



« B.T.S. » : INDUSTRIES  
AGRO-ALIMENTAIRES ET CHIMIQUES (I.A.A.C)

**MICROBIOLOGIE  
ALIMENTAIRE  
SYSTEMATIQUE  
BACTERIENNE 2eme PARTIE  
Les Bacilles Gram (-) et Gram (+)**

# SYSTEMATIQUE BACTERIENNE LES BACILLES GRAM NEGATIF (B.G.-)

## I/ - BACILLES GRAM NEGATIF (BG-): FAMILLE DES ENTEROBACTERIACEAE

- Tribu des Escherichiae
- \*Genre *Escherichia* / Espèce *E. Coli*    \*Genre : *Shigella* / *S. dysenteriae*
- Tribu des Levinea : Genre *Levinea*
- Tribu des Edwarsiella : Genre *Edwarsiella* / *E. tarda*
- Tribu des Salmonella :
- \*Genre *Salmonella* / Esp. 2000 serovars    \* Genre : *Citrobacter*
  
- Tribu des Kluverea : \* Genre *Kluvera* / *K. ascorbata*
- Tribu des Yersinia : \*Genre *Yersinia*
- Tribu des Klebsiellae
- \*Genre *Klebsiella* / *K. pneumonia* \**Enterobacter cloacea*                    \* *Serratia*                    \**Hafnia*
- Tribu des Proteae
- \*Genre *Proteus* / *P. mirabilis* \* *Morganella* / *M. morgani* \**Providencia* / *P. alicalifaciens*

## II/ - BACILLES GRAM NEGATIF NON ENTEROBACTERIACEAE

### II.1 - FAMILLE DES PSEUDOMONADACEAE

- II.1.1. PSEUDOMONAS
- II.1.2. ACINETOBACTER
- II.1.3. FLAVOBACTERIUM
- II.1.4. XANTHOMONAS

### II.2 - FAMILLE DES VIBRIONACEAE

- II.2.1. VIBRIO
- II.2.2. AEROMONAS
- II.2.3. PLESIOMONAS
- II.2.4. CAMPYLOBACTER
- II.2.5. BRUCELLA

## SYSTEMATIQUE DES ENTEROBACTERIES

### I/ - DEFINITION

Les Entérobactéries sont des bacilles Gram négatif (-). Elles sont immobiles ou mobile grâce à une ciliature péritriche. Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatifs. Ces bactéries sont cultivées sur milieu ordinaire ou usuel. Par définition, elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz. Les Entérobactéries réduisent les nitrates en nitrites, ne possèdent pas d'oxydase, possèdent une catalase sauf : *Shigella dysenteriae* serotype 1 qui est catalase négatif (-).

### II/ - CARACTERES MORPHOLOGIQUES

Ce sont des bacilles Gram (-), elles sont immobiles pour *Klebsiella* et *Shigella* ou, mobile péritriche pour tous les autres. Elles sont asporulées, acapsulées sauf *Klebsiella*

### III/ - CARACTERES CULTURAUX

#### III.1. - Bouillon Ordinaire : (AAF)

Les Entérobactéries étant aéro-anaérobies facultatives (AAF), elles vont se développer sur toute la hauteur des tubes.

#### III.2. - Gélose Ordinaire : L'on a cinq (5) types de colonies

**a/** - Les colonies de type « S » (smooth) sont rondes, bombées, humides a contour régulier. Elles sont lisses et brillantes.

**b/** - Les colonies « R » (rough) rugueuses, plates a bord irrégulier, sèches et de surface mate

**c/** - Les colonies de type « M » (muqueuse) dotées d'un aspect glaireux ayant tendance a la confluence (tendance à se toucher), avec un aspect à œil de poisson, observées chez les capsulées.

**d/** - Les colonies envahissantes, caractérisées par des ondes concentriques cas des *Proteus*

**e/** - Les colonies naines « N », de toutes petites tailles chez certains stéréotype de *Salmonella*

### IV/ - LES CARACTERES BIOCHIMIQUES

#### 1/ - Caractères communs

\*Réduction des nitrates en nitrites    \*Ne possèdent pas d'oxydase \*Fermentent le glucose

\*Possèdent une catalase sauf le bacille de Shiga    \*Ce sont des aéro-anaérobies facultatifs (AAF)

2/ - **Caractères différentiels** : ils sont faits selon l'espèce bactérienne.

### V/ - CARACTERES ANTIGENIQUES    Antigènes (Ag) : O, H, K, Vi

-**Antigène O** : Ag. de la paroi, antigène somatique qui constitue une endotoxine

-**Antigène H** : Ag. flagellaire pour les bactéries mobiles

-**Antigène K** : Ag. capsulaire -**Antigène Vi** : Ag. de la virulence chez *Salmonella typhi*

### VI/ - CLASSIFICATION

La famille des Entérobacteriaceae est dotée de huit (8) tribus

- **Tribu des Escherichiae** : \*Genre *Escherichia* / *E. Coli* \* *Shigella* / *S. dysenteriae*
- **Tribu des Levinea** : \*Genre *Levinea*
- **Tribu des Edwarsiella** : Genre *Edwarsiella* / *E. tarda*
- **Tribu des Salmonella** : \*Genre *Salmonella* / *Esp. 2000 serovars* \*: *Citrobacter*
- **Tribu des Kluverea** : \* Genre *Kluvera* / *K. ascorbata*
- **Tribu des Yersinia** : \*Genre *Yersinia*
- **Tribu des Klebsiellae** : \**K. pneumonia* \**Enterobacter cloacea* \* *Serratia* \**Hafnia*
- **Tribu des Proteae** : \* *Proteus mirabilis* \* *Morganella* \**Providencia alicalfaciens*

## I/ - *ESCHERICHIA COLI*

*ESCHERICHIA coli* est une entérobactérie qui fait partie de la flore du tube digestif, en effet: « coli » signifie colon. Cette bactérie est recherchée en microbiologie alimentaire car elle peut être source de contamination. *E. coli* sont les cellules les plus représentatives du monde microbien, elle représente une précision dans son rôle comme « agent diarrhéogène ».

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Historique

Elle a été isolée pour la première fois en 1885 par **ESCHERICH** dans les selles.

En 1973, **BURGES** et collaborateurs identifient *E. blattae* du tube digestif de la blatte. En 1982, **BRENNER** et coll identifient *E. hermani* et *E. vulnaris*. En 1985 c'est **FARMER** et coll. qui identifient *E. ferganoli*.

#### B/ - Epidémiologie :

**1/ - Habitat** : c'est une bactérie commensale du tube digestif de l'homme et, saprophyte dans l'eau soit donc, une bactérie ubiquitaire. La « colimétrie » est la recherche de l'espèce d'*E.coli* dans l'eau pour apprécier sa potabilité. La présence d'*E. coli* dans l'eau est en effet le témoin d'une contamination fécale rendant l'eau impropre à la consommation.

**2/ - Transmission à l'homme** : indirecte par l'intermédiaire de l'eau de boisson.

#### C/ - Rappel clinique

*E. coli* dans certains cas peut se conduire comme une bactérie opportuniste en provoquant plusieurs infections : intestinales et extra-intestinales (Ex. : Infection urinaire)

#### 1/- Les principaux « pathovars » des infections intestinales sont :

\***E. coli entéro-pathogène** (ECEP) : qui induit les diarrhées infantiles (âge < à deux (2) ans)

\***E. coli entéro-toxinogène** (ECEP) qui produit des toxines et, responsable de diarrhée du voyageur ainsi que les crampes abdominales, nausées et fièvre.

\***E. coli entéro-agrégant** (ECEAGG) qui induit des diarrhées

\***E. coli entéro-invasif** (ECEI) qui envahit le tube digestif et, le détruit.

\***E. coli entéro-hémorragique** (ECEH) qui est caractérisée par des diarrhées sanglantes, des coliques hémorragiques, des syndromes hémolytiques urémiques (SHU) et, une absence de fièvre.

PS : La maladie de Hamburger est induite par le serogroupe O :157 ; H7

#### 2/ - Au niveau des infections extra-intestinales nous avons :

\*des infections de l'arbre urinaire avec des cystites, des pyélonéphrites ...

\*des infections « parasite-intestinales » avec : les appendicites, les cholécystites, les péritonites...

\*des septicémies, méningites, infections ostéoarticulaires...

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

#### A/ - Taxonomie

**-Famille : Enterobacteriaceae      -Tribu : Escherichiae      -Genre : Escherichia**

**-Especes : coli, blattae (1987), hermanii (1982), vulnaris (1982), fergusonii (1985)**

#### B/ - Caractères morphologiques (4)

Bacilles Gram négatif (-), acapsulés (sauf souches Ag.K1), asporulés, mobilité pérित्रiche

#### C/ - Caractères cultureux

**1/ - Conditions de culture:** \* Température : 37°C                      \* pH : 7,4

La bactérie se développe à une température optimale de 37°C, à un pH de 7,4 et, avec un type respiratoire aéro-anaérobie facultatif (AAF), cultivable sur les milieux usuels et, sélectifs.

**2/ - Milieux de culture :**

**a/ - Bouillons :** \* B. ordinaire \* B nutritif au thioglycolate

**b/ - Milieux gélosés :**

**b.1/ - Milieu ordinaire :** Gélose ordinaire

**b.2./ - Milieux sélectifs :** \* EMB \* SS \* Hektoen \* BCP \* Mac Conkey \* Rapid E.coli 2

**3/ - Aspect sur milieu de culture**

-**Sur bouillon ordinaire et mil. nutritif :** l'on a un trouble sur toute la hauteur du tube

-**Sur gélose ordinaire :** l'on a des colonies de type « S » et parfois, de type « R »

-**Sur gélose « SS »,** ce milieu contient des inhibiteurs tels que les sels biliaires qui empêchent le développement des autres bactéries. Il possède également du thiosulfate de sodium, du citrate de fer sous forme ferreux et, un indicateur coloré : le rouge neutre.

Pour E. coli, l'on recherche l'apparition d'un précipité noir et, si l'on a une couleur rose (colonie H<sub>2</sub>S+/Lactose +)

-**Sur gélose « EMB » ;** E. coli donne des colonies à reflet métallique noir doré donnant, le classique aspect en dos de scarabée.

**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques****1/ - Milieux d'identification :**

**a/ - Portoir réduit de LEMINOR**

| Urée-Indole               | Kligler-Hajna          | Lysine de fer                     | Mannitol-Mobilité              | Citrate de Simmons |
|---------------------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Uréase (-)                | Glucose (+)<br>Gaz (+) | LDC (+)<br>(Lysine DeCarboxylase) | Mannitol (+)                   | Citrate (-)        |
| Indole (+)                | Lactose (+)            | LDA (-)<br>(Lysine DeAminase)     | Mobilité (+)                   |                    |
| TDA (-)<br>Tryptophane DA | H <sub>2</sub> S (-)   |                                   | Nit-R (+)<br>Nitrate Réductase |                    |

**b/ - Plaque API 20 E (Appareil et Procédé d'Identification des Entérobactéries)**

**2/ - Caractères communs aux Entérobactéries**

\* Réduction des Nitrates \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose + \* Urée-Indole ...

**3/ - Caractères antigéniques**

\*E. coli possède l'antigène O, l'antigène H et, pour certaines souches, l'antigène K.

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

**1/ - Prélèvement, transport et prise d'essai :** Chez l'homme, on peut prélever E. coli dans les selles. Dans l'environnement : c'est dans l'eau de boisson et, dans certains aliments.

**2/ - Pré-enrichissement :** Pour donner du tonus à la bactérie, on utilise l'eau peptonnée tamponnée (EPT) cependant, cette étape peut être sautée chez E. coli

**3/ - Enrichissement :** il est important chez E. coli car, elle se développerait de façon anormale

**4/ - Isolement :** il se fait sur les milieux de culture, en général sur les géloses suivantes :

\* Gélose EMB (Eosine au Bleu de Méthylène) \* Milieu PCA \* Milieu SS \* Milieu VRBG

**5/ - Identification :** elle se fait sur « 5 » colonies avec le portoir de Leminor ou, l'API 20 E  
A partir des caractères biochimiques, les discussions bactériologiques sont réalisées pour le diagnostic du genre et de l'espèce.

A partir des caractères antigéniques, le « sérotype » pourra être déterminé.

## II/ - SALMONELLA

### INTRODUCTION

**SALMONELLA** est une bactérie qui est à la fois commensale et pathogène et, qui peut être retrouvée dans l'environnement (eau, air ...) ; elle est donc « ubiquiste ». *Salmonella* donne des infections telles que la « fièvre typhoïde ».

Le genre *Salmonella* est le plus important des entérobactéries du fait de son pouvoir pathogène élevé mais également du fait du nombre élevé de serovars différents (environ 2500).

Il est responsable de salmonellose, transmissible par les aliments.

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Historique

En 1880, **Eberth** décrit le bacille; en 1884 : **Graffky** réussit la culture de *Salmonella* qui fut nommée ainsi en l'honneur du médecin américain : **Daniel Elmer SALMON**.

#### B/ - Epidémiologie :

##### 1/ - Habitat

Il existe des espèces animales de *Salmonella* toutes fois, elle est présente chez l'homme aussi bien chez les convalescents ou malades chroniques que chez des porteurs sains. C'est le cas des drépanocytaires qui peuvent héberger *Salmonella* sans faire la maladie, ce sont cependant des sources de contaminations.

Elle est également présente dans l'environnement, l'air, l'eau, les aliments tels que : les œufs, les viandes, les fruits et légumes...

**2/ - Transmission** : elle est essentiellement indirecte par l'intermédiaire des Aliments (œufs, viande de volaille et de boucherie ...)

##### 3/ - Facteurs favorisants :

\*Manque d'hygiène    \*Rupture de la chaîne de froid    \*Elevage de volaille (poulets)

**4/ - Répartition géographique** : c'est une bactérie cosmopolite qui sévit à l'état endomo-épidémique, dans les pays en voie de développement.

#### C/ - Pouvoir pathogène et rappel clinique

C'est une bactérie entéro-invasive à l'origine de la « fièvre typhoïde » et, « paratyphoïde » caractérisée par une septicémie, une hyperthermie, des diarrhées, nausées et vomissements.

Les signes apparaissent huit(8) à dix(10) heures après l'ingestion d'aliments contaminés.

Elle est également responsable de « gastro-entérites » avec quelques cas sévères de diarrhées, nausées et vomissements. Chez les drépanocytaires, l'on peut noter des ostéites

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

#### A/ - Taxonomie :

\*Règne : **Bacteria**    \*Embranchement : **Proteobacteria**    \*Ordre : **Enterobacteriales**  
 \* Famille : **Enterobacteriaceae**    \* Tribu : **Salmonellae**    \* Genre : ***Salmonella, Citrobacter***  
 \*Espèces : ***S. enterica*** mais avec plusieurs serovars ou serotypes    \*Serovars : **-typhi** (humain)  
**-paratyphi A,B,C**    **-enteritidis** (ovo-produits)    **-typhimurium** (charcuterie)    **-gallinarum** (volaille)

L'Institut Pasteur de Paris reconnaît de nos jours plus de 2500 serovars. A côté de ces serovars, il existe des biotypes, des lysotypes, des phatovars et mesotypes...

**B/ - Caractères morphologiques (4) : BG-, acapsulé, asporulé, mobilité péritriche**

C'est un bacille Gram négatif (-), asporulé, acapsulé, à mobilité péritriche (sauf *S. gallinarum* qui est immobile), coccoïde à coloration bipolaire.

**C/ - Caractères cultureux**

**1/ - Conditions de culture:** \* Température : 37°C \* pH : 7,6 \* AAF

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives (AAF), cultivables sur milieux ordinaires à température optimale de 37°C et, un pH de 7,2

**2/ - Milieux de culture :** \* Bouillon (B.) ordinaire \* Gélose (G.) ordinaire

- **M. d'enrichissement sélectifs :** \* Mueller - Kauffman \* Bouillon au sélénite de sodium (Na) \* Bouillon Rappaport Vassiliadis au vert de malachite et, au chlorure de sodium

- **Géloses sélectives :** \* EMB \* SS \* G. au vert brillant (GVB) ou, au rouge de phénol \* G. au sulfite de bismuth \* G. Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) \* G. DCLS

**3/ - Aspect sur milieu de culture**

\* Sur bouillon ordinaire et, milieu nutritif : l'on a un trouble sur toute la hauteur du tube

\* Sur gélose ordinaire : l'on a des colonies de type « S » parfois, de type « R » et des naines.

\* Sur gélose « SS » : l'on a des colonies H<sub>2</sub>S (+) et, Lactose (-)

**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques**

**1/ - Caractères de famille :** \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

**2/ - Caractères de genre :** \* Portoir réduit de LEMINOR \* Plaque API 20 E

*Salmonella* fait partie du groupe des **H<sub>2</sub>S positif (+)**

| Urée-Indole               | Kligler-Hajna            | Lysine de fer                     | Mannitol-Mobilité              | Citrate de Simmons |
|---------------------------|--------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Urease (-)                | Glucose (+)<br>Gaz (+/-) | LDC (+)<br>(Lysine DeCarboxylase) | Mannitol (+)                   | Citrate (+)        |
| Indole (-)                | Lactose (-)              | LDA (-)<br>(Lysine DeAminase)     | Mobilité (+)                   |                    |
| TDA (-)<br>Tryptophane DA | H <sub>2</sub> S (+/-)   |                                   | Nit-R (+)<br>Nitrate Réductase |                    |

NB : \*H<sub>2</sub>S (+) sauf *S. paratyphi* A et *S. choleraesuis* qui sont négatifs (H<sub>2</sub>S-)

\*Gaz (+) sauf *S. typhi* et *S. gallinarum* qui sont Gaz négatifs (Gaz -)

**3/ - Caractères antigéniques :** \* Ag O \* Ag Vi \* Ag. H

-Ag somatique : **Ag. O** (il en existe 65 chez *Salmonella*) -Ag. capsulaire : Ag.K

-Ag de virulence : **Ag. Vi** (observé chez *S. typhi*, *paratyphi* et *S. dublin*)

-Ag flagellaire : **Ag. H**, gène de structure avec la phase 1 en lettre (r,a,d) et la phase 2 en chiffre (1,2)

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

Pour *Salmonella*, on ne fait pas de dénombrement mais, toujours une recherche en suivant les principales étapes suivantes :

**1/ -** Prise d'essai **2/ -** Pré-enrichissement : \* EPT **3/ -** Enrichissement : \* Bouillon sélénite

**4/ -** Isolement : \* Géloses sélectives

**5/ -** Identification : Portoir réduit de Leminor sur 5 colonies /API 20 E **6/ -** Sérotypage

**7/ -** Autres marqueurs : \* Biotypie \* Lysotypie \* Bactériocynotypie \* Zymotypie

**CONCLUSION :**

La présence de *Salmonella* dans un aliment doit le faire considérer comme un **aliment corrompu**

## III/ - SHIGELLA

### INTRODUCTION

**SHIGELLA** est une entérobactérie responsable de la « **dysenterie bacillaire** ». C'est une bactérie strictement « humaine » adaptée à l'homme et, qui est liée à un manque d'hygiène.

C'est l'agent étiologique de la « dysenterie bacillaire ». L'homme va contaminer les aliments et, l'eau. La dose infectante est faible (100 cellules). *Shigella* demande donc une surveillance particulière du personnel des industries agro-alimentaires, des cuisiniers, des serveurs, et de tout manipulateur d'aliment.

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Historique :

- \* 1888 : Isolement par **CHATANESE** dans les selles de sujets malades.
- \* 1898 : Découverte de *Shigella* par **SHIGA**

#### B/ - Epidémiologie :

- 1/ - **Habitat** : l'homme est le seul réservoir
- 2/ - **Transmission** : elle est essentiellement oro-fécale, par contact direct ou indirect avec les mains sales, les crudités, les mouches...
- 3/ - **Facteurs favorisant** : manque d'hygiène, de latrines, d'adduction d'eau

#### C/ - Pouvoir pathogène et rappel clinique

C'est une bactérie entéro-invasive à l'origine de selles glaireuses sanguinolentes et, de fièvre. La « **dysenterie bacillaire** » typique provoquée par le « **bacille de Shiga** » est caractérisée par des symptômes tels que : plus de cinquante (50) selles par jour, une hyperthermie, des diarrhées, nausées-vomissements, une déshydratation et même un état de choc.

L'on a également la présence d'une endotoxine de nature glucido-lipido-polypeptidique et, une toxine protéique spécifiquement chez *Shigella dysenteriae 1* ou *Shiga*

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

#### A/ - Taxonomie :

- \* **Famille** : Enterobacteriaceae    \* **Tribu** : Escherichiae    \* **Genre** : Shigella
- \* **Espèce** : quatre (4) à savoir : *Shigella dysenteriae*, *S. flexnerie*, *S. boydii*, *S. sonnei*

#### B/ - Caractères morphologiques (4) :

Bacille Gram négatif (-), acapsulé, asporulé, immobile (pendulaire sur place), coccoïde à coloration bipolaire.

#### C/ - Caractères culturels

- 1/ - **Conditions de culture**: \* Température : 37°C    \* pH : 7,2    \* AAF
- 2/ - **Milieux de culture** :
  - Milieux ordinaires : \* Bouillon ordinaire \* Gélose ordinaire
  - Géloses sélectives : \* Hektoen (le meilleur) \* SS \* BCP \* Drigalky \* Mac Conkey \* EMB
- 3/ - **Aspect sur milieu de culture**
  - Bouillon : apparition d'un trouble
  - **Gélose** : colonie de « S », virulente et, colonie « R » avirulente



**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques**

- 1/ - C. de famille \* Nitrate + \* Catalase + (sauf *S. dysenteriae*) \* Oxydase - \* AAF \* Glu +  
 2/ - Caractères de genre : \* Portoir réduit de LEMINOR

| Urée-Indole               | Kligler-Hajna            | Lysine de fer                     | Mannitol-Mobilité                          | Citrate de Simmons |
|---------------------------|--------------------------|-----------------------------------|--|--------------------|
| Uréase (+)                | Glucose (+)<br>Gaz (+/-) | LDC (-)<br>(Lysine DeCarboxylase) | Mannitol (+)<br>Sauf <i>S. dysenteriae</i> | Citrate (+)        |
| Indole (-/+)              | Lactose (-)<br>ONPG (+)  | LDA (-)<br>(Lysine DeAminase)     | Mobilité (-)                               |                    |
| TDA (-)<br>Tryptophane DA | H2S (-)                  |                                   | Nit-R (+)<br>Nitrate Réductase             |                    |

PS : Autres caractères : \*ADH négatif (-) \*AMC négatif (-) \* RM positif (+)

3/ - Caractère de l'espèce : \* ODC \* Mannitol \* Indole \* Sérotype

\* ODC négatif (-) sauf *S. sonnei* \*Mannitol (+) sauf *S. dysenteriae*

4/ - Caractères antigéniques :

\* Ag somatique O : Ag. O spécifique de la paroi, divise les Shigella en quatre (4) sous groupe.

-Sous-groupe A : *S. dysenteriae* dont le sérotypage fournit dix (10) sérotypes Mannitol négatif (-)

\*Indole positif (+), quatre (4) serovars : 2-7-8-9

\*Indol négatif (-), six (6) serovars : 1-3-4-5-6-10

-Sous-groupe B : *Shigella flexneri* avec six (6) sérotypes Mannitol positif (+) et, Indole positif (+)

-Sous-groupe C : *S. boydii* avec quinze sérotypes Mannitol positif (+), Lactose (-), ONPG (+/-)

\*Indole positif (+), six (6) serovars : 5-7-9-11-13-15

\*Indole négatif (-), neuf (9) serovars : 1-2-3-4-6-8-10-12-14

-Sous-groupe D : *Shigella sonnei* avec un (1) sérotype Mannitol positif (+)

\*Colonie de type « S » : phase 1, virulente \* Colonie de type « R » : phase 2 avirulente

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

A/ - Diagnostic direct : Diagnostic de certitude de *Shigella*, il s'agit d'une recherche

1/ - Echantillonnage, transport et prise d'essai

2/ - Isolement : culture toujours sur milieu sélectif, il n'existe pas de milieu d'enrichissement

3/ - Identification : - Examen direct: \* Etat Frais \* Gram\*Examens biochimiques

\* Caractères morphologiques \* C. culturels \* C. biochimiques \* antibiogramme

4/ - Confirmation sérologique : sérotypage déterminé avec les caractères antigéniques

5/ -Identification différentielle

\**Alcaligene faecalis* → Oxydase +/- Glucose -

\**Alcaligene dispar* → LDC + / Citrate +

\**Proteus, Providencia* → Immobile / TDA +

\**Hafniae* : mobile a25C → LDC +

B/ - Diagnostic indirect : Recherche d'anticorps « anti-Shigella »

**CONCLUSION :**

Compte tenu du fait que la « shigellose » soit une maladie de l'hygiène, les mesures à prendre sont celles de l'hygiène telles que : le lavage des mains et, l'approvisionnement en eau

## IV/ - CITROBACTER FREUNDII (H<sub>2</sub>S+)

### INTRODUCTION

*CITROBACTER freundii* est une entérobactérie H<sub>2</sub>S positif (+), qui est retrouvée au niveau du tube digestif mais, il pose un problème de diagnostic différentiel avec *SALMONELLA*

### I/ - GENERALITES

1/ - **Habitat:** *Citrobacter* une bactérie ubiquiste, saprophyte de l'environnement. Elle est présente dans les eaux, le sol, les aliments et, également commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. Elle est toutefois une bactérie pathogène opportuniste.

2/ - **Transmission :** - Directe par manu-portage - Indirecte : par les aliments contaminés

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

#### A/ - Taxonomie :

- \* Famille : Enterobacteriaceae      \* Tribu : Salmonellae      \* Genre : *Citrobacter*
- \* Espèce : - *C. Freundii* / - *C. amalomatica* (anciennement appelée *Levinea amolomatica*)
- *C. koseri* (auparavant appelée *C. diversus*, de nos jours encore appelée *C. amalomatica*)

#### B/ - Caractères morphologiques (4) :

Bacille Gram négatif (-), acapsulé, asporulé, mobilité péritriche

#### C/ - Caractères cultureux

1/ - **Conditions de culture:** \* Température : 37°C    \* pH : 7,4    \* AAF

2/ - **Milieux de culture :** \* B. ordinaire au thiogluconate \* G. ordinaire

- **Milieux d'isolement sélectif :** \* Hektoen \* SS \* EMB \* Mac Conkey \* Drigalsky

3/ - **Aspect sur milieu de culture :**

\*Odeur particulièrement nauséabonde

\*Sur gélose ordinaire : présence de colonie de type « S » et de type « R »

\*Sur milieu « SS » et « Hektoen » : l'on a la production d'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S)

#### D/ - Caractères biochimiques et antigéniques

1/ - **Milieux d'identification :** \* Portoir réduit de LEMINOR \* Galerie API 20 E

2/ - **Caractères de famille :** \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

3/ - **Diagnostic de genre et d'espèce (8 caractères) :**

| Urée-Indole               | Kligler-Hajna            | Lysine de fer                        | Mannitol-Mobilité              | Citrate de Simmons |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Uréase (-)                | Glucose (+)<br>Gaz (+/-) | LDC (-)<br>(Lysine DeCarboxylase)    | Mannitol (+)                   | Citrate (+)        |
| Indole (-)                | Lactose (+)<br>ONPG (+)  | LDA (-)<br>(Lysine DeAminase)        | Mobilité (+)                   |                    |
| TDA (-)<br>Tryptophane DA | H <sub>2</sub> S (+/-)   | ADH (-) (Arginine<br>Deshydrogenase) | Nit-R (+)<br>Nitrate Réductase |                    |

-NB : Gélatine négatif (-)      \*KCN négatif (-)

\* *Citrobacter freundii*: groupe des H<sub>2</sub>S+      \* *Salmonella* \* *Proteus* \* *Edwardsiella tarda*

4/ - **Caractères antigéniques :** \* Ag O et, Ag H

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE (Cf : Diagnostic des Entérobactéries)**

**1/ - Prélèvements et prise d'essai de 25 g :** \* Selles \* Aliments (plats cuisinés) \* Eaux usées

**2/ - Pré-enrichissement :** \* EPT

**3/ - Enrichissement :** pas de milieu sélectif pour *Citrobacter* mais, il en existe pour *Salmonella*

**4/ - Isolement :** \* Géloses sélectives pour entérobactéries : \* SS \* Hektoen \* EMB

**5/ - Identification :** elle repose sur les caractères morphologiques, culturels et surtout « biochimiques ».

Pour *Citrobacter*, l'identification se fait essentiellement sur les caractères biochimiques.

**\*\*\* Différences entre *Salmonella* et *Citrobacter* :**

\* Utilisation du Lactose : *Salmonella* : Lactose (-) / *Citrobacter* Lactose (+)

\* Pas de milieu d'enrichissement sélectif pour *Citrobacter*

\* Identification sur les caractères biochimiques uniquement

## V/ - EDWARDSIELLA

*EDWARDSIELLA* est une entérobactérie H<sub>2</sub>S +, qui est retrouvée chez les « poissons »

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Epidémiologie :

- 1/ - **Habitat** : on a trois (3) espèces : \* *Ewardsiella tarda* \* *E. hoshinae* \* *E. ictaluri*
- 2/ - **Transmission** : Indirecte par l'intermédiaire des aliments souillés (eau, poissons, reptiles)
- 3/ - **Répartition géographique** : surtout *E. tarda* est retrouvée en région tropicale et subtropicale
- 4/ - **Pouvoir pathogène** : elles sont à l'origine de « fièvre » et, de « diarrhées »

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

#### A/ - Taxonomie :

- \* **Famille** : Enterobacteriaceae    \* **Tribu** : Edwardsiella    \* **Genre** : *Edwardsiella*  
 \* **Espèces** : *tarda*, *hoshinae*, *ictaluri* ; l'espèce *E. tarda* est la plus fréquemment rencontrée

#### B/ - Caractères morphologiques (4) :

Bacille Gram négatif (-), acapsulé, asporulé, mobilité péritriche

#### C/ - Caractères culturels

- 1/ - **Conditions de culture** : \* Température : 37°C    \* pH : 7,4    \* AAF  
 Elle se développe sur les milieux usuels, *E. ictaluri* se développe entre 20 à 30°C
- 2/ - **Milieux de culture** : - B. ordinaire au thiogluconate    - G. ordinaire  
 - Géloses sélectives : \* SS \* EMB \* Mac Conkey \* BCP \* Hektoen \* Drigalsky
- 3/ - **Aspect sur milieu de culture** :  
 \* Sur bouillon au thiogluconate : trouble sur toute la hauteur du tube  
 \* Sur milieu « SS » : colonies Lactose (-), H<sub>2</sub>S (+)    \* Sur gélose ordinaire : colonie type « S »

#### D/ - Caractères biochimiques et antigéniques

- 1/ - **Milieux d'identification** : \* Portoir réduit de LEMINOR    \* Galerie API 20 E
- 2/ - **Caractères de famille** \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +
- 3/ - **Caractères de genre et de l'espèce (4)** : Indole, H<sub>2</sub>S, Mannitol, Habitat ... :  
 \* *E hoshinae*                      \* *E ictaluri*                      \* *Edwardsiella tarda*

| Urée-Indole            | Kligler-Hajna                  | Lysine de fer                        | Mannitol-Mobilité                           | Citrate de Simmons |
|------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|---|--------------------|
| Uréase (-)             | Glucose (+)<br>Gaz (+)         | LDC (+)<br>(Lysine DeCarboxylase)    | Mannitol (+)<br><b>Sauf <i>E. tarda</i></b> | Citrate (-)        |
| <b>Indole</b> (+)      | Lactose (-)<br><b>ONPG (-)</b> | LDA (-)<br>(Lysine DeAminase)        | <b>Mobilité (+)</b>                         |                    |
| ADH (-)<br>Arginine DA | <b>H<sub>2</sub>S (+)</b>      | ODC (+) (Ornithine<br>DeCarboxylase) | Nit-R (+)<br>Nitrate Réductase              | RM (+)             |

-NB : \* Saccharose positif (+) sauf *E. tarda* \* Gélatine (-) \* VP (+)

4/ - **Caractères antigéniques** : \* Ag O (somatique) et, Ag H (flagellaire)

### III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE : (Cf : diagnostic des Enterobacteries)

- 1/ - Prélèvements et prise d'essai
- 2/ - Pré-enrichissement : \* EPT                                      3/ - Enrichissement
- 4/ - Isolement : - G. sélectives pour entérobactérie : \* SS \* Hektoen \* EMB
- 5/ - Identification : repose sur les caractères morphologiques, culturels et surtout les caractères « biochimiques » : \* **H<sub>2</sub>S+** : *Salmonella*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*  
 \* **Indole +** : *E. coli*    \* **TDA +** : *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*  
*Edwardsiella* fait partie à la fois du groupe des H<sub>2</sub>S+ et, du groupe des Indole +

## VI/ - KLEBSIELLA

**KLEBSIELLA** est une bactérie ubiquitaire pouvant être à l'origine, d'infections diverses chez l'homme; c'est une bactérie immobile et capsulée. Elle appartient au groupe « **KES** » (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*). C'est un groupe pathogène opportuniste doté du test de Voges Proskauer positif (VP+) et, producteur de « béta-lactamases » soit donc :multi-résistant. Il fut décrit par **EDWIN Klebs** en 1880 et, **TREVISION** en 1885 lui donna le nom de *Klebsiella*

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Epidémiologie :

**1/ - Habitat** : bactérie ubiquitaire, commensale du tube digestif de l'homme et des animaux, bactérie saprophyte de l'environnement. Elle est trouvée dans les eaux de surface et, eaux usées, les effluents industriels, les sols, sur les végétaux et, les aliments.

Chez l'homme, elle est retrouvée dans la flore fécale, sur la peau, dans les muqueuses, les voies respiratoires supérieures...

**2/ - Transmission** : - Directe par l'intermédiaire des mains, en milieu hospitalier  
- Indirecte qui se fait par la consommation d'aliments souillés, le matériel et l'aérosol.

**3 / - Répartition géographique** : bactérie cosmopolite

#### B/ - Rappels cliniques

Elle est à l'origine « **d'infections sanguines (septicémies) et, urinaires** » mais, elle est non entéro-pathogène. Elle fait partie des « **coliformes** » qui sont entériques. Elle est utilisée pour évaluer la qualité sanitaire d'un aliment, ce sont des « indicateurs de bonnes pratiques hygiéniques ».

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

A/ - Taxonomie : \* **Famille** : Enterobactériaceae \* **Tribu** : Klebsiellea

\* **Genres** : *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Hafnia*

\* **Espèces** : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozenae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. terrigena* ....

**B/ - Caractères morphologiques** (4) : Bacilles Gram (-), courts et trapus à coloration bipolaire avec un aspect en navette ; **toujours immobiles**, pouvant être capsulés mais, asporulés.

#### C/ - Caractères cultureux

**1/ - Conditions de culture**: idem que toutes les entérobactéries : \* T° 37°C \* pH : 7,4 \* AAF

**2/ - Milieux de culture** : idem que toutes les entérobactéries \* EMB \* Mac Conkey \* Hektoen

**3/ - Aspect sur milieu de culture** : \* Sur toutes les géloses : grosses colonies de 3 à 4 mm  
\* Sur EMB : colonies de type « M » muqueuses et capsulées avec, un aspect en œil de poisson  
\* Sur bouillon ; trouble sur toute la hauteur du tube avec des ondes noires, collerette visqueuse puis, dépôt muqueux au fond du tube après 48 heures.

#### D/ - Caractères biochimiques et antigéniques

**1/ - Caractères de famille** : idem \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

**2/ - Caractères de genre** +++: \* *Klebsiella* \* *Enterobacter* \* *Serratia*

\* Mobilité \* Uréase \* DNase \* Milieu de Fajkow (ADH, ODC, LDC)

\* Sensibilité à la Colistine \* Pigment rouge

**3/ - Caractères de l'espèce** +++: \* VP+ \* Uréase + \* Indole+ \*LDC+ \* Citrate + \*ONPG+

- *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* - *K. ozenae*

**4/ - Caractères antigéniques** : \* Ag. O → n=19 \* Ag. H → n=7 \*Ag. K présent

### III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

**1/ - Echantillonnage, prélèvements et prise d'essai** : selles, eau, aliments ...

**2/ - Isolement** sur géloses sélectives : \* EMB \* Mac-Conkey ou Drigalsky \* Désoxycholate \* VRBL

**3/ - Identification** : caractères morphologiques, biochimiques et cultureux (colonie type M)

\*Portoir de Leminor \*Discussion bactériologique \*Identification du genre et de l'espèce

## VII/ - ENTEROBACTER « VP + »

Les *ENTEROBACTER* sont des entérobactéries « VP + », ce sont en fait des « coliformes » recherchés en microbiologie alimentaire.

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Epidémiologie :

1/ - **Habitat** : bactéries ubiquitaires, commensale du tube digestif de l'homme et des animaux, de la peau, des muqueuses et, bactéries saprophytes de l'environnement.

2/ - **Transmission** : - Directe par l'intermédiaire des mains (manu-portée)  
- Indirecte par la consommation d'aliments, eaux souillées et, l'utilisation de matériel souillé

3/ - **Répartition géographique** : bactéries cosmopolites

#### B/ - Rappels cliniques

Chez l'homme *Enterobacter* peut donner des « infections urinaires, pulmonaires, et de peau » Cette bactérie ne donne pas la diarrhée. Sa présence traduit l'échec des bonnes pratiques d'hygiène et, elles sont considérées comme des « indicateurs ».

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

#### A/ - Taxonomie :

\* **Famille** : Enterobacteriaceae      \* **Tribu** : Klebsiella      \* **Genre** : *Enterobacter*

\* **Espèces**: *E. cloacae*, *E. aerogenes*++, *E. sakazaki*, *E. intermedius*

#### B/ - Caractères morphologiques (4) :

Bacille Gram négatif (-), court et/ou coccobacillaire, acapsulé, asporulé et, à mobilité péritriche.

#### C/ - Caractères cultureux

1/ - **Conditions de culture** : \* T° 37°C \*pH : 7,4 \*AAF \* Culture sur milieu ordinaire

2/ - **Milieux de culture** :

\* Bouillon et gélose ordinaire \* EMB \* Hektoen \*SS \* Drigalsky \* BCP

3/ - **Aspect sur milieu de culture** :

\* Sur bouillon ordinaire : trouble sur toute la hauteur du tube

\* Sur g. ordinaire : colonie essentiellement de type « S » et, « R » \* Sur SS : H<sub>2</sub>S - / Lactose +

**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques** : idem pour les entérobactéries

1/ - **Caractères de famille** : idem \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

2/ - **Caractères de genre** +++ : (voir tableau)

\* Mobilité + \* Uréase +/- \*Indole - \*H<sub>2</sub>S- \*DNase - Milieu de Fajkow → \* ADH +/- \*ODC+

3/ - **Caractères de l'espèce** +++ (voir tableau): \* VP \* ODC \* Uréase \* Indole

4/ - **Caractères antigéniques et autres marqueurs** : \* Ag. O, Ag. H et Ag. K

-Ag. somatique O de la paroi      -Ag H des flagelles      -Ag.K de la capsule chez *E. aerogenes*

-Autres marqueurs épidémiologique : lysotypie, biotypage, zymotypage

### III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

C'est le dénombrement des coliformes (*Cf* : *Klebsiella*)

1/ - **Echantillonnage, prélèvements et, transport**      2/ - **Prise d'essai**: \* 25 gr d'aliments

3/ - **Isolement** sur géloses sélectives : \*VRBG \* EMB \* Mac-Conkey ou Drigalsky ...

5/ - **Identification** : caractères morphologiques, biochimiques, cultureux et, antigéniques .

\*Portoir réduit de Leminor      \*Discussion bactériologique      \*Diagnostic du genre et, de l'espèce

## VIII/ - SERRATIA

*Serratia* est une bactérie « VP + », avec plusieurs espèces dont une, donne un pigment rouge (*S. marcesens*) lié à la production de « prodigiosine ». Elle est retrouvée dans l'environnement notamment dans le « coco ». Elle est pathogène opportuniste et, multi-résistante

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Epidémiologie :

**1/ - Habitat :** bactérie ubiquitaire, commensale du tube digestif de l'homme et des animaux et, bactérie saprophyte de l'environnement. Elle peut contaminer les solutions d'antisepsie et les solutés.

Elle a la propriété de contaminer les aliments en rouge, c'est un microorganisme de l'antiquité dont le pigment est confondu au sang. Elle fut à l'origine de tueries au moyen âge.

Le premier isolat fut réalisé par **BIZIO** en 1819, **PFLUGGE** la nomma *Bacillus prodigius* Et en 1923, elle fut nommée *Serratia marcesens*. C'est une bactérie cosmopolite.

**2/ - Transmission :** - Directe par l'intermédiaire des mains, en milieu hospitalier  
- Indirecte par la consommation d'aliments et eaux souillées

**3/ - Répartition géographique :** bactérie cosmopolite

#### B/ - Rappels cliniques

Chez l'homme *Serratia* peut donner des « infections urinaires, respiratoires, et nosocomiales ». Elle modifie les aliments cependant, elle ne peut pas donner la diarrhée.

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

A/ - Taxonomie : \* Famille : Enterobacteraiceae \* Tribu : Klebsiellea

\* Genres : *Serratia* \* Espèces : *S. marcesens*, *S. marinoruba*, *S. plymutica*, *S. liquefaciens*

#### B/ - Caractères morphologiques (4) :

Bacille Gram négatif (-), acapsulé, asporulé, mobilité péritriche

#### C/ - Caractères cultureux

**1/ - Conditions de culture :** \* T° : 37°C \* pH :: 7,4 \*AAF \* Culture sur milieu ordinaire

**2/ - Milieux de culture :** \* SS \* Hektoen \* EMB \* Drigalsky ... \* BCP

**3/ - Aspect sur milieu de culture :** \* Sur B. ordinaire : trouble sur toute la hauteur du tube

\* Sur Gélose ordinaire : - bactéries non exigeantes – milieu incolore permet vision de la pigmentation

L'on a des colonies de type « S », de tyoe « R » et, de type envahissant.

- Réalisation des tests biochimiques rapides (Catalase / Oxydase qui donne une coloration violette)

\* Sur SS : H2S - / Lactose - \* Sur Gélose ordinaire : coloration rouge non diffusible liée à *Serratia*

#### D/ - Caractères biochimiques et antigéniques

**1/ - Caractères de famille :** idem \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

**2/ - Caractères de genre** +++ : (*voir tableau*) Le caractère majeur est **DNase** +

\* Mobilité + \* Uréase \* DNase \* Milieu de Falkow (ADH, ODC, LDC) \* Pigment rouge

\* Sensibilité à la Colistine

**3/ - Caractères de l'espèce** +++ (*voir tableau*): \* VR \* ODC \* Uréase \* Indole

\* VP + \* ONPG + \* Lactose -

**4/ - Caractères antigéniques et autres marqueurs :** \*Antigène O et, Ag. H

-Nombreux antigènes somatiques (Ag. O) et, antigènes flagellaires (Ag H)

- Biotypage / Sérotypage / Lysotypage (utilisation des pages) \* Antibiogramme : R° à Colistine

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

- 1/ - **Prélèvements** : aliments ou, certains produits de l'environnement (eau de coco)
- 2/ - **Prise d'essai et Pré-enrichissement** : \* 25 gr. d'aliment / \* EPT
- 3/ - **Enrichissement** : \* BLBVB ...
- 4/ - **Isolement** sur géloses sélectives : \* EMB \* Mac-Conkey ou Drigalsky ...
- 5/ - **Identification** : caractères morphologiques, biochimiques, culturels et antigéniques.

**IX/ - HAFNIA****I/ - GENERALITES**

*Hafnia alvei* est une bactérie ubiquitaire, commensale du tube digestif de l'homme et des animaux. C'est également une bactérie présente dans les aliments (lait, fromage, viande, œuf, charcuterie) et, dans les eaux de surface usées, le sol et, les légumes.

C'est une bactérie cosmopolite et, saprophyte de l'environnement.

**II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE****A/ - Taxonomie :**

\* **Famille** : Enterobacteraiceae \* **Tribu** : *Klebsiella* \* **Genre** : *Hafnia* \* **Espèce** : *Hafnia alvei*

**B/ - Caractères morphologiques (4) :**

Bacille Gram négatif (-), acapsulé, asporulé, mobilité péritriche

**C/ - Caractères culturels**

1/ - **Conditions de culture** : \* T° : 37°C \* pH : 7,4 \* AAF \* Culture sur milieu ordinaire

2/ - **Milieux de culture** : \* EMB \* SS \* Hektoen \* Drigalsky ... \* BCP

**3/ - Aspect sur milieu de culture :**

\* Sur bouillon ordinaire : trouble sur toute la hauteur du tube

\* Sur milieu « SS » : l'on a des colonies **H<sub>2</sub>S** (-) et, **Lactose** (-)

**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques**

1/ - **Caractères de famille** : Idem \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

2/ - **Caractères de genre et espèce**+++ : colonie **Lactose** (-), **H<sub>2</sub>S** (-), **LDC**(+) et **ODC**(+)

\*Elle pousse lentement à 37°C sur Citrate de Simmons : il faut donc près de trois (3) jours

\*Elle est « **VP** » négatif (-) à 37°C mais, positif (+) à 22°C

\*Elle est **Lactose** (-) et, **H<sub>2</sub>S** (-)

\*Test **ONPG** → (+) si *Hafnia* est incubée à 22°C / ONPG négatif (-) si *Hafnia* incubée à 37°C

La plupart des souches sont classées par erreur *Salmonella* (H<sub>2</sub>S-), il faut faire les tests suivants :  
Fermentation du glycérol positif (+) / Sorbitol négatif (-) / Citrate négatif (-)

3/ - **Caractères antigéniques** : \* Ag O (somatique) et, Antigène H (flagellaire)

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

1/ - **Prélèvements, prise d'essai** : \* 25 grammes d'aliments

2/ - **Enrichissement** : \* BLBVB ...

3/ - **Isolement sur géloses sélectives** : \* EMB \* SS \* Mac-Conkey ou Drigalsky ...

4/ - **Identification** : Caractères morphologiques, biochimiques, culturels et antigéniques.



**X/ - TRIBU DES PROTEA : « TDA + »:**  
**PROTEUS – PROVIDENCIA – MORGANELLA**

Ce sont des entérobactéries ubiquitaires, qui sont caractérisées par la présence d'enzymes particulières et, qui ont la particularité d'envahir les milieux gélosés comme des colonies envahissantes

**I/ - GENERALITES**

**A/ - Historique :**

- En 1885, isolement de *Proteus vulgaris* et *Proteus mirabilis* ; en 1980 : *Morganella*, *Morganii*

**B/ - Epidémiologie :**

**1/ - Habitat:** \*Homme \*Animal \*Environnement

**2/ - Transmission :** - Directe - Indirecte par les « aliments »

Ce sont des bactéries cosmopolites, pathogènes opportunistes et, des agents de la « putréfaction » des déchets d'origine animale.

**II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE**

**A/ - Taxonomie :**

\* **Famille :** Enterobacteriaceae \* **Tribu :** Proteae \* **Genres :** *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*

\* **Espèces de *Proteus* :** *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*

\* **Espèces de *Providencia* :** *Providencia stuartii*, *P. alcalifaciens*, *P. rettgeri*

\* **Espèces de *Morganella* :** *M. morganii* qui est bactérie de surinfection

**B/ - Caractères morphologiques (4) :**

Bacilles Gram négatif (-), acapsulés, asporulés, mobilité péritriche

**C/ - Caractères culturels**

**1/ - Conditions de culture :** \* Temp. 37°C \* pH : 7,4 \* AAF \* Culture sur milieu ordinaire

**2/ - Milieux de culture :**

- **Milieux liquides :** \* Bouillon ordinaire ou nutritif \* Bouillon au thiogluconate

- **M. d'isolement sélectif :** \* EMB \* SS \* BCP \* Hektoen \* Drigalsky \* Mac Conkey

**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques**

**1/ - Milieux d'identification :** \* Portoir réduit de LEMINOR \* Galeries API 20 E

**2/ - Caractères communs de famille :** \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glu +

**3/ - Caractères communs aux trois (3) genres :**

\* Urée Indole \* K. Hajna \* Lysine de Fer \* Mobilité \* Citrate de Simmons

**4/ - Caractères des différentes espèces :**

\* Uréase \* H<sub>2</sub>S \* Indole \* ODC \* Mannitol

**5/ - Caractères antigéniques :** \* Ag O \* Antigène H

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

**1/- Prélèvements :** \* Eau \* Certains aliments (légumes) \* Sols

**2/ - Prise d'essai :** 25 g à diluer dans l'EPT **3/ - Isolement :** \* PCA\* SS \* Hektoen

**4/ - Identification :** caractères morphologiques, culturels, biochimiques et, antigéniques

**5/ - Interprétation**

## XI / - YERSINIA

*Yersinia* est une entérobactérie qui donne essentiellement des zoonoses, mais l'homme peut être contaminé. *Y. pestis* est à l'origine de la « peste », l'on a *Y. enterocolitica* à l'origine de plusieurs infections et *Yersinia pseudotuberculosis* .

*Yersinia* est bactérie rattachée antérieurement au genre *Pasteurella* (Parvobactéries). C'est **YERSIN** qui fut le premier à isoler ce germe en 1984 d'où le nom *Yersinia*

### I/ - GENERALITES

#### A/ - Epidémiologie : \* *Yersinia enterocolitica*

**1/ - Habitat** : bactérie ubiquitaire retrouvée dans l'eau, le sol, les aliments (lait et produits dérivés, viandes de porc et, sous produits) , les légumes, les fruits, les œufs, chez les animaux ( porc , poisson, oiseau et les mollusques ) et, chez l'homme

**2/ - Transmission** : indirecte qui se fait par l'intermédiaire des « aliments contaminés » tels que les crudités, les viandes crues, laits crus et l'eau...

Au niveau géographique elle est retrouvée dans les pays européens (France, Belgique) et; en Amérique

**3/ - Facteurs favorisants** : \* Température très basse 2 à 8°C \* Consommation de viande de porc et sous produits. Cette bactérie est détruite à 62°C pendant 3 mn

**4/ - Clinique** : elle est à l'origine de « diarrhées » faites des selles glairo-sanglantes.

Elle est responsable de « gastro-entérites » avec le syndrome de la fosse iliaque droite ou : « appendicite », de troubles abdominaux, de diarrhées et, d'arthrites.

C'est une bactérie qui libère une « entéro-toxine thermostable » .Elle a un pouvoir pathogène invasif utilisant, les voies sanguines et, codé par un plasmide qui lutte contre les antibiotiques.

Le facteur de virulence est détecté par la réalisation de l'étude de la « présence de pyrazinamide et d'esculine ». Si pyrazinamide et/ou esculine positives (+) = souches non pathogènes  
Si pyrazinamide et/ou esculine négatives (-) = souches potentiellement pathogènes.

### II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE

A/ - Taxonomie : \* Famille : Enterobacteriaceae \* Tribu : Yersiniaceae

\* Genre : *Yersinia* \* Espèces : *Yersinia enterocolitica* +++ *Y. pseudotuberculosis* *Y. pestis*

B/ - Caractères morphologiques (4) :

Bacille Gram moins (-), acapsulé, asporulé, mobilité péritriche à 22°C mais, immobile à 37°C.

C/ - Caractères culturels

**1/ - Conditions de culture**: \* Température : 28°C \* pH : 7,2 \* AAF

*Y enterocolitica* est une bactérie « psychrophile » se développant entre 4 -10°C ; avec une température de croissance comprise entre 0 et 40°C à pH compris entre 5 à 9. Le pH optimal est de 7,2 et; la température optimale de 28-30°C. C'est une bactérie non exigeante qui se développe sur les milieux usuels ordinaires mais, elle pousse lentement (48 h)

**2/ - Milieux de culture** : \* Bouillon ordinaire \* Gélose ordinaire

- Géloses sélectives pour entérobactéries : \* EMB \* Mac Conkey \* BCP \* Hektoen \* Drigalsky

- Milieu sélectif pour *Yersinia* : \* Gélose CIN (Cefsulodine Irgasan Novobiocine)

- Milieux sélectifs : \* Bouillon d'enrichissement tamponné \* EPT \* Rappaport Wanters

**3/ - Aspect sur milieu de culture** :

\* Sur milieu liquide d'enrichissement : trouble sur toute la hauteur du tube

\* Sur gélose ordinaire : petites colonies de 1 mm de diamètre et, de type « S »

\* Sur milieu « SS » : colonies Lactose (+) et, H<sub>2</sub>S (-)

**D/ - Caractères biochimiques et antigéniques**

1/ - **Caractères de famille** : \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glucose +

2/ - **Caractères de genre** : Métabolisme positif entre 20 - 30°C

\* Uréase active, plus rapide \* TDA - \* ONPG + \* VP + Gaz -

|                                  |                            |                     |
|----------------------------------|----------------------------|---------------------|
| Oxydase (-)                      | Nitrate Réductase : NR (+) | Glucose (+)         |
| Catalase (+)                     | Esculine (+)               | <b>Gaz (-)</b>      |
| Urée +/                          | <b>H<sub>2</sub>S (-)</b>  | Saccharose (-)      |
| <b>Uréase active plus rapide</b> | Gélatine (-)               | <b>Rhamnose (-)</b> |
| <b>Indole (-)</b>                |                            | Melibiose           |

3/ - **Caractères de l'espèce** : \* Uréase \* Indole \* Rhamnose \* Melibiose

4/ - **Caractères antigéniques** : \* Ag O (somatique), Ag H (flagellaire) et, Ag. K

\*Antigène somatique : Ag. O → 16 types

\*Antigène d'enveloppe capsulaire : Ag. K chez les souches capsulées

-*Y. pseudotuberculosis* : six (6) groupes d'antigènes (Type I à VI)

-*Y. enterocolitica* : 70 facteurs O dont, les souches pathogènes

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE**

1/ - **Prélèvements et prise d'essai**      2/ - **Enrichissement**

3/ - **Isolement** sur géloses sélectives pour entérobactéries : \* Hektoen \* EMB \* Milieu sélectif CIN

4/ - **Identification** : repose sur les caractères morphologiques, culturels et surtout « biochimiques ».

La présence de *Yersinia enterocolitica* dans un aliment, le considère comme « **corrompu** »

**XII/ - LES NOUVELLES « ENTEROBACTERIES » :**  
**Levinea, Kfuyvera, Buttiauxella, Moellerella**

**I / - LEVINEA****I/ - GENERALITES**

Les *Levinea* appartiennent à la famille des entérobactéries, autrefois elles étaient classées dans le groupe des « **Indole positif (+)** »

*Levinea* est une bactérie ubiquitaire retrouvée chez l'homme et l'animal, elle est également retrouvée dans l'environnement et, est dotée d'un pouvoir pathogène opportuniste.

**II/ - ETUDE BACTERIOLOGIQUE****A/ - Taxonomie :**

\* **Famille** : Enterobacteriaceae \* **Tribu** : Levinea \* **Genre** : *Levinea* (*Citrobacter*)

\* **Espèces** : *Levinea malonatica* (= *C. koresi*) / *L. diversus* / *L. amalomatica* (= *C. amalomatica*)

Le genre *Levinea* est devenu de nos jours, le genre *Citrobacter* et, les espèces de *Levinea* sont devenues aujourd'hui des espèces de *Citrobacter* (Ex: *Citrobacter koseri* / *C. amalomatica*)

**B/ - Caractères morphologiques (4) :**

Bacille Gram négatif (-), acapsulé, asporulé, mobilité péritriche

**C/ - Caractères culturels**

\*AAF \* Température : 37°C \* pH : 7,2 \* Culture sur milieux ordinaires

**D/ - Caractères biochimiques**

1/ - **Caractères communs de famille** : \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glu. +

2/ - **Caractères différentiels du genre** : \* **Indole (+)**

\* Lactose (+/-) \* Xylosidase (-) \* Glucuronidase (-) \* LDC (-) \* Citrate (+) \* Sorbitol (+)

**III/ - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE** (Cf. : Entérobactéries)

**II/ - KLUYVERA**

**Kluyvera** est une bactérie de la famille des entérobactéries, elle est retrouvée dans le sol, l'eau, les eaux usées, les locaux des aliments et, rarement isolée chez l'homme et les animaux.

C'est une bactérie pathogène opportuniste.

**A/ - Taxonomie :** \* Famille : **Nouvelle Enterobacteriaceae** \* Tribu : **Kluyvera**

\* Genre : **Kluyvera** \* Espèces : **Kluyvera cryocrescens / K. ascorbata**

**B/ - Caractères morphologiques :** Bacille Gram moins (-), acapsulé, asporulé.

**C/ - Caractères culturels :** \*AAF \* Température : 37°C \* pH : 7,2

**D/ - Caractères biochimiques**

**1/ - Caractères communs de famille :** \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glu. +

**2/- Caractères différentiels des espèces : *Kluyvera cryocrescens / K. ascorbata***

|                                  | Irga<br>-san | Cefalo<br>-tine | Carbeni<br>-cilline | Croissance<br>à 41°C | Fermen<br>-tation | Glucose | Dulcitol | Indole |
|----------------------------------|--------------|-----------------|---------------------|----------------------|-------------------|---------|----------|--------|
| <i>Kluyvera<br/>cryocrescens</i> | S            | S/I             | I                   | (-)                  | (+)<br>1-3 jours  | (-)     | (+)      |        |
| <i>K. ascorbata</i>              | R            | R               | R                   | (+)                  | (-)               | (+)     | (+)      |        |

\*R= Résistante

\*S = Sensible

\*I = Intermédiaire

\*D = Différentiel

**III / - BUTTIAUXELLA**

**A/ - Taxonomie :** \* Famille : **Enterobacteriaceae**

\* Tribu : **Levinea** \* Genre : **Buttiauxella** \* Espèce : **B. agrestis**

**B/ - Caractères morphologiques (4) :** BG (-), acapsulé, asporulé, mobilité pérित्रiche

**C/ - Caractères culturels**

\*AAF \* Température : 37°C \* pH : 7,2 \* Culture sur milieux ordinaires

**D/ - Caractères biochimiques**

Caractères proche de *Kuyvera* : \*Indole (-) \*LDC (-) \*Saccharose (-)

**IV/ - MOELLERELLA**

**Moellerella** est une nouvelle entérobactérie principalement isolée des selles chez l'homme mais toutefois non pathogène. Elle peut être confondue à *E. coli*.

**A/ - Taxonomie :**

\* Famille : **Nouvelle Enterobacteriaceae** \* Genre : **Moellella** \* Espèces : **M. wisconsensis**

**B/ - Caractères morphologiques :** Bacille Gram (-), acapsulé, asporulé.

**C/ - Caractères culturels :** \*AAF \* T: 37°C, pas de culture à 44°C \* pH : 7,2

**D/ - Caractères biochimiques**

**1/ - Caractères communs de famille :** \* Nitrate + \* Catalase + \* Oxydase - \* AAF \* Glu. +

**2/- Caractères différentiels du genre : *Moellerella***

|                       |                            |              |
|-----------------------|----------------------------|--------------|
| Urée +                | Nitrate Réductase : NR (+) | Glucose (+)  |
| Indole (+/-)          | H <sub>2</sub> S (-)       | Gaz (-)      |
| VP (-)                | LDC (-)                    | Citrate (+)  |
| Colistine (Résistant) | ODC (-)                    | Lactose (+)  |
| Culture à 44°C (-)    | ADH (-)                    | Sorbitol (-) |

SYSTEMATIQUE BACTERIENNE  
BACILLES GRAM (-) NON ENTEROBACTERIE

FAMILLE DES PSEUDOMONACEAE

PSEUDOMONAS

*XANTHOMONAS*

*ACINETOBACTER*

*FLAVOBACTERIUM*

FAMILLE DES VIBRIONACEAES

I/ - VIBRIO



VIBRIO SUITE

*AEROMONAS*

*PLESIOMONAS*

*CAMPYLOBACTER*

**BRUCELLA**

*SYTEMATIQUE BACTERIENNE*  
*BACILLE GRAM POSITIF (+)*

*LACTOBACILLUS*

*LISTERIA*

**LES MYCOBACTERIES**



**LES CLOSTRIDIALES**

*CLOSTRIDIUM BOTULINUM*

*LES BACILLACEÆS*

*LES CHAMPIGNONS*

CHAMPIGNONS SUITE

TRAVAUX DIRIGES  
« MICROBIOLOGIE  
ALIMENTAIRE »

## TRAVAUX DIRIGES MICROBIOLOGIE GENERALE

### EXERCICE N° 1

- I/ - Quels sont les microorganismes constitutifs du sous règne des « **Eucaryotes** »
- II/- Donner la définition des termes suivants :
- 1 / - Une **Bactérie** et, sa représentation schématique 2/ - Le **Coefficient de Chargaff**
- 3/ - Un **Virus** et, sa représentation schématique
- III/ - Donner la définition des termes suivants
- 1 / - Milieu de culture 2/ - Culture pure 3/ - Milieu sélectif 4/ - Milieu électif
- IV/ - Donner le nom des milieux de culture nécessaires pour la recherche de quatre (4) germes de votre choix et, présenter l'aspect des germes sur ces milieux.
- V/ - Donner les définitions de termes suivants : 1/ - Bactéries phototrophes
- 2/ - Bactéries chimiotrophes 3/ - Bactéries halophiles 4/ - Bactéries cryophiles
- VI/ - Donner les définitions de la réfrigération; la congélation et la surgélation

### EXERCICE N°2

- I/ - Citer les principaux réactifs de la **coloration de Gram** et, préciser le rôle de celle-ci
- II/ - Citer les principales **inclusions du cytoplasme bactérien**
- III/ - Citer les principaux **facteurs de la multiplication bactérienne** et, présenter de façon développée un de ses facteurs
- IV/ - Parmi les conditions physico-chimiques de la croissance bactérienne il en existe trois (3) très importantes : la température, le rapport avec l'oxygène, le pH.  
Présenter ces trois conditions majeures et préciser les différentes catégories de « bactéries » que l'on trouve dans chacune d'elles.
- V/ - Donner le principe de la recherche de la « **catalase** »
- VI/ - Donner la définition d'un **antibiotique** et, présenter le **mécanisme d'action des Beta-Lactamines**

### EXERCICE N° 3 :

- |  |                     |
|--|---------------------|
| 1/ - La coloration spécifique de <b>Pie-Chaud</b> permet de voir le noyau bactérien                          | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 2/ - Les <b>bactéries sporulées</b> ont une gaine de 500 à 2000 nm d'épaisseur                               | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 3/ - Les <b>vrais Cocci</b> sont toujours immobiles  | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 4/ - Aucune maladie virale ne peut être transmise par les aliments   | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 5/ - Les bactéries pathogènes de l'homme ont une taille de <b>03- 1</b> micromètre                           | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 6/ - la <b>taille des Virus</b> varient entre <b>10 à 350 nm</b>   | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 7/ -Les « <b>Bacillus</b> » sont responsables des intoxications alimentaires                                 | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 8/ - Les Levures sont des microorganismes fermentaires   | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 9/ - Les Staphylocoques sont des cocci en grappe de raisin   | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 10/ - Aucune maladie virale ne peut être transmise par les aliments  | <b>Vrai ou Faux</b> |
| 11/ - Un froid positif permet l'arrêt de la croissance des germes psychrophiles<br>(Justifier votre réponse) | <b>Vrai ou Faux</b> |

## ETUDE DE GERMES PATHOGENES: Staphylococcus, Streptococcus, Salmonella, Clostridium

### EXERCICE N° 1 : Recherche des Staphylocoques

- 1/ - Vous devez isoler et dénombrer les *Staphylococcus aureus*
  - a/ - Donner le nom du milieu de culture spécifique et présenter la méthode de dénombrement à utiliser pour cette recherche
  - b/ - Préciser la température et le temps d'incubation nécessaire pour un bon isolement
- 2/ - Présenter les caractères macroscopiques des colonies sur le milieu de culture
- 3/ - Indiquer les caractères microscopiques observés après une coloration de Gram puis, réaliser une représentation schématique de ces germes
- 4/ - Présenter les « tests biochimiques » utilisés pour la recherche et la mise en évidence de :
  - a/ - la Catalase
  - b/ - l'Oxydase et
  - c/ - la Bêta-galactosidase
- 5/ - Le germe recherché est « Staphylocoagulase positif » : quelle est la signification de ce résultat ?

### EXERCICE N° 2 : Etude du pouvoir pathogène \*

*Staphylococcus aureus* est responsable de septicémie au pronostic grave chez les sujets hospitalisés et affaiblis. La porte d'entrée des septicémies thrombo-emboliques est souvent une plaie sur infectée et le pouvoir pathogène repose surtout sur les capacités de multiplication et d'invasion du germe : 1/ - Donner la définition d'une septicémie

2/ - Citer deux (2) facteurs sécrétés par *Staphylococcus aureus* et qui contribue au pouvoir pathogène lors d'une septicémie et justifier leurs rôles

3/ - Pour l'un des facteurs dont la recherche est effectuée au laboratoire, expliquer sommairement le principe des tests réalisés et la signification des résultats obtenus

### EXERCICE N° 3 : Staphylococcus et Enterococcus

I/ - Quel est le rôle de la recherche des Streptocoques D

II/ - Donner les différences majeures entre les *Staphylococcus* et les *Streptococcus*; aussi bien morphologique que biochimique.

### EXERCICE N° 4 : Entérobactéries (Salmonelle)

1/ - Donner la définition des Entérobactéries et présenter leurs caractères généraux

2/ - Donner le nom des milieux de culture utilisés pour leur isolement

3/ - Citer les différents milieux constitutifs du portoir réduit de Lemnior et donner les caractères des réactions positives et négatives observées après ensemencement et incubation des souches d'Entérobactéries

4/ - Présenter l'importance des germes appartenant au genre *Salmonella* dans le milieu des infections bactériennes et les différentes étapes nécessaires pour sa recherche

5/ - Déterminer les caractères biochimiques spécifiques des *Salmonella*

### EXERCICE N° 4: Recherche des Clostridium (ASR)

Vous devez isoler et dénombrer des Anaéobies Sulfito-Réducteurs (ASR)

1/ - Donner le nom de deux (2) milieux de culture que vous pouvez utiliser

2/ - Préciser la température et le temps d'incubation

3/ - Présenter les caractères macroscopiques d'identification de ces germes.



## LES TOXI-INFECTIIONS ALIMENTAIRES

### EXERCICE N° 1 : Q.R.C./Q.C.M. Deux réponses possibles : A : Vrai B : Faux

- 1/ - Un aliment contenant une toxine botulinique est forcément dangereux à manger
- 2/ - Le botulisme est une intoxication très rare
- 3/ - Un aliment contenant l'une des entérotoxines staphylococciques provoquera forcément des troubles chez les individus l'ingérant.
- 4/ - Les *Salmonella* sont responsables d'intoxications
- 5/ - Les *Shigella* peuvent causer des toxi-infections
- 6/ - Aucune maladie virale ne peut être transmise par les aliments

### EXERCICE N° 2 : Questions à Choix multiple (QCM) et Q. à Réponse Courte (QRC)

- 1/ - Citer quatre (4) bactéries pathogènes pouvant être l'origine d'infections graves
- 2/ - Donner la définition d'une toxine
- 3/ - Donner la définition des termes suivants :
 

|                      |                    |                    |
|----------------------|--------------------|--------------------|
| a/ - Toxi-Infections | b/ - Intoxications | c/ - Intoxications |
|----------------------|--------------------|--------------------|
- 4/ - Quels sont les deux (2) germes responsables d'intoxications alimentaires
 

|                                     |                                   |                                    |                                |
|-------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| a/ - <i>Staph. aureus</i>           | b/ - <i>Salmonella</i>            | c/ - <i>Lactobacillus lactis</i>   | d/ - <i>Candida albicans</i> . |
| e/ - <i>Clostridium perfringens</i> | f/ - <i>Enterococcus faecalis</i> | g/ - <i>Pseudomonas earuginosa</i> |                                |
- 5/ - Citer trois (3) types d'aliments dans lesquels l'on peut rechercher le *Bacillus cereus*
- 6/ - Citer deux (2) bactéries responsables de diarrhées à mécanisme entéro-invasif
- 7/ - Citer 3 types de prélèvement à effectuer en cas de suspicion de «choléra» sur le campus de cocody
- 8/ - Un aliment contenant « 200 » *Listeria monocytogenes* est-il dangereux pour la consommation ? Pourquoi ?
- 9/ - Citer quatre (4) bactéries pathogènes pouvant être l'origine d'infections graves
- 10/ - A quelle température peut on tuer les microbes ?

### EXERCICE N° 3 : Les toxines bactériennes \*\*

- Comparer la toxine « staphylococcique » et la toxine « botulinique » :

Les bactéries responsables, la nature et les effets de ces toxines ainsi que, les aliments pouvant être à l'origine des toxi-infections dues à ces toxines.

### EXERCICE N° 4

- 1/ - Les toxi-infections alimentaires (TIA) ont trois (3) origines principales, citer-les tout simplement.
- 2/ - Parmi les germes responsables de T.I.A deux (2) au moins sont retrouvés très souvent dans les «viandes» : lesquels ?
- 3/ - Quels sont les deux principaux germes responsables des syndromes de forme dysentérique au cours des T.I.A.
- 4/ - Quels sont les principaux germes producteurs de «**mycotoxines**» et, dans quels aliments se multiplient- ils ?
- 5/ - Citer les **germes responsables des fermentations** : alcoolique, lactique et acétique ainsi que les produits alimentaires issus de chacune de ces fermentations.