

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE
ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie - Ecologie

Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement : Microbiologie de l'Environnement

**Thème : La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles et les shigelles
dans la région de Guelma**

Présenté par: BRAHMIA Ismahan

AOUADI Fatima zohra

BOUSSAHA Amina

Devant le jury composé de:

Présidente:	Mme BENHALIMA Lamia	(M.C)	Université de Guelma.
Encadreur :	M. ROUIBI Abdelhakim	(M.C)	Université de Guelma.
Examineur:	M. ROUABHIA Kamel	(M.C)	Université de Guelma.
Co-Encadreur :	M. BENTORKI A.Aymen	(Dr)	Hôpital Ibn Zohr Guelma.
Invité:	M. BOUCHAREB Mouhamed		Hôpital Ibn Zohr Guelma.

Juin 2013

Remerciements

Nous tenant à exprimer nos remerciements et notre gratitude, avant tout à Dieu le tout puissant qui nous à donné le courage et la force pour mener à bout ce modeste travail. Ce mémoire nous a donnée l'occasion de rencontrer et de travailler avec des personnes absolument épatantes. Au terme de ce travail, nous remercions profondément :

En premier lieu notre encadreur **Mr. ROUIBI A**, qui a bien voulu nous diriger et nous orienter tous le long de la réalisation de notre travail.

Mr. BENTORKI A. Docteur en microbiologie à l'hôpital Ibn Zohr de Guelma, pour ses conseils, ses orientations et son aide.

Mr BOUCHAREB M. il nous est impossible de lui exprimer notre reconnaissance et nos remerciements pour son aide, son soutien, et ses encouragements.

Un spécial remerciement au doctorant **BENSOUILAH T**, c'est grâce à son aide ses conseils et son soutien, et sa gentillesse que nous avons pu mener ce modeste travail.

A **Mr SAAIDIA M**, et toute l'équipe de laboratoire de microbiologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma, pour son aide et ses orientations.

Nous remercions aussi et vivement **Mr KEBIECHE H**. Chef service de laboratoire de la direction de la santé de la wilaya de Guelma, et **Mr DJIRADI A**. pour leurs aides et orientations.

A **Mr BOUDJAHM S**, le directeur de EPSP Guelma pour son compréhensibilité et facilité la réalisation de ce travail.

Aux doctorants : **KHALDOUNE R.**, **BRAHMIA H.**, **ZERAOULA A.**, **BOURIACH M.**, **BERGUEL A.**, **MERZOUG S.**

A **M^{me} MERABTE H**. Technicienne de laboratoire de microbiologie à l'université de Guelma pour son aide et ses encouragements.

MERCI A TOUS...

Dédicaces

Je dédie ce travail :

Aux deux êtres les plus chers, mes parents pour tout ce qu'ils m'ont offert d'amour et d'affection.

A mon marie qui m'aider et encourager.

A ma belle-famille

A ma grand-mère

A ma famille qui m'a soutenue.

A ma sœur Ghada, mes frères : Hamdi et Yassin.

A mes oncles, tantes, cousins, cousines.

A tout mes chères amies.

A tout mes professeurs.

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui pense aussi.

A toute ma promotion

FATIMA ZOÛRA

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes parents, qui m'ont soutenue, guidée et encouragée.

J'espère ne jamais vous décevoir, je vous aime tant.

A ma grand père.

A mes sœurs : Hasna et Chahla et mes frères Billel et Iyad.

A ma famille qui ma soutenue.

A mes oncles, tantes, cousins, cousines....

A tous mes collègues du EPSP Boumahra Ahmed et surtout à Souad et Besma pour leur aide durant la période d'étude.

*Je tien a remercier infiniment celui qui a été la cause de re-adhérer le domaine de formation supérieur; Monsieur **ABDELI Noureddine**.*

A tous mes amis surtout l'ami le plus gentille et

Plus serviable Bouriach mouhamed.

A tous mes professeurs.

A toute ma promotion.

AMINA

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A ma sœur Chahrazed et mes frères : Hafid, Rafik et Azeddine.

A tous mes oncles et tantes, cousins en particulier Ali, et cousines.

A tous mes meilleurs amis.

Mes proches et toute ma famille, et tout les gens qui m'aiment.

A tout mes professeurs.

A tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

A tous mes collègues de la promotion.

ISMAHAN

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste de figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction.....01

Partie I : Etude bibliographique

CHAPITRE I : ETUDE DES SALMONELLES ET SHIGELLES

1- <i>Salmonella</i>	03
1-1-Transmission.....	03
1-2-Caractère bactériologique.....	03
1-2-1-Caractère morphologique.....	03
1-2-2-Caractère culturaux.....	04
1-2-3-Caractère biochimique.....	05
1-2-4-Caractère antigénique.....	05
1-2-5-Physiopathologie.....	06
1-2-6-Diagnostic.....	07
1-2-7-Pouvoir pathogène.....	07
1-2-8-Traitement.....	08
2- <i>Shigella</i>	09
2-1-Transmission.....	09
2-2-Caractère bactériologiques.....	09
2-2-1-Caractère morphologique.....	09
2-2-2-Caractère culturaux.....	09
2-2-3-Caractère biochimique.....	10
2-2-4-Caractère antigénique.....	10
2-2-5-Pouvoir pathogène.....	11

2-2-6-Diagnostic.....	12
2-2-7-Traitement.....	12

CHPITRE II : LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

1-Définition des antibiotiques.....	13
2-Propriétés.....	13
3-Caractéristiques.....	14
4-Mode d'action des antibiotiques.....	14
5-Principales familles des antibiotiques.....	14
6-La résistance aux antibiotiques.....	15
6-1-Résistance naturelle.....	15
6-2-Résistance acquise.....	15
6-3-Mécanismes de résistance.....	15
6-3-1-Inactivation enzymatique.....	15
6-3-2- Résistance par diminution de la perméabilité.....	16
6-3-3-Résistance par modification de la cible.....	17

Partie II : Etude expérimentale

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

1-Prélèvements.....	19
2-Protocole de la coproculture.....	20
2-1-Contextes.....	20
2-2-Modalités de prélèvement des selles.....	20
2-3-Examen du prélèvement.....	21
2-3-1-Examen macroscopique et mise en suspension.....	21
2-3-2-Examen microscopique direct.....	21
2-3-3-Mise en culture.....	23
2-3-4- Recherche des caractères biochimique.....	29
2-3-5-Méthode de diffusion sur gélose (Antibiogramme).....	30
2-3-6-Sérotypage.....	33

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

1-Aspect macroscopique des selles et examen microscopique.....	38
2- Test biochimique «API 20E».....	39
3-Etude sérologique.....	40
4-Repiquage.....	41
5-Antibiogramme.....	41
6-Etude statistique.....	47
6-1-Etude des <i>Salmonella</i>	48
6-1-1-Le pourcentage de distribution par sexe.....	48
6-1-2-Le pourcentage de distribution par classes d'âge.....	49
6-1-3-La répartition saisonnières par groupes des salmonelles.....	49
6-1-4-La résistance aux antibiotiques.....	51
6-2-Etude du shigelles.....	54
6-2-1-Le pourcentage de distribution par sexe.....	55
6-2-2-Pourcentage de distribution par classes d'âge.....	55
6-2-3-La répartition saisonnières par groupes des shigelles.....	56
6-2-4-La résistance aux antibiotiques chez les shigelles.....	57
Conclusion.....	60

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

% : Pourcentage

ADH : Arginine dihydrolase

Ag : Antigène

API : Analytical profile index

BCP : Pourpre de bromocrésol

BLSE : Béta-lactamase à spectre élargie

C° : Degré Celsius

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

GEL : Gélatinase

GLU : Glucose

h : Heur

H₂S : Sulfure d'hydrogène

I : Intermédiaire

LAC : Lactose

LDC : Lysine décarboxylase

ml : Millilitre

mm : Millimètre

Nbr : le nombre

NIT : Nitrate

ODC : Ornithine Décarboxylase

OIE : Organisation internationale des épizooties

OM : Sérum Mélange O

OMS : Organisation mondiale de santé

ONPG : Ortho Nitro Phényl Galactopyranoside

pH : potentiel d'hydrogène

R : Résistant

S : Sensible

SFB : Sélénite cystine

SS : *Salmonella-Shigella*

TDA : Tryptophane désaminase

TIAC : Toxi Infection Alimentaire Collective

Trm1 : Trimestre 1

TSI : Triple sugar iron

URE : Uréase

VP : Voges-Proskauer

Liste des figures

Figure 01 : Les différents modes d'action des antibiotiques..... (Annexe 2)	
Figure 02: Etape d'une coproculture standard.....	28
Figure 03: Conduite de sérotypage des <i>Salmonella</i>	36
Figure 04: Résultat d'API 20E de <i>Salmonella</i>	39
Figure 05: Résultat d'API 20E de <i>Shigella</i>	39
Figure 06: Le pourcentage des groupes de salmonelles dans la région de Guelma.....	40
Figure 07: Repiquage des souches sur gélose nutritif.....	41
Figure 08: Résultat de l'antibiogramme de la souche N°8.....	41
Figure 09: Résultat de l'antibiogramme de la souche N°6.....	42
Figure 10: Test BLSE négatif.....	42
Figure 11: Test BLSE positif.....	42
Figure 12: Le pourcentage de résistance des salmonelles et shigelles dans la région de Guelma.....	45
Figure 13: Prévalence des salmonelloses et shigelloses dans la région de Guelma.....	47
Figure 14: Le pourcentage de distribution de salmonellose par sexe.....	48
Figure 15: Le pourcentage de distribution de salmonellose par tranche d'âge.....	49
Figure 16: La répartition saisonnière de salmonellose.....	50
Figure 17: Le pourcentage de distribution des salmonelles par groupe.....	51
Figure 18: La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles « Année : 2008/2009/2010 ».....	52
Figure 19: La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles « Année : 2011/2012/Trm12013 ».....	53
Figure 20: Le pourcentage de distribution de shigellose par sexe.....	55
Figure 21: Le pourcentage de distribution de shigellose par classe d'âge.....	55

Figure 22: La répartition saisonnière des shigelles.....	56
Figure 23: Le pourcentage de distribution des shigelles par groupe.....	57
Figure 24: La résistance aux antibiotiques chez les shigelles « Année : 2008/2009/2010 ».....	58
Figure 25: La résistance aux antibiotiques chez les shigelles « Année : 2011/2012/Trm1 2013 ».....	59

Liste des tableaux

Tableau 01 : Caractères biochimiques du genre <i>Salmonella</i>	05
Tableau 02 : Classification antigénique des salmonelles.....(Annexe 1)	
Tableau 03 : Les caractères biochimiques du genre <i>Shigella</i>	10
Tableau 04 : Diagnostic d'espèce des <i>Shigella</i> (caractères discriminants).....	10
Tableau 05 : Les principales familles d'antibiotiques..... (Annexe 3)	
Tableau 06 : Les différents modes d'action des antibiotiques et leurs sites.....(Annexe 4)	
Tableau 07: Des informations sur les prélèvements qui parvenir au niveau de laboratoire.....	19
Tableau 08: la couleur des colonies isolées à partir des géloses SS et Hektoen.....	25
Tableau 09: Tableau de lecture : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et pour entérobactéries.....	31
Tableau 10: Groupe 1 des entérobactéries et les bêta-lactamines.....	33
Tableau 11: Sérogroupes dépistés par les Sérums mélanges et liste des sérums <monospécifiques> permettant la détermination précise du sérogroupes.....	37
Tableau 12 : Aspect macroscopique des selles et examen microscopique.....	38
Tableau 13 : Etude sérologique des salmonelles.....	40
Tableau 14: Résultat de l'antibiogramme.....	44
Tableau 15: Etude de la prévalence, distribution par sexes, et par classe d'âges des salmonelles.....	48
Tableau 16: La répartition saisonnière par groupes des salmonelles.....	50
Tableau 17: Les valeurs de résistance aux antibiotiques chez les salmonelles «Années : 2008/2009/2010 ».....	52

Tableau 18: Les valeurs de résistance aux antibiotiques chez les salmonelles « Années : 2011/2012/ Trm1 2013 ».....	53
Tableau 19: Etude de la prévalence, distribution par sexes, et par classe D'âges des shigelles.....	54
Tableau 20: La répartition saisonnière par groupe des shigelles.....	56
Tableau 21: Les Valeurs de résistance aux antibiotiques chez les shigelles « Années : 2008/2009/2010 ».....	58
Tableau 22: Les Valeurs de résistance aux antibiotiques chez les shigelles « Années : 2011/2012 /Trm1: 2013 ».....	59

Résumé

Résumé

Les bactéries sont responsables de nombreuses pathologies infectieuses affectant l'être humain ce qui peut conduire à l'apparition des épidémies. L'objectif de notre étude consistait à déterminer la résistance aux antibiotiques chez les salmonelles et shigelles, et de déterminer les groupes des salmonelles existants dans la région de Guelma. Ce travail s'étale sur une période de cinq mois à été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma. Nos résultats ont révélé que les salmonelles et les shigelles respectivement ont présenté une résistance claire envers l'ampicilline et l'acide nalidixique, le Chloramphénicol et Ciprofloxacine ont été résistés seulement par les salmonelles et le Triméthoprime/Sulfaméthoxazole qui a été résisté par les shigelles. Tandis que le céfotaxime reste efficace pour les deux bactéries.

Mot clés : Résistance aux antibiotiques, pathologie infectieuse, Ampicilline, Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Céfotaxime, Triméthoprime/Sulfaméthoxazole,

Abstract :

The bacteria are responsible for many infectious diseases affecting human being which can lead to the appearance of epidemics. The aim of our study devoted to determine the antibiotic resistance in *Salmonella* and *Shigella*, and identify existing groups of *Salmonella* in Guelma region. This work is spread over a period of five months was performed at microbiology laboratory of Ibn Zuhr hospital, Guelma. Our results revealed that *Salmonella* and *Shigella*, respectively, have shown a clear resistance to ampicillin and nalidixique acid, chloramphenicol and ciprofloxacin were resisted only by *Salmonella* and Trimethoprim / sulfamethoxazole was resisted only by *Shigella*. While cefotaxime remain effective for both bacteria.

Keywords: Antibiotics Resistance, infectious pathology, Ampicilline, Acid nalidixique, Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Céfotaxime, Trimethoprime / Sulfamethoxa

الملخص:

تعتبر البكتيريا مسؤولة عن العديد من الأمراض المعدية التي تصيب الإنسان والتي يمكن أن تؤدي إلى ظهور الأوبئة. تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على مقاومة بكتيريا السالمونيلا والشيقيا للمضادات الحيوية، وتحديد مجموعات السالمونيلا الموجودة في منطقة قالمة. وقد أنجز هذا العمل خلال خمسة أشهر على مستوى مخبر الكائنات المجهرية في مستشفى ابن زهر بقالمة، لقد أظهرت النتائج مقاومة بكتيريا السلمونيلا للأمبيسيلين وحامض الناليديكسيك والكلورامفينيكول والسيبروفلوكساسين ومقاومة بكتيريا الشيقيا للأمبيسيلين وحامض الناليديكسيك والتريميتوبرين/سيلفاميتوكساسول، كما تم تسجيل تأثير فعال للسيفوتاكسين بالنسبة للنوعين من البكتيريا.

الكلمات المفتاح: مقاومة المضادات الحيوية، الأمراض المعدية، الأمبيسيلين، حمض الناليديكسيك، الكلورامفينيكول، سبروفلوكساسين، سيفوتاكسيم، ميثوبريم/سلفاميثوكساسول

Introduction

Introduction

L'intestin de l'homme et sa flore microbienne constituent un écosystème complexe dont l'équilibre est un exemple remarquable d'adaptation réciproque. L'épithélium de l'intestin «mis à plat» représenterait une superficie de plus de 200 m². Cette interface isole les 10¹³ cellules eucaryotes de l'organisme hôte des 10¹⁴ cellules bactériennes vivantes qui composent la flore microbienne du tractus digestif. Les Entérobactéries avec prédominance d'*Escherichia coli* ne représentent que 5 à 10% de cette flore, c'est la flore "résidante". De plus anaérobies strictes il y a une flore de "transit" provenant de l'alimentation et de la flore des autres parties du corps. La composition de cette flore se modifie en fonction de l'âge et de l'alimentation (Tancredi, 1989).

On peut classer schématiquement les principales bactéries pathogènes pour l'intestin de l'homme en fonction du mécanisme de leur pathogénicité, autrement dit du mode de réponse de l'hôte à leur présence (Tancredi, 1989). Parmi les pathologies fréquentes nous citons la salmonellose et la shigellose qui sont causées par les salmonelles et les shigelles respectivement (Bouchene *et al.*, 2002).

En effet, les antibiotiques et l'hygiène n'ont pas fait disparaître la pathologie infectieuse. La fréquence et le pronostic de l'eau comme la typhoïde, la tuberculose ou la poliomyélite ont changé, mais une nouvelle pathologie infectieuse existe.

A notre avis la plus adéquat, l'isolement puis l'identification d'une bactérie pathogène est un acte particulièrement satisfaisant car il porte un diagnostic étiologique et permet un traitement parfaitement adapté (Avril *et al.*, 1992).

Les gastro-entérites aiguës sont la première cause de décès des enfants dans les pays en voie de développement. Malgré le niveau de vie élevé des États-Unis, une estimation de 500 décès d'enfants chaque année a été annoncée (Grandien et Bobak, 1991).

Donc les gastroentérites sont une source de morbidité et de mortalité à travers le monde.

Ces dernières années, la région du Guelma a montré une augmentation du nombre de gastro-entérite bactérienne durant la période Mai-août, par la suite il nous est apparu intéressant d'étudier les différents agents bactériens impliqués, dans ces gastro-entérites.

En effet, la part quantitative de l'ensemble des différents germes dans l'étiologie des gastro-entérites varie selon le lieu et la période, elle est relativement mal connue à notre

région d'étude, en plus la source de ces infections diffère selon le cycle écologique de l'agent responsable.

Les principaux objectifs de notre étude sont les suivants :

- ❖ Déterminer une étude statistique de la fréquence des salmonelles et shigelles et leurs résistances aux antibiotiques dans la région de Guelma durant la période (Janvier 2008-Avril 2013).
- ❖ Etudier la résistance aux antibiotiques des salmonelles et des shigelles pendant la période pratique.
- ❖ Montrer les sérovars existant dans la région de Guelma.

Ce mémoire est divisé en trois chapitres, ou le 1^{er} chapitre est consacré à l'étude des salmonelles et shigelles, le 2^{ème} chapitre est consacré pour les antibiotiques, le 3^{ème} chapitre est consacré pour le matériel utilisés et les méthodes adoptés et le dernier chapitre est consacré pour les résultats obtenus et leur discussion.

Chapitre I

Etude des Salmonelles et des Shigelles

Etude des salmonelles et des shigelles

Les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires occupent une place très importante en pathologie humaine infectieuse. Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent qu'à leur incidence au niveau de la santé des populations [2].

1-Salmonella

Les *Salmonella* sont responsables de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives. Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*Salmonella typhi* surtout), des aliments (produits laitiers, œufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs [17].

Elles peuvent aussi survivre dans le sol plusieurs semaines, ou même plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables (Hugues et *al.*, 1991). Il existe deux types de salmonelles qui se distinguent selon leur pathogénie :

Les salmonelles typhiques dites « majeures » (*Salmonella typhi* et *paratyphi*) provoquant des septicémies.

Les salmonelles non typhiques dites « mineures » responsables d'intoxication alimentaire (TIAC), de gastro-entérites et parfois de septicémies [1].

1-1-Transmission

-La contamination humaine se fait habituellement par l'ingestion d'eau ou aliment contaminé (Nauciel et *al.*, 2005).

-La contamination des aliments peut aussi être d'origine humaine et liée à des manipulations par un personnel porteur des salmonelles (pathologie oro-fécale) (Caillon et *al.*, 2008).

1-2-Caractère bactériologique

1-2-1-Caractère morphologique

Salmonella est une bactérie à Gram négatif en forme de bâtonnet, (0,7-1,5 x 2,0-5,0 µm). Appartient à la famille des Enterobacteriaceae, (ARSIA, 2012), la quasi-totalité des salmonelles pathogènes pour l'homme appartiennent à l'espèce *Salmonella enterica*

subspecies enterica qui comporte plus de 2000 sérotypes (Dedet, 2007). Ils sont généralement mobile grâce à leur ciliatures péritriches et pourvue de flagelles.

Cette bactérie est facultativement anaérobie, et sensible à la chaleur (Frobisher, 1976).

1-2-2-Caractère culturaux

Après 18-24h d'incubation sur un milieu gélosé, les colonies formées sont larges ayant un diamètre de 3-4 mm, sont lisse de type « smooth » (S), et rarement rugueuses. Mais certaines cultures donnent des colonies naines, aspect constant chez certains sérotypes (*Salmonella abortusovis*, *Salmonella typhi suis*) (Bouchene et al., 2002).

Les salmonelles sont des bactéries mésophiles; elles peuvent se développer entre +5°C et +47°C avec un optimum de croissance autour de 35-37°C, se développent pour des valeurs de pH situées entre 4.5 et 9 avec un optimum se situant autour de la neutralité (Stéphanie, 2003).

-Elles sont des bactéries capables de résister dans le milieu extérieur et notamment les litières grâce à leur résistance à la déshydratation.

-L'aspect muqueux des colonies ne se voit qu'après plusieurs jours.

-les salmonelles produisent des gazes après fermentation du glucose, elles sont prototrophes (Bouchene et al., 2002).

1-2-3-Caractère biochimique**Tableau 1: Caractères biochimiques du genre *Salmonella* (Gledel, 1996).**

Tests	Réaction	Tests	Réaction
Motilité	+ (1)	Glucose avec gaz (2)	+
Réduction des nitrates	+	Mannitol	+
Oxydase	-	Maltose	+
Catalase	+	Lactose	-
Uréase	-	Saccharose	-
Indole	-	Dulcitol	+
Production d'H ₂ S	+	Salicin	-
Utilisation du citrate	+	Adonitol	-
Malonate de sodium	-	Tétrathionate réductase	+
Croissance sur KCN	-	Lysine décarboxylase	+
Rouge de méthyle	+	Arginine dihydrolase	+
VP	-	Ornithine décarboxylase	+
Gélatinase	-	Désamination de la phénylalanine	-
ONPG	-		

(1) sauf *Salmonella Gallinarum*

(2) sauf les sérovars Typhi et Gallinarum

1-2-4-Caractère antigénique

Très controversé, elle utilise comme critère les anticorps spécifiques liés à des antigènes de structures très variables.

-La classification de Kauffman utilise l'antigène-O, l'antigène-H, et l'antigène-Vi (Dedet, 2007).

-Les Ag-O : ils sont au nombre de 67 numérotés (1-2-3-4 etc.), polyosidiques, mis en évidence par agglutination sur lame, ils sont spécifiques de groupe.

-L'Ag-H : ceux-ci n'existent évidemment que chez les *Salmonella* possédant des flagelles, ce qui est le cas très général. Permet de séparer les variant sérologiques, il est biphasique.

-L'Ag-Vi (Ag-K) : il n'existe que chez trois variant sérologiques : *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi C*, *Salmonella dublin*.

-Il est rendu visible par agglutination, thermolabile.

-les souches à Ag-Vi, ne sont pas agglutinable par l'Ag-O (Ferron, 1984).

- Présentent un coefficient de chargaff (G+C) de 50-53%. (Bouchene et al., 2002). (Annexe 1 : Tableau 2).

1-2-5-Physiopathologie

La physiopathologie des diarrhées aiguës d'origine bactérienne permet de reconnaître différents mécanismes dont principalement la production de toxine et/ou l'invasion de la muqueuse digestive. Après ingestion d'une faible dose infectant ($\leq 10^5$ bactéries), les bactéries vont pendant l'incubation pénétrer l'épithélium intestinal en traversant les entérocytes par transcytose pour atteindre la lamina propria ou elles induisent une réaction inflammatoire intense avec afflux de monocytes dans le cas de *Salmonella typhi*, ou de polynucléaires dans le cas des salmonelloses de toxi-infections alimentaires. Les bactéries atteignent la lamina propria sans multiplication dans les entérocytes, et sont phagocytées par les polynucléaires neutrophiles qui les détruisent dans le cas des salmonelles des toxi-infections, ou se multiplient dans les monocytes dans le cas *Salmonella typhi*, pouvant ainsi disséminer dans le sang, après passage par voie lymphatique. Dans le cas des toxi-infections alimentaire, la diarrhée est due à la production de toxines LT (thermolabile), de cytotoxines et à la réaction inflammatoire intense à polynucléaires neutrophiles produisant localement des prostaglandines [1].

Ces toxines et prostaglandine entraînent en effet une perte d'eau par les entérocytes et une mal absorption de sodium. Le syndrome dysentérique se traduit par l'apparition assez brutale d'un malaise général avec fièvre à 39-40°C, de vomissements, mais surtout de

douleurs abdominales diffuses; s'accompagnant d'épreintes et de ténésmes. Les selles sont nombreuses, glaireuses, riches en polynucléaires, parfois sanglantes. Les formes graves s'observent surtout chez le sujet affaibli, avec risque de diffusion extra-intestinale de l'infection -septicémie (AFSSA, 2002).

Les personnes les plus touchées sont les personnes appartenant au groupe des **YOPI** (Young-Old-Pregnant-Immunodepressed) (ARSIA, 2012).

1-2-6-Diagnostic

➤ Diagnostic direct :

-Coproculture sur milieu spécifique : milieu SS pour *Salmonella-Shigella* et milieu d'enrichissement au sélénite.

-Hémoculture pour les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes.

-L'identification par la galerie API 20E permet de préciser les espèces du *Salmonella*.

-L'étude des Ag-O (somatique), H (flagellaire) et Vi (capsulaire) permet de les classer en sérotypes (Caillon et al., 2008).

➤ Diagnostic indirect :

-Le sérodiagnostic des salmonelloses n'est utile que pour les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes.

-Il étudie l'évolution des anticorps dirigés contre les Ag-O et H des sérotypes *typhi*, *paratyphi* A et *paratyphi* B.

-Il est très peu utilisé de part la présence d'antigènes communs avec des salmonelles mineures (Caillon et al., 2008).

1-2-7-Pouvoir pathogène

Les salmonelles sont des bactéries entéropathogènes invasives responsables de gastro-entérites et de septicémies. Leur virulence est liée à une endotoxine située sur la paroi appelée le lipopolysaccharide LPS (Ferron, 1984).

➤ La fièvre typhoïde et paratyphoïde (forme septicémie) :

Elles sont provoquées par quatre sérovars de *Salmonella* strictement humains, *typhi* et *paratyphi* A, B ou C, antigéniquement distincts mais de pouvoir pathogène similaire. Le point de départ de la maladie est une contamination orale. Après une incubation de 7-10 jours

l'infection apparaît progressivement, se caractérisant par une température ascendante et un syndrome digestif. A la phase d'état le tableau d'une septicémie lymphatique est caractérisé par une fièvre et peut s'accompagner d'un état de typhos. Des complications peuvent survenir : cardio-vasculaire (collapsus), digestives (hémorragies, perforation). Les formes atypiques semblent de plus en plus fréquentes, en particulier liées à une antibiothérapie inadéquate (Ferron, 1984).

➤ **la forme digestive : toxi-infection alimentaire**

Il s'agit de toxi-infection alimentaire consécutive à l'absorption d'un aliment contaminé par une souche de *Salmonella*. Le diagnostic de salmonellose est particulièrement suspecté dans les formes collectives. Les souches habituellement responsables sont de provenance humaine ou animale. Le maintien des aliments contaminés à la température ambiante favorise la multiplication des germes (Ferron, 1984).

La toxi-infection alimentaire à *Salmonella* débute plus tardivement (au moins huit heures), et s'accompagne souvent de fièvre, vomissement et diarrhée rétrocedent habituellement sans complication en deux à cinq jours, mais certains individus restent porteurs de *Salmonella* pendant plusieurs mois. Les mêmes types de *Salmonella* qui, chez l'homme adulte, ne provoquent guère que des toxi-infections alimentaires sont capables de provoquer un syndrome grave chez le nouveau-né et le jeune enfant (Ferron, 1984).

1-2-8-Traitement

➤ **Traitement curatif :**

Pour le traitement de la fièvre typhoïde, le chloramphénicol ou le cotrimoxazole sont généralement actifs, en plus on peut utiliser les fluoroquinolones, ou des céphalosporines de 3^{ème} génération. Des rechutes à l'arrêt du traitement sont possibles (Ferron, 1984).

➤ **Traitement préventif :**

L'hygiène des aliments et des eaux, de dépister les porteurs sains et de pratiquer la vaccination, ce vaccin contenant des bactéries tuées appartenant aux trois sérotypes *typhi*, *paratyphi A* et *paratyphi B* (Ferron, 1984).

2-Shigella

Les *Shigella* sont des entérobactéries à tropisme exclusivement digestif, [6], très proche de *Escherichia coli* (> 90% d'homologie) et GC% identiques (51%), (Bouchene et *al.*, 2002), elles sont les agents d'une maladie diarrhéique aiguë dont la forme la plus complète est représentée par la dysenterie bacillaire (ou la shigellose). Ces bactéries pathogènes spécifiques du tube digestif, ne se rencontrent que chez l'homme. Elles sont responsables de maladies interhumaines à partir des selles des malades ou des porteurs sains (Ferron, 1984).

2-1-Transmission

La contamination se fait par la voie digestive. La transmission interhumaine s'opère facilement, car la dose infectante est faible. Elle peut être directe, par les mains (oro-fécale), ou indirectes par l'ingestion d'aliment ou d'eau contaminée. (Nauciel et *al.*, 2005). De grandes épidémies peuvent survenir lorsque des populations importantes sont rassemblées dans des mauvaises conditions d'hygiène (Malvy, 1975).

2-2-Caractère bactériologiques

2-2-1-Caractère morphologique

Ces bacilles à Gram négatif, sont immobiles, mais animées de mouvements pendulaires sur place [2], asporulés, non capsulé, aéro-anaérobie facultatif, appartient à la famille des Enterobacteriaceae [4].

2-2-2-Caractère culturaux :

En 24h à 37°C, *Shigella* donne des colonies de taille moyenne (2 à 3mm), ronde et brillantes. Cultive facilement mais en faible quantité. Elles apparaissent :

-Sur BCP : bleues (lactose-).

-Sur Hektoen : vertes sans centre noir (lactose-, H₂S-).

-Sur SS : incolores sans centre noir (lactose-, H₂S-) [5].

Ne survivent que quelques jours dans les eaux souillées, mais résistent plus longtemps dans les selles [6].

2-2-3-Caractère biochimique

Tableau 3 : Les caractères biochimiques du genre *Shigella* (Hart T et al., 1999).

Test	Réaction
Catalase	Positif
Oxydase	Négatif
Nitrate réductase	Positif
Glucose	Positif
Lactose	Négatif
H ₂ S	Négatif
Uréase	Négatif
VP	Négatif
TDA	Négatif
ONPG	d
Gaz en glucose	Négatif
LDC	Négatif
Acétate de trabulsi	Négatif (a)
Citrate de christensen	Négatif
Indole	d

(a) sauf variété *Shigella aïgonensis* de *Shigella flexneri* 4

d : variable d'une espèce à l'autre.

Tableau 4 : Diagnostic d'espèce des *Shigella* (caractères discriminants) [8].

Caractère	<i>S.dysenteriae</i>	<i>S.flexneri</i>	<i>S.boydii</i>	<i>S.sonnei</i>
ONPG	D	Négatif	Négatif *	Positif *
Mannitol	Négatif*	Positif (b)	Positif *	Positif
Indole	Négatif *	d	d	Négatif
ODC	Négatif	Négatif	Négatif (c)	Positif

* le plus souvent négatif, ou positif.

(b) sauf variété *Shigella aïgonensis* de *Shigella flexneri* 4.

d : variable d'une espèce à l'autre. (c) sauf *Shigella boydii*.

2-2-4-Caractère antigénique

Il n'existe pas d'Ag-H (immobile) mais elles peuvent posséder, en plus de leur Ag-O (endotoxine), un Ag-K d'enveloppe. Sur la spécificité de leur Ag-O, et sur les caractères biochimiques (Ferron, 1984), les *Shigella* sont divisées en quatre sous-groupes :

-Sérogroupe A ou *Shigella dysenteriae* : de 1-15 sérotypes et le type 1 est le bacille de shiga

- Sérogroupe B ou *Shigella flexneri* : de 1-6 sérotypes
- Sérogroupe C ou *Shigella boydii* : de 1-18 sérotypes
- Sérogroupe D ou *Shigella sonnei* : 1 seul sérotype (O.M.S., 2008).

2-2-5-Pouvoir pathogène

➤ Physiopathologie :

Le pouvoir pathogène des shigelles est principalement lié à leur pouvoir d'envahir l'épithélium rectal et d'induire une intense réaction inflammatoire de la muqueuse, ce sont des bactéries dites entéro-invasives [1]. Après pénétration par voie orale (la dose infectante serait de l'ordre de 10^2 bactéries) les *Shigella* envahissent la muqueuse de la partie terminale de l'iléon et du gros intestin, puis pénètrent dans les cellules intestinales par invagination de la membrane (caractère invasif plasmidique) [17].

Les bactéries vont alors se multiplier dans les cellules intestinales, les détruire et déclencher un afflux de polynucléaires. Les facteurs nécessaires à l'invasion sont codés par des gènes regroupés en «Ilot de pathogénicité», porté par un plasmide de 220kb. De plus, les Shigelles produisent une toxine cytotoxique qui inhibe la synthèse protéique. C'est une N-glycosidase qui agit sur l'ARN ribosomale entraîne le blocage de la synthèse d'ARN ribosomal. Cette toxine est produite à un taux important. Seulement par *Shigella dysenteriae* sérovar1, c'est pourquoi cette toxine est appelée toxine de shiga ou shigatoxine ou encore vérotoxine. Elle provoque la destruction des capillaires intestinaux à l'origine de manifestations ischémiques et hémorragiques [1].

➤ Clinique :

Après une période d'incubation d'un à quatre jours, les patients présentent en règle générale :

-Diarrhée caractérisée par l'émission fréquente de selles liquides peu volumineuses, contenant du sang visible avec ou sans mucus.

- Des crampes abdominales et un ténesme et épreintes. La fièvre et l'anorexie sont également courantes, mais ne sont pas spécifiques.

-Les patients peuvent cependant ne présenter qu'une diarrhée aqueuse aiguë sans sang ni mucus visible et sans les autres symptômes décrits ci-dessus, surtout au début de la maladie. S'il y a déshydratation (O.M.S., 2008).

2-2-6-Diagnostic**➤ Diagnostic direct :**

La coproculture.

A la phase aiguë, dans un contexte de diarrhée glaireuse purulente et hématique, l'isolement des *Shigella* est facile et confirme l'évidence clinique. Dans les cas chroniques l'isolement est plus difficile (Ferron, 1984).

➤ Diagnostic indirect :

Utilisé pour un diagnostic rétrospectif, le séro-diagnostic n'a que peu d'intérêt (Ferron, 1984).

2-2-7-Traitement**➤ Traitement curatif**

Il repose sur l'administration d'antibiotiques (ampicilline, cotrimoxazole, fluoroquinolones) et, si besoin, sur la réhydratation [17].

➤ Traitement préventif :

La prévention est basée essentiellement sur l'isolement des malades, la désinfection des selles.

La recherche des porteurs des germes, et leur traitement, et les mesures d'hygiène (Ferron, 1984).

Chapitre II

La résistance aux Antibiotiques

Les antibiotiques

1-Définition

On appelle « Antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle (Boulaïbal et *al.*, 1986).

2-Propriétés

Les antibiotiques ayant les propriétés suivantes :

- Activité antibactérienne.
- Activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (Bergogne et *al.*, 1995).
- Pouvoir d'être administré par voie orale sans qu'il soit inactivé par les sucs gastriques.
- Toxicité sélectivité: il s'agit contre les cellules microbiennes et non les cellules de l'hôte, il faut que les sites sur les quels agissent ces antibiotiques soient propre aux bactéries, ou très différents entre les procaryotes et les eucaryotes (Nicklin et *al.*, 2000).
- Stabilité.
- Bonne tolérance.
- Absence de pyrogènes et de composés histaminiques, absence d'effets secondaires sur les (tératogènes), sérum, les hématies (hémolyse) et sur les leucocytes.

Cependant, malgré tout les recherches actuellement poursuivies aucun des antibiotiques connus n'est absolument parfait (Simon et *al.*, 1970).

Le rôle des antibiotiques c'est empêcher la multiplication des bactéries pathogènes (bactériostase: CMI) ou entraîner leur destruction (bactéricide: CMB) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (Lavigne, 2007).

CMI = Concentration Minimale Inhibitrice : c'est la plus faible concentration d'un antibiotique capable d'inhiber complètement la croissance bactérienne (Pequignont, 1975).

CMB = Concentration Minimale Bactéricide: la plus faible concentration laissant moins de 0,01% de survivants d'un inoculum initial [7].

CMB/CMI : > 2 : Antibiotiques bactéricides.

< 2 : Antibiotiques bactériostatiques [16].

3-Caractéristiques

Les antibiotiques se caractérisent par :

- Une activité biologique élevée, avec de faible concentration.
- Une spécificité microbienne, que chaque antibiotique possède vis-à-vis d'un certain type de bactérie (Carli, 1983).
- Une absence de toxicité pour l'homme et pour l'animal.
- Une absence d'action sur les virus (Benaïche *et al.*, 2007).

4-Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (Bergogne *et al.*, 1995).

Deux grands lieux d'action : La paroi et le cytoplasme (Lavigne, 2007).

Ils agissent par :

● Toxicité sélective au niveau de la :

- Synthèse de la paroi bactérienne.
- Membrane cytoplasmique.
- Synthèse des protéines.
- Acides nucléiques (Lavigne, 2007).

● **Inhibition compétitive** : dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (Lavigne, 2007). (Annexe 2 : Figure 1).

5-Principales familles des antibiotiques

La classification regroupe par famille des antibiotiques apparentés par :

- Structure chimique.
- Mode d'action.
- Le spectre antibactérien.

-La pharmacocinétique (Caillon et *al.*, 2008). (Annexe 3: Tableau 5), (Annexe 4 : Tableau 6).

6-La résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes (Yala et *al.*, 2001). Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Sylvie, 2010). La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis, son mécanisme et son support génétique (Yala et *al.*, 2001).

6-1-Résistance naturelle : constitutive

C'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, partie du patrimoine génétique normal du germe (Yala et *al.*, 2001).

6-2-Résistance acquise :

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare (moins de 10% des cas), soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent près de 90%) (Yala et *al.*, 2001).

6-3-Mécanismes de résistance :

On peut classer les mécanismes de résistance en trois groupes (Flandrois et *al.*, 1988) :

6-3-1-Inactivation enzymatique :

Ces enzymes, produites par les bactéries, inactivant l'antibiotique ou le modifiant ou on l'hydrolyse, c'est le mécanisme le plus souvent responsable de la résistance plasmidique, il concerne particulièrement :

-Les Béta-lactamases :

Les pénicillinases ont pour substrat préférentiel : les pénicillines G, les aminopénicillines, les carboxy pénicillines et les uréidopénicillines.

Les céphalosporinases hydrolysent principalement les céphalosporines de première génération (C1G) et certaines céphalosporines de seconde génération (C2G) mais aussi les pénicillines G et les aminopénicillines (Flandrois et *al.*, 1988)

-Les enzymes inactivant les aminosides :

Les enzymes inactivant les aminosides sont constitutives intracellulaires, non diffusibles, codées par un plasmide donc transférables. Elles ne modifient l'antibiotique qu'après pénétration de ce dernier dans la cellule bactérienne. On les classe en trois groupes en fonction de la réaction qu'elles catalysent :

-Aminosides phosphotransférases APH.

-Aminosides adémnylitransférases ANT.

-Aminosides acétyle transférases AAC.

-Les phénicoles :

Une résistance plasmidique due à la production d'une « chloramphénicol acétyle transférases » est décelable chez certaines Entérobactéries et parmi différentes espèces appartenant aux genres *Staphylococcus*, *Sterptococcus* et *Pseudomonas* (Flandrois et *al.*, 1988).

6-3-2- Résistance par diminution de la perméabilité :

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut d'abord qu'il pénètre dans la bactérie et tout facteur altérant la perméabilité cellulaire induit une résistance. Ce mécanisme n'affecte pas les Gram positif car les antibiotiques diffusent librement à travers le peptidoglycane qui constitue la paroi de ces bactéries.

Chez les bactéries à Gram négatif, au contraire, la barrière constituée par le lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe s'oppose à la pénétration des antibiotiques mais des porines, protéines formant les canaux, permettent le passage des molécules hydrophiles comme les pénicillines, les céphalosporines, les aminosides, les phénicoles ou les tétracyclines (Yahi, 1997).

6-3-3-Résistance par modification de la cible :

Pour qu'un antibiotique soit efficace, il faut qu'il se fixe à une cible dans la bactérie. Si cette cible est remplacée ou modifiée de telle manière que l'antibiotique ne puisse plus s'y fixer, la bactérie acquiert une résistance qui souvent s'étend à toute une famille d'antibiotique (Yahi, 1997).

-Modification des PLP :

Les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) sont des enzymes qui interviennent dans l'assemblage du peptidoglycane de la paroi. La fixation des B-lactamines inactivent leurs fonctions enzymatiques. La bactérie, ainsi privée de paroi, devient très sensible aux systèmes antolytiques.

La résistance est due à la diminution d'affinité de ces PLP, soit par augmentation de leur production, soit par synthèse de nouvelles PLP de très faible affinité.

Ce type de résistance est surtout observé chez les Staphylocoques « *meti R* », chez les Pneumocoques « de résistance anormale à la pénicilline » et plus rarement chez les Entérocoques.

Il s'agit de résistance mutationnelles (Staphylocoques, Entérocoques) ou acquise par transformation (Pneumocoques) (Flandrois et *al.*, 1988).

-Modification de la cible ribosomale :

Les ribosomes sont le lieu des synthèses protéiques. Ils peuvent être altérés dans leur structure et leur fonctionnement par la fixation d'un antibiotique.

Une modification de la cible ribosomale acquise par mutation diminue l'affinité du site de fixation de l'antibiotique et rend la bactérie résistante.

Ce mécanisme est responsable de résistances aux tétracyclines, aux macrolides et lincosamindes, aux phénicoles, à la fucidine et plus rarement aux aminosides (Flandrois et *al.*, 1988).

-Altération de la synthèse des acides nucléiques :

L'ADN gyrase est essentiel pour la multiplication de l'ADN, en paralysant son activité, les antibiotiques de la famille des quinolones ont un effet bactéricide. Des mutations peuvent conduire à la production d'enzymes modifiées insensibles à ces antibiotiques.

L'ARN polymérase (transcriptase) est nécessaire à la synthèse des ARN messagers. Les rifamycines bloquent l'action de cette enzyme.

Les résistances acquises par mutation sont dues à la production de transcriptase modifiée.

L'acide tétrahydrofolique est un coenzyme indispensable à la synthèse des acides nucléiques. Ces résistances sont acquises par mutation ou codées par des plasmides ou des transposons (Flandrois et *al.*, 1988).

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

Cette partie portée sur la recherche et l'identification des *Salmonella* et *Shigella* dans la coproculture, les prélèvements des selles sont parvenus au laboratoire de microbiologie à l'hôpital *Ibn Zohr* de Guelma, soit du service infectieux ou des malades externes, sur une période de cinq mois allant du mois de décembre 2012 à avril 2013.

1-Prélèvements

Tableau 7: Des informations sur les prélèvements qui parvenir au niveau de laboratoire.

N°	Date	Service	Age	Sexe	Renseignement clinique	Traitement	Durée de traitement
1	17/12/2012	Hospitalisé	22ans	Femelle	Douleur abdominale Purpura Fièvre	-	-
2	24/12/2012	Hospitalisé	65ans	Femelle	Diarrhée Fièvre	-	-
3	28/01/2013	Externe	5mois	Male	Diarrhée Fièvre	-	-
4	30/01/2013	Externe	18mois	Male	Diarrhée Fièvre	-	-
5	17/02/2013	Hospitalisé	36ans	Male	Diarrhée	Amoxil Flagyl	4 jours
6	22/02/2013	Hospitalisé	26ans	Male	Fièvre Diarrhée Douleur abdominale	Cloroforme 6g/j	4 jours
7	4/03/2013	Hospitalisé	75ans	Male	Diarrhée Fièvre Asténie Anorexie	Ampiciline 1g/4h	3 jours
8	18/03/2013	Hospitalisé	70ans	Male	Diarrhée	Ampiciline 1g/4h	3 jours
9	1/04/2013	Hospitalisé	74ans	Femelle	Diarrhée aiguée	-	-
10	2/04/2013	Hospitalisé	56ans	Male	Diarrhée fébrile	Ampiciline 6g/j Flagyl 15g/j	1 jours
11	8/04/2013	Externe	5 mois	Male	Diarrhée fébrile	-	-
12	24 /04/2013	Hospitalisé	19 ans	Male	Diarrhée aiguée	-	-

(-) Absence de traitement.

2-Protocole de la coproculture

2-1-Contextes

A-contexte standard :

La Coproculture ou examen bactériologique des selles, vise à diagnostiquer les diarrhées d'origine bactérienne.

L'étiologie bactérienne varie en fonction de l'âge :

*Adulte et enfants de plus de 02 ans :

Essentiellement *Salmonella*, *Shigella*, *vibrio* (mais également *Campylobacter* spp, *Yersinia enteocolitica*, *Aeromonas*, *bacillus cereus*, *Clostridium*).

*Enfants âgés de moins de 02 ans :

Réalisation d'une coproculture standard (mêmes bactéries) avec en plus recherche des *Escherichia coli entéropathogènes* (*E. coli* GEI : responsable de gastroentérites infantiles) [11].

B-contextes diagnostiques particuliers :

- Diagnostic bactériologique des toxi-infections alimentaires.
- Diarrhées post antibiotique.
- Détection de colonisation par des bactéries multi résistantes (BMR).
- Recherche de bactéries particulières (dépistage des bactéries entéropathogènes chez les employés de cuisine ; recherche de porteurs sains de *salmonella*) [11].

2-2-Modalités de prélèvement des selles

Prélever les selles :

- Par émission directe dans récipient stérile ou à défaut très propre.
- Par écouvillonnage rectal surtout chez les jeunes enfants : introduire dans le rectum du malade un écouvillon stérile et essayer de ramener le maximum de selles.

Les prélèvements qui ne peuvent parvenir au laboratoire dans un délai de 2 heures doivent être obligatoirement mis à +4°C s'ils ne sont pas dans un milieu de transport. S'ils ont été

placés dans un milieu de transport on peut éventuellement le garder dans un endroit frais mais pas plus de 24heures [11].

2-3- Examen du prélèvement

2-3-1-Examen macroscopique et mise en suspension :

Noter l'aspect macroscopique de la selle :

- la constance (solide ; diarrhéique ; en eau de riz).
- la présence de glaires, de pus, de sang : choix de ces zones.

A) Si le prélèvement n'est pas dans un milieu de transport, le mettre en suspension dans l'eau physiologique.

- Lorsque la selle n'est pas liquide prendre une noisette de la selle et préparer une suspension homogène dans de l'eau physiologique ou eau distillée stérile.

- Lorsque la selle est liquide, prélever un volume correspondant à la moitié d'une pipette Pasteur et la mettre dans de l'eau physiologique.

B) Si le prélèvement parvient en milieu de transport, il suffit de bien agiter le tube pour mettre en suspension [11].

2-3-2 – Examen microscopique direct :

A L'état frais ou après coloration, dans le cas des selles liquides, cet examen est important pour orienter les cultures [11].

➤ Etat frais :

Technique :

-Déposer une goutte de lugol sur une lame bien dégraissée.

-Ajouter une noisette de selle et mélanger.

-Recouvrir avec une lamelle et observer à l'objectif x40.

Intérêt :

-Mobilité caractéristique /levures/hématies/parasites.

-Leucocytes :

- ✓ Présence des leucocytes : diarrhée à germes invasifs ex : *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp.
- ✓ Absence des leucocytes : diarrhée à germes entérotoxigènes ex : *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile*.

Cependant, dans certaines diarrhées à bactérie invasives, la présence de leucocytes n'est pas toujours constante [10].

➤ Coloration de Gram :

C'est la coloration de références en bactériologies (Denis et *al.*, 2007), elle permet de diviser le monde des bactéries en deux groupes distincts, mais certaines bactéries peuvent présenter un Gram variable, cette coloration permet en général d'apprécier la pureté des souches bactériennes avant toute identification (Delarras, 2007).

Le protocole est le suivant :

- Préparer un frottis d'une culture bactérienne pure.
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté ; laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillée.
- Verser du lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée.
- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 seconds ; rincer à l'eau distillée.
- Recolorer avec de la safranine pendant 10 à 30 seconde ; rincer à l'eau distillée. La safranine peut être remplacée par de la fuchsine de Ziehl diluée au 1/100 (Delarras, 2007), 30 seconde à 1 minute (Denis et *al.*, 2007).
- Sécher entre deux feuilles papier filtre (Denis et *al.*,2007) puis au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen.
- Observer au microscope à l'objectif x100 à immersion.

Avec cette coloration double, les bactéries Gram positif apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatif sont colorées en rose (Delarras, 2007).

Intérêt :

- ✓ Après coloration l'examen du frottis permet d'apprécier le pourcentage des deux types tinctoriaux bactériens.
- ✓ Une flore équilibrée est composée majoritairement de bacilles à Gram négatif, mais avec toujours présence de bacilles à Gram positif. Toute perturbation notable de cet équilibre doit être signalée. [11]

2-3-3-Mise en culture

Il existe de nombreux milieu d'isolement et d'enrichissement pour la mise en évidence des bactéries entéropathogènes à partir des selles [11].

2-3-3-1- les milieux de culture utilisées :**▪ Gélose Hektoen :**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant les isollements et différenciations des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements biologiques d'origine animale, des eaux, des produits laitiers et des autres produits alimentaires. Elle est également utilisée dans le domaine de la santé animale dans le cadre de la recherche des salmonelles. Ce milieu est particulièrement adapté à la culture des *Shigella*. Il évite l'envahissement par les *Proteus*. Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine).

Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur «saumon», les autres donnant des colonies bleues ou vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir (Marchal et *al.*, 1982).

Principe :

L'inhibition de la flore à Gram positif est due à la présence des sels biliaries qui peuvent également inhiber légèrement la croissance de quelques souches de microorganismes à Gram négatif.

La forte concentration en lactose favorise la visualisation des entérobactéries en évitant le problème des fermentations tardives. Les autres glucides ont été introduits afin d'assurer une différenciation plus performante et de réduire la toxicité engendrée par les indicateurs colorés.

En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène réduisent le citrate ferrique ammoniacal et se manifestent par un noircissement du à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies.

Le système d'indicateurs colorés, composé de bleu de bromothymol et de fuch sine acide permet de colorer en jaune orangé les entérobactéries lactose positif et en bleu vert les lactose négatif (Bensouilah et *al.*, 2012).

▪ **Gélose SS :**

La gélose *Salmonella-Shigella* (SS) est utilisée pour l'isolement des salmonelles et des shigelles dans les produits alimentaires ainsi que dans les autres prélèvements (d'origine animale, par exemple) susceptibles d'en contenir, après enrichissement préalable.

Les *Salmonella* qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies incolores, transparentes, avec ou sans centre noir (production d'H₂S).

Les *Shigella* sont incolores. Les coliformes présentent des colonies rouges ou rosées.

Les colonies suspectes seront repiquées sur gélose de kligler ou TSI en vue de leur identification ultérieure (Marchal et *al.*, 1982).

Principe :

La gélose SS est un milieu modérément sélectif ou l'inhibition des microorganismes à Gram positif est due à la présence de sels biliaires, de vert brillant et de citrate de sodium.

Les concentrations élevées en citrate et thiosulfate de sodium limitent le développement des coliformes et évitent l'envahissement du milieu par les *Proteus*.

La fermentation du lactose en acide est révélée, en présence de rouge neutre, par la formation de colonies rouges. Les microorganismes lactose-négatif présentent des colonies incolores.

En présence de thiosulfate et de citrate ferrique, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent des colonies à centre noir (Bensouilah et *al.*, 2012).

Tableau 8: la couleur des colonies isolées à partir des géloses SS et Hektoen (Rodier et al, 2009).

Gélose	La couleur des colonies	Espèces
Gélose SS	Rouges	<i>Enterobacter, Klebsiella</i> , et autre coliformes tels <i>E.coli</i>
	Incolores, centre noir	<i>Salmonella</i> à H_2S^+ , <i>proteus vulgaris</i> et <i>mirabilis</i>
	Incolores transparentes	<i>Salmonella</i> à H_2S^- , <i>Shigella, Serratia, Hafnia, Alkalescens, Morganella morganii</i> ;
	Colonies à centre orangé	<i>Proteus rettgeri, Providencia</i>
	Rouges, centre noir	<i>Citobacter freundii</i> (en réalité seul le centre noir est visible d'où confusion avec <i>Salmonella</i>), <i>Salmonella arizona</i> (même remarque).
Gélose d'Hektoen	Jaune saumon	<i>E.coli, Citobacter, Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i>
	Jaune saumon, centre noir	<i>Citobacter freundii, Proteus vulgaris</i>
	Bleues ou vertes, centre noir	<i>Proteus mirabilis, Salmonella.</i>
	Bleuâtres ou vertes	<i>Shigella, Providentia, Morganella morganii, Proteus rettgeri, Salmonella</i> à H_2S^- .

▪ **Milieu d'Enrichissement : bouillon SFB :**

Le bouillon sélénite-cystine est utilisé pour l'enrichissement sélectif des salmonelles dans les produits pharmaceutiques, le lait et les produits laitiers, les autres produits alimentaires, ainsi que dans le domaine de l'eau [14].

Principes :

- La teneur en sélénite permet d'assurer l'inhibition des microorganismes autres que les salmonelles et notamment des coliformes et des entérocoques. Les *Pseudomonas* et les *Proteus* ne sont pas totalement inhibés.

- Le phosphate disodique contribue à assurer le maintien du pH et à réduire la toxicité du sélénite afin d'augmenter la capacité de récupération du milieu [14].

2-3-3-2- Recherche des *Salmonella* et *Shigella*

❖ Premier jour :

A-Isolement direct :

A partir de la suspension de selle, effectuer un isolement à l'aide d'une anse de platine ou (si le prélèvement a été effectué par écouvillonnage) à l'aide de l'écouvillon, sur une boîte de milieu Hektoen ou de milieu SS (*Salmonella Shigella*) pour la recherche de *Salmonella* et *Shigella* : Hektoen direct ou SS direct.

B -Premier enrichissement :

A partir de la suspension du prélèvement, prendre le volume d'une demi-pipette Pasteur et l'ensemencer dans un tube de milieu SFB (bouillon au sélénite) : SFB I.

Incuber les boîtes et le tube SFBI une nuit à 37°C.

❖ Deuxième jour :

A-Identification des colonies suspectes :

Pour *Salmonella* et *Shigella* :

Repérer sur les boîtes d'Hektoen D (direct) les colonies vertes avec ou sans centre noir (colonies lactose saccharose négatif). Repiquer au moins 04 colonies sur milieu urée- indole.

Incuber les milieux urée-indole dans un bain-marie à 37°C pendant 04heures :

Ceci permet d'éliminer les *Proteus* qui ont le même aspect que les *Salmonella* sur milieu Hektoen mais sont urée positive (dans ce cas inutile de continuer l'identification).

Si après ce temps d'incubation l'urée un tube de TSI et un tube LDC et son témoin, incuber tous les tubes y compris celui de l'urée une nuit à 37°C, à l'étuve.

B- Isolement et 2^{ème} enrichissement (SFBII) à partir du 1^{er} enrichissement :

A partir du tube de SFB I, effectuer un isolement sur milieu Hektoen ou SS. (Hn I ou SS I) à l'aide d'une anse de platine.

Un deuxième enrichissement en ensemençant 5 à 6 gouttes du SFB I dans un tube SFB II. Incuber les boîtes et les tubes une nuit à 37°C dans une étuve.

❖ Troisième jour :

A. Identification complète: des colonies suspectes repiquées la veille :

1. Identification des colonies lactose-saccharose négatif

Lecture des galeries ensemencées la veille

- Si le TSI présente un culot noir (H₂S) avec gaz pente rouge (Lac-) :

L'urée TDA et indole sont (-) et LDC (+) il s'agit de *Salmonella non typhoïdique* ou de *Salmonella paratyphi* B ou C.

Procéder à l'identification antigénique.

- Si le TSI présente un culot jaune sans gaz avec un anneau noir " aspect en moustache" (parfois absence de noircissement : H₂S + ou H₂S-) et une pente rouge, Urée, TDA et indole sont négatif et LDC positive : il s'agit de *Salmonella typhi*.

Procéder alors à l'identification antigénique.

- Si le TSI présente un culot jaune avec gaz absence de noircissement et une pente rouge l'urée la TDA l'indole LDC sont négatifs il s'agit de *Salmonella paratyphi* A.

Procéder alors à l'identification antigénique pour confirmer le diagnostic;

- Si le TSI présente un culot jaune sans gaz ni noircissement et une pente rose et que l'urée la TDA et LDC sont négatif : suspicion de *Shigella*.

Précéder alors à l'identification antigénique.

❖ Quatrième jour :

Repérage et identification des colonies suspectes retrouvées sur Hektoen direct.

Un test de sensibilité aux antibiotiques est effectué pour chaque souche isolée [11].

Le protocole expérimental et les différentes étapes suivies sont présentés dans la figure ci –
Après :

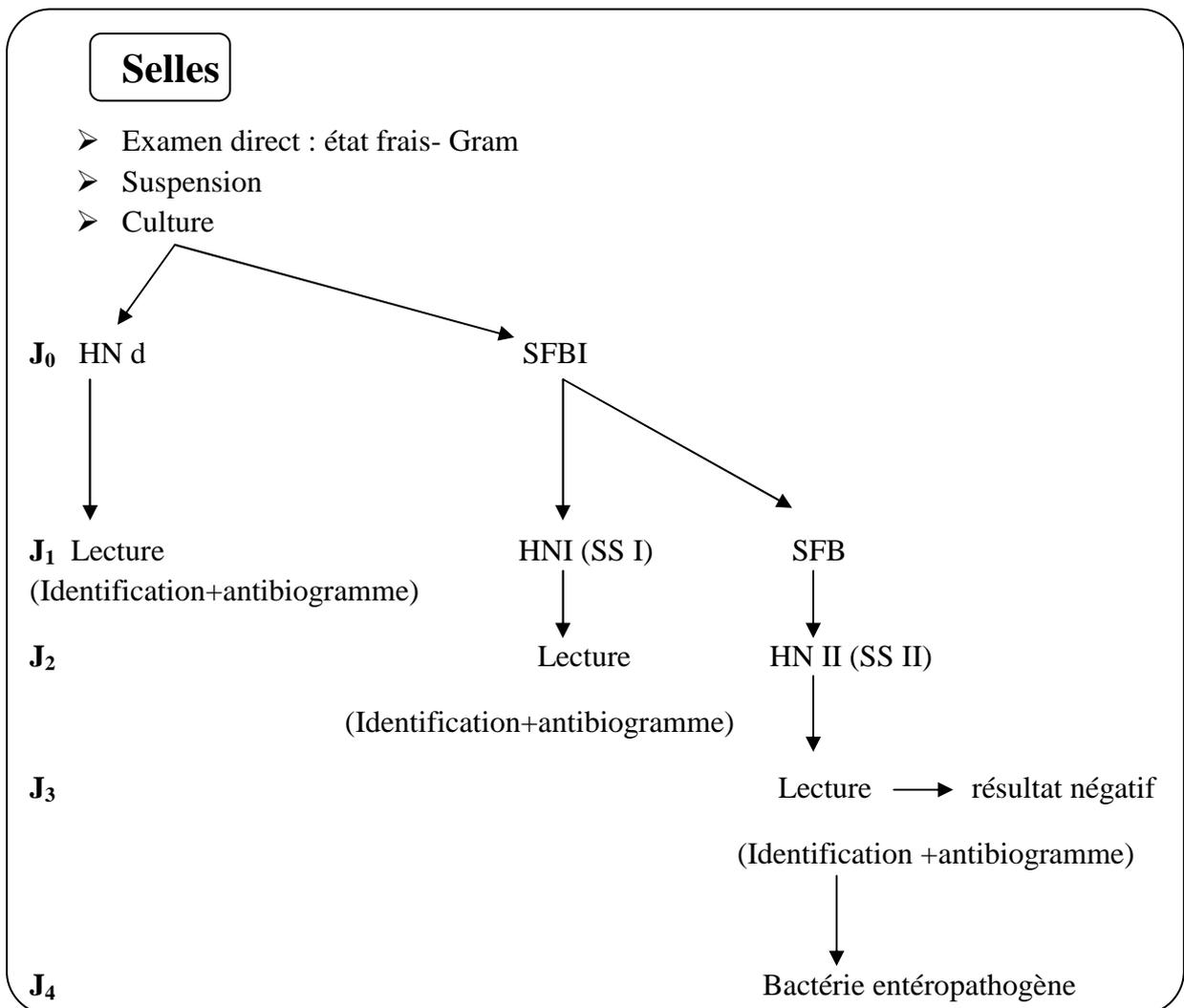


Figure 2: Etape d'une coproculture standard (recherche de : *Salmonella*, *Shigella*.)

HN : Hektoen.

SFB : bouillon sélénite.

SS : milieu *Salmonella Shigella*.

2- 3-4- Recherche des caractères biochimique

2-3-4-1-La galerie API 20 E

La galerie API 20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles Gram (-), utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base de données (Bensouilah et *al.*, 2012).

Principe :

La galerie API 20E compte 20 microtubes contenant des substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec suspension bactérienne qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification a été faite sur l'Api WebTM BioMérieux^R (Bensouilah et *al.*, 2012).

Technique

Préparation de la galerie :

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation (Bensouilah et *al.*, 2012).

Préparation de l'inoculum :

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de suspension medium ou dans un tube d'eau distillée stérile, d'opacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé (Bensouilah et *al.*, 2012).

Inoculation de la galerie :

- Remplir les tubes et les cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne.
- Remplir uniquement les tubes des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer à 35-37°C pendant 18 à 24 heures (Bensouilah et *al.*, 2012).

Lecture :

Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.

Si le glucose est positif et/ou si 3 tests ou plus sont positif : révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (Bensouilah et *al.*, 2012).

Test VP : ajouter une goutte de réactifs VP1 et VP2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose franche ou rouge indique une réaction positive.

Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA. Une couleur marron foncée indique une réaction positive.

Test IND : ajouter une goutte de réactif de kovacs. Un anneau rouge obtenu en 2 minutes indique une réaction positive (Bensouilah et *al.*, 2012).

2-3-5-Méthode de diffusion sur gélose (Antibiogramme)**Matériel:**

- Géloses Mueller-Hinton
- Disque d'antibiotiques [9].

Méthode:

- Mise en culture des souches d'entérobactéries 24 heures sur milieux usuels
- Préparation d'une suspension bactérienne à 0.5 MacFarland en eau physiologique
- Dilution au 1/100 de la suspension bactérienne
- Ensemencement sur gélose Mueller-Hinton par inondation ou écouvillonnage; séchage 15 à 20 minutes
- Dépôt des disques d'antibiotiques.
- Incubation 18 à 24 heures à l'étuve à 37°C [9].

La lecture :

Après incubation, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque d'antibiotique. Cette mesure est ensuite interprétée en termes de sensibilité, intermédiaire ou résistance (Carbon, 1998).

Tableau 9: Tableau de lecture : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et pour entérobactéries (Rahal et al ., 2011).

Antibiotique testés		Charge des disques	Date de péremption	Diamètres critiques (mm)		
code	Nomination communes			R	I	S
AMP	Ampicilline	10µg	15/11/2013	≤ 13	14- 16	≥ 17
AMC	Amoxicilline /acide clavulanique	20/ 10µg	30/12/2012	≤ 13	14-17	≥ 18
CRO	Céftriaxone	30µg		≤ 19	20-22	≥ 23
IPM	Imipenem	10µg		≤ 19	20-22	≥ 23
CIP	Ciprofloxacine	5µg	15/06/2013	≤ 15	16-20	≥ 21
CS	Colistine		15/07/2013			
SXT	Trimethoprime / Sulfamethoxazole	1.25/ 23.75µg	30/05/2013	≤ 10	11-15	≥ 16
AMX	Amoxicilline					
CZ	Céfazoline	30µg	15/07/2013	≤ 19	20-22	≥ 23
FOX	Céfoxitine	30µg	15/06/2013	≤ 14	15-17	≥ 18
CTX	Céfotaxime	30µg	30/05/2013	≤ 22	23-25	≥ 26
NAL	Acide nalidixique	30µg	15/06/2013	≤ 13	14-18	≥ 19
CN	Gentamicine	10µg	15/06/2014			
C	Chloramphenicol	30µg	30/06/2013	≤ 12	13-17	≥ 18
CFM	Céfixime		15/03/2013			
FOS	Fosfomycine	200µg	30/06/2014	≤12	13-15	≥ 16

R : résistant

S : sensible

I : intermédiaire

Interprétation:

Il y a présence d'une BLSE ou « bouchon de champagne » si la zone d'inhibition de la pousse bactérienne est élargie entre le disque d'AMC et le disque de Céfotaxime ou Céfotaxime (effet de synergie) ou d'AZT [9].

❖ La disposition des disques :

Le choix de la position des disques sur l'antibiogramme permet d'observer des images caractéristiques de synergies ou l'antagonisme entre les molécules, ou qui permettent de révéler certains mécanismes de résistance : test de synergie entre l'amoxicilline, acide clavulanique et la ceftazidime, et/ou le céfotaxime, et/ou le ceftriaxone, et/ou aztréonam dans le secteur en regard de la zone de la diffusion de l'acide clavulanique. L'inhibition de la Béta-lactamase restaure l'activité et le diamètre de la céphalosporine de 3^{ème} génération. Dessinant une zone d'inhibition en forme de « bouchon de champagne » (O.M.S. ,1971).

❖ Entérobactéries et Béta-lactamines :

Les Entérobactéries sont classées en 4 groupes en fonction de leur sensibilité naturelle (phénotype sauvage) aux bêta-lactamine suivantes :

-Aminopénicillines

- Aminopénicillines + inhibiteur de β –lactamases (IBL)

-carboxypénicillines

-Uréidopénicillines

-céphalosporines I

- céphalosporines II

- céphalosporines III

Groupe I : *E. coli*, *P. mirabilis*, *Salmonella* spp ,*Shigella* spp.

Groupe II : *K.pneumoniae*,*K .oxytoca*,*L .malonatica* ,*citrobacter diversus*

Groupe III : *Enterobacter* spp,*Serratia* spp,*Providencia* spp

Groupe IV : *Yersinia enterocolitica*

Tableau 10: Groupe 1 des entérobactéries et les bêta-lactamines (Rahal et al., 2011).

	Phénotype sauvage	Pénicillinase bas niveau	Pénicillinase haut niveau	BLSE
Amino-P	S	R	R	R
AminoP+IBL	S	S	S ou (R)	R
Carboxy-P	S	R	R	R
Uréido-P	S	S	S ou (R)	R
CIG	S	S	S ou (R)	R
CIIG	S	S	S ou (R) ¹	S
CIIG	S	S	S	R

Légende : **1** :Céfoxitine S, **S**-Sensible, **R**-Résistant.

2-3-6-Sérotypage

Le sérotypage des *Salmonella* consiste, grâce à des réactions d'agglutination active directe sur lame, à:

- Identifier les antigènes O de ces bactéries afin de déterminer le groupe auquel elles appartiennent
- Puis identifier les antigènes H afin de déterminer précisément le sérovar [12].

➤ CONDUITE DU SÉROTYPAGE

1^{ère} étape: test en eau physiologique

- S'il n'y a pas agglutination, la souche n'est pas auto-agglutinable et on peut poursuivre le sérotypage.
- S'il y a agglutination, la souche est auto-agglutinable. Il faut la repiquer et recommencer le sérotypage.

2^{ème} étape: recherche de l'antigène d'enveloppe avec l'antisérum Vi

- S'il n'y a pas d'agglutination, poursuivre le sérotypage.

- S'il y a agglutination, on s'oriente vers les souches susceptibles de porter l'antigène Vi: *S. typhi*, *S. paratyphi C*, *S. dublin*. Détruire l'antigène Vi par chauffage 10 min à 100°C pour poursuivre.

3^{ème} étape: détermination du groupe par identification des antigènes O majeurs

- Tester d'abord les antisérums O mélanges: OMA et OMB.
 - Si agglutination dans OMA (inutile de tester OMB si l'agglutination est franche): conclure que la souche appartient à l'un des groupes O:2(A), O:4(B), O:9(D), O:3(E), O:21(L).
 - Si absence d'agglutination dans OMA, tester OMB: une agglutination avec OMB permet de conclure que la souche appartient à l'un des groupes O:8(C), O:11(F), O:13(G), O:6,14(H).
- Tester ensuite les antisérums mono- ou divalents par ordre de fréquence des groupes.
 - Si agglutination dans OMA:
 - Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O:4 (B), donc tester l'antisérum O4,5 (seul antisérum commercialisé)
 - Puis rechercher, en l'absence d'agglutination, l'antigène majeur du groupe O:9 (D1) avec l'antisérum O:9
 - Puis rechercher, en l'absence d'agglutination, l'antigène majeur du groupe O:3,10 (E1) avec l'antisérum O3, 10,15
 - Puis rechercher, en l'absence d'agglutination, l'antigène majeur du groupe O:2 (A) avec l'antisérum O1,2.
 - Si agglutination dans OMB:
 - Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O:8 (C2-C3) en testant l'agglutination dans le sérum O8
 - Puis, si nécessaire, tester le groupe O:7 (C1) avec le sérum O7.

4^{ème} étape: détermination du sérotype par identification des antigènes H

Tester les antisérums H adaptés au groupe déterminé précédemment en testant la phase 1 puis la phase 2 (phase 1 la plus fréquente) :

- Sérums H mélanges testés en fonction des antigènes H possibles
- Puis sérums H monovalents en fonction des résultats des mélanges H et dans l'ordre de fréquence des sérovars [12].

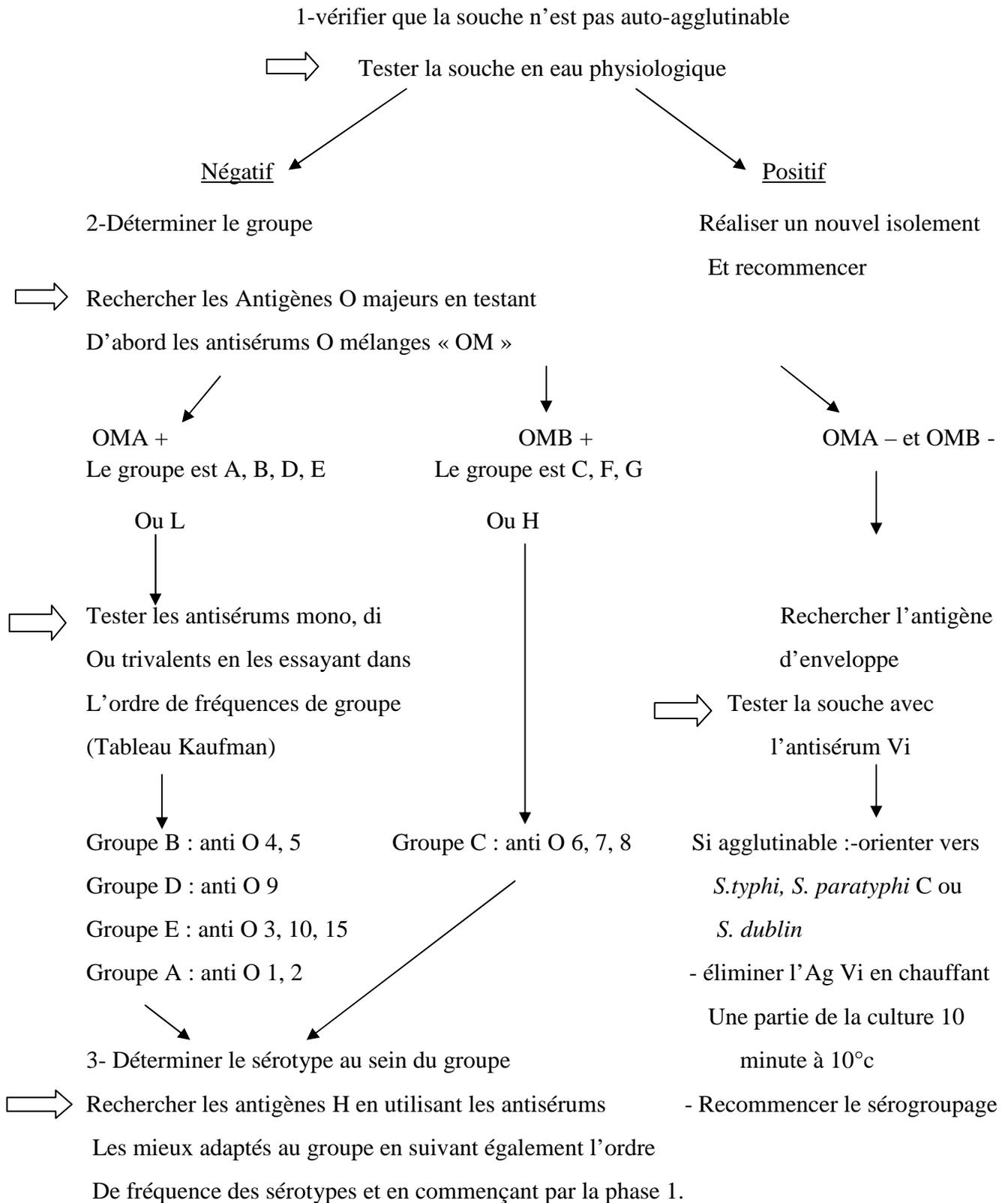


Figure 3: Conduite de sérotypage des *Salmonella* [13].

Tableau 11: Sérogroupes dépistés par les Sérums mélanges et liste des sérums <monospécifiques> permettant la détermination précise du sérogroupes (Rahal et al.,2011).

Antigènes D	Sérum pour la détermination des groupes et sous groupes	Groupes	Facteurs O commun	Sous Groupes	Autres facteurs O ou VI présents
Sérum Mélange de Dépistage					
OMA	1.2	A	2		1 ⁽¹⁾ .12
	4.5	B	4		1 ⁽¹⁾ 5.12.27
	9	D	9	D1 D2 D3	1 ⁽¹⁾ .12.VI 46 1.12.46.27
	3.10.15 10 15 1.3.19	E	3	E1 E2 E3 E4	10 15 ⁽¹⁾ 15 ⁽¹⁾ .34 ⁽¹⁾ 1.19
		L	21		
OMB	6.7.8 7 8	C	6.7 ou 6.8 ou 8	C1 C2 C3 C4	6.7. VI 6.8 8.20 ⁽¹⁾ 6.7.14 ⁽¹⁾
	11	F	11		
	13.22.23	G	13	G1 G2	1 ⁽¹⁾ .22 1 ⁽¹⁾ .23
	6.14.24	H	6.14		1.24.25
OMC		I à K M à P	(2)		(2)
OMD		Q à W	(2)		(2)
OME		X à Z 51 à 53	(2)		(2)
OMF		54 à 59	(2)		(2)
OMG		60 à 63 65 à 67	(2)		(2)
⁽¹⁾ Facteur lié à une conversion bactériophagique. <input type="checkbox"/> Batterie de sérum minimale. ⁽²⁾ Non précisé.					

Chapitre IV

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

Durant notre période d'étude 220 échantillons ont été analysés comme une coproculture standard ou trois espèces bactériennes étaient recherchées systématiquement : les *Salmonella*, les *Shigella*, et les *Escherichia coli* responsables de gastro-entérites infantiles, Chaque prélèvement a été subi un examen macroscopique, un examen microscopique et une mise en culture sur des milieux sélectifs.

Onze souches de *Salmonella* et une souche de *Shigella* ont été isolées, identifiées à l'aide de la galerie API 20E et confirmées par la sérologie puis on a évalué leurs résistances aux antibiotiques par un antibiogramme.

1-Aspect macroscopique des selles et examen microscopique

On coprologie l'examen microscopique avec coloration est remplacé par l'étude microscopique à l'état frais.

Le tableau suivant représente l'aspect macroscopique et les résultats d'examen à l'état frais des coprocultures positifs.

Tableau 12 : Aspect macroscopique des selles et examen microscopique.

N°	Aspect macroscopique	Examen direct	Coloration de Gram
1	Selles diarrhéiques	Leucocyte (+++), hématies (+++)	Bacille Gram négatif
2	Selles diarrhéiques	Leucocyte (++)	Bacille Gram négatif
3	Selles normal	RAS	Bacille Gram négatif
4	Selles normal	RAS	Bacille Gram négatif
5	Selles normal	RAS	Bacille Gram négatif
6	Selles diarrhéiques	Levures (++)	Bacille Gram négatif
7	Selles légèrement diarrhéiques	Levures (++) , Kyste Giardia	Bacille Gram négatif
8	Selles diarrhéiques	Levures (++)	Bacille Gram négatif
9	Selles diarrhéiques	RAS	Bacille Gram négatif
10	Selles diarrhéiques liquide	Leucocyte (++)	Bacille Gram négatif
11	Selles diarrhéiques	Leucocyte (+++)	Bacille Gram négatif
12	Selles diarrhéiques sanguinolentes glaireuses	Leucocyte (++++), Hématies (++)	Bacille Gram négatif

RAS : rien à signaler.

Les observations des états frais nous ont révélé une présence majoritaire de leucocytes et des hématies, ce qui est probablement due à une infection par un germe invasif tels *Salmonella* sp, *Shigella* sp, ou *Campylobacter* sp.

La présence des levures est considérée comme un signe de déséquilibre de la flore intestinal.

2- Test biochimique «API 20E»

Toutes les souches de salmonelles et de shigelles sont été identifiées par la galerie API 20E.



Figure 4 : Résultat d'API 20E de *Salmonella*.



Figure 5 : Résultat d'API 20E de *Shigella*.

3-Etude sérologique

Les souches identifiées sont confirmées par la sérologie.

Tableau 13 : Etude sérologique des salmonelles.

N°	Sérum polyvalent	Sérum monovalent	Le groupe
1	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe (O: 4,5)
2	OMB+	O: 6, 7, 8	<i>Salmonella</i> de groupe C (O: 6, 7,8)
3	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O: 4,5)
4	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O : 4, 5)
5	OMB+	O: 6, 7, 8	<i>Salmonella</i> de groupe C (O : 6,7, 8)
6	OMB+	O: 6, 7, 8	<i>Salmonella</i> de groupe C (O : 6, 7,8)
7	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O: 4,5)
8	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O: 4,5)
9	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O: 4,5)
10	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O: 4,5)
11	OMA+	O: 4, 5	<i>Salmonella</i> de groupe B (O: 4,5)

Les sérovars fréquents sont : O : 4, 5 et O : 6, 7,8

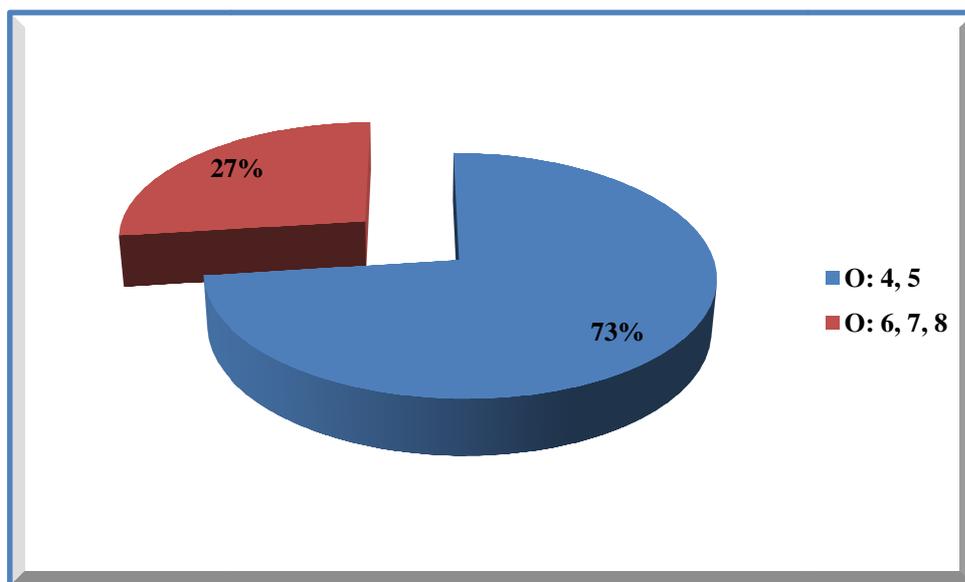


Figure 6 : Le pourcentage des groupes de salmonelles dans la région de Guelma.

4-Repiquage

Nous avons repiqué les souches sur gélose nutritive afin de les purifier.

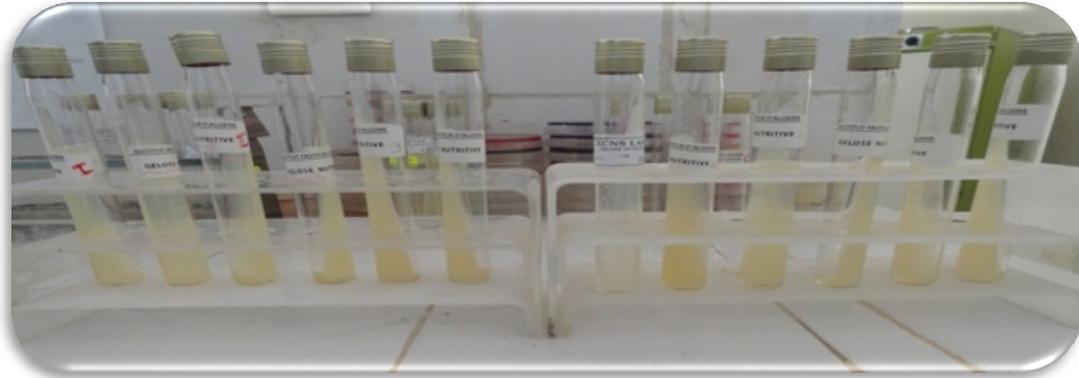


Figure 7 : Repiquage des souches sur gélose nutritif.

5-Antibiogramme

Douze antibiotiques ont été choisis selon les recommandations de l’OMS.

La souche N°8 présente une BLSE entre l’AMC et le CTX

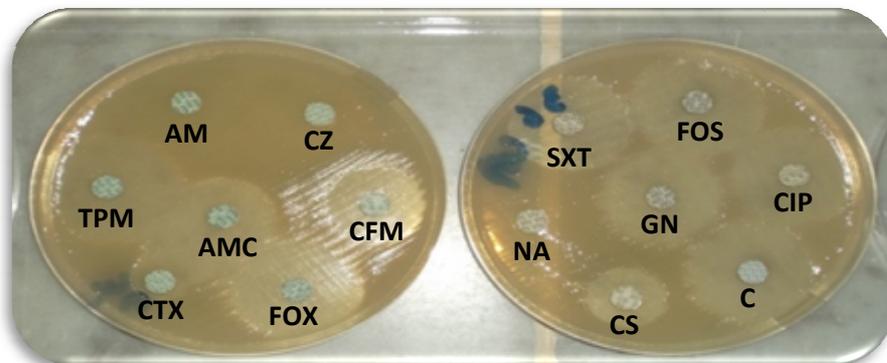


Figure 8: Résultat de l’antibiogramme de la souche N°8.

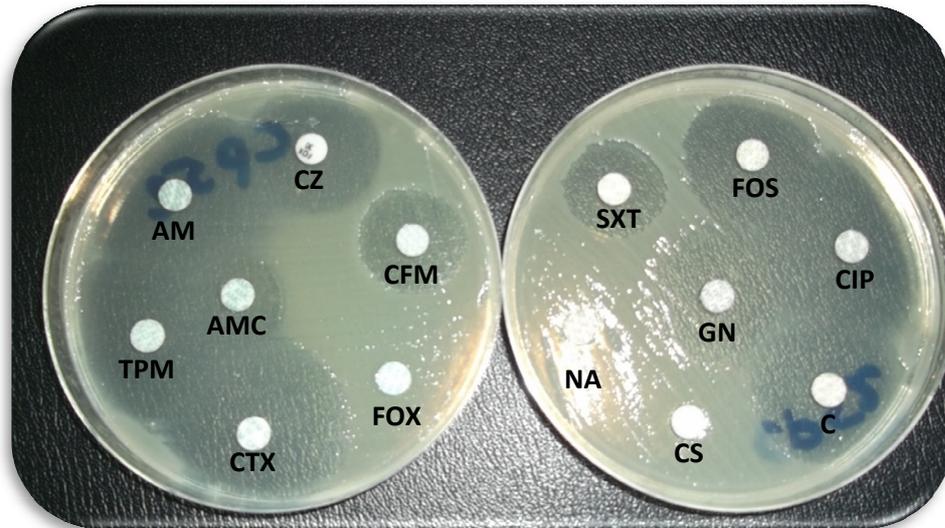


Figure 9: Résultat de l'antibiogramme de la souche N°6.

Pour la confirmation de BLSE, on a effectué un test de synergie entre l'AMC et CRO, CTX, CAZ (céphalosporine de 3^{ème} génération « CIIG »), FEP (céphalosporine de 4^{ème} génération) et CIP, TIC.

Dans le secteur on regarde de la zone de diffusion de l'acide clavulanique. L'inhibition de la bêta-lactamase restaure l'activité et le diamètre de la céphalosporine. Dessinant une zone d'inhibition en forme de « bouchon de champagne ».

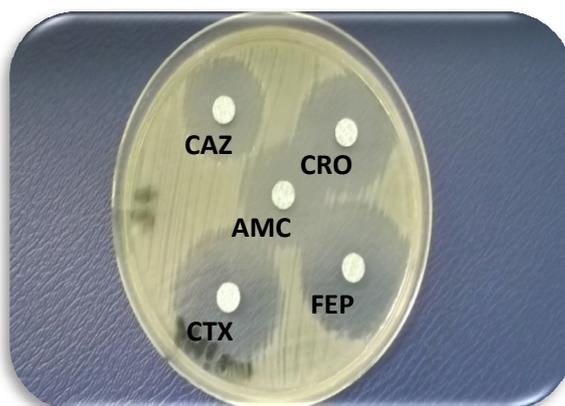


Figure 10: Test BLSE négatif.

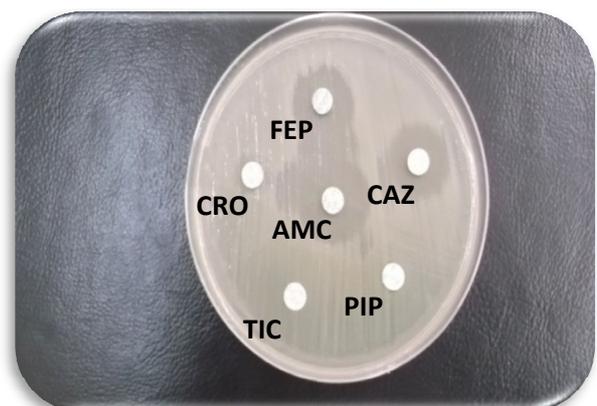


Figure 11: Test BLSE positif.

Les premières BLSE rapportées dans la littérature concernaient des *Klebsiella pneumoniae*, mais progressivement d'autres sortes d'entérobactéries ont été à l'origine d'épidémies décrites en milieu hospitalier.

En Algérie, une BLSE a été mis en évidence chez deux souches de *Salmonella enterica* ssp *enterica* sérotype Senftenberg en 2005. Nos résultats ont permis aussi de détecter ce phénomène pour la première fois dans la région de Guelma. La détection de cette enzyme BLSE chez les espèces du genre *Salmonella* reste cependant un phénomène rare.

On les détecte *in vitro* en testant côte à côte deux disques, une Céphalosporine de 3^{ème} génération (C3G) et une association contenant de l'acide clavulanique. On obtient une image caractéristique de synergie d'action en "bouchon de champagne".

Les résultats de La résistance aux antibiotiques sont résumés dans le tableau :

Tableau 14: Résultat de l'antibiogramme (diamètre : mm, et le degré de sensibilité).

	AMP		CZ		CTX		IPM		CIP		CS		C		AMC		FOX		CFM		NAL		GN		FOS		SXT		Commentaire
	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	DI	C	
1	6	R	24	S	30	S	30	S	30	S	15	S	10	R	18	S	30	S	34	S	22	S	18	S			12	I	Béta-lactamase (+)
2	6	R	24	S	32	S	34	S	36	S	16	S	8	R	19	S	26	S	32	S	26	S	22	S			26	S	Béta-lactamase (+)
3	6	R	16	R	34	S	26	S	10	R	15	S	24	S	16	I	24	S	30	S	6	R	12	R	32	S	24	S	
4	6	R	20	I			32	S	28	S	15	S	6	R	12	R	30	S	32	S	6	R	23	S			26	S	Béta-lactamase (+)
5	6	R	20	I	26	S	28	S	29	S	17	S	6	R	16	I			30	S	6	R	26	S			22	S	Béta-lactamase (+)
6	6	R	15	R	30	S	36	S	10	R	17	S	25	S	17	I	26	S	30	S	6	R	12	R	32	S	25	S	Béta-lactamase (+)
7	6	R	16	R	31	S	32	S	6	R	16	S	28	S	17	I	32	S	30	S	6	R	12	R	38	S	26	S	
8	6	R	6	R	12	R	30	S	28	S	16	S	29	S	20	S	28	S	22	R	6	R	26	S	30	S	26	S	BLSE (+)
9	18	S	23	S	28	S	26	S	24	S	16	S	26	S	24	S	22	S	28	S	6	R	22	S	24	S	24	S	Béta-lactamase (-)
10	6	R	22	I	30	S	32	S	26	S	21	S	6	R	16	I	6	S	36	S	6	R	24	S	36	S	28	S	Béta-lactamase (+)
11	6	R	14	R	34	S	30	S	12	R	19	S	30	S	18	S	24	S	30	S	6	R	13	I	34	S	27	S	
12	6	R	22	I	36	S	6	R	30	S	20	S	6	R	16	I	28	S	36	S	6	R	22	S	36	S	26	S	

DI : diamètre d'inhibition

C : Catégorie clinique

R : résistant

S : sensible

I : intermédiaire

Interprétation selon les normes CLSI (Clinical laboratory standards institute) 2011.

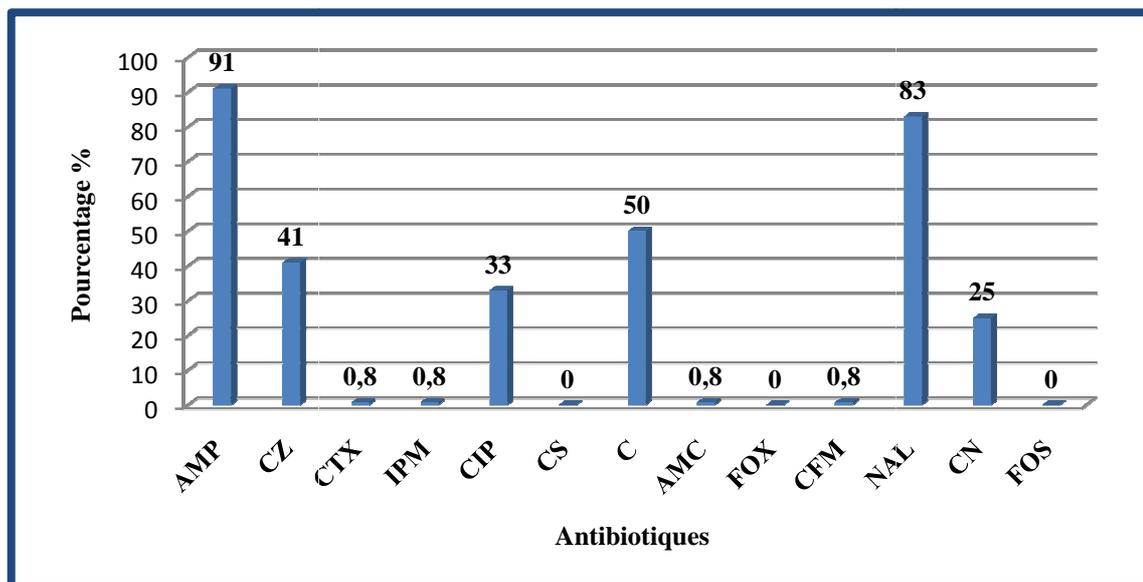


Figure 12: Le pourcentage de résistance des salmonelles et shigelles dans la région de Guelma.

Le phénotype sauvage des souches de *Salmonella* spp et *shigella* spp est caractérisé par une sensibilité à la totalité des antibiotiques actifs sur les entérobactéries.

Les salmonelles et shigelles considérer comme des bactéries les plus sensible aux béta-lactamines, leurs souches sauvages sont sensible à l'ampicilline [18].

Les entérobactéries ont une capacité évidente d'acquérir et d'échanger des gènes porteurs de facteurs de résistance et la flore intestinale fournit une extraordinaire opportunité pour la circulation des informations génétiques entre bactéries [23].

L'augmentation de la résistance chez les bactéries peut être attribuée à l'usage abusif des antibiotiques. Cependant, les bactéries dans l'environnement naturel. Peuvent héberger des gènes de résistance dérivés de l'utilisation de ces médicaments chez les humains et les animaux [31].

Ainsi de nombreuses bactéries appartenant à la famille des Enterobacteriaceae se révèlent résistantes aux aminoglycosides, aux béta-lactamines, au triméthoprime et au chloramphénicol...etc [18].

Nos résultats confirment que les bactéries de l'intestin (*Salmonella* et *Shigella*) sont résistantes. Cette résistance est surtout importante pour les antibiotiques suivants :

Ampicilline (91%), Acide nalidixique (83%), Chloramphénicol (50%), Céfozoline (41%), Ciprofloxacine (33%) et Gentamicine (25%).

La multirésistance des salmonelles et shigelles isolées dans notre étude, concerne des antibiotiques couramment utilisés en médecine vétérinaire et humains, en particulier : AMP qui sont aussi employés dans le traitement de différentes infections bactériennes chez les humains. AMP c'est un bêta-lactamine, la résistance des bactéries à ce antibiotique revient à une résistance enzymatique c.-à-d. la production des bêta-lactamase enzyme qui hydrolyse le cycle bêta-lactame des bêta-lactamine [20].

La résistance aux Acide nalidixique et Chloramphénicol, peut être due au dysfonctionnement ou la perte de l'une des porines qui peut entraîner une imperméabilité de ces antibiotiques (Lavigne, 2007).

La résistance de céphalosporines ne touche que les anciens molécules (CZ : céphalosporine de 1^{er} génération).

La famille des quinolones sont aussi touchés par la résistance bactérienne, cette résistance au peut être traduite par un efflux actif qui touche les molécules hydrophile (Ciprofloxacine) [20].

L'inactivation enzymatique des aminosides (Gentamicine) est réalisée par modification enzymatique de l'antibiotique (Boukerzaza, 2006).

6-ETUDE STATISTIQUE

L'étude statistique s'est portée sur 7140 prélèvements de coproculture analysée par le laboratoire de bactériologie médicale de l'hôpital *Ibn Zohr* – Guelma durant la période janvier 2008 jusqu'à avril 2013, les résultats de l'étude nous ont révélé la présence de 78 infections par *Salmonella* et 28 par *Shigella*.

Les analyses statistiques ont été faites sur logiciel WHONET 5,6. Ces analyses sont basées sur la prévalence de la maladie, la distribution par sexes, classe d'âges, variation saisonnières, groupe de microorganismes, et à la résistance aux antibiotiques.

➤ La prévalence des salmonelloses et shigelloses

Entre 2008 et fin 2013, le taux d'infection par les salmonelles et les shigelles dans la région de Guelma a subi une baisse importante (figure 13).

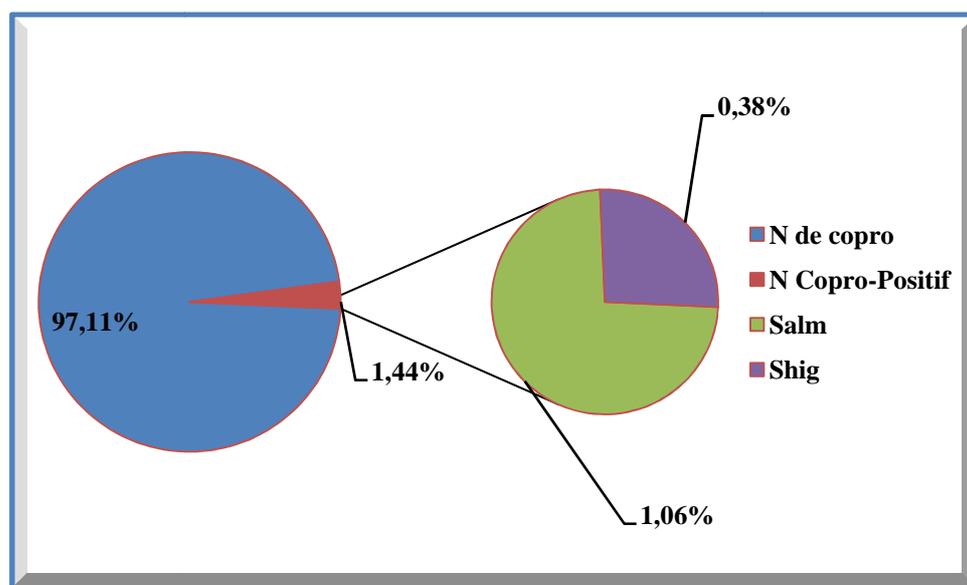


Figure 13: Prévalence des salmonelloses et shigelloses.

La prévalence des échantillons positifs à *Salmonella* ou à *Shigella* a été décelée dans 1,44% des coprocultures. *Salmonella* a été détectée dans 1,06% des coprocultures, par contre *Shigella* ne représente que 0,38%.

6-1-Etude des *Salmonella*

La distribution en fonction de l'âge, du sexe et de la saison correspond aux tendances observées.

Tableau 15: Etude de la prévalence, distribution par sexes, et par classe d'âges.

Années	Prévalence		Sexe		Classe d'âges				
	Nbr de coproculture	Nbr du Salmonelles	Male	Femelle	<5	6-20	21-35	36-50	51 et plus
2008	1428	12	6	6	0	6	2	4	0
2009	1753	24	12	12	2	1	12	2	7
2010	1128	6	4	2	1	1	0	3	1
2011	1397	18	10	8	1	3	3	4	7
2012	1218	8	3	5	1	1	2	0	4
Trm1 2013	216	9	8	1	2	1	2	1	3
Total	7140	78	44	34	7	14	21	14	22

6-1-1-Le pourcentage de distribution par sexe

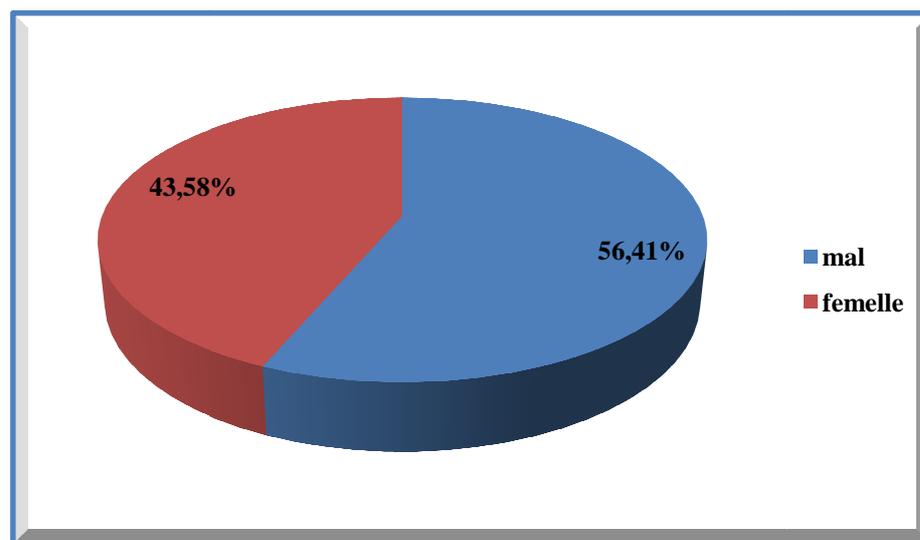


Figure 14: Le pourcentage de distribution de salmonellose par sexe.

Ces résultats indiquent une prédominance d'infection masculine avec un pourcentage de 56,41% que de féminin qui représente 43,58%.

Salmonellose et shigelloses sont des maladies des mains sales, les males sont les plus exposé puisqu'ils fréquentent beaucoup plus les fastes food et les restaurations collectifs ou l'absence complète d'hygiène.

6-1-2-Le pourcentage de distribution par classes d'âge

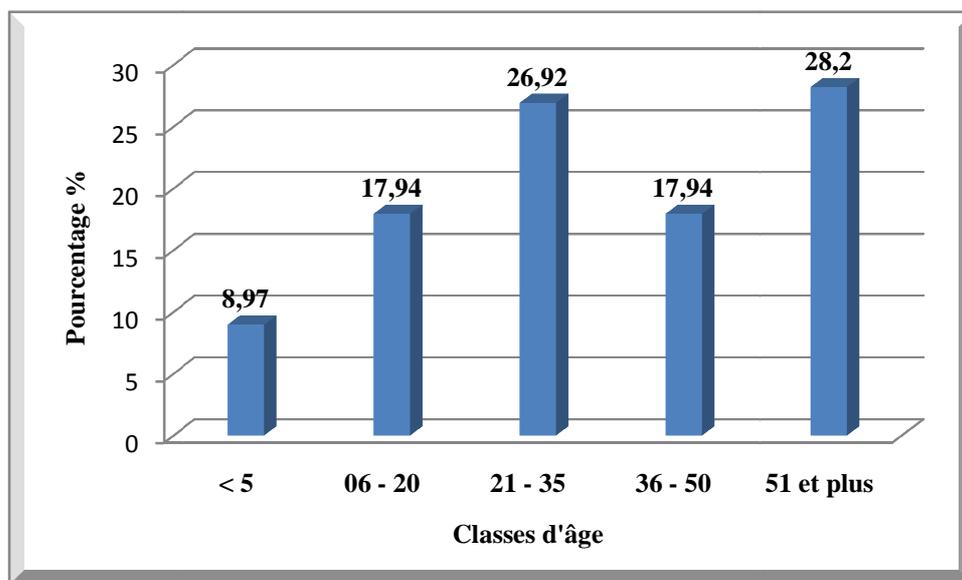


Figure 15: Le pourcentage de distribution de salmonellose par tranche d'âge.

La distribution par classe âge montre que les nourrissons et les jeunes enfants (< 5ans) ne représentent que 8,97 % car ils ont un régime alimentaire non diversifié donc le risque d'infection est faible pour cette classe d'âge. Par contre chez les adolescents (6-20ans), le nombre enregistré reste pratiquant proche de la première tranche d'âge est similaire à la tranche d'âge (36-50 ans) qui comporte la population des habitudes alimentaire la plus stable.

En contraste, la classe d'âge (21-35 ans) montre les taux les plus élevés d'infection à *Salmonella* sont caractérisé par une population dont les habitudes alimentaires non régulière probablement relatif à leur professionnelle.

Un deuxième pic est visible chez les plus de 51 ans. Les taux plus élevés signalés chez ce groupe d'âge pourraient s'expliquer par l'affaiblissement de leur système immunitaire.

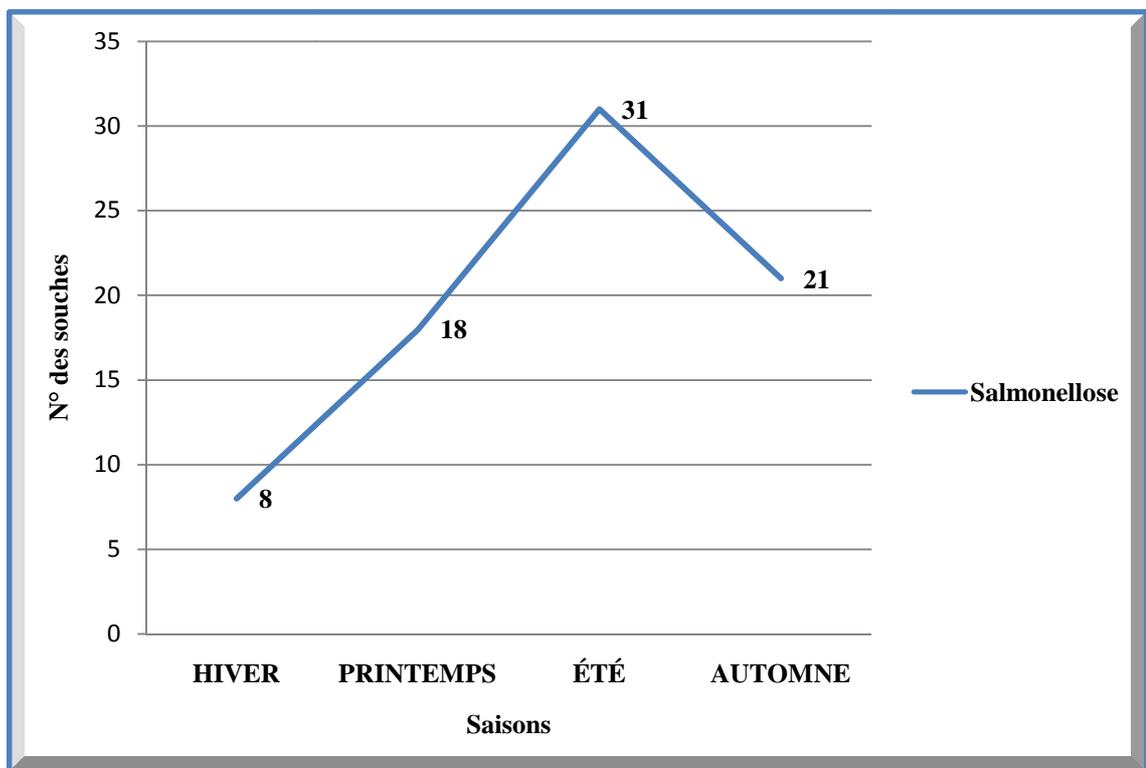
6-1-3-La répartition saisonnières par groupes des salmonelles

La répartition saisonnière pour chaque groupe de *Salmonella* est mentionnée dans le (Tableau 16).

Tableau16: La répartition saisonnière par groupes des *Salmonella*.

Code	Microorganisme	Nbr	%	Hiver	Printemps	Été	Automne
Grb	<i>Salmonella</i> Group B (O:4)	16	20,5	3	7	1	5
Grc	<i>Salmonella</i> Group C (C1-C4, C2-C3)	13	16,6	3	4	2	4
Grd	<i>Salmonella</i> Group D (D1, D2, D3)	16	20,5			14	2
Xtp	<i>Salmonella, non-Typhi/non-Paratyphi</i>	33	42,3	2	7	14	10
Total		78	100	8	18	31	21

➤ **Répartition saisonnières des salmonelles**

**Figure 16: La répartition saisonnière de salmonellose.**

La fluctuation du nombre d'infections à *Salmonella* au cours de la période d'été (juin-août), était principalement due au facteur de température qui contribué à la dégradation et contamination des aliments males conservées ou la chaine de froid pendant ces mois n'est pas respecté. Cette période de l'année accueil le plus grand nombre de toxi infection alimentaires collectif allant même au stade d'épidémies. Ces facteurs relève le plus des mœurs et habitudes des gens, par exemple : mariages, décès, colonies de vacances...etc.

➤ Pourcentage de distributions par groupes des salmonelles

Les tendances sur 06 ans pour les principaux groupes de *Salmonella* sont présentées au (Figure 17).

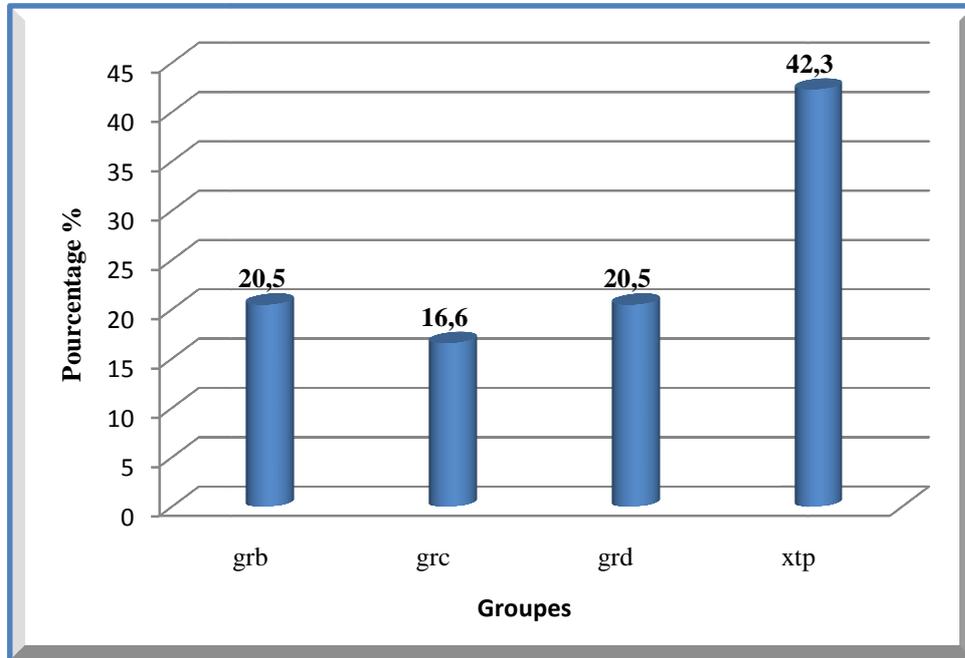


Figure 17: Le pourcentage de distribution des salmonelles par groupe.

Selon le graphe 42,3% des infections sont causée par des *Salmonella* sp qui sont des salmonelles non typhi-non paratyphi qui peut être une souche de groupe inconnu ou peut être des souches isolé pendant les premières années d'étude ou le manque de sérum anti salmonelles.

Les groupes les plus fréquents dans la région de Guelma sont Groupe b, c et d avec une similarité entre elles : 20,5%, 16,6% et 20,5%.

6-1-4-La résistance aux antibiotiques

Notre étude est basée sur la surveillance de la résistance aux antibiotiques pendant les six dernière années 2008- Trm1 2013, pour mieux comprendre l'évolution de cette résistance, on a divisé l'étude sur deux : le premier dans la période 2008-2010 sur 46 souche, et le deuxième dans la période 2011-Trm1 2013 sur 32 souche de salmonelles.

On a choisi six (06) antibiotiques selon la recommandation de l'OMS : ampicilline, céfatoxine, acide nalidixique, ciprofloxacine, Trimethoprime/Sulfamethoxazol, et chloramphenicol.

Le nom d'antibiotique avec leur code, les valeurs critiques, le nombre de souche, et le pourcentage de résistance et de sensibilité sont mentionnés dans les tableaux 17, 18, 21, 22.

Micro-organisme = grb,grc,grd,xtp (n=46 Souches)

Montrer les colonnes cachées

Tableau 17: Les valeurs de résistance aux antibiotiques chez les salmonelles

« Années : 2008/2009/2010 ».

Code	Nom de l'antibiotique	Valeurs critiques	Nbr des Souches	%R	%I	%S	Nbr des Patients
AMP	Ampicilline	14 - 16	46	21,7	0	78,3	46
CTX	Céfotaxime	23 - 25	46	0	0	100	46
NAL	Acide nalidixique	14 - 18	46	32,6	13	54,3	46
CIP	Ciprofloxacine	16 - 20	46	6,5	10,9	82,6	46
SXT	Trimethoprime/Sulfamethoxazole	11 - 15-	46	17,4	0	82,6	46
CHL	Chloramphenicol	13 - 17	46	13	0	87	46

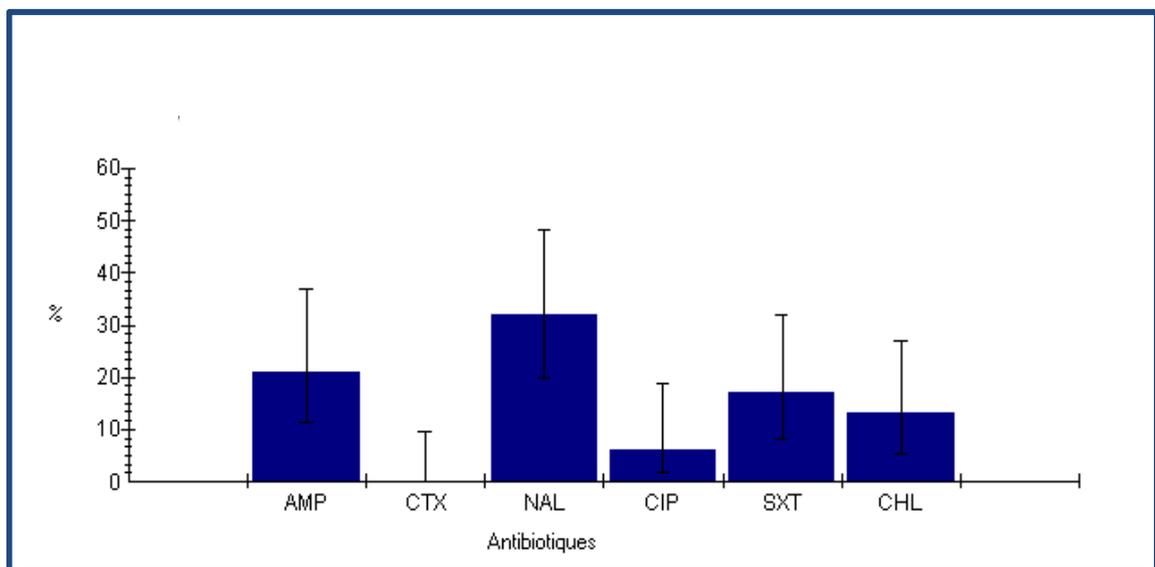


Figure 18: La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles

« Année : 2008/2009/2010 ».

Micro-organisme = grb,grc,grd,xtp (n=31 Souches)
 Montrer les colonnes cachées

Tableau 18: Les valeurs de résistance aux antibiotiques chez les salmonelles

« Années : 2011/2012/ Trm1 2013 ».

Code	Nom de l'antibiotique	Valeurs critiques	Nbr des souches	%R	%I	%S	Nbr des patients
AMP	Ampicilline	14 - 16	32	71	0	29	32
CTX	Céfotaxime	23 - 25	32	0	0	100	32
NAL	Acide nalidixique	14 - 18	32	77,4	0	22,6	32
CIP	Ciprofloxacine	16 - 20	32	38,7	16,1	45,2	32
SXT	Trimethoprime/Sulfamethoxazole	11 - 15-	32	9,7	0	90,3	32
CHL	Chloramphenicol	13 - 17	32	25,8	0	74,2	32

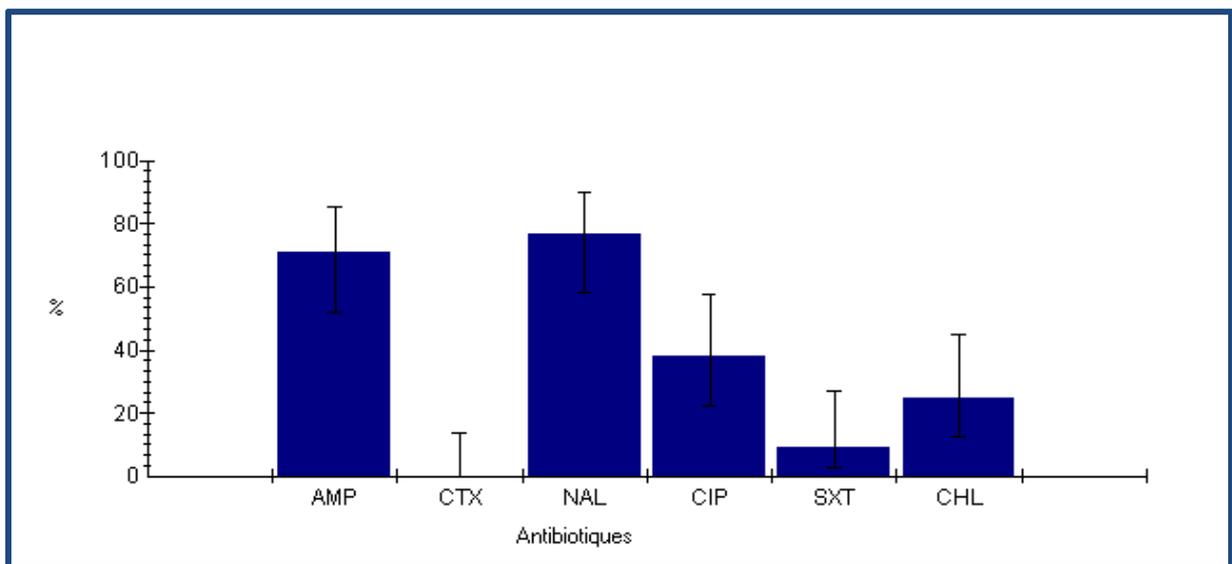


Figure 19: La résistance aux antibiotiques chez les salmonelles

« Année : 2011/2012/Trm1 2013 ».

Au cours de six dernières années, les antibiotiques AMP, NAL, CIP, CHL enregistrés une augmentation de la résistance, par contre l'antibiotique CTX reste sensible.

L'utilisation fréquente de l'ampicilline faire parvenir à une grande évolution de résistance, de 21,7% vers 71%, et la même chose pour l'acide NAL, CIP, et CHL.

Pour SXT, on constate une dégression de résistance de l'ordre de 17,4% vers 9,7%, cela traduit par deux hypothèses :

-Parmi les causes soulevées auprès l'équipe médicale des infectiologues de l'hôpital Ibn Zohr, ces dernies traduit cette baisse de résistance à l'SXT par la non prescription de cette antibiotique depuis un certain temps, c'est pour quoi toujours selon leur avis un changement dans les habitudes de prescription, marqué par un arrêt d'utilisation de cette antibiotique.

-une autre hypothèse dite qu'il y a un remplacement des souches sensibles à l'SXT, autrement dit les souches fréquentes dans la première période de l'étude sont des souches résistantes génétiquement due à l'utilisation des antibiotiques à tours et travers chez certains éleveurs de volaille ou le risque de consommation des viandes blanche produites avec des résidus des antibiotiques, l'arrêt de l'utilisation de cette antibiotique chez les éleveurs conduit à un remplacement des souches sensibles traduit par une diminution de la résistance de l'SXT.

Alors que les normes algériennes J-O 35-98 interdis la présence des antibiotiques dans les viandes, le laitier crus.

6-2-Etude du shigelles

La distribution en fonction de l'âge, du sexe et de la saison correspond aux tendances observées dans le passé pour *Shigella*.

Tableau 19: Etude de la prévalence, distribution par sexes, et par classe d'âges.

Années	Prévalence		Sexe		Classe d'âges				
	Nbr de coproculture	Nbr du Shigelles	Male	Femelle	<5	6-20	21-35	36-50	51 et plus
2008	1428	6	3	4	0	0	1	0	6
2009	1753	4	3	0	0	2	1	0	0
2010	1128	5	4	2	1	2	1	0	2
2011	1397	8	4	4	2	0	2	1	3
2012	1218	5	3	1	0	0	1	1	2
Trml 2013	216	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	7140	28	17	11	3	4	6	2	13

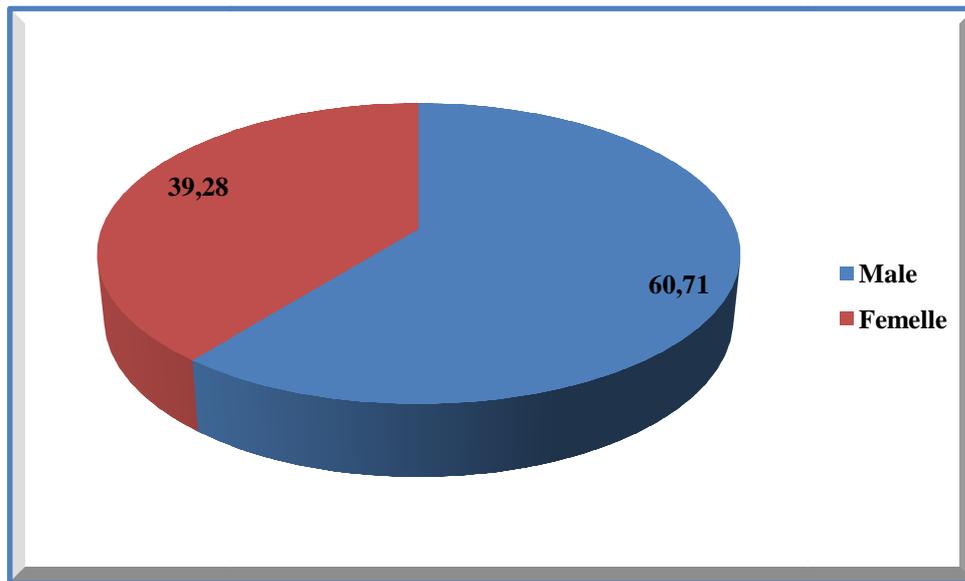
6-2-1-Le pourcentage de distribution par sexe

Figure 20: Le pourcentage de distribution de shigellose par sexe.

Le secteur représente une grande dominance des males 60,71% par rapport au femelles 39,28%.

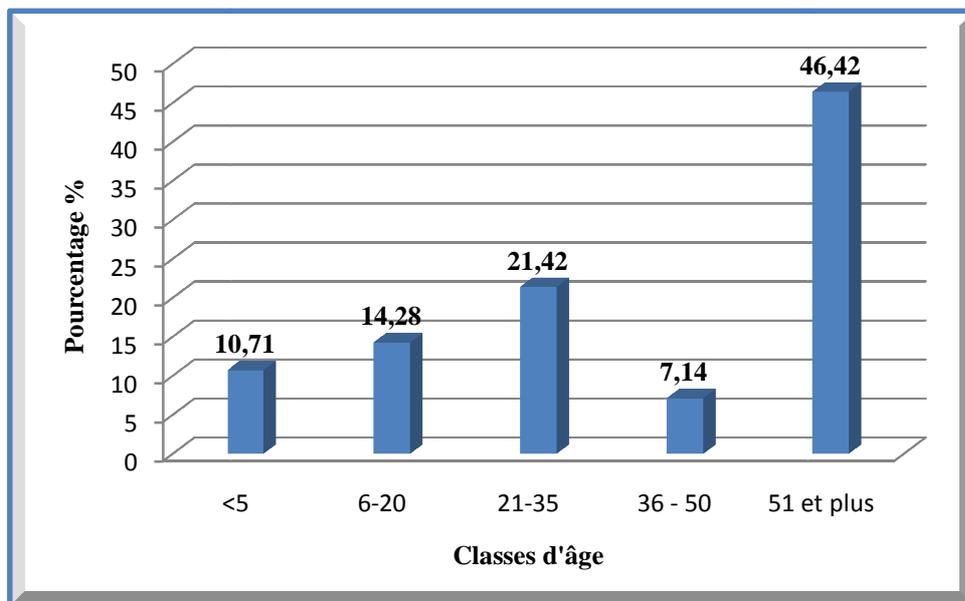
6-2-2-Pourcentage de distribution par classes d'âge

Figure 21: Le pourcentage de distribution de shigellose par classe d'âge.

Le pourcentage le plus élevé 46,42% est enregistré chez la tranche d'âge 51 et plus, qui inclus les gens d'un âge mur et les vieillards qui caractérisé par un système immunitaire faible.

La tranche d'âge 21-35 enregistré un pourcentage 21,42% qui représente la classe d'âge la plus actif et moins stable.

6-2-3-La répartition saisonnières par groupes des shigelles

Tableau 20: La répartition saisonnière par groupes des shigelles.

Code	Micro-organisme	Nbr	%	Hiver	Printemps	Été	Automne
Shc	<i>Shigella boydii</i>	1	4,5	1			
Shb	<i>Shigella flexneri</i>	8	31,5	2	2	1	3
Shd	<i>Shigella sonnei</i>	6	19,5	4			2
Shi	<i>Shigella</i> sp	13	44	5	2	1	5
Total		28	100	12	4	2	10

➤ Répartition saisonnières des shigelles

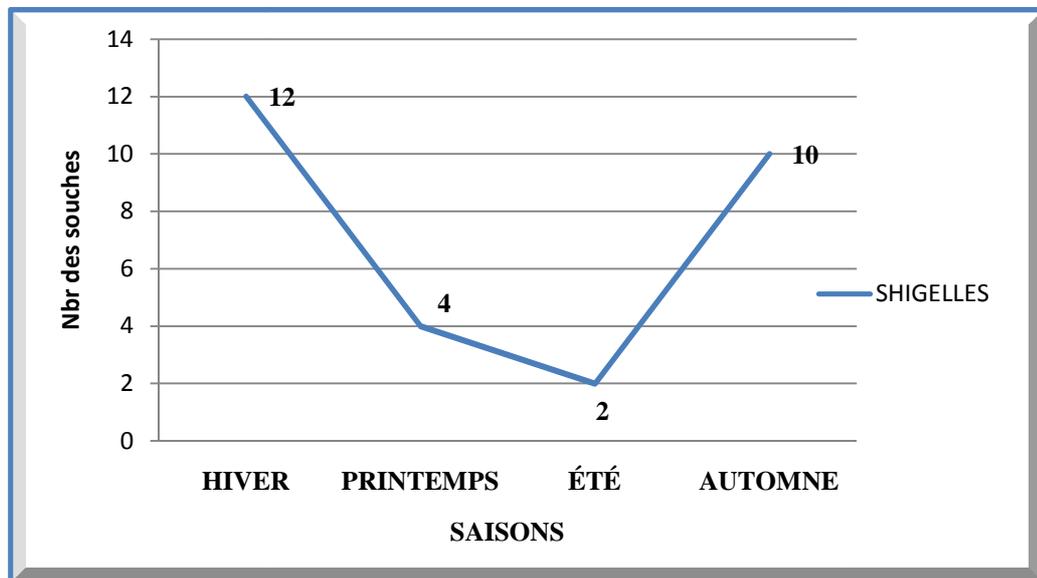


Figure 22: La répartition saisonnière des shigelles.

Autrefois les maladies à transmission hydrique et diarrhéiques sont reconnues comme des maladies à prolifération estivale, mais actuellement, cette notion est déferée par l'aspect climatique de certaines régions.

Les précipitations importantes augmenteront le risque d'inondation dans beaucoup de secteurs du monde. Les inondations peuvent augmenter l'exposition humaine aux microbes pathogènes, car il y a des contaminants dans ces eaux dus à un mauvais système d'assainissement qui étaient les principales causes de maladie [19].

➤ **Pourcentage de distributions par groupes des shigelles**

Les tendances sur 06 ans pour les principaux groupes de *Shigella* sont présentées au (figure 23).

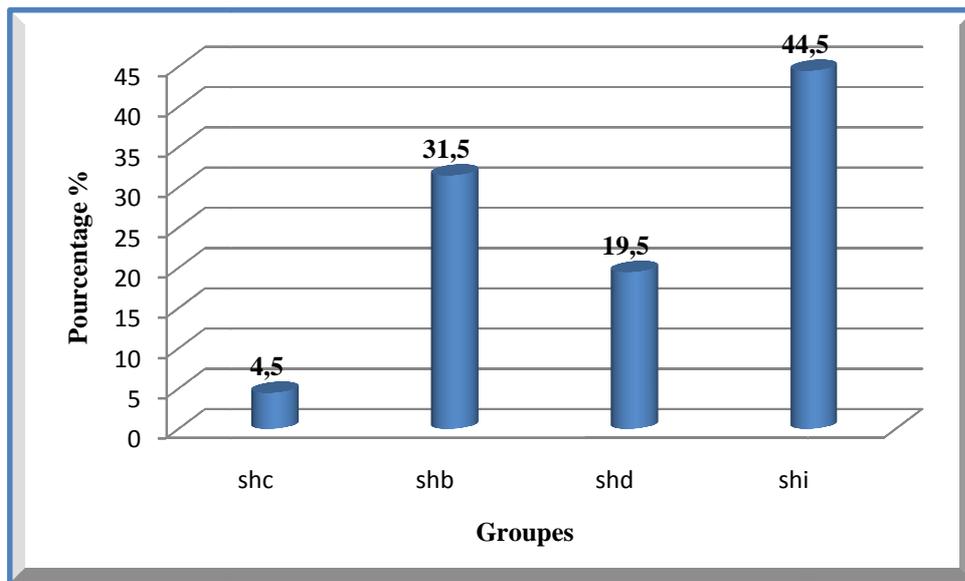


Figure 23: Le pourcentage de distribution des shigelles par groupe.

6-2-4-La résistance aux antibiotiques chez les shigelles

Les antibiotiques tels que la ciprofloxacine, l'ofloxacine, la lévofloxacine ou l'azithromycine sont employés pour éradiquer les organismes responsables de la dysenterie bacillaire.

Micro-organisme = shc,sha,shb,shd,shi (n=12 Souches)

Montrer les colonnes cachées

Tableau 21: Les Valeurs de résistance aux antibiotiques chez les shigelles

« Années : 2008/2009/2010 ».

Code	Nom de l'antibiotique	Valeurs critiques	Nbr des Souches	%R	%I	%S	Nbr des patients
AMP	Ampicilline	14 - 16	12	83,3	0	16,7	12
CTX	Céfotaxime	23 - 25	11	0	0	100	11
NAL	Acide nalidixique	14 - 18	12	0	0	100	12
CIP	Ciprofloxacine	16 - 20	12	0	0	100	12
SXT	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	11 - 15-	12	50	0	50	12
CHL	Chloramphenicol	13 - 17	12	25	16,7	58,3	12

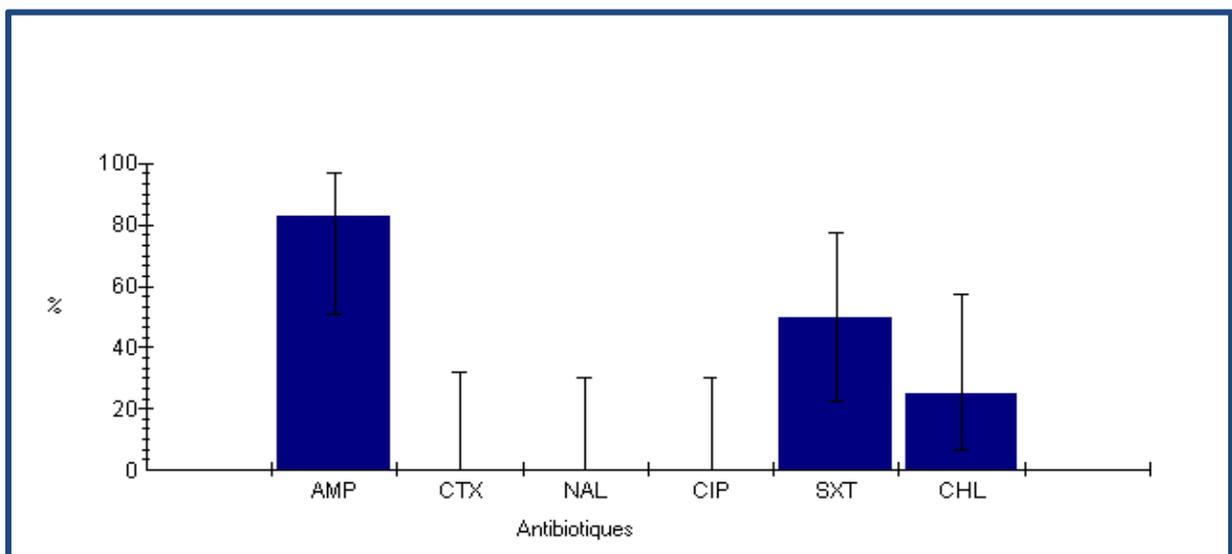


Figure 24: La résistance aux antibiotiques chez les shigelles

« Année : 2008/2009/2010 ».

Micro-organisme = shc,sha,shb,shd,shi (n=16 Souches)
 Montrer les colonnes cachées

Tableau 22: Les Valeurs de résistance aux antibiotiques chez les shigelles

« Années : 2011/2012 /Trm1 :2013 ».

Code	Nom de l'antibiotique	Valeurs critiques	Nbr des Souches	%R	%I	%S	Nbr des patients
AMP	Ampicilline	14 - 16	16	87,5	0	12,5	16
CTX	Céfotaxime	23 - 25	16	0	6,2	93,8	16
NAL	Acide nalidixique	14 - 18	16	0	0	100	16
CIP	Ciprofloxacine	16 - 20	16	0	0	100	16
SXT	Trimethoprime/Sulfamethoxazole	11 - 15-	16	62,5	12,5	25	16
CHL	Chloramphenicol	13 - 17	16	50	18,8	31,2	16

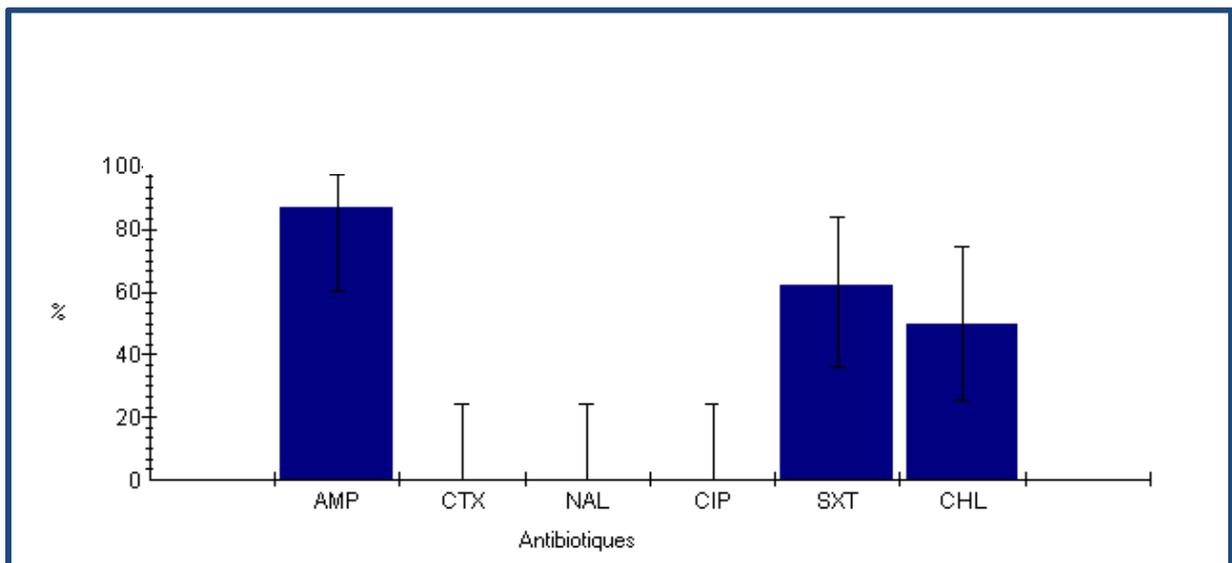


Figure 25: La résistance aux antibiotiques chez les shigelles

« Année : 2011/2012/Trm1 2013 ».

La chimiothérapie AMP, SXT, CHL sont des molécules anciennes par rapport aux antibiotiques CTX, NAL, CIP, l'observation démontra avec notre étude à permet de constate les shigelles ou peut développer un gène de résistance au fil des années ce qui est contraire avec les molécules récente c.-à-d. de nouvelle génération.

Conclusion

Conclusion

Les salmonelles et les shigelles sont responsables de nombreuses pathologies infectieuses allons même aux stades d'épidémie. La résistance aux médicaments antimicrobiens constitue une préoccupation qui existe à l'échelle mondiale et elle a un effet considérable sur la santé humaine et animale.

Notre travail consacré à l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches isolées à partir des selles durant la période de stage avec une étude rétrospective entre janvier 2008 - avril 2013 basé principalement sur l'évolution de la résistance aux antibiotiques des salmonelles et shigelles dans la région de Guelma.

Nos résultats confirment que les salmonelles et les shigelles, sont résistantes à un antibiotique et plus. Ces résistances sont surtout importantes pour les antibiotiques suivants : Ampicilline, Acide nalidixique, Chloramphenicol, Céfazoline, Ciprofloxacine et Gentamicine.

Les pourcentages de résistance les plus importants chez les salmonelles ont été obtenus par ordre décroissant avec l'Acide nalidixique (77,4%), Ampicilline (71%), Ciprofloxacine (38,7%), Chloramphenicol (25,8%), Triméthoprime /Sulfaméthoxazole (9,7%). et chez les shigelles : Ampicilline (87,5%), Triméthoprime/Sulfaméthoxazole (62,5%), Chloramphenicol (50%).

Donc on doit tirer la sonnette d'alarme pour dénoncer la résistance de certaines souches de salmonelles et shigelles envers les antibiotiques les plus utilisés et plus commercialisés (ampicilline).

Il serait intéressant de sélectionner un nombre plus représentatif de souches de Salmonelles et shigelles, et la répétition de ce travail devrait permettre dans l'avenir d'évaluer l'impact de la propagation des bactéries résistantes sur la santé publique.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- A.R.S.I.A.** 2012. Plan d'action salmonelles, Lutte contre les salmonelles zoonotiques chez les poulets de chair et les dindes d'engraissement.
Association Régionale de Santé et d'Identification Animales. France, 37 p.
- AFSSA.** 2002. Description de danger transmissible par les aliments : *Salmonella* spp.
Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. France, 6 p.
- AISSATOU F.** 2004. Etude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* spp et *Escherichia coli* isolées de la viande de poulet de chair au Sénégal.
Mémoire de diplôme d'études approfondies de production animales, université Cheikh Anta Diop, Dakar, 28 p.
- AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F. ET MONTEIL H.** 1992. Bactériologie clinique.
2^{ème} édition. Paris : Ellipses, 552 p.
- AZELE F.** 1984. Bactériologie Médicale.
12^{ème} édition. Editions C, et R. France, 374 p.
- BENAICHE R., BOUDECHICHE R., TOUAHRIA A.** 2007. Les générations d'antibiotiques.
Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie, Université du 8 Mai 1945, Guelma, 55 p.
- BENSOUILAH T., KIRATI H., TOUATI H.** 2012. Microbiologie des fientes de quelques espèces aviaires nicheuses dans la région de Guelma.
Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945, Guelma, 83 p.
- BERGOGNE B., DELLAMONICA P.** 1995. Antibiothérapie en pratique clinique.
Edition : Masson. Paris, 17-32 p.
- BOUCHENE I., GHENDOUR S., BEN SI ZRARA Y.** 2002. « Les Salmonelloses ».
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures, université Laarbi Ben M'hidi, Oum-El-Bouaghi, 37 p.
- BOUKERZAZA A.** 2006. Etude génétique et moléculaire du phénotype de résistance des *Salmonella enterica* sérotype Senftenberg.
Mémoire pour l'obtention de magister en génétique moléculaire, université mentouri, constantine, 115 p.
- BOULAHBAL F., HACHEMI O., MALEK N., DALILA T., FATIMA A., OUARDIA A.Y., SAID D., MUSTAPHA T., DJAMEL Y., MOHAMED Y., MOHAMED S.** 1986. Microbiologie S₁Clinique.

Office de la publication universitaire. Alger, 173 p.

CARBON C. 1998. La pathologie infectieuse.

Édition : Flammarion. 228 p.

CARLI A. 1983. Microbiologie générale.

1^{ère} Edition de Back et Larciens, 114p.

CHIBANI S., NABTI K., SAYAH C. 2007. La bithérapie par Association d'Antibiotiques.

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie, Université du 08 Mai 1945, Guelma, 53 p.

CORVEC S., CAILLON J., DURGEON., GUILLOUZOUIC A., LEPELLETIER D.

2008. Cours de Bactériologie.

Paris : Editions Ellipses, 91 p.

D.P.A.T. 2008. Rapport Interne, Monographie de la wilaya de Guelma.

Direction de la Planification et de l'Aménagement du Territoire. Algérie, 36 p.

DELARRAS C. 2003. Surveillance Sanitaire et Microbiologique des eaux : Réglementation-

Prélèvements- Analyses.

Paris : Editions TEC& DOC, 269 p.

DELARRAS C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire.

Paris : Editions TEC& DOC, 476 p.

DENIS F., PLOY M.C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R. 2007. Bactériologie

médicale. Paris : Masson, France, 594 p.

FLANDROIS J., CHOMARAT M., PAGER K. 1988. Bactériologie médicale.

Edition : Doin. 362 p.

FROBISHER F. 1976. Microbiologie clinique.

Edition : HRW, 507 p.

GLEDEL J., MESCLE J.F., ZUCCA J. 1996. Microbiologie Alimentaire .

Tome 1 Tec Doc, 61-77p.

GRANDIEN et BOBAK. 1991. Bacterial and protozoal gastro enteritis.

Engl M ed/ 325 : 327-340 P.

HART T., SHEARS P. 1999. Atlas de poche de microbiologie.

Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 317 p.

HUGUES G., NICOLE L. 1991. Les maladies infectieuses.

Edition : ENAP. 78-83 p.

JEAN P. D. 2007. La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes.

Paris : Dunod, 289 p.

LAVIGNE J.P. 2007. Bactériologie.

Edition : Collège des universitaires, Paris, 80 p.

MALVY J.L. 1975. Guide pratique des diarrhées du symptôme au traitement.

Paris : Masson, 164 p.

MARCHAL N., BOURDON J.L., RICHARD C. 1982. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.

Paris : Doin Editeurs, 482 p.

MARTEL J. 1996. Epidémiologie et surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez l'animal.

Epidémiol. Santé Anim, 107-120 p.

NAUCIEL C., VILDE J.L. 2005. Bactériologie médicale.

2^{ème} édition. Paris : Masson, 128 p.

NICKLIN J., GRAEME-COOK K., PAGET T., KILLINGTON R. 2000. Essentiel en microbiologie.

Berti, 365 p.

O.M.S. 1971. Comité d'expert sur la standardisation biologique, rapport technique. Série 673 O.M.S. Genève. 156-192 P.

O.M.S. 2008. Directives pour la lutte contre la shigellose, y compris lors d'épidémies dues à *Shigella dysenteriae* type 1, 68 p.

PEQUIGNONT H. 1975. Pathologie Médicale.

Paris : Masson, 1658 p

PERRONNE C. 1999. Maladie infectieuse microbiologie générale et santé.

Edition : ESKA. 2003, 65-70 p.

RAHAL K., BENSLIMANI A., TALI-MAAMAR H., MISSOUM M., ABDOUN A., AMMARI H. 2011. Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS (Médecine Humaine et Vétérinaire).

6^{ème} édition. Alger, 195 p.

RODIER J., LEGUBE B., MERLET N. 2009. L'analyse de l'eau.

9^{ème} édition. Paris : Dunod, 1579 p.

SIMON P et MEUNIER R. 1970. Microbiologie industrielle et génie biochimique.

Edition : Masson et Cie. 128 p.

STEPHANIE C. 2003. Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest.

Thèse pour l'obtenir le grade de docteur vétérinaire, université Paul-Sabatier, Toulouse, 100 p.

SYLVIE C. 2010. Le parrainage des Antimicrobiens.

Vol, 42, 21 p.

TANCRED C. 1989. Flore intestinale et pathologie infectieuse humaine.

Paris: EPIZ, 406 p.

YAHY M. 1997. L'antibiothérapie spécifique adaptée.

Edition : Berti. 36-44 p.

YALA D., MERAD A.S., MOHAMMEDI D., OUAR KORICH M.N. 2001. Résistance bactérienne aux Antibiotiques.

Médecine de Maghreb. Vol, 91, 14 p.

➤ **Site d'internet**

[1]-[http://www.pharmaetudes.com/ressources/cours%20internat/section4/4 Diarrhées%20infectieuses.pdf](http://www.pharmaetudes.com/ressources/cours%20internat/section4/4%20Diarrh%C3%A9es%20infectieuses.pdf) (Consulté le 9/03/2013).

[2]-<http://www.microcsb.net/IMG/pdf/doc-38.pdf> (Consulté le 10/03/2013).

[3]-http://www.umoncton.ca/umce/files/umce/wf/wf/pdf/La_gastroenterite.pdf (Consulté le 28/02/2013).

[4]-<http://www.pharmaetudes.com/ressources/cours%20internat/monographies-de-bacteries/Shigella%20spp..pdf> (Consulté le 10/03/2013).

[5]-<http://bgb.wifeo.com/shigella.php> (Consulté le 9/03/2013).

[6]-<http://www.lecomprime.com/wp-content/.../10/a-shigella-cours-2010.ppt> (Consulté le 11/03/2013).

[7]-http://www.ifr48.com/IMG/pdf/Copie_de_diapo.pdf (Consulté le 3/03/2013).

[8]-http://www.infectiologie.com/site/medias/_.../2004-atb-shigelless-afssaps.pdf (Consulté le 25/02/2013).

[9]-http://www.csbmarco.org/index.php?option=com_content&view=article&id=248:les-beta-lactamases-a-spectre-etendu-agents-majeurs-de-resistance-aux-antibiotiques&catid=31:general&Itemid=46 (Consulté le 10/03/2013).

[10]-[http://umr5558-mq1.univ-lyon.fr/deslyon/Bact%C3%A9riologieS%C3%A9minaires/Examen Bact%C3%A9riologie des Selles? Action =AttachFile&do = get&target = Examen Bact%C3%A9riologie Des Selles.ppt](http://umr5558-mq1.univ-lyon.fr/deslyon/Bact%C3%A9riologieS%C3%A9minaires/Examen%20Bact%C3%A9riologie%20des%20Selles?Action=AttachFile&do=get&target=Examen%20Bact%C3%A9riologie%20Des%20Selles.ppt). (Consulté le 22/02/2013).

[11]-<http://bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/06-Matir.pdf> (Consulté le 25/03/2013).

[12]-<http://www.microbiologie-medicale.fr/systematiquebacterienne/serotypagesalmonella.htm> (Consulté le 1/04/2013).

[13]-<http://www.ac-reims.fr/editice/images/stories/STI-Biotechnologie/serotypagesalmonelle.pdf> (Consulté le 3/04/2013).

[14]- <http://lycee-valin.fr/bgb/ftech/S3K.pdf> (Consulté le 03/04/2013).

[15]- <http://www.fmed.ulaval.ca/med-18654/prive/Cours%2018/Pdf/GE.pdf> (Consulté le 26/02/2031).

[16]- [http://facmed.univ-rennes1.fr/wkf/stock/RENNES20100304111309cmicheleMecanismes d action des antibiotiques PY DONNIO.pdf](http://facmed.univ-rennes1.fr/wkf/stock/RENNES20100304111309cmicheleMecanismes%20d%20action%20des%20antibiotiques%20PY%20DONNIO.pdf) (Consulté le 3/03/2013).

[17]- <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf> (Consulté le 10/03/2013).

[18]-<http://biotec.ac-dijon.fr/IMG/pdf/salmonellaspp.pdf> (Consulté le 1/05/2013).

[19]- [http://www.safewater.org/PDFS/knowthefacts/frenchfactsheets/Leffetdu changement climatiquesurlesmaladiescauseesparleseaux.pdf](http://www.safewater.org/PDFS/knowthefacts/frenchfactsheets/Leffetdu%20changement%20climatiquesurlesmaladiescauseesparleseaux.pdf) (Consulté le 03/05/2013).

[20]-<http://www.medecine.ups-tlse.fr/pcem2/bacteriologie/atb%20action%202009.pdf> (Consulté le 25/05/2013).

ANNEXES

Annexe 1

Tableau 2 : Classification antigénique du Salmonelles (schéma de kauffmann-white) (Ferron, 1984).

Groupe	Sérotype	Antigènes O	Vi	Antigène H	
				Phase 1	Phase 2
A	<i>S. Paratyphi</i>	1, 2, 12		a	
B	<i>S. Paratyphi B</i>	1, 4, 5, 12		B	1, 2
	<i>S. Wien</i>	4, 12		B	1, W
	<i>S. Typhimurium</i>	1, 4, 5, 12		I	1, 2
	<i>S. Essen</i>	4, 12		Gm	
	<i>S. Coeln</i>	4, 5, 12		Y	1, 2
	<i>S. brandenburg</i>	4, 12		E, v	E, h, 2, 15
C ₁	<i>S. paratyphi</i>	6, 7	+	C	1, 5
	<i>S. cholerae suis</i>	6, 7		C	1, 5
	<i>S. montevideo</i>	6, 7		G. m. s	
	<i>S. bareilly</i>	6, 7		Y	1, 5
C ₂	<i>S. newport</i>	6, 8		Eh	1, 2
	<i>S. bovismorbificans</i>	6, 8	r	1, 5	
D	<i>S. typhi</i>	9, 12	+	D	
	<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12		Gm	
	<i>S. dublin</i>	1, 9, 12	+	Gp	
	<i>S. panama</i>	1, 9, 12		L, v	1, 5
E ₁	<i>S. meleagridis</i>	3, 10		Eh	Lw
	<i>S. anatum</i>	3, 10		Eh	1, 6
E ₂	<i>S. newington</i>	3, 15		Eh	1, 6
	<i>S. binza</i>	3, 15		y	1, 5

Annexe2

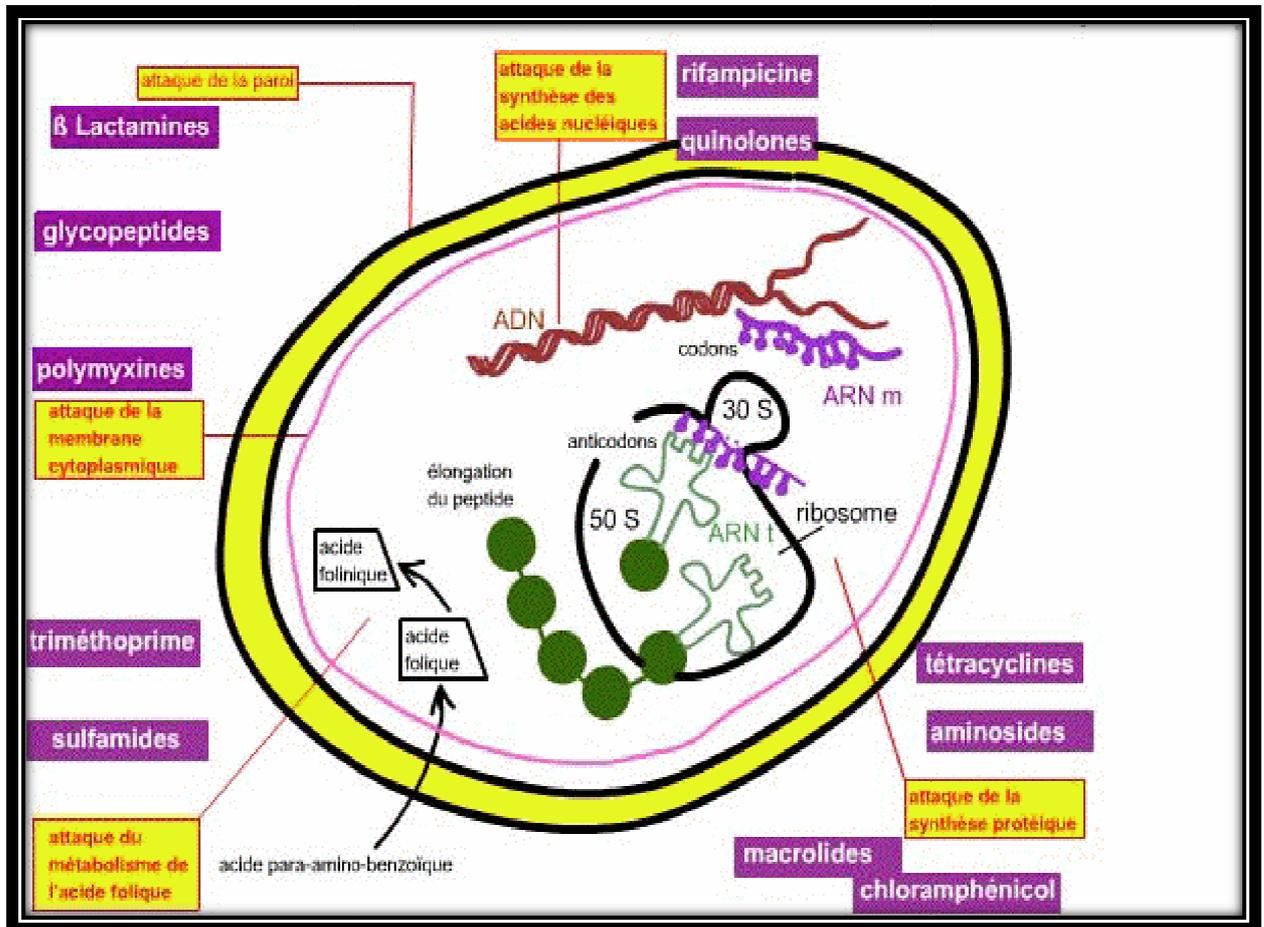


Figure 1 : Les différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007).

Annexe 3

Tableau 5 : Les principales familles d'antibiotiques (Perronne, 1999 ; Chibani et al., 2007).

Classification des antibiotiques				
Famille, groupe et sous-groupe		Exemples de molécules		Spectre d'activité
		Dénomination commune internationale		
Beta-lactamine	Pénicilines naturelles	PENICILLINE G	Pénicilines G Benzathine-Pénicillines	leur spectre est large, ils agissent sur les cocci Gram (+) et (-) et les bacilles Gram (+).
		PENICILLINE V	Pénicillines V	
	Pénicilines synthétiques	PENICILLINE M	Oxacill Cloxacilline	
		Aminopénicillines	Amoxicilline	
	Céphalosporines	Carboxypénicilloïnes	Ticarcilline	
		Uréidopénicilline	Pipéracilline	
	Monobactam	Amidinopénicilline	Pivmécillinenam	
	Péniciline+ Inhibiteur des béta lactameases	1 ^{er} génération	Céfadoxil	
		2 ^{ème} génération	Céfuroxime-axétil	
	3 ^{ème} génération		Céfotaxime	
		Ceftazidime		
	Cetriaxone			
	Imipénme-Célastatine			
	Aztrionam			
	Amoxicilline+acide clavulanique			
	Ticarcilline+acide clavulanique			
	Pipéracilline+tazobactam			
Macrolides et apparentés	Macrolides	Erythromycine	Ces antibiotiques ont un spectre relativement étroit limité aux germes suivant : cocci à Gram (+) et (-), bacilles à Gram (+) et (-) totalement inactifs sur les entérobactéries et sur pseudomonas.	
		Josamycine		
		Roxythromycine		
	Licosanidessyr- gistiques	Azithromycine		
		Clarithromycine		
		Clindamycine		
	Pristinamycine			

Suite Tableau 5 : Les principales familles d'antibiotiques (Perronne, 1999 ; Chibani et al., 2007).

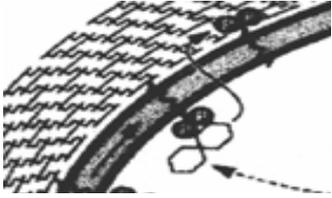
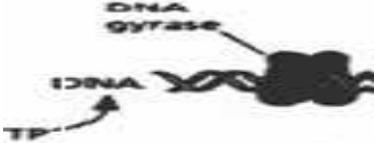
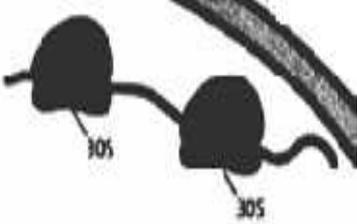
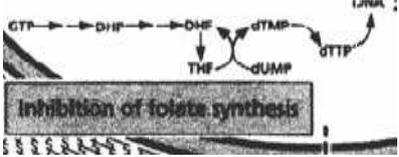
Classification des antibiotiques				
Famille, groupe et sous-groupe		Exemples de molécules		Spectre d'activité
		Dénomination commune internationale		
Aminoglycosides			Gentamicine Nétilmicine Amikacine	Le spectre d'action des aminosides est large, agissent sur les cocci et les bacilles (+) (sauf les streptocoques) cocci et bacille à Gram (-), mycobactéries.
Tétracycline	Tétracycline naturelle Tétracycline synthétique		Tétracycline Oxytétracycline Doxycycline	Le spectre d'activité est large avec une résistance fréquente agissant sur les bacilles à Gram (-) et autre bactéries, les Gram (+) sont souvent résistant, les bacilles à Gram (+) et les cocci à Gram(-).
Quinolones	1 ^{er} génération 2 ^{ème} génération	(Fluroquinolones)	Acide nalidixique Norfloxacin Ofloxacin Péfloxacin Ciprofloxacin Sparfloxacin Rosoxacin Levoflexacin Moxifloxacin Lomefloxacin	Limité aux bactéries a Gram (-) à l'exception de <i>pseudomonasa eruginoses</i> .
Nitrofuranes			Nitrofurantoine	Le spectre d'activité des nitrofuranes est large, utilisé dans le traitement des infections urinaires ou intestinales en agissant sur les bacilles à Gram (-), les cocci à Gram (+) les amibes.
Imidazolés			Métronidazole Ornidazole Tinidazole	

Suite Tableau 5 : Les principales familles d'antibiotiques (Perronne, 1999 ; Chibani et al., 2007).

Classification des antibiotiques				
Famille, groupe et sous-groupe		Exemples de molécules		Spectre d'activité
		Dénomination commune internationale		
Sulfamides	Triméthoprime	Associations	Sulfadiazine Triméthoprime Cotrimoxazole	Ils ont un large spectre d'action, mais actuellement il se dit plus réduit en agissant sur les cocci à Gram (+) et Gram (-) et les bacilles à Gram (+).
Phéniçolés			Chloramphénicol Thiamphphénicol	Le spectre d'activité est très large en gobant les bacilles à Gram (+), les bacilles à Gram (-) et les cocci à Gram (+) et les cocci (-).
Rifamycines			Riphampicine Rifabutine	Le spectre d'activité est large, elles ont une excellente activité sur les germes à Gram (+) cocci à Gram (+) et (-).
Acide fusidique			Acide fusidique	Le spectre d'activité est limite surtout utilisé comme antistaphylococcique. Le spectre antibactérien naturel de l'acide fusidique comporte essentiellement les bactéries à Gram (+), les cocci à Gram (-).
Fosfomycine			Fosfomycine	
Glycopeptides			Vancomycine Téicoplanine	Le spectre d'activité étroit réservé aux bactéries à Gram (+) et principalement staphylocoques et entérocoques.

Annexe 4

Tableau 6 : Les différents modes d'action des antibiotiques et leur site [7].

Site	Antibiotiques	Action	
Paroi	Bétalactamines Glycopeptides Fosfomycine	Blocage du Peptidoglycane	
Membranes	Polypeptides	Désorganisation des structures membranaires	
Acide nucléiques ADN	Quinolones	Inhibition de la réplication (ADN gyrase)	
ARNm	Rifamycines	Inhibition de la transcription (ARN polymérase)	
Protéines Ribosome : SU 30S Ribosome: SU 50S	Cyclines Aminosides Macrolides Lincosamides Streptogramines Acide fusidique Phénicolés	Inhibition de la synthèse des protéines	
Purines	Sulfamides Thriméthoprim	Acide folique Acides tétrahydrofolique	

ANNEXES 5

Milieux de culture et réactifs

a) Milieux de culture:**Gélose nutritive**

Pour 1 litre de milieu:

- Tryptone.....5,0 g
- Extrait de viande.....1,0 g
- Extrait de levure..... 2,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Agar agar bactériologique.....12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

Gélose Hektoen

Pour 1 litre de milieu:

- Peptone pepsique de viande.....12,0 g
- Extrait autolytique de levure.....3,0 g
- Lactose12,0 g
- Saccharose..... 12,0 g
- Salicine..... 2,0 g
- Sels biliaires.....9,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Thiosulfatedesodium..... 5,0g
- Citrate ferrique ammoniacal..... 1,5 g
- Bleu de bromothymol..... 65 mg
- Fuchsine acide..... 40 mg
- Agar agar bactériologique.....13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

Gélose SS

Pour 1 litre de milieu:

- Peptone pancréatique de viande.....5,0 g
- Extrait de viande.....5,0 g
- Lactose10,0 g
- Sels biliaires8,5 g

- Citrate de sodium10,0 g
- Thiosulfate de sodium8,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal1,0 g
- Rouge neutre25,0 mg
- Vert brillant0,33 mg
- Agar agar bactériologique15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

Gélose Mueller-Hinton

Pour 1 litre de milieu:

- Hydrolysât acide de caséine..... 17,5 g
- Infusion de viande..... 2,0 g
- Amidon soluble..... 1,5 g
- Agar agar bactériologique..... 17,0 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

Milieu TSI

Pour 1 litre de milieu:

- Tryptone..... 14,0 g
- Extrait autolytique de levure..... 3,0 g
- Extrait de viande..... 3,0 g
- Glucose..... 1,0 g
- Lactose 10,0 g
- Saccharose..... 10,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g
- Thiosulfate de sodium..... 0,3 g
- Citrate ferrique ammoniacal..... 0,3 g
- Rouge de phénol 24,0 mg
- Agar agar bactériologique13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

Milieu Urée-tryptophane

Pour 1 litre de milieu:

- L-Tryptophane3,0 g
- Phosphate monopotassique.....1,0 g
- Phosphate dipotassique.....1,0 g
- Chlorure de sodium5,0 g
- Urée20,0 g
- Rouge de Phénol à 1%2,50 ml
- Alcool à 95%10,00 ml

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6.7 ± 0.2 .

LDC

Pour 1 litre de milieu:

- Extrait de levure.....3 g
- L-lysine5 g
- Glucose.....1g
- Bromocrésol pourpre.....0,16 mg
- Ethanol.....1mL
- Chlorure de sodium.....5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6.8 ± 0.2 .

Eau physiologique

Pour 1 litre de milieu:

- Chlorure de sodium 5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7.2 ± 0.2 .

Bouillon sélénite-cystine

Pour 1 litre de milieu:

- Tryptone 5,0g
- Lactose..... 4,0 g
- Phosphate disodique 10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium 4,0 g
- L-cystine..... 10,0 mg

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,0 \pm 0,2$.

b) Réactifs:

Réactifs de Voges Proskauer

VP1

- Hydroxyde de potassium.....40 g
- Eau distillée.....100 ml

VP 2

- Alpha naphthol..... 6 g
- Ethanol..... 100 ml

Réactif Kovacs

- Paradiméthylaminobenzaldéhyde..... 5.0 g
- Alcool isoamylique..... 75.0 ml
- HCL37%25.0 ml

Réactif de Griess pour les nitrites

NIT 1

- Acide sulfalique0.8 g
- Acide acétique 5 N..... 100 ml

NIT 2

- N-N-diméthyl-1-naphtylamine..... 0.6 g
- Acide acétique 5 N 100 ml

Réactif TDA

- Perchlorure de fer.....3, 4 g
- Eau distillée.....100 ml

c) Colorants :

Violet de gentiane

- Violet de gentiane1 g
- Ethanol à 90%10 ml
- Phénol.....2 g
- Eau distillée.....100 ml

Lugol

- Iode1 g
- Iodure de potassium.....2 g
- Eau distillée.....300 ml

Fuschine

- Fuschine basique.....1 g
- Alcool éthylique100 ml