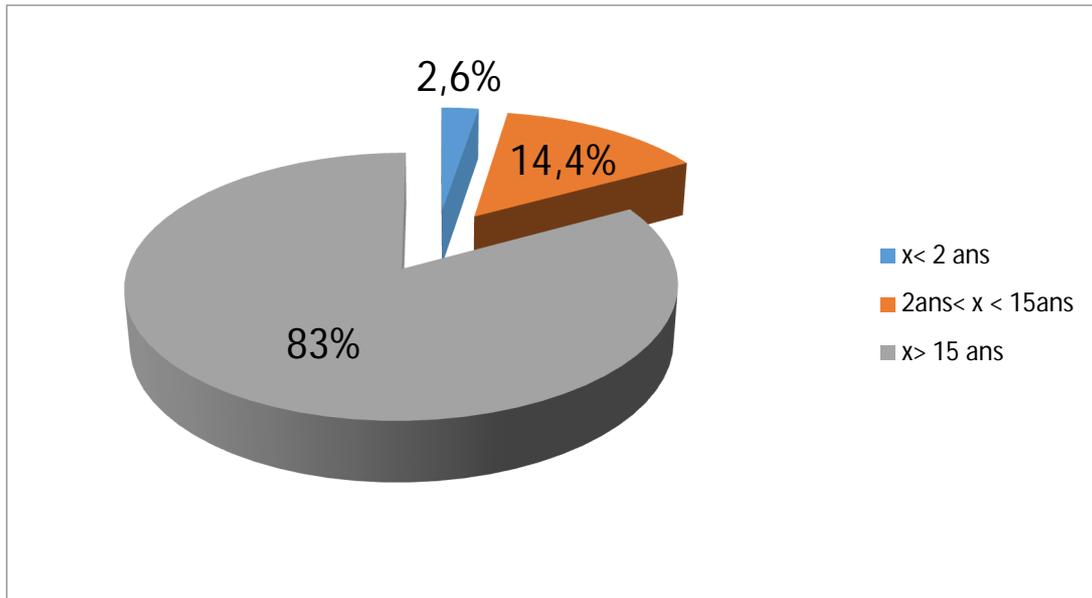


Figure 24 : Répartition des prélèvements selon l'âge

Les prélèvements des selles reçus des individus âgés plus de 15 ans présentent les cas les plus élevés avec 83% ce qui est dû principalement aux toxi-infections alimentaires collectives (restaurant, place publique, fast food) (**Kouassi Bernard, 2008**).

Les bactéries étant transmises généralement à l'homme par l'ingestion d'aliments et ou d'eau contaminés par les micro-organismes. Alors qu'une mauvaise hygiène de vie, notamment un mauvais lavage des mains, peut expliquer la survenue de 14,4% de diarrhée aiguë chez les enfants âgés de 2 à 15 ans.

Enfin, une faible incidence soit 2,6% chez les enfants de moins de 2 ans grâce à l'allaitement maternel protégerait les nourrissons contre les infections pendant les premières années de vie.

III-1-3 Répartition des prélèvements selon les services

La répartition des prélèvements en fonction du service est donnée dans la figure 25.

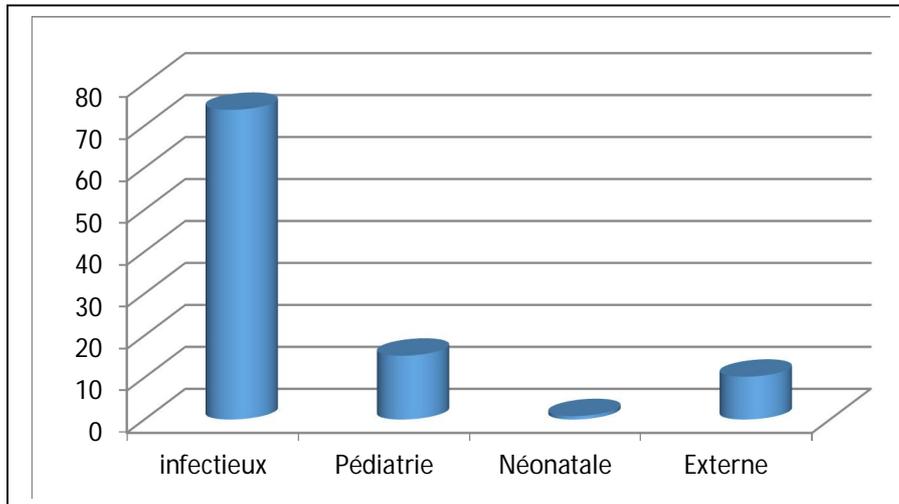


Figure 25 : Répartition des prélèvements selon les services

D'après ces données, nous remarquons que la majorité des prélèvements des selles reçus au niveau de laboratoire de Boufarik proviennent du service d'infectieux (73.8%), Par la suite nous avons ceux du service pédiatrie (15.2%), suivie de patients externes (10.2%) et en fin les échantillons reçus du service Néonatale (0.8%). La différence entre les deux services (externe, infectieux) peut s'expliquer par le fait que les gastroentérites bactériennes sont des infections qui peuvent nécessiter l'hospitalisation.

III-1-4 Répartition des cas selon les signes cliniques

La répartition des signes cliniques est donnée dans la figure 26. Les patients sont arrivés avec une fiche de renseignement complète. (Voire Annexe 1)

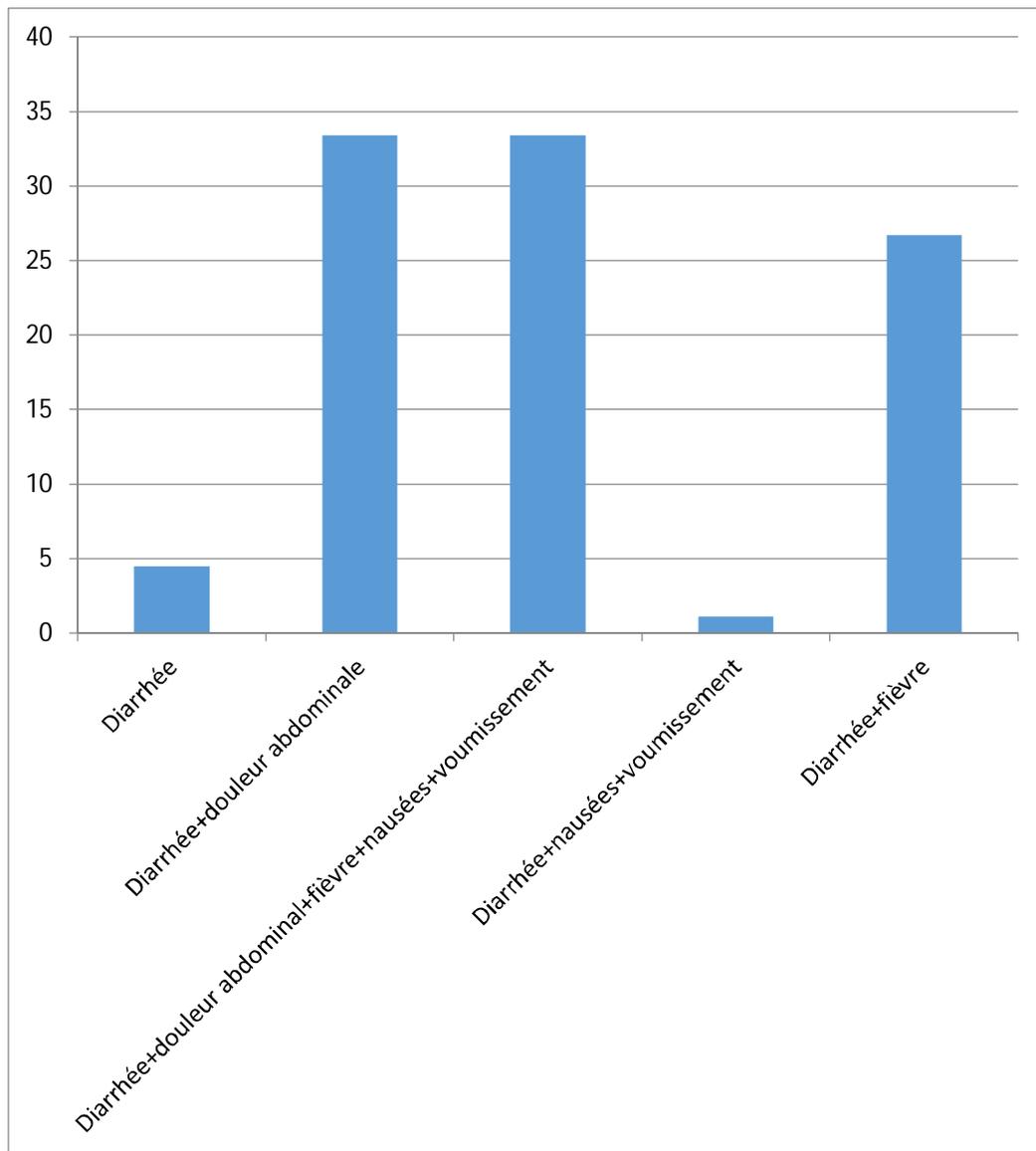


Figure 26 : Répartition des prélèvements selon les signes cliniques

Parmi les 374 patients, 125 individus soit 33.4% avaient une diarrhée accompagnée de douleurs abdominales, de fièvre et de nausées+vomissements. Alors que 100 individus n'ont présenté que des diarrhée+ fièvre ce qui représente un taux de 26.7%. Nous pouvons en déduire que la gastro-entérite aigue se manifeste par une diarrhée qui est accompagnée dans la plupart des cas par des douleurs abdominales mais aussi par la fièvre et des nausées/vomissements.

III-1-5 Répartition des cas selon l'aspect des selles

Au cours de notre étude, l'aspect macroscopique des selles a été noté pour les 374 prélèvements, la figure 27 représente l'aspect des selles reçus au laboratoire.

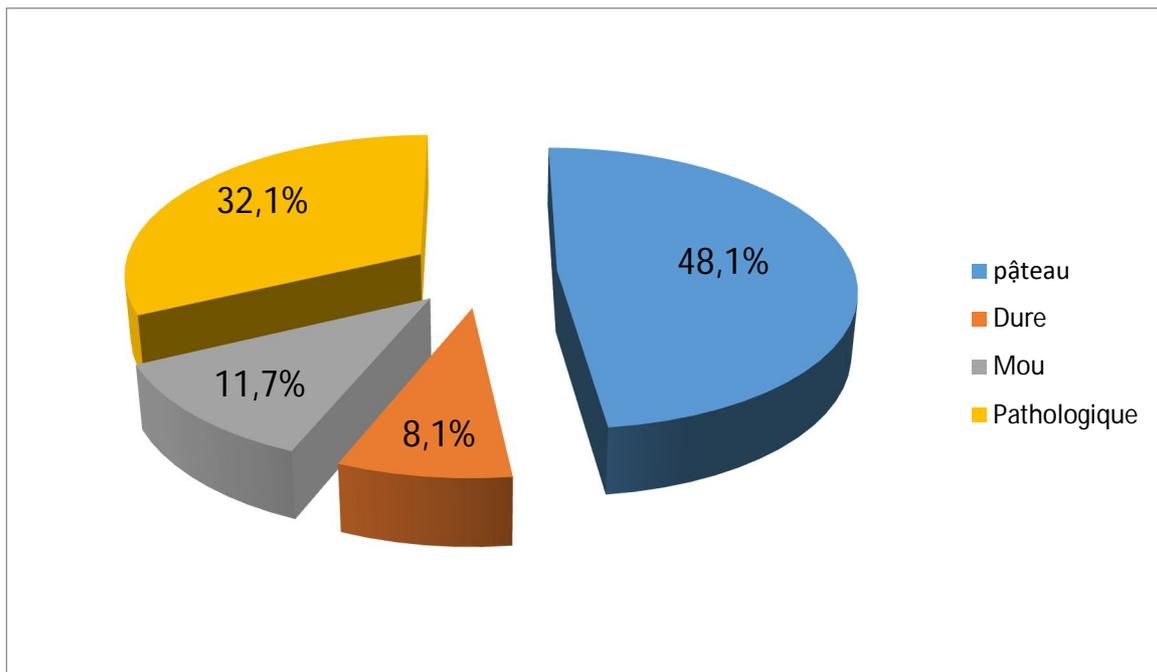


Figure 27 : Répartition des prélèvements selon aspect des selles

La fréquence des gastro-entérites selon l'aspect des selles indiquée par cette figure montre que la majorité des cas présente des selles pâteuses (48.1%) suivi par l'aspect glaireux, fécales et sanglantes (pathologiques) (32.1%) puis l'aspect Mou (11.7 %) et en dernier lieu les selles dures (8.1%).

Selon la littérature, l'aspect des selles est un élément de diagnostic vers une infection à diarrhée invasive ou bactérie toxigène. Ainsi, la diarrhée sécrétoire est essentiellement aqueuse alors que la diarrhée dysentérique se manifeste par des matières fécales contenant du pus, du sang et du mucus. (Dupont, 2010)

Nous remarquons que l'aspect de la majorité des selles reçus n'est pas pathologique, mais dont le nombre dépasse les trois selles par jour.

III-1-6 Répartition des prélèvements selon les germes pathogènes

La répartition des cas positifs en fonction des bactéries en cause est donnée dans la figure 28.

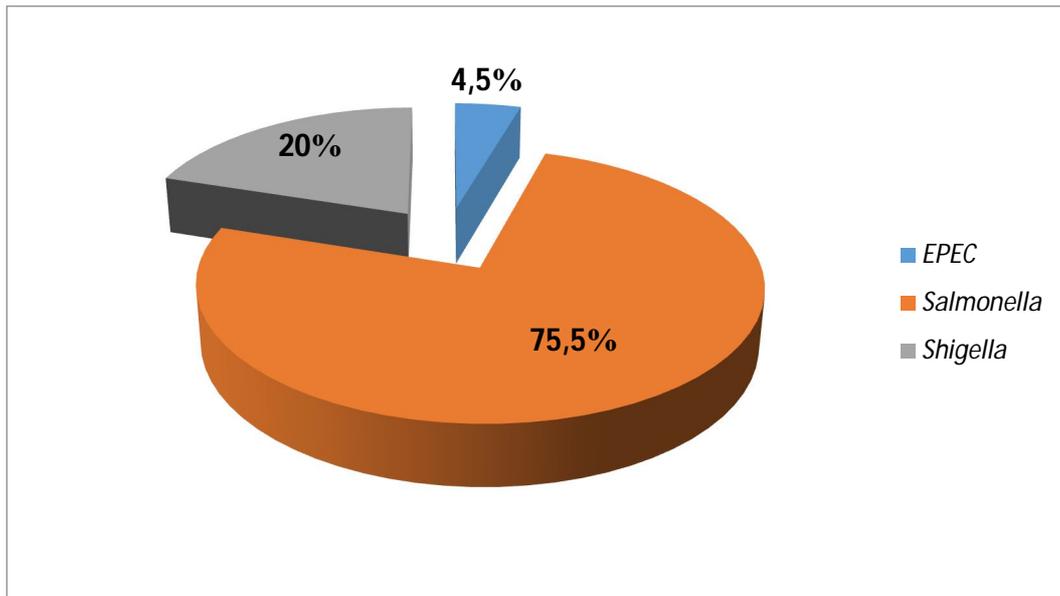


Figure 28 : Distribution des bactéries responsables des gastroentérites

Ces résultats permettent de relever un taux élevé de Salmonelle soit 75.5% des résultats positifs. Les Shigelles ont été isolées dans 20% des cas et *Escherichia coli* entéropathogènes dans 4.5% des cas seulement. Alors que dans une étude rétrospective réalisée du 1^{er} Janvier 1996 au 31 Décembre 2005, 57.7% d'*E.coli* entéropathogène, 20% de Salmonelles et 18.5% de Shigelles ont été identifiées comme les bactéries les plus fréquemment en cause des diarrhées aiguës dans le même hôpital.

III-1-7 Antibiothérapie

La répartition des prélèvements en fonction d'antibiothérapie préalable est donnée dans la figure 29.

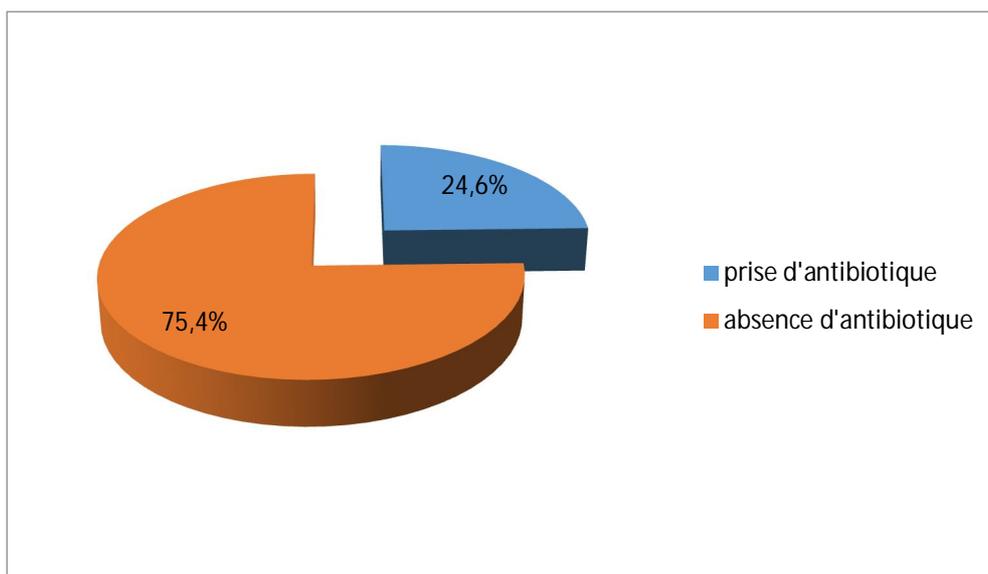


Figure 29 : Répartition des prélèvements selon l'antibiothérapie

Les résultats ci-dessus indiquent que 24.6% d'individus sous traitement d'antibiotique, alors que la prise d'antibiotique avant l'analyse bactériologique des selles peut négativer les résultats de la coproculture.

III-2 Etude des cas positif par apport à des cas négatif

III-2-1 Pourcentage des cas positif des selles

Les résultats des 374 prélèvements de selle effectués durant notre travail sont donnés dans la figure 30.

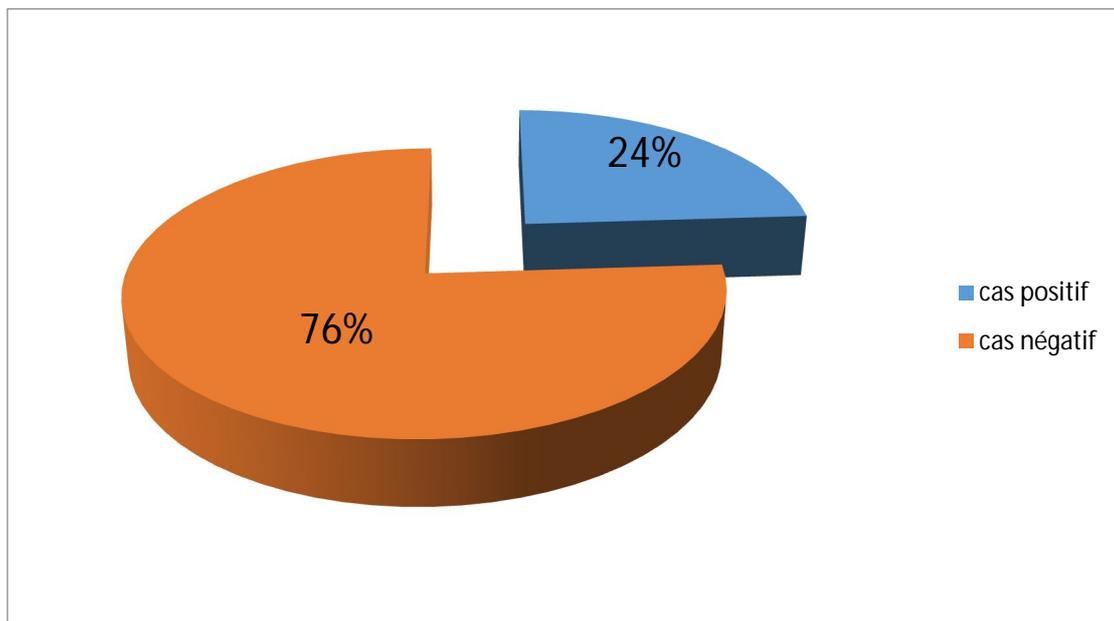


Figure 30 : Distribution des cas positif et négatif

La fréquence des cas positifs obtenus des examens de coproculture est inférieure au cas négatifs, dont ce dernier représente 24 % de l'ensemble des selles étudiées.

Alors que dans une étude réalisée à Liberville, au Gabon 12.9% seulement de cas positifs ont été notés parmi les 3770 examens réalisés (**Koko et al., 2013**).

Les cas positifs sont présentés avec un faible taux (24%), ceci peut être dû aux raisons suivantes :

* Souvent, les coprocultures sont réalisées plus tard

* De nombreuses diarrhées ont une origine virale, ce qui explique la négativité de certaines cultures bactériennes.

III-2-2 Répartition des cas positif selon l'âge

Parmi les 374 patients 90 ont eu une infection digestive d'origine bactérienne. Leur répartition en fonction de l'âge est donnée dans la figure 31.

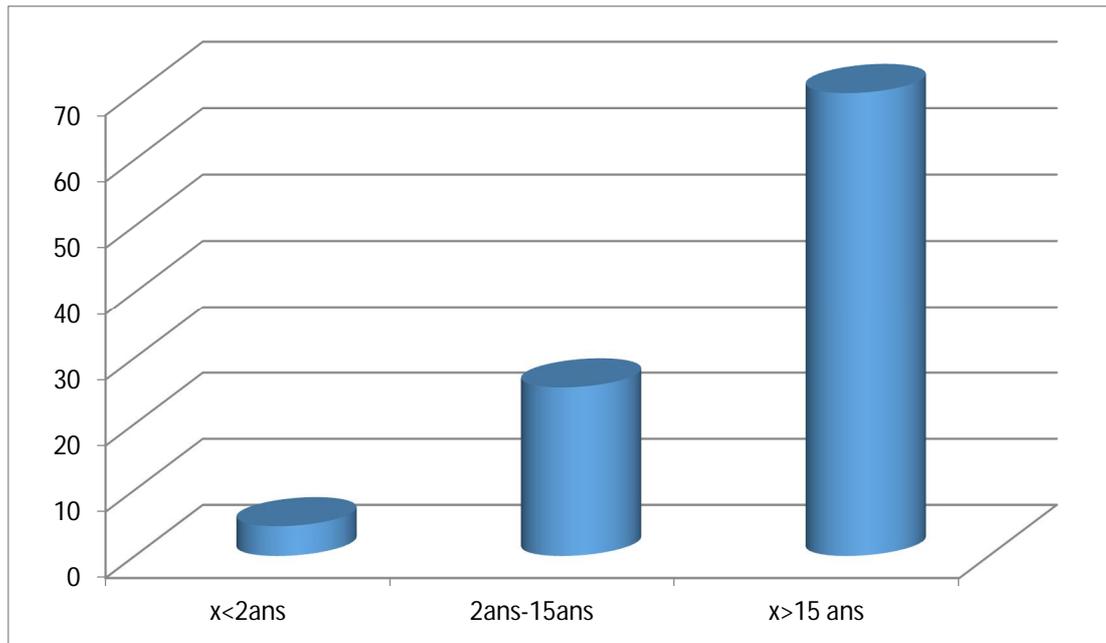


Figure 31 : Distribution des cas positif en fonction d'âge

Les prélèvements sont classés par tranches d'âges, les résultats obtenus ont montrés un taux d'infection très élevé avec 70% chez les individus dont l'âge est supérieure à 15 ans puis chez les enfants (2ans à 15ans) avec un taux d'infection de 25.5% en effet les nourrissons représentent la tranche le moins infectée avec un pourcentage de 4.5%. Ce dernier est relativement faible que celle apporté par **Louche (1991)** qui était de 34.3%, ce faible taux d'infection chez les nourrissons s'explique par leur régime alimentaire qui composé seulement du lait de mère. Une étude effectuée par **Touhami et al** (de Septembre 1990-Mars 1992) au CHU d'Oran a montrée que chez les nouveaux née les estimations de cas de diarrhée était de 3.7%, sous allaitement maternel exclusif, de 9.1% sous allaitement mixte et de 11.6% sous allaitement artificiel.

III-2-3 Répartition des cas positif selon le sexe

La répartition des cas positif obtenus au cours de notre travail en fonction du sexe est donnée dans la figure 32.

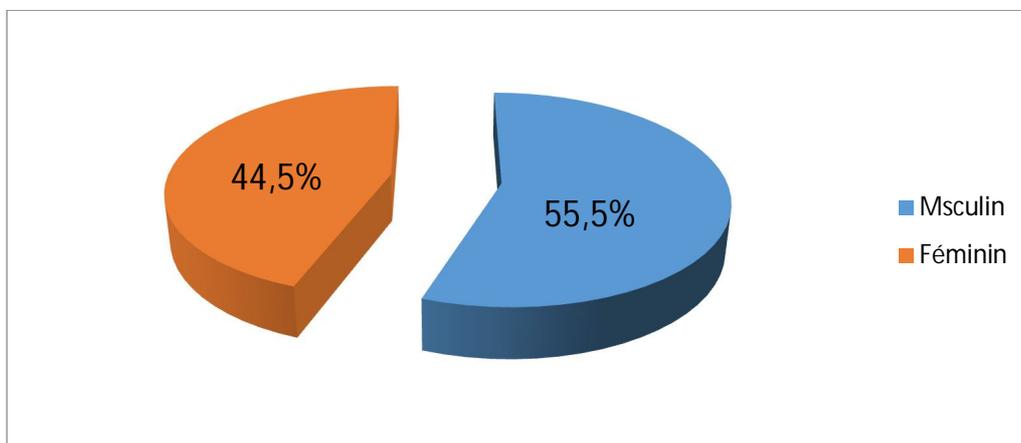


Figure 32 : Distribution des cas positif en fonction de sexe

Il en ressort des données ci-dessus une faible prédominance du sexe féminin aux infections digestives avec un sexe ratio de 1.4. Et selon les données de l'Enquête Démographique et de Santé au Cameroun de 2004, la prévalence diarrhéique varie, dans une moindre mesure, en fonction du sexe : les hommes étaient proportionnellement plus touchés 17% que les femmes 15% (Ngwe et Banza-Nsungu, 2007). Ce la est peut être du à la prédominance des hommes dans la population consultante.

III-2-4 Répartition des cas positif selon les services

La Répartition des cas positif en fonction du service est donnée dans la figure 33.

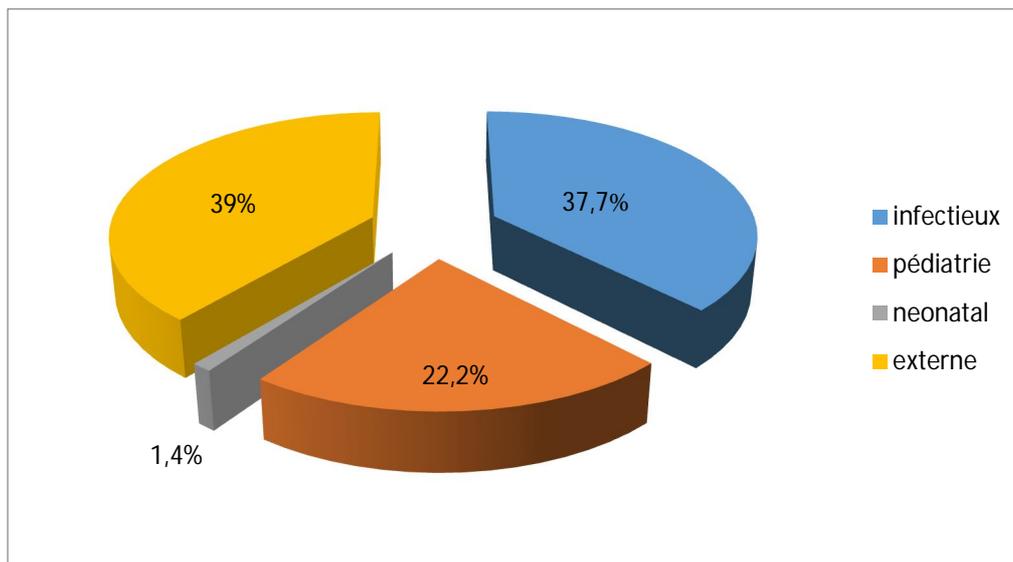


Figure 33 : Distribution des cas positif selon les services

Les données ci-dessus permettent de relever que parmi les 374 patients étudiés, 35 (39%) venaient de consultation externe et 34 (37.7%) était hospitalisés dans le service d'infectieux.

Alors que les patients présentant une diarrhée aigue sans signe de gravité, ne sont pas hospitalisés car celle –ci est une infection bénigne, fréquente et qui évolue, dans la plupart des cas, vers une guérison spontanée.

III-2-5 Répartition des bactéries en fonction du service

La Répartition des bactéries en fonction des cas positif est donnée dans la figure 34.

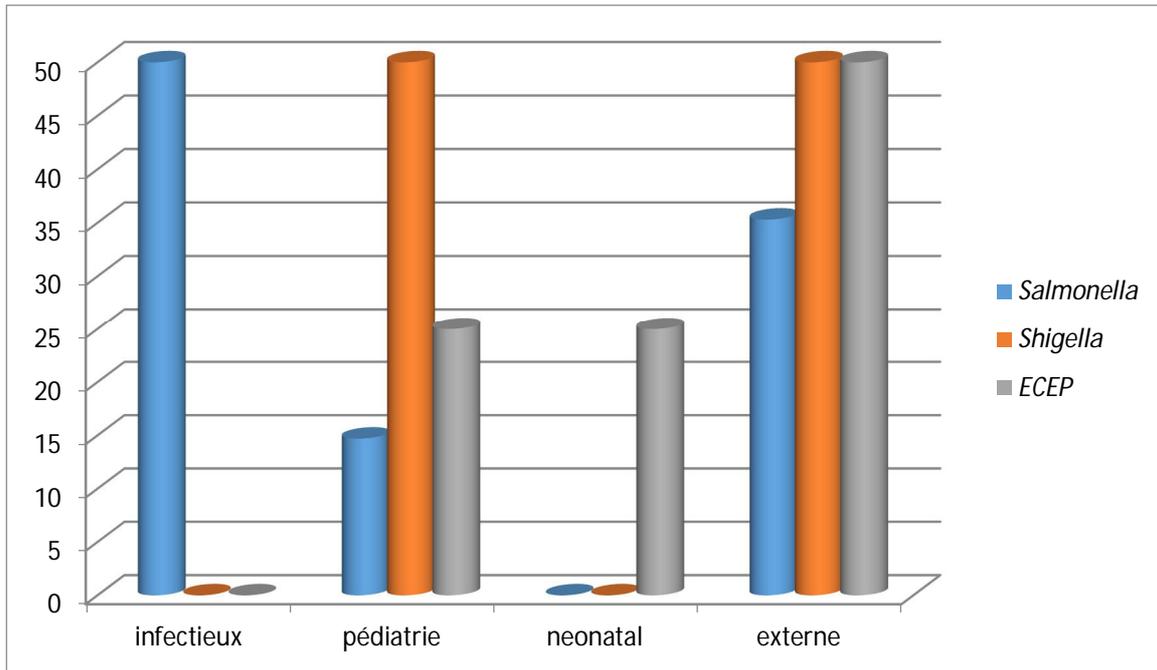


Figure 34 : Répartition des bactéries en fonction du service

Le taux des bactéries isolées au cours de cette étude est variable selon les services :

-Le service d'infectieux représente 50% de Salmonelle, alors que 50% de Shigelle, 25% d'*E.coli* et 14.7% de Salmonelle provenaient du service pédiatrie. Ainsi le pourcentage de *Shigella* et d'*E.coli* entéropathogène est de 50% et 35.3% de *Salmonella* représenter dans une consultation externe. Et en dernier lieu nous constatons une seule espèce bactérienne d'*E.coli* avec 25% au niveau du service néonatale.

Nous concluons que la majorité des bactéries isolées à partir des selles des patients provenaient d'externe avec un pourcentage de 50% d'*E.coli* entéropathogène, de 50% Shigelle et 35.3% de Salmonelle. Cette dernière est la plus fréquente dans la majorité des services.

III-2-6 Répartition des bactéries identifiées selon l'âge

La répartition des bactéries en fonction de l'âge est donnée dans la figure 35.

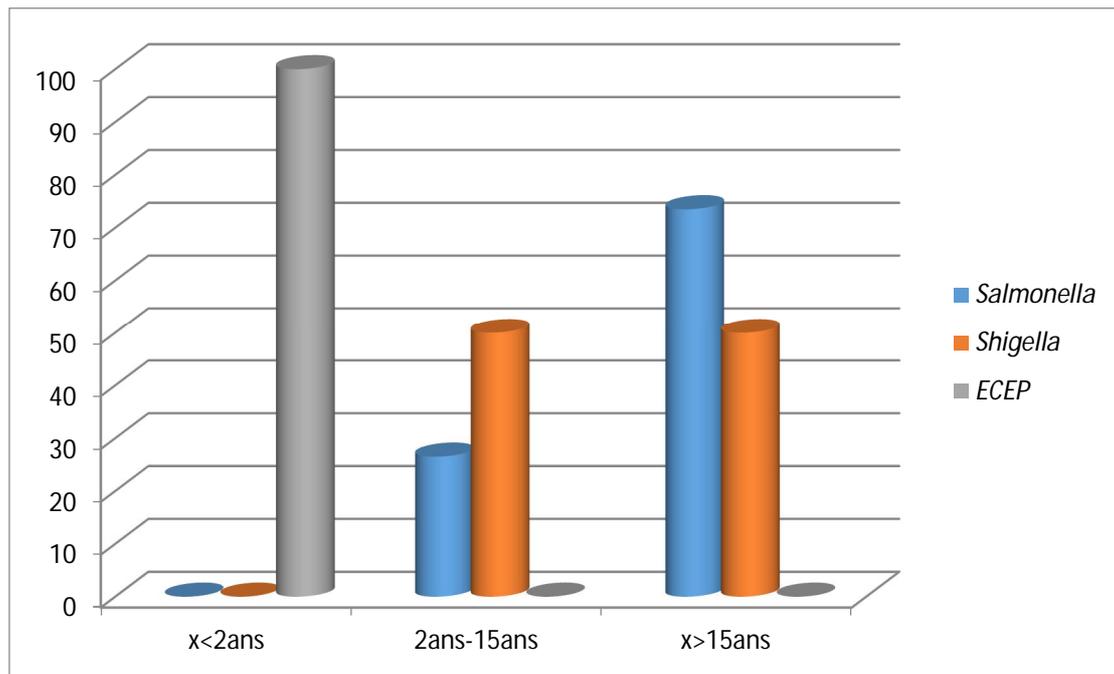


Figure 35 : Répartition des bactéries en fonction de l'âge

Ces résultats permettent de relever un taux élevé de Salmonelle chez les individus âgés de plus de 15ans avec 73.5%, les résultats qui ont été obtenus durant notre étude diffèrent de ceux obtenus lors de l'étude réalisée sur les gastro-entérites aiguës chez les enfants de moins de 15 ans, à Valence, en Espagne, *Salmonella* a été retrouvée chez les enfants dans la moyenne d'âge est de 3.6ans. (Mufioz Vicente et al., 2008).

Les *Shigella* ont été isolées, au cours de notre étude, dans les 50% des cas chez les enfants de 2 à 15 ans. Il en est de même dans une étude réalisée au Brésil (Diniz-Santos et al., 2005)

Nos résultats peuvent s'expliquer par le manque des règles d'hygiène à savoir le lavage des mains car la transmission des Shigelles est interhumaine.

Les quatre cas de EPEC isolés au cours de notre travail ont été retrouvés chez des nourrissons âgés de 1 à 24 mois .dans l'étude réalisée sur l'épidémiologie des diarrhées aiguës bactériennes de l'enfant à Libreville, au Gabon, les EPEC ont été isolés avec un taux de 76.3% chez les 0 à 6 mois et 62.2% chez les 7 à 12mois.(Koko et al.,2013) .

Ces résultats sont en rapport avec le fait que les EPEC restent un pathogène fréquent chez les enfants de moins de 2 ans dans les pays en voie de développement.

III-2-7 Répartition des espèces et sérotypes responsables de diarrhée

La répartition des bactéries fonction des espèces et sérotypes est donnée dans la figure 36.

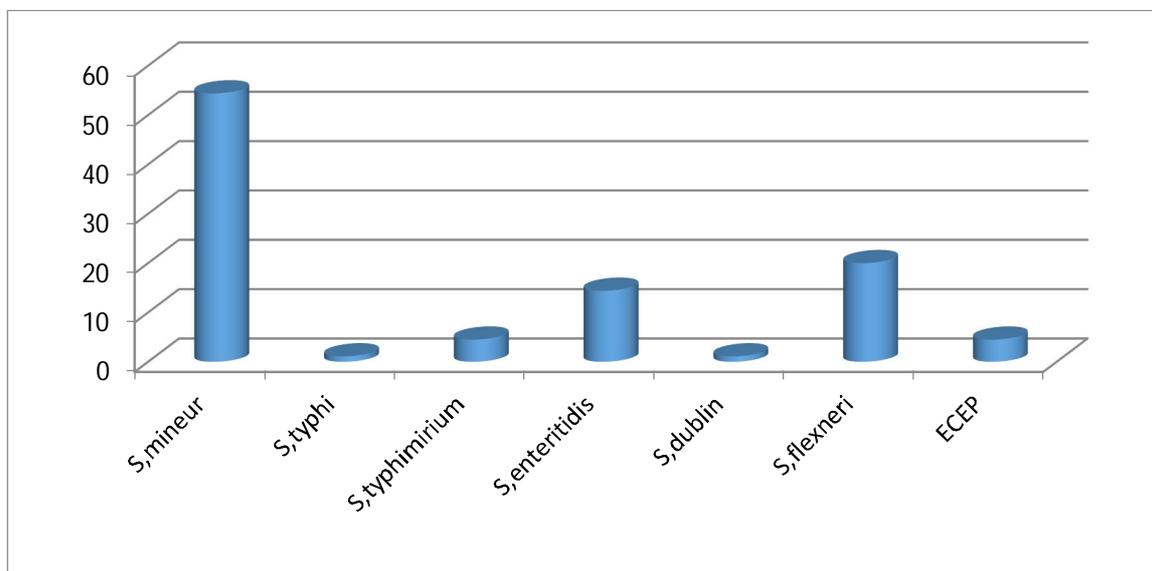


Figure 36: Répartition des espèces et sérotypes responsables de diarrhée

Parmi les 90 souches isolées à partir des selles, les sérotypes de Salmonelles observés sont : *Salmonella mineur* dans 49 cas soit 54.4%, *Salmonella enteritidis* dans 13 cas soit 14.4%, *Salmonella typhimurium* dans 4 cas soit 4.5%, un seul cas de *Salmonella dublin* et de *Salmonella typhi* avec un pourcentage de 1.1%.

Les résultats qui ont été obtenus durant notre étude concordent avec ceux obtenus lors de l'étude réalisée au Gabon où 57.4% de *Salmonella mineur* et de 2% de *Salmonella arizonae* ont été isolées, et de 40.8% de salmonelles n'ont pu être sérotypées. (Koko et al., 2013).

Au cours de notre étude, *Shigella* a été isolée dans 18 cas soit 20%, elles sont à 100% des *Shigella flexneri* presque les mêmes résultats obtenus par Koko et ses collaborateurs qui ont isolé majoritairement des *Shigella flexneri* avec un taux de 57.8% et 14.4% de *Shigella sonnei*. (Koko et al., 2013). Les *Shigella flexneri* sont fréquentes dans les pays en voie de développement,



Figure 37 : Aspect de *Salmonella typhi* sur Hektoen (Photo originale)

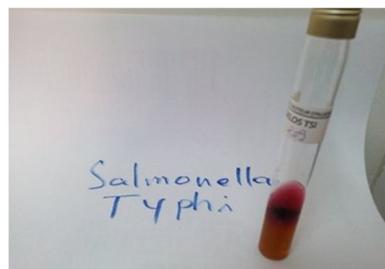


Figure 38: Aspect de *Salmonella typhi* sur TSI (Photo originale)

III-3 Résistance des bactéries aux antibiotiques

III-3-1 Résistance d'*Escherichia coli* entéropathogène aux antibiotiques

L'étude du profil de la résistance a été faite pour les souches identifiées dont les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.

Tableau III : Résistance d'*Escherichia coli* entéropathogène aux antibiotiques

Antibiotique	Nombre de résistance	Pourcentage %
AMP	4	100
AMC	2	50
CZ	1	25
CTX	2	50
IMP	0	0
GM	1	25
AN	0	0
CS	1	25
C	2	50
AK	0	0
CIP	0	0
COT	3	75

Ces résultats permettent de relever une résistance de 100% à l'Ampicilline, 75% à Cotrimoxazole, de 50% à Amoxicilline et à Céfotaxime, 25% à Céfazoline, Gentamicine et à Colistine.

les mêmes résultats obtenus par **Koko et al., (2013)** qui a retrouvé de nombreuses résistances aux antibiotiques à savoir 82.3% et 67.4% à Amoxicilline et Cotrimoxazole.

Dans notre étude nous avons trouvés une seule souche d'*Escherichia coli* entéropathogène résistante au Céfotaxime par la mise en évidence d'une β - lactamase à spectre élargi.

III-3-1 Résistance de *Shigella* aux antibiotiques

L'étude du profil de la résistance a été faite pour les souches identifiées dont les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Résistance de *Shigella* aux antibiotiques

Antibiotique	Nombre de résistance	Pourcentage %
AMP	2	11.1
AMC	1	5.55
CZ	1	5.55
CTX	1	5.55
IMP	0	0
GM	1	5.55
AN	0	0
CS	0	0
C	1	5.55
AK	0	0
CIP	0	0
COT	1	5.55

Ces résultats permettent de relever une résistance de 11.1% à l'Ampicilline et de 5.55% à Amoxicilline et à Céfotaxime, Chloramphénicol et Cotrimoxazole. Alors que les Shigelles isolées chez les enfants de Libreville étaient résistantes à l'Ampicilline et au Cotrimoxazole avec respectivement 56% et 45%.(Koko et al., 2013).

III-3-1 Résistance de *Salmonella* aux antibiotiques

L'étude du profil de la résistance a été faite pour les souches identifiées dont les résultats obtenus sont représentés dans le tableau IIV.

Tableau IIV : Résistance de *Salmonella* aux antibiotiques

Antibiotique	Nombre de résistance	Pourcentage %
AMP	11	16.1
AMC	5	7.3
CZ	0	0
CTX	0	0
IMP	0	0
GM	0	0
AN	0	0
CS	3	4.4
C	9	13.2
AK	0	0
CIP	3	4.4
COT	2	2.9

Ces résultats permettent de relever une résistance de 16.1% à l'Ampicilline, de 7.3% à

Amoxicilline, de 13.2% à Chloramphénicol, de 4.4% à Ciprofloxacine et Colistine et 2.9% à Cotrimoxazole. Contrairement à notre étude, les *Salmonella* isolées dans l'étude de **Weill** en **2008** étaient multi résistantes et ne pouvaient donc être traitées. Son étude portait sur la prévalence des gènes de résistances de 700 souches de *Salmonella*. (**Weill et al., 2008**)

En effet, nous avons isolés une seule souche de *Salmonella typhi* qui est sensible à l'ensemble des antibiotiques des entérobactéries ceci concorde avec les résultats obtenues au Sénégal, (2004). Contrairement aux études effectuées au Kenya et au Ghana, des souches de *S. typhi* multirésistantes à l'Ampicilline, au Chloramphénicol, aux Tétracyclines, à la Streptomycine et au Cotrimoxazol. Ont été récemment décrites. (**Mills-Robrtson, 2002 ;Kariuki, 2004**).

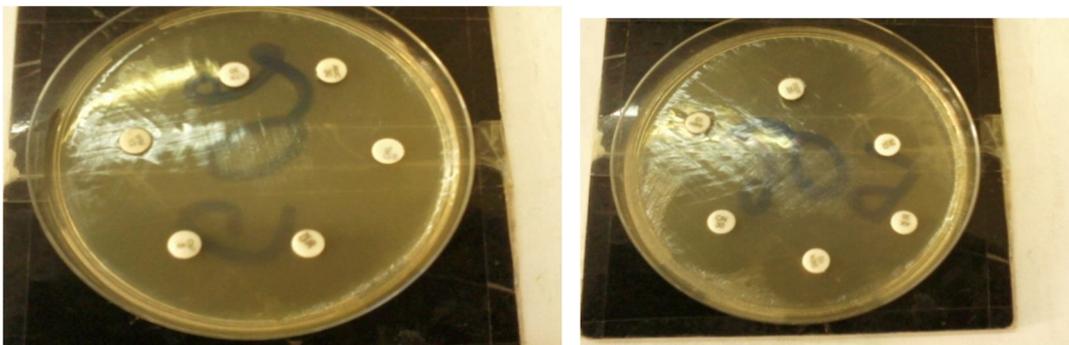


Figure 39 : Antibiogramme de *Salmonella typhi* (Photo originale)

Conclusion

Conclusion

Notre travail de coproculture est limité dans le temps il sera très utile de prolonger notre expérimentation de 1 à 2 mois afin d'assurer des résultats plus fiables et éventuellement d'avoir plus d'explication relatives aux cas rencontrés.

La coproculture reste cependant un examen intéressant malgré le faible pourcentage de positivité et les nombreuses difficultés qui peuvent entraver cette étude elle nous permet également d'avoir plus d'information et de connaissance épidémiologique sur les infections diarrhéiques.

En effet, les études de coproculture donnent des réponses exactes sur les différents cas rencontrés, dans le but d'éviter la transmission et la propagation de certaines maladies dans la population. Cependant la plus part des cas sont dus essentiellement au manque de moyen d'hygiène.

Enfin l'étude de coproculture semble être importante en matière de recherche, son application continue dans le temps afin de détecter de nouveaux germes qui deviennent utiles à la santé publique.

Recommandation :

- 1) Respecter les conditions d'hygiène, par exemple lors de la préparation du biberon et si la mère suit un allaitement maternelle il faut qu'elle prend soin de son hygiène personnelle.
- 2) Travailler en cuisine avec les mains propres, couteau, et planche de travail sont nettoyés avant et après leur utilisation
- 3) Les fruits et les légumes doivent être soigneusement lavés
- 4) Respecter la date limite de consommation (DLC)
- 5) Utilisé la réfrigération et la congélation et en respectant aussi les règles d'hygiène simples.
- 6) Séparer toujours les aliments frais de ceux cuits
- 7) Veuillez à se laver les mains fréquemment.

Références Bibliographiques

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

A

1. **Alm B; Erdes L et Mollborg P. (2008).** Neonatal antibiotic treatment is a risk factor for early wheezing. *Pediatrics*.121 : 697-702.
2. **Anglaret X et Mortier E. (2002).** Maladies infectieuses. Nouveau programme inclus (ESTEM) 3^{ème} édition. Ed: Collection med-line. De Boeck Secundair. 75 : 291-292
3. **Ashkenazi S; Newburg D.S et Cleary T.G. (1991).** The affect of humain milk on the adherence of enterohemmoragic , *E.coli* to rabbit intestinal cells, *Adv, Exp Med Biol* 310:173-177.
4. **Avril J. L. (2000).** Bactériologie clinique. 3^{ème} Edition.Masson, Paris : 6 : 11-17

B

5. **Beaugerie L. (1996).** Diarrhées des traitements antibiotiques. Ed : *Rev Prat*. 46 : 171-176.
6. **Bennish M.L et Woytyniak B.L. (1991).** Mortality due to shigellosis: community and hospital data. Ed : *Rev infect Dis*. 13 : 245-251.
7. **Berche P. (2003).** Bactériologie générale. PCE M 2. Faculté de médecine Necker-Enfants malades (France) : 89-99.
8. **Berry J. (2002).** Facteurs impliqués dans la sélection du site pour les installations nouvelles et de volaille modifiés. Service de vulgarisation agricole de l'Université de l'Oklahoma, 82 : 13-2
9. **Bonnefoy C ; Guilet F ; Guy Leyral et Evelyne Vernes-Bourdais. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire. Collection Biosciences et technique : série : science des aliments.
10. **Bouhnik Y et Rambaud J. C. (1993).** Diarrhées et syndromes dysentériques aigues de l'adulte. Démarche diagnostique et étiologique. In : diarrhées aigues infectieuses. Ed : *Doin Paris* : 137-157.
11. **Bourgeois C.M ; Mescle J.F et Zucca J. (1996).** Microbiologie alimentaire Tome 1 TecDoc pp 61-77.
12. **Butzler J.P. (2004).** *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbial. Infect.* 10 : 868p.

C

13. **Carre D ; Chapalain J.C ; Debonne J.M. et Klotz F. (2000).** Diarrhées aigues infectieuses. *Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses*. Ed : Scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, v-10, 16 : 8-13.
14. **Carré D, (2004).** «conduite à tenir devant une diarrhée. Etiologies». *EMC chirurgie1* (p493-532).

Références Bibliographiques

15. **Caquet R. (2008)**. Numération formule sanguine, in : 250 examens de laboratoire, Issy-les-Moulineaux : éditions Elsevier Masson, p.290-3. 11.
16. **Colin M.P. (2006)**. Coordination scientifique : M.R.lailler., 3p.
17. **Cleary E. C. (1994)** Waterfowl. In Prevention and Control of Wildlife Damage (S. E. Hygnstrom, R. M. Timm, and G. E. Larson, eds.), University of Nebraska–Lincoln, 2 vols. icwdm.org/handbook/index.asp

D

18. **Daube G. (1992)**. *Clostridium perfringens* et pathologies digestives. Ann. Méd. Vét. 136, 5-30.
19. **DeBoer E et Hahne M. (1990)**. Cross- contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella spp.* From raw chicken products during food preparation. P : 26.
20. **Delarras C. (2007)**. Microbiologie Pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris.17 : 11-15.
21. **Denis F; Mrtin C; Ploy M.C; Bringen E et Quentin. (2007)**. «Bactériologie médicale technique usuelles». Edition Elsevier
22. **Denis F; Mrtin C; Ploy M.C; Bringen E et Quentin. (2012)**. «Bactériologie médicale technique usuelles». 2^{ème} Edition Elsevier
23. **De Rougemont A et Pothier P. (2010)**. Rotavirus .Ed : Elsevier, Masson SAS encyclopedie médico chirurgica, 134 : 267-308
24. **Diamond L.S; Harkw D.R et Cunnick, C.C. (1978)**. A new medium for the axenie activation of *Entamoeba histolytica* and other *Entamoeba*. Ed :Trans R Soc Trop Med Hyg. 72 : 431-432.
25. **Diniz-Santos D.R; Santana J.S; Barretto J.R; Andrade M.G et Silva L.R. (2005)**. «Epidemiological and microbiological aspects of acute bacterial diarrhea in children from Salvador, Bahia, Brazil» Braz J Infect Dis, 9(1),p :77-83.
26. **Dupont C. (2010)**. «Diarrhée aigues de l'enfant».Journal de Pédiatrievet de puériculture, 23, p : 84-95
27. **Dupont H.L. (1994)**. Review article. Infectious diarrhoea. Ed : Allment Pharmacol Ther.8 : 3-13.
28. **Dumas J. (1958)**. Tribu des Salmonellae, In: Bactériologie Médicale. Flammarion et Cie, pp. 399-433

E

29. **Elaine N ; Marieb K. H. (2014)**. Anatomie et physiologie humaine, adaptation de la 9^{ème} édition américaine.
30. **Edler L. (2001)**. Biometry- the Role of the biostatistician. Introduction to clinical Drug Research . Vienna school of clinical Drug Research. 22- 26 , 15
31. **Euzéby J.P. (1997)**. *Salmonella*. In : List of Procaryote Names with Standing in Nomenclature. www. Bacterio. Net Ed : Int.J.Syst. Bacteriol. 47 : 590-592.

Références Bibliographiques

32. **Euzéby J.P. (2008)**. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. www.bactirio.net.

F

33. **Fleury H.J.A. (2009)**. Virologie humaine : connaissances et pratique. Ed : Masson, Paris, 5^e Ed : 245. (ISBN : 2-294-00815-4).
34. **Fauchère L. et Avril J. (2002)**. Microbiologie général et médicale. Edition ellipses Paris. P 141-319.
35. **Fereny J ; François R ; Roland L ; Phillipe R. (2007)**. Précis de bactériologie clinique ,2^{ème} édition .
36. **Ferron A. (1989)**. Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 13^{ème} édition, Ed .c. et R., PP : 290-293.
37. **Fox G.E ; Pechman K.R et Woese C.R. (1977)**. Int. J. Syst. Bacteriol. p : 27, 44

G

38. **Germani Y et Sansonetti P. (1999)**. Shigellose et infections à *Escherichia coli* entéro-invasifs. Maladies infectieuses. Ed : Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris).8-026 : 9- 10.
39. **Goldberg M.B et Sansonetti P.J. (1993)**. *Shigella* subversion of the cellular cytoskeleton : a strategy for epithelial colonization. Ed : Infect Immun. 61 :4941-4946.
40. **Gomez H.F ; Ho H ; Shah S ; Lopez E.L et Cleary T.G. (1994)**. Mapping epitopic regions of shiga toxin-B- subunit using milk secretory immunoglobulin A(IgA) In Karmali M. A ; Goglio A.G, Editors Recents Advances in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infections Amestardam NY Elservierscience BV. PP/345-347.
41. **Goulet O. (2009)**. La flore intestinale : un monde vivant à préserver intestinal flora : A living world to preserve. Ed : Journal de pédiatrie et de puériculture. 22 : 102-106.
42. **Gourreau J.M ; Bendali F. (2008)**. Institut de l'élevage. Edition France agricole 4^{ème} édition, février, ISBN 13 : 978-2-85557-147-2
43. **Gronlund M.M; Lehtonen O.P et Eerola E. (1999)**. Fecal microflorain healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. Ed : J Pediatr Gastroenterol Nutr. 5 :15-21.
44. **Guillet F ; Leyral G et Verne-Bourdais E. (2002)**. Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire. Ed : CRDP d'aquitaine (Biosciences et techniques : série : science des aliments) Paris. 23 :157-158.
45. **Gledel J (1988)**. le genre *Salmonella* in **Beurgois C.M., Mescle J.F., Zucca J.** Microbiologie alimentaire Tome 1 TecDoc pp 61-77
46. **Gledel J et Corbion B.E.A. (1991)**. Le genre *Salmonella* dans le contrôle Microbiologique, 2^{ème} édition Edition. 480 p.

Références Bibliographiques

H

47. **Haghebrt S ; Duché L ; Masini B ; Dubreuil M ; Bouvet P et Grimont F. (1999).** Épidémie de *Salmonella typhimurum* dans les institutions médico-sociales (IMS). Alpes de Hauts-Provence. Abstracts des journées nationales d'infectiologie. Ed : Méd Mal Infect. 30 : 353-359.
48. **Hennesy T; Hedberg C.W; Slitsker L; White K.E; Deser-Wick J.M. et Moen M.E. (1996).** A national outbreak of *Salmonella enteritidis* infections from ice cream. Ed : N Engl J Med. 334 : 1281-1286.
49. **Homberg J.C. (1999).** Immunologie fondamentale, p :11.
50. **Hossain M.A; Hazan K.Z et Albert M.J. (1994).** *Shigella* carrier among non-diarrheal children in an endemic area of shigellosis in Bangladesh. Ed : *Trop Geogr Med.* 46 : 40-42.
51. **Humbert F ; SAutra L ; Federighi M et Jouve J.L. (1998).** Les Salmonelles, In: *Manuel de bacteriologie alimentaire.* pp. 27-52.

J

52. **Joly B et Reynaud A. (2002).** Entérobactéries : Systématique et Méthodes de diagnostic. Ed : Tec & Doc, Lavoisier : 05 : 9-13.

K

53. **Kariuki S; Revathi G; Muyodi J; Mwituria J ; Munyalo A; Mirza S et Hart C.A. (2004).** Characterization of multidrug-resistant typhoid outbreaks in Kenya. *J. Clin. Microbiol.* 42 (4): 1477-82.
54. **Karlyshev A.V. et Wren B.W. (2001).** Detection and initial characterization of novel capsular polysaccharide among diverse *Campylobacter jejuni*. Strains using Alcalin blue dye. *J.Clin.Microbiol.*, 39 : 279-284.
55. **Kapikian A et Chanock R. (1996).** Rotaviruses. Ed: Raven Press, New York : 1657-1708.
56. **Koko J; Ambara J.P; Ategbro S et Gahouma D. (2013).** «Epidémiologie des diarrhées aiguës bactériennes de l'enfant à Libreville, Gabon». *Archive de pédiatrie*, 3309. P : 1-2.
57. **Koneman-Elmer W (2006).** Koneman's color Atlas and text book of diagnostic Microbiology.
58. **Kouassi B. (2008).** Transformation et consommation des denrées alimentaires en Afrique l'Ouest Centrale de Burkina Faso. Côte d'Ivoire.
59. **Kosek M; Bern C et Guerrant R.L. (2003).** The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. Ed : Bull World Health Organ. 1 :197-204.

L

60. **Labenne M ; Roos P; Feldmann M; Marlin J.P; Schaack F et Leveau, F., (1991).** Place des *Campylobacter* dans les diarrhées infectieuses de l'enfant. PP : 616-619.

Références Bibliographiques

61. **Lobril J. R. (1998).** Réévaluation du modèle de croissance de Monod : effets des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse Université de Lyon I.France. p : 42-77.
62. **Louche K. (1991).** Recherche des : *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* entéropathogène, *Campylobacter jejuni/coli* dans les diarrhées infantiles, Mémoire, D.E.U.S, Univ. Sciences et technologie, Uouari Boumediane, 55p

M

63. **Maher M. (2003).** Evaluation of culture methods and a DNA probe-based PCR assay for detection of *Campylobacter* species in clinical specimens of feces. Ed : Journal of clinical Microbiology. 41 : 2980-2986.
64. **Malvy D ; Djossou F et Le Bras M. (2002).** Infections et toxi-infections d'origine alimentaire et hydrique : orientation diagnostique et conduite à tenir. Maladies infectieuses. Ed : Encycl Med Chir (éditions Scientifiques a médicales Elsevier SAS), Paris. 8 : 82-85.
65. **Mathan M. M ; Chandy G et Mathan V.I (1995).** Ultrastructure changes in the upper small intestinal mucosa in patients with cholera. Gastroenterology 109 : 422-430.
66. **Max Sussman. (1997).** *Echerichia coli* mechanisms of virulence, Cambridge University Press.
67. **Meyer A; José D et Bernard A (2004).** Cours de microbiologie générale.
68. **Meyers A. (1995).** Modern management of acute diarrhea and dehydration in children. Ed : Am Fam Physician. 51 : 1103-1118.
69. **Mills-Robertson F; Addy M.E; Mensah P et Crupper S.S. (2002).** Molecular characterization of antibiotic resistance in clinical *Salmonella Typhi* isolated in Ghana. FEMS Microbiol. Lett. 215 (2): 249-253.
70. **MufiozVicente, Breton M. J. R ; Ros Diez A ; Rodriguez Garcia A ; Casado Sanchez B ; Hernandez M R et Nogueria C. J. M. (2008).** Gastroenteritis aguda infecciosa en urgencias de un hospital urbano. An pediatri (Barc), 68(5), p(432-8)
71. **Moulin Maurice et Coquerel Antoine. (2002).** Pharmacologie. Ed Masson.P : 1165.

N

72. **Nizou J.Y ; Algayres J.P ; Teyssou R ; Thaunay-Nizou C ; Koeck J.L et Buisson Y. (1997).** Diagnostic des infections à *Clostridium difficile*. Ed : Med Armées. 25 : 129-133.
73. **Ngwe E et Bansa-Nsungu A.B. (2007).**« Les déterminants socio-environnementaux de la morbidité diarrhéique des enfants de moins 5ans en milieu urbain au cameroun : les villes d'Ebolowa et Maroua». Institut de formation et de recherches démographiques.

O

74. **Odongo, R. (1992)**. Bachelor of science wuxi Institute of light Industry, wuxi china, (Master of science University of western Sydney Australia 1998)
75. **Organisation Mondiale de la Santé. (2005)**. Rel Epidemiol Habd 2005(80). 93-100).

P

76. **Parez N. (2000)**. La diarrhée aigue à rotavirus du nourrisson. Ed : Masson, Paris : 51-94.
77. **Pennec Y.L et Carré M. (2003)**. Salmonellose de l'adulte. Maladies infectieuse. Ed : Encycl Med Chir (éditions Scientifiques a médicales Elsevier SAS, Paris). 8 : 9-15.
78. **Perronae M. (1991)**. Parasitology test of parasitic organisms, Mosquito, heteroecious, faxioloïdes, Magnaparasitoid, Archaeoparasitology (paperback).
79. **Pilly E. (2008)**. Maladies infectieuses et tropicales. p : 247-492-497.-511
80. **Phillippe P.R ; Hartemann D.R ; Loic-Simon D.R et Blech M.F. (2009)**. Risque sanitaire liés à l'eau et à l'alimentation Toxi-infections alimentaires. Ed : Actualités des maladies infectieuses. 19 : 156-166.

R

81. **René C. (2008)**. 205 examens de laboratoire. Ed : Elsevier, Masson SAS. 10^{ème}Ed : 350 :78-84.

S

82. **Snelling W.J ; Matsuda; Moore J.E et Dooley J.S.G. (2005)**. Under the microscope *Campylobacter jejuni*. Leh.Appi.Microbiol., 41 :297-302.
83. **Steinhausercva I ; Ceskova J ; Fojtikova K et Obrovskaa I. (2001)**. Identification of thermophilie *Campylobacter Spp*. By phenotypic and molecular methods. J. Appi. Microbiol., 90 : 470-475.

T

84. **Tauxe R.V; McDonald R.C; Hargrett-Bean N et Blake P.A. (1988)**. The persistence of *Shigelle flexneri* in the United States: the increased role of the adult male. Ed : Am J Public Health. 78 : 1432-5.
85. **Taylor D.N; Echeverria. P; Pal T; Sethabutr C; Sulborlisuth S et Srichamorn S. (1986)**. The role of *Shigella Spp*, enteroinvasive Escherichia coli and other enteropathogens as causes of childhood dysenteryin Thailand. Ed : J infect Dis. 153 : 1132-1138.
86. **Touhami M; Moussa Oussaid S; Belkadi M et Boudraa G. (1993)**. La diarrhée du servage dans les quartiers de la ville d'oran, donnée préliminaire, santé plus, N° 24.

V

Références Bibliographiques

87. **Vandamme P ; Van Doora L.J ; Rachid S.T ; Quint W.G ;Van der plas J ; Cham V. Let On S.L. (1997).** Int .J. Syst. Bacteriol. 47 (4) : 1055-1060.

W

88. **Weill F.X. (2008).** «Salmonella : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotique». Dans Diarrhée d'origine bactérienne. Revue Francophone d es laboratoire (N400), p : 37-47).
89. **Wainsten J.P. (2006).** Larousse Medicale .
90. **Winn W.C et Koneman E.w. (2006).** Koneman's color atlas and textbook of diagnostics microbiology : in chapter8 : Curved Gram- Negative Bacilli and oxidase-positive fermenters : Campylobacteraceae and Vibrionaceae. , PP : 392-428.
91. **Wolfe M.S. (1990).** Clinical symptoms and diagnosis by traditional methods. Ed : Meyer EA. Giardiasis. Amsterdam : Elsevier. 3 : 175-185.

Annexes

Les Annexes

Annexe 1 : Centre d'hospitalisation de Boufarik
Laboratoire central de bactériologie
Professeur :.....

Fiche de renseignements

Nom :..... N° du prélèvement :.....
Prénom :..... date de prélèvement :.....
Age :..... Heure de réception :.....
Sexe : Masculin Féminin Etablissement :.....
Milieu d'habitation : Rural Urbain Service :.....
Adresse :..... N° de tél :.....

Symptôme :

Douleur abdominales : Oui Non
Fièvre : Oui Non
Diarrhée : Oui Non
Nausées : Oui Non
Vomissement : Oui Non

Autre :.....

Durée des symptômes :

Hospitalisation : Oui Non

*Si oui : cause :..... Durée :.....

Aliment incriminés :.....

**pour les nourrissons : « type d'allaitement»

Maternel Artificiel Mixte

Antibiothérapie récente : Oui Non

*Si oui : antibiotique administrés :..... Durée :.....

Les Annexes

Annexe 2 : Matériels du laboratoire



Écouvillons



Applicateurs d'antibiotique



Plaque en verre pour agglutination



Étuve



Bain -Marie



Autoclave



Hotte à flux laminaire



Agitateur de type vortex



Densitomètre

Les Annexes

Annexe 2 : Matériels du laboratoire

- Boîtes de Pétri stériles
 - Tube à essais à vis
 - Pipettes Pasteur
 - Lames et lamelles
 - Éprouvette
 - Portoirs
 - Microscope optique
 - Bec bunsen
 - Réfrigérateur
 - Pied à coulisse
 - Pince métallique
 - Pince en bois
 - Ciseaux de laboratoire
 - Anse de platine
 - Des gants blancs
-

Les Annexes

Annexes 3 : Composition des milieux de culture (Denis et al., 2007)

❖ Gélose Hektoen

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande..... 12,0 g
- Extrait autolytique de levure 3,0 g
- Lactose..... 12,0 g
- Saccharose 12,0 g
- Salicine..... 2,0 g
- Sels biliaires 9,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium 5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal 1,5 g
- Bleu de bromothymol 65 mg
- Fuchsine acide 40 mg
- Agar agar bactériologique 13,5 g
- PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.



❖ Bouillon au sélénite –cystine

- Tryptone.....5g
- Lactose.....4g
- Phosphate disodique.....10g
- Hydrogénosélénite de sodium.....4g
- L-cystine.....10mg



Les Annexes

❖ Gélose TSI

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....14,0 g
- Extrait autolytique de levure.....3,0 g
- Extrait de viande3,0 g
- Glucose.....1,0 g
- Lactose10,0 g
- Saccharose10,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal0,3 g
- Rouge de phénol.....24,0 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g
- PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,4 \pm 0,2$.



❖ Milieu de Ferguson

Pour un litre d'eau purifiée

- L -Tryptophane.....3g
- Phosphate monopotasique.....1g
- Phosphate dipotasique.....1g
- Chlorure de sodium.....5g
- Urée.....20g
- Rouge de phénol à 1%.....2,5ml
- Alcool à 95%.....10ml



Les Annexes

❖ Milieu Muller-Hinton

- Infusion de viande de bœuf..... 300,0 ml
- Peptone de caséine 17,5 g
- Amidon de maïs1,5 g
- Agar agar bactériologique..... 17,0 g
- PH = 7,4



❖ Gélose nutritif inclinée

- Peptone de viande30g
- Extrait de viande3g
- Chlorure de sodium5g
- Bile de bœuf desséchée.....2g
- Agar18g



Les Annexes

Annexe 4 : extrait du tableau de kauffmann-white
formules antigéniques des sérovars de *salmonella enterica* les plus fréquemment rencontrés
en France

- Les facteurs entre crochets ([]) peuvent être absents sans pour autant modifier le résultat du sérotypage
- Les facteurs O 1, 27, 14, 15 sont liés à une **conversion bactériophagique** (donc peuvent être absents).

**Les fréquences sont en constante évolution...Celles indiquées sont fournies par le
Rapport d'activités annuel du Centre National de Référence des Salmonelles (Institut
Pasteur) de 2009 (classement des 19 sérotypes les plus fréquemment isolés) :**

Groupe	Classement selon la fréquence (en France, en 2009)	Sérovars	Antigène O	Antigène H Phase 1	Antigène H Phase 2
O:2 (A)	18	S. Paratyphi A	1,2,12	a	[1,5]
O:4 (B)	1	S. Typhimurium	1,4,[5],12	i	1,2
	3	S. Typhimurium (variant monophasique)	1,4,[5],12	i	-
	6	S. Derby	1,4,[5],12	f,g	1,2
	13	S. Saint Paul	1,4,[5],12	e,h	1,2
	16	S. Agona	1,4,12	f,g,s	-
	17	S. Bredeney	1,4,12,27	l,v	1,7
	19	S. Brandenburg	1,4,12	l,v	e,n,z15
		S. Paratyphi B	1,4,[5],12	b	1,2
		S. Heidelberg	1,4,[5],12	r	1,2
		S.Schwarzengrund	1,4,12,27	d	1,7
		S. Coeln	4,[5],12	y	1,2
		S. Wien	1,4,12,27	b	l,w
		S. Abortusovis	4,12	c	1,6
		S. Stanley	1,4,[5],12,27	d	1,2
		S. Indiana	1,4,12	z	1,7
		4,12:d:	4,12	d	-
		S. Duisburg	1,4,12,27	d	e,n,z15
		4,5,12:b:	4,5,12	b	-
		S. Chester	1,4,[5],12	e,h	e,n,x
	S. Reading	1,4,[5],12	e,h	1,5	
	S. Sandiego	4,[5],12	e,h	e,n,z15	
	S. Kisangani	1,4,[5],12	a	1,2	
	S. Abony	1,4,[5],12,27	b	e,n,x	
	S. Stanleyville	1,4,[5],12,27	z4,z23	1,2	

Les Annexes

		S. Essen	4,12	g,m	-
Groupe	Fréquence	Sérovars	Antigène O	Antigène H Phase 1	Antigène H Phase 2
O:7 (C1)	8	S. Infantis	6,7	r	1,5
	11	S. Virkow	6,7	r	1,2
	15	S. Montevideo	6,7	g,m,(p),s	1,2,7
		S. Braenderup	6,7	e,h	e,n,z15
		S. Livingstone	6,7,14	d	l,w
		S. Mbandaka	6,7	z10	e,n,z15
		S. Thompson	6,7	k	1,5
		S. Ohio	6,7,14	b	l,w
		S. Rissen	6,7,14	f,g	-
		S. Oranienburg	6,7	m,t	-
		S. Tennessee	6,7,14	z29	1,2,7
		S. Isangi	6,7	d	1,5
		S. Bareilly	6,7	y	1,5
O:8 (C2-C3)	4	S. Hadar	6,8	z10	e,n,x
	7	S. Newport	6,8	e,h	1,2
	9	S. Kentucky	8,20	i	z6
		S. Corvallis	8,20	z4, z23	[z6]
		S. Bovismordificans	6,8	r	1,5
		S. Paratyphi C	6,7,Vi	c	1,5
		S. Manhattan	6,8	d	1,5
		S. Blockley	6,8	k	1,5
		S. Muenchen	6,8	d	1,2
		S. Kottbus	6,8	e,h	1,5
		S. Lichtfield	6,8	l,v	1,2
		S. Emek	8,20	g,m,s	-
	S. Enteritidis	1,9,12	g,m	-	
O:9 (D1)	2	S. Enteritidis	1, 9, 12	g,m	-
	5	S. Typhi	9,12,Vi	d	-
	10	S. Panama	1,9,12	l,v	1,5
	12	S. Napoli	1,9,12	l,z13	e, n, x
	14	S. Dublin	1,9,12,Vi	g,p	-
		S. Gallinarum	1,9,12	-	-
		9,12 :l,v	9,12	l,v	-
		S. Miami	1,9,12	a	1,5
		S. Goettingen	9,12	l,v	e,n,z15
	S. Javiana	1,9,12	l,z28	1,5	
O:3,10 (E1)		S. Give	3,10	l,v	1,7
		S. Anatum	3,10	e,h	1,6
		S. London	3,10	l,v	1,6

Les Annexes

	S. Orion	3,10	y	1,5
	S. Meleagridis	3,10	e,h	1,w
	S. Muenster	3,10	e,h	1,5
	S. Uganda	3,10	l,z13	1,5
	S. Lexington	3,10	z10	1,5

Tableau des antisérums commercialisés (les plus courants)

Sérum Vi		
Sérums O	O mélanges (51,25 €HT le flacon de 60 tests)	OMA : anticorps des groupes O:2(A), O:4(B), O:9(D), O:3(E) , O:21(L)
		OMB : anticorps des groupes O:8(C), O:11(F), O:13(G), O:6,14(H)
		OMC : anticorps des groupes O:16(I), O:17(J), O:18(K), O:21(L), O:28(M), O:30(N), O:35(O), O:38(P)
	O monovalents : 1,2 - 4,5 - 6,7,8 - 7 - 8 - 9 - 3,10,15 - 15 - 1,3,19 - 11 - 13,22,23 - 6,14,24 (31 à 50 €HT le flacon de 60 tests)	
Sérums H	H mélanges (51,25 €HT le flacon de 60 tests)	H1 = 1, 2, 5, 6, 7, z6
		HL = l, v, w, z13, z28, z40
		H:En = e, n, x, z15
		HZ4 = z4, z23, z24, z32
		HG = f, g, p, m, s, t
	H monovalents : a - b - c - d - g,m - g,p - h - i - k - m - p - r - v - w - x - y - z - z10 - z15 - 2 - 5 - 6 - 7 (31 à 108 €HT le flacon de 60 tests)	

Les Annexes

Annexe 5 : tableau de lecture prés de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, 2011)

Valeur critiques des diamètres des zones d'inhibition et CMI pour Entérobactéries

Condition du test :

Milieu : Muller-Hinton

contrôle de qualité :

Inoculum : Colonies en suspension, 0,5 Mc Farland

Escherichia coli ATCC 25922

Incubation : 37°C, atmosphère ordinaire ; 18 heures.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>β-lactamines :</u>						
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline+Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
Cefazoline	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefotaxime	30µg	≤ 14	15 – 22	≥ 23	≥ 64	≤ 8
Ceftriaxone	30µg	≤ 13	14 – 20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Imipeneme	10µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
<u>Aminosides</u>						
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
<u>Quinolones</u>						
Ofloxacine	5µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 8	≤ 2
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
<u>Autres</u>						
Chloramphenicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Trimethoprime/Sulfamethoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38