



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE BLIDA -1-



FACULTE DE PHARMACIE

**Recherche des *E.coli* productrice de Shigatoxines dans les Selles
sur le milieu CHROMagar™ STEC**

Thèse de fin d'études

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : 2021-2022

Présentée Par :

- GHETTAS Meriem

- BEZAZ Chaimaa

Membre du jury :

PRESIDENT : Dr S.Berouakene Maitre assistante en Microbiologie, Université Blida 1.

Examineur : Dr M.Benamara Maitre assistante en microbiologie , université Blida 1.

Encadreur : Dr.HAMROUCHE Saoussene Maitre assistante en microbiologie.

Co-encadreur : Pr.OUKID Samira

Maitre conférence en microbiologie.

Remerciements

Nous rendons grâce

A **ALLAH**, le tout puissant qui nous a donné la volonté, l'aide, la patience et le courage pour accomplir ce modeste travail.

A madame le Docteur **SAOUSSENE HAMROUCHE**. Nous ne pouvons pas être plus fiers de vous avoir comme promotrice. Votre simplicité et votre modestie, votre culture scientifique, et votre dévouement pour le travail bien fait font de vous un **DOCTEUR** exemplaire.

Sans vos sages conseils, votre disponibilité, votre patience et votre encadrement à hauteur de souhait, ce travail n'aurait pas vu le jour. Qu'Allah vous les retourne en bien. Veuillez accepter docteur, nos sentiments d'estime et de profond respect.

A madame le Professeur **SAMIRA OUKID**. Nous tenons chaleureusement à la remercier pour son soutien permanent durant le travail, pour ses conseils, et sa disponibilité. Soyez assuré de notre gratitude et notre profond respect.

A madame le Professeur **NABILA BENAMROUCHE**, chef du laboratoire des Entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA). Nous tenons à lui exprimer toute notre reconnaissance pour nous avoir permis de réaliser cette mémoire au sein de son laboratoire. Nous la remercions pour sa disponibilité ainsi que pour ses nombreux conseils avisés.

A notre présidente des jurys, **Dr.S.BEROUAKENE**

Vous nous faites l'honneur de présider le jury de notre mémoire.

Nous tenons à vous remercier pour l'intérêt que vous avez porté à notre travail.

A notre examinateur **Dr.M.BENAMARA**

Nous vous présentons nos sincères remerciements, du grand honneur que vous nous faites, par votre contribution à l'examen de ce travail et de l'enrichir par vos propositions

Au **personnel du Laboratoire des Entérobactéries et autres bactéries apparentées**. Apprendre à vos côtés a été une de nos expériences les plus fructueuses. Merci pour votre accueil et votre disponibilité, ainsi que votre motivation.

On adresse également nos sincères remerciements à tout le personnel du Laboratoire **OULD ROUIS**, Laboratoire **Dr. RENDJA**, du **Laboratoire centrale du CHU DOUERA** et le personnel du **service de dialyse de l'EPH MEDEA**.

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut pour m'exprimer à dédier ce modeste travail qui est le fruit de plusieurs années d'étude. Du fond de mon cœur, je le dédie à :

A MA CHÈRE SŒUR FATMA : mon inspiration et ma deuxième mère, autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. J'attendais ce jour et les larmes aux yeux pour dire merci du fond du cœur pour tout ce que tu as fait pour moi, ton soutien, tes sacrifices. Tu as été toujours présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, je te souhaite t'honorer et reçoit ce travail en signe de ma profonde estime. Ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence et ton amour je t'aime de tout mon cœur.

A MA TRÈS CHÈRE MAMAN FATJHA BENAJOUBA : aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternelle et ma considération pour les sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me porte depuis mon enfance, ta prière m'a été d'un grand secours tout au long de ma vie et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulé, le fruit de tes innombrables sacrifices. C'était ton souhait de me voir avec la blouse blanche et me voilà, maman, aujourd'hui je suis devenue docteur en pharmacie, puisse dieu tout puissant, te préserve et t'accorde santé longue vie et bonheur.

A MON TRÈS CHER PÈRE ZOUBJR GHETTAS Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A MON CHER FRÈRE OTHMANE et MA SŒUR NOURHÈNE : aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.

A mon min : merci infiniment pour la patience et le soutien dont le fait preuve pendant toute la durée de ce travail

A MES SOEURS JBJTJSSAM et BOUEHRA : aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à votre égard. Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A MES CHERES NJECES FEDOUA ET NOUREIHOUDA : qui m'avez toujours soutenue et encouragé durant ces années d'études. **A MES CHERS NEVEU :** abdali, rachid, akram, iyad et riyam.

A MA CHERE FATJMA ET TATA NADJET : merci du fon du cœur d'être à mes cotés et de prie pour moi .

A MA CHERE BJNOME CHAJMA : merci de m'avoir supporté, d'être à mes côtés , et raisonné quand ma détermination flanchait. En souvenir des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

MERJEM

Dédicace

A feu mon GRAND-PERE, mon bien-aimé. Qu'Allah dans sa miséricorde t'accorde le repos éternel.

A mes très CHERS PARENTS, je me demande simplement ce que j'aurais réussi sans vous.

Vous m'avez entouré d'une grande affection, et vous avez été toujours pour moi un grand support dans mes moments les plus difficiles.

Merci pour votre amour, encouragement, vos prières ainsi que vos bénédictions.

Merci pour les sacrifices consentis.

Puisse Dieu vous donner longue vie pour savourer les fruits de votre labeur.

A ma GRAND-MERE (MANJ), merci pour ton amour, ton encouragement, et tes prières.

A mon frère RAOUF, et mes sœurs JMANE, ASMAA, et MALAK, pour leur encouragement, leur soutien, leur tendresse. Que Dieu vous bénisse.

A mes neveux ALAA et ABDELSAMED, et ma nièce RAHAF, que j'aime beaucoup.

A l'équipe de la pharmacie HADJOUT HEMJCHE, et plus particulièrement à **Dr. HEMJCHE**.

Aucun mot ne saurait exprimer toute la reconnaissance que j'ai à votre égard.

Merci pour vos conseils, votre solidarité, et votre gentillesse.

A mes CHERS AMJES : RANJA, AMJNA, MJMJ, et YASMJNE.

Thaimaa

Introduction: Les *Escherichia coli* sont un groupe très diversifié de bactéries à Gram négatif et un membre de la microflore intestinale humaine. En général, cette colonisation est asymptomatique, cependant, certaines souches d'*E. coli* ont évolué pour devenir pathogènes.

Les *Escherichia coli* productrices de Shigatoxine (STEC) en raison de la production de shigatoxines1 et 2 (stx1, stx2), peuvent provoquer des maladies graves allant de la diarrhée sanglante jusqu'au syndrome hémolytique et urémique (SHU) avec comme conséquences l'insuffisance rénale voir le décès.

Objectifs: L'objectif principal de notre étude est de rechercher et identifier les STEC dans des prélèvements de selles humaines, et d'évaluer le milieu CHROMagar™ STEC.

Matériel et méthodes: Il s'agit d'une étude prospective multicentrique réalisée au niveau du laboratoire des Entérobactéries et autres bactéries apparentées au sein de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA).

Un diagnostic microbiologique a été effectué sur tous les échantillons collectés. En outre, une évaluation des milieux STEC et SMAC a été effectuée en utilisant des souches. Les calculs de sensibilité et de spécificité ont été effectués au moyen d'essais statistiques

Résultats: Sur une période de 5 mois, un seul cas de STEC de sérotype O145 a été identifié, et porte le gène de virulence *stx1*.

La détection des STEC sur milieu CHROMagar™ STEC présente une sensibilité de 86.67%, et une spécificité de 96.67%. Par contre sur milieu SMAC, la sensibilité était de 40% et la spécificité de 93.33%.

Conclusion: La surveillance continue des infections à STEC au laboratoire de microbiologie est nécessaire afin de prévenir les épidémies liées à cette bactérie et les complications qui y sont associées.

Mots clés: *E. coli*, STEC, Les selles, CHROMagar™ STEC, SMAC.

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	II
Abréviation.....	III
Historique	1
Introduction générale.....	2

Chapitre I : Généralité sur l'*Escherichia coli*

I.1 Taxonomie.....	3
I.2 caractères bactériologique.....	3
I.3 Antigènes et sérogroupages	6
I.4 Les différents pathovars d' <i>Escherichia coli</i>	7

Chapitre II : *Escherichia coli* productrice de shigatoxines

II.1 Définition d' <i>E.coli</i> productrice de shigatoxines (STEC).....	13
II.2 Épidémiologie.....	13
II.2.1 Réservoirs.....	13
II.2.2 Transmission.....	14

II.2.3 Les données épidémiologique chez l'homme et l'animal	15
II.3 physiopathologie.....	17
II.3.1 Facteurs de virulence.....	18
II.3.1.1 Les shigatoxines	18
II.3.1.2 Les facteurs d'adhésion.....	21
II.3.2 Physiopatogénicité	23
II.4 Manifestations cliniques.....	24
II.4.1 Incubation.....	24
II.4.2 Période de contagiosité.....	24
II.4.3 Les symptômes.....	24
II.4.4 Les complications.....	25
II.5 Diagnostique bactériologique	25
II.5.1 Prélèvement et transport.....	26
II.5.2 Culture.....	26
II.5.3 Recherche des facteurs de virulence.....	28
II.6 Prise en charge du patient.....	30
II.6.1 Traitement.....	30
II.6.2 Mesures d'hygiène.....	31

PARTIE PRATIQUE

1 Matériel et méthodes.....	33
1.1 Matériel.....	33

1.1.1 Matériel biologique.....	33
1.1.2 Matériel non biologiques.....	34
1.2 Méthodes.....	34
1.2.1 Diagnostic bactériologique	34
1.2.2 Recherche des STEC	34
1.2.3 Evaluation des milieux de culture STEC et SMAC	39
2 Résultats	40
2.1 Recherche des STEC	40
2.1.1 Répartition des prélèvements	40
2.1.2 prévalence	41
2.1.3 Les résultats du cas positif	42
2.2 Evaluation du milieu CHROMagar STEC par les prélèvements des selles	45
2.3 Comparaison des milieux CHROMagar STEC et SMAC	47
3 Discussion	50
3.1 Recherche des STEC	50
3.2 Evaluation du milieu CHROMagar™ STEC par les prélèvements des selles	50
3.3 Comparaison des milieux CHROMagar™ STEC et SMAC.....	51

Conclusion

Annexe

Références

Abstract

Liste des figures

Chapitre I : Généralité sur l'*Escherichia coli*

Figure 1 : Représentation schématique de la structure d' <i>E.coli</i>	3
Figure 2 : Vue d'ensemble des phénomènes d'acquisition et de délétion de gènes chez <i>E.coli</i> appartenant aux différents pathovars.....	7

Chapitre II : *Escherichia coli* productrice de shigatoxine

Figure 3 : Schéma des modes de transmission des <i>E.coli</i> entéro-hémorragiques (EHEC).....	15
Figure 4 : Principaux sérogroupes d' <i>E.coli</i> producteurs de shigatoxines à l'origine du syndrome hémolytique et urémique pédiatrique identifiés dans les selles, France, 2007.2016.....	16
Figure 5 : Représentations schématiques de la structure des toxines Stx.....	18
Figure 6 : Mécanisme d'action des Shiga-toxine.....	19
Figure 7 : Structure du LEE d' <i>E. coli</i> O157 :H7.....	21
Figure 8 : Carte d'un plasmide de virulence d'une EHEC O157:H7.....	22
Figure 9 : Evolution d'une infection à O157 :H7 chez un enfant	23
Figure 10 : Processus infectieux des STEC	24
Figure 11 : Méthodes phénotypiques de détection de <i>E. coli</i> O157 :H7	27
Figure 12 : Apparence des colonies typiques.....	28

PARTIE PRATIQUE

Figure 1 : Aspect des colonies sur milieu STEC(D) et SMAC(D).....	35
Figure 2 : Aspect des STEC sur milieu TSI/Urée	36

Figure 3 : Mesure d'une suspension de 0.5 Mc farland par densitomètre	39
Figure 4 : Répartition des prélèvements selon leurs aspects	40
Figure 5 : Répartition des prélèvements selon l'âge et le sexe	41
Figure 6 : Répartition des 35 prélèvements ayant donnés des colonies mauves selon l'âges et l'aspects des selles.....	41
Figure 7 : Répartition des échantillons selon la présence et l'absence des STEC.....	42
Figure 8 : Aspect des colonies sur milieu STEC(D) et SMAC(D).....	43
Figure 9 : Aspect de la galerie Api 20E de la souche positive.....	43
Figure 10 : Aspects de l'agglutination avec le sérum <i>E. coli</i> et <i>E. coli</i> O145.....	44
Figure 11 : Aspect de bande positif pour le gène stx1.....	44
Figure 12 : Sensibilité aux antibiotiques de la souche positive	45
Figure 13 : Résultat d'antibiogramme pour la souche isolée	45
Figure 14 : Les types des colonies obtenues sur milieux STEC et SMAC.	47

Liste des Tableaux

Chapitre I : Généralité sur l'*Escherichia coli*

Tableau 1 : Principaux critères différentiels des espèces du genre <i>Escherichia</i>	4
Tableau 2 : Caractères biochimiques d' <i>E.coli</i>	5
Tableau 3 : description des patovars de <i>E.coli</i>	9

Chapitre II : *Escherichia coli* productrice de shigatoxines

Tableau 4 : Nombre de cas de STEC, nombre de cas de STEC rapportés pour 100000 habitants, nombre de cas de SHU et proportion de cas de SHU entre 2011 et 2018.....	17
Tableau 5 : Incidence des variants <i>stx</i> sur l'homme.....	20

Partie pratique

Tableau 1 : Protocole du Mix pour une PCR multiplex.....	38
Tableau 2 : Lecture sur milieu STEC et SMAC de la souche positive.....	42
Tableau 3 : Résultats de l'isolement à partir des suspensions de selles sur milieu CHROMagar STEC™.....	45
Tableau 4 : Calcul des paramètres d'évaluation sur du milieu CHROMagar STEC™ direct ..	46
Tableau 5 : Résultats de l'isolement des enrichissements des selles sur milieu CHROMagar STEC™.....	46
Tableau 6 : Calcul des paramètres d'évaluation sur du milieu CHROMagar STEC™.....	46
Tableau 7 : Résultats de l'isolement des souches sur milieu STEC.....	48
Tableau 8 : Calcul des paramètres d'évaluation du milieu CHRMagar STEC™.....	48
Tableau 9 : Résultats de l'isolement des souches sur milieu SMAC.....	48

Tableau 10 : Calcul des paramètres d'évaluation du milieu SMAC..... **49**

A

AAF : Aérobic-anaérobic facultatif.

ADN : Acide desoxyribonucléique.

A/E : Attachements Effacements.

Agg : Agglutination.

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATB : Antibiotique

B

BEP : Bactérie pathogène entérique.

BHIB : Brain Heart Infusion Broth

C

CB : Bouillon d'E.coli.

CDC : Centre for Disease Control and prevention.

CFA : Colonization Factor Antigens.

CLSI : Clinical Laboratory Standards Institute.

CNR : Centre National de références

D

DAEC : Escherichia coli à adhésion diffuse.

E

E.coli : Escherichia coli.

EAECE/EA_g : Escherichia colientéroaggrégatifs.

EC : Bouillon d'Escherichia coli.

EHEC : Escherichia colientérohémorragiques.

EIEC : Escherichia colientéroinvasifs.

EPEC : Escherichia colientéropathogène.

EPT : Eau peptonée tamponnée.

ETEC : Escherichia colientérotoxinogènes.

ExPEC : Escherichia coli pathogène extra-intestinal

F

FDA : Food and drugs administration.

G

GMPC : Guanosine Monophosphate cyclique.

GR : Globules rouges.

H

Hb : Hémoglobine.

HC : Colite Hémorragique

I

IDDM : Insulin Dependent Diabetes Mellitus.

IEA : Enzyme Immuno Assay.

InPEC : Escherichia coli pathogène extra-intestinal.

IPA : Institut Pasteur d'Algérie.

IR : Insuffisance rénale.

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique.

IS : Séquence d'insertion.

ISO : Organisation internationale de normalisation.

L

LDH : Lactates deshydrogénases.

LEE : Locus of enterocyte effacement.

LPF : Long Polar Fimbriae.

LPS : Lipopolysaccharides.

LT : Thermolabiles

M

MH : Muller Hinton.

O

ORF : Open Reading Frame.

P

PAF : Platelet Activating Factor.

PAI : Plasminogen Activator Inhibitor.

PCR : Réaction en chaîne par polymérase.

PPT : Purpura thrombotique thrombocytopénique.

PRFI : Pays à revenu faible et intermédiaire

TBS : Bouillon de Trypticase Soya.

T3SS : Type Three Secretion System.

U

UE : Union Européenne.

UFC : Unité Formant Colonie.

USA : Etat-Unis.

UV : Ultra-Violet

S

SHU : Syndrome Hémolytique Urémique.

SMAC : Mac Conkey Sorbitol.

SNC : Système nerveux central.

Sorb : Sorbitol.

ST : Thermostables.

STEC : Escherichia coli productrice des Shiga toxines.

STX : Shiga toxine.

T

TBS : Bouillon de Trypticase Soya.

T3SS : Type Three Secretion System.

U

UE : Union Européenne.

UFC : Unité Formant Colonie.

USA : Etat-Unis.

UV : Ultra-Violet

V

VTEC : Escherichia coli vérotoxines.

Historique

En 1885, en poursuivant ses travaux sur les selles de nourrissons, l'Allemand Theodor Escherich isola pour la première fois la bactérie *E. coli*, il décida en premier lieu de lui donner le nom de *Bacterium coli*, le nom *Escherichia coli* est réellement retenu en 1958 sur inscription du sous-comité Enterobacteriaceae du comité de nomenclature de l'association Internationale des Sociétés de Microbiologie.[4].

Pendant longtemps, la question du rôle pathogène réel d'*E. coli* a perturbé les bactériologistes, car si cette association apparaissait de manière de plus en plus évidente, il était tout aussi évident que la même bactérie était isolée d'individus parfaitement sains. Cette observation était très troublante à une époque où l'on pensait qu'une espèce bactérienne était soit pathogène, soit commensale. La réponse vient d'une intuition d'un vétérinaire danois, Carl Oluf Jensen (1864-1934), qui émit l'hypothèse que l'espèce *E. coli* était hétérogène et composée de souches provoquant des pathologies et de souches tout à fait inoffensives.[5].

La détermination des sérotypes est le premier système qui a permis dans une certaine mesure, de différencier des souches pathogènes de souches commensales.[6]. Par la suite, divers chercheurs ont fait œuvre pionnière en reconnaissant l'existence pour les souches pathogènes de propriétés particulières, dites de virulence, directement ou indirectement reliées à leur pouvoir pathogène[7]. La détermination des combinaisons de propriétés particulières associées à la virulence d'une souche constitue un nouveau moyen de typage d'*E.coli*, que l'on désigne sous le néologisme de PATHOTYPIE.[8].

C'est en 1982, qu'un nouveau tableau clinique caractérisé par une colite hémorragique, un syndrome hémolytique et urémique et/ou un purpura thrombotique thrombocytopenie, est apparu chez des patients ayant mangé des hamburgers provenant d'établissements d'une même chaîne de restauration rapide. Cette épidémie a sévi aux Etats-Unis d'abord dans l'Oregon, puis dans le Michigan trois mois plus tard. La consommation de l'aliment incriminé contenant de la viande de bœuf insuffisamment cuite a entraîné l'hospitalisation de 70% des malades victimes de la toxoinfection. L'analyse effectuée sur les selles des patients et sur la viande hachée, source de l'infection, a révélé la présence d'un sérotype particulier d'une souche d'*E coli* qui est le O157:H7.[9].

Depuis la première description d'une éclosion de colite hémorragique (HC) associée à la bactérie *Escherichia coli* productrice de toxines de Shiga (*STEC*) aux États-Unis en 1983, la *STEC* a été identifiée dans le monde entier comme une cause importante de maladie humaine, principalement d'origine alimentaire.[10].

INTRODUCTION

Introduction

Escherichia coli est à la fois un commensal du tube digestif des mammifères et un pathogène majeur responsable d'infections intestinales et extra-intestinales. [1].

Les *Escherichia coli* productrices des Shiga toxines (STEC) sont des bactéries émergentes qui causent des éclosions épidémiques de maladies d'origines alimentaire, celles-ci sont caractérisées par diverses manifestations cliniques, allant de la simple diarrhée sanglante à la colite hémorragique (HC), qui peut évoluer vers le syndrome urémique hémolytique (SHU) et/ou purpura thrombocytopénique. [2].

A l'heure actuelle, il existe plus de 470 séotypes de STEC reconnus en fonction de l'antigène O et du type d'antigène H. Plus de 130 séotypes sont associés aux infections à STEC chez l'humain. Le O157: H7 est le séotype le plus fréquent il est associé principalement à des épidémies d'origine alimentaire. Toutefois, d'autres séotypes non O157: H7 ont également été une cause importante d'éclosions d'origine alimentaire et de cas sporadiques, et sont responsables jusqu'à 50% des infections à STEC au cours des dernières années. [3].

Cette importante augmentation pose un vrai problème de santé public dans le monde et en Algérie la recherche des STEC ne se fait pas en routine, une méthode de détection rapide et fiable est indispensable afin de mieux gérer les épidémies et surtout limiter les complications graves associés à cette infection.

Pour ce fait, une synthèse bibliographique est consacrée à des rappels généraux sur la bactérie *Escherichia coli*, puis à la présentation de l'*Escherichia coli* productrice de Shiga toxines (STEC), leur épidémiologie, physiopathologie, et leurs manifestations cliniques. Une dernière partie concerne le diagnostic et la prise en charge du patient.

La partie expérimentale comprend une étude prospective multicentrique dont l'objectif principal est d'utiliser le milieu CHROMagar™STEC pour la recherche des STEC à partir de selles diarrhéiques hémorragiques ou glaireuses et l'objectif secondaire est d'évaluer ce milieu innovant et le comparer au milieu Sorbitol Mac Conckey (SMAC) longtemps utilisé pour le diagnostic des STEC.

Chapitre I

Généralité sur l'Escherichia coli

I. Généralité sur l'*Escherichia coli*

I.1 Taxonomie

Escherichia est l'une des nombreux genres de la famille des *Entérobactériaceae*. Elle compte cinq espèces dont coli.

- Domaine : BiotaEndl. (D. Don)
- Règne : Bactéries. (Cavalier-Smith, 2002)
- Sous-règne : Négibactéries. (Cavalier-Smith, 2002)
- Phylum : Protéobactéries. (Garrity et al., 2005)
- Classe : Gammaprotéobactéries. (Garrity et al., 2005)
- Ordre : Entérobactéries. (Garrity et Holt, 2001)
- Famille : Entérobactériaceae. (Rahn, 1937)
- Genre : *Escherichia*. (Castellani et Chalmers, 1919)
- Espèce : *coli*. {(Migula, 1895) Castellani et Chalmers, 1919}. [11].

I.2 Caractères bactériologiques

Escherichia coli ou colibacille (**Figure 1**) 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 extrémité arrondie, mobile grâce à une ciliature péritriche. [12]. Ce germe se développe facilement sur les milieux ordinaires, lactosés ; Sur milieux solides après 18-24h à 37° C *Escherichia coli* donne des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3mm de diamètre. *E.coli* pousse également sur les milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey [13].

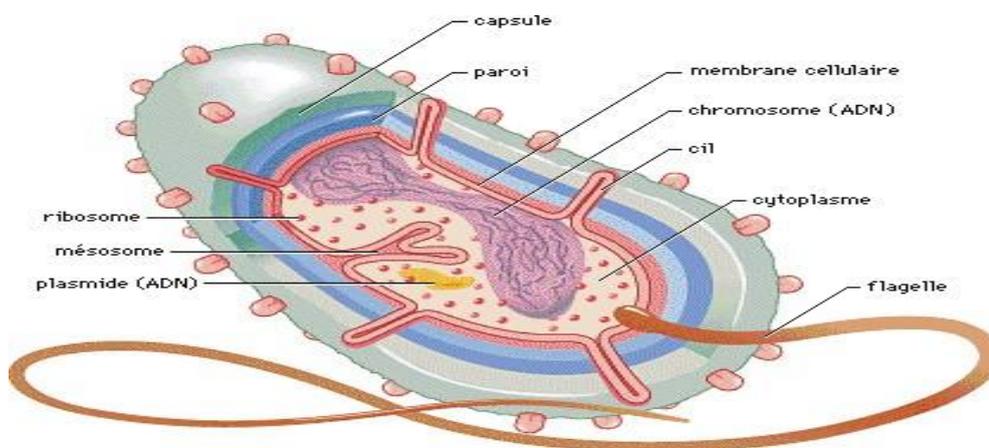


Figure 1 : Représentation schématique de la structure d'*E.coli*. [14].

Le genre *Escherichia* est constitué par cinq autres espèces en plus d'*Escherichia coli* qui sont : *Escherichia abertii*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermani*, *Escherichia vulneris* et *Escherichia blattae*. [15].

Chaque espèce possède des caractères biochimiques spécifiques qui permettent de les identifier. (Tableau I.1).

Tableau 1 : Principaux critères différentiels des espèces du genre *Escherichia*. [7].

Caractères	<i>E.coli</i>	<i>E.albertii</i>	<i>E.blattae</i>	<i>E.hermanii</i>	<i>E.vulneris</i>	<i>E.fergusonii</i>
Indole	+	-	+	+	-	+
Pigment jaune	-	-	-	+	(+)	-
LDC	(+)	(+)	(+)	-	+	+
ODC	+/-	+	+/-	+	-	+
β-xylosidase	-	-	-	-	+	-
β-glucuronidase	(+)	-	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	-	+	-
Adonitol	-	-	-	-	-	+

Source : Grimont (1987) ; Vimont (2007).

(+) : Positif pour la majorité des souches ; +/- : Positif ou négatif selon les souches.

LDC: Lysine décarboxylase ; ODC : Ornithine décarboxylase.

Cette bactérie possède une catalase mais est dépourvu d'oxydase. L'étude d'activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est réalisée à l'aide de micro-méthodes validées sous forme de galeries. Ces galeries permettent l'identification de cette bactérie ainsi que le diagnostic différentiel avec les autres bactéries de la même famille. Ces caractères sont regroupés dans le (Tableau 2). [12].

La plupart des souches fermentent le sorbitol en dehors du sérotype O157 :H7. Ces caractéristiques biochimiques sont partagées par l'ensemble des souches d'*E.coli* en dehors de certains mutants qui sont dépourvus de l'enzyme Glucuronidase. [16].

Tableau 2 : Caractères biochimiques d'*E.coli*. [12].

Tests	Résultats
Glucose	+
Lactose	+
Hydrogène Sulfuré	-
Voges-Proskauer	-
Uréase	-
Indole	+
Citrate de Simmons	-
Orthonitrophenyl- β -D-Galactopyranoside	+
Citrate de Christensen	+
Arginine dihydrolase	+/-
Gélatinase	-
Malonate	-
Phényl-Alanine Désaminase	-
Lysine Décarboxylase	+
Ornithine Décarboxylase	+
Tryptophane Désaminase	-
Nitrate Réductase	+

I.3 Antigènes et sérogroupage

La membrane externe d'*E.coli* est composée de lipopolysaccharides (LPS) qui comprend le lipide A, les oligosaccharides de noyau, et un polysaccharide unique, appelé l'antigène O. La perte des antigènes O se traduit par une virulence atténuée suggérant leur importance dans les interactions hôte-pathogène [17].

Compte tenu de la diversité antigénique des différents antigènes O, ils ont été ciblés comme biomarqueurs pour la classification d'*E.coli* depuis les années 1940 (Kauffmann, 1944) [18]. Plus tard [19] ont présenté un système complet de sérotypage pour 164 *E.coli* groupes O et ont mis au point un schéma de typage basé sur la présence de trois principaux antigènes de surface, les antigènes O, les antigènes H flagellaires et les antigènes K capsulaires [20].

La méthode conventionnelle de sérotypage est basée sur les réactions d'agglutination de l'antigène O avec des antisérums qui sont générés chez les lapins contre chacun des groupes O [20]. La méthode est facile à mettre en œuvre ; cependant, elle est laborieuse et sujette aux erreurs, et donc, les méthodes moléculaires sont de meilleures alternatives pour le typage O [21].

➤ **Antigènes somatiques O** : (Lipopolysaccharides)

L'antigène somatique O détermine le sérotype. Les antigènes somatiques sont composés de lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne. Certaines molécules de LPS permettent à la bactérie de se protéger contre l'action lytique du complément, la fixation des anticorps et la phagocytose.[22].

➤ **Antigènes flagellaires H** : (Protéines)

L'antigène flagellaire H (AgH) est de nature protéique et entre dans la construction du flagelle permettant la mobilité de la bactérie. Il est généralement codé par le gène *fliC*. Cependant, certaines souches perdent leur mobilité et sont classées comme non mobiles (NM ou H-). [23].

➤ **Antigène de surface K** : (Polysaccharide)

Encore appelés antigènes capsulaires ou d'enveloppe, ce sont des polysaccharides acides qui ont été initialement subdivisés en trois types à savoir : les antigènes A, B et L. [23].

- **L'antigène L** : est le plus fréquent mais thermolabile (il est détruit en une demi-heure, à 100°C). Donc le chauffage provoque une perte de pouvoir antigénique, du pouvoir de fixer les anticorps et du pouvoir de masquer l'antigène O.
- **L'antigène A** : est rare ; c'est un antigène capsulaire (les *E.coli* encapsulés sont relativement fréquents dans les infections urinaires). L'Ag A est très thermostable (il faut un autoclavage pour le détruire).

- **L'antigène B** : est toujours présent chez les *E.coli* enteropathogènes de gastroentérite infantile. Il a une thermolabilité intermédiaire : après une demi-heure à 100°C, il reste toujours de l'antigène B mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par « trouage » de l'enveloppe. La fixation de l'anticorps est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage). [24].

I.4 Les différents pathovars d'*Escherichia coli*

L'étude des différents modes d'interactions entre l'hôte et la bactérie lors des infections permet de classer les souches d'*E.coli* pathogènes en deux principaux pathotypes regroupant les pathogènes extra intestinaux (ExPEC), responsables d'infections urinaires, de méningites chez les nouveau-nés ou de septicémies, et les pathogènes intestinaux (InPEC) responsables de maladies entériques [25].

Les *E.coli* intestinaux sont classées en plusieurs variant pathogènes appelés « Pathovars » : les *E.coli* entéropathogènes (EPEC), les *E.coli* entéroinvasifs (EIEC), les *E.coli* entéroagrégatifs (EA_g ou EAEC), les *E.coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E.coli* à adhésion diffuse (DAEC) et les *E.coli* entérohémorragiques (EHEC) [26]. (**Tableau 3**)

E.coli peut devenir pathogène par l'acquisition, la délétion ou l'inactivation de certains éléments génétiques mobiles (transposon, phage, plasmide). A titre d'exemple, les STEC sont des *E.coli* ayant acquis, par un bactériophage, des gènes codant pour une toxine (la Shiga- toxine) [27]. (**Figure 2**).

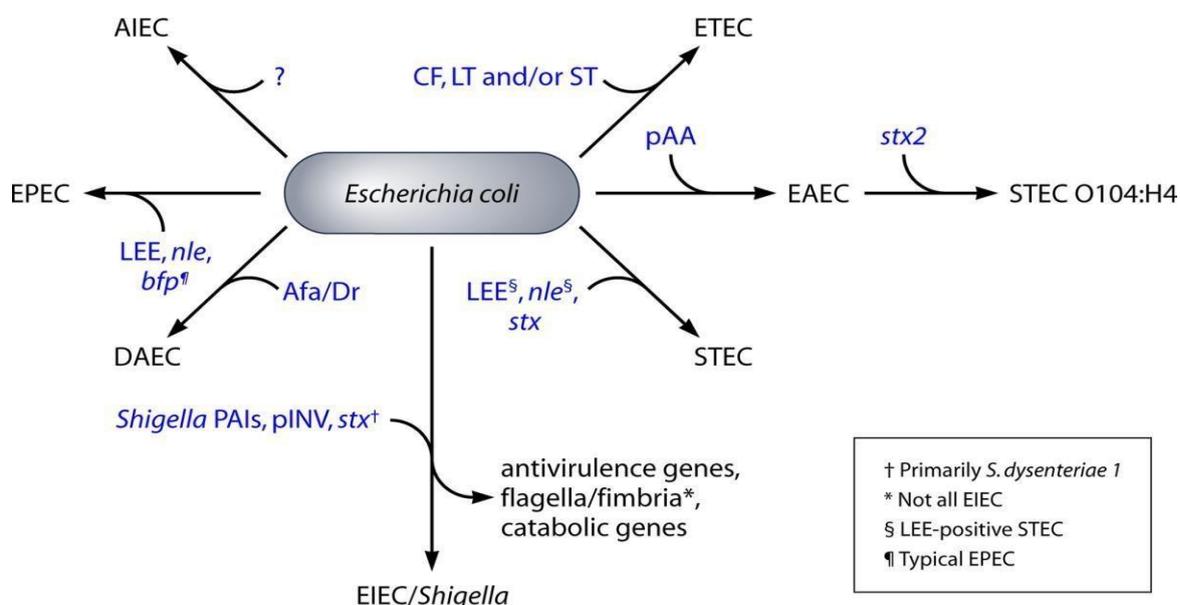


Figure 2 : Vue d'ensemble des phénomènes d'acquisition et de délétion de gènes chez *E.coli* appartenant aux différents pathovars [28].

EPEC : *E coli* entéro-pathogène
EIEC : *E coli* entéro-invasifs
EAEC : *E coli* entéro-agrégatifs
ETEC : *E coli* enterotoxinogènes
DAEC : *E coli* à adhésion diffuse
EHEC : *E coli* entéro-hémorragique
STEC : *E coli* productrice shigatoxines
bfp : bundle-forming pilus
stx : shiga-toxin
Paa : virulence plasmid.
CF: colonisation f
LT : heat-labile toxin
ST : heat-stable toxin
LEE : locs de l'effacement des entérocytes

Tableau 3 : Description des pathovars de *E.coli* [27].

Pathovars	Hôtes	Sites de colonisation	Maladies	Réservoirs et sources	Traitements	Adhésion	Marqueurs génétiques	Sérotypes majeurs	Références
EPECt <i>E.coli</i> entéropathogène typique	Enfant < 5ans adulte	Intestin grêle	Diarrhée / aqueuse abondante	Humain	Réhydratation, antibiotique en cas de persistance des symptômes	Attachement et effacement	<i>eae</i> , <i>bfp</i>	O55:[H6] ^b O86:H34 , O111:[H2], O114:H2, O119:[H6], O127:H6, O142:H6, O142 :H34	Trabulsi et al., 2002
EPECa <i>E.coli</i> entéropathogène atypique				Humain, animal				<i>eae</i> , absence de <i>bfp</i>	O26:[H11], O55:[H7], O55:H34, O86:H8, O111:[H8], O111:[H9], O111:H25, O119:H2, O125:H6, O128 :H2

EHEC (STEC) <i>E.coli</i> entérohémorragique	Adulte, enfant	Iléon distal, colon	Diarrhée aqueuse, colite hémorragique SHU	Humain, animal, aliment, eau	Hydratation, traitement symptomatique	Attachement et effacement ^a	<i>stx, eae</i> (présence ou absence selon les souches)	O26, O45, O103, O111, O121, O145, O157, O91	Croxen et al., 2013 Beutin et Fach 2014
EIEC/Shigella <i>E.coli</i> entéroinvasif	Enfant < 5ans, adulte, voyageur Patients immunodéprim	Colon	Shigellose/ dysenterie bacillaire, potentiel SHU	Humain, animal, aliment, eau	Réhydratation , antibiotique	Absence (invasif)	<i>ipaH, ial, stx</i>	O28, O29, O112, O124, O136, O143, O144, O152, O159, O164, O167 (HNM)	Van den Beld et Reubsæet 2012, Schroeder et Hilbi 2008
EAEC <i>E.coli</i> entéroagréatif	Adulte	Intestin grêle et/ou colon	Diarrhée du voyageur, SHU (<i>stx+</i>)	Aliment, Adulte occasionnelle -ment	Réhydratation antibiotique	Formation en briques empilées et/ou invasif	<i>aggA, aggR, aap pic, pAA</i>	O3, O15, O44, O86, O77, O111, O127	Huang et al., 2006 . Harrington et al., 2006 Johnson & Nolan, 2010
	Enfant		Diarrhée persistante		Réhydratation antibiotique, potentiel probiotique				

ETEC <i>E.coli</i> entérotoxigène	Patient immunodéprimé enfant < 5ans, voyageurs	Intestin grêle	Diarrhée aqueuse et persistante	Aliment, eau, humain, animal	Fluoroquino- lones, Réhydratation , antibiotique	Facteur de colonisation (FC)	CF, LT, STa	O6, O8, O11, O15,O20, O25, O27,O78, O128,O148, O149,O159, O173	Qadri et al, 2005
DAEC <i>E.coli</i> à adhérence diffuse	Enfant (cas plus sévères entre 18 mois et 5 ans). Adulte	Intestin (localisation incertaine)	Diarrhée aqueuse abondante Peut contribuer au développen ent de la maladie de Crohn	inconnu	Réhydratation	Adhésion diffuse et/ou invasive	Gène de l'opéron <i>dra</i> (<i>Afa/Dr</i>)	O1,O4,O6, O17,O75, O77	Servin, 2014
AIEC <i>E.coli</i> à adhérence invasive	Adulte et enfant	Intestin grêle	Maladie de Crohn	Inconnu	Antibiotique, intervention chirurgicale	Absence (invasif)	Non identifié	O2, O6	Nash et al, 2010

^a : seulement pour les *STEC* LEE-positifs, pas pour les *STEC* LEE-négatifs.

^b : antigène H parfois absent ou non exprimé.

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique.

Eae : *E.coli* attaching and effacing.

Bfp : bundle-forming pilus.

Stx : shiga-toxine.

IpaH : invasion plasmid antigen H.

Ial : invasion-associated locus.

aggA, *aggR*: AraC-like transcriptional activator A/R.

aap : accumulation-associated protein.

Pic : serine protease.

Paa : virulence plasmid.

CF : colonization factor.

LT : heat-labile toxin.

ST : heat-stable toxin.

Afa/Dr : famille « Dr blood group antigen adhesin ».

Chapitre II

E. coli productrice de shigatoxines (STEC)

II.1 Définition d'*E. coli* productrice de shigatoxines (STEC)

Historiquement, ces souches sont connues sous le nom de *E. coli* vérotoxigène (VTEC) reflétant la capacité de cette toxine à induire des changements morphologiques dans les cellules de culture tissulaire de vero (une lignée de cellules rénales de singe vert africain) in vitro qui dans le passé était couramment utilisé comme test diagnostique. Aux fin de cet examen, les STEC et les VTEC sont traités comme des synonymes et les STEC seront la terminologie a privilégié [30].

Après l'infection, différents résultats peuvent se produire. Ceux-ci incluent le portage asymptomatique du micro-organisme, la diarrhée légère, ou la colite hémorragique, et le syndrome urémique hémolytique (SHU). Cette dernière représente la plus grave manifestation d'une infection à STEC, habituellement chez les enfants, les personnes âgées et les patients immunodéprimés [31].

Le SHU est caractérisé par une anémie hémolytique et thrombocytopenie, il est la principale cause d'insuffisance rénale chez les enfants, entraînant la mort de 2 à 7% des cas [31].

Différents sérotypes d'*E. coli* producteurs de ces Shiga toxines et responsables de flambées épidémiques ont été identifiés et répertoriés dont les plus fréquents sont : O157:H7, O26 :H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28 et O104:H4 [32].

II.2 Epidémiologie

Les *Escherichia coli* producteurs des Shiga toxines (STEC) sont considérées comme des pathogènes émergents en santé publique. Les premières épidémies associées au sérotype O157 :H7 ont été décrites en 1982 aux Etats-Unis, et la transmission par voie alimentaire a été rapportée lors d'investigation de cas d'infections humaines [33].

II.2.1 Réservoirs

➤ Les animaux domestiques :

Les ruminants sont reconnus comme principaux réservoirs de STEC en particulier O157 [34]. Comme pour les humains, les ruminants sont exposés aux STEC par l'intermédiaire d'aliments et d'eau potable contaminés ou par l'exposition aux matières fécales d'autres animaux qui excrètent la bactérie [35].

Chez les ruminants, les bovins sont considérés comme les plus importants réservoirs des STEC.

Selon Mayer-Broseta et al, la synthèse de 26 études épidémiologiques a montré une prévalence des troupeaux laitiers positifs pour la recherche de sérotype O157 :H7 de 7 à 8% en moyenne aux Etats-Unis et de 0 à 3% en Europe [36].

Les chevaux ne sont pas considérés comme des réservoirs de STEC en raison de leur faible prévalence chez cette espèce, mais devraient être considérés comme une source potentielle d'infection [37].

Il a également été signalé que la volaille domestique, comme le poulet, le canard et les dindons, était porteuse de STEC [34].

Toutefois, il ne faut pas négliger l'importance des animaux de compagnie dans l'épidémiologie de STEC, plusieurs infections cliniques dues à l'exposition canine et féline ont été signalées [38].

➤ **Les animaux sauvages :**

Le nombre d'épidémie de STEC associées à la consommation de fruits et de légumes contaminés par des matières fécales d'animaux sauvages augmente. (Selon l'Organisation mondiale de la santé,2016).

Il est important d'étudier la prévalence des STEC chez les exploitants urbains et les animaux sauvages qui peuvent transmettre la bactérie à l'homme par contact direct et\ou indirect [34].

➤ **Réservoirs émergents :**

De nombreuses études ont signalé la présence de STEC O157 et non O157 dans le poisson frais et les mollusques, et crustacés, ainsi que leurs produits prêts à consommer sur les marchés [39].

II.2.2 Transmission

Les analyses des épidémies de STEC principalement causées par *E.coli* O157:H7 ont établi trois principales voies de transmission:

- Transmission d'origine alimentaire et hydrique.
- Transmission interhumaine.
- Contacts avec des animaux.

➤ **Transmission d'origine alimentaire :**

La contamination de la viande par les STEC par les matières fécales de bovins à lieu pendant l'abattage ou la transformation de la viande et constitue la principale voie par laquelle ces agents

pathogènes pénètrent dans la chaîne alimentaire. Les matières fécales sont également la source de STEC dans les produits laitiers. Par conséquent, la consommation d'aliments crus ou insuffisamment cuits d'origine bovine, en particulier de bœuf haché (hamburgers) et de lait non pasteurisé, est le moyen de transmission le plus courant de *E.coli* O157: H7 [34].

Récemment, des légumes et des fruits, probablement contaminés par du fumier de bétail lors de la récolte ou de la transformation, ont été impliqués dans la transmission de *E.coli* O157: H7 [40].

➤ Transmission d'origine hydrique :

La consommation d'eau de puits, d'eau de source privée et d'eau de distribution non traitées a été à l'origine de cas isolés d'infection et d'épidémies à *E.coli* productrice des Shiga toxines.

L'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades dans un lac, ou dans une autre étendue d'eau naturelle, ou dans une piscine a souvent été incriminée [41].

➤ Transmission interhumaine :

La transmission interhumaine reste limitée à des cas particuliers comme dans les crèches, le milieu familial suite à la contamination d'un proche. En raison de la faible dose infectieuse de *E.coli* O157: H7, une transmission fécale orale de personne à personne peut facilement se produire dans des situations de mauvaise hygiène et de contacts étroits [42].

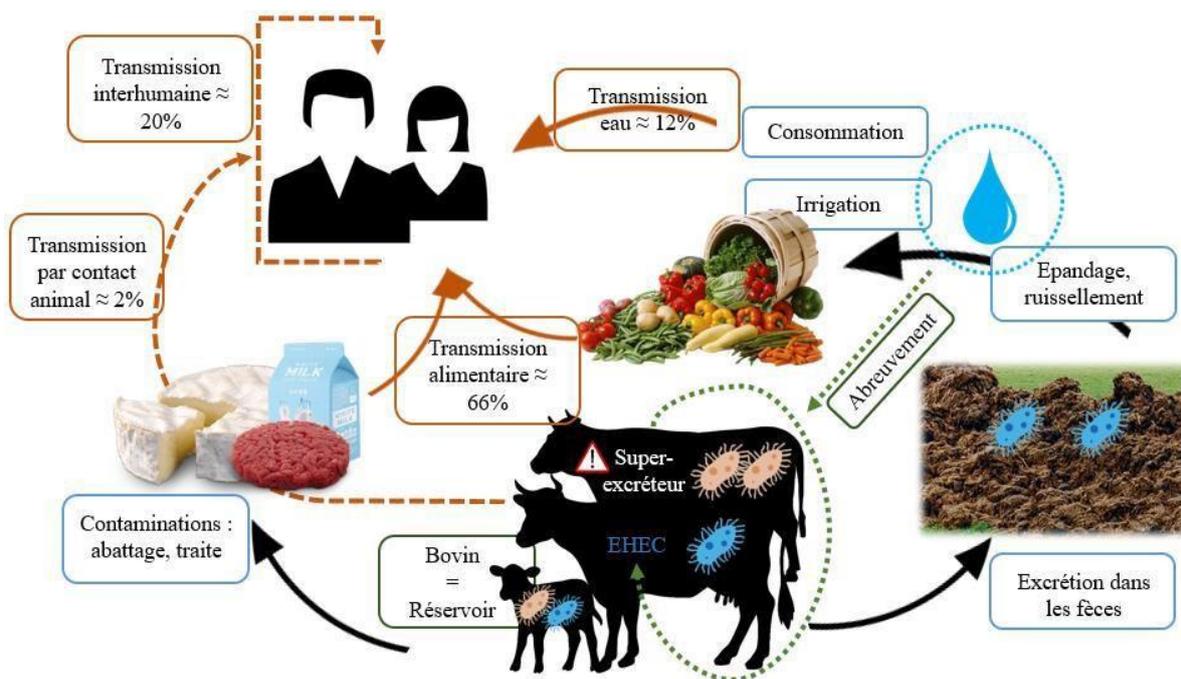


Figure 3 : Schéma des modes de transmission des *E.coli* entéro-hémorragiques (EHEC).[42]

II.2.3 Les données épidémiologiques

Depuis les années 80, les infections à *Escherichia coli* producteurs de Shiga toxines (STEC) représentent un problème de santé publique en Amérique du Nord et en Europe [43].

La plupart des épidémies ont été liées à des souches classiques de *EHEC*, et particulièrement au sérotype O157:H7, portant les gènes *eae* et *stx*. [44].

➤ Epidémiologie dans le monde :

En France, une surveillance nationale de ces infections a été initiée en 1996. Elle est basée sur la surveillance des cas de SHU chez l'enfant de moins de 15 ans et repose sur une notification par les services hospitaliers pédiatriques à santé publique France.

La plus grande épidémie à STEC observée en France est survenue en 2005. Elle avait été causée par des steaks hachés surgelés contaminés par les O157:H7. Soixante-neuf cas, dont 57 enfants âgés de moins de 13 ans, avaient été identifiés. En 2018 et en 2019, deux petites épidémies (de 14 à 17 cas) sont survenues chez des enfants de moins de 5 ans. Ces épidémies étaient toutes deux liées à de la consommation de fromages au lait cru contaminés par STEC O26:H11. [45].

En 2019, 71% de ces cas de SHU pédiatriques étaient âgés de moins de 3 ans, le taux d'incidence observé dans cette classe d'âge (5.8\100000 habitants en 2019) était le plus élevé depuis le début de la surveillance en 1996 [46].

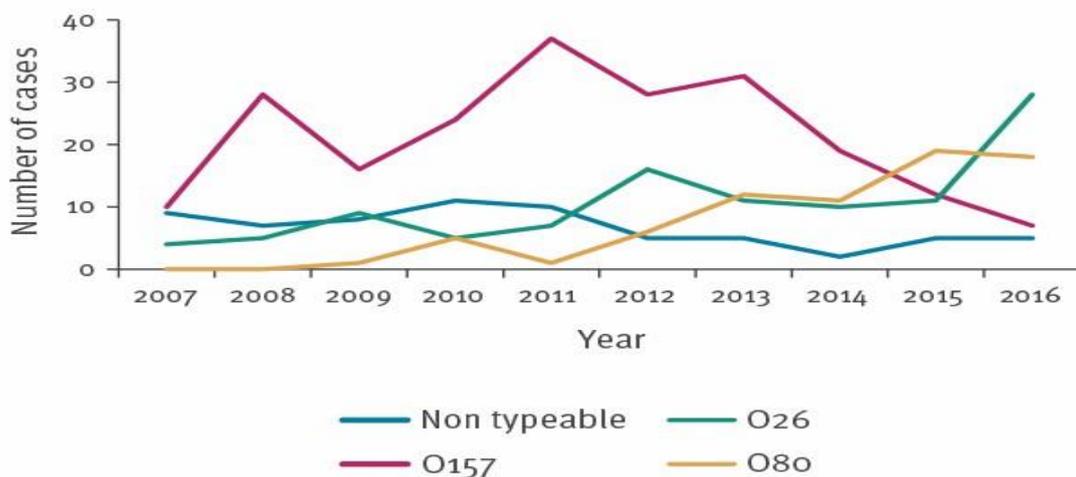


Figure 4 : Principaux sérogroupes d'*E.coli* producteurs de shigatoxines à l'origine du syndrome hémolytique et urémique pédiatrique identifiés dans les selles, France, 2007-2016 [47].

En 2017, 124 cas de *STEC* ont été diagnostiqués en Belgique par le CNR (nombre de cas rapportés de 1.1 pour 100000 habitants) [48].

Tableau 4 : Nombre de cas de STEC, nombre de cas de STEC rapportés pour 100000 habitants, nombre de cas de SHU et proportion de cas de SHU entre 2011 et 2018. (Source : CNR pour STEC, UZ Brussel) [48].

Années	Nombre de cas de STEC	Cas rapportés/100000 habitants	Nombre de cas de SHU (%)
2011	99	0,9	13 (13,1)
2012	104	0,9	15 (14,4)
2013	115	1	19 (16,5)
2014	86	0,8	5 (5,8)
2015	96	0,9	20 (20,8)
2016	114	1	23 (20,2)
2017	124	1,1	24 (19,5)
2018	112	1	19 (17,0)

Ces infections à STEC sont plus fréquentes Durant l'été, comme observé lors des années précédentes [48].

353 des souches d'*E.coli* ont été analysées en Tunisie, et une souche de référence (STEC O157:H7) a été utilisée comme témoin. Parmi ces 353 souches, 11.7% d'EHEC ont été identifiés.

La prévalence la plus élevée d'EHEC était chez les enfants de 1 à 2 ans [49].

➤ Epidémiologie en Algérie :

Les premières recherches sur *Escherichia coli* EHEC ont été initiées au niveau de l'Institut Pasteur d'Alger en partenariat avec le laboratoire national de référence en microbiologie des aliments de l'Université de Liège en Belgique [50].

363 carcasses d'ovins ont été échantillonnées dans un abattoir de la ville d'Alger pour la recherche des STEC. Les souches isolées sont des *E.coli* O26 [2].

II.3 Physiopathologie

La dose infectante est extrêmement faible, de moins d'une centaine de micro-organismes, ce qui peut certainement faciliter la transmission et expliquer le rôle des STEC dans de nombreuses épidémies d'origine alimentaire [33].

II.3.1 Facteurs de virulence

II.3.1.1 Les Shiga toxines

La virulence du pathogène est associée tout d'abord à sa production de toxines responsables des manifestations cliniques. Ces toxines sont très similaires à la toxine produite par la "*Shigella dysenteriae* 1" et sont ainsi appelées Shiga-toxine [33].

➤ Structure et mode d'action des Shiga toxines (stx) :

Cette famille de toxines possède une sous unité AB5 conservée, composée d'une sous unité A activé liée à une sous unité B pentamérique responsable de la liaison de la toxine aux récepteurs glycolipidiques spécifiques sur la surface des cellules cibles. L'opéron *stx* se trouve habituellement dans un bactériophage inducible lysogène de type Lambda [51].

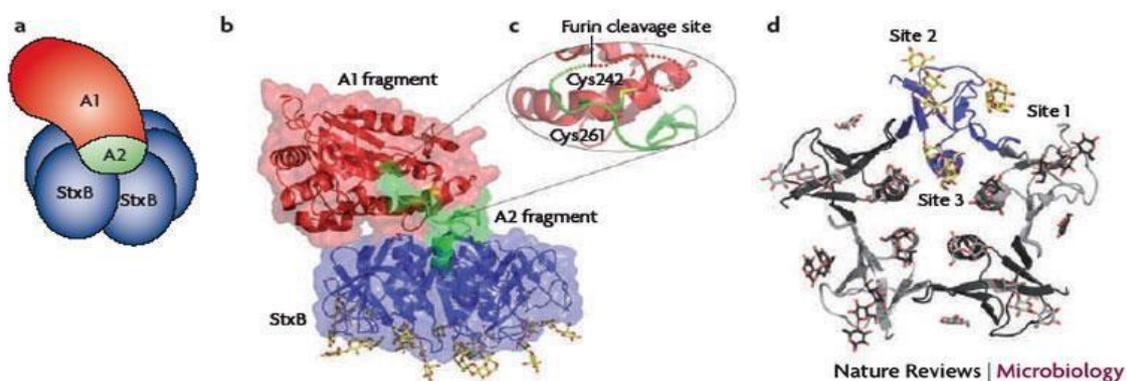


Figure 5 : Représentations schématiques de la structure des toxines Stx [52].

- (a) Structure schématique des shiga-toxines exprimées par les STEC et les EHEC.
 (b) Diagramme de Ribbon montrant le site de fixation de la sous unité StxB au Gb3.
 (c) Site de clivage de la sous unité StxA du pentamère StxB entre la Cys242 et la Cys261. (d) Diagramme de Ribbon montrant le pentamère de sous unité StxB orienté vers la membrane et montrant les trois sites de fixations au Gb3.

Les stxs inhibent la synthèse des protéines en éliminant un résidu d'adénine de l'ARNr 28s du ribosome 60s. Cependant, à coté de cette activité, des études ont décrit que *stx* agit également sur la transduction du signal cellulaire et sur la modulation immunitaire provoquant des réponses pro-inflammatoire et pro-apoptotiques [51].

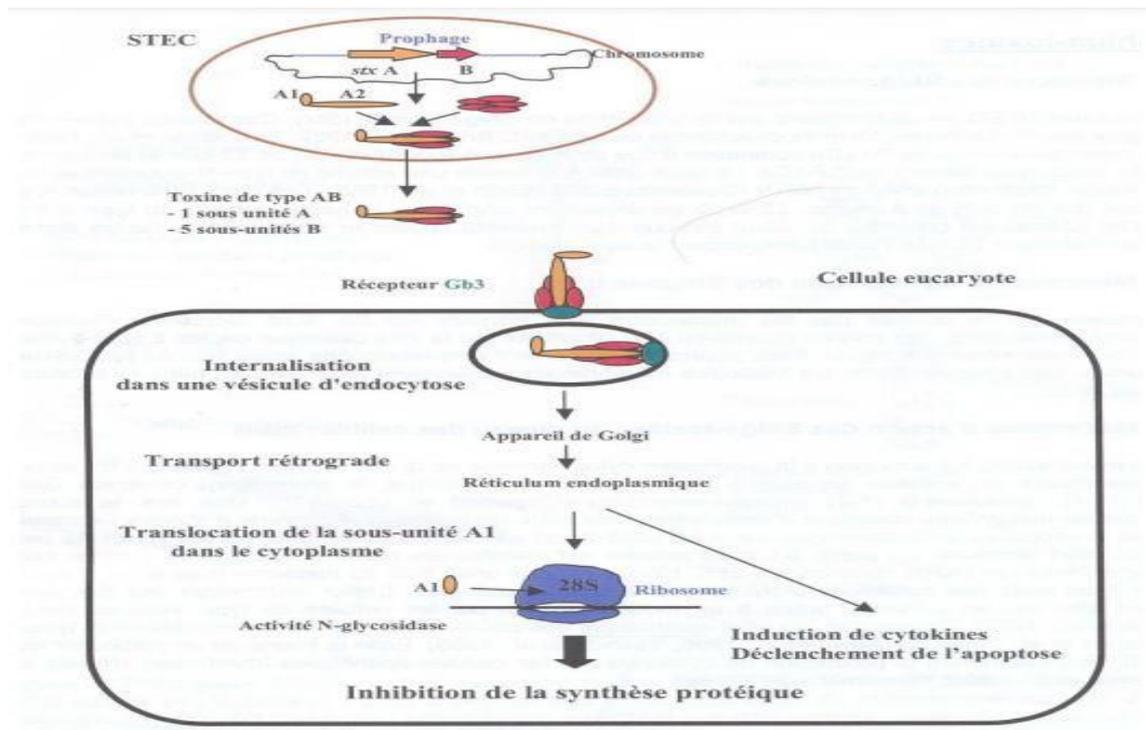


Figure 6 : Mécanisme d'action des Shiga-toxines [52].

➤ Les sous types de Shiga toxines :

Deux familles principales : *stx1* et *stx2* ont été reconnues, et sur la base de la diversité de séquence, chacun est composé de plusieurs variants. La famille *stx1* est plus homogène et comprend *stx1a*, *stx1c*, et *stx1d*, tandis que le groupe hétérogène *stx2* est composé de *stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, et *stx2g*.

Il convient de mentionner que l'association de certaines variants telles que *stx2a*, *stx2c* ou *stx2d* avec SHU a été mise en évidence par rapport à certains autres qui semblaient plus liées à des cas de diarrhées simples telles que les variantes *stx1* ou encore *stx2e*, *stx2f* et *stx2g* qui sont rarement à l'origine d'infections humaines jusqu'à présent [51].

Tableau 5 : Incidence des variants *stx* sur l'homme [53].

Variant du gène <i>stx</i>	Pathologie	Sources animales (fèces) ou humaine
<i>stx1a</i>	Diarrhées sans SHU chez l'homme	Bovins, ovins, chamois, chevreuils, sangliers, renards, homme, effluents d'origine humaine, bovine
<i>stx1c</i>	Faibles diarrhées chez l'homme	Ovins, chèvres, chevreuils, sangliers, chamois, bovins, homme
<i>stx1d</i>	Pas ou peu virulente chez l'homme	Bovins, ovins, chèvres, homme
<i>stx2a</i>	Cas sévères de SHU chez l'homme	Bovins, ovins, cerfs, chevreuils, eaux usées urbaines, effluents d'origine bovine et humaine
<i>stx2b</i>	Diarrhées chez l'homme	Ovins, chamois, chevreuils, sangliers, cerfs, homme rarement
<i>stx2c</i>	Cas sévères de SHU et CH chez l'homme	Bovins, chevreuils, sangliers, hommes, effluents d'origine humaine, bovine
<i>stx2d</i>	Cas sévères de SHU et CH chez l'homme	Bovins, ovins, homme, effluents d'origine humaine
<i>stx2e</i>	Rares cas d'infection chez l'homme chez le porc	Porcs, sangliers, renards, effluents d'origine urbaine, bovine, porcine, eaux usées urbaines
<i>stx2f</i>	Rares cas d'infection chez l'homme	Pigeons, homme, effluents d'origine humaine
<i>stx2g</i>	Pas de cas d'infection chez l'homme	Sangliers, renards, chevreuils, effluents d'origine bovine

II.3.1.2 Les facteurs d'adhésion

Escherichia coli exprime un certain nombre d'adhésines fimbriales et non fimbriales, qui sont impliqués dans l'attachement [30].

➤ Locus de l'effacement des entérocytes (LEE) :

Pour les souches EHEC, l'attachement semble être principalement médié par l'adhésion des protéines de la membrane externe « intimin » codé par le gène *eae* localisé dans une pathogénicité chromosomique de ~35 kb appelée le locus de l'effacement des entérocytes (LEE) [30]. Cette île est également présente dans les isolâtes appartenant au pathotype EPEC [51].

Il y a 41 gènes situés sur l'île de pathogénicité du LEE, dévisés en 5 opérons, nommés LEE1 à LEE-5. Les régions 1,2 et 3 codent le système sécrétoire de type III (T3SS) qui transfère les effecteurs de protéines bactériennes dans l'entérocytes. LEE-4 contient le gène *EspABD* codant les protéines translocatrices, formant un canal par le quel T3SS est capable de fournir des protéines aux cellules hôtes (fixation et effaçage). Les gènes d'adhésion sont situés dans LEE-5, y compris le récepteur d'intimin translocaté (TIR), *eaeA* pour Intimin, et ces T pour le Chaperon de TIR [33].

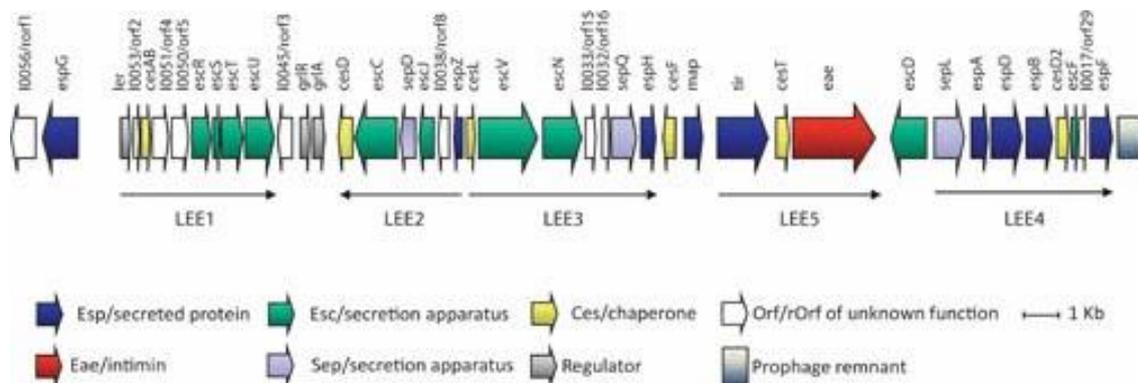


Figure 7 : Structure du LEE d'*E. coli* O157 :H7 [54].

➤ Adhésion au cours des lésions A/E : Attachement-effacement :

Le processus de fixation implique l'induction des lésions caractéristiques de fixation et d'effacement (AE) dans la surface luminale des cellules intestinales hôtes. La formation d'une lésion AE nécessite un TIR (Récepteur d'intimine translucide), ce récepteur est transféré dans la cellule hôte par un système de sécrétion de type III (T3SS), qui fournit la structure complexe nécessaire pour couvrir les membranes de la cellule hôte et permettre l'entrée des effecteurs bactériens dans le cytoplasme de cette cellule. [51].

➤ **L'intimine :**

Le gène *eae* est un des principaux gènes conservés au sein du LEE et code pour l'intimine, une protéine de la membrane externe bactérienne impliquée dans l'adhésion étroite de la bactérie à l'entérocyte. Plusieurs variants d'intimine ont été identifiés. Ces différents variants seraient impliqués dans le tropisme cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène [55].

➤ **Le plasmide :**

Les *E.coli* O157:H7 possèdent un plasmide de virulence hautement conservé appelé pO157, dont la taille varie de 93,6 à 104 kb. Ce plasmide est également présent chez des souches O26:H11 et dans la majorité des STEC isolées chez les humains. Pour ces sérotypes, la taille du plasmide de virulence peut varier de 70 à 200 kb.

Des études épidémiologiques suggèrent une forte corrélation entre la présence du plasmide de virulence des EHEC et le développement du SHU chez les patients.

La structure du pO157 est dynamique et comprend différents éléments génétiques mobiles tels que des transposons, des prophages, des séquences d'insertion (IS) ainsi que des parties d'autres plasmides. Les gènes les mieux décrits sont : le gène d'entérohémolysine A (*ehxA*), d'adhésine putative (*toxB*), de la catalase-peroxydase (*katP*), d'une sérine protéase (*espP*), d'un appareil du système de sécrétion de type II (*etp*), d'une zinc metalloprotéase (*stcE*), et d'un fragment conservé *eae* (*ecf*) [56].

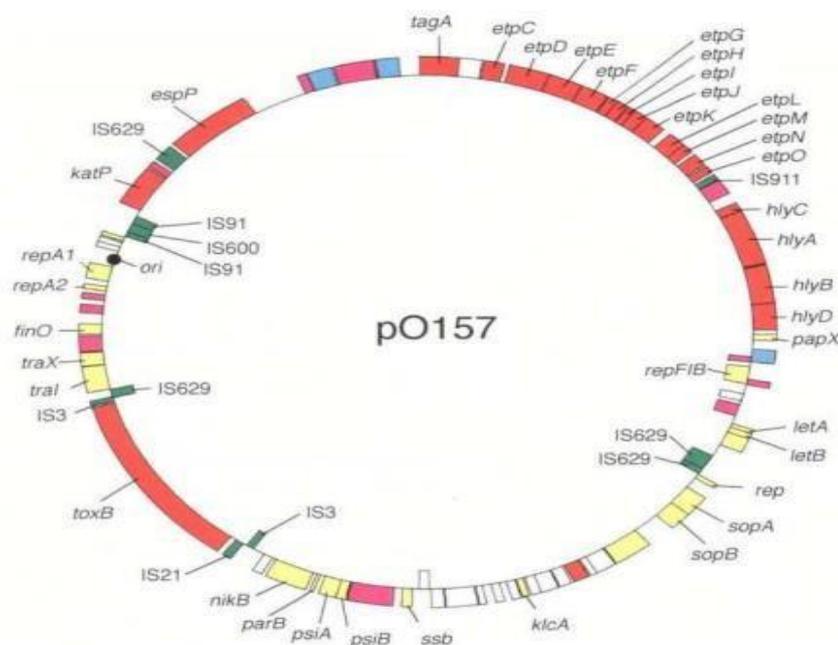


Figure 8 : Carte d'un plasmide de virulence d'une EHEC O157:H7 (pO157) [56].

Les séquences ouvertes de lecture (ORFs) du pO157 sont classées en six catégories : les facteurs de virulence (en rouge), les facteurs de maintien et de transfert du plasmide (en jaune), les séquences d'insertion (IS) (en vert), des gènes codant pour d'autres fonctions (en bleu), des gènes hypothétiques (en pourpre), et des gènes dont les séquences ne présentent pas d'homologie avec celles déjà référencées (incolores) [56].

Entérohémolysine A (ehxA) :

Un gène situé dans le plasmide pO157 responsable de la destruction des globules rouges par son insertion dans le cytoplasme cellulaire et la production des pores. *Ehx* agit également comme un mécanisme important pour la survie des bactéries ; car la destruction des GR libère du fer, qui améliore la multiplication de ces bactéries [33].

II.3.2 Mode d'action de la toxine

La plupart de nos connaissances sur la pathogénicité du STEC proviennent de la recherche sur les souches d'*E.coli* O157 :H7, car il s'agit de la souche la plus couramment isolée chez les patients atteints de SHU et elle est donc considérée comme représentative des souches d'EHEC. Chez l'homme, la présentation clinique de la colonisation intestinale par *E.coli* O157 :H7 va du portage asymptomatique, en passant par la diarrhée non sanglante à la colite hémorragique et au syndrome urémique hémorragique (SHU) qui peut conduire à une thrombocytopénie, une anémie hémolytique et finalement une insuffisance rénale [30].

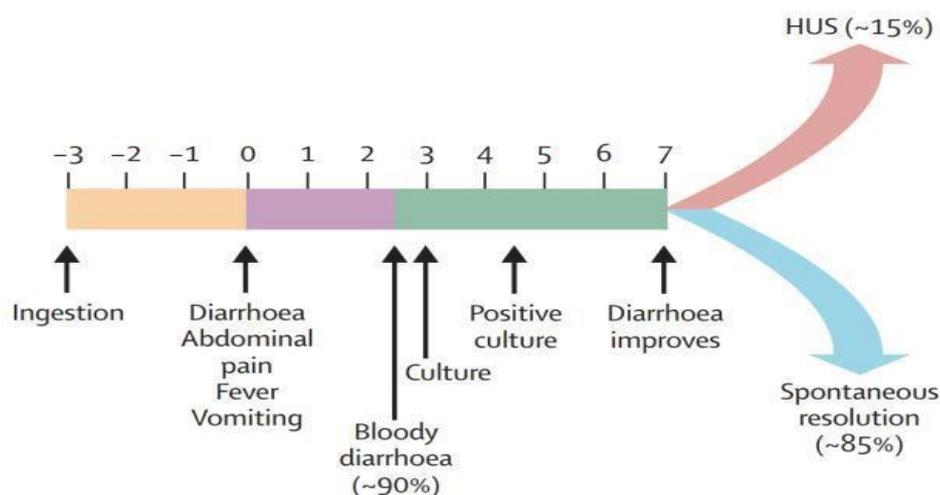


Figure 9 : Evolution d'une infection à O157 :H7 chez un enfant [53].

Libérées dans la lumière intestinale, les Shiga toxines traversent l'épithélium intestinal et rejoignent la circulation sanguine. Elles peuvent être transportées par les hématies et les polynucléaires neutrophiles pour diffuser jusqu'aux différents organes cibles.

Ces organes étant particulièrement sensibles aux toxines en raison d'une forte concentration en récepteurs glycolipidiques Gb3. De la même manière, ces récepteurs glycolipidiques Gb3 sont davantage exprimés chez l'enfant, ce qui en fait une population à risque [32].

Ces lésions se situent principalement au niveau intestinal, rénal et neurologique [33].

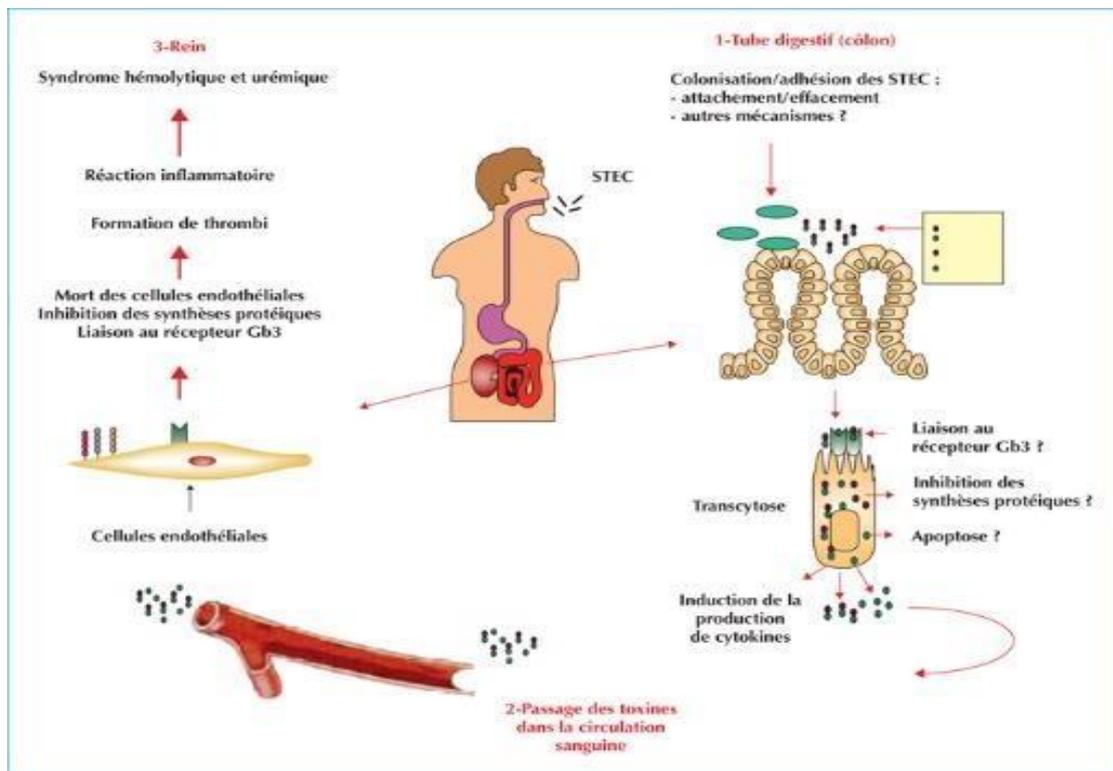


Figure 10 : Processus infectieux des STEC [53].

II.4 Manifestations cliniques

II.4.1 Incubation

La période d'incubation est variable, allant de 2 à 10 jours avec une moyenne de 3 à 4 jours [33].

II.4.2 Période de contagiosité

L'excrétion dans les selles dure plus d'une semaine chez l'adulte, et 3 semaines voir plus chez l'enfant. Le sujet est contagieux pendant cette période [32].

II.4.3 Les symptômes

Les infections à STEC causent un éventail de maladies allant du portage asymptomatique à la colite hémorragique et au syndrome urémique hémolytique (SHU). Dans 80% à 90% des cas de culture positive, la diarrhée devient grossièrement sanglante 2 à 3 jours après l'apparition des selles

liquides [57], accompagnées de violentes crampes abdominales de nausées et de vomissements. La fièvre est absente ou pas élevée [32].

En l'absence de complication, cette phase dure en moyen 2 à 5 jours avant la résolution symptomatique. L'hospitalisation est nécessaire chez 23% à 47% des patients symptomatiques avec diarrhée aiguë, la durée médiane séjour à l'hôpital est de 6 à 14 jours [57].

II.4.4 Les complications

Dans 5 à 10 % des cas, des complications surviennent, en général au cours de la deuxième semaine de l'infection, sous formes d'un micro-angiopathie thrombotique. La forme classique est le syndrome hémolytique et urémique. Les lésions vasculaires sont situées principalement au niveau rénal, puis au niveau neurologique. La thrombopénie est absente chez 15 à 20 % des patients [32].

➤ **Syndrome hémolytique et urémique (SHU) :**

Les patients (surtout des enfants) atteints de SHU-STEC présentent de la fatigue, de la pâleur, des étourdissements, parfois des pétéchies et des ecchymoses, de l'essoufflement, de l'œdème, et une diminution du volume d'urine (oligurie). Au moment de l'admission, la plupart des enfants ont une triade complète de thrombocytopenie, une anémie hémolytique mécanique, et des lésions rénales aiguës [58] marquées par une hématurie et/ou protéinurie [33].

A la phase aiguë, environ 60% des patients ont besoin d'une dialyse et 80% d'une transfusion de GR [58].

➤ **Purpura thrombotique thrombocytopenique (PPT) :**

La purpura thrombotique thrombocytopenique (PPT) est une autre forme de microangiopathie thrombotique, principalement retrouvée chez l'adulte. La présentation clinicobiologique est proche de celle du SHU, mais la diarrhée prodromique est souvent absente [32].

Les organes les plus touchés sont généralement le cerveau, les yeux et le colon [33].

II.5 Diagnostic bactériologique

Le diagnostic repose d'une part sur la mise en évidence de la bactérie dans les selles par des méthodes phénotypiques et biochimique et d'autre part sur la détection des gènes de virulence (*stx* et *eae*).

II.5.1 Prélèvement et transport

Le diagnostic des infections à STEC est difficile, ces bactéries étant rapidement éliminées du tube digestif. La quantité présente dans les selles est très faible (< 10² UFC/g de selles), surtout au moment du SHU. Une étude réalisée a montré qu'au cours d'un SHU, le recueil des selles doit s'effectuer au maximum 4 à 6 jours après le début des prodromes digestifs pour que l'analyse soit contributive [31].

Les selles peuvent être recueillies également par écouvillonnage rectal, les patients admis pour SHU présentant souvent un arrêt du transit intestinal. Le prélèvement doit être fait avant toute prise d'antibiotique et doit être transporté rapidement au laboratoire, ou conservé à +4 °C et envoyé dans un milieu de transport si l'analyse n'est pas réalisée sur place [59].

II.5.2 Culture

Les STEC n'ont pas de propriétés biochimiques communes permettant leur isolement sur un milieu particulier sauf le sérotype O157 :H7 qui ne fermente pas le sorbitol et ne possède pas de β -D-glucuronidase [60].

Par conséquent plusieurs milieux chromogéniques comme le CHROMagar STEC™ ont été développés afin de pouvoir isolés les souches O157 atypiques et les non O157 [61].

Il est indispensable de réaliser un enrichissement des selles avant la culture [60].

➤ Milieux d'enrichissement :

L'efficacité d'un protocole d'enrichissement repose sur les paramètres suivants : la température, le temps d'incubation et la nature du bouillon d'enrichissement [56].

Plusieurs milieux d'enrichissement ont été testés quant à leur efficacité dans la récupération des cellules blessés et pour la réduction de la microflore qui les accompagne. Les milieux de base les plus couramment utilisés sont le bouillon de trypticase soya (TBS), l'eau peptonée tamponnée (EPT), le bouillon d'*E.coli* (EC) et le bouillon de Brila (CB), qui peut être complétée par de la novobiocine, de la céfixime, du telluride de potassium, de la vancomycine, de l'acriflavine pour supprimer la croissance du microbiote d'accompagnement [33].

➤ Milieu Sorbitol MacConkey :

La gélose Sorbitol MacConkey est une gélose MAC où le lactose a été remplacé par le sorbitol pour améliorer la sélectivité pour les O157 :H7 (sorbitol-).

Avec cette gélose, des STEC O157 :H7 ont pu être détectées dans des fèces de patients infectés avec une sensibilité de 100% et spécificité de 85%. Cependant, d'autres *E. coli* et entérobactéries telles que *Proteus spp*, et *Aeromonas spp* sont sorbitol-, par conséquent l'ajout de céfixime (contre *Proteus*) améliore la sélectivité des géloses SMAC [56].

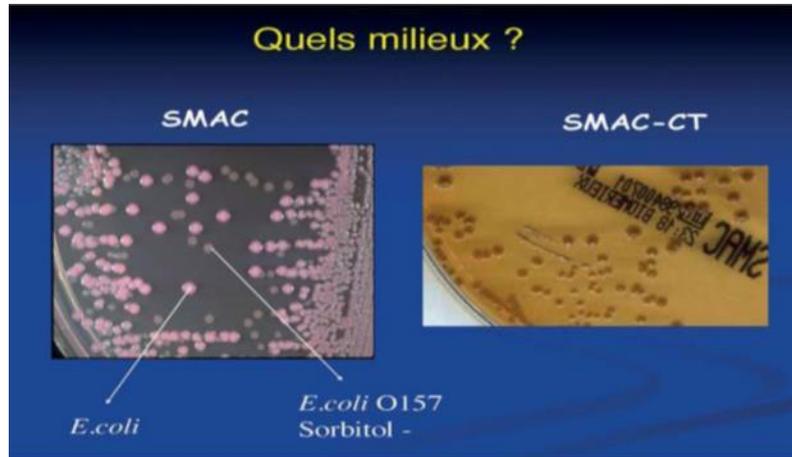


Figure 11 : Méthodes phénotypiques de détection de *E. coli* O157 :H7 [62].

Pour l'isolement du STEC O26, l'utilisation de Rhamnose-MacConkey agar (RMAC) est préférable, en raison de l'incapacité de cette souche à fermenter le Rhamnose [57].

➤ **Milieu CHROMagar STEC™ :**

CHROMagar STEC™ est un milieu de dépistage avec un taux de récupération du STEC de 70% il sélectionne les STEC résistants au tellurite.

Les sérotypes de STEC couramment associés à une maladie grave à l'échelle mondiale (O26, O45, O103, O111, O121, O145 et O157) peuvent facilement être isolés sur CHROMagar STEC [61].

Sur cette gélose, les sérotypes *STEC* qui ne sont associés qu'à des infections humaines graves forment des colonies mauves, d'autres entérobactéries forment des colonies bleues ou incolores, tandis que la croissance des bactéries gram positives sont inhibées sur ce milieu [63].

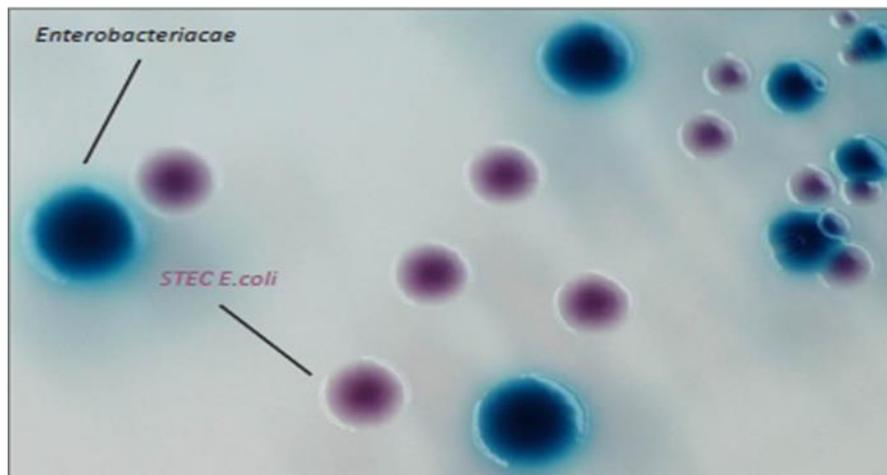


Figure 12 : Apparence des colonies typiques [64].

CHROMagar STEC™ peut considérablement améliorer la détection de STEC avec sa propriété de fluorescence sous lampe UV (365 nm), les STEC O157 sont non fluorescent, par contre les non O157 qui sont +/- fluorescent [64].

II.5.3 Recherche des facteurs de virulence

➤ Biologie moléculaire :

Les méthodes fondées sur la PCR sont les approches les plus appropriées pour détecter les STEC dans les selles. La détection des gènes codant pour les shigatoxines *stx1* et *stx2* est le seul véritable discriminant entre le STEC et les autres *E. coli* [65].

De très nombreux systèmes PCR ont été décrits. Les gènes de virulences *stx* (*stx1*, *stx2* et variants) et *eae* peuvent être recherchés simultanément ou séparément [60].

Les tests PCR en temps réel surmontent l'étape de l'électrophorèse sur gel et présentent l'avantage que la PCR est combinée à l'hybridation par sonde génique, assurant ainsi un test de détection quantitatif, plus spécifique et très rapide [66].

L'inconvénient général des tests moléculaires ciblés est qu'on ne trouve que ce qu'on cherche. Les amorces et les sondes sont sélectionnées pour des séquences génétiques connues spécifiques, de sorte qu'elles pourraient ne pas détecter les formes altérées (mutées) des gènes et ne pas détecter les changements phénotypiques [57].

➤ Immunochromatographie :

De nombreux tests immunologiques sont disponibles pour la détection de STEC directement sur les selles ou sur des cultures sélectives de selles. La plupart de ces tests détectent *stx1* et *stx2* [57].

Ces tests donnent un résultat en 15 min. Ils sont communément appelés « Tests en une étape ». La préparation de l'échantillon et les phases d'enrichissement varient d'un kit à l'autre [57].

Les méthodes immunologiques en « Une étape » sont très employées par les industriels ; du fait de leur rapidité d'exécution et de leur simplicité. Le dispositif consiste en un support plastique contenant une membrane imprégnée de particules d'or ou de latex recouverte d'anticorps spécifiques d'*E.coli* O157 :H7, un puits pour l'échantillon et une fenêtre de test de contrôle [67].

➤ **Tests immunoenzymatiques :**

Un certain nombre de ces tests immunoenzymatiques indirects et directs liés à la capture d'antigènes sont disponibles dans le commerce sous forme de trousse d'essai pour une gamme d'applications dans la détection de STEC dans les selles, y compris pour la surveillance des aliments Certaines de ces trousse d'essai font état de résultats quantitatifs et qualitatifs [68].

En 2016, la mise au point de nouveaux anticorps a été décrite en fonction de tous les soustypes connus de *stx1* et de *stx2*, ce qui a considérablement augmenté la sensibilité de la méthode ELISA pour les souches de STEC [69].

Ils génèrent un résultat en 2 heures en microplaque après une phase d'enrichissement (le plus souvent d'une durée de 24 heures). Pour les systèmes ELISA, les anticorps spécifiques d'*E. coli* O157 :H7 sont fixés au fond des puits de microplaques. L'aliquote du bouillon d'enrichissement est déposé dans ces puits. Après incubation et une série de lavages, un anticorps "révélateur" antiO157 est ajouté pour détecter le couple anticorps-bactéries [67].

➤ **Détermination des sérogroupes (agglutination) :**

Le sérotypage des souches par agglutination des colonies à l'aide des sérums spécifiques est souvent pratiqué par les laboratoires de biologie médicale, en raison de sa simplicité mais les sérums commercialisés ne couvrent pas tous les sérogroupes, et il peut y avoir des agglutinations non spécifiques du fait de réactions croisées [47].

C'est une agglutination passive des principaux sérogroupes STEC : O26, O103, O111, O121, O145, O157. [70].

➤ **Sérologie :**

Au cours d'une infection due aux STEC, les patients développent des anticorps anti-LPS. La détection des IgM et des IgA anti LPS dans le sérum peut être une alternative au diagnostic du SHU lié au STEC lorsque la recherche de STEC dans les selles est négative en raison d'un prélèvement tardif ou d'un traitement antibiotique [32].

Le diagnostic sérologique doit être réalisé sur un sérum précoce et un sérum tardif (le plus souvent 2 à 3 semaines après le premier), afin de rechercher une augmentation du titre des anticorps attestant l'infection. Cependant un titre élevé, même sur un seul sérum, peut parfois être un indicateur fiable d'une infection récente à *E. coli* O157 [71].

II.6 Prise en charge du patient

IV.6.1 Traitement

Actuellement, il n'existe aucun traitement pour prévenir le SHU suite à une infection à STEC. Le traitement thérapeutique du SHU repose sur le suivi des complications qu'il engendre, notamment le suivi de la fonction rénale et de la thrombocytopénie. La protection de la fonction rénale est assurée par des dialyses. Des transfusions sanguines et de plaquettes peuvent être envisagées en cas d'anémie et de thrombocytopénie [59].

➤ **Antibiotiques et ralentisseurs du transit :**

Au stade de la diarrhée à STEC, les ralentisseurs du transit et les antibiotiques bactéricides tels que les β -lactamines, ciprofloxacine par relargage des shigatoxines lors de la lyse bactérienne augmentent le risque de SHU, ce qui ne semble pas être le cas pour les antibiotiques non bactéricides tels que les nitroimidazolés.

L'azythromycine (de même que méropenem, rifaximin, tigecycline), n'entraîne pas de libération de shigatoxines in vitro [72].

➤ **Eculizumab :**

Eculizumab (Soliris®) est un anticorps monoclonal humain anti C5 qui inhibe sélectivement l'activation terminale du complément, c'est le premier traitement approuvé pour le SHU atypique chez l'enfant et les adultes [73].

Néanmoins, il est connu comme l'un des médicaments les plus chers au monde et le traitement d'un patient peut coûter jusqu'à un demi-million d'euros, et son efficacité à long terme reste discutée [74].

➤ **Anticorps monoclonaux anti-stx :**

L'administration à des souris modèles de SHU à STEC d'anticorps monoclonaux anti-*stx2* dans les 3 jours suivant l'administration orale de doses létales de STEC ou de *Stx2* protège l'animal des complications hématologiques et rénales.

La bonne tolérance d'anticorps monoclonaux anti- *Stx1* et anti- *Stx2* chez des adultes sains et des enfants atteints de colite à STEC a été démontrée. Un essai de phase II est en cours en Amérique du Sud, testant l'efficacité d'anticorps anti- *Stx1* et anti- *Stx2* chez des enfants ayant une diarrhée hémorragique à STEC, en prévention du SHU [72].

IV.6.2 Mesures d'hygiène

Les personnes les plus susceptibles de contracter une maladie d'origine alimentaire et de développer des complications, sont les femmes enceintes, les nouveau-nés, les enfants, les personnes âgées et les personnes dont le système immunitaire est affaibli, comme les personnes atteintes de cancer, de diabète ou du VIH/sida.

Pour cela il est important de pratiquer une bonne hygiène,

○ Lavage des mains :

- Lavez-vous soigneusement les mains après être allé aux toilettes et avoir changé des couches.
 - Lavez-vous soigneusement les mains avant et après avoir préparé ou mangé des aliments.
 - Lavez-vous soigneusement les mains après avoir été en contact avec des animaux ou leur environnement (dans les fermes, les zoos pour enfants, les foires, même votre propre arrière-cour).
 - Lavez-vous soigneusement les mains avant de préparer et de donner des biberons ou des aliments à un nourrisson ou à un tout petit, avant de toucher la bouche d'un nourrisson ou d'un tout-petit et avant de toucher des sucettes ou d'autres objets qui entrent dans la bouche d'un nourrisson ou d'un tout petit.
 - Gardez propres tous les objets qui entrent dans la bouche des nourrissons et des tout-petits (tels que les sucettes et les jouets de dentition).
 - Si du savon et de l'eau ne sont pas disponibles, utilisez un désinfectant pour les mains à base d'alcool contenant au moins 60 % d'alcool (vérifiez l'étiquette du produit pour vous en assurer). Ces produits à base d'alcool peuvent rapidement réduire le nombre de germes sur les mains dans certaines situations, mais ils ne remplacent pas le lavage au savon et à l'eau courante.
- Bien laver les fruits et les légumes sous l'eau courante, sauf si l'emballage indique que le contenu a déjà été lavé.
- Bien cuire les viandes.

- Ne pas causer de contamination croisée dans les zones de préparation des aliments. lavezvous soigneusement les mains, les comptoirs, les planches à découper et les ustensiles après avoir touché de la viande crue.
- Évitez le lait cru, les produits laitiers non pasteurisés et les jus non pasteurisés.
- N'avalez pas d'eau lorsque vous nagez et lorsque vous jouez dans des lacs, des étangs, des ruisseaux, des piscines et des piscines pour enfants. [75].

Partie pratique

Objectif de notre recherche :

L'étude a été effectuée au niveau du Laboratoire des Entérobactéries et autres bactéries apparentées au niveau de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) de Dely Brahim, durant une période de 5 mois du 01/01/2022 au 31/05/2022.

Nous avons effectué une étude prospective multicentrique afin de répondre aux objectifs suivants :

- **Objectif principal** : Recherche et identification des *Escherichia coli* productrices des Shiga toxines dans les selles.
- **Objectifs secondaires** : évaluation du milieu CHROMagar STEC™ pour la recherche des STEC dans les selles et sa comparaison au milieu Sorbitol Mac Conkey

1 Matériel et méthodes

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel biologique

➤ Les selles :

Au total 110 prélèvements de selles ont été analysés pour la recherche des STEC et l'évaluation du milieu CHROMagar STEC™,

- 80 prélèvements de selles humaines pathogènes (cas).

Critères d'inclusion :

- Age : tout âge.
- Selles d'aspect diarrhéique, sanguinolante, glaireuse, et glairo-sanguinolante.
- Suspicion de SHU.
- Aucune prise préalable d'antibiotiques.
- 30 prélèvements de selles humaines de personnes non malades (témoins).

Critères d'inclusion :

- Age : tout âge.
- Aucun signe clinique de pathologie entérique.
- Analyse dans le cadre d'une enquête de portage.
- Aucune prise préalable d'antibiotiques.

Ces prélèvements ont été répartis selon leurs provenance (Annexe 1).

➤ **Les souches :**

Nous avons utilisé 60 souches (30 souches STEC et 30 souches des *E.coli* non STEC et autres entérobactéries) pour la comparaison du milieu CHROMagar STEC™ au milieu Sorbitol Mac Conkey. (Voir l'annexe 2).

1.1.2 Matériel non biologiques

Le matériel non biologique utilisé durant notre étude est consigné en (Annexe 3)

- Afin de réaliser l'étude statistique de comparaison et d'évaluation des milieux de culture, nous avons utilisé le logiciel libre de calcul OpenEpi®.

OpenEpi® : (<https://www.openepi.com/DiagnosticTest/DiagnosticTest.htm>).

1.2 Méthodes

❖ Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour l'identification des STEC (milieu CHROMagar STEC, Mac Conkey Sorbitol, et TBS) sont préparés selon les recommandations du fournisseur. (Voir l'annexe 4).

1.2.1 Recherche des STEC

➤ **Recueil des prélèvements :**

Les prélèvements ont été réalisés par les patients, et déposés au niveau des laboratoires cités dans des pots propres et opaques.

➤ **Mode de transport :**

- Les prélèvements reçus au niveau du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées ont été analysés directement.
- Les autres prélèvements provenant des différents laboratoires ont été transportés à +4 °C soit directement ou après une conservation de 24h à +4°C, ou à -20°C si la conservation été plus long (2 ou 3 jours).

➤ **Préparation des suspensions :**

Mettre en suspension une noix de selle dans un tube d'eau physiologique puis vortexer afin d'homogénéiser la suspension.

➤ Culture et enrichissement :

- Prélèvement à l'aide d'une pipette pasteur de quelques gouttes de la suspension préparée et ensemencer dans une boîte de milieu CHROMagar STEC™ et une boîte de milieu SMAC par technique des quatre quadrans.
- Et pour l'enrichissement, déposer 1 ml de la suspension dans le milieu TBS.
- Incubation à l'étuve 18-24h à 35°C.
- Faire une première lecture des milieux STEC D et SMAC D
- Vortexer le milieu TBS et faire une deuxième culture sur les deux milieux (STECI et SMACI).
- Incubation en étuve 18-24h à 35°C.
- Faire une lecture des milieux STECI et SMACI.

➤ Lecture :

- Sur milieu STEC : recherche des colonies mauves.
- Sur milieu SMAC : recherche des colonies transparentes sorbitol (-).
- Sur milieu TBS : observation d'un aspect trouble.

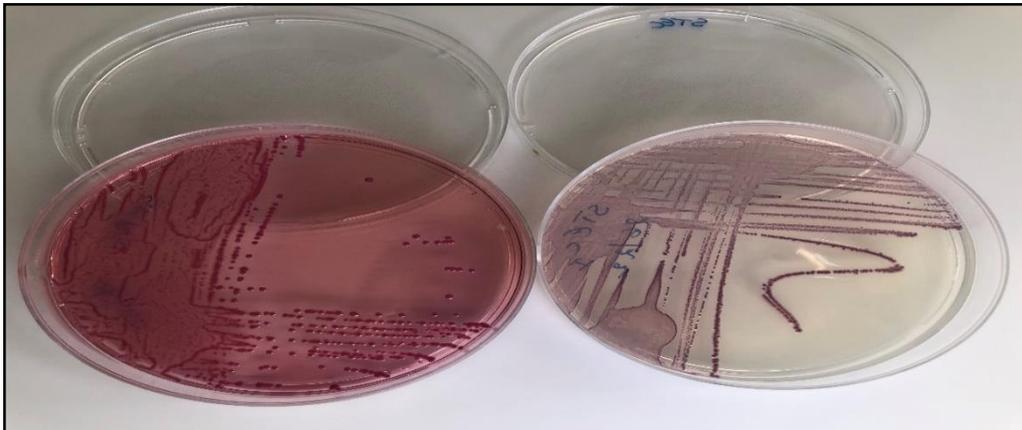


Figure 1 : Aspect des colonies sur milieu SMAC et STEC respectivement.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

➤ Repiquage TSI/Urée :

Afin de faire une identification, les colonies mauves poussées sur milieu STEC sont repiquées sur milieu TSI/Urée.

➤ **Lecture :**

- La coloration jaune de TSI explique la fermentation de lactose, saccharose, et glucose.
- Le décollement de gélose signifie la production de gaz.
- Pas de virage de la couleur du milieu Urée/Indol signifie une uréase négative
- Pour la recherche de la production d'Indol, on ajoute le réactif Kovacs, la formation d'un anneau rouge signifie un Indol positif.



Figure 2 : Aspect des STEC sur milieu TSI/Urée.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

➤ **Identification biochimique Api 20E :**

Voir l'annexe 5.

➤ **Test d'agglutination STEC (O157 et non O157) :**

- Pour l'identification des *E. coli* O157 (colonies transparentes sur SMAC et colonies mauve sur STEC), on dépose quelques colonies sur une lame en verre et on ajoute le sérum anti-O157. Une agglutination instantanée signe un résultat positif.
- Pour l'identification des *E. coli* non O157 (colonies mauve sur STEC), on utilise les sérums Dry SPOTseroscreen™. On prélève une partie de la colonie suspecte et on la

mélange avec une goutte d'eau physiologique. Le mélange est mis en contact avec les particules de latex. Le test est considéré positif s'il y a formation d'agglutinats.

- Afin d'éliminer les agglutinations non spécifiques, toujours utiliser des contrôles (positifs et négatifs).

➤ **Diagnostic moléculaire (PCR) :**

Réalisation de la PCR multiplex pour la recherche des gènes de virulences (*eae*, *stx1*, *stx2*) est effectué pour les colonies ayant données une agglutination positive (O157 ou non O157).

✓ **Extraction de l'ADN :**

1 - Prendre une colonie purifiée de la souche d'*E. coli* à tester et la faire un enrichissement dans du TBS à 37°C pendant toute une nuit.

2 - Répartir 300 µl du bouillon dans des eppendorfs, puis réaliser une centrifugation à 4 500 tours/minute.

3 - Récupérer le culot, ajouter 100 µl d'eau distillée stérile, puis chauffer à 100°C pendant 10 minutes.

4 - Centrifuger une seconde fois pendant 30 secondes, puis récupérer le surnageant contenant l'ADN et le transférer dans des tubes pour PCR.

✓ **Amplification :**

Cette étape consiste en la préparation d'un Mix en ajoutant des amorces sens et anti-sens pour chaque gène recherché, nous avons effectué une PCR multiplex recherchant simultanément les trois gènes cibles : *eae*, *stx1* et *stx2*.

Préparation du Mix :**Tableau 1** : Protocole du Mix pour une PCR multiplex.

Réactifs	Volume (1 échantillon)
Master Mix Amlitarq Gold 360 Buffer	12,5 µl
360 GC enhancer	2 µl
AmorceB52	1 µl
Amorce B53	1 µl
Amorce B54	1 µl
Amorce B55	1 µl
Amorce B56	1 µl
Amorce B57	1 µl
Eau distillée stérile	1,5 µl
Total	22 µl

Après préparation du mix, ajout de 3 µl d'extrait d'ADN de chaque prélèvement dans le tube correspondant pour un volume final de 25 µl, mise au thermocycleur avec un programme adapté de 1h44 minutes.

La dernière étape de la PCR est l'étape de révélation par électrophorèse.

- Préparation d'un mélange de : 3 µl d'eau distillée avec 2 µl de bleu et 10 µl d'extrait amplifié, ce qui fait un total de 15 µl déposé dans le puit du gel.
- Un puits pour le marqueur de taille.
- Brancher l'électrophorèse à 100 V pendant 30 à 45 minutes.
- Retirer le gel et mise en chambre noire pour lecture sous rayons UV à la recherche de bandes fluorescentes.

➤ **Antibiogramme :**

L'antibiogramme est réalisé sur milieu MH, selon les recommandations du CLSI 2022 (Clinical Laboratory Standards Institute).

A partir d'une culture pure et jeune, préparer une suspension bactérienne dans de l'eau physiologique dont la densité est équivalente à 0.5 McFarland.

Tremper l'écouvillon dans l'inoculum, puis presser contre la paroi interne du tube afin d'éliminer l'excédent de liquide retenu dans l'écouvillon.

Ensemencer l'inoculum bactérien par des stries serrées en trois fois, en tournant la boîte de 60°C. Puis nous avons terminé en passant l'écouvillon deux fois autour de la boîte.

Déposer à la surface de la gélose, les disques d'ATB. (Voir annexe 6).

Après une incubation de 18-24h à 35°C, on fait la lecture par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Les diamètres mesurés seront comparés aux valeurs critiques.

I.2.2 Evaluation des milieux de culture STEC et SMAC

➤ Préparation des suspensions bactériennes :

A partir d'une culture bactérienne pure des souches testées, nous avons préparé une suspension de 0.5 McFarland.



Figure 3 : Mesure d'une suspension de 0.5 McFarland par un densitomètre.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

➤ **Culture :**

- Ensemencement de 10µl (2 gouttes) de la suspension préparée sur les milieux CHROMagar STEC™ et SMAC.
- Incubation à l'étuve 18-24h à 37°C.

➤ **Lecture :**

- Sur milieu CHROMagar STEC™ : présence ou absence des colonies mauves.
- Sur milieu SMAC : présence ou absence des colonies transparentes.

➤ **Conservation des souches :**

Après identification et confirmation, la souche sera conservée dans des tubes de conservation et des cryotubes.

Dans des cryotubes scellés marqués, nous avons préparé une suspension des colonies de 5ml de B.H.I.B (les colonies seront prises d'une culture jeune et pure) additionnée de 5ml de Glycérol. Les cryotubes sont mis dans des cryobox et placés au congélateur à -20°C.

Ensuite, nous avons prélevé des colonies à l'aide d'une pipette pasteur et fait une piqure centrale dans les tubes de milieu de conservation.

2 Résultats

2.1 Recherche des STEC

2.1.1 Répartition des prélèvements

➤ **Répartition des prélèvements selon l'aspect des selles**

Les 110 prélèvements des selles analysées ont été répartis selon leurs aspects (**figure 4**).

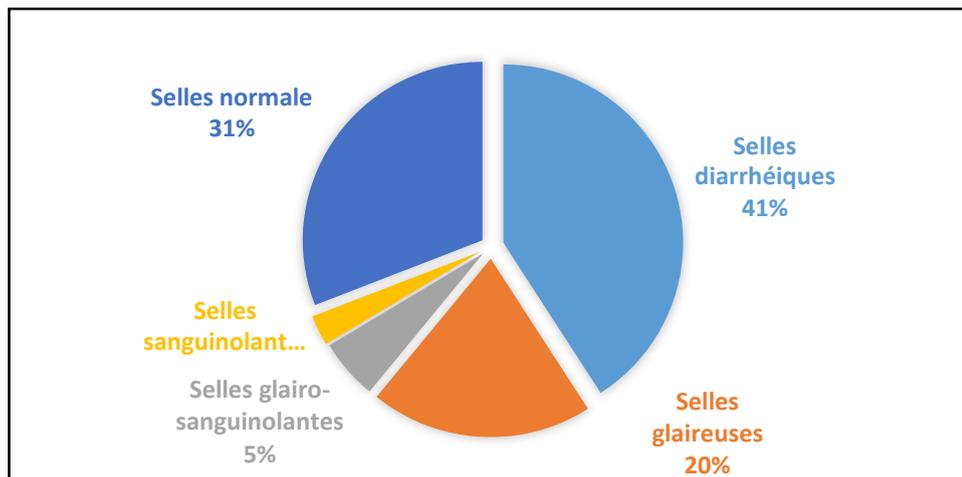


Figure 4 : Répartition du 110 prélèvement selon leurs aspects.

➤ **Répartition des prélèvements selon l'âge et le sexe**

Le sexe ratio des prélèvements (H/F) est de 0.77. L'âge est compris entre 01 mois et 83 ans. (Voir **Figure 5**).

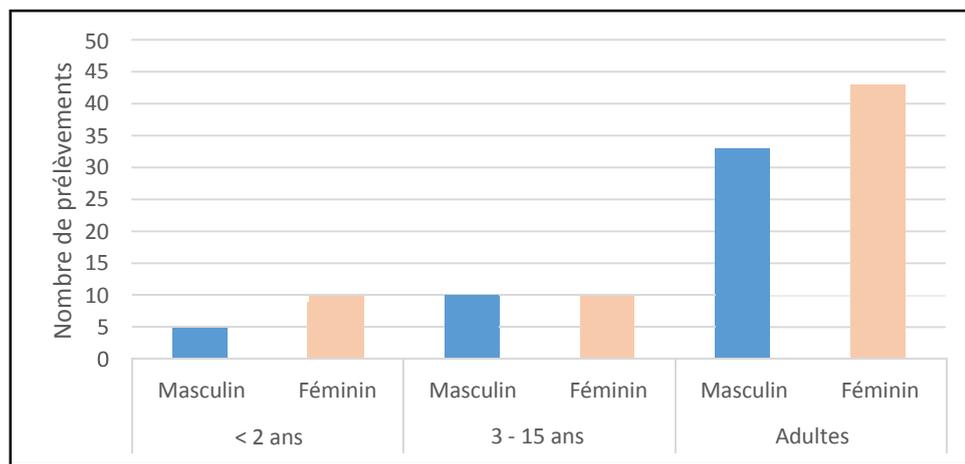


Figure 5 : Répartition du 110 prélèvement selon l'âge et le sexe.

➤ **Répartition des prélèvements selon l'apparition des colonies mauve sur milieu STEC**

Parmi les 110 prélèvements ensemencés, 35 ont donnés des colonies mauves, et sont réparties selon l'aspects des selles et l'âge dans la **figure 6**

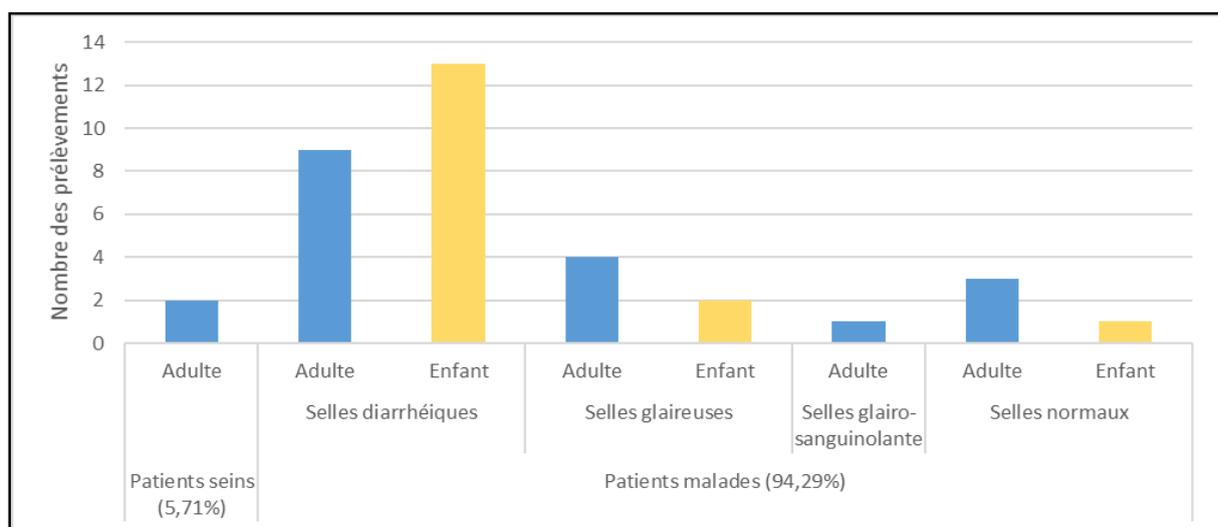


Figure 6 : Répartition des 35 prélèvements ayant donnés des colonies mauves selon l'âges et l'aspects des selles.

Les résultats de ces prélèvements sont détaillés dans (l'annexe 7).

2.1.2 Prévalence de cas positive

Parmi les 35 prélèvements cités précédemment, l'identification des STEC a été positive pour un seul prélèvement, soit 0.9% des cultures positives. (**Voir Figure 7**).

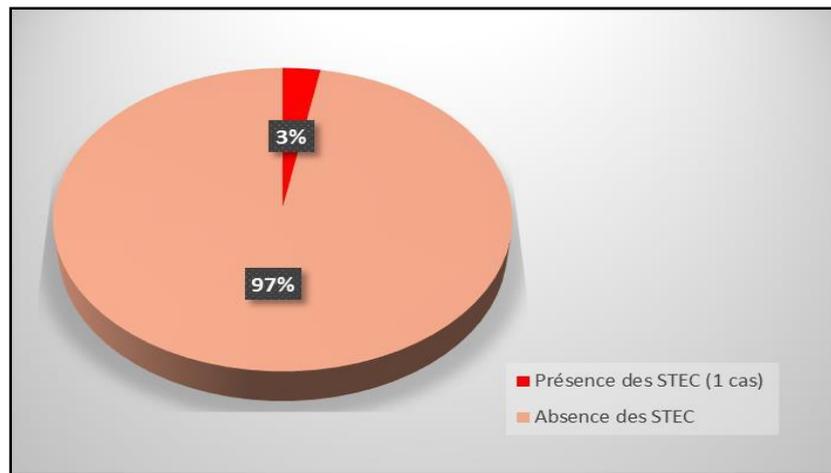


Figure 7 : Répartition des échantillons selon la présence et l'absence des STEC.
(N= 35 échantillons).

2.1.3 Les résultats du cas positif

Durant notre recherche, une seule souche positive a été isolée à partir d'un prélèvement de selle diarrhéique verdâtre d'aspect glaireux, provenant du laboratoire Dr. RENDJA à Blida.

Il s'agit d'un enfant de 10 ans qui présente les signes cliniques indiqués dans la fiche de renseignements. (Annexe 8).

➤ Lecture après isolement

A partir de la suspension de selles, la lecture est la suivante :

- ✓ **Sur les deux milieux STEC et SMAC : (Voir Figure 9).**

Tableau 2 : Lecture sur milieu STEC et SMAC de la souche positive.

Prélèvement	STEC (D)	SMAC(D)	STEC (I)	SMAC (I)
57/22	Colonie mauve (Figure 8)	Colonies roses sorb (+)	Colonies bleu	Colonies rose sorb (+)

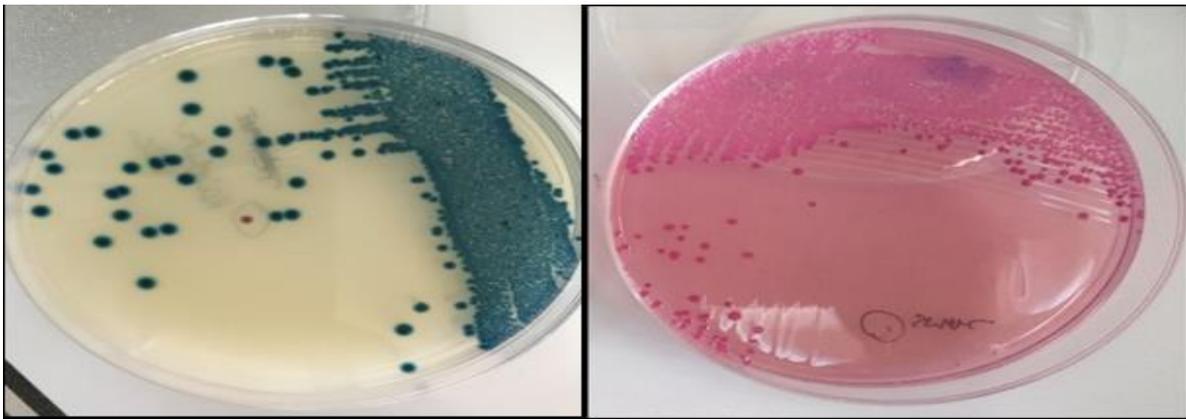


Figure 8 : Aspect des colonies sur milieu STEC(D) et SMAC(D) respectivement de la souche positive.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

✓ **Galerie Api 20E :**

L'identification biochimique de la souche par galerie Api 20^E a donné les caractères suivants.

(Figure 9)



Figure 9 : Aspect de la galerie Api 20E de la souche positive.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées IPA).

Lecture : [5044542] = *E. coli*.

✓ **Test d'agglutination :**

L'agglutination a été fait à partir d'un réisolement pur de la souche sur CHROMagar STECTM. (Voir **Figure 10**).

Agglutination (+) pour *E.coli* et *E.coli* O145.



Figure 10 : Aspects de l'agglutination avec le sérum *E. coli* et *E. coli* O145.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

➤ **Recherche des gènes de virulence par la biologie moléculaire :**

Après amplification des gènes *eae*, *stx1* et *stx2*, la révélation par électrophorèse a montré la présence du gène *stx1*. (**Figure 11**).



Figure 11 : Aspect de bande positif pour le gène *stx1*.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

✓ Sensibilité aux antibiotiques :



Figure 12 : Sensibilité aux antibiotiques de la souche positive.
(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

SERTOTYPE		Lysotype :	
N°...S.F.122... (selle)		E. coli... entérohémorragique	
		O145	
PRELEVEMENT			
Date : 21/03/2022		ATB du :	
Antibiotiques testés	Interprétations	Antibiotiques testés	Interprétations
BETALACTAMINES :		BETALACTAMINES :	
- Ampicilline	10 R	- Augmentin	30 S
- Ticarcilline/	13 R	- Cefoxitine	30 S
- Piperacilline	17 R	- Cefazidime *	30 S
- Cefazoline	23 S	- Cefotaxime	30 S
		- Ceftriaxone	30 S
		- Aztréonam *	30 S
		- Imipenem	30 S
AMINOSIDES :		Antibiotiques testés	
- Kanamycine	22 S	- Sulfamides	<6 R
- Gentamicine	21 S	- Triméthoprime *	<6 R
- Tobramicine	21 S	- Cotrimoxazole	<6 R
- Amikacine	23 S		
QUINOLONES :		S (en noir) : Sensible	
- Ac. nalidixique	25 S	R (en Rouge) : Résistant	
- Pefloxacin * Norfloxacine	30 S	FEP = 32 S	
- Ciprofloxacine *	30 S	AZM = 18 S	
		FOS = 32 S	
		AMO = 08 R	
		MEM = 30 S	
		NET = 24 S	
		SMN = 26 R	
AUTRES :			
- Colistine	14 S		
- Chloramphénicol	30 S		
- Doxycycline } tetracyclines	<6 R		
- Minocycline	<6 R		
- Furanes	18 S		

Figure 13 : Résultat d'antibiogramme pour la souche isolée.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

2- 2 Evaluation du milieu STEC par les prélèvements de selles

Le milieu CHROMagar STEC™ a subi une autre évaluation par 110 prélèvements de selles, 80 selles des patients malades, et 30 selles des patients sains.

Nous avons étudié la validité interne (Sensibilité et spécificité), et externe (Les valeurs prédictives) de ces tests.

Les résultats obtenus à partir de la suspension de selles (D : direct) et après enrichissement (I) tirés de OpenEpi®, version 3, logiciel libre de calcul (Diagnostic des tests) sont les suivants :

➤ **Milieu STEC(D) :**

Critère des positivités : présence **de colonies mauves**.

Tableau 3 : Résultats de l'isolement à partir des suspensions de selles sur milieu CHROMagar STEC™.

	Malade	Non malade	Total
Test (+)	29	2	31
Test (-)	51	28	79

Tableau 4 : Calcul des paramètres d'évaluation sur le milieu CHROMagar STEC™ direct.

Paramètres	Estimations	Inférieur-Supérieur ICs à 95%	Méthode
Sensibilité	36,25%	(26.57, 47.19)	Score de Wilson
Spécificité	93,33%	(78.68, 98.15)	Score de Wilson
Valeur prédictive positive	93,55%	(79.28, 98.21)	Score de Wilson
Valeur prédictive négative	35,44%	(25.8, 46.44)	Score de Wilson

➤ **Milieu STEC(I) :**

Critère des positivités : présence **de colonies mauves**.

Tableau 5 : Résultats de l'isolement des enrichissements des selles sur milieu CHROMagar STEC™.

	Malade	Non malade	Total
Test (+)	26	2	28
Test (-)	54	28	82

Tableau 6 : Calcul des paramètres d'évaluation sur du milieu CHROMagar STEC™.

Paramètres	Estimations	Inférieur-Supérieur ICs à 95%	Méthode
Sensibilité	32,50%	(23.24, 43.36)	Score de Wilson
Spécificité	93,33%	(78.68, 98.15)	Score de Wilson
Valeur prédictive positive	92,86%	(77.35, 98.02)	Score de Wilson
Valeur prédictive négative	34,15%	(24.8, 44.91)	Score de Wilson

2.3 Comparaison des milieux CHROMagar™ STEC et SMAC

Pour la comparaison des milieux, nous avons utilisé 30 souches STEC et 30 souches non STEC (Voir l'annexe 2) ensemencés sur les deux milieux STEC et SMAC.

Différents types des colonies ont poussées. (**Figure 14**).

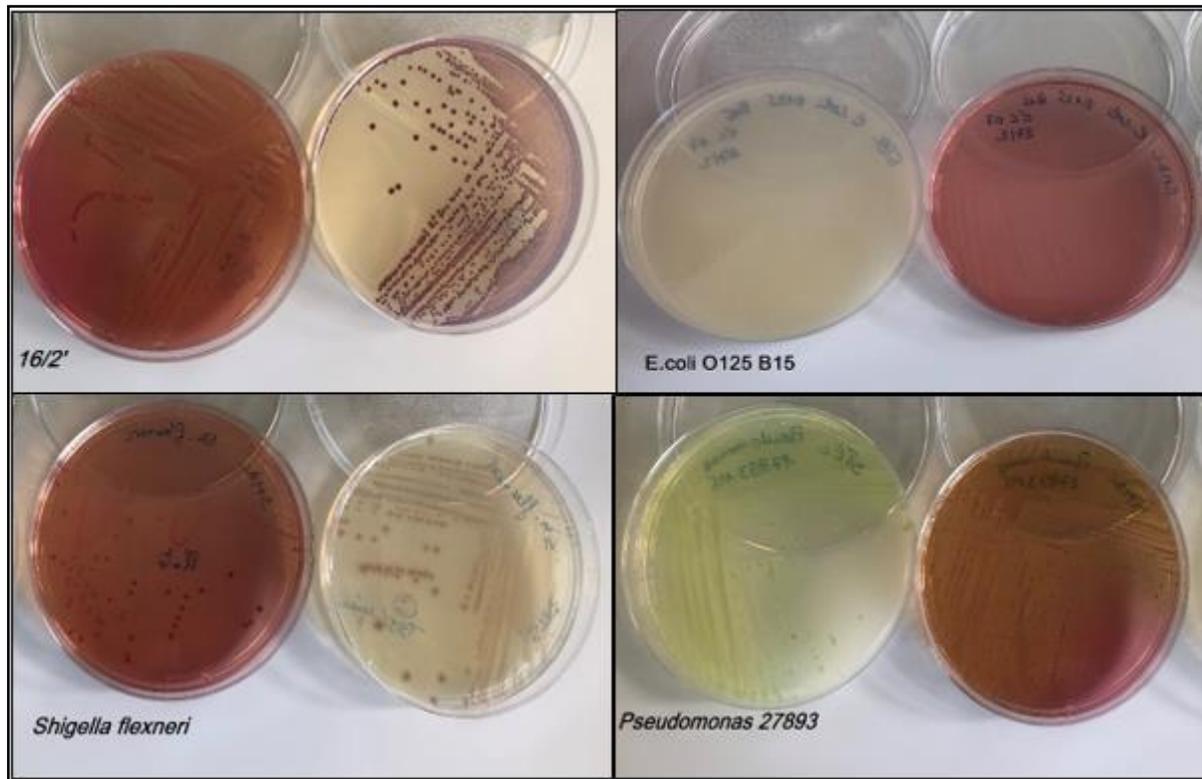


Figure 14 : Les types des colonies obtenues sur milieux STEC et SMAC.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées (IPA)).

Nous avons étudié la validité interne (Sensibilité et spécificité), et externe (Les valeurs prédictives positives et négative) de ces tests.

Les résultats tirés de OpenEpi, version 3, logiciel libre de calcul (Diagnostic des tests) sont les suivants :

➤ **Milieu STEC :**

Critère de positivité : présence **de colonies mauves**.

Tableau 7 : Résultats de l'isolement des souches sur milieu STEC.

	Souches		Total
	STEC	Non STEC	
Test (+)	26	1	27
Test (-)	4	29	33

Tableau 8 : Calcul des paramètres d'évaluation du milieu CHRMagar STEC™.

Paramètres	Estimations	Inférieur-Supérieur ICs à 95%	Méthode
Sensibilité	86,67%	(70.32 - 94.69)	Score de Wilson
Spécificité	96,67%	(83.33 - 99.41)	Score de Wilson
Valeur prédictive positive	96,30%	(81.72 - 99.34)	Score de Wilson
Valeur prédictive négative	87,87%	(72.67 - 95.18)	Score de Wilson

➤ **Milieu SMAC :**

Critère de positivité : présence **de colonies transparentes**.

Tableau 9 : Résultats de l'isolement des souches sur milieu SMAC.

	Souches		Total
	STEC	Non STEC	
Test (+)	12	2	14
Test (-)	18	28	46

Tableau 10 : Calcul des paramètres d'évaluation du milieu SMAC.

Paramètres	Estimations	Inférieur-Supérieur ICs à 95%	Méthode
Sensibilité	40,00%	(24,59 - 57,68)	Score de Wilson
Spécificité	93,33%	(78,68 - 98,15)	Score de Wilson
Valeur prédictive positive	85,71%	(60,06 - 95,99)	Score de Wilson
Valeur prédictive négative	60,87%	(46,46 - 73,61)	Score de Wilson

3 Discussion

3.1 Recherche des STEC

L'objectif principal de notre travail, est la recherche des STEC dans les selles humaines.

Durant notre recherche, nous avons isolé une seule souche STEC, ce qui correspond à une prévalence de 0.9%. Cette faible prévalence peut s'expliquer par plusieurs facteurs, échantillonnage insuffisant (n=110), durée de l'étude 5 mois et en période hivernale comparé à l'étude menée par (**Gouali et al ., 2013,France**) [76] ou la prévalence est de 10,6% avec un échantillonnage important (n= 329) sur une durée d'étude de 14 mois.

La souche isolée appartient au sérotype O145, et porte le gène de virulence *stx1*.

Les *E.coli* O145 ont été parmi les six premiers sérotypes non O157 isolés chez les patients atteints de syndrome hémolytique et urémique (SHU) [77]. Et selon le même auteur plusieurs épidémies de SHU à *E.coli* O145 ont été signalées au Japon et Etats-Unis.

Cette souche porte le gène de virulence *stx1* et le patient n'a pas présenter de complications, selon plusieurs études (**A.R.Melton-Celsa et al.,2014, American**) [78] (**Adrien Joseph et al.,2020, France**) [79] la présence du gène de virulence *stx2* est associée avec l'apparition de complications graves de l'infection .

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de la souche isolée, montre une résistance au cotrimoxazole (triméthoprim-sulfaméthazol), tetracyclines, ampicilline et ticarcilline. Ces memes profils de résistances sont similaires à ceux signalés par (**Kennedy et al., 2017,Ireland**) [79] et (**Kalule et al.,2018, South Aferica**) [80] et (**Claudia Carolina Carbonari et al., 2022,Argentine**) [81].

3.2 Evaluation du milieu CHROMagar STEC par les prélèvements des selles

Pour cette évaluation, nous avons travaillé à partir de selles, et nous avons obtenu la même sensibilité et spécificité du milieu CHROMagar STEC™ à partir du STEC(D) ou STEC(I) (après enrichissement), ce résultat ne correspond pas à celui décrit par (**M.Gouali et al.,2013,Frane**) qui a démontré dans son étude sur 329 selles, que le milieu CHROMagar STEC™ donne de meilleurs résultats après une étape d'enrichissement par TCS (Trypticase Caséine Soja) [76].

Ceci peut s'expliquer par le nombre d'échantillons testés plus faible.

Sensibilité et la spécificité du milieu CHROMagar STEC™ a partir des selles est de elle a baissé considérablement par rapport à la première évaluation a partir des souches ce qui peut être expliquer par la présence des autres pathovars et serotypes d'*Ecoli* et qui n'ont pas été tester avec les souches comme décrits dans l'étude de (**Hauswaldt et al ,Allemagne**) .[82]

Nous avons obtenu un résultat faussement positif pour un des prélèvements de selles, avec des colonies mauves pures sur gélose CHROMagar STEC™, après une identification biochimique, cette souche correspondait au *Citrobacter freundii*. Ce même cas a été constaté dans l'étude de **(Ferhat et al.,2019 Alger)** [2], avec une souche de *Citrobacter braakii*.

3.3 Comparaison des milieux CHROMagar STEC et SMAC

La détection et l'isolement des STEC est entravée par l'incapacité de la plupart des milieux de culture disponibles à différencier les O157 et les non O157.

Durant notre étude, soixante isolats dont 30 souches d'*Escherichia coli* productrice de Shigatoxines (16 STEC O157, et 14 STEC non O157), et 30 autres souches (*E.coli* non STEC, *Citrobacter*, *Shigella*, *Sallmonella*,...) ont été utilisé pour la comparaison des deux milieux CHROMagar™ STEC et Mac conkey Sorbitol. Ce même protocole a été utilisé par **(Nathan Zelyas et al.,2016)** [76], et **(J.Hirvonen et al.,2012, Frland.)** [84].

Les résultats obtenus montrent que 86.66% des STEC ont donné des colonies mauves sur CHROMagar STEC, et 3.33% non STEC, ce qui a permis d'obtenir une sensibilité de 86.67% et une spécificité de 96.97%. Ces résultats sont similaires à ceux retrouvés par **(Zelyas et al.,2016, Canada.)** [83] dans une étude réalisée en 2016, avec une sensibilité de 87%, et une spécificité de 84.6%.

Concernant le milieu SMAC, nous avons obtenu une sensibilité et spécificité de 40% et 93.33% respectivement. une étude de **(Brendon et all,2016, cannada)** a décrit une sensibilité et spécificité 85,2% et 85% respictivement,cette grande différence dans la sensibilité s'explique par l'utilisation d'un nombre important de souches O157 par l'auteur dans son étude .[85].

Pour conclure, le milieu CHROMagar STEC™ présente une meilleure sensibilité que le milieu SMAC. Il a été développé pour faciliter la détection des sérotypes de STEC (non O157) les plus couramment associés aux maladies gastro-intestinales graves. L'étude décrite par **(C. Jenkins et al.,2020,England)** confirme que ce milieu est un milieu sélectif utile pour la détection des STEC O157 et non O157 [86].

Conclusion

CONCLUSION

Les *Escherichia coli* productrices de Shiga toxines sont d'une grande diversité, la compréhension du rôle des gènes de virulence, des mécanismes d'action et des réservoirs est d'une importance primordiale pour une prévention et une prise en charge efficaces.

Notre étude a permis d'isoler une souche STEC, première en Algérie, de sérotype O145 qui porte le gène de virulence *stx1* et qui présente des résistances à plusieurs antibiotiques dont l'association sulfaméthoxazole-triméthoprime souvent utilisée dans les protocoles de traitement.

L'utilisation du milieu CHROMagar STEC™ est préconisée dans les protocoles de recherche des STEC à partir des selles, il permet de détecter les STEC O157 et non O157 avec une bonne sensibilité et spécificité, néanmoins une confirmation s'impose par la recherche des gènes de virulence.

Au vu des résultats obtenus, il est important de souligner l'importance de la recherche des différents sérotypes de STEC pathogènes dans les selles humaines car ils constituent un risque permanent pour la santé public.

Annexes

Annexe I :

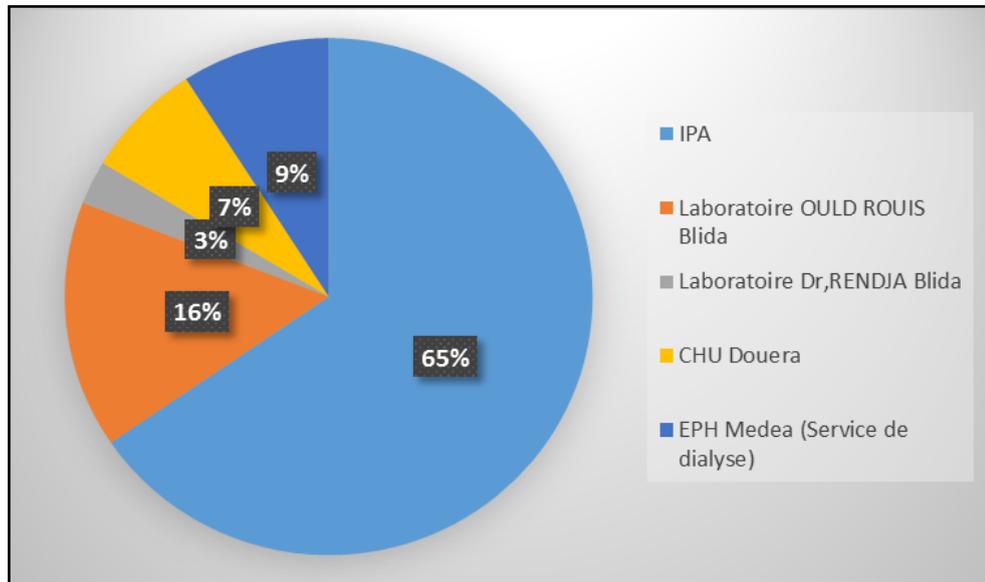


Figure 1 : Provenances des 110 prélèvements des selles.

Annexe II :

Tableau 1: Les souches utilisées pour l'évaluation de milieu STEC.

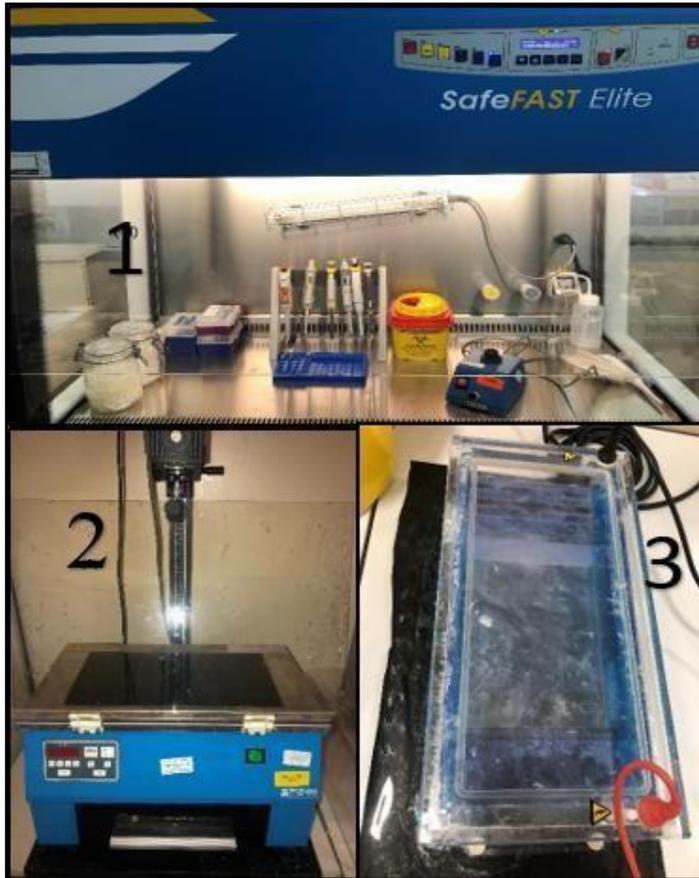
Souches STEC		Souches non STEC			
O157	Non O157	Autres <i>E.coli</i>	Autres bactéries		
			Salmonelle	Shigelle	Autres
ST/03	595	<i>E.coli</i> 25922	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigellasonnei</i>	<i>Enterobactercloacae</i>
ST/04'	1760	<i>O125:B15</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>shigellaboydii</i>	<i>Klebsiellapneumoniae</i>
ST/04"	16\1	<i>O86:B7</i>	<i>Salmonella heidelberg</i>	<i>shigellaflexneri</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
ST/05	16\1'	<i>O127:B8</i>	<i>Salmonella kentucky</i>	<i>shigelladysenteria A1</i>	V,NAG
ST/05'	16\1"	<i>O55:B5</i>		<i>ShigellaDysenteria A2</i>	<i>Citrobacterbraakii</i>
ST/05"	16\2'	<i>O142:K86</i>			<i>Citrobacteryoungae</i>
ST/06	16\2"	<i>O114:K90</i>			<i>Citrobacterfreundii</i>
ST/07	16\9	<i>O111:B4</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>
ST/07'	126B	<i>O128:B12</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ST/08	126B"	<i>O119:B14</i>			<i>Proteus vulgaris</i>
ST/08'	186"				<i>proteus mirabilis</i>
ST/09	282/Hb				<i>Enterocoque 29212</i>
ST/10	296/2a1				<i>Enterocoquefaecalis</i>
ST/11					
ST/12					
ST/12'					

Annexe III:

Tableau 2 : Matériel non biologique.

Appareillage	Réactifs	Milieux	Autre
Etuve à 37°C	<u>Réactifs d'agglutination:</u>	Gélose nutritive	Paillasse sèche
Réfrigérateur	*Sérum monovalent <i>O157</i>	Milieu Mac conkey sorbitol™ (SMAC)	Thermomètre
Microscope photonique	*Sérum monovalent <i>H7</i>	Milieu CHROMA Agar STEC™	Cuillère à peser
Plaque chauffante agitateur magnétique	*Sérum polyvalent non <i>O157</i>	Milieu d'enrichissement TBS	L'eau stérile
Bain marie	*Sérum monovalent <i>O111, O103, O126,,,</i>	Milieu d'enrichissement BHIB	L'eau distillée
Vortex	<u>Identification :</u>	Gélose TSI	L'eau physiologique
Densitomètre	*Kovacs	Milieu Mueller- Hinton	Flacon en verre
Balance	*VPI et VPII	Milieu de conservation	Alcool chirurgical
Trans illuminateur à UV	*TDA		Micro pipettes
Cuve d'électrophorèse	<u>Suppléments :</u>		Pointes
Thermocycleur	*CHROMagar STEC™		Boites de pétri
Hôte à flux luminaire	*Céfixime		Bec benzène

Centrifugeuse L'autoclave	*Novobiocine <u>Pour PCR:</u> *AmpliTaq Gold 360 (Master mix) *360 GC Enhancer *Mgcl2 *Bromure d'ethidium BET		Pipettes pasteur Tubes sec stériles Huile de vaseline Urée Portoires Pied à coulisse Disques d'antibiogramme Ecouillons stériles Boites de pétri Boites de prélèvement Cryotubes Glycérol Fiches de renseignements des patients OligonucleotidesdNTP Taq polymérase Tampon buffer 10* Tampon TBE Tampon de charge (bleu de coumasie)
------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



- [1]. Hôte a flux
- [2]. Trans illuminateur à UV.
- [3]. Cuve d'électrophorèse

Figure 2 : Appareillages de laboratoire utilisés



- [4]. Centrifugeuse.
- [5]. Bain marie.
- [6]. Thermocycleur
- [7]. Plaque chauffante agitateur.

Figure 3 : Appareillages de laboratoire utilisés



[8]. Disques d'antibiogramme

[9]. Pied à coulisse.

[10]. Bec bunsen.

[11]. Portoir.

[12]. Thermomètre.

[13]. Pipette Pasteur.

[14]. Pince.

[15]. Poire.

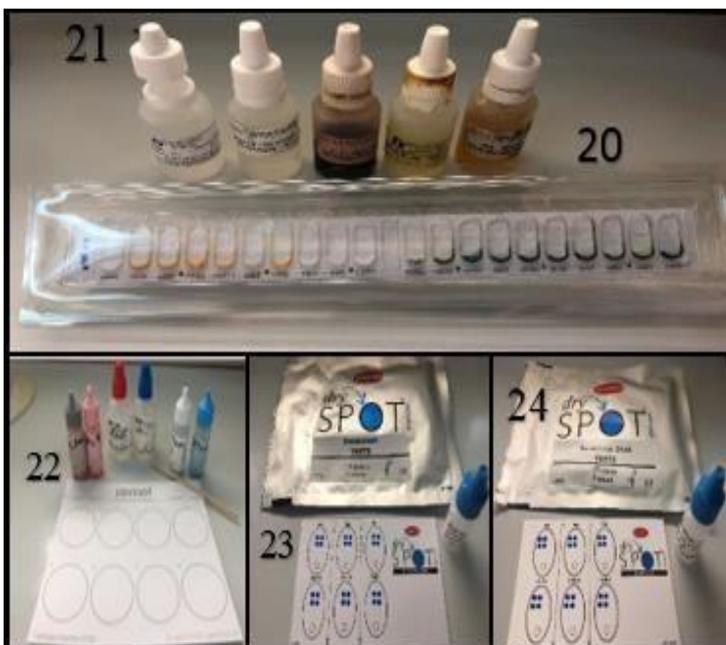
[16]. Milieu de conservation.

[17]. Cryotube.

[18]. Milieu TSI.

[19]. Urée.

Figure 4 : Matériel de laboratoire utilisé.



[20]. Galerie Api 20E et ses réactifs.

[21]. Huile de vaseline.

[22]. Wellcolex *E.coli*™ O157 :H7.

[23]. *E.coli* seroscreen™.

[24]. Serocheck O145™

Figure 5 : Matériel de laboratoire utilisé.

Annexe IV :

Préparation et composition des milieux utilisés :

A. Milieu CHROMagar STEC™ :

1. Peser 30.8 g de poudre.
2. Dissoudre cette quantité dans 1L d'eau distillée stérile.
3. Porter à l'ébullition (100°C) jusqu'à dissolution complète avec un mouvement de rotation lent et régulier.
4. Refroidir à 45-50°C dans un bain marie.
5. Réhydrater stérilement un flacon de supplément CHROMagar STEC™ ST 162(S) avec 10 ml d'eau stérile, bien mélanger.
6. Ajouter la solution réhydratée au milieu refroidi et mélanger doucement pour homogénéiser.
7. Couler dans des boîtes pétries stériles.



Figure 6 : Milieu CHROMagar STEC™ et son supplément.

B. Milieu Mac conkey Sorbitol

1. Peser 28.25 g de poudre.
2. Dissoudre cette quantité dans 500 ml d'eau distillée stérile.

3. Porter à l'ébullition jusqu'à dissolution complète avec un mouvement de rotation lent et régulier.
4. Stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.
5. Refroidir à 50°C dans un bain marie.
6. Réhydrater stérilement un flacon de supplément sélectif CéfiximeTellurite (SR0191E) avec 2 ml d'eau stérile, bien mélanger.
7. Ajouter la solution réhydratée au milieu refroidi et mélanger doucement pour homogénéiser.
8. Couler dans des boîtes pétries stériles.



Figure 7 : Milieu Mac conkey Sorbitol et son supplément.

C. Bouillon Trypticase Soja (TBS) :

1. Peser 16.5 g de la poudre.
2. Dissoudre cette quantité dans 500 ml d'eau distillée stérile.
3. Bien mélanger et stériliser à l'autoclave 15 min à 121°C.
4. Refroidir à 50°C.

5. Réhydrater stérilement un flacon de supplément Novobiocine (SR181E) avec 2 ml d'eau stérile, bien mélanger.
6. Ajouter 1 ml de la suspension réhydratée au milieu refroidi et mélanger doucement pour homogénéiser.
7. Répartir le milieu dans des tubes stériles.

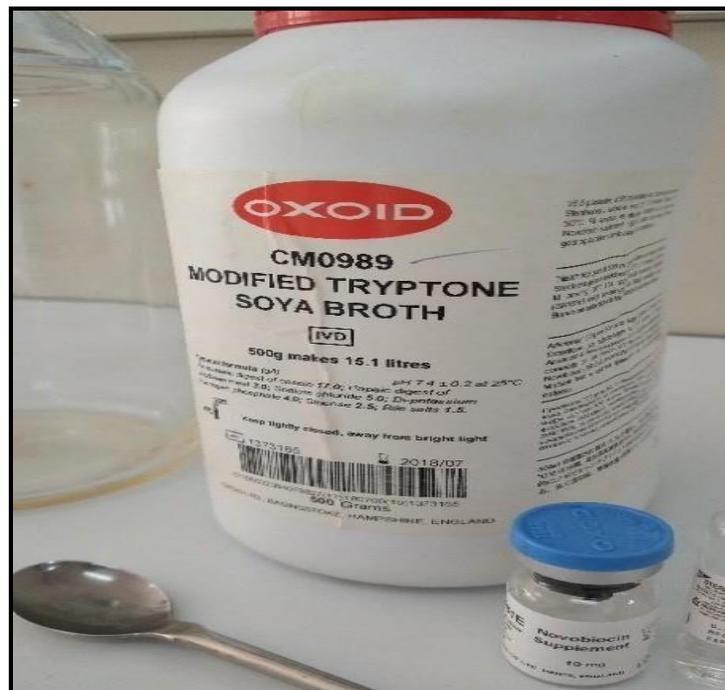


Figure 8 : Bouillon Trypticase Soja et son supplément.

Annexe V :

Remplissage de la galerie Api 20E™:

Les alvéoles du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, dans laquelle notre galerie est déposée. Le remplissage des microtubes suit des règles bien précises :

- Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit être totalement remplie de manière à créer un ménisque.
- Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de vaseline.

Incubation :

La galerie est incubée à 37°C pendant 24h.

Révélation et lecture :

Après addition des réactifs nécessaires (Kovacs, TDA, VPI, VPII) à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant.

Annexe VI :

Liste des antibiotiques testés :

➤ **Bétalactamines :**

- Ampicilline. (AMP)
- Ticarcilline. (TIC)
- Piperacilline. (PIR)
- Cefazoline. (CZN)
- Augmentin. (AMC)
- Cefoxitine. (FOX)
- Ceftazidime. (CAZ)
- Cefotaxime. (CIX)
- Ceftriaxone. (CRD)
- Aztréonam. (ATM)
- Imipenem. (IPM)

➤ Aminosides :

- Kanamycine. (KMN)
- Gentamicine. (GMN)
- Tobramicine. (TMN)
- Amikacine. (AKN)

➤ Quinolones :

- Ac.nalidixique. (NAL)
- Norfloxacin. (NXN)
- Ciprofloxacine. (CIP)

➤ **Autres :**

- Colistine. (COL)
- Chloramphenicol. (CHL)
- Tétracyclines. (TET)
- Furanes. (FIN)
- Sulfamides. (SSS)
- Cotrimoxazole. (SXT)
- Cefepine. (FEP)
- Azithromycine. (AZM)
- Fosfomycine. (FOS)
- Amoxicilline. (AMO)
- Meropenem. (MEM)
- Netilmicine. (NET)
- Streptomycine. (SMN)

Annexe VII :

Tableau 3 : Résultats des prélèvements qui ont donné des colonies

Prélèvements	STEC(D)	SMAC(D)	STEC(I)	SMAC(I)	TSI	Urée	Indol	Galerie Api 20E	Agglutinatio
03\22	Stérile	Colonies sorb(+)	Colonies mauve	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	4144572: E,coli 1	/
08\22	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(-)	(-)	(-)	1404553: Citrobacterfrendii	/
16/22	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
19/22	1 colonie mauve	Colonies sorb(+)	Stérile	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
25/22	2 colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu et colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune	(-)	(+)	Non faite	/
26/22	2 colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune	(-)	(+)	Non faite	/
27/22	Colonies mauves	Stérile	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
31/22	Colonies bleu et mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu et mauves	Colonies sorb(+) et 1 colonie sorb(-)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
33/22	Colonies blanches	Colonies sorb(+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
35/22	Stérile	Colonies sorb(+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+) et 1 colonie sorb(-)	JauneG(-)	(-)	(+)	Non faite	/

39/22	2 colonies mauves	1 colonie sorb (-)	colonies bleu	Colonies sorb (+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
42/22	Stérile	Colonies sorb(+)	Colonies bleu et 1 colonie mauves	Colonies sorb (+)	JauneG(+)	(-)	(+)	Non faite	/
43/22	Colonies bleu et 1	Colonies sorb(+)	Colonies bleu et 3	Colonies sorb (+)	jaune/rouge G(-)	(-)	(+)	Non faite	/
	colonie mauve		Colonie mauve						
47/22	Colonies bleu et 4 colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu	Colonies sorb (+)	jaune/rouge G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
49/22	Colonies mauves	Colonies sorb(+) et 3 colonies sorb(-)	Colonies mauves	Colonies sorb (+)	jaune/rouge G(+)	(-)	(+)	5044553: E,coli	Agg O157 et non O157 (-)
50/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+) et sorb(-)	Colonies mauves et vert	Colonies sorb(-) et sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O157 (-)
51/22	Stérile	Colonies sorb(+)	3 Colonie mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O157 (-)
52/22	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies mauves et vert	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg non O15 (-)
57/22	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	5044542: E,coli	Agg O145 (+)

59/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+) et 1 colonie sorb(-)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
60/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
65/22	colonies bleu et 1 colonie mauve	Colonies sorb(+)	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
66/22	1 colonie mauve	Colonies sorb(+)	Stérile	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
67/22	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O157 et non O157 (-)
69/22	2 Colonies mauves	2 Colonies sorb(+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O157 et non O157 (-)
71/22	1 Colonie mauve	1 Colonis sorb(+)	Colonies bleu et vert	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O26 (+)
72/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Colonies bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O157 et non O157 (-)

74/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+) et 1 colonie sorb (-)	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O26 (+)
76/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb (+)	Colonies bleu et 4 colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg O157 et non O157 (-)
77/22	Colonies mauves	Colonies sorb (+)	Colonies bleu et vert	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg (-)
78/22	Colonies mauves	Colonies sorb (+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
81/22	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb (+)	Colonies mauves et bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg (-)
87/22	Colonies Mauves	Colonies sorb(+)	Colonies bleu	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	Agg (-)
89/22	Colonies mauves marron	Colonies sorb(+)	Colonies mauves	Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/
90/22	Colonies mauves marron	2 Colonis sorb(+)	Colonies mauves	2 Colonies sorb(+)	Jaune G(+)	(-)	(+)	Non faite	/

Le prélèvement **51/22** avait une fluorescence (-) sous la lampe UV (365), par contre le prélèvement **52/22** qu'il avait une fluorescence (+).



Figure 9 : L'apparition ou l'absence de la fluorescence pour les O157 et les non O157.

(Source : Laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées IPA).

Annexe VIII


Laboratoire des entérobactéries et bactéries apparentées
 Institut Pasteur d'Algérie, Route du petit Staoueli Delybrahim-Alger
 TEL : 023 36 75 33 (poste220)

Hôpital ou Service/Laboratoire Expéditeur : 57122

Hôpital :
 Service /Laboratoire : *Dr. RENDJA*
 Nom complet ou Cachet du Médecin :

E-mail : TEL :

• **PRELEVEMENT pour *E. coli* productrice de shigatoxines ou STEC**
 Adulte Enfants moins de 15 ans : Age : *10 ans*
 Selles Ecouvillon rectal Autres, préciser :
 DATE DE PRÉLÈVEMENT : *14/03/21*

Renseignements épidémiologiques ESSENTIELS

- **Nom, prénom du patient**

- **Date de naissance** | | | | | | | | **Sexe** : *F*

Adresse

- **Statut** : Malade Porteur Inconnu

- **Date d'hospitalisation** : | | | | | | | | **Motifs** :

- **Date de début des symptômes** : | | | | | | | | **Précisions** :

- **Manifestations cliniques** : Diarrhée Diarrhée sanglante Diarrhée glairo-sanglante
 Diarrhée glaireuse SHU Asymptomatique Inconnu
 Autre : *Anémie, Gonalgie, VS élevée*

- **Cas isolé** Voyage récent (pays, date)

- **Cas groupés** : Nombre de cas :

Hôpital Familial Ecole Crèche Autres :

T.I.A.C.

* **Aliment suspecté** : * **Contact avec animal** :

* **Diarrhée dans l'entourage** :

- **Traitement antibiotique**: Traitement avant prélèvement Oui Non
 Date de début du traitement | | | | | | | |
 Date de fin du traitement | | | | | | | |
 Antibiotiques administrés

Figure 10 : Fiche des renseignements du malade.

Références

Références

- [1] Cohen, «Escherichia coli, un pathogène sous les feux des projecteurs,» *Archives de Pédiatrie*, 2012.
- [2] M. Ferhat, «Research and molecular characteristic of Shiga toxin-producing Escherichia coli isolated from sheep carcasses,» *Letters in Applied Microbiology*, pp. 546-552, 2019.
- [3] Zhang, «Improved Genomic Identification, Clustering, and Serotyping of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Using Cluster/Serotype-Specific Gene Markers,» *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, pp. 1-14, 2022.
- [4] U. Dobrindt, «(Patho-)Genomics of Escherichia coli,» *International Journal of Medical Microbiology*, pp. 357-371, 2005.
- [5] Mainil, «Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli: IV) Souches nécrotoxigènes,» *Annales de Médecine Veterinaire*, pp. 121-132, 2004.
- [6] L. Beutin, «Escherichia coli as a pathogen in dogs and cats,» *Veterinary Research*, pp. 285-298, 1999.
- [7] Mainil, «Les souches pathogènes d'Escherichia coli chez les chiens et les chats : III Données bactériologiques et cliniques sur les souches nécrotoxigènes et sur celles positives pour des adhésines,» *Annales de Médecine Veterinaire*, pp. 343-354, 2001.
- [8] Mainil, «Verotoxigenic Escherichia coli from animals, humans and foods: Who's who?,» *Journal of Applied Microbiology*, pp. 1332-1344, 2005.
- [9] D. CHAHIRA, *E.coli O157:H7*, 2013.
- [10] J. Mainil, «Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli : I) les adhésines et facteurs de colonisation,» *Annales de Médecine Veterinaire*, pp. 105-126, 2003.
- [11] «ITIS,» [En ligne]. Available: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null.
- [12] O. G, *Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif (Thèse)*, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 2007.
- [13] M. M. SIDIBE, *CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES D'Escherichia coli ET DE Klebsiella spp ISOLEES CHEZ LES HUMAINS, LES ANIMAUX ET DANS*, 2020.
- [14] «ResearchGate,» [En ligne]. Available: https://www.researchgate.net/figure/1-Schema-dunebacterie-dapres-http-croissbactfreefr-bacteriephp-2007_fig2_29616501.
- [15] P. R. Murray et E. J. Baron, *Manual of clinical microbiology*, vol. 1, D. :. A. P. ©. Washington, Éd.

- [16] B. Charlotte, *Les Escherichia Coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC*, Université de Bretagne Occidentale, 2016.
- [17] Sarkar, «Role of capsule and O antigen in the virulence of uropathogenic Escherichia coli,» *PLoS ONE*, 2014.
- [18] F. Kauffmann, «Zur Serologie Der Coli- Gruppe,» *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, pp. 20-45, 1944.
- [19] Orskov, «Serology, chemistry, and genetics of O and K antigens of Escherichia coli,» *Bacteriological Reviews*, pp. 667-710, 1977.
- [20] Ballmer, «Fast DNA serotyping of Escherichia coli by use of an oligonucleotide microarray,» *Journal of Clinical Microbiology*, pp. 370-379, 2007.
- [21] Lacher, «Novel microarray design for molecular serotyping of shiga toxin-producing Escherichia coli strains isolated from fresh produce,» *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 4677-4682, 2014.
- [22] D. Payros, *Etude de l'effet de la colonisation des nouveau-nés par des souches de Escherichia coli génotoxiques sur le développement et la fonctionnalité de la barrière intestinale*, Toulouse:Université Paul Sabatier, 2012.
- [23] C. Balière, «Pathogènes Dans l'Environnement Littoral : Cas Des Stec et des EPEC,» p. 179, 2016.
- [24] C. Mellata, «Role of virulence factors in resistance of avian pathogenic Escherichia coli to serum and in pathogenicity,» *Infection and Immunity*, pp. 536540, 2003.
- [25] U. Dobrindt, «(Patho-)Genomics of Escherichia coli,» *International Journal of Medical Microbiology*, pp. 357-371, 2005.
- [26] M. Kern-benaibout, «Escherichia Coli Potentiellement Pathogènes Pour L ' Homme : Synthèse Bibliographique Sur Le Portage Par Les Animaux Domestiques Et La Transmission A L ' Homme Par La Contamination De L ' Environnement .,» *Productions Animales*, pp. 1153, 2006.
- [27] C. Balière, «Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC,» p. 180, 2017.
- [28] Croxen, «Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli,» *Clinical Microbiology Reviews*, pp. 822-880, 2013.
- [29] T. Douellou, «Pathogénicité des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) des produits laitiers : diversité génétique et impact des globules gras du lait To cite this version : HAL Id : tel-01477170 T h è s e,» 2017.
- [30] Newell, «Enterohaemorrhagic and other Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC): Where are we now regarding diagnostics and control strategies?,» *Transboundary and Emerging Diseases*, pp. 49-71, 2018.

- [31] S. Schüller, Shiga Toxin- Producing E . coli, 2021.
- [32] J. Aude, *ESCHERICHIA COLI PRODUCTEURS DE SHIGATOXINES (STEC) : ETAT DES LIEUX AU CHU DE TOULOUSE*, 2020.
- [33] Castro, «Shiga-toxin Producing Escherichia coli: Pathogenicity, Supershedding, Diagnostic Methods, Occurrence, and Foodborne Outbreaks,» *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, pp. 1269-1280, 2017.
- [34] Kim, «Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli and Its Potential Reservoirs,» *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, pp. 1-10, 2020.
- [35] Persad, « Animal Reservoirs of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli,» *Microbiology Spectrum*, pp. 1-14, 2014.
- [36] A.Brisabois, *Epidemiologie des escherichia coli producteurs des shigatoxines.*
- [37] Luna, « Outbreak of E. coli O157:H7 Infections Associated with Exposure to Animal Manure in a Rural Community — Arizona and Utah, June–July 2017,» *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, pp. 659-662, 2018.
- [38] McFarland, «Recurrent seasonal outbreak of an emerging serotype of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC O55:H7 Stx2a) in the south west of England, July 2014 to September 2015,» *Eurosurveillance*, pp. 110, 2017.
- [39] Prakasan, «Isolation of Shiga toxin-producing Escherichia coli harboring variant Shiga toxin genes from seafood,» pp. 379-385, 2018.
- [40] J. Espinosa, «A scoping review on the prevalence of Shiga-toxigenic Escherichia coli in wild animal species,» *Zoonoses and Public Health*, pp. 911-920, 2018.
- [41] F. Savoye, «Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments To cite this version : HAL Id : tel-00794936 Optimisation du protocole de recherche des Escherichia coli Producteurs de Shiga-toxines (STE,» 2013.
- [42] M. Portes, «L'impact du sevrage chez les ruminants sur le portage des Escherichia coli entérohémorragiques.,» 2020.
- [43] d. Valk, «Infections humaines à E.coli producteurs de shigatoxines en France: aspects cliniques, diagnostiques et epidemiologique.,» 2008.
- [44] S. Ganet, «types de matrices fromagères To cite this version : HAL Id : hal-01466440 par Croissance , survie et détection des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans différents types de matrices fromagères,» 2017.
- [45] *Institut Pasteur ECEH.*
- [46] A. Report, «NATIONAL REFERENCE CENTRE FOR SHIGA TOXIN / VEROTOXIN-PRODUCING ESCHERICHIA COLI (NRC STEC / VTEC) ANNUAL REPORT 2020,» 2020.

- [47] Bruyand, «Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin producing Escherichia coli, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016,» *Eurosurveillance*, pp. 1-9, 2019.
- [48] Jacquinet1, «Surveillance épidémiologique de l'Escherichia coli producteur de Shiga-Toxine (STEC), 2017- 2018.,» 2018.
- [49] Al-gallas, «Etiology of acute diarrhea in children and adults in Tunis , Tunisia , with emphasis on diarrheagenic Escherichia coli : prevalence , phenotyping , and molecular epidemiology . To cite this version : HAL Id : pasteur01375250,» 2017.
- [50] A. Afifa, «Diplôme de Docteur Vétérinaire Le portage des Escherichia coli entérohémorragiques (EHEC) chez les animaux domestiques,» 2017.
- [51] L. C. M. B. Ferreira, «Diarrheagenic Escherichia coli,» *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016.
- [52] T. Douellou, «Pathogénicité des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) des produits laitiers : diversité génétique et impact des globules gras du lait To cite this version : HAL Id : tel-01477170 T h è s e,» 2017.
- [53] C. Balière, «Les Escherichia coli potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral : cas des STEC et des EPEC,» p. 180, 2017.
- [54] M. Mich, *Escherichia coli entérohémorragiques et/ou résistantes aux antibiotiques : contamination des effluents d'origine bovine*, 2017.
- [55] Brugère, «définitions , virulence et propriétés des souches entérohémorragiques (EHEC),» pp. 23-29, 2010.
- [56] UM, *Escherichia coli entérohémorragiques et/ou résistantes aux antibiotiques : contamination des effluents d'origine bovine*, 2016.
- [57] J. Bryan, «Shiga Toxin Producing Escherichia coli,» *Clinics in Laboratory Medicine*, pp. 247-272, 2015.
- [58] Bruyand, «Hemolytic uremic syndrome due to Shiga toxin-producing Escherichia coli infection,» *Medecine et Maladies Infectieuses*, pp. 167-174, 2018.
- [59] Luis, *Infection a escherichia coli enterohemorragique*, 2019.
- [60] François Denis, *Bactériologie médicale Techniques usuelles*, 2e éd.
- [61] Verhaegen, «Comparison of six chromogenic agar media for the isolation of a broad variety of non-o157 shigatoxin-producing Escherichia coli (STEC) serogroups,» *International Journal of Environmental Research and Public Health*, pp. 6965-6978, 2015.
- [62] C. Bertholom, «Diagnostic biologique des infections á Escherichia coli producteurs de shigatoxines,» *Option/Bio*, pp. 20-21, 2012.

- [63] Kalule, «Characterisation of STEC and other diarrheic E. coli isolated on CHROMagar™STEC at a tertiary referral hospital, Cape Town,» *BMC Microbiology*, pp. 1-8, 2018.
- [64] (. Use, «CHROMagar TM O157 I nstructions F or U se Click below for : NT-EXT-003,» 1940.
- [65] Koutsoumanis, «Pathogenicity assessment of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) and the public health risk posed by contamination of food with STEC,» 2020.
- [66] J. Hovde, *Escherichia coli and Other Shiga Toxin-Producing E. coli*, 2015.
- [67] b. marion, «Mise au point de méthodes de détection des souches d ' Escherichia coli productrices de Shiga-toxines (STEC),» 2011.
- [68] Bruyand, «Paediatric haemolytic uraemic syndrome related to Shiga toxin producing Escherichia coli, an overview of 10 years of surveillance in France, 2007 to 2016,» *Eurosurveillance*, pp. 1-9, 2019.
- [69] He, «A New Immunoassay for Detecting All Subtypes of Shiga Toxins Produced by Shiga Toxin-Producing E . coli in Ground Beef,» pp. 1-13, 2016.
- [70] *Détection et confirmation des STEC dans les selles.*
- [71] MATRANE, *Production de shiga-toxine*, 2019.
- [72] C. Loirat, «Traitement du syndrome hémolytique et urémique (SHU) à Escherichia coli producteur de Shigatoxine (Stx) (STEC) après l'épidémie de 2011,» *Archives de Pédiatrie*, pp. H27-H28, 2013.
- [73] Zuber, «Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies,» *Nature Reviews Nephrology*, pp. 643-657, 2012.
- [74] Wijnsma, «Safety and effectiveness of restrictive eculizumab treatment in atypical haemolytic uremic syndrome,» *Nephrology Dialysis Transplantation*, pp. 635-645, 2018.
- [75] *Centre for disease control and prevention.*
- [76] Gouali, «Evaluation of CHROMagar STEC and STEC o104 chromogenic agar media for detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli in stool specimens,» *Journal of Clinical Microbiology*, pp. 894-900, 2013.
- [77] Karmali, «The association between idiopathic hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing Escherichia coli. 1985.,» *The Journal of infectious diseases*, pp. 556-563, 2004.
- [78] A. R. Melton-celsa, «Shiga Toxin (Stx) Classi fi cation , Structure , and Function,» 2014.

- [79] Joseph, «Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome: A Narrative Review,» *Toxins*, pp. 1-45, 2020.
- [80] Carrie-Ann Kennedy, «Characterizing the Multidrug Resistance of non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Isolates from Cattle Farms and Abattoirs,» *Microbial Drug Resistance*, pp. 781-790, 2017.
- [81] John Bosco Kalule.Keddy, «Characterisation of STEC and other diarrheic E. coli isolated on CHROMagar™STEC at a tertiary referral hospital, Cape Town,» *BMC Microbiology*, pp. 1-8, 2018.
- [82] Carbonari, «The Importance of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli O145:NM[H28]/H28 Infections in Argentina, 1998–2020,» 2022.
- [83] Susanne I. Hauswaldt*, «Improving diagnostic of diarrhegenic escherichia coli by use of a new chromogenic medium,» 2009
- [84] Zelyas, «Assessment of commercial chromogenic solid media for the detection of non-O157 Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC),» *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2016.
- [85] Hirvonen, «Usability and performance of CHROMagar STEC medium in detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli strains,» *Journal of Clinical Microbiology*, pp. 3586-3590, 2012.
- [86] Brendon D. Parsons ., «Detection, Characterization, and Typing of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli,» *Frontiers in Microbiologie*, 2016.
- [87] Jenkins, «Evaluation of chromogenic selective agar (CHROMagar STEC) for the direct detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli from faecal specimens,» *Journal of Medical Microbiology*, pp. 487-491, 2020.

Introduction: Escherichia coli are a very diverse group of Gram-negative bacteria and a member of the human intestinal microflora. In general, this colonization is asymptomatic, however, some strains of E. coli have evolved into pathogens.

Shigatoxine-producing Escherichia coli (STEC) due to the production of shigatoxines 1 and 2 (stx1, stx2), can cause serious diseases ranging from bloody diarrhea to hemolytic uremic syndrome (HUS) with the consequences of kidney failure see death.

Shigatoxine-producing Escherichia coli (STEC) due to the production of shigatoxines 1 and 2 (stx1, stx2), can cause serious diseases ranging from bloody diarrhea to hemolytic uremic syndrome (HUS) with consequences kidney failure see death.

Objectives: The main objective of our study is to research and identify STEC in human stool samples, and to evaluate the CHROMagar™ STEC environment.

Material and methods This is a multicentric prospective study carried out at the laboratory of Enterobacteria and other related bacteria within the Institut Pasteur d'Algérie (IPA).

A microbiological diagnosis was made on all samples collected. In addition, an evaluation of the STEC and SMAC media was conducted using strains. Sensitivity and specificity calculations were performed using statistical tests

Results: Over a period of 5 months, only one case of STEC serotype O145 was identified, and carries the virulence gene stx1.

STEC detection on CHROMagar™ STEC medium presents a sensitivity of 86.67%, and a specificity of 96.67%. On the other hand on SMAC medium, sensitivity was 40% and specificity 93.33%.

Conclusion: Continued surveillance of STEC infections in the microbiology laboratory is necessary to prevent outbreaks of this bacterium and related.

Key words: E. coli, STEC, Stool, CHROMagar™ STEC, SMAC

