

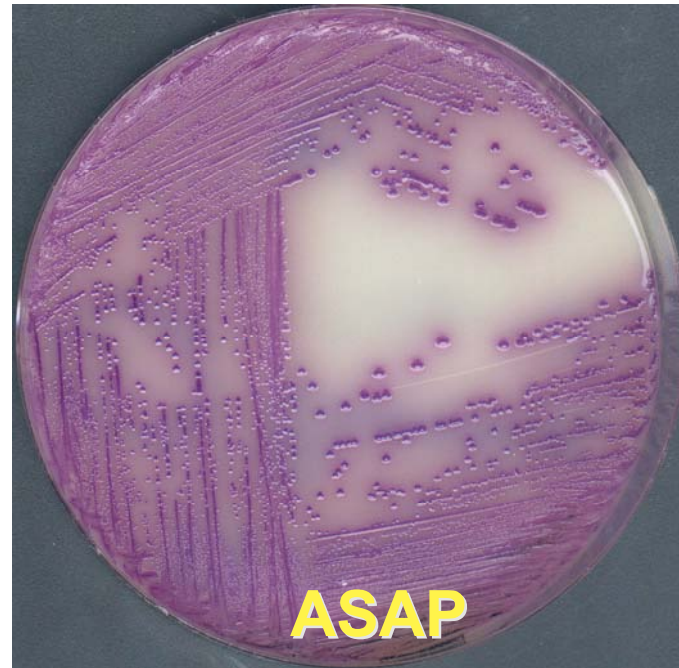
Exemple 1

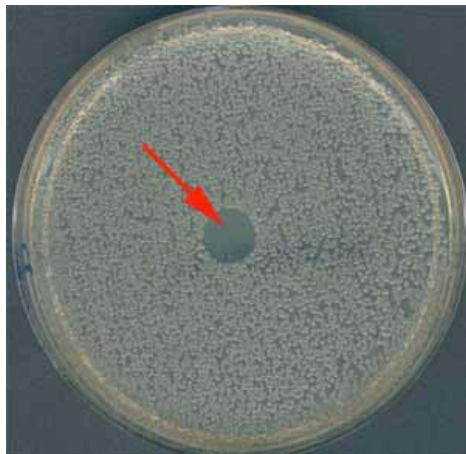
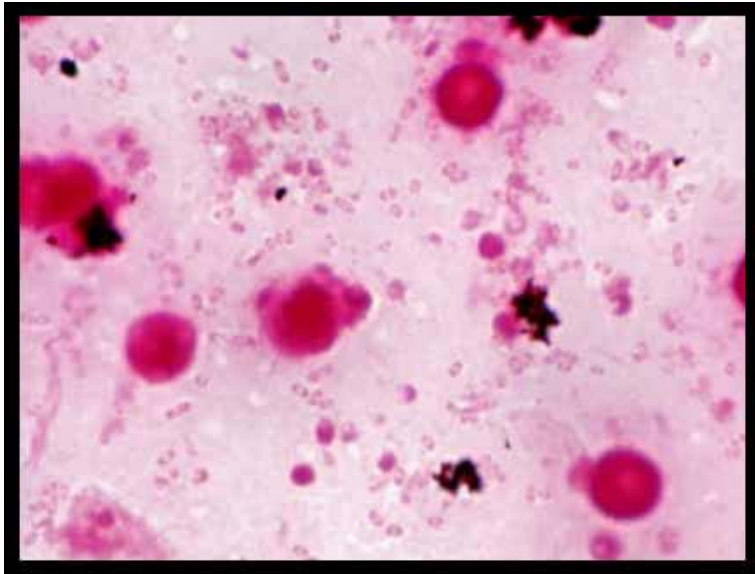




Recherche par enrichissement en milieu liquide

24 h 37°C





Nom: KANE MAMOUDOU
né(e) le 08/09/1978

Examen N° 206157746
Reçu le 30/10/06 à 14H50

S. A. U. (service porte)
Pavillon Ollier
Pr J.F. DHAINAUT

Edition du 04/11/06

Paris, le 04/11/06

RESULTATS DE BACTERIOLOGIE

NATURE: coproculture

Date du prélèvement: 30/10/06

Aspect: selles diarrhéiques

EXAMEN DIRECT:

Cytologie:

Très nombreux leucocytes
Très nombreuses hématies

Coloration de Gram:

Flore polymicrobienne	bacilles Gram positif	20	%
	cocci Gram positif	10	%
	bacilles Gram négatif	70	%

Pas de levures visibles

CULTURE:

Culture positive

Recherche de Salmonella enterica : négative

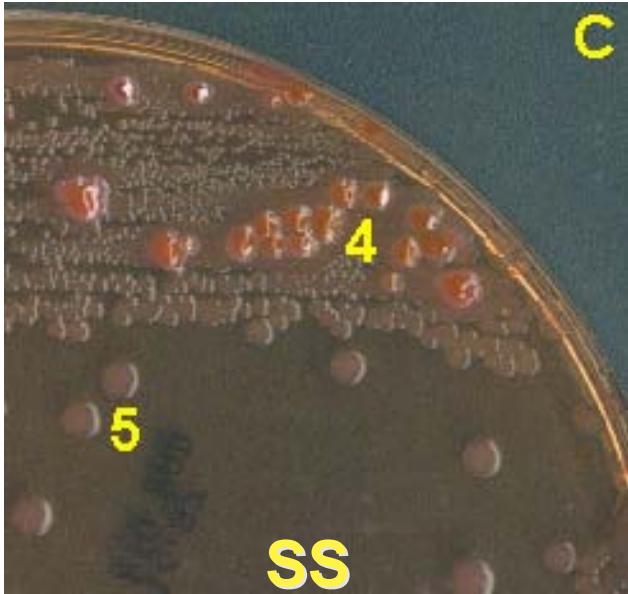
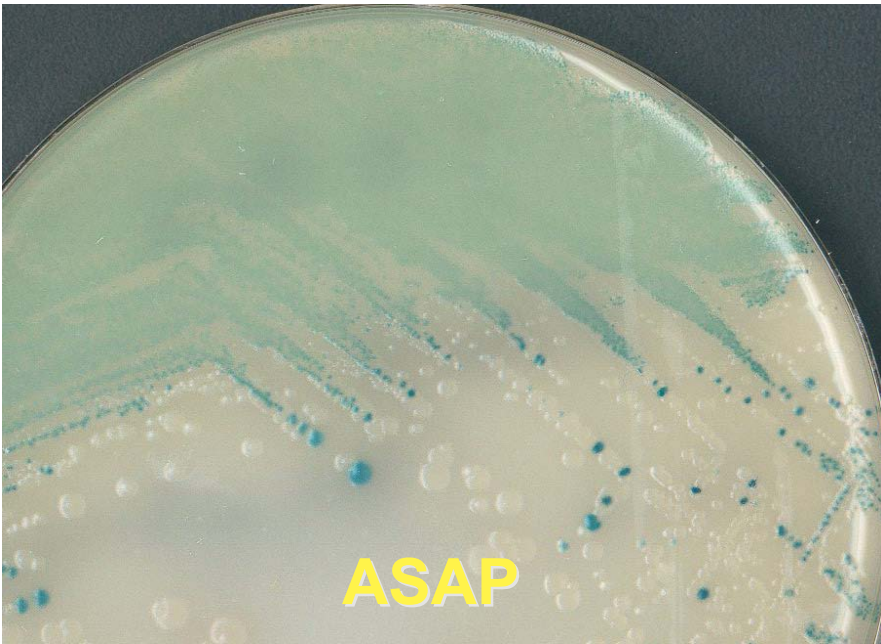
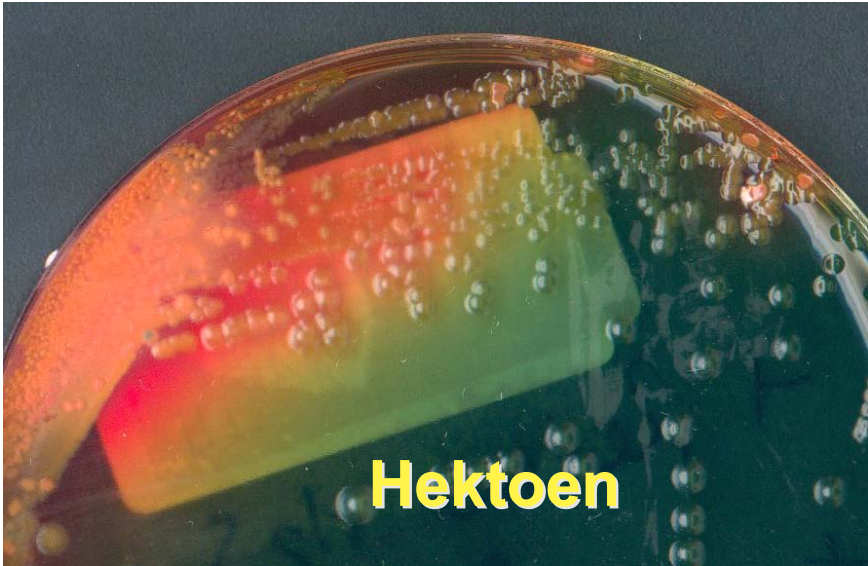
Recherche de Shigella : **positive**

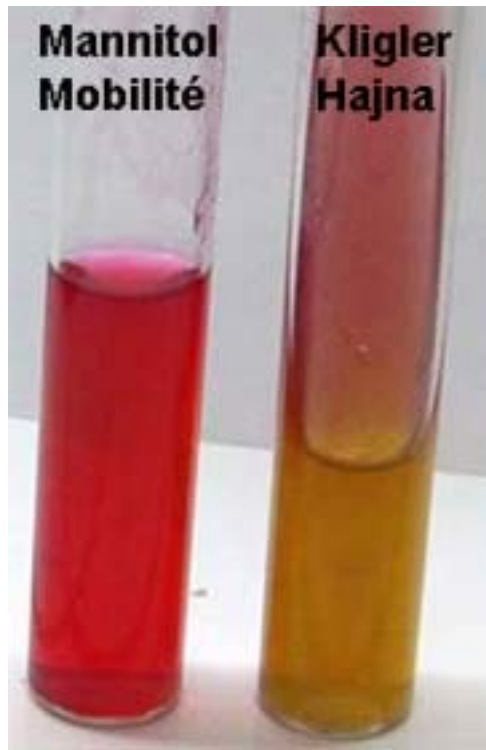
Recherche de Campylobacter : négative

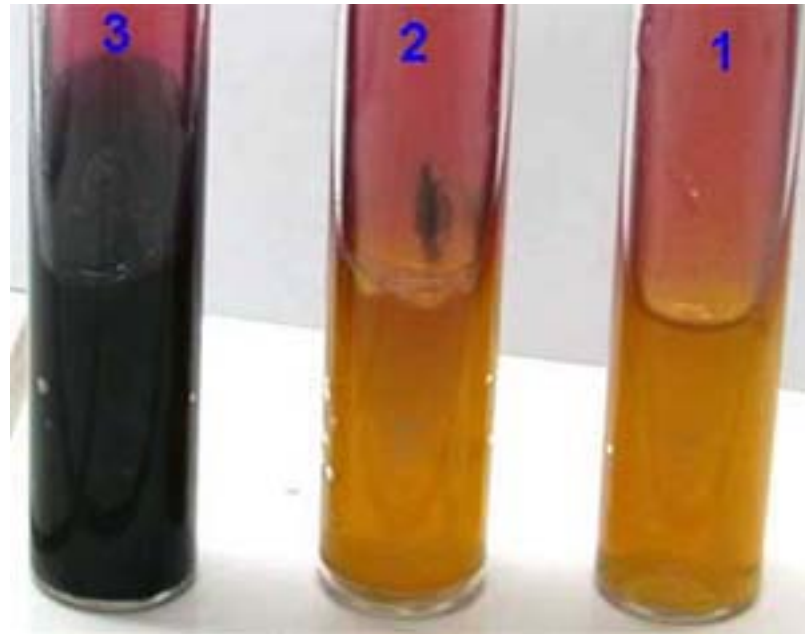
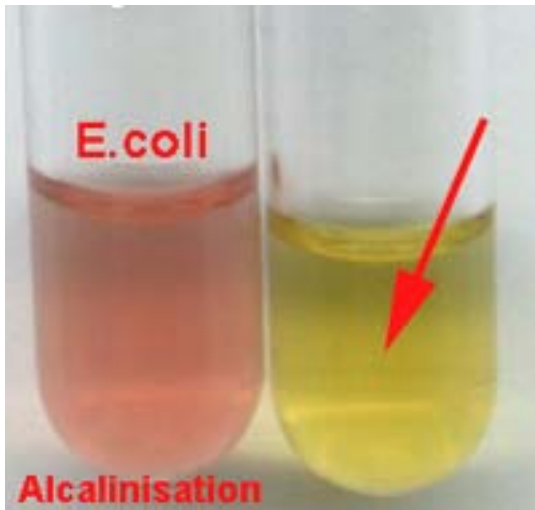
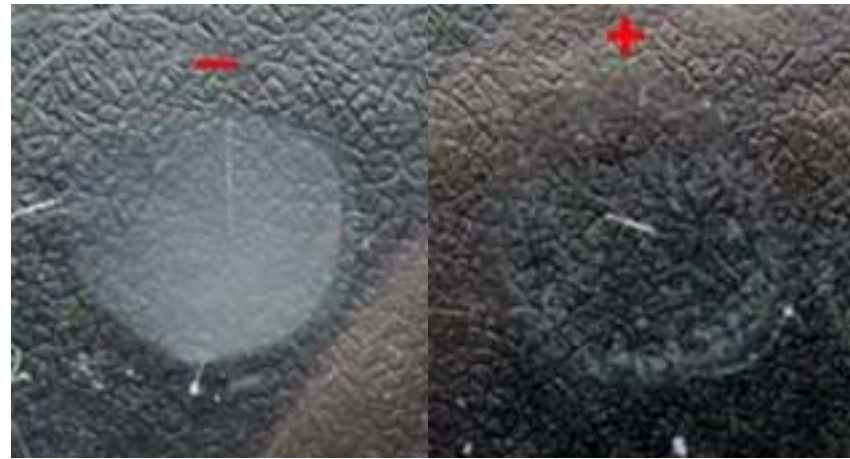
Germe 1: nombreuses colonies de bacilles Gram négatif

Exemple 2

EXAMPLE 2









Exemple 3

Selles aqueuses chez un enfant





Centre National de Référence des Campylobacters et Hélicobacters

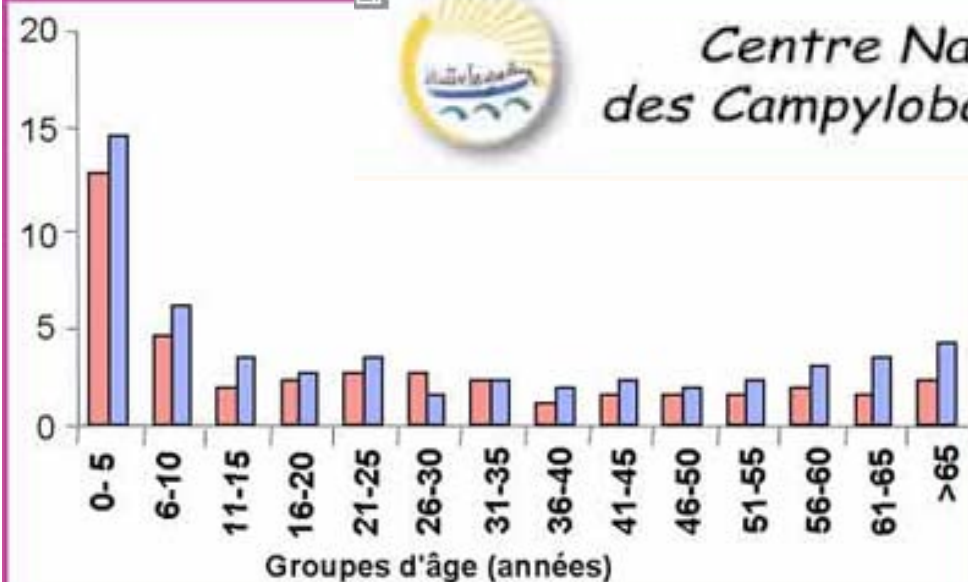


Tableau 1 Répartition des espèces de Campylobacters isolées par type de prélèvement

Espèce	Selles	Hémoculture	Autre prélèvement
<i>C. jejuni</i>	3 071	156	44
<i>C. coli</i>	808	46	19
<i>C. fetus</i>	89	289	72
<i>C. upsaliensis</i>	33	4	3
<i>C. lari</i>	20	7	3
<i>C. sputorum</i>	3	3	2
<i>C. hyointestinalis</i>	4		
<i>A. cryaerophila</i>	1		
<i>H. cinaedi</i>	2	3	1
<i>Campylobacter sp.</i>	78	26	13
<i>C. jejuni sensu lato</i>	5		2

Recherche de Campylobacter

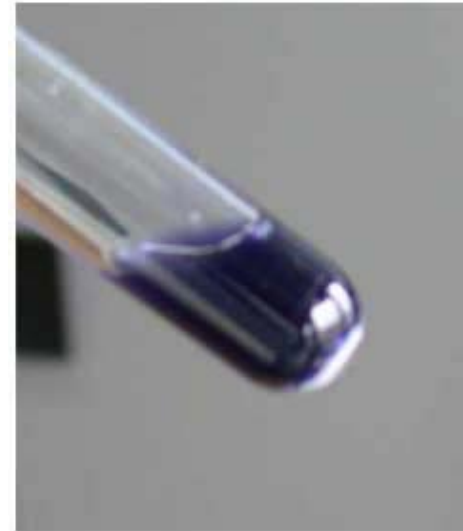
L'**ensemencement** se fait sur des **milieux contenant des antibiotiques** pour inhiber la plupart des bactéries de la flore intestinale. Le plus courant est le **milieu de Skirrow** contenant Vancomycine, Polymyxine et Triméthoprime.

L'**incubation** a lieu à **42° C** en atmosphère **microaérophile** (correspondant au mélange oxygène 5 %, gaz carbonique 10 %, azote 85 %). Cette atmosphère peut être obtenue de façon simple avec des **sachets à réhydrater extemporanément** : Anaerocult C mini, (Merck) ou en jarre anaérobie (Campypack bioMérieux, ou Gaspak anaérobie biomérieux sans catalyseur) ou autres réactifs du même type.

L'incubation doit durer **48 heures** pour obtenir des colonies visibles. Les colonies sont petites, brunâtres, elles peuvent être muqueuses ou en voile.



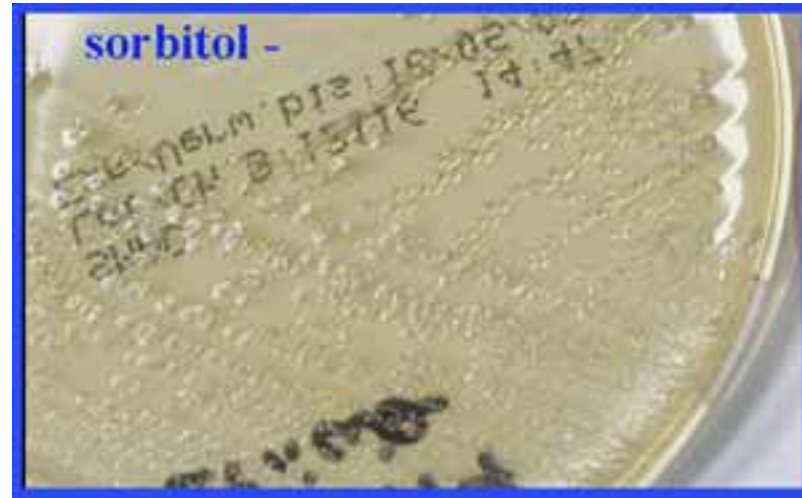
C. jejuni est un **petit bacille Gram négatif fin, spiralé**, très mobile avec des formes en S, en longues spires ou en vol de mouettes. Il est **catalase + et oxydase +**. Il hydrolyse l'hippurate et est sensible à la céfalotine et l'acide nalidixique. L'identification peut se faire par d'autres caractères biochimiques



Exemple 4

Enfant < 2 ans
Diarrhée +++





CNR des *Escherichia coli* et *Shigella*

- › [Identité et coordonnées](#)
- › [Missions spécifiques](#)
- › [Activités de service](#)
- › [Informations pratiques](#)
- › [Actualités - Rapports](#)



Escherichia coli
entérohémorragiques (EHEC)

E. coli producteurs de Shiga-
toxines (STEC)

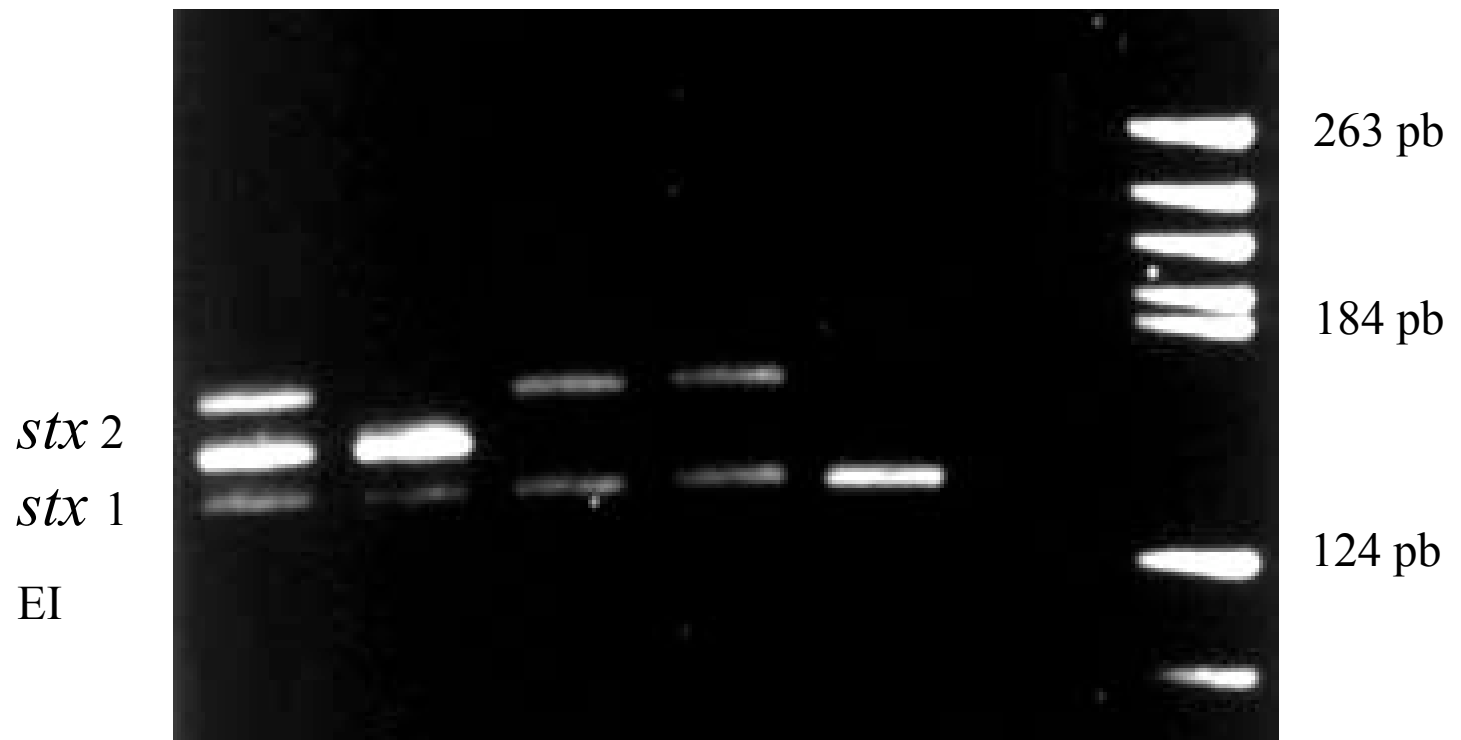
- › [Définitions](#)
- › [Historique](#)
- › [Données épidémiologiques](#)
- › [Transmission et réservoir](#)
- › [Caractéristiques des souches](#)
- › [Pathologies humaines](#)
- › [Le syndrome hémolytique urémique \(SHU\)](#)
- › [Liens utiles](#)

Nouveau test ?

Examens spécialisés: PCR (selles)

Exceptionnel et en milieu spécialisé
Recherche des gènes *stx1* et *stx2* par PCR directe

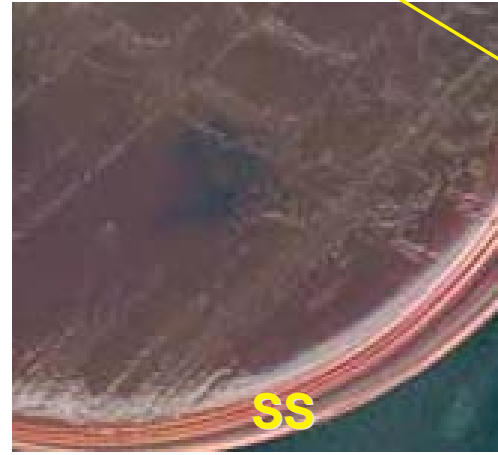
Ecouvillon : culture de 6 h en eau peptonée



Autre exemple chez l'enfant

(+ adultes dans un contexte de polyarthrite réactionnelle).

Les selles peuvent êtreensemencées sur le **milieu Hektoen** (48 heures): colonies petites < 1 mm. ou au préalable dans un **milieu d'enrichissement** (Rappaport, 24 - 48 h + 4°C) puis repiquage sur milieu spécifique tel **Wauters** (gélose SS enrichie en désoxycholate), ou **Schieman** à l'Irgasan-cefsulodine et novobiocine (CIN) incubé 48 h à 30 °C. Les colonies sont rouge sombre, d'un diamètre < 2 mm.

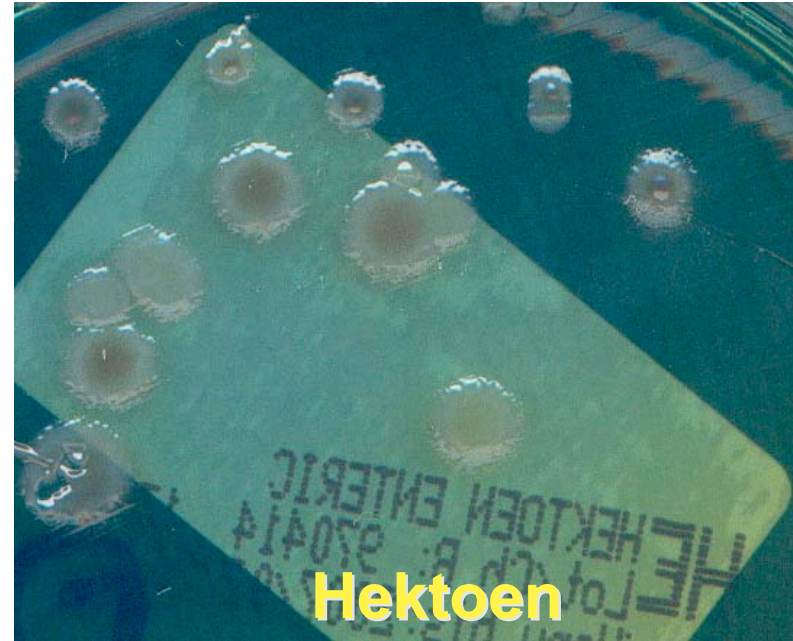
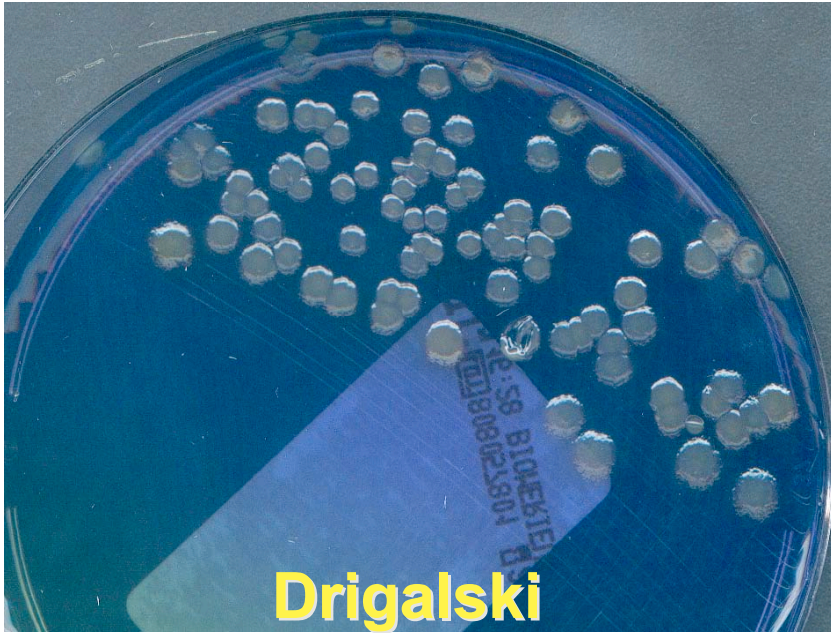


ID: API 20E



AB ?

Exemple 5



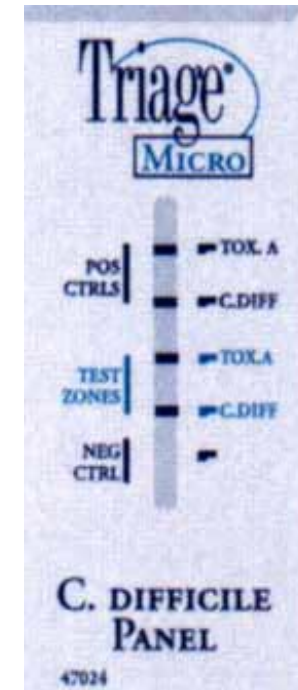
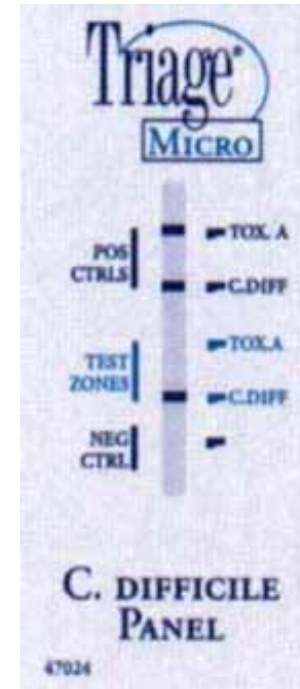
RECHERCHES PARTICULIERES

Exemple 6

Diarrhée hémorragique sous antibiotiques ou inf. nosocomiale
mais colite pseudomembraneuse

Recherche sur prescription

Détection de la toxine par
réaction immunoenzymatique



Effet cytopathogène



Technique de référence : mise en évidence de la **cytotoxine dans les filtrats (selles)**

Diagnostic de référence : détection de la toxine B par effet cytopathogène sur cultures (fibroblastes, cellules Vero, MRC-5, Mac Coy). Méthode sensible et excellente spécificité (effet cytopathogène neutralisé par un antisérum spécifique). Lecture après 24 - 48 h (Labo spécialisé)

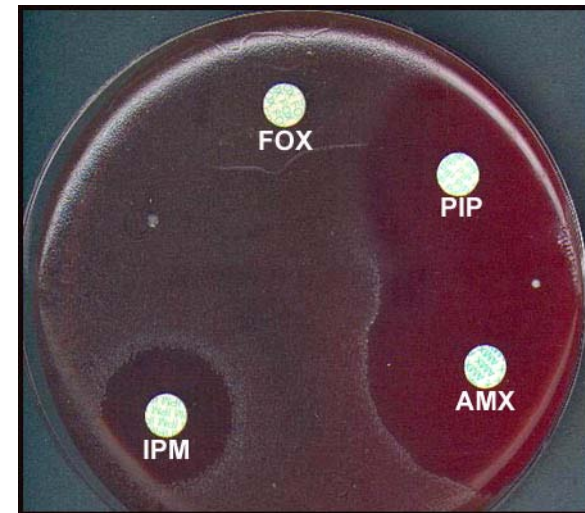
Méthodes rapides immunoenzymatiques : détection de la toxine A (Immunocard toxine A - Meridian, BMD; Tox A test - Bio Whittaker) ou toxines A et B (test cytoclone A + B - Biotech) avec délais < 3 h.

Test immunofluorométrique automatisé (Vidas C. difficile toxine A Vitek Systems - bioMérieux).

Biologie moléculaire par PCR (gène de la toxine A), ou par hybridation directe à partir des filtrats de selles pour toxine B (labo spécialisé),

La recherche directe de l'entérotoxine A par **technique ELISA** est une méthode assez sensible et très spécifique. Elle doit être détectée sur les selles fraîches ou maintenues à - 80° C.

La **recherche de la bactérie par culture** nécessite des milieux spécifiques : gélose Columbia au sang à la céfoxitine, cyclosérine, fructose incubée en anaérobiose pendant 48 heures (milieu de George CCFA).



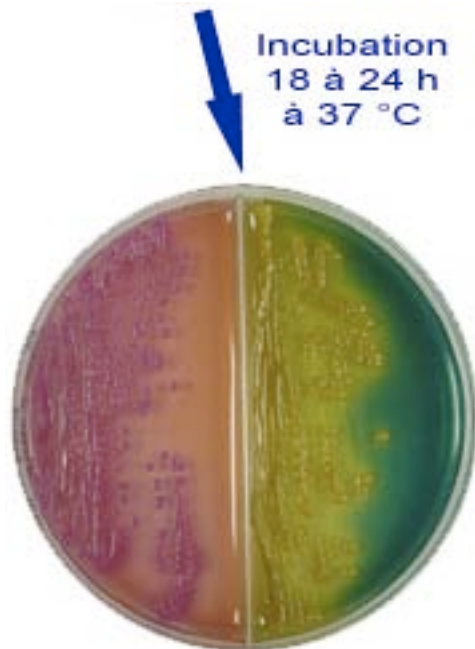
Intérêt ?

Exemple 7

Recherche de BMR



BIBOITE/BIPLATE



Biboîte : Mac Conkey + Céftazidime / Drigalski + Céftotaxime

Référence : AEB525770: 20 bi-boîtes 90 mm

Plus d'informations sur les nouveaux milieux :
aes@aeslaboratoire.com

Détection de la colonisation par bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR)

- **Les Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu** sont sélectionnées sur Drigalski contenant 0,5 ou 1 mg/L de céfotaxime (ou à partir de ce milieu sélectif). La présence d'une BLSE chez la ou les souches est affirmée par la mise en évidence d'une synergie entre l'acide clavulanique et céfotaxime/ceftazidime/céfépime/aztréonam.
- **Les Entérocoques résistant à la vancomycine** sont isolés sur gélose type bile esculine contenant **6 mg/L de vancomycine**.

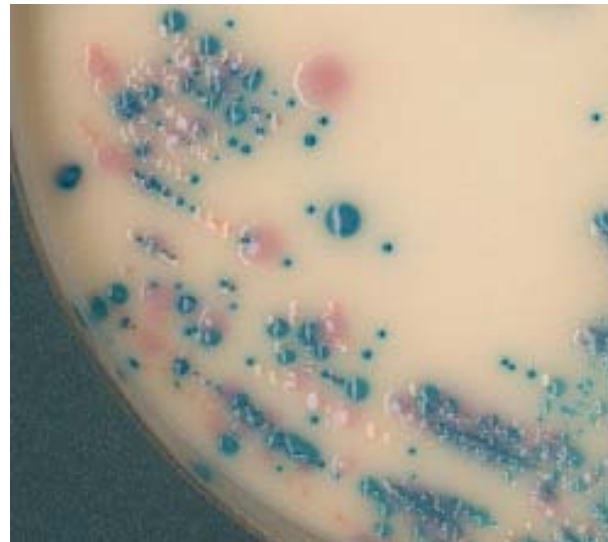
Coproculture quantitative

PRINCIPE : Etude quantitative de la **flore aérobie** après dilution et ensemencement de la selle.

PRELEVEMENT : selle recueillie dans un pot à coproculture stérile.

DILUTION : suspension de la selle (1 g/1 ml dans 9 ml d'eau physiologique stérile), agiter
Dilution obtenue 10⁻¹

MISE EN CULTURE : dilutions successives de la selle :10⁻³ 10⁻⁵ 10⁻⁹ (100 µl/9,9ml d'eau)
Ensemencer (oese 10 µ) l: **Milieu chromogène** (URI 4) et **SS**, en aérobiose à 37°C-24 h.



Diviser en 4, les boîtes à ensemencer et étaler 1 dilution par cadran

LECTURE ET INTERPRETATION cf biologiste

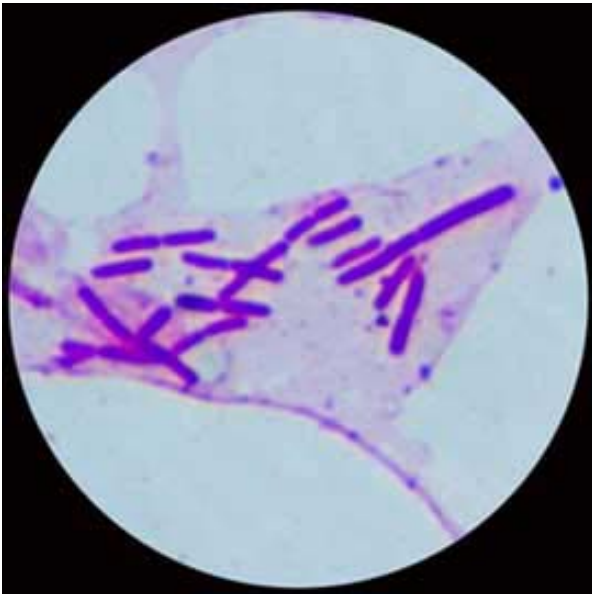
Dénombrer le nombre de colonies (N) différentes sur chaque boîte: $N = n \times 100 \times \text{dilution}$

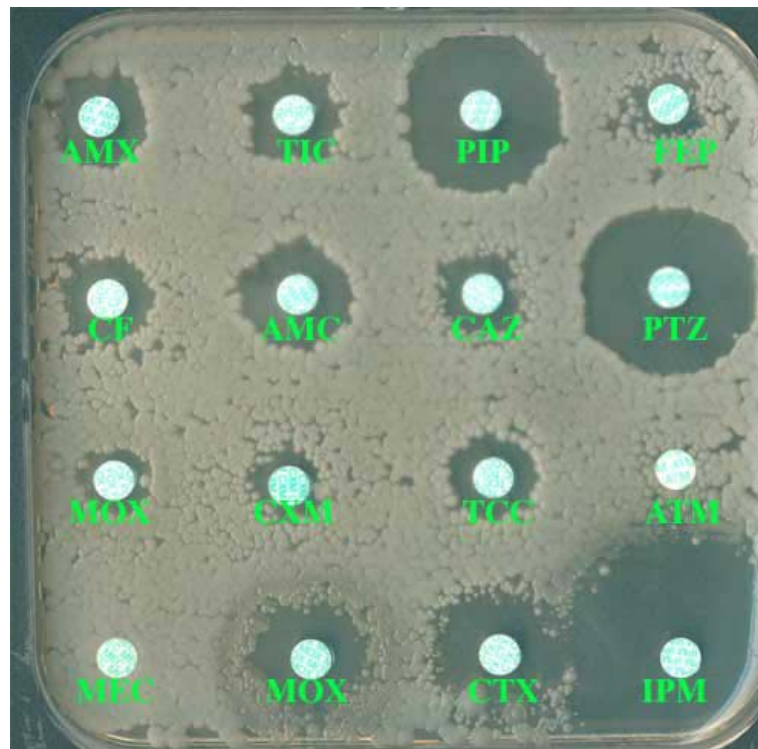
TIAC: Enquête microbiologique

- **Coprocultures supplémentaires**
 - Chez les malades retrouvés
 - Chez les contacts exposés
- **Recherche de portage chez le personnel**
 - Coproculture si Salmonella
 - Nez/gorge si *S. aureus*
- **Échantillon alimentaire (repas témoin)**
- **Enquête vétérinaire**

Exemple 9

culture aérobie







Exemple 10



- **Réservoir:** Porteur (rhino-pharyngé ou plaie infectée)
 - Toxine thermostable produite dans l'aliment (100%)
 - Produits laitiers ou non, plats manipulés, préparés la veille
- **Incubation:** **1 à 4 heures**
- **Tableau clinique :** apparition brutale
 - Vomissements, douleurs abdominales (diarrhée + rare)
 - Pas de fièvre

Diagnostic clinique et épidémiologique +++++

Diagnostic bactériologique ????

- Identification **entérotoxine** (aliments, malades, personnel) : PCR ou kitten test

Exemple 11

Clinique ++++ Recherche sur prescription

- **Incubation** 2 heures à 8 jours
- **Tableau clinique: signes neurologiques = neurointoxication**

Diplopie, troubles de l'accommodation, midriase, sécheresse muqueuse

trouble de l'accommodation et muscles intrinsèques de l'œil : midriase



Paralysie (muscles respiratoires)

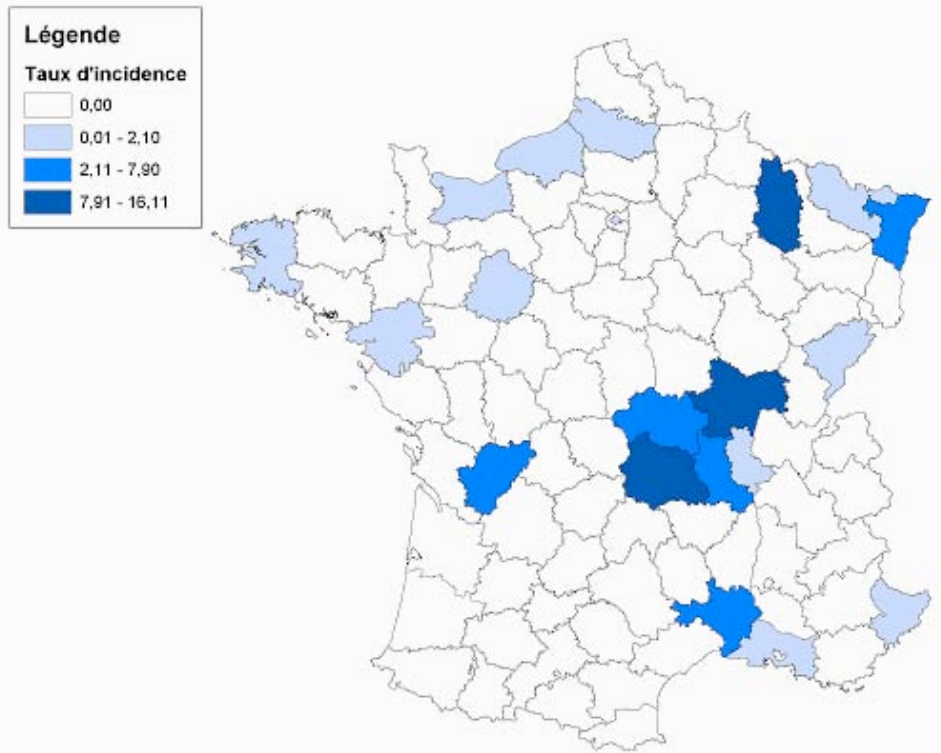
BOTULISME: Epidémiologie en France

DO, même pour 1 cas

DONC ENQUETE

20 à 30 cas/an mortalité 6% alimentaire 100% origine familiale

3 cas par foyer délai moyen de déclaration 12 jours > 85 % hôpitaux



Aliments : salaisons, charcuterie, conserves familiales, consommées dans les régions rurales du centre

Diagnostic

Diagnostic clinique: ++++++

ED: -



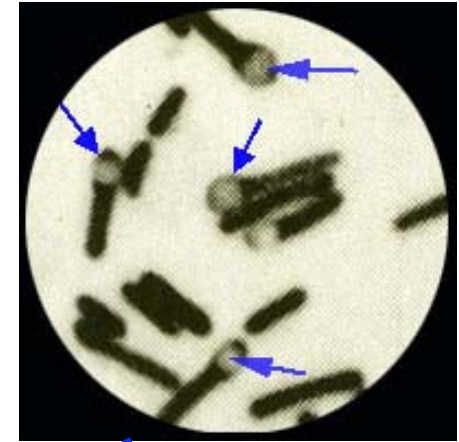
Culture: rare, surtout aliment

Recherche de la toxine préformée = intoxication

Centre spécialisé IP Pasteur

Epreuve de séroneutralisation chez la souris

Exemple 12



Germination

- **Réservoir:** tellurique,
tractus digestif (animal, homme)
 - Sporulé, thermorésistant (t°C)
 - Viandes préparées (en sauce), mixées
 - Refroidies et consommées à distance
- **Incubation** 6 à 24 heures
- **Tableau clinique**
 - Diarrhée, douleurs abdominales, nausées
 - Fièvre et vomissements rares
 - spontanément favorable en 24 H
- **Diagnostic bactériologique**
 - Numération du microorganisme dans l'**aliment** suspecté (> 10.6 g)
 - **Malade:** > 10.7 cfu

très rare ED +++

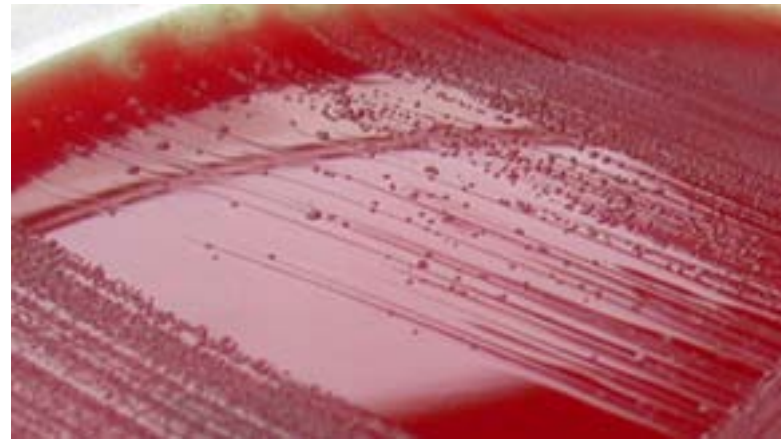
DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIQUE

ALIMENT +++++ , car TIAC



ED: Bacille à Gram positif

Culture: Anaérobie stricte
colonies hémolytiques



Caractères: catalase -, très gazogène, fermentaire

Antibiogramme:

S : pénicilline G, métronidazole; **R:** aminoglycosides

Exemple 12

Clinique ++++ Recherche sur prescription

maladie entraînant une **diarrhée avec déshydratation aiguë**.

Après une courte incubation (qq heures à 5 jours), la maladie débute par une diarrhée fécaloïde, puis **aqueuse sans fièvre**, associée à des **douleurs violentes épigastriques et abdominales** et des **vomissements en fusée**.

La diarrhée devient incoercible, avec des grains riziformes, déshydratation aiguë et hypothermie et collapsus cardio-vasculaire.



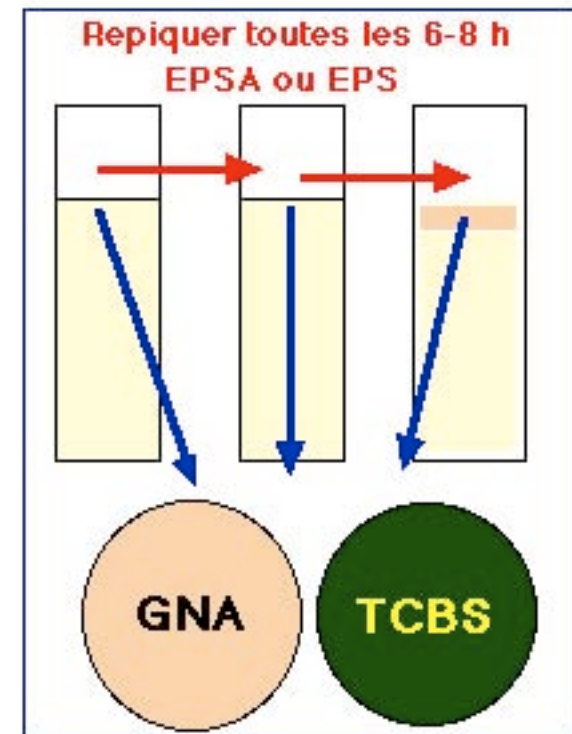
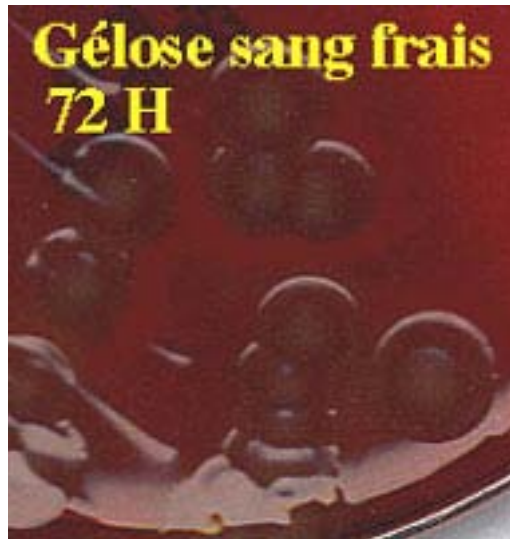
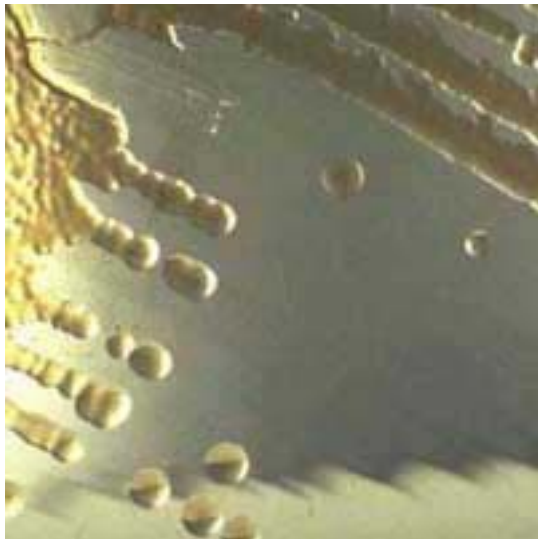
Diagnostic

Diagnostic clinique: forte suspicion

Demande : particulière ++++

ED: état frais et Gram (incurvé)

Culture: milieux liquides et solides à pH alcalin
aspect caractéristiques des colonies



agglutiner
galerie API
Envoi AU CNR

autres étiologies



Habitat : marin > 20°C

Forme sporadique après

consommation de **fruits de la mer** gastro-entérites, f. cutanées, septicémie.....

maladie sous-jacente +

Diagnostic bactériologique: découverte par hasard !
selles, plaie, sang → culture en milieu salé (halophile)

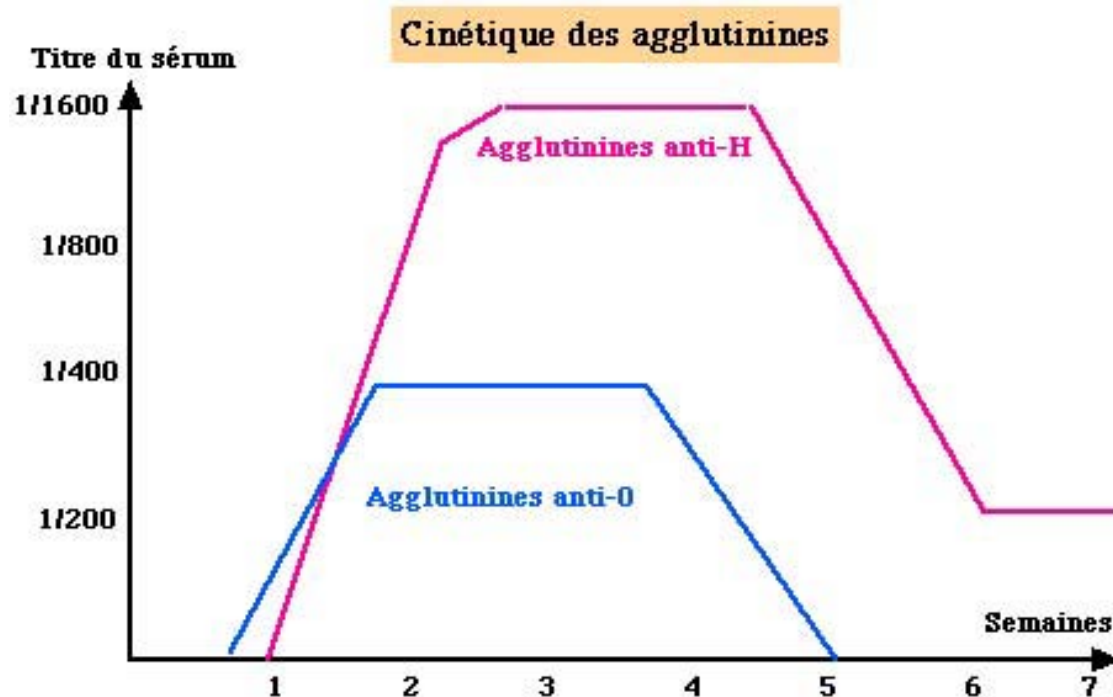
41 espèces de vibrions

11 pathogènes

V. parahaemolyticus

DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE

Recherche d'anticorps circulants
par agglutination
par immunofluorescence.....



Diarrhée aigue
Intérêt nul
Sauf
fièvre typhoïde

BILAN COCHIN
2001-2003
> 3000 copro

Aspect macroscopique :

Liquides	76,6 %
Moulées	4,7 %
Autre	18,7 %

Présence de Leucocytes

Nombreux-Très nombreux	28,1 %
Quelques-Rares	21,8 %
Absence	50,0 %

Distribution par espèce bactérienne

<i>Salmonella</i>	56,2 %
<i>Campylobacter</i>	32,9 %
<i>Shigella</i>	9,4 %
<i>Y. enterocolitica</i>	1,5%

Aspect macroscopique des selles selon l'espèce

Espèce (Nb)	Diarrhée (%)	Nbx Leucocytes (%)
<i>Salmonella</i> (36)	63,9	19,4
<i>Shigella</i> (6)	83,3	83,3
<i>Campylobacter</i> (20)	95,0	30,0
<i>Candida</i> (84)	23,8	1,2

INFORMATIONS

GOOGLE:

REMIC:

http://medecinepharmacie.univ-fcomte.fr/bacterio_web/TD_DCEM1/copro.htm

CNR: <http://www.pasteur.fr/sante/clre/chap/intro1.html>

Sites Internet : www.microbes-edu.org
www.bacterionet.org