

Bacilles Gram négatif aéroanaérobies de culture facile : Enterobacteriaceae (Entérobactéries), Vibrionaceae, Aeromonadaceae

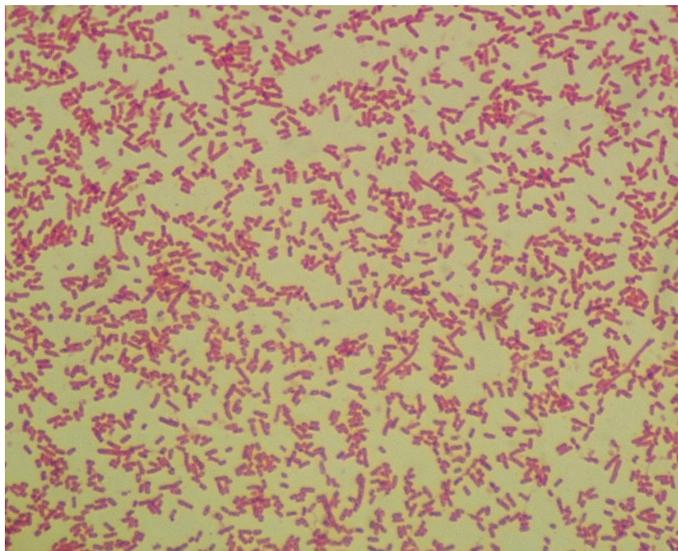
Il semble plus logique de rassembler ces bactéries très proches phénotypiquement et dont le pouvoir pathogène est proche : le choléra et les infections à ETEC sont de même nature et de gravité équivalente.

1. MORPHOLOGIE CLASSIFICATION

1.1. Définition

Les bacilles gram négatif aéroanaérobies de culture facile sont :

- des **Bacilles ou Coccobacilles Gram** - souvent polymorphes, parfois incurvés
- de **culture facile sur géloses ordinaires** (ce qui inclut Drigalski, EMB, Hektoen...)
- **aéroanaérobie** et de **type fermentatif du glucose** (respiration aérobie le plus souvent et fermentation en anaérobiose)
- **réduisant en général les Nitrates en Nitrites** (des souches réduisent les nitrates en diazote (*Klebsiella*...) et d'autres ne réduisent pas (des *Yersinia*, *Shigella*...))
- **habituellement catalase +** (mais la catalase n'étant pas recherchée on s'expose parfois à des surprises)



Gram réalisé sur une souche d'E. coli

On distingue les différentes familles par différents caractères :

Familles	Mobilité	Oxydase	Genres
Entero-bacteriaceae	- ou péritriche (*)	négative (*)	<p>Liste des genres et espèces d'Entérobactéries en 2002 (Bergeys) en gras les genres et espèces fréquents en microbiologie médicale</p> <p><i>Alterococcus</i> <i>Arsenophonus</i> <i>Brenneria</i> <i>Buchnera</i> <i>Budvicia (aquatica)</i> <i>Buttiauxella (agrestis)</i> <i>Calymmatobacterium reclassé en Klebsiella</i> <i>Cedecea (davisae, lapagei)</i> Citrobacter (freundii, diversus, amalonaticus) <i>Edwardsiella (tarda, hoshinae, ictaluri)</i> <i>Erwinia</i> Enterobacter (aerogenes, cloacae, asburiae, agglomerans (voir Pantoea), gergoviae, sakazakii, taylorae, amnigenus, intermedium) Escherichia-Shigella (coli, fergusonii, hermanii, vulneris, blattae, Shigella) <i>Ewingella (americana)</i> Hafnia (alvei) Klebsiella (pneumoniae, oxytoca, planticola, terrigena, granulomatis) <i>Kluyvera (ascorbata, cryocrescens)</i> <i>Leclercia (adecarboxylata)</i> <i>Leminorella (grimontii, richardii)</i> <i>Moellerella (wisconsensis)</i> Morganella (morganii) <i>Obesumbacterium (proteus)</i> <i>Pantoea (agglomerans) genre remplaçant Enterobacter agglomerans</i> <i>Pectobacterium</i> <i>Photorhabdus</i> <i>Plesiomonas (oxydase +) reclassé en Proteus</i> <i>Pragia (fontium)</i> Proteus (vulgaris, mirabilis, penneri, rettgeri, myxofaciens, shigelloides) Providencia (stuartii, alcalifaciens, rustigianii) <i>Rahnella (aquatilis)</i> <i>Saccharobacter</i> Salmonella (enterica) Serratia (marcescens, liquefaciens, rubidae, odorifera, plymuthica, ficaria) <i>Sodalis</i> <i>Tatumella (ptyseos)</i> <i>Trabulsiella ex Koserella ?</i> <i>Wigglesworthia</i> <i>Xenorhabdus (luminescens, nematophilus)</i> Yersinia (enterocolitica, frederiksenii, intermedia, kristensenii, pestis, pseudotuberculosis) <i>Yokonella (regensburgei)</i></p>
Vibrionaceae	- ou polaire	positive	<p>genre <i>Vibrio</i> genre <i>Listonella</i> genre <i>Photobacterium</i></p>
Aeromonadaceae	- ou polaire	positive	<p>genre <i>Aeromonas</i></p>

(*) : le genre *Plesiomonas* est une Entérobactérie oxydase + et polaire... Il est reclassé aujourd'hui dans le genre *Proteus* !

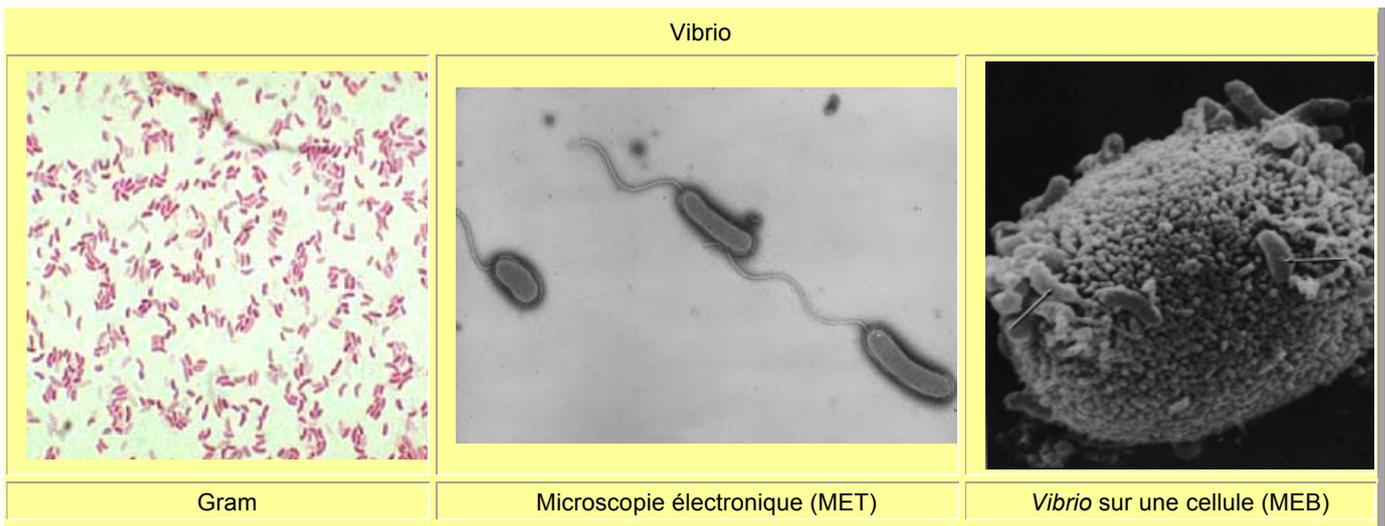
N'oublions pas que les caractères phénotypiques sont limités et que 100 % en taxonomie cela n'a guère de sens.

On prendra garde qu'une définition aussi précise ne peut que supporter des exceptions : *Plesiomonas*, parfois classé dans la famille des *Vibrionaceae*, est génétiquement très proche de *Proteus*, Entérobactérie, et doit, quoique il en coûte, y être placé bien qu'il soit oxydase +, à ciliature polaire... On ne peut définir une famille sans aucun regard (ou un regard limité) sur le DNA des bactéries ! *Plesiomonas* est donc une Entérobactérie.

Le génome de *Vibrio cholerae* est entièrement séquencé. Il contient **4 033 460** paires de bases (4 Mpb) réparties sur deux DNA circulaires (2,96 Mpb et 1,07 Mpb). Les gènes de virulence sont sur le premier, et 105 gènes sont en double, un exemplaire par chromosome. (Le Monde 4 août 2000)

Dans la classification de Bergeys :

Class III : Gammaproteobacteria	Ordre III : Xanthomonadales	famille des Xanthomonadaceae (avec les genres Stenotrophomonas, Xanthomonas...)
	Ordre V : Thiotrichales	(famille III : Francisellaceae)
	Ordre VI : Legionellales	famille des Legionellaceae (avec le genre Legionella)
		famille des Coxiellaceae (avec le genre Coxiella)
	Ordre IX : Pseudomonadales	famille des Pseudomonadaceae (avec les genres Pseudomonas, Morococcus...)
		famille des Moraxellaceae (avec les genres Moraxella, Acinetobacter...)
	Ordre X : Alteromonadales	famille des Alteromonadaceae (avec les genres Alteromonas, Shewanella...)
	Ordre XI : Vibrionales	famille des Vibrionaceae (avec les genres Vibrio, Listonella, Photobacterium...)
	Ordre XII : Aeromonadales	famille des Aeromonadaceae (avec les genres Aeromonas,...)
Ordre XIII : Enterobacterales	famille des Enterobacteriaceae (avec les genres classiques mais aussi Plesiomonas...)	
Ordre XIII : Pasteurellales	famille des Pasteurellaceae (avec les genres Pasteurella, Haemophilus, Actinobacillus...)	



1.2. Antigènes

Les antigènes portés par les Entérobactéries (**et les autres ?????**), communs avec ceux d'autres bacilles Gram - sont :

- **l'antigène O**, composé d'un lipide A commun et toxique, d'une partie polysidique commune à toutes les Entérobactéries (le core) sauf de rares mutants et d'une partie polysidique apportant la spécificité des formes S. C'est le LPS ou lipopolysaccharide (en fait un phospholipide membranaire)
- **les antigènes H**, éventuellement sous deux phases (H1 et H2), de nature polypeptidique (flagelles)
- **les antigènes K ou Vi** polysidiques (capsule, microcapsule)
- **d'autres Ag** comme ceux des pili (fimbriae) de nature protéique

Ag O

Comme les autres bactéries gram -, la paroi des Entérobactéries est recouverte d'une membrane externe dont le feuillet externe contient du LPS en grande quantité.

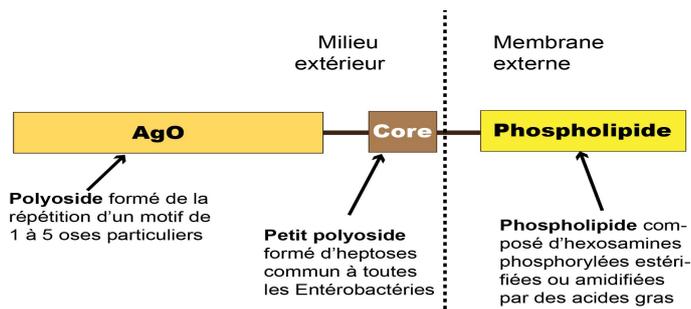
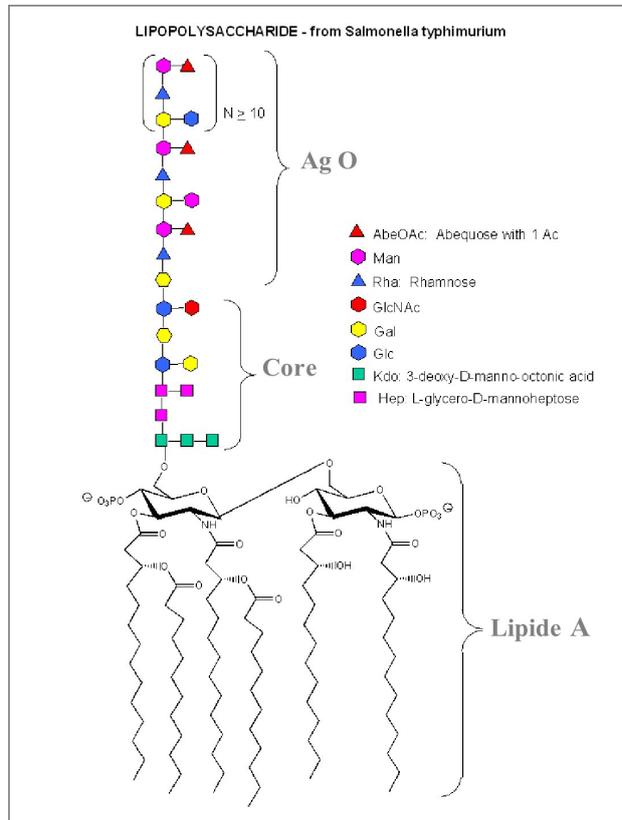


Schéma simplifié du LPS



Structure du LPS de *Salmonella Typhimurium*

Certaines mutations affectent le core et/ou l'Ag O et on distingue :

- mutants R (Rough) = colonies rugueuses
- colonies S (Smooth) = colonies lisses (bactéries non mutées, possédant l'Ag O)

La structure de l'Ag O est très variable d'une espèce à l'autre et au sein d'une même espèce, d'où le sérogroupage (*E.coli*, *Salmonella*)

Ag capsulaires

Certaines souches possèdent en plus une enveloppe polysidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux (colonies M : ex *Klebsiella pneumoniae*, certains *E.coli*). Ces souches présentent un Ag K qui masquent l'Ag O (on le détruit par chauffage 1 heure à 60 °C avant de rechercher l'Ag O).

Certaines *Salmonella* (Typhi, Paratyphi C, rares Dublin) possèdent des Ag de surface (Vi) polysidiques de même nature que les Ag K. Des phages les utilisent comme récepteurs. Cet Antigène Vi est retrouvé aussi chez des *Citrobacter*.

Ag flagellaires H

Il existe des souches de *Salmonella* et d'autres Entérobactéries (mobiles !) possédant un Ag H flagellaire, polypeptidique et souvent **diphasique** : 2 gènes différents codent pour deux types de flagellines mais leur contrôle génétique fait que l'expression du gène est, pour un individu unique : dans la culture les deux types peuvent cohabiter.

2. HABITAT

2.1. Enterobacteriaceae

Les Entérobactéries sont présentes dans de nombreux écosystèmes, en particulier **l'intestin** qui leur a donné son nom mais aussi dans **l'environnement** (eau, sol). Elles peuvent être saprophytes, commensales ou pathogènes. Le cas d'*E. coli* est typique puisque cette bactérie est retrouvée dans les eaux souvent en provenance d'une contamination fécale, dans l'intestin et certains *E. coli* sont pathogènes chez l'homme ou l'animal.

E. coli est utilisé en microbiologie alimentaire comme indicateur de contamination fécale : sa présence, en fonction de sa concentration, signe que des matières fécales ont été en contact avec l'aliment, donc

- qu'il risque d'y avoir des agents pathogènes intestinaux non détectés ou non recherchés dans l'aliment (bactérie comme des *Salmonella*, nombreux entérovirus...)
- que les conditions de préparation, de transformation ou de conditionnement de l'aliment ne sont pas réalisées dans de bonnes conditions d'hygiène : mains non lavées au sortir des toilettes par ex...

On prendra garde au fait que les dénombrements d'*E. coli* ne sont que des tests de contamination fécale et que ces *E. coli* ne sont pas considérés comme pathogènes (même s'ils le sont !).

Les coliformes ou les Entérobactéries sont aussi utilisés comme des tests de contamination fécale présumée.

2.2. Vibrionaceae et Aeromonadaceae

Les *Vibrionaceae* et les *Aeromonadaceae* sont des bactéries fréquentes dans les eaux (de rivière et de mer). Certaines sont **halophiles** (ne peuvent vivre qu'en présence de "sel"). En fait on trouve des halophiles se multipliant mieux en présence de sel mais capables de se multiplier dans les milieux hypotoniques, des halophiles "stricts" ne cultivant pas en milieux hypotoniques. L'élément indispensable est semble-t-il le sodium. Le degré de tolérance vis à vis de la concentration sodique dépend des souches). *Vibrio cholerae* est tolérante aux milieux hypotoniques tandis que *Vibrio parahaemolyticus* ne peut y cultiver.

3. POUVOIR PATHOGÈNE

Le pouvoir pathogène des bacilles gram - aéroanaérobies concerne les **syndromes digestifs**, les **infections du tractus urinaire**, et une maladie très particulière, la **PESTE**. D'autres localisations sont possibles mais liées souvent à la dissémination des germes à partir du foyer initial : toute infection locale peut devenir invasive avec notamment des septicémies. Cela dépend des facteurs de pathogénicité du microorganisme et de facteurs de l'hôte.

N'oublions pas que des Entérobactéries sont **phytopathogènes** comme *Pantoea* (*Enterobacter agglomerans*)

3.1. Syndromes digestifs

De nombreux bacilles Gram - aéroanaérobies sont capables d'infecter l'individu. Certaines sont toutefois plus pathogènes que d'autres :

- les *Salmonella* et particulièrement les *Salmonella* Typhi et paratyphiques (Salmonelles majeures)
- les *E. coli-Shigella*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Vibrio cholerae* et des *E. coli* dits ETEC

a. Causes du pouvoir pathogène

Les divers modes d'action des bactéries entéropathogènes sont les suivants :

- **la production d'une toxine cytotoxique** ou sécrétoire (cholera like) dans l'intestin déclenche les troubles car cette toxine se fixe sur les entérocytes ce qui provoque des modifications internes de la concentration de l'AMP cyclique (entérotoxine thermolabile de nature protéique) ou du GMP cyclique (entérotoxine thermostable de nature peptidique) provoquant des modifications de perméabilité ionique d'où la sortie d'eau et donc de la diarrhée.
- **la production de cytotoxines** (shigella-like ou non) provoque les lésions cellulaires. Il en existe évidemment de divers types :
 - **des toxines de type perforine** (comme la Streptolysine O) ou des phospholipases (lécithinases) agissant sur la membrane plasmique ou les membranes internes.
 - **des toxines interférant avec le métabolisme** (inhibition de la synthèse des protéines par ex.) comme les toxines Shigella-like ou vérotoxines (shigatoxines). Elles sont liées à des bactériophages lysogènes.
 - **des toxines provoquant des modifications du cytosquelette** et pouvant provoquer ainsi un relâchement des jonctions serrées et la diarrhée.
- **la bactérie est capable d'envahir les cellules et de s'y multiplier (virulence)** donc dispose de moyens lui permettant de s'opposer à la phagocytose-digestion :
 - **empêche l'union lysosome-phagosome**
 - **détruit la membrane du phagosome**
 - **s'oppose aux enzymes lysosomiales en particulier aux peroxydes**
- **la bactérie est capable d'envahir la muqueuse (tissus) et de s'y multiplier (virulence)** avec passage intracellulaire ou non
- **la bactérie est capable de disséminer au delà des tissus locaux** (vers le sang ou la lymphe)

On prendra garde que ces différents facteurs de virulence bactériens sont fonction de l'hôte.

De plus, ces différents facteurs de virulence sont exprimés à des degrés forts variables chez les différentes bactéries, **sans être toujours bien connus**, et peuvent atteindre des lieux variés du tube digestif (intestin grêle (duodénum, iléon, jéjunum), gros intestin). De plus la réaction dépend de l'hôte.

Quelques exemples :

b. Cas de bactéries agissant avec des cytotoxines diverses

Salmonella Typhi est d'abord à multiplication intracellulaire suivie éventuellement d'une invasion lymphatique. Elle passe probablement par les cellules M de l'épithélium, cellules assurant le transfert au système immunitaire (macrophages et cellules dendritiques). La typhoïde, spécifiquement humaine, est la salmonellose la plus grave avec 17 millions de malades par an dans le monde, 600 000 morts (80 % d'enfants de moins de 5 ans). En France, les cas sont rarissimes (une épidémie de 5 cas en 2003) et les cas sont essentiellement d'importation.

Shigella dysenteriae, les EIEC (Entéro-invasifs) sont d'abord à multiplication intracellulaire et toxigènes (vérotoxine).

Les **EPEC** agissent essentiellement par "effacement" des microvillosités par une toxine altérant le cytosquelette cellulaire.

Les **ETEC** libèrent des entérotoxines cytotoxiques

Les **EHEC** (entérohémorragiques) libèrent une quantité importante de cytotoxines dans le gros intestin probablement et peuvent être invasifs (peut être seulement chez certains individus). Ils libèrent aussi une toxine agissant sur le cytosquelette. Les huit principaux sérovars sont O26, O55, O91, O103, O111, O128, O145, O157. Ils sont souvent dénommés **STEC** pour *Shiga-toxine E. coli*.

Yersinia enterocolitica et pseudotuberculosis envahissent la muqueuse intestinale près de la fin du grêle.

Enterobacter (Cronobacter) sakazakii est un pathogène rare mais très dangereux pour les nourrissons, qui pénètre par voie digestive (TIAC) puis peut envahir l'individu.

c. avec avant tout des toxines cytotoxiques : Cas du Choléra et des ETEC

C'est essentiellement le **choléra** qui pose problème ce qui n'exclut pas l'intervention d'autres *Vibrionaceae* ou *Aeromonadaceae* dans différents syndromes opportunistes.

On peut en particulier noter le rôle de *Vibrio parahaemolyticus* dans quelques intoxications alimentaires liées à la consommation de produits de la mer très rares en France.

Le choléra est une **maladie redoutable caractérisée par une diarrhée afécale (en eau de riz)** qui peut être extrêmement importante (10 litres par heure) et va entraîner la mort par déshydratation. De nombreux cas sont asymptomatiques ou avec une diarrhée légère (de 4/5 pour *V. cholerae cholerae* à 1/40 pour *Vibrio cholerae El tor*).



Le choléra est essentiellement dû à **une toxine protéique** qui se fixe sur l'entérocyte, provoque une augmentation de l'AMPc intracellulaire ce qui conduit à des modifications de la perméabilité aux chlorures qui sont excrétés de la cellule et entraînent la perte sodée et liquidienne.

(voir [toxines cytotoxiques](#))

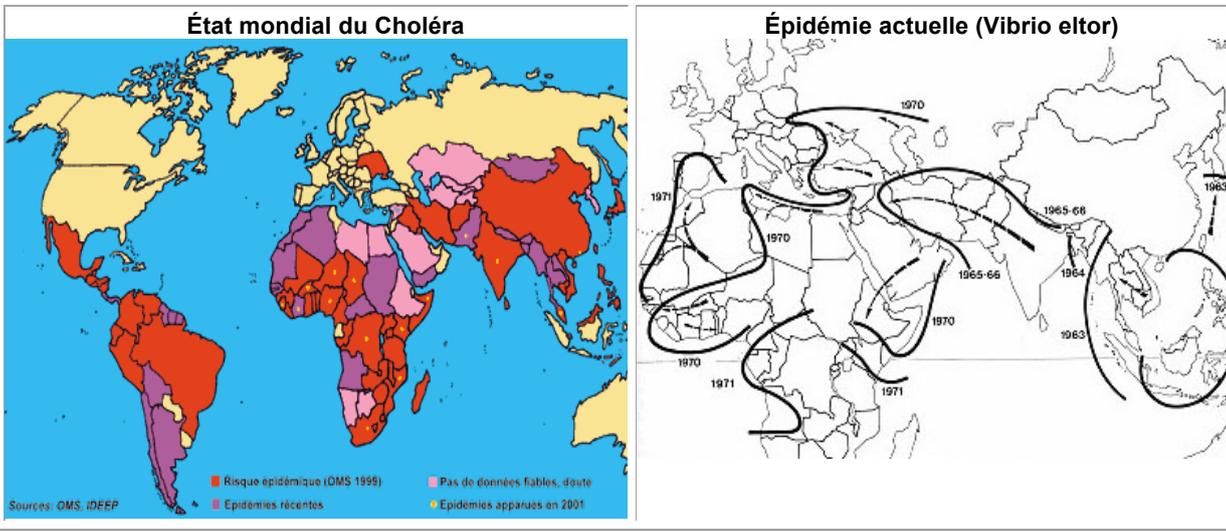
La bactérie, découverte par Koch en 1883, ne se multiplie que dans la lumière de l'intestin : **elle n'est pas invasive (au sens de pénétration dans l'individu proprement dit comme au sens d'invasion intracellulaire)**.

Le vibron cholérique appartient au **sérotype O1**. Il existe deux biovars, **classique et El tor**. On peut distinguer trois variétés antigéniques plus ou moins claires (Inaba, Ogawa et discutée Hikojima).

Un nouveau *Vibrio* de sérovar O139 est apparu en 1993 dans le sous-continent indien. Il semble redoutable et très épidémique mais n'a pas disséminé au delà. Il résulte probablement d'échanges génétiques entre *Vibrio*. Il existe en effet 150 sérovars de *V. cholerae*.

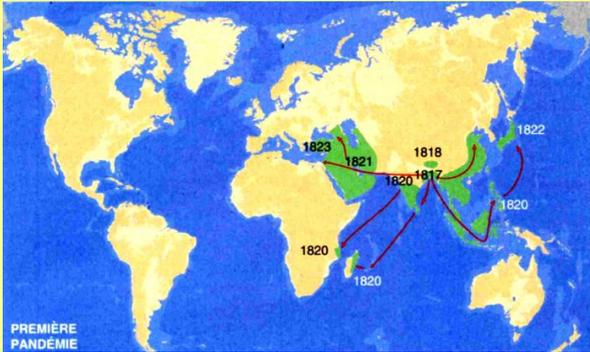
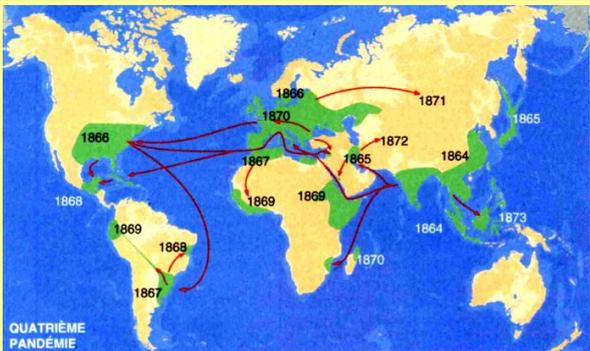
La pandémie actuelle a débuté en 1961 en Indonésie et s'est répandue dans le monde entier, essentiellement fixée dans les pays pauvres d'hygiène fécale défaillante et chauds :

- Amérique latine (sauf Argentine, Paraguay, Uruguay et Guyanes)
- Afrique noire y compris Madagascar.
- Iraq, Iran, Afghanistan, Inde, Vietnam, Cambodge...



Il ne faut pas oublier **qu'au XIX^e siècle le choléra ravage l'Europe et est présent à Paris**. Peut-être y-a-t-il encore quelques *Vibrio cholerae* dans la Seine !

Les grandes pandémies de Choléra furent : (Pour la Science n°252 octobre 1998)

Pandémie	Dates	Régions touchées	Cartes
Première	1817-1824	Asie, Afrique, Europe	
Deuxième	1829-1837	Asie, Afrique, Europe, Amérique	
Troisième	1840-1860	Asie, Afrique, Europe, Amérique	
Quatrième	1863-1875	Asie, Afrique, Europe, Amérique	
Cinquième	1881-1896	Asie, Afrique, Europe, Amérique	
Sixième	1899-1923	Asie, Afrique, Europe	

Septième	1961-1992	Asie, Afrique, Europe, Amérique	
----------	-----------	---------------------------------	--

3.2. Syndromes urinaires

Infections du tractus urinaire

E. coli est le pathogène le plus important au niveau du tractus urinaire. Il s'agit de certains sérovars O très particuliers (O1, O2, O4, O6, O17, O18, O22, O75) qui sont en cause, les **UPEC (uropathogènes)**. Ils gagnent le rein par la voie ascendante en remontant l'urètre. Ce sont probablement des hôtes normaux de la flore commensale de l'individu qui sont en cause. Il existe très certainement une sensibilité individuelle particulière.

D'autres bactéries sont mises en cause dans ces infections du tractus urinaire, souvent à la suite de manipulations de type sondage chez des patients malades.

Syndrome hémorragique et urémique ou SHU

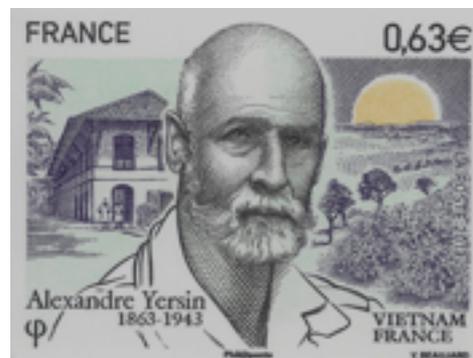
Les EHEC peuvent déclencher un syndrome hémorragique et urémique par action de la shigatoxine sur les cellules rénales chez les individus sensibles. Ils possèdent un ensemble de gènes de virulence : *stx1*, *stx2*, *eae*, *hlyA* et *aggR* et des gènes de sérovars particuliers (en France : O157, O121, O26, O103, O91, O145, O55, O111, O104)

Le syndrome hémorragique et urémique, qui concerne essentiellement le jeune de moins de 15 ans, présente une anémie hémolytique micro-angiopathique (Hémoglobine < 100 g/L et Schizocytose ≥ 2%), thrombopénie et insuffisance rénale avec créatinémie supérieure à 60 µmol/L à moins de 2 ans et 70 µmol/L à plus de 2 ans. En France, une centaine de cas est observée par an pour les enfants de moins de 15 ans.

Ce syndrome semble clairement résulter d'une sensibilité particulière de certains individus à la shigatoxine (circulation dans le sang donc absorption et non neutralisation ?) mais aussi au LPS circulant (problème classique de l'action du LPS par l'intermédiaire du système immunitaire et de ses cytokines libérées anormalement en excès sous l'action du LPS chez les individus sensibles)

3.3. La peste

C'est *Yersinia pestis* qui est la cause de la peste, maladie redoutable et toujours possible car de nombreux foyers persistent dans le Monde, en particulier à Madagascar ou aux USA mais aussi en Algérie de façon sporadique. **Yersin** isola la bactérie de cadavres de pesteux en 1894 et **Simond** mis en évidence le rôle de la puce comme vecteur. Le rôle de réservoir des rats paraissait évident par la mortalité affectant ces animaux avant l'épidémie humaine. La peste est une **anthropozoonose**.



Trois grandes pandémies durant l'histoire :

- le foyer "initial" semble égyptien vers -1400 AJC avec la transmission de la bactérie du rat du Nil au rat noir arrivant d'Asie, par l'intermédiaire de leurs puces (voir La Recherche 374 avril 2004)
- peste de Justinien au VI^e siècle qui a sévi dans tout le bassin méditerranéen.
- peste noire de 1347 à 1352 (et persistance en Europe jusqu'en 1845) qui a décimé les populations européennes de façon massive (entre 33 et 50 % des habitants). Par PCR on a pu montrer qu'un gène spécifique de *Y. pestis* était présent dans des cadavres d'un charnier de Montpellier datant du XIV^e siècle, validant ainsi l'origine pesteuse de la peste noire (voir La Recherche 228 janvier 2001).
- Hong Kong 1894 où Yersin isola la bactérie et l'étudia.

Une petite épidémie tue 30 personnes en région parisienne en 1920 (chiffonniers de Saint Ouen) et quelques cas en 1945 en Corse.

La maladie présente deux aspects possibles :

- la **peste bubonique** : les bacilles sont injectés ou déposés par une puce vectrice. Ils se multiplient sans bruit durant un à sept jours puis la maladie se déclare de façon foudroyante, avec une forte fièvre, des vomissements. On observe un bubon, gros ganglion lymphatique de la zone de la piqûre. L'infection se généralise par septicémie très rapidement. Mortalité 70 % en absence de traitement.
- la **peste pulmonaire**, causée par une contamination par voie aérienne déclenchant une pneumonie mortelle en absence de traitement en moins de 4 jours et qui est très contagieuse.

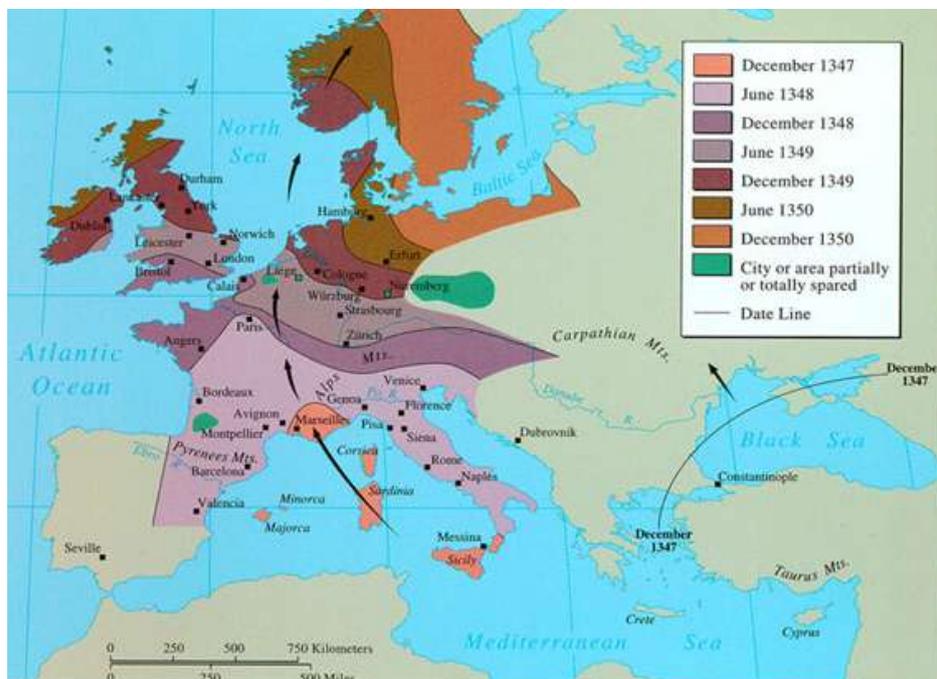
Attention : la peste noire ne se traduit pas par des cadavres noirs... *Pestis atra* signifie en latin mort horrible (voir "Pas vite et reviens tard" de Fred Vargas, intéressant roman sur la peste de 1920. (éditions Vivane Hamy)

Lire "évidemment" **La peste** d'Albert CAMUS.

Voir:

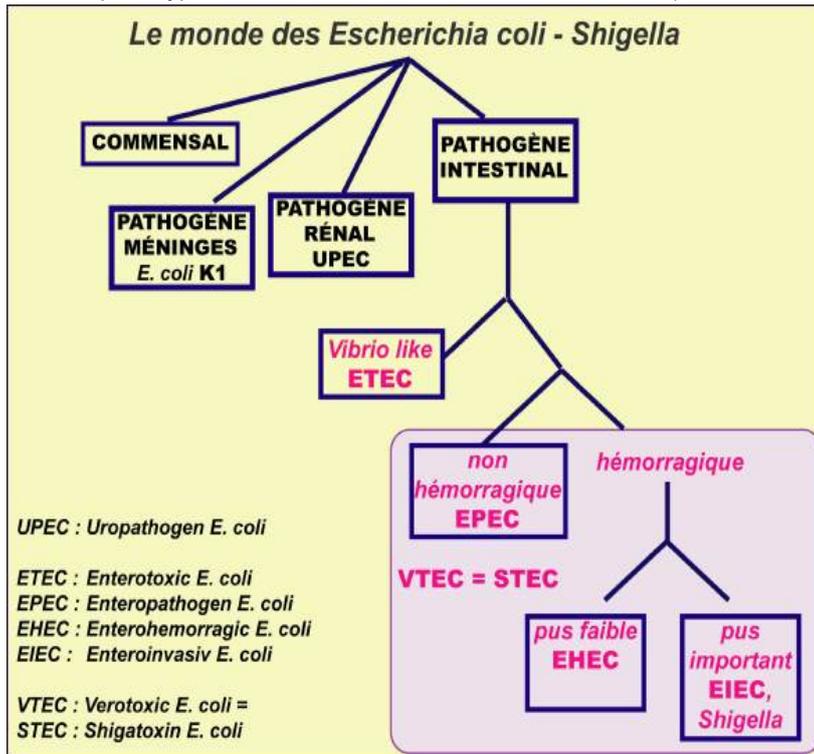
- <http://www.insecta-inspecta.com/fleas/bdeath/Black.htm>
- <http://www.bium.univ-paris5.fr/histmed/medica/peste.htm>

Les deux cartes ci-dessous sont issues de ce site. Comme toute donnée historique, il reste bien des incertitudes sur le Peste noire...



3.5. Résumé pour les *E. coli*

E. coli est une espèce pour le moins complexe tant la variété de clones est grande : des espèces purement commensales et d'autres très pathogènes, une très grande variété antigénique... Le schéma suivant tente de mettre au clair les différents pathotypes. Il en existe malheureusement d'autres... (*E. coli* enteroaggrégants...



4. ISOLEMENT

Isolement polyvalent non sélectif

Les bacilles gram négatifs aérobies de culture facile cultivent sur tous les milieux sans inhibiteurs habituels en aérobiose et anaérobiose (GO, GTS, CLED, Gélose au sang, Gélose chocolat enrichie...).

Isolement polyvalent sélectif

L'isolement polyvalent sélectif utilise le milieu de **Drigalki** ou **EMB**. Les agents sélectifs utilisés sont le désoxycholate (pratiquement dans tous les milieux sélectifs des Entérobactéries), le cristal violet, le vert brillant...

Salmonella

Pour rechercher les *Salmonella* des milieux facilitent la recherche des colonies pouvant en être : on utilisera par exemple **Hektoen**, **SS**, **Rambach agar** ... Les caractères utilisés sont la non-utilisation du lactose, du saccharose et de la salicine ainsi que la production éventuelle d' H_2S (*Salmonella* seulement). On ne peut en aucun cas affirmer que les milieux utilisés "favorisent" les *Salmonella* : toutes les bacilles gram - risquent d'y cultiver (sauf cas particuliers) mais peuvent donner des aspects différents de celui des *Salmonella* ou *Shigella*. Le cas du milieu Hektoen est particulièrement intéressant : il a été inventé pour éliminer les *Proteus vulgaris* saccharose + de l'analyse ultérieure mais les *Pseudomonas* y cultivent (donnant des colonies vertes ou bleues) comme les *E. coli* (donnant des colonies éliminées puisque saumon). Un enrichissement en *Salmonella* est possible.

Yersinia

La recherche spécifique de *Yersinia* utilise le milieu **Yersinia-CIN**. Ce milieu est très inhibiteur (Cefsulodine, Irgasan, Novobiocine, désoxycholate, cristal violet). Les *Yersinia* utilisent le mannitol du milieu en formant de petites colonies rouges (indicateur de pH : rouge neutre).

Vibrio

La recherche des *Vibrio cholerae* utilise un **enrichissement**, particulièrement en cas de recherche chez le porteur sain. Il est réalisé en eau peptonée salée (30 g.dm^{-3}) alcaline (pH 8,8 environ). La durée de l'incubation doit être courte. L'isolement peut être réalisé sur gélose **TCBS** (thiosulfate, fer III, citrate, bile, saccharose, BBT et BT, pH 8,6) directement ou à partir de la surface de l'eau peptonée alcaline d'enrichissement. Les colonies suspectes sont H_2S -, saccharose + et oxydase +

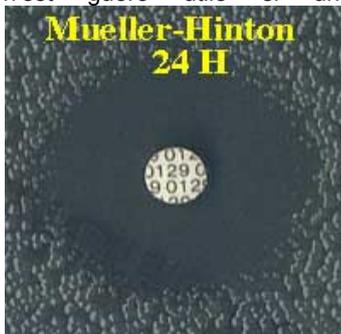
5. IDENTIFICATION

Les bacilles gram négatifs aéroanaérobies de culture facile sont identifiés essentiellement par des microméthodes, inventées avec la galerie API20E dans les années 1970 pour identifier de nombreuses Entérobactéries pathogènes opportunistes. Ce sont :

- la galerie API20E, Rapid20E et ID 32 E, et pour les Non entérobactéries la galerie API20NE.
- l'Enterotube II
- des microméthodes automatisées (Vitek, Microscan...)

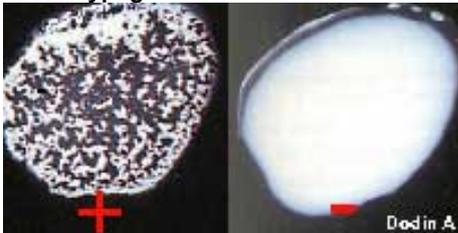
Galerie conseillée :

- **GO** pour le réisolement (ATTENTION : à condition que le milieu d'origine soit ordinaire)
- VF ou/et Hugh et Leifson glucosés (pouvant être avantageusement remplacés par Kligler...)
- **Kligler** (pour le sérotypage et la vérification du caractère lactose)
- **API20E** ou équivalent (y compris pour les *Vibrio-Aeromonas* pour lesquels API20NE doit être préférée)
- En cas d'orientation vers *Aeromonas* ou *Vibrio*, la recherche de la **sensibilité à O129**, composé vibriostatique, (2,5 diamino 6,7 di-isopropylptéridine) qui inhibe *Vibrio* en général mais non *Aeromonas* (diamètre critique de 15 mm sur gélose ensemencée en nappe avec un disque de 500µg). Cette technique n'est guère utile si une galerie biochimique complète est utilisée :



Le sérogroupage est applicable au genre *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica* et pour les EHEC O157 et les *E. coli* entéropathogènes des nourrissons (bien discutable !). Il l'est aussi pour *Vibrio cholerae* :

- le sérotypage



La recherche des toxines se fait dans certains laboratoires hospitaliers. Il existe des techniques de dosage de la toxine (essai sur des cellules en culture, particules de latex sensibilisées par des anticorps anti TC, Elisa) ou de mise en évidence du gène codant pour la toxine (ctx) par sonde moléculaire clonée chez *E. coli* agissant sur les fragments de restriction de l'ADN de la bactérie testée.

Le séquençage des souches ou d'un amplifiat d'une partie du DNA permet de séro grouper et d'identifier les facteurs de pathogénicité, en particulier les gènes *stx1* et *stx2* correspondant à la shigatoxine ainsi que *eae*, *hlyA* et *aggR*. Cette amplification peut être réalisée sur un écouvillonnage rectal (sauf le dernier gène). L'identification des gènes peut aussi être réalisée sur les souches isolées.

La recherche d'anticorps contre les huit principaux sérovars d'EHEC est possible.

Dans le cas de la peste, un test récent permet la détection d'un antigène F1 spécifique dans tout prélèvement, y compris chez les rongeurs. Le test est immunochromatographique (voir Opéron n°26). Il est utilisable en "brousse" très facilement.

6. TRAITEMENT ET ANTIBIOGRAMME

Le traitement des diarrhées est souvent **symptomatique** : la diarrhée est avant tout un moyen de défense de l'individu qui élimine ainsi le pathogène. Le grand danger est la déshydratation qui doit être compensée. La **réhydratation du malade** utilise

- la **voie veineuse** avec un liquide de Ringer au lactate (soluté isotonique riche en hydrogénocarbonate et potassium).
- la **voie orale**, si elle est possible (absence d'importants vomissements) avec un sel de réhydratation orale OMS/UNICEF de composition suivante pour 1 L :
 - glucose 20 g
 - NaCl 3,5 g

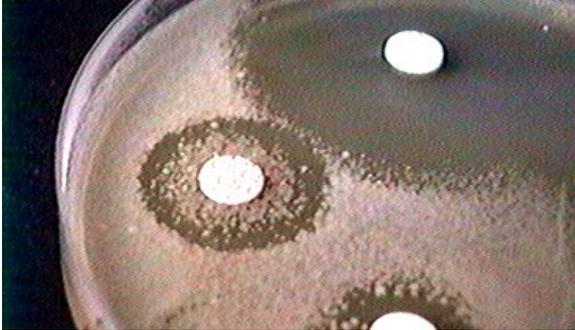
- KCl 1,5 g
- Citrate disodique anhydre 2,9 g ou hydrogénocarbonate de sodium 2,5 g
- (osmolarité 311 mosm/L)

En cas de fièvre et d'invasion, l'antibiothérapie sera très sûrement nécessaire.

Les Gram - sont constamment résistants à la Pénicilline G qui ne peut pas pénétrer. Ils sont par contre le plus souvent sensibles à l'ampicilline, molécule résultant d'une modification simple de la pénicilline G.

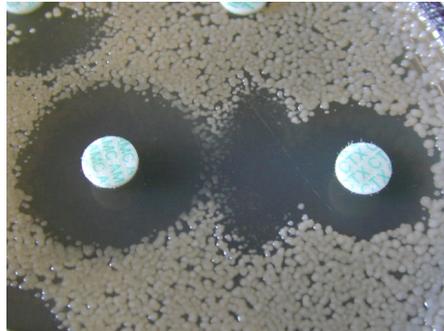
Quelques particularités peuvent être notées chez les Entérobactéries :

- *Proteus-Providencia-Morganella* : résistent à la colistine et aux polymyxines
- *Klebsiella* résiste à la carbénicilline
- *Serratia* peut présenter un aspect particulier avec la Colistine (cocarde)



C'est chez les Entérobactéries que les transferts de plasmides porteurs de la résistance à de multiples antibiotiques ont été mis en évidence. La découverte au Japon de *Shigella* multirésistantes chez un malade a conduit les chercheurs à trouver des *E. coli* commensaux qui avaient les mêmes résistances : ils ont pu ainsi montrer que la bactérie commensale avait transmis à la pathogène les gènes de résistance par l'intermédiaire d'un plasmide.

C'est aujourd'hui le problème majeur des multirésistances, en particulier chez *E. coli* ou *Klebsiella*, avec notamment les BLSE ou bêtalactamases à spectre élargi, dont la diffusion est importante et chez qui des mutations rendent l'efficacité des antibiotiques limitée. Il existe des clones contre lesquels nous n'avons plus d'antibiotiques actifs. On les détecte par le classique "bouchon de champagne" entre un disque contenant l'acide clavulanique (AMC ici) et une C3G (CTX ici) :



7. PROPHYLAXIE

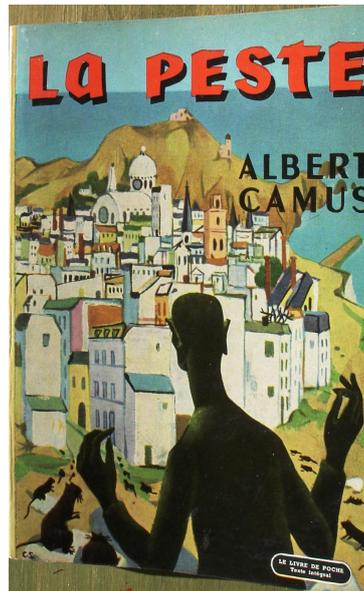
Maladies d'origine digestive

La lutte contre les **maladies d'origine digestive** met en jeu :

- l'hygiène et en particulier la lutte contre le [péril fécal](#)
- le traitement des malades
- la vaccination :
 - Pour le **choléra**, le vaccin classique (bacilles tués injectés) est d'intérêt douteux et actuellement abandonné. Des vaccins nouveaux ont été recherchés :
 - un vaccin vivant oral obtenu par génie génétique n'a pas donné de bons résultats. (avec risque de réversion)
 - l'anatoxine préparée s'est révélée inefficace sur le terrain.
 - des extraits de *V. cholerae* (toxines, cellules entières tuées) par voie orale, à l'heure actuelle en test, sont probablement généralisables.
Voir : [le Choléra dans tous ses aspects \(en particulier revue des vaccins\)](#)
 - Pour les **fièvres typhoïdes et paratyphoïdes**, le classique TAB, utilisé contre *S. Typhi*, Para A et Para B a été abandonné en raison de son efficacité limitée et des fortes réactions qu'il suscitait. Il est remplacé, contre *Salmonella Typhi* seulement par l'antigène polyosidique Vi purifié, vaccin coûteux et efficace.

Peste

La lutte contre la **peste** c'est d'abord la lutte contre le rat donc une amélioration des conditions d'hygiène. Le vaccin existant est peu efficace. Une prophylaxie par antibiotiques est possible de même qu'une sérothérapie.



COMPLÉMENTS

Un témoignage sur le choléra par Claudine SCHUSTER (2000)

La situation du choléra devenant explosive et absolument déconcertante, il me démange de vous raconter ce que je découvre! Les rares "pontes" du Ministère de la Santé sont arrivés hier: nous en sommes à **850 décès recensés** avec une véritable "flambée" qui est apparue depuis Noël, en même temps que les pluies. Les barrages de doxycycline (antibiotique de la famille des tétracyclines) n'ont évidemment pas empêché le *Vibrio* de s'installer sur tout le territoire maintenant, même si, d'après les spécialistes, ils ont quand même permis de ralentir son expansion.

Dans la région de Tuléar (côte Sud-ouest) il y a eu 100 morts en une semaine et la municipalité est paniquée: c'est une région que nous avons découverte à la Saint Sylvestre, peuplée à l'origine par les pêcheurs Vezo dont les **traditions funéraires** sont très particulières. Les morts doivent être exposés sur la plage devant leur habitation pendant 10 jours, temps nécessaire pour qu'ils "sèchent" au soleil et que l'on fasse la fête autour du corps tous les soirs. On y danse et on y boit beaucoup de rhum, moins cher que l'eau minérale bien sûr... On peut ensuite l'enterrer, dans un tombeau souvent beaucoup plus grand que la maison du défunt et construit en dur ce qui endette souvent la famille pour une génération sinon plus ! Il faut aussi abattre un maximum de zébus pour nourrir tous les invités. Qu'à cela ne tienne un Malgache même pauvre doit être bien enterré, c'est primordial. Ici, près de Tananarive (Antananarivo), c'est aussi important mais il n'y a pas l'étape de l'exposition du corps, c'est donc un peu plus facile à gérer au niveau hygiène. Cela dit, les gens ont tellement peur que l'on refuse de leur rendre leurs morts qu'ils ne conduisent pas les malades à l'hôpital. Ils ont vu à la télé que les cadavres de cholériques étaient mis dans des sacs plastiques et jetés dans une fosse crésylée et c'est la honte absolue pour eux.

Par ailleurs, depuis longtemps déjà, les équipes de "médecins du monde" s'arrachent les cheveux à Tuléar ou une autre tradition empêche les Vézo d'utiliser les latrines; en effet, puisque ce que l'on enterre est sacré (= les ancêtres) il leur est impossible d'enfouir leurs déchets, et de mélanger ceux des hommes et des femmes: chacun se soulage donc sur la plage, et quand la marée monte: environ 50 cm d'une eau bien chaude et bien salée vient "nettoyer" tout cela. Vous imaginez sans doute la joie pour ce cher *Vibrio* !!

Nous sommes donc loin d'un seul problème d'hygiène et c'est un choléra "culturel" qui est en train de disséminer une population que pas grand monde n'a pris soin d'éduquer, même si je reconnais que la tâche n'est pas facile. Je me demande parfois si c'est l'an 1000 ou l'an 2000 que l'on vient de fêter..

Sites

- [le Choléra dans tous ses aspects \(en particulier revue des vaccins\)](#)
- [Infection d'origine alimentaire à *Vibrio parahaemolyticus* \(BEH 1999\)](#)
- VOIR : <http://medecinetropicale.free.fr/cours/cholera.htm>
- VOIR : <http://www.microbes-edu.org/professional/diag/vibiro.html>
- VOIR <http://www.who.int/emc-documents/cholera/docs/whoemcdis973rev1f.pdf>
Vous téléchargerez un document de 127 pages "Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la dysenterie épidémique et du choléra du CDC d'Atlanta 2002"
- [MODE D'ACTION DE LA TOXINE](#)

