

La coproculture



Pr. A. PHILIPPON
Faculté de Médecine René Descartes Paris - France

Le plus souvent pour une diarrhée

- **Emission de selles liquides ou molles** (non moulées) glaireuses ou hémorragiques.
- Peut être **aiguë** ou **chronique**, **fébrile** ou non.
- Tous les épisodes diarrhéiques ne sont pas infectieux.
- **Toutes les diarrhées ne sont pas bactériennes.**
- Parasites, virus et accessoirement levures y jouent un rôle
- **Nombreuses autres causes** : antibiothérapie, régime, psychologique.....

DIARRHEES AIGUES BACTERIENNES

Morbidité et mortalité
 dues aux maladies infectieuses
 d'origine alimentaire en France



**Estimations des infections
 aiguës
 d'origine alimentaire**
INVS - AFSSA
Mai 2004

	Bactéries	Virus	Parasites
Total:	58000- 91600	509500	168500
Léthalité:	201 - 690	32	73-75

S. aureus	3247- 10482
B. cereus	219-701
C. perfringens	2790-8790
C. botulinum	22
L. monocytogenes	307

Campylobacter spp.	15900 - 21652
E.coli STEC	307
Salmonella non Typhi	32208 - 42304
Salmonella Typhi	67
Shigella spp.	1591 - 2329
Yersinia spp.	728 - 2121
Vibrio spp.	14
Brucella spp.	57 - 265

Diarrhée aiguë isolée TURISTA

Diarrhée aiguë
3 selles molles liquides/24h
< 14 j
consultation +
Réseau sentinelles

Epidémie de vomissements, diarrhées, signes généraux.....

Trente-sept résidents de la maison pour personnes âgées "██████████" ont été victimes d'une intoxication alimentaire dans la nuit du mercredi 29 au jeudi 30 septembre. Trois d'entre eux étaient dans un état critique.

Ile de France Oct. 2004

Toxi Infection Alimentaire Collective (TIAC)

- **Définition**

- survenue d'*au moins 2 cas*
- de symptomatologie (en général digestive)
- dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire

- **Rôle de l'alimentation**

- **passif**: simple vecteur de l'agent pathogène
- **actif**: siège de la multiplication \pm production de toxine

Faire une déclaration, donc investigations

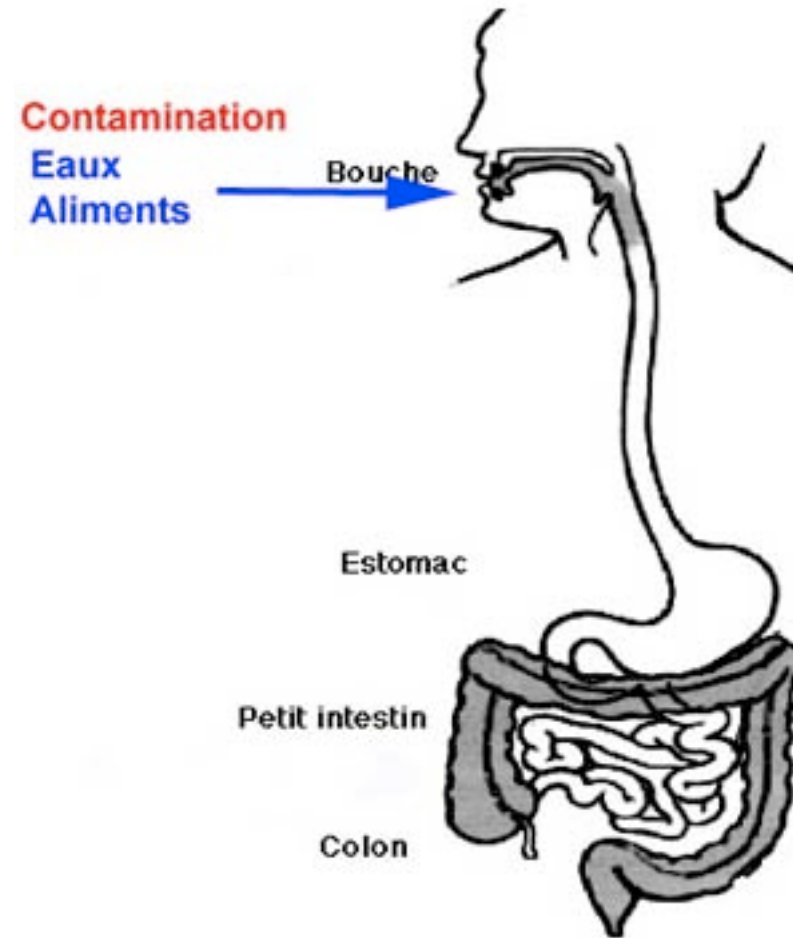
Clinique

- **Incubation** variable selon l'agent
- **Clinique** selon le mécanisme
 - action cyto-toxique diarrhée aqueuse
 - action entéro-toxinogène syndrome cholériforme
 - action invasive syndrome dysentérique
 - TIAC à symptomatologie non digestive (méningite, septicémie)
- **Évolution** spontanément favorable en général
 - Parfois graves (typhoïde, botulisme)
 - Risque de déshydratation (jeune enfant, vieillard)

Physio-pathogénie

1 - Contamination:

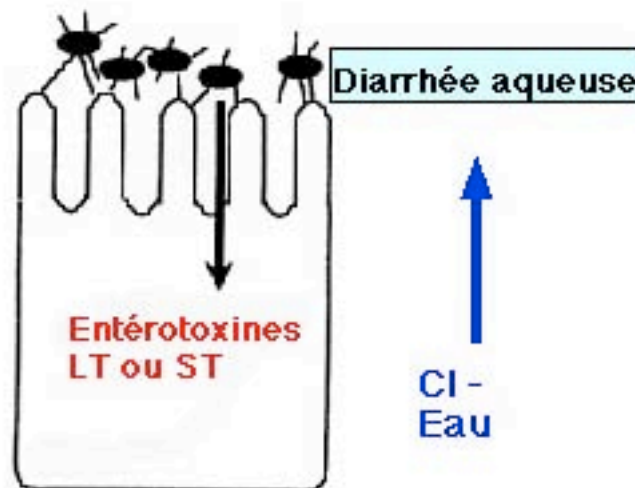
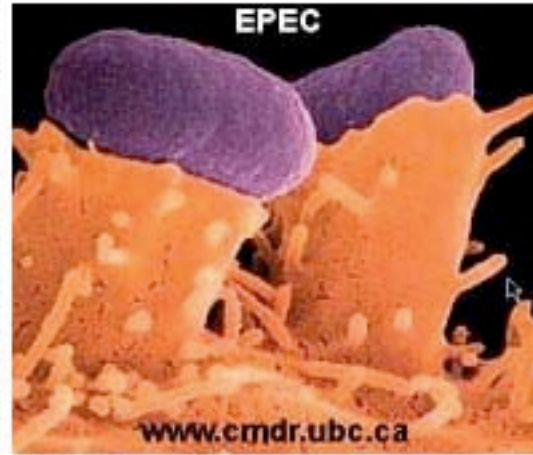
Absorption d'eau ou
aliments contaminés par
malades (homme, animal) ou
porteur sain.....



Physio-pathogénie

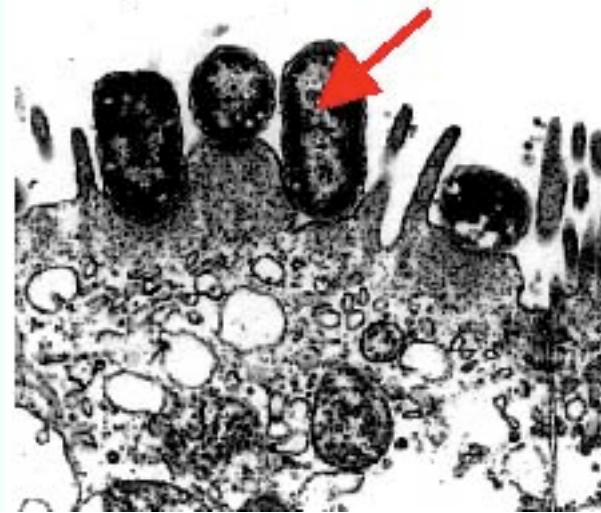
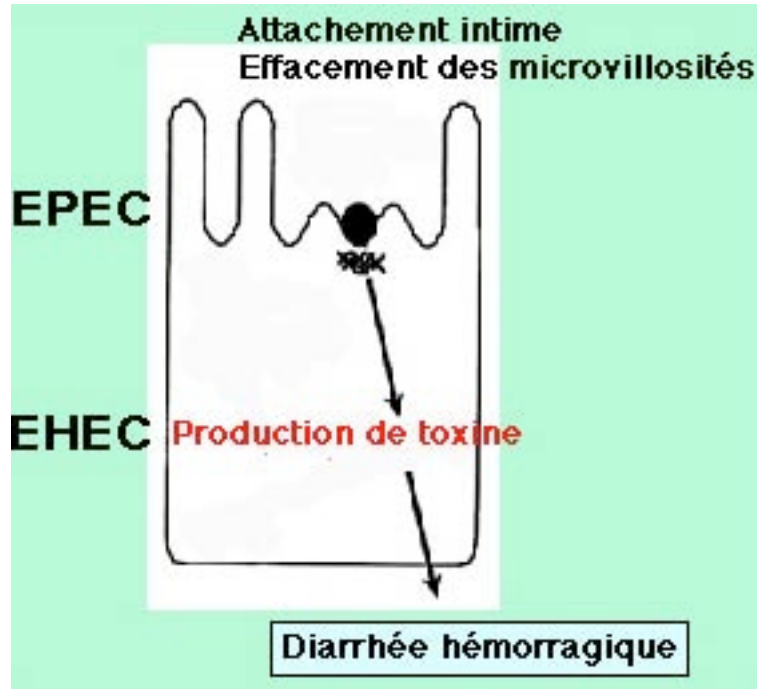
- **Dans l'intestin:** ces bactéries se fixent sur l'épithélium (adhésion aux entérocytes) puis destin variable.....

Modèles ETEC et EPEC



Physio-pathogénie

autre modèle : EHEC

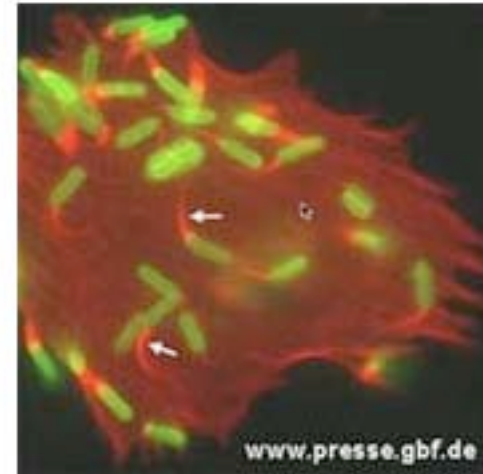
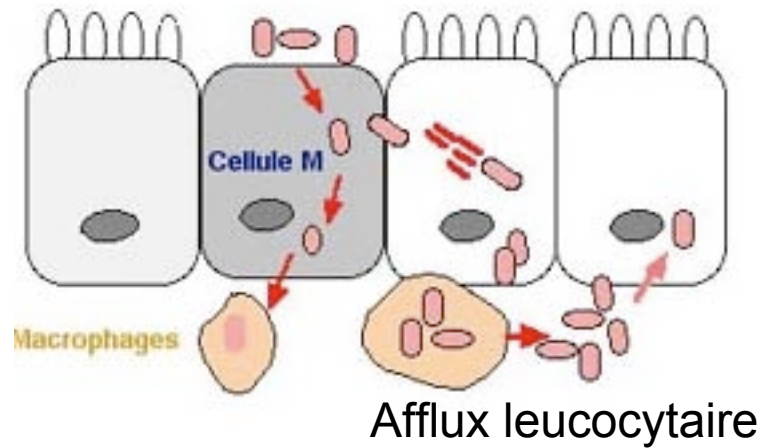


Toxines shiga-like (*stxA*, *stxB*) +++

Diarrhée hémorragique

Physio-pathogénie

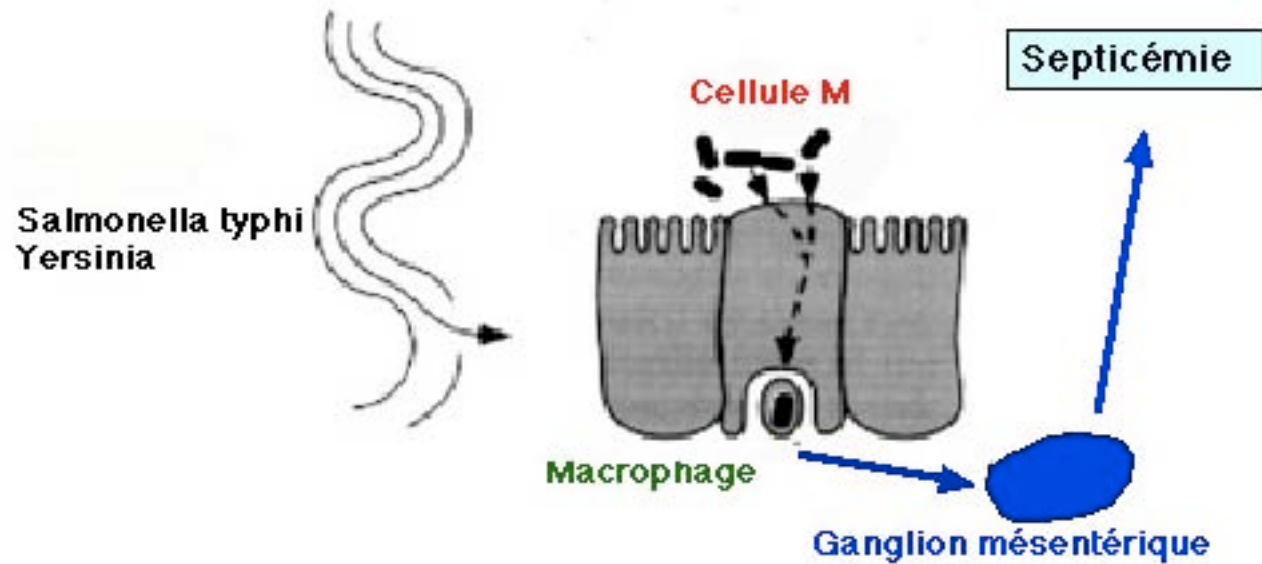
autre modèle : EIEC (*Shigella*)



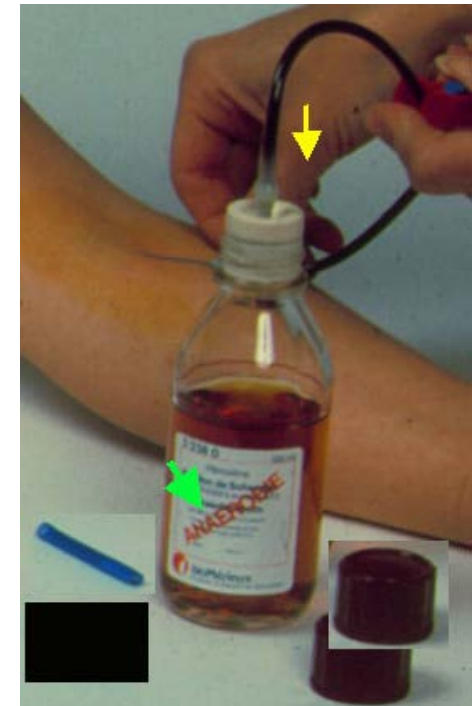
dysenterie bacillaire: selles afécales, glaires

Physio-pathogénie

Dernier modèle : **Fièvre septicémique**



diarrhée au début
signes généraux +++
(endotoxine)



Escherichia coli : Modèles entérovirulents

Symptomatologie	Pathovar (E.coli)	Facteurs de pathogénicité
Diarrhée du voyageur	entérotoxinogène (ETEC)	Facteurs d'adhésion CFA, CS
Diarrhée infantile	entéropathogène (EPEC)	Facteurs d'adhésion (pEAF) Entérotoxines (LTI et LTII, STI et STII) Attachement-effacement (<i>eaeA</i>)
Syndrome dysentérique	entéroinvasif (EIEC)	Pouvoir invasif (p INV)
Colite hémorragique (SHU)	entéro-hémorragique (EHEC)	Attachement-effacement (<i>eaeA</i>) Toxines shiga-like
Diarrhée persistante	entéro-agrégatif (EAgEC)	Facteurs d'adhésion AAFI (<i>aggA</i> , <i>bfpA</i>) Entérotoxines EAST1 (<i>astA</i>)
Diarrhée aqueuse	à adhésion diffuse (DAEC)	Facteurs d'adhésion (AIDA1, Afa)

DIAGNOSTICS

	SA	CB	STM	ST
1/ CLINIQUE	+	+	-	<u>+</u>
2/ BACTERIOLOGIQUE				
- coproculture	-	-	+	<u>+</u>
- hémoculture	-	-	-	+
- aliment	+	+	+	<u>+</u>
- Recherche de toxine	-	+	-	-
3/ SEROLOGIQUE	-	-	-	+

SA, *S.aureus* CB, *C.botulinum* STM, *S. typhimurium* ST, *S. typhi*

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

La coproculture standard:

Fréquence de positivité faible de l'ordre de 0,5 à 14 % **si selle « pathologique »**

Ecouvillonnage rectal
(nourrisson, petit enfant)



< 1%

COMMEMORATIFS

En France, il est possible d'identifier **plusieurs contextes épidémiocliniques**.

Le biologiste doit obtenir du prescripteur, les **quelques renseignements cliniques pertinents** (survenue rapide ou non) et le minimum indispensable à la mise en oeuvre au moindre coût de la technique la plus appropriée.

Actuellement, **trop de demandes** d'analyses pour diarrhées bactériennes ? s'avèrent **insuffisamment documentées** et font de la coproculture, le moins efficace des examens de bactériologie.

La finalité de la coproculture consiste à tenter d'isoler au sein d'une flore complexe un nombre limité d'espèces réputées pathogènes.

Identification des contextes

* **Adulte ou enfant > 2 ans et contexte par défaut**

la coproculture standard comprend la recherche de qq bactéries :
Salmonella, Shigella, Campylobacter, voire Yersinia enterocolitica.

* **Enfant < 2 ans**

la coproculture standard comprend la recherche supplémentaire de E. coli entéro-pathogènes **mais** étiologie virale +++ (*Rotavirus Adenovirus*).

* **Contextes épidémiocliniques particuliers**

1. notion de voyage récent en "pays tropical"
2. malade sous traitement antibiotique
3. toxi-infection alimentaire collective (TIAC)
4. patients infectés par le VIH (SIDA notamment)
5. syndrome hémolytique et urémique (SHU)
6. intoxication alimentaire
7. syndrome cholériforme
8. détection de colonisation par des bactéries multirésistantes (BMR)
9. détection de portage chez le personnel de restauration

Donc orienter judicieusement les recherches en fonction des renseignements suivants

- **Âge**
- **Signes cliniques : fièvre, douleurs, vomissements.....**
- **Origine géographique - voyage récent**
- **Antibiothérapie**
- **Cas de diarrhée dans l'entourage.....**

COMITE DE BONNE PRESCRIPTION



Examen à éliminer

Examen recommandé de ne pas prescrire

Examen non recommandé (examen inutile)

Coproculture si :

- selles moulées
- diarrhée chronique
- contrôle après traitement d'une diarrhée bactérienne ou d'une toxi-infection à *Clostridium difficile*

COMITE DE BONNE PRESCRIPTION



Examen à recommander car apporte un diagnostic pertinent

*Coproculture standard sur selles prenant la forme du récipient dans lequel elles se trouvent

*Recherche de toxine de *Clostridium difficile*, recommandée si hospitalisation > 3 jour

*Recherche de polynucléaires : si suspicion de diarrhée due à des bactéries invasives (*Shigella*, *E. coli* entérohémorragique)

Remarques complémentaires

En cas d'hospitalisation > 5 jours, il peut être pertinent dans certains services de ne pas rechercher les bactéries classiquement responsables de diarrhée communautaire (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Campylobacter*) sauf épidémie de diarrhées ou de toxoinfection alimentaire collective (TIAC).

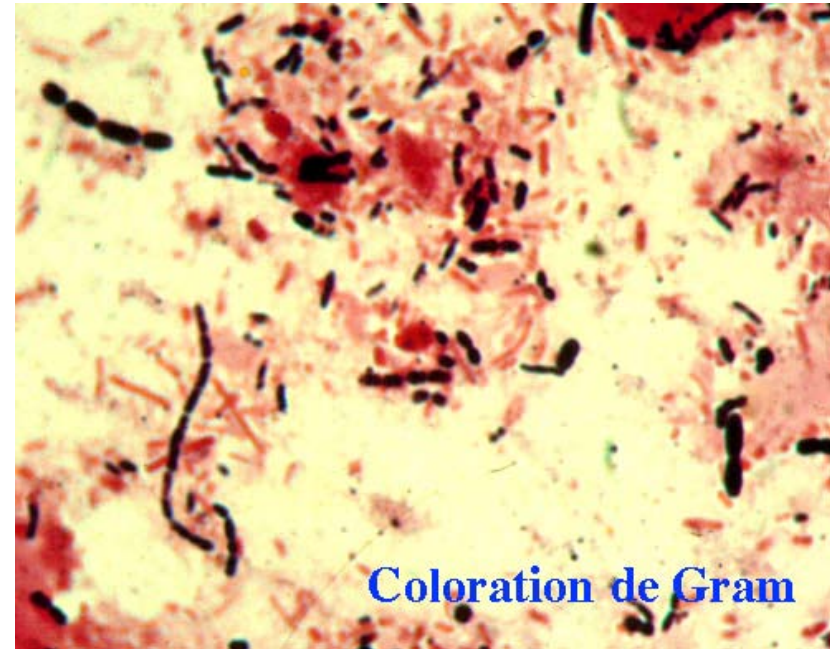
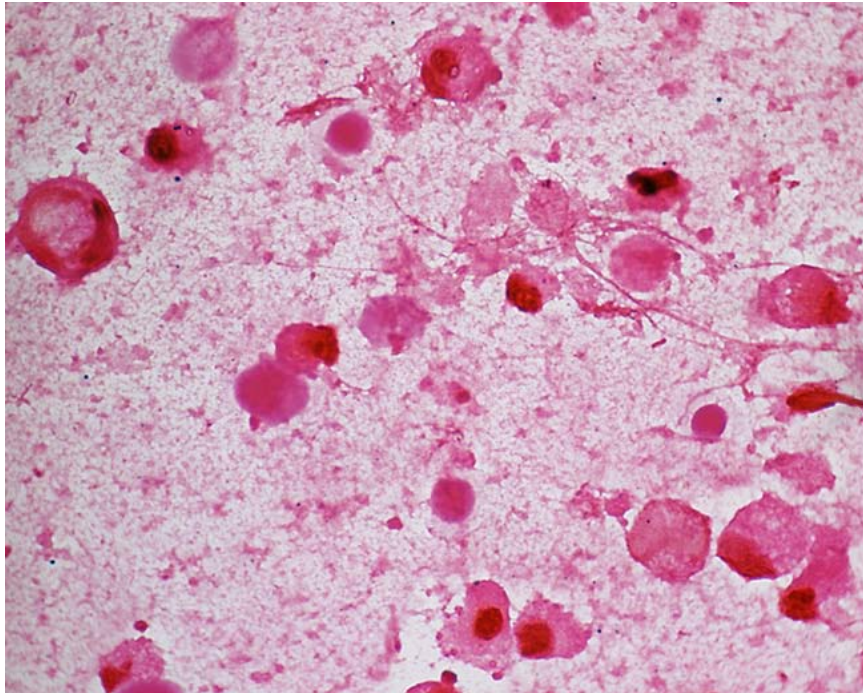
La coproculture standard:

- * **Recueil:** rapide dans un récipient propre (pot à vis stérile)
- * **Ecouvillon** : nourrisson, petit enfant.
- * **Biopsies de muqueuses rectales ou coliques** (= selles)
- * **Quantité:** 10-20 g ou écouvillon
- * **Transport** : rapide (< 2 h)
- * **Conservation:** une nuit à + 4° C (éviter dessiccation sauf selles diarrhéiques, hémorragiques ou prescription spécifique du service)
- * **Examen macroscopique** : aspect pâteux, liquide, hémorragique.....

Examen microscopique

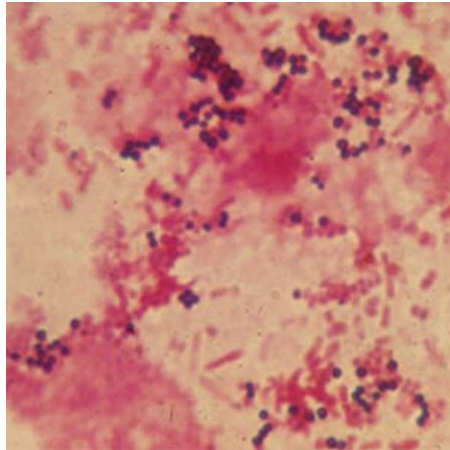
Etat Frais et Coloration de Gram (selles au 1/10)

- Leucocytes ++ (invasif)
- Hématies
- Flore équilibrée ou non
- Parasites
- *V.cholerae* ++

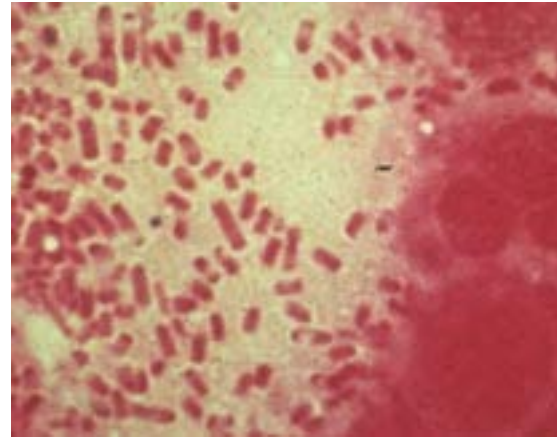


ED: Morphologies caractéristiques (Coloration Gram)

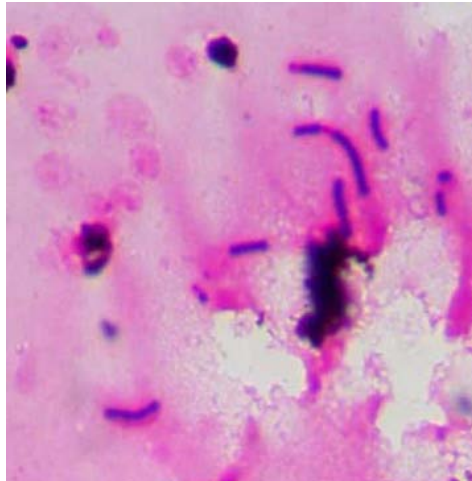
S.aureus



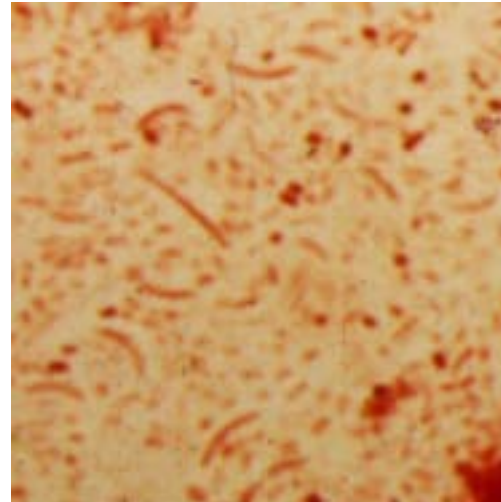
Salmonella
E.coli



B.cereus



Vibrio
Campylobacter



Candida



Intérêt limité

Coproculture standard

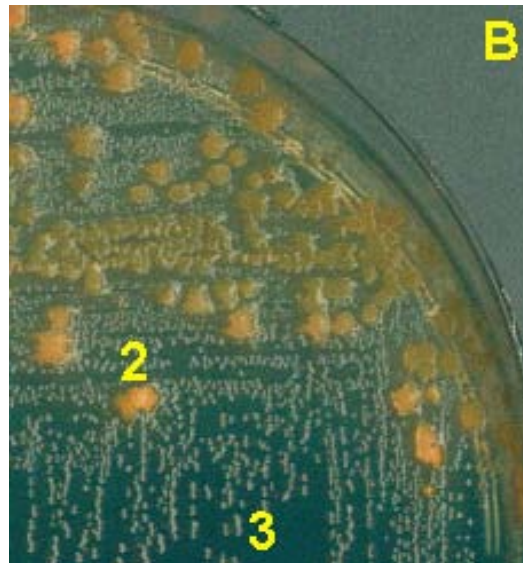
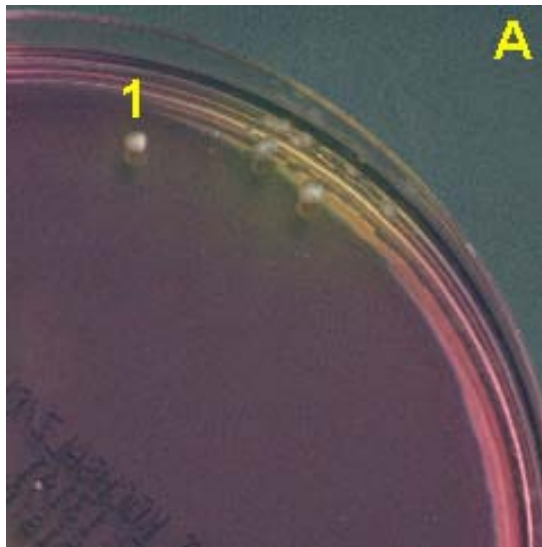


recherche aiguille
dans une botte de foin

Recherche systématique des germes suivants → milieux sélectifs:

S. aureus (Chapman =A)

Escherichia coli, *Salmonella-Shigella*, *Yersinia* (Drigalski, SS =B, C)

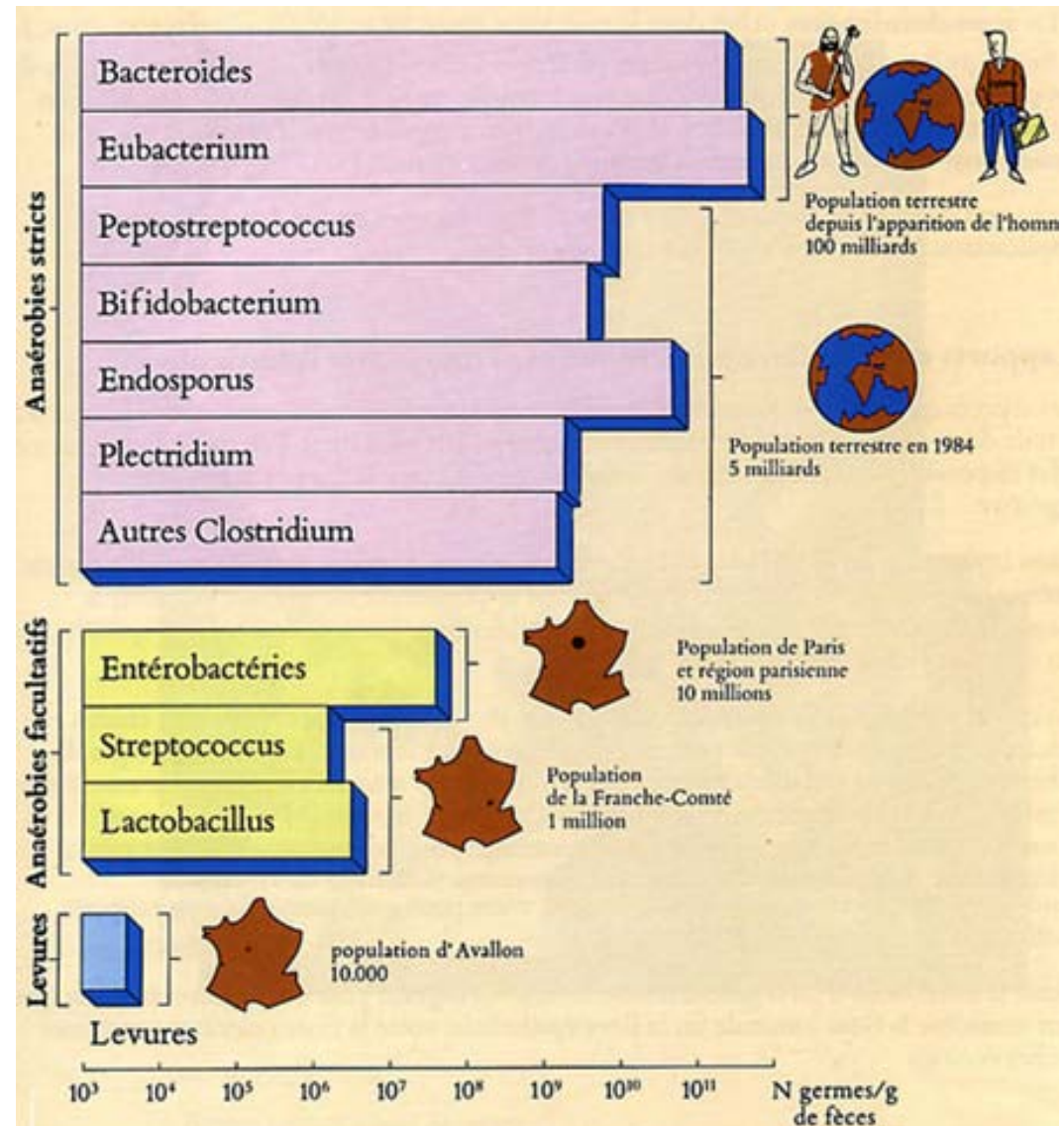


aérobiose à 37°C - 48 h

FLORE DIGESTIVE

Flore digestive

10 g selles
=
3 g bactéries

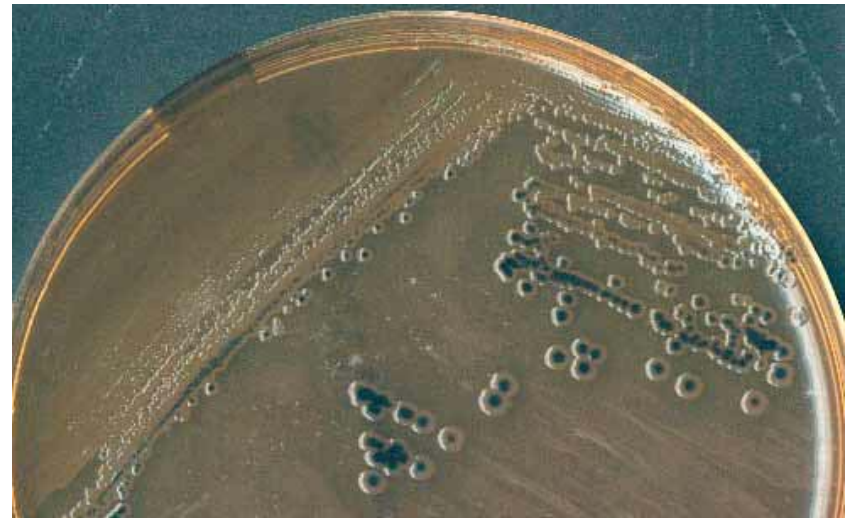
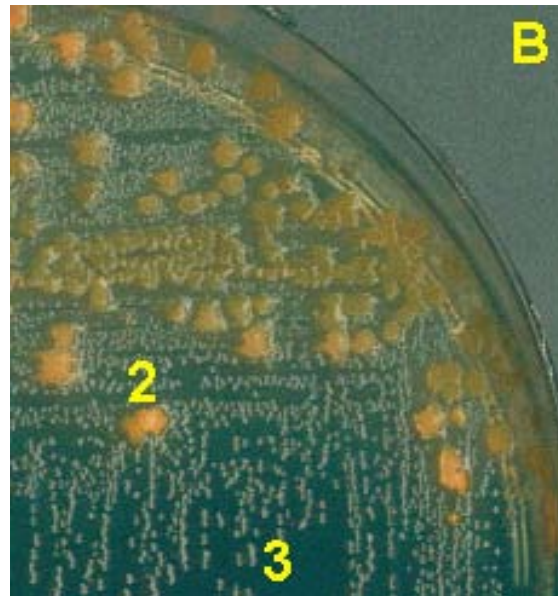


Ducluzeau et Raibaud

Coproculture standard (2)

Enrichissement: Muller-Kauffmann

Résultat final au moins 72 h



1er JOUR

→ Examen direct : état frais - Gram
→ Suspension
→ Cultures

2ème JOUR

Muller-Kauffmann

Drigalski + SS

Chapman

lactose - H₂S +/-

SS

Drigalski

Urée-Indole

(3H)

SH₂ -
Uréase +

SH₂ -
Uréase +

S.aureus

ID

ABgramme

3ème JOUR

colonies

24H 37°C

TDA +

STOP

API 10E

Salmonella ?
Shigella ?

API 20E rapid
agglutination
Antibiogramme

API 20E Rapid
(Yersinia ?)

Deuxième jour

- Repérer les **colonies H₂S⁺ ou -** (milieu SS) ou **lactose-** (milieu Drigalski).
- Ensemencer au moins 3 tubes à hémolyse par type de colonies contenant 0,2 ml de milieu urée-indole.
- Incuber 3 heures à 37°C puis examiner les tubes :
 - * les tubes Uréase + sur colonies H₂S⁻ sont remis à l'étuve, 18 heures
 - * les tubes Uréase + sur colonies H₂S⁺ seront jetés (*Proteus*)
 - * les tubes Uréase - (*Salmonella-Shigella* ?) :

ensemencer une galerie API 10E et un milieu de Kliger-Hajna.

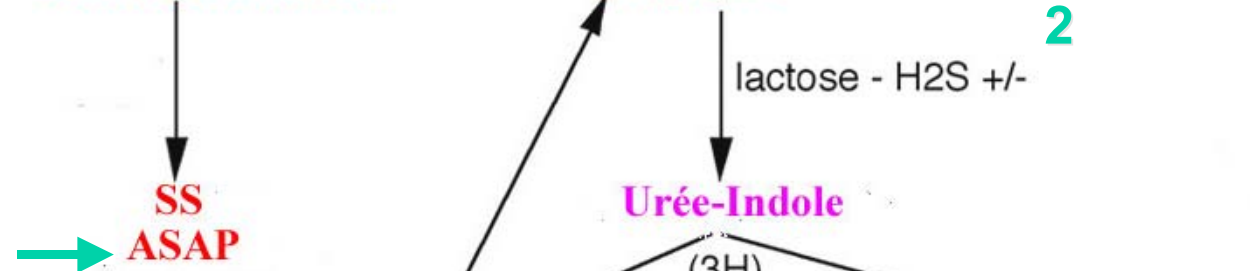
Nouvelle coproculture

- Examen direct : état frais - Gram
- Suspension
- Cultures

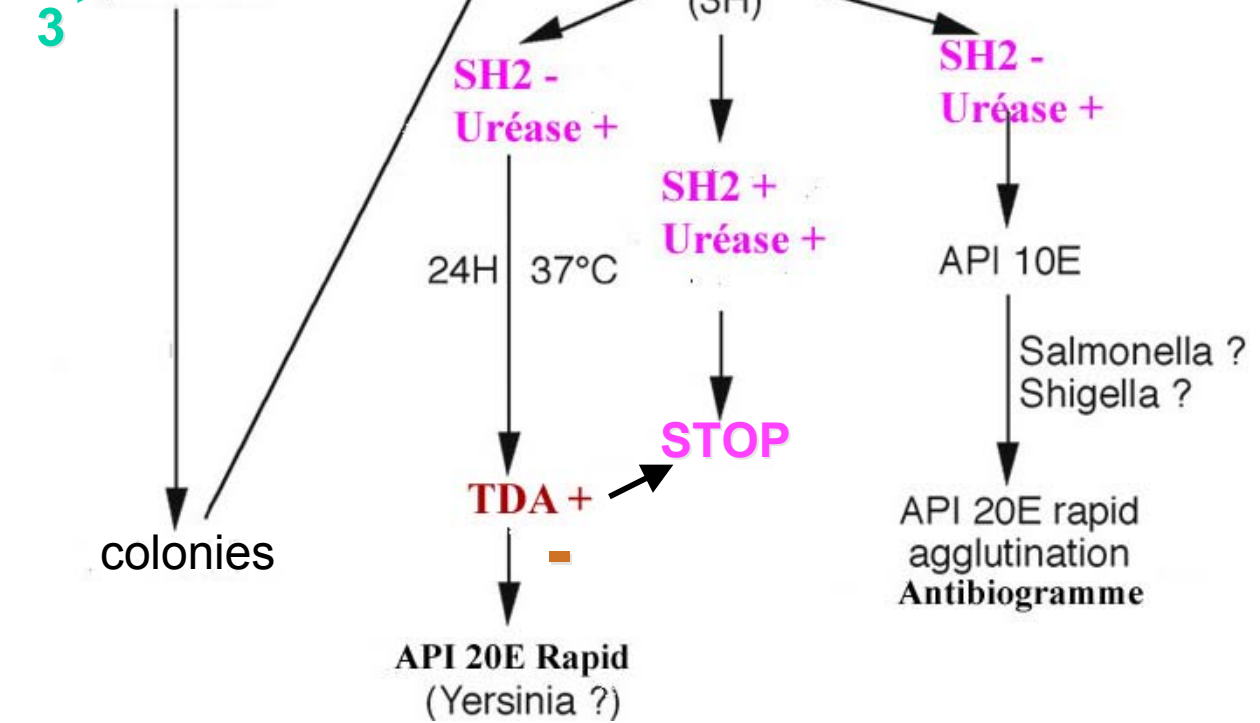
1er JOUR



2ème JOUR

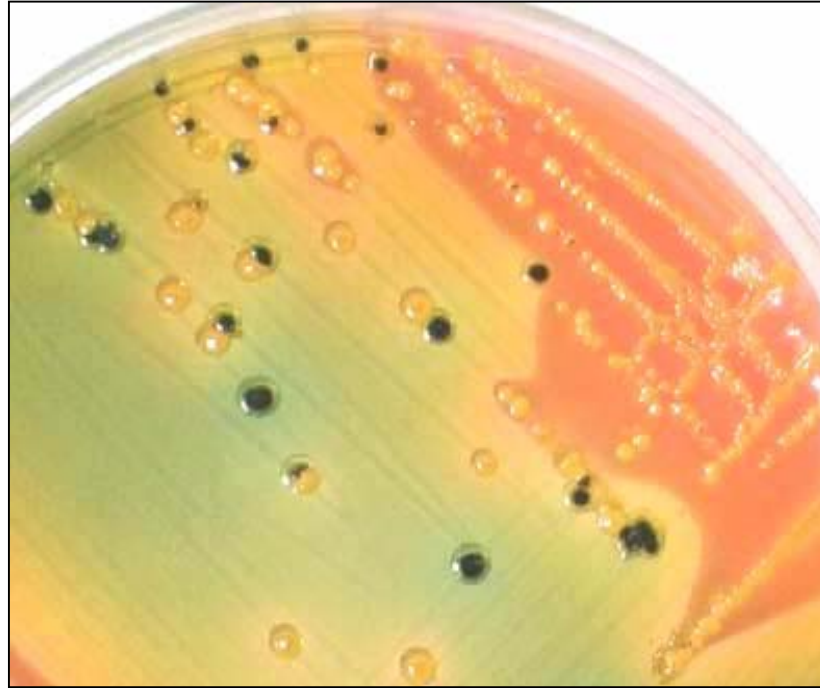


3ème JOUR

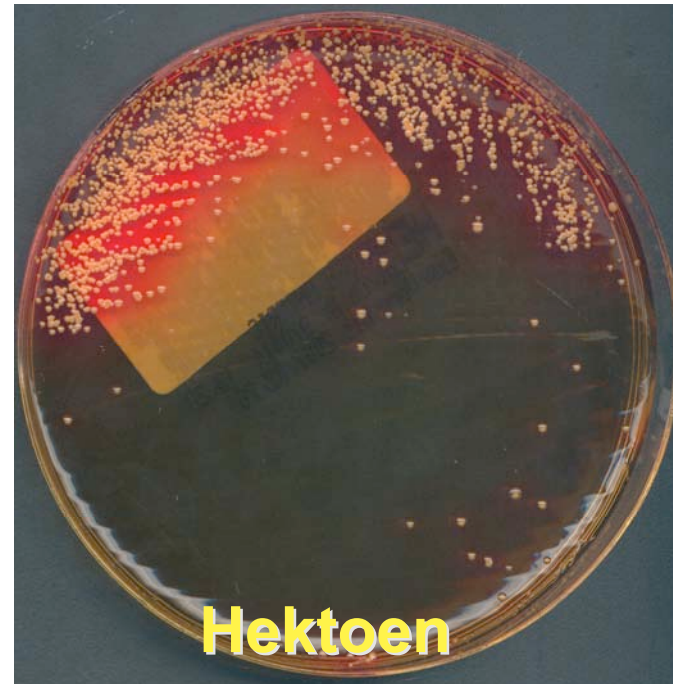


La recherche de certains germes responsables d'infections digestives **peut être grandement facilitée** par l'ensemencement sur de **milieux chromogènes** tels les milieux Hektoen, XLD, Chromagar Salmonella, ASAP.....

Hektoen : milieu sélectif par la présence de sels biliaires (effet compensé pour les *Shigella* par un taux élevé de peptone), permet l'étude de trois sucres (**lactose, saccharose et salicine**) et celle du H₂S (avec centre noir)



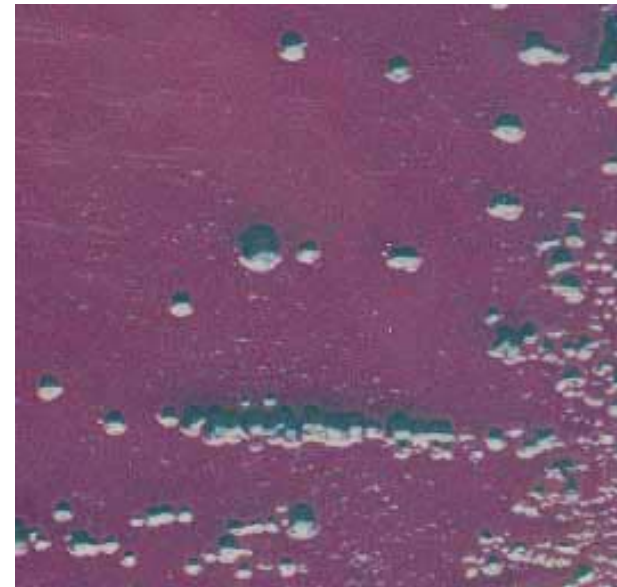
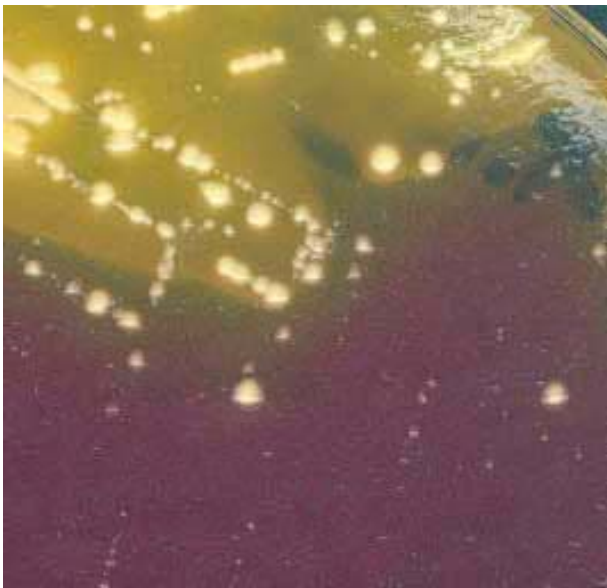
Drigalski



Hektoen

XLD pour Xylose Lysine Déoxycholate (XLD)

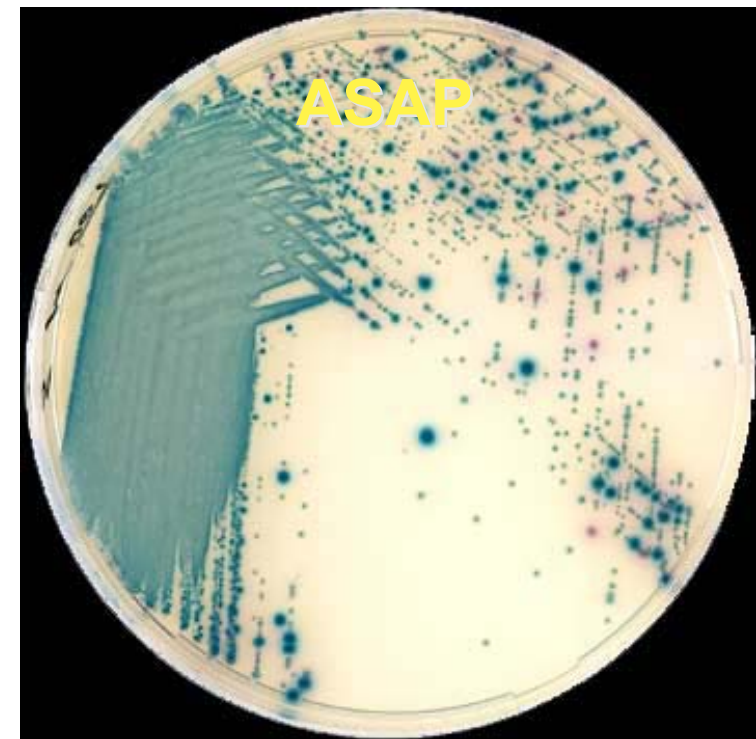
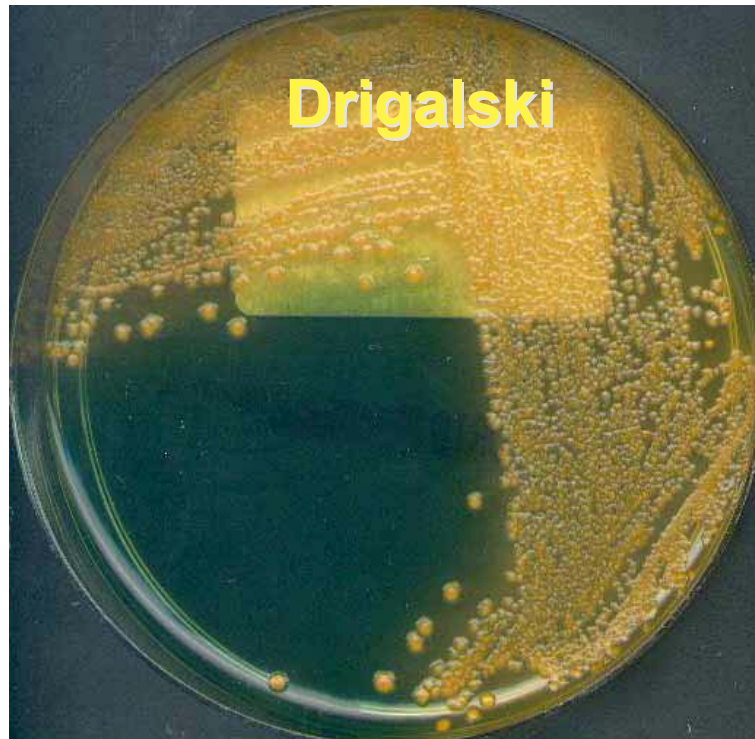
proposé par Taylor (1965) est un bon milieu sélectif, en particulier, pour l'isolement des *Shigella*. Ses colonies sont rouges comme pour les *Salmonella* qui, en outre, produisent du H₂S, révélé par la couleur noire au centre de la colonie (image du milieu, *E. coli* à gauche).



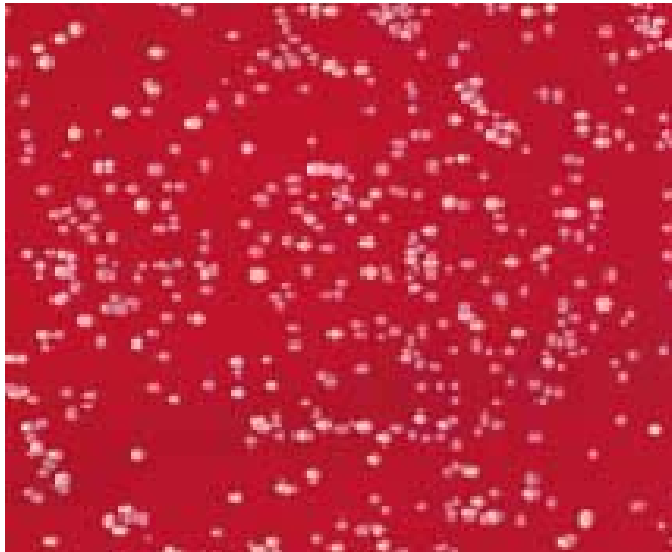
Recherche par enrichissement de *Salmonella*



24 h 37°C



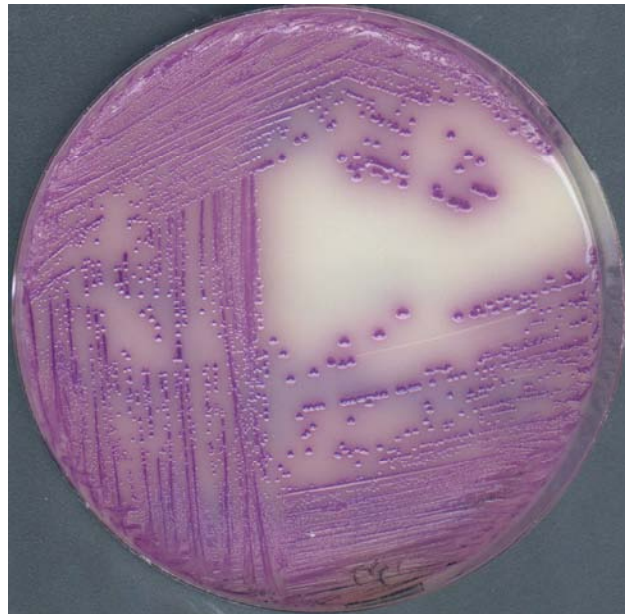
Le milieu SS est déconseillé par l'Afssaps et l'OMS pour
l'isolement de *Shigella*.



milieu chromogène ASAP.



Chromagar Salmonella (Rambach) (1990) ou encore ASAP (AES Salmonella Agar Plate permet la détection plus aisée de certaines entérobactéries telle **Salmonella (colonies rouges)** par rapport à d'autres coliformes (colonies bleues).



AVANTAGES

- ❑ **SPECIFIQUE** : le **Rambach agar** (contrairement à l'Hektoën, Vert Brillant, D.C.L., Mac Conkey, S.S., X.L.D. etc, qui confondent certains germes de *Citrobacter* et *Proteus* avec *Salmonella*) **différencie *Salmonella*** des autres colonies grâce à sa coloration **rouge-fuchsia**.
- ❑ **RAPIDE** : grâce à sa spécificité, le **Rambach agar réduit** le nombre de repiquages et **galeries** biochimiques. Incubation à 35 - 37°C. Lecture à 18 h et 24 h.

Isolement en stries

Agar	15,0
Propylène glycol	10,5
Peptone	5,0
Extrait de levure	2,0
Extrait de viande	1,0
Mélange chromogène	1,5
Désoxycholate	1,0
Chlorure de sodium	5,0
pH final 7,3 ± 0,2	