

MICROORGANISMES TOXINOGENES

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union - Discipline - Travail

=====

UNIVERSITÉ FELIX HOUPHOUET BOIGNY DE COCODY  
UFR BIOSCIENCES



ANNEE UNIVERSITAIRE 2013-2014  
MASTER

# ECUE 1 : LES MICROORGANISMES TOXINOGENES

1ere Partie : Les Bactéries Toxinogènes

Dr KOUAME Désiré : Maitre-Assistant  
& Dr KOVADIO Irène : Maitre-Assistant

UNIVERSITE Félix HOUPHOUET BOIGNY DE COCODY / UFR BIOSCIENCES  
Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LaBSA)

*GENERALITES  
SUR LES  
MICROORGANISMES  
ET LES  
TOXI-INFECTI0NS*

## **LES TOXI-INFECTI0NS ALIMENTAIRES**

L'évolution de l'industrie alimentaire tend à mettre sur le marché, un nombre de plus en plus grand d'aliments divers qui sont de plus en plus élaborés. Sans sa présentation finale, la denrée alimentaire est parfois différente de sa forme originelle qui lui offrait bien souvent une protection naturelle. En outre, l'aliment a subi un grand nombre de manipulation et, chacune d'entre elle étant susceptible d'apporter son lot de contaminant. De plus, on a tendance à exiger pour ces aliments des délais de conservation, de plus en plus long ; ce qui pose de sérieux problèmes.

Tous ces éléments c'est à dire : **le problème environnemental, l'eau, l'air, le sol, les manipulations nombreuses, les conservations prolongées ou non** entraînent une multiplication des risques sanitaires apportés par l'alimentation. Il est donc absolument nécessaire de faire progresser en même temps que les techniques de production des aliments, les techniques de contrôle sanitaires. On s'est trop souvent borné à réaliser le contrôle microbiologique sur le produit fini. Un tel contrôle a un intérêt limité parce qu'en cas de résultat défectueux, ce contrôle ne donne aucun renseignement sur l'origine de la contamination.

Ce qui est le plus important, c'est de « maîtriser les paramètres qui agissent sur la contamination du produit fini ». Cette maîtrise dépend d'une part de la qualité des matières premières, de l'environnement, des différents modes de traitement et; d'autre part de l'apport de microorganisme au cours de la chaîne de transformation.

Cet apport de microorganisme qui est sujet d'une origine multiple c'est à dire de l'eau, de l'air, du sol, du personnel et du matériel, en évoquant les conséquences de la multiplication des microorganismes constituant la flore des aliments. De tout ceci, une prévention et un traitement des bio contaminations permettent de contrôler le statut microbiologique des aliments

Les TIA constituent le concept de maladies infectieuses émergentes, elles sont issues d'une augmentation brutale de l'incidence des maladies infectieuses dans l'ensemble du monde vivant. C'est un nouveau concept : « **Food born diseases** » lié à trois facteurs : hôte, microorganisme et environnement. Comme exemple l'on a la fièvre hémorragique Ebola, l'augmentation brutale de l'épidémie à *Vibrio cholerea* O :139.

Les aliments sont contaminés par les eaux, le sol et, les microorganismes présents dans les aliments peuvent également les contaminer. L'on a aussi les méthodes de fabrications des aliments, les opérations techniques, le stockage, le transport et la commercialisation.

Les produits finis contiennent une flore qui résulte de contaminations successives et des traitements qui n'ont pu la réduire. Il faut donc éviter les altérations microbiennes, éviter les risques d'intoxications et d'intoxinations dangereux pour la santé.

La porte d'entrée des TIA est à 90% digestive mais, les manifestations sont très diverses allant même au système nerveux central avec la vache folle...La civilisation met au point plusieurs armes et remèdes : vaccins, médicaments, et mesures d'hygiène mais, c'est la coexistence pacifique, la paix des pays qui aura le dernier mot.

## **LA MICROBIOLOGIE DES ALIMENTS**

Les aliments sont en général contaminés par les microorganismes contenus dans l'environnement. Si les conditions sont favorables à l'aliment, les microorganismes vont se multiplier et provoquer deux types d'altérations à savoir : la qualité marchande et la qualité hygiénique.

### **I/ - LES DIFFERENTS TYPES D'ALTERATION**

#### **A/ - Altération de la qualité marchande**

Les microorganismes provoquent des troubles des « caractères organoleptiques et physico-chimiques » sans rendre l'aliment dangereux pour le consommateur. Sa mise en évidence se fait par le dénombrement de la « flore totale ».

**Exemple N°1 :** *Pseudomonas marginalis* est rencontré sur les feuilles de salade et sur l'ensemble des feuilles. Il fait partie de la flore normale des végétaux mais, sa multiplication excessive peut entraîner un pourrissement de ces feuilles. **Ex N°3 :** Les Levures se développent bien sur les végétaux sucrés et acides.

**Ex. N°2 :** Les bactéries lactiques dont le *Leuconostoc mesenteroides* est le germe d'altération fréquent sur les produits riches en sucre comme la carotte râpée

#### **B/ - Altération de la qualité hygiénique**

Dans ce cas, le microorganisme en se multipliant rend l'aliment dangereux pour la santé publique soit par sa charge, soit par la toxine qu'elle produit. **Ex.N°1 :** les volailles sont souvent contaminées par *Salmonella sp.* avec des sources nombreuses (sol, poussière, matières fécales des animaux). Leur multiplication (*S. enteritidis*) peut entraîner une infection salmonellique chez le consommateur **Ex N°2 :** les *Staphylococcus* et le *Vibrio cholerae* sont dangereux.

### **II/ - ANALYSE MICROBIOLOGIQUE**

L'analyse microbiologique d'un produit alimentaire a pour but, de déceler et de prévenir ces deux types d'altérations. Il est cependant nécessaire de distinguer deux types d'analyses qui sont : l'analyse du produit fini et, l'analyse du produit en cours de fabrication.

**1/ - Analyse du produit fini** qui a pour but de mettre en évidence les deux types d'altération. Ce sont des analyses réalisées par les laboratoires officiels de contrôle ou par des entreprises. Elles nécessitent l'application des « méthodes normalisées » (ISO,AFNOR, CODINORM ...) et, permettent de vérifier la conformité du produit à des critères.

**2/ - Analyse du produit en cours de fabrication**, il s'agit d'un contrôle de bonnes pratiques de fabrication ou hygiénique. Elle a un but préventif où l'utilisation de nombreux guides sont plus sévères que les critères réglementaires. Quel que soit le type d'analyse, l'analyse microbiologique peut être complète ou partielle en fonction de la demande du client ou du contenu des cahiers des charges.

### **III/ - ANALYSE MICROBIOLOGIQUE COMPLETE DES PRODUITS FINIS**

Quatre groupes de microorganismes sont habituellement recherchés : les germes d'altération de la qualité marchande, les pathogènes, les germes témoins de contamination fécale et les indicateurs technologiques.

#### **1/ - les germes capables d'altération de la qualité marchande de l'aliment**

\* **Exemple N°1 :** Les Produits acides, pour les laits et yaourts, l'on a les microorganismes à 30°C, les Levures et Moisisures, les *Lactobacillus* et les Bactéries lactiques tels les *Leuconostocs*

\* **Ex N° 2 :** Les Conserves, l'on a plutôt les *Clostridium* (bombage des boîtes) et les *Bacillus*

#### **2/ - les germes potentiellement pathogènes pour le consommateur**

Ce sont principalement : \* *Salmonella spp.*      \* *Staphylococcus aureus*      \* *Shigella*

\* Anaérobies sulfitoréducteurs ( *Clostridium perfringens/ botulinum* )    \* *Bacillus cereus*

\* *E. coli* \* *Yersinia enterolitica*      \* *Listeria monocytogenes*      \* *Campylobacter jejuni* ect ...

#### **3/ - les germes « témoins » de contamination fécale :**

\* *E. coli* \* Coliformes ( *Klebsiella, Citrobacter, Enterbacter* ) \* Entérocoques ( eaux – coquillages )

#### **4/ - les germes indicateurs technologiques :** \* Coliformes \* Entérobactéries

**NB :** Les « germes témoins » sont des marqueurs dont la recherche ou le dénombrement permet de supposer la présence d'un germe cible. Deux situations peuvent se présenter : celle de l'index et de l'indicateur.

Mais avant d'envisager la recherche ou le dénombrement des germes, il est indispensable d'échantillonner, de prélever et de transporter convenablement l'aliment à analyser.

## L'ORIGINE DES BIOCONTAMINATIONS : L'EAU, L'AIR, LE SOL, LES ETRES VIVANTS

### A/- L'EAU

La microbiologie aquatique concerne l'étude de la flore qui peuple les étangs, les lacs, les rivières, les océans. Cette étude doit prendre une importance considérable à cause de l'utilisation massive de l'eau. En général, les eaux naturelles sont utilisées à plusieurs échelles par contre, les eaux usées vont contribuer à un milieu potentiellement riche en microorganismes.

Une eau naturelle, est une eau qui de manière naturelle existe sans l'apport de l'être humain. Elle est constituée par les « océans » et les « eaux douces ».

Les bactéries sont les éléments clefs du cycle biologique des eaux douces. Ces bactéries vont débarrasser ce milieu d'un certain nombre de matières organiques. Ainsi, le résultat obtenu va être une augmentation considérable de la masse microbienne. C'est ainsi que leur usage doit être fait avec beaucoup plus de précautions; nous pouvons y rencontrer plusieurs types de **bactéries Gram + et Gram -**. L'on peut également y rencontrer des **virus** et des **parasites**.

Les eaux destinées à l'alimentation humaine doivent présenter un certain nombre de qualité. Elles doivent être : limpide, sans saveur, inodore; en plus elle doit être potable c'est à dire : exempte d'organismes pathogènes et, de tout polluant dangereux pour la santé du consommateur.

Elles sont issues des nappes profondes, des nappes phréatiques et, des eaux de surface.

Les maladies dues aux « eaux d'alimentation » sont d'origine diverse, elles peuvent être d'origine bactérienne, virale ou parasitaire.

Nous avons comme **maladies d'origine bactérienne** : les *Vibrionaceae* qui donnent le choléra, les *Salmonella* qui donnent la fièvre typhoïde, les *Shigella* qui donnent la dysenterie bacillaire. Nous avons comme **maladies virales** : la poliomyélite, les hépatites infectieuses dont l'hépatite A. Enfin comme **maladies d'origine parasitaire** nous avons : la bilharziose, les ankylostomiases, les dracunculoses, les amibiases qui sont des Protozoaires responsables de diarrhées sanguinolentes.

### B/- L'AIR

L'étude de la microbiologie de l'air est, en rapport direct et étroit avec les infections aérogènes. Dans les années 1860, Louis Pasteur réalise un certain nombre d'expériences et démontre la présence d'un certain nombre de microorganismes dans l'atmosphère. Il montre que l'air contient des corps organiques visibles au microscope et, que leur distribution n'est pas uniforme dans l'atmosphère. L'air des montagnes est pur et renferme peu ou pas de germes tandis que, l'air des villes est au contraire contaminé par les populations denses qui les habitent.

Les microorganismes sont exceptionnellement à l'état libre dans l'atmosphère, ils se fixent habituellement sur des supports dont le volume et le poids spécifique conditionnent l'évolution.

Ainsi nous avons comme vecteurs les « **poussières** » et les « **gouttelettes d'expectorations** ». Les poussières sont de grosses particules qui sont de nature minérale, organique diverses. Nous avons les fibres végétales, les déchets tissulaires animaux, les poils, les grains de pollen, et fragments de cellules épithéliales cutanées.

## **MICROORGANISMES TOXINOGENES**

Les « gouttelettes d’expectorations » représentent un danger plus important sur le plan épidémiologique. Elles sont constituées de « macro gouttelettes de Flugge » et, de « micro gouttelettes » produites par l’atomisation des sécrétions pharyngées et, nasales au cours des toux ou éternuements.

La flore microbienne est caractérisée par sa grande variabilité. Dans l’atmosphère extérieure, les microorganismes rencontrés varient en quantité selon les conditions d’environnement.

Ils sont beaucoup plus nombreux dans les zones chaudes que dans les zones froides; également plus nombreux dans les villes qu’en campagne. Les espèces « bactériennes » rencontrées souvent appartiennent aux genres: **Bacillus**, **Micrococcus**, **Staphylococcus**, **Flavobacterium**, **Corynebacterium** ... Des « champignons » sont aussi rencontrés avec les genres : **Aspergillus**, **Penicillium** ...

On distingue deux infections par les voies aériennes supérieures qui sont : les maladies contagieuses aérogènes et les infections respiratoires liées à l’environnement.

**1/ - les maladies contagieuses aérogènes** Ce sont des maladies qui se transmettent d’individu à individu par l’intermédiaire de l’air ambiant et elles sont de plusieurs ordres :

\* **Origine bactérienne** : coqueluche, pneumonie, diphtérie, méningite, tuberculose ...

\* **Origine virale** : grippe, adénovirus, variole, oreillons, herpes, rougeole, rubéole, varicelle

**2/ - les infections respiratoires liées à l’environnement** Elles sont transmises par les microorganismes présents dans le milieu extérieur à l’homme. Ce sont des « **infections parasitaires** » de type aspergillose, actinomycose, candidose ...

## **C/ - LE SOL**

Le sol est défini comme la partie de la croûte terrestre où la géologie et la biologie se rencontrent, il est en effet un milieu vivant sur un support organique et minéral solide et ses caractéristiques varient très largement suivant le lieu, le climat et la profondeur. Le sol renferme des matières organiques, minérales, de l’eau libre, des gaz circulants dont les principaux représentants sont : l’anhydride carbonique, l’oxygène, l’azote ... L’on a aussi une phase biologique constituée de forme végétale, animale et de microorganismes

La flore microbienne est très variée et comprend des bactéries, des champignons, des algues, des protozoaires et des virus. Le nombre de ces microorganismes peut atteindre plusieurs milliards par gramme de sol avec, les bactéries qui sont les plus importantes (1 à 10 milliards/ gr. de sol).

## **D/ - LES ETRES VIVANTS**

La peau et les muqueuses de l’homme hébergent une infinie variété de microorganismes commensaux ou saprophytes qui constituent la « flore normale » résidente de la peau, des muqueuses respiratoires, digestives ou même vaginales.

- **La flore de la peau** est constituée en prédominance de :

\* Corynebactéries \* *Staph. aureus* \* Coliformes \* Microcoques \* *Bacillus* \* Levures et Moisissures

- **La flore de la bouche** \* Streptocoques hémolytiques \* *Staphylocoques*

\* *Neisseria* \* *Lactobacillus* \* *Hemophilus* \* Corynebactéries.

- **La flore du tube digestif:** l’acidité du tube digestif empêche toute multiplication microbienne. Par contre les intestins sont le siège d’un développement abondant et, varié d’une flore qui se modifie avec l’âge. Ainsi nous avons la « **flore de Veillon** » composée de :

\* *Bifidobactérium* \* *Steptococcus* \* *Pseudomonas* \* *Bacteroides* \* *Veillonna* \* *Clostridium*

\* Levures \* Coliformes ... La « **flore de Doderlein** » est spécifique au vagin avec les *Lactobacillus*

**LES PRINCIPALES  
BACTERIES  
TOXINOGENES  
RENCONTREES  
DANS LES ALIMENTS**

## **GENERALITES SUR LES TOXINES BACTERIENNES**

### **I/ - DEFINITION ET CLASSIFICATION**

Une toxine bactérienne est définie comme toute substance toxique et antigénique élaborée par les microorganismes de type bactérien. L'on assiste alors à une libération d'enzymes diverses (streptolysine, hyaluronidase...) par ces bactéries qui sont à l'origine des lésions.

Une classification des toxines a été réalisée par Raynaud et Allouf d'une part en fonction de la localisation de cette toxine et d'autre part en fonction de sa nature chimique ce qui a permis de distinguer cinq (5) groupes de toxines.

En fonction de la localisation de la toxine au cours de la phase exponentielle de la croissance bactérienne, l'on deux (2) types de toxines :

- l'endotoxine qui est libérée après la lyse de la bactérie et,
- l'exotoxine qui est totalement ou partiellement libérée au cours de la vie du germe

En fonction de la nature chimique, nous avons également deux (2) types de toxines à savoir : les toxines protéiques et les toxines glucidolipidoprotéique

**TABLEAU DE CLASSIFICATION DES TOXINES BACTERIENNES**

<b>Localisation au cours de la croissance exponentielle</b>		<b>Groupe</b>	<b>Nature chimique</b>	<b>Principales bactéries toxinogènes</b>
Restent localisées dans la cellule bactérienne ou à sa surface et ne sont libérées qu'à la lyse des bactéries	Toxines intra-cytoplasmiques	I	Protéique	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Yersinia pestis</i> <i>Clostridium perfringens</i>
	Toxines constitutives des parois bactériennes	II	Complexe Glucido-lipido-poly-peptidique	La plupart des bacilles Gram négatif (BG -) Ex : <i>Salmonella</i> dotée d'endotoxines classiques
	Toxines faiblement liées à la surface bactérienne	III	Protéine	Entérotoxine de <i>Staphylococcus aureus</i>
Entièrement libérées dans le milieu de la phase exponentielle	Exotoxines vraies	IV	Protéine	Entérotoxine de <i>Vibrio cholerae</i> Toxine de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Partiellement libérées dans le milieu en phase exponentielle	Toxines à localisation mixte : Endocellulaire et Exocellulaire	V	Protéine	<i>Clostridium botulinum</i> <i>Clostridium tetani</i> et, de nombreux autres <i>Clostridium</i>

**TABLEAU DES DOSES LETALES (DMM) DES TOXINES**

TOXINES	Dose Minimale Mortelle (DMM) par mg de Protéine (pour la Souris)
Toxine Botulinique A	2 à 6. 10 -11 g.
Toxine Botulinique B	2,5 à 3,5 10 -11 g.
Toxine Botulinique E	8. 10 -8 g.
Toxine Diphtérique	6,2 10-8 g
Toxine Alpha de Clostridium perfringens	3,3 10-4 g
Toxine Staphylococcique Alpha	10-6 g
Toxine Tétanique	2 à 5. 10-11 g

**II/ - PROPRIETES DES TOXINES**

**II.1./ - Les Toxines Protéiques**

Il existe près de 140 toxines différentes inventoriées dont certaines possèdent un **pouvoir toxique très élevé**, c'est le cas des toxines botuliniques et des toxines tétaniques qui sont les plus actives connues à ce jour (1 mg de toxine suffit pour détruire 1000 tonnes de matières vivantes). D'autres ont par contre une **spécificité d'action très étroite** et dont chacune provoque des symptômes particuliers. Enfin il en existe qui sont dotées d'un **pouvoir antigénique très fort** et, qui seront capable de produire des **anticorps** en réaction au contact de l'organisme avec ces toxines : ce sont des **antitoxines** qui seront à l'origine de l'obtention **d'anatoxines** qui fourniront les vaccins.

**II. 2. / - Les Toxines Glucido-lipido-protéiques**

Ce sont les constituants de la cellule bactérienne, injectée à faible dose à l'animal, l'endotoxine des bacilles Gram négatif (BG-) provoque une leucopénie intense et, une réaction fébrile en 30 mn qui caractérise son pouvoir pyrogène. Elles vont provoquer la mort de l'animal par collapsus-cardiovasculaire, lorsqu'elles sont injectées à doses élevées.

Le pouvoir antigénique des endotoxines étant faible, elles ne fournissent pas d'anatoxines et, d'antitoxine.

**III/ - LES DIFFERENTS TYPES DE BACTERIES**

Les critères établis pour la microbiologie alimentaire comportent à de rares exceptions près toujours les mêmes microorganismes pathogènes dont certains sont dits toxinogènes. Ainsi a-t-on choisi de présenter les principales bactéries toxinogènes retenus d'intérêt, leur signification et les méthodes d'analyses recommandées. En effet, il existe : des microorganismes utiles, d'autres indésirables et des espèces toxinogènes.

-**Les microorganismes utiles** ont la propriété de sécréter des enzymes qui améliorent les qualités organoleptiques des aliments. (fromages, charcuterie, levain des fermentations).

-**Les microorganismes toxinogènes** vont quant à eux, sécréter des entérotoxines dans l'aliment. C'est le cas de *Staphylococcus aureus* qui est la principale espèce entéro-toxinogène responsable de toxi-infection alimentaire (TIA) plus précisément « **d'intoxination** ». Il faut rappeler que l'on distingue trois (3) types de TIA à savoir :  
**-L'intoxination** où, la toxine est libérée en dehors du tube digestif, c'est le cas de *S. aureus*  
**-L'intoxication** où, la toxine est libérée dans le tube digestif (*Clostridium perfringens*) et,  
**-L'invasion** où l'on assiste à une multiplication de la bactérie qui envahie les organes, c'est le cas de *Salmonella*.

## LES BACTERIES TOXINOGENES

### A/- STAPHYLOCOCCUS AUREUS

#### I/- GENERALITES ET HISTORIQUE

Le genre **STAPHYLOCOCCUS** retient l'attention en microbiologie alimentaire car certaines espaces seront responsables d'altération des denrées alimentaires et d'autres potentiellement pathogènes.

- S. aureus* a été découvert par **Louis PASTEUR** en 1880 à partir d'un pus
- En 1883, **OGTON** lui donne le nom de **STAPHYLOCOCCUS**
- En 1884, **ROSENBACH** permet la réalisation de sa mise en culture.

#### 2/- HABITAT

C'est une bactérie ubiquiste ; qui vit dans l'air, le sol et l'eau...

C'est également une bactérie commensale de la peau et des muqueuses de l'homme ainsi que celles des animaux.

Ce germe est localisé dans les zones humides, dans les selles, les fosses nasales ... Au niveau géographique, il est retrouvé partout.

C'est une espèce bactérienne, une bactérie pathogène pouvant être présent sur le cuir et dans les mamelles et dans le tractus digestif et génital des animaux vivants. Elle peut provenir aussi de pollutions d'origine humaine (manipulation, rhume, etc.).

*Staphylococcus aureus* est toujours dénombré en faible quantité ; il est même souvent absent sur les produits de qualité microbiologique correcte. La présence de cette bactérie à des taux supérieurs aux critères proposés indique que les règles d'hygiène n'ont pas été respectées.

#### 3/- POUVOIR PATHOGENE

La transmission est réalisée de manière directe : interhumaine par contact manu porté et, aéroporté. Elle est également réalisée de manière indirecte par la voie interhumaine et, par les aliments : c'est la voie de l'intoxication.

Au niveau de la pathologie, elle est caractérisée par des suppurations cutanées, des localisations viscérales, des bactériémies passagères ou septicémies.

Les atteintes digestives vont indurer une toxi-infection alimentaire ou intoxication, liées à l'ingestion d'entérotoxine préformée dans l'aliment et, qui résiste à la chaleur.

Les principaux symptômes sont : les nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales, déshydratation ... toutefois avec une absence de fièvre.

#### 4/- TAXONOMIE ET CARACTERES MORPHOLOGIQUES

-Famille : **MICROCOCCACEAE**

-Genre : **STAPHYLOCOCCUS**

\*Autres genres : **MICROCOCCUS, STOMATOCOCCUS, PLANOCOCCUS**

-Espèce : **aureus**                          Autres espèces : *epidermidis, intermidis, delphini...*

-Morphologie : ce sont des cocci Gram positif (+), immobiles, acapsulés, sporulés, ils se présentent sous forme isolée, en diplocoque ou, en amas (grappe de raisin)

## **MICROORGANISMES TOXINOGENES**

## **5/- CARACTERES CULTURAUX**

- Ils poussent à température mésophile : 37 C, et a un pH neutre = 7,5.
  - Ce sont des germes aéro-anaérobies facultatifs (AAF)
  - La culture est réalisée sur milieux ordinaires exemple : \* Gélose et Bouillon ordinaire
  - Les Staphylocoques anaérobies s'appellent : *Peptococcus*, ils appartiennent à la flore de VEILLON ou, flore normale du tube digestif ;
    - La culture est également réalisée sur des « milieux sélectifs » avec comme exemples : \* Chapman \* Baird-Parker \*Vogel Johnson...
      - En bouillon, l'on a un aspect trouble sur toute la hauteur du tube
      - Sur gélose, l'on a des colonies jaunes, lisses, ronde, collante, adhésive et dote d'un pigment jaune non diffusible.

## **6/- CARACTERES BIOCHIMIQUES ET ANTIGENIQUES**

- Aéro-Anaérobie Facultatifs (AAF) - Cytochrome Oxydase négatif (-) -Catalase positif (+)
  - Mannitol positif (+) -DNAse positif (+) -Test de VOGES Proskauer positif (+)
  - Phosphatase positif (+) -Th +
  - Antigène de structure :** Ag. K
  - Antigènes solubles :** ils sont à l'origine de la sécrétion de toxines et d'enzymes
  - Au niveau des « **toxines** » nous avons : l'hémolysine, la leucocidine et l'entérotoxine.
  - Au niveau des « **enzymes** », ce sont principalement la coagulase et la thermo nucléase
  - Antigènes de surface :** la protéine.

## **7/- SUBSTANCES ELABOREES**

## -a/- Les Toxines

Les toxines secrétées sont toutes thermostables avec cinq principaux types :

- \* Les Hémolysines alpha, beta, gamme et delta
  - \*Les Leucocidines
  - \*Les Entérotoxines avec six (6) stéréotypes : A, B, C1, C2, D et E. Les Enterotoxines A, B et D sont fréquentes, elles entraînent des toxi-infections alimentaires par intoxication.
  - \*L'Exfoliatine chez les Staphylococcies cutanées et bulleuses.      \* la Toxine du choc toxique

## -b/- Les Enzymes

Au niveau des enzymes, nous avons :

- \*La Coagulasse libre responsable de la coagulation du plasma      \*La Coagulasse liée
  - \*La Fibrinolyse                  \*La Staphylokinase                  \* La Hyaluronidase
  - \*La Thermonuclease              \* La DNAse                        \*Les Phosphatases alcaline et acide
  - \*Les Lipases                      \*Les Estérasées                    \*Les Protéases

#### 8/- SIGNIFICATION DE LA PRESENCE DE STAPH. COAGULASE +

Les *Staphylococcus* sont des parasites saprophytes de l'homme et de l'animal.

Certaines espèces sont pathogènes opportunistes et sont à l'origine des infections locales ou générales.

Les espèces Coagulase positive (+) et Thermonucléase positive (+) sont virulentes.

Seules certaines souches appartenant aux espèces : *S. aureus* et *S. intermedius* sont capables de produire des entérotoxines.

## **MICROORGANISMES TOXINOGENES**

*Staphylococcus aureus* est présent dans les fosses nasales et sur la peau qui constituent les principaux réservoirs du germe. *S. aureus* de l'environnement peut également contaminer les aliments cuits.

La contamination humaine est très fréquente et, la conservation des aliments est le lieu de prédilection de la multiplication du germe déclenchant ainsi une entérotoxine.

L'incidence réelle dans les aliments de *S. intermedius* n'est pas connue

*S. delphini* a été isolé chez le dauphin. *S. hyicus* partage certains caractères avec *S. aureus* qui est isolé chez les porcs, les bovins, les volailles et les chevaux, cela pose ainsi un problème d'identification.

### **9/- DIAGNOSTIC MICROBIOLOGIQUE**

#### **(Dénombrement et Identification)**

- La première phase du diagnostic est réalisée hors du laboratoire avec :

\*L'Echantillonnage    \*Le Prélèvement    \*Le Stockage

\*Et le Transport qui se fait dans une glacière avec un accumulateur de glace.

- La deuxième phase est quant à elle réalisée entièrement au laboratoire avec :

\*La Prise d'essai et, la réalisation de la suspension mère

\*L'Ensemencement et, l'Incubation

\*Le Dénombrement, l'Identification et la Confirmation.

Le dénombrement est réalisé selon la norme AFBOR V08 014 modifié : ensemencement de 0,1 ml de suspension mère ou de dilution à la surface du milieu Baird – Parker. Incubation à 37° C. Lecture des boites après 24 à 28 heures d'incubation. Toute autre méthode donnant des résultats équivalents peut être utilisée.

- **Prise d'essai** : on prend 25 grammes d'aliment ou d'échantillon.

- **Enrichissement** : il permet de revivifier les germes présents les 25g d'aliment sont mis dans 225ml d'eau peptonnée tamponnée (EPT) pour une suspension mère qui est diluée au 1/10

- **Dilution décimale et ensemencement** : à partir de la suspension mère (225 EPT/25g d'aliment), des dilution décimale sont réalisés. Ensuite 0,1ml de chaque dilution est utilisé pour un ensemencement par étalement sur **milieu Baird Parker** coulé en boite de Pétri. Le milieu Baird Parker est le milieu sélectif avec trois agents sélectifs : la glycine, le tellurite de potassium et le chlorure de lithium. L'on va assister au métabolisme lipidique des germes avec la production de lécithine.

**Identification** : après cet ensemencement, les boites sont incubées mises à l'étuve à 37°C pendant 45 à 48heures. Après ces deux jours, on va dénombrer les colonies de *Staphylococcus aureus* qui se présentent sous forme de « **colonies noires** » brillantes, bombées entourées d'un halo clair s'étendant dans le milieu opaque. En général, on choisit les géloses contenant les boites ayant entre 20 à 200 colonies suspectes.

## B/- LES ENTEROBACTERIES TOXINOGENES

### I/- DEFINITION

Les Entérobactéries sont des **bacilles Gram négatif (-)**. Elles sont immobiles ou mobile grâce à une ciliature périritrice. 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 périritrice pour tous les autres. Elles sont asporulées, acapsulées sauf *Klebsiella*

### III/- CARACTERES CULTURAUX

#### 1/- Bouillon Ordinaire : (AAF)

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

#### 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 Yersiniae** : \*Genre *Yersinia*
- **Tribu des Klebsiellae** : \**K. pneumonia* \**Enterobacter cloacea*\* *Serratia* \**Hafnia*
- **Tribu des Proteae** : \* *Proteus mirabilis* \* *Morganella* \**Providencia alicalifaciens*

## 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. vulneris**. En 1985 c'est **FARMER** et coll. qui identifient **E. fergusonii**.

#### 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 conduirez 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-toxinogene** (ECEP) qui produit des toxines et, responsable de diarrhée du voyageur ainsi que les crampes abdominales, nausées et fièvre.

\***E. coli entéro-aggrégant** (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

-Especies : *coli*, *blattae* (1987), *hermanii* (1982), *vulneris* (1982), *fergusonii* (1985)

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

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

#### C/ - Caractères culturaux

**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-anaérobiose facultatif (AAF), cultivable sur les milieux usuels et, sélectifs.

## ***MICROORGANISMES TOXINOGENES***

### **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. col, l'on recherche l'apparition d'un précipité noir et, si l'on a une couleur rose (colonie H2S+/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 (+) Gaz (+)	LDC (+) (Lysine DeCarboxylase)	Mannitol (+)	Citrate (-)
Indole (+)	Lactose (+)	LDA (-) (Lysine DeAminase)	Mobilité (+)	
TDA (-) Tryptophane DA	H2S (-)		Nit-R (+) 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 Lemino 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/ - Épidémiologie :**

##### **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.

C'est une espèce bactérienne, une bactérie pathogène pouvant être présent sur le cuir et dans le tractus digestif de l'animal vivant porteur sain, rarement décelé à l'intérieur des masses musculaires. Elle peut se trouver sur les carcasses après abattage : lors des opérations d'abattage, elle passe directement ou indirectement du cuir à la carcasse pour les bovins, ovins et équins.

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 ...)

*Salmonella* peut donner lieu à des contaminations croisées tout au long de la chaîne de fabrication des produits « **viande** » et ultérieurement en cuisine.

##### **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 :**

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

## MICROORGANISMES TOXINOGENES

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

### B/ - Caractères morphologiques (4) : BG-, acapsulé, asporulé, mobilité péritrice

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

### C/ - Caractères culturaux

#### 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 - Kauffmann \* 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 H2S (+) 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 H2S positif (+)

Urée-Indole	Kligler-Hajna	Lysine de fer	Mannitol-Mobilité	Citrate de Simmons
Urease (-)	Glucose (+) Gaz (+/-)	LDC (+) (Lysine DeCarboxylase)	Mannitol (+)	Citrate (+)
Indole (-)	Lactose (-)	LDA (-) (Lysine DeAminase)	Mobilité (+)	
TDA (-) Tryptophane DA	H2S (+/-)		Nit-R (+) Nitrate Réductase	

NB : \*H2S (+) sauf *S. paratyphi* A et *S. choleraesuis* qui sont négatifs (H2S-)

\*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 Lemino 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 » adapté 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/ - Épidémiologie :**

**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 favorisants :** 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), cocoïde à coloration bipolaire.

#### **C/ - Caractères culturaux**

**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

## MICROORGANISMES TOXINOGENES

### 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 (+) Gaz (+/-)	LDC (-) (Lysine DeCarboxylase)	Mannitol (+) Sauf <i>S. dysenteriae</i>	Citrate (+)
Indole (-/+)	Lactose (-) <b>ONPG (+)</b>	LDA (-) (Lysine DeAminase)	<b>Mobilité (-)</b>	
TDA (-) Tryptophane DA	H2S (-)		Nit-R (+) 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 negatif (-), 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 negatif (-), 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. culturaux \* C. biochimiques \* antibiogramme

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

5/ - Identification différentielle

\**Alcaligene feacalis* → 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 / - 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. enterolitica*** 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 enterolitica***

**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 : Yersiniae**

**\* Genre : *Yersinia* \* Espèces : *Yersinia enterolitica* +++ *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 culturaux**

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

***Y enterolitica*** est une bactérie « psychophile » 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, **H2S** (-)

## MICROORGANISMES TOXINOGENES

### 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>Uréase active</b> plus rapide	<b>H2S (-)</b>	Saccharose (-)
	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. enterolitica* : 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, culturaux et surtout « biochimiques ».

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

## C/- LES NON ENTEROBACTERIES TOXINOGENES LES VIBRIONACEAES : VIBRIO CHOLEREA

### I/ - GENERALITES ET HISTORIQUE

Les « **Vibrionaceaes** » sont des bactéries retrouvées dans les eaux douces et les eaux marines, dans le tube digestif d'animaux à vie aquatique et celui de l'homme. Ce sont des bacilles Gram négatif (BG-) non entérobactéries, mobiles ou immobiles, asporulés, aérobies, oxydase positif, réduisant les nitrates en nitrites (NR+), dégradants le glucose avec ou sans production de gaz. Ils sont cultivables sur milieux ordinaires, indologènes et protéolytiques.

« **VIBRIO** » est l'agent causal de plusieurs pandémies, la 1ere découverte a eu lieu en **1817**. En **1883**, **Robert KOCH** confirme qu'il s'agit du **Bacillus komma** également présente en Egypte. En **1905**, **Lazeret d'EL TOR** lui donna le nom de **VIBRIO cholerae bio. de type El TOR** En **1961**, c'est la 7eme pandémie en Indonésie et en 1970 ce fut l'Afrique qui fut affectée avec la Guinée (aout 70), la Côte d'Ivoire (Sept 70) et l'Afrique du sud en **1979**. En **1990**, c'est en Amérique latine que la pandémie se répand.

### II/ - HABITAT, EPIDEMIOLOGIE ET POUVOIR PATHOGENE

L'homme est le principal réservoir de cette bactérie mais également les aliments tels : que les eaux de consommation, les poissons, les crustacées...

Au niveau de la « **contamination** » : elle est soit directe, soit indirecte. La contamination directe est interhumaine avec le manuportage, l'aéroportage et le potage digestif. La contamination indirecte est réalisée dans les foyers avec les excréments des malades, les mouches comme agent vecteur et, elle affecte les eaux, le lait et bien d'autres aliments...

Au niveau « **épidémiologique** », les facteurs favorisants sont : le bas niveau socio-économique, le problème de l'eau et le non-respect des règles élémentaires d'hygiène (lavage des mains...)

Au niveau de la « **clinique** », il existe trois formes : la forme grave ou « **cholera** », la forme bénigne avec une simple diarrhée et, la forme atypique ou « **cholera sec** ».

Les **manifestations possibles** dans les trois cas sont : diarrhées, crampes musculaires douloureuses, douleurs abdominales, vomissements, déshydratations, baisse de la tension artérielle, pouls et respiration accélérée mais pas de fièvre.

Au niveau physiopathologique, l'on note la présence d'une « **toxine cholérique** (CT) » qui est une exotoxine qui entraîne une fuite de liquide et d'électrolytes.

L'agent responsable du cholera est le **Vibrio cholera O :1** qui est très dangereux, entraînant la mort en quelques heures.

Le **Vibrio parahemolyticus** (VP+) est fréquent dans les crustacés et dans certains poissons.

Tous les **Vibrio** ne donnent pas de diarrhées, ils aiment tous le sel soit donc les lagunes et, les eaux de mer.

**III/ - CARACTERES BACTERIOLOGIQUES**

**III. 1/ - Taxonomie et Morphologie**

- Famille : Vibrionnaceae            -Genre : Vibrio            -Espèces : *Vibrio cholerea* (O :1)  
-Biotype : *V. cholerea*, biotype El Tor / *V. cholerea* non O :1 (de O :2 à O ;139) avec 11 espèces pathogènes humains (Ex : *V. cholerea* O :1/ *V. parahemolyticus* / *V. vulnificus*)

Ce sont des bacilles Gram négatif (BG-), incurvé en virgule, mobilité polaire monotrichie, acapsulé et asporulé.

**III. 2/ - Caractères Cultureaux et Antigéniques**

- Aérobiose préférentiel            -Température : 37°C    -pH: 8            -Halo résistant (NaCl 5%)  
-Culture sur milieux usuels ou ordinaires    -Milieu sélectif : TCBS  
-Antigène somatique (**Ag.O**) : glucidolipidopolypeptidique spécifique à *Vibrio cholerea* permet de distinguer trois variétés  
-Antigène flagellaire (**Ag.H**) : protéique, commun à tous les *Vibrio*

**IV/- RECHERCHE DES « VIBRIO » DANS LES ALIMENTS**

**1/- Prélèvements :**

On peut rechercher **VIBRIO** dans les eaux et, les aliments tels que les poissons et les crustacés. Pour le prélèvement de l'eau, l'on a la méthode par « filtration sur membrane » ayant un diamètre de l'ordre de 0,2 um. L'on peut également prendre directement 500 ml d'eau pour les mélanger avec de l'eau peptonée alcaline. (EPA)

**2/- Enrichissement**

Dans l'eau peptonée tamponnée contenant du chlorure de sodium (NaCl) qui joue le rôle de sélectivité, en inhibant les autres bactéries. C'est une bactérie à multiplication rapide (30 mn)

**3/- Isolement**

L'ensemencement permet d'avoir des colonies isolées, il est réalisé à la surface par stries. A partir de l'eau peptonée alcaline (EPA), on ensemence sur le « **milieu TCBS** » : Thiosulfate Citrate Bile Saccharose qui est de couleur verte et également, sur de la gélose alcaline blanchâtre.

La bile va inhiber la croissance des bactéries Gram (+) et Gram (-). Ces deux milieux sont mis à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

**4/- Lecture et Identification**

-Sur « **TCBS** », l'on aura des **colonies jaunes** qui fermentent le saccharose. Ce sont de grosses colonies de 2 mm de diamètre. Les colonies vertes sont dites « saccharose négatif (-) ».

L'indicateur colore permet de vérifier l'utilisation d'un élément dans le milieu de culture : le bleu de bromothymol de couleur verte.

-Sur la « **gélose nutritive alcaline** » : l'on a de grosses colonies qui sont translucides bleutées et, dotées de plusieurs caractères spécifiques.

**a/- Caractères morphologiques :**

\* Examen à l'état frais : mobilité polaire \* Coloration de Gram : B. Gram (-) incurvé en virgule

**b/- Caractères biochimiques :** \* Aérobiose –Anaérobiose Facultative (AAF) \* Oxydase positif (+)

\* Catalase (+) \* Réduction Nitrates \*Fermentation du glucose \* Lactose (-) \*ONPG (+)

**c/- Caractères antigéniques :** \* Ag O / \* Ag H

**Ag O** : sérotypage avec l'immuno-sérum anti-*VIBRIO cholerea* O : 1 qui induit une agglutination

## **D/- LES BACTÉRIES ANAEROBIES STRICTES TOXINOGENES**

### **I/- GENERALITES**

#### **I.1./ - DEFINITION**

Les bactéries anaérobies strictes forment un groupe dont la propriété essentielle est leur incapacité de vivre en présence d'oxygène : l'oxygène exerçant sur elles une action bactéricide ou bactériostatique. En effet, ces bactéries possèdent dans leur cellule, une chaîne de phosphorylation oxydative directe produisant de l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) en présence d'oxygène ( $O_2$ ) moléculaire. Cette eau oxygénée s'accumule et exerce une action bactéricide en absence d'une catalase.

#### **I.2./ - CLASSIFICATION GENERALE**

Les bactéries anaérobies strictes sont divisées en deux (2) principaux groupes à savoir : les « **Telluriques et sporulées** » et les « **Non Telluriques et non sporulées** »

##### **a/ - Les Anaérobies Telluriques et Sporulées**

Ce sont des bacilles Gram positif (+) vivant dans le sol, très résistantes sous leur forme sporulée et pouvant élaborer une toxine protéique.

Ce groupe comprend :

- les anaérobies saprophytes
- les anaérobies des maladies toxiques comme le « botulisme » qui est une intoxication et le « tétanos » qui est une toxi-infection.
- les anaérobies des gangrènes gazeuses (toxi-infections)
- une bactérie intermédiaire : Clostridium perfringens, commensale des cavités naturelles de l'homme et de l'animal mais pouvant donner des gangrènes gazeuses, des toxi-infections alimentaires ou des septicémies avec manifestations toxiques.

##### **b/ - Les Anaérobies Non Telluriques et Non Sporulées (Flore de VEILLON)**

De morphologie variable, à famille et genres multiples. Ce sont des bactéries commensales des muqueuses humaines et animales. Fragiles et n'élaborant pas de toxine.

Elles peuvent être pathogènes occasionnellement : infections localisées ou septicémiques.

#### **I. 3. / - TOXINOGENESE**

Les anaérobies peuvent élaborer deux types de toxines : les protéiques et les glucido-lipido-polypeptidiques. Le pouvoir pathogène de ces germes est variable ; nul pour certains et très élevé pour d'autres.

##### **a/ -Les Toxines protéiques**

Seuls les anaérobies telluriques élaborent des toxines protéiques. Ces toxines sont endo-cellulaires ensuite diffusent dans le milieu extérieur. Elles sont thermolabiles et sont transformables en anatoxines d'où les vaccins antitétaniques.

##### **b/ -Les Toxines glucido-lipido-polypeptidiques**

Ces toxines ne sont présentent que chez quelques espèces seulement. Elles sont de loin moins toxiques que les précédentes mais, peuvent être cependant dermonécrotiques et létales pour les souris. Relativement thermostables, elles sont peu antigéniques.

**II/ - LES BACTERIES SPORULEES TELLURIQUES**

**II.1./- HABITAT ET POUVOIR PATHOGENE**

Les anaérobies telluriques sont saprophytes du sol où ils réalisent la pectinolyse, la cellulosyse, la protéolyse, la lipolyse, la fixation de l'azote, le métabolisme du soufre et du phosphate.

Ils sont commensaux et surtout abondants dans l'intestin des herbivores. Ils interviennent dans le processus digestifs et peuvent synthétiser des vitamines dont : la vitamine B12.

Certaines espèces prises en dehors de leur habitat naturel peuvent être pathogènes.

Quelques espèces sont toujours pathogènes pour l'homme ; c'est le cas de *Clostridium botulinum* et *Clostridium tetani*. D'autres peuvent le devenir sur un terrain propice (anaérobies des gangrènes gazeuses).

Enfin, d'autres sont exploités dans l'industrie pour leur pouvoir fermentaire, leur pouvoir lytique et pour la production des pectinases dans la préparation des jus de fruits.

**II.2./ - MORPHOLOGIE ET CARACTERES CULTURAUX**

Ce sont de gros bacilles Gram positif (+) à face parallèles et extrémités arrondies ou coupées net, isolés ou en chainettes.

Ils sont dotés d'une mobilité par ciliature péritricte sauf chez *Clostridium perfringens*

La spore peut être terminale (*C. tetani*), subterminale ou centrale chez les autres espèces

Ils également capsulés sauf *Clostridium perfringens*.

Les anaérobies telluriques poussent facilement en 24 heures à température mésophile sur milieux ordinaires en anaérobiose. Certaines espèces sont sulfito-réductrices. Les souches pathogènes peuvent être identifiées par toxinotypie.

**III/ - L'ESPECE CLOSTRIDIUM BOTULINUM**

**III.1./- CARACTERES GENERAUX**

Saprophytes du sol, c'est un agent d'intoxication alimentaire humaine et animale. Le «botulisme» humain, succédant à l'absorption d'aliment renfermant de la toxine est caractérisé par des paralysies flasques (oculaires et cardiorespiratoires), des troubles digestifs et urinaires, un tarissement de toutes les sécrétions surtout salivaires. Le botulisme animal est cliniquement voisin de celui de l'homme.

Le bacille botulique est mobile à ciliature péritricte, isolé ou en diplobacille avec une spore subterminale. La bactérie est détruite en trente (30) mn. à 60°C ou, en deux (2) mn. à 80°C.

La spore est très résistante : on tue ainsi 90% des spores à 115°C en huit (8) mn. et seulement les 5% restant résistent à 120°C après 10 mn.

**III.2./ - TOXINOGENESE**

**a/ - Les types de toxines botuliniques**

*Clostridium botulinum* élabore une toxine protéique dont une partie seulement diffuse dans le milieu extérieur. On connaît actuellement huit (8) types de toxines antigeniquement distinctes, désignées par des lettres A,B,C1,C2,D,E,F et G.

Habituellement, les souches de ***Clostridium botulinum***, prise isolément, élaborent un seul type de toxine. Quelques rares souches synthétisent deux ou trois types de toxines à la fois (A et B par exemple) ; dans ce cas une des toxines est majeure et l'autre mineure.

### b/ - Les propriétés et le pouvoir toxique de la toxine botulique

La toxine peut se transformer en anatoxine : le vaccin botulinique. Cette toxine thermolabile, présente dans un aliment est inactivée par une simple cuisson. Elle est synthétisée en milieu de culture entre le 5eme et le 10eme jour.

La toxine botulinique est le poison le plus puissant qui existe. La toxine A est la plus active.

La dose létale chez l'homme adulte est estimée à 100 mg (1 mg par voie orale) et, 1 mg de toxine renferme 2 à 8 X 10 (8) DL<sub>50</sub> pour la souris.

### c/ - Les différentes formes de botulisme

La maladie n'est pas transmissible entre individus, mais résulte le plus souvent d'ingestion d'un aliment contaminé. Trois (3) formes de botulisme peuvent être distinguées selon le mode de contamination.

**-L'intoxination botulinique** due à l'ingestion de toxine botulinique préformée dans un aliment. C'est la forme la plus fréquente.

**-La toxi-infection botulinique** causée par l'ingestion de bactéries et/ou spores de ***Cl. botulinum***. Elle est observée chez les jeunes enfants (0-9 mois, botulisme infantile) dans certaines régions du monde comme la partie ouest des USA. La multiplication de Clostridium neurotoxinogènes dans l'intestin s'accompagne de production de toxine in situ qui atteint ensuite les motoneurones. Dans un tiers des cas, le botulisme infantile a été attribué à l'ingestion de miel et dans un autre tiers à l'inhalation de poussières contaminées par des spores de ***Cl. botulinum***. Le botulisme par toxi-infection est également observé chez les adultes. Une chirurgie digestive ou des cancers intestinaux sont des causes favorisantes de toxi-infection.

**-Le botulisme par blessure** se déclare à la suite d'inoculation de bactéries et/ou de spores de ***Cl. botulinum*** dans une plaie. Cette forme est rare mais, elle est actuellement en recrudescence chez les personnes s'injectant des drogues.

### d/ - Le mode d'action de la botuline et les symptômes du botulisme

La toxine et les bactéries vivantes ingérées passent sans dommage la barrière gastrique.

La toxine retrouvée dans l'intestin correspond à la toxine ingérée et, à la toxine libérée lors de la lyse bactérienne. La botuline résiste donc à l'acidité gastrique et aux sucs digestifs.

Une fois dans l'intestin elle passe dans les lymphatiques puis dans le sang et, va se fixer sur le tissu nerveux.

L'intoxication se traduit par une paralysie générale (de type flasque) de l'activité neuromusculaire et du système nerveux autonome. Cette toxine empêche en effet la transmission cholinergique dont le médiateur est l'acétylcholine, empêchant ainsi l'activation du mécanisme de libération par les ions calcium (Ca)

Tous les individus sont susceptibles de développer une intoxication botulique. Les jeunes enfants sont plus à risque face à cette toxi-infection et, les drogués vis-à-vis du botulisme par blessure.

**IV/- L'ESPECE CLOSTRIDIUM TETANI**

**IV.1/- CARACTERES BACTERIOLOGIQUES**

Ce sont des bacilles Gram +, mobiles caractérisés par la position terminale de leur spore.

***Clostridium tetani*** est l'hôte normal du tube digestif des animaux mais peut persister longtemps dans le sol à l'état sporulé. Elle pénètre dans l'organisme par une plaie souillée parfois minime (piqûre par épingle) et se développe au point d'inoculation d'où elle élabore et lance dans l'organisme infecté, sa toxine responsable du tétanos qui est une toxi-infection.

La durée d'incubation est de 2 à 15 jours. La mort peut survenir même sous traitement.

La température de culture est de 37°C avec un pH de 7,4

En bouillon sous huile, elle produit un trouble homogène avec une odeur de corne brûlée.

La spore résiste à 100°C en huit (8) mn. et, en une (1) heure à 90°C

***Cl. tetani*** est peu protéolytique, elle est cependant gélatinolytique. Elle possède des peptidases et des désaminases et produit régulièrement de l'hydrogène sulfureux (H<sub>2</sub>S) et de l'indole. Elle est : glucose, saccharose, lactose, esculine et amidon négatif (-) c'est-à-dire non fermentés. Elle produit toutefois par fermentation des autres sucres, des acides acétique, propionique, butyrique et du propanol, de l'éthanol et du butanol.

***Clostridium tetani*** possède une désoxyribonucléase, mais pas de lipase dont la lecithinase.

La tétanolysine, toxine hémolytique et antigénique, produit une hémolyse sur gélose au sang.

**IV.1/- TOXINOGENESE**

***Cl. tetani*** élabore une toxine protéique d'un poids moléculaire (PM) = 67.000. Cette toxine est très active : 1 mg de toxine renferme 10 (8) DMM pour la souris.

Thermolabile et transformable donc en anatoxine (vaccin antitétanique), elle renferme plusieurs sites antigéniques, un seul entraînant l'élaboration d'un anticorps neutralisant, appelé : antitoxine ou sérum antitétanique.

La toxine élaborée au point d'infection va diffuser dans tout l'organisme par voie sanguine et par voie nerveuse pour se fixer sur les gangliosides au niveau du cerveau soit donc au niveau du système nerveux central. Après fixation, la toxine va déterminer une élévation de la chronaxie et une hyperexcitabilité des cellules nerveuses sans modification cytologique.

L'immunité peut se faire par séroprévention avec le sérum antitétanique ou par processus immunitaire actif à savoir : la vaccination.

**V/- L'ESPECE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS**

**V. 1/- CARACTERISTIQUES**

Il s'agit d'un bacille Gram positif (BG+), sporulé, immobile et capsulé

C'est un saprophyte rencontré dans le sol, l'eau, l'air et les produits alimentaires (viandes, légumes, semi-conserves...). Il est également un commensal de l'homme et des animaux, présent dans les cavités naturelles, les voies respiratoires.

***Cl. perfringens*** est souvent pathogène et responsable chez l'homme de :

-Myosites, après une plaie souillée de terre et à l'origine de gangrènes gazeuses

-Viscérites, toxi-infections alimentaires graves ou bénignes survenant par petites épidémies collectives

-Appendicites, Méningites et Septicémies

## **MICROORGANISMES TOXINOGENES**

Chez l'animal, *Cl. perfringens* est responsable d'entérotoxinémies, d'hépatites nécrosantes, de mammites...

*Cl. perfringens* est anaérobie strict mais, extraordinairement réducteur : il réduit rapidement les milieux où on le place et, supporte des potentiels redox de départ.

En gélose profonde, elle donne des colonies lenticulaires noires avec un dégagement très important de gaz disloquant la gélose. En bouillon, l'on obtient un trouble avec odeur de rance.

*Cl. perfringens* est dotée : d'une lécithine très active, une lipase et d'une **sulfito-réductase active**. Elle produit divers types de toxine selon la souche.

La dose minimale infectante de *Clostridium perfringens* ne paraît pas connue. En théorie, le dénombrement des spores et des cellules végétatives de *Clostridium* est considéré comme révélant la présence de *Cl. perfringens*.

### **IV. II/ - DENOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES A.S.R**

C'est en fait le dénombrement des spores des « ASR » qui peuvent être isolées en utilisant des milieux gélosés contenant du sulfite reparti dans des tubes.

Le milieu doit contenir environ 0.45% de sulfite. Ex : \***milieu TSN** (tryptone –Sulfite-Neomycine) / \***milieu TSC** (Tryptone –Sulfite-Cycloserine).

Ces milieux seront chauffés pendant 10 mn. dans de l'eau bouillante puis, refroidis à 45°C.

Un (1) ml de la suspension mère et, des autres dilutions sont portées successivement dans les tubes régénérés et refroidis. L'inoculum et le milieu sont mélangés en évitant d'introduire de l'air.

Après solidification de la gélose, les tubes sont incubés à 46°C à l'étuve pendant 24 à 48 heures. Les bactéries anaérobies ne possèdent pas d'oxyde disulfatase, pas d'oxydase, catalase et de peroxydase. Identifiées par la présence de « **colonies noires** » floconneuses avec un diamètre supérieur à 1 mm.

On peut réaliser la confirmation en repiquant, les colonies noires sur une boîte de gélose à l'œuf de Willis.

#### **PHOTO D'ISOLEMENT ET DENOMBREMENT DES « ASR » SUR MILIEU TSN**



*LES BACTÉRIES  
TOXINOGENES*

*TRAVAUX DIRIGÉS*

**TOXI-INFECTIONS 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 forcement 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
- 7/ - Donner la définition des termes suivants :  
a/ - Toxi-Infections                  b/ - Intoxications                  c/ - Intoxinations
- 8/ - Donner les définitions de la réfrigération; la congélation et la surgélation

**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/ - Les *Salmonella* sont-elles responsables d'intoxications ? Pourquoi ?
- 3/ - Donner la définition d'une toxine
- 4/ - Quels sont les deux (2) germes responsables d'intoxications alimentaires  
a/- *Staph. aureus*    b/- *Salmonella*    c/- *Lactobacillus lactis*    d/- *Candida albicans*.  
e/- *Clostridium perfringens*    f/- *Enterococcus faecalis*    g/- *Pseudomonas aeruginosa*
- 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/ - Citer quatre (4) bactéries pathogènes pouvant être l'origine d'infections graves
- 9/ - 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

**ORIGINE DES BIOCONTAMINATIONS**

**- EXERCICE N° 1 : Microbiologie de l'Air**

- 1/ - Donner la définition des infections aérogènes tout en précisant les différents groupes
- 2/ - Les microorganismes se fixent habituellement sur des supports qui constituent les vecteurs des infections aérogènes : Présenter ces principaux vecteurs
- 3/ - Citer un (1) parasite, deux (2) virus et trois (3) bactéries, responsables d'infections aérogènes

**- EXERCICE N° 2 : Microbiologie de l'Eau**

- 1/ -Donner la définition des «**eaux d'alimentation**», préciser leurs qualités et, citer les principales origines de ces eaux.
- 2/ - Il existe plusieurs maladies dues aux eaux d'alimentation, elles ont trois principales origines : lesquelles ? Citer pour chacune d'elles deux exemples de parasites responsables

**- EXERCICE N° 3 : Microbiologie des Etres Humains**

- 1/ - Dans le cadre des relations entre «microorganismes et hôte», l'on en distingue plusieurs types ; donner la définition du parasitisme, de la symbiose et, du saprophytisme
- 2/ - Donner au moins quatre (4) germes présents dans la flore normale résidente :  
\*de la peau                    \* de la bouche                    \* du tube digestif
- 3/ - Dans les titres d'un journal « Frat-Mat » de l'An 2000 on lisait : « *Abattoir de Port-bouët, de sérieux risques de maladies; la consommation de la viande n'est plus sans danger ...* » Quel sont les principaux dangers au niveau alimentaire dont pourrait faire allusion ce quotidien ivoirien il y a près de 10 ans ? Qu'en est-il en 2014 ?
- 4/ - Peut-on accepter un animal en cuisine et, la décorer avec des plantes en pot? Pourquoi?
- 5/ - En cuisine, est ce que l'on a le droit de goûter une sauce avec le doigt ? Pourquoi?.

**ETUDE DES GERMES PATHOGENES:**  
***Staphylococcus, Clostridium, Salmonella***

**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° 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

**EXERCICE N° 5 : Entérobactéries (Salmonelle)**

- 1/ - Donner la définition des Entérobactéries et présenter leurs caractères généraux
- 2/ - Présenter l'importance des germes appartenant au genre *SALMONELLA* dans le milieu des infections bactériennes et les différentes étapes nécessaires pour sa recherche
- 3/ - Déterminer les caractères biochimiques spécifiques des *SALMONELLA*

**PETIT LEXIQUE D'HYGIENE ALIMENTAIRE**

- **AEROBIE** : Germe dont le développement nécessite la présence d'oxygène
- **ANALYSES** : Examen de l'état ou des propriétés d'un produit
- **ANALYSES BACTERIOLOGIQUES** : Détermination du nombre de germes contenus dans une denrée , permettant de mettre en évidence en particulier certains germes caractéristiques d'une mauvaise hygiène ou de mauvaises conditions de travail.
- **ANTISEPTIQUE** : Substance chimique capable de détruire les germes microbiens ou d'en freiner le développement ( *Ex : chlore, eau oxygénée* )
- **ASEPTIQUE** : Exempt de tout microbe
- **APPERTISATION** : Procédé de conservation de longue durée, développé par APPERT ( 1809) consistant en un traitement par la chaleur dans un récipient étanche , afin de détruire les germes
- **BACTERIE** : Organisme microscopique vivant, nombreuses espèces dont certaines sont pathogènes. Les bactéries sont universellement présentes
- **BACTERICIDE, ANTIBACTERIEN** : Agent chimique ( *Ex chlore* ) ou physique ( *Ex : rayonnement ultra violet* ) détruisant les bactéries
- **BACTEROSTATIQUE** : Agent qui empêche la multiplication des germes
- **MALADIES D'ORIGINE BACTERIENNE** : Gastro-entérite, dysenterie, méningite, coqueluche, tétanos, diptérie, typhoïde, pneumonie, choléra, tuberculose, syphilis ...
- **CHAMPIGNONS** : Microorganismes comprenant les levures et les moisissures et situés tout à fait en bas du régime végétal.
- **FONGICIDE, ANTIFONGIQUE** : Produit qui détruit les champignons
- **MYCOSE** : Affection cutanée causée par des champignons
- **CLOSTRIDIUM** : Bactéries anaérobies comprenant de nombreuses espèces dont *Clostridium perfringens* (agent de pollution fécale, responsable d'intoxications alimentaires ) *Clostridium botulinum* (responsable du botulisme, intoxication rare mais très grave, causée le plus souvent par des conserves mal réalisées) et *Clostridium tetanii*, responsable du tétanos.
- **COLIFORMES** : Bactéries normalement présentes dans l'intestin humain et animal . Peu ou pas pathogènes mais témoins de « contamination fécale ».
- **ESCHERICHIA coli** : Bactéries de la famille des coliformes , très caractéristiques de la pollution fécale. Certaines sont pathogènes (gastro-entérite infantile )
- **COLONIE** : Population très importante de bactéries, issue d'une seule bactérie.
- **CONGELATION** : Refroidissement progressif des aliments jusqu'à 20 ° C
- **CONTAMINATION** : Transfert de microorganismes ( ou de substances ) d'un lieu à un autre , d'un produit à un autre , d'un porteur à un produit, etc ...
- **CONTAMINATION FÉCALE** : Transfert de germes originaires des matières fécales
- **DESINFECTANT** : Produit capable d'éliminer les microbes sur les matériaux
- **DETERGENT** : Produit qui dissout les souillures organiques en particulier les graisses
- **EPIDEMIE** : Atteinte simultanée d'un grand nombre d'individus par une maladie particulière
- **FERMENTATION** : Transformation de certaines substances par des enzymes microbiennes ( *Ex : la fermentation acétique transforme le vin en vinaigre* )
- **FLORE MICROBIENNE** : Ensemble des microorganismes dans un lieu donné
- **FROID** : Conditions de température qui freinent le développement microbien ( jusqu'à 6 ° C) ou l'arrêtent complètement ( à partir de - 15 ° C) mais qui ne tuent pas les germes
- **GASTRO-ENTERITE** : Affection de l'appareil digestif qui se traduit par des diarrhées et / ou des vomissements.
- **HYGIENE** : Ensemble des règles visant à l'amélioration de la santé
- **INSECTICIDES** : Substances naturelles ou synthétiques toxiques pour les insectes. Leur toxicité pour l'homme n'est jamais nulle.
- \* **PESTICIDES** : Ensemble de produits destinés à lutter contre les parasites animaux ou végétaux

## MICROORGANISMES TOXINOGENES

- **INTOXICATION ALIMENTAIRE** : Maladie provoquée par l'ingestion d'un aliment contaminé par des germes ou des substances toxiques. Intoxications provoquée par des toxines élaborées dans le produit, ou par un grand nombre de germes peu pathogènes, ou par un germe qui se développe à l'intérieur du tube digestif
- **LAVAGE** : Elimination des souillures par l'eau, additionnée ou non de produits (détecteurs, acides ...)
- \* **NETTOYAGE** : Elimination de toute souillure, généralement associé à une désinfection
- **MARCHE EN AVANT** : Organisation du travail telle que les denrées élaborées et le matériel propre ne côtoient pas les denrées brutes (sales) ou le matériel souillé
- **MESOPHILE (GERME)** : Germe qui se développe aux températures moyennes de 30 ° C
- **MICROBES, MICROORGANISMES** : Organismes vivants de très petite taille, observables seulement au microscope. bactéries, champignons, protozoaires (*amibes*), virus
- \* **MICROBICIDE, ANTIMICROBIEN** : Agent qui détruit les microbes
- **MULTIPLICATION BACTERIENNE** : Développement des bactéries par divisions successives : une bactérie en donne deux, qui en se divisant en donne quatre, ect ... Dans de bonnes conditions, une bactérie se divisant toutes les 20 mn. aura une descendance de un milliard d'individu en 10 heures
- **NORMES BACTERIOLOGIQUES**: Critères fixés par la législation, auxquels doivent satisfaire les denrées ( Ex pour toutes les denrées, la norme relative aux Salmonelles est l'absence dans 25 g. de produit )
- **PARASITES**: Organismes vivant, indésirables, variés tels que les vers protozoaires (*amibes*), les hématozoaires du paludisme ou de la maladie du sommeil
- **PASTEURISATION** : Destruction par la chaleur de la plus grande partie de la flore microbienne, dont les germes pathogènes
- **PATHOGENE** : Capable de provoquer une maladie
- **PORTEUR DE GERMES** : Personne abritant des germes et susceptible de contaminer les produits manipulés. Ces porteurs sains n'ont pas les symptômes des germes dont ils sont porteurs
- **PSYCHROPHILES, CRYOPHILES (GERME)** : Qui se développe à basse température ( 0° C )
- **PUTREFACTION** : Décomposition des aliments par les microorganismes
- **REFRIGERATION, REFROIDISSEMENT** : Abaissement et maintien de la température des aliments entre 0° C et 3° C pour limiter le développement microbien.
  
- **SALMONELLES**: Bactéries très pathogènes responsables d'intoxications alimentaires et dont le principal réservoir est l'intestin humain et animal (Ex la fièvre typhoïde est due à *Salmonella. typhi*)
- **SALUBRITE**: Pour un aliment, absence de microbes et de parasites pour un lieu, absence de toute source de contamination.
- **SERVICE DE CONTROLE**: Représentation des fraudes destinée à réprimer les tromperies et les falsifications et à promouvoir la qualité. Services vétérinaires chargés du contrôle des produits d'origine animale. Ils ont libre accès à toute heure, à tout lieu où sont manipulés des denrées alimentaires.
- **SPORE** : Forme que prennent des germes pour résister à des conditions défavorables à leur développement
- **STAPHYLOCOQUES** : Germes originaires de la région rhino-pharyngée, des plaies et infections (pus , panaris). Le Staphylocoque doré est pathogène, l'entérotoxine staphylococcique est très dangereuse.
- **STERILISATION** : Destruction de toute la flore microbienne, y compris les spores
- **STOCKAGE** : Entreposage des denrées dans des conditions optimales de températures, ventilation et humidité
- **THERMOPHILE (GERME)** : Qui se développe aux températures élevées (45-60° C)
- **TOXINE** : Poison élaborée par certaines bactéries, actif à très faible dose
- \* **ENTEROTOXINE** : Toxine agressant l'intestin (entérotoxine staphylococcique)
- \* **MYCOTOXINE** : Toxine élaborée par un champignon (Aflatoxine d'*Aspergillus*)
- \* **NEUROTOXINE** : Toxine agressant le système nerveux (toxine botulinique)
- **VIRUS** : Microorganisme de taille très inférieure à celle des bactéries (observable au microscope électronique), vivant obligatoirement à l'intérieur d'une cellule ou d'une bactérie. ( Ex : virus de l'hépatite présent dans certains coquillages )
- \* **MALADIES VIRALES** : Grippe, oreillons, rougeoles, variole, poliomyélite, fièvre jaune, rage, herpes, encéphalite ...
- **VIRULENCE** : Degré de toxicité des germes, dépendant de leur nature et de l'état de l'hôte ( Ex *Salmonella* a une virulence plus grande chez les nourrissons, les vieillards et les malades )

**III/ - GENERALITES DE YERSINIA ENTEROLITICA**

**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

**Facteurs favorisants :** \*  $T^{\circ}$  très basse 2 à 8°C \* Consom de viande de porc et ss produits.

**3/ - 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.

**IV/ - VIBRIO CHOLEREA : FORMES ET MANIFESTATIONS CLINIQUES**

Au niveau de la « clinique », il existe 3 formes : la forme grave ou « cholera », la forme bénigne avec une simple diarrhée et, la forme atypique ou « cholera sec ».

Les **manifestations possibles** dans les trois cas sont : diarrhées, crampes musculaires douloureuses, douleurs abdominales, vomissements, déshydratations, baisse de la tension artérielle, pouls et respiration accélérée mais pas de fièvre.

Au niveau physiopathologique, l'on note la présence d'une « toxine cholérique (CT) » qui est une exotoxine qui entraîne une fuite de liquide et d'électrolytes.

L'agent responsable est le **Vibrio cholerea O :1** très dangereux, entraînant la mort en qq h..  
Le **Vibrio parahemolyticus** (VP+) est fréquent dans les crustacés et dans certains poissons.

**V/ - CLOSTRIDIUM BOTULINUM**

**1/ - Les propriétés et le pouvoir toxique de la toxine botulique**

La toxine peut se transformer en anatoxine : le vaccin botulinique. Cette toxine thermolabile, présente dans un aliment est inactivée par une simple cuisson. Elle est synthétisée en milieu de culture entre le 5eme et le 10eme jour.

La toxine botulinique est le poison le plus puissant qui existe. La toxine A est la plus active.

La dose létale chez l'homme adulte est estimée à 100 mg (1 mg par voie orale) et, 1 mg de toxine renferme 2 à 8 X 10 (8) DL50 pour la souris.

**2/ - Le mode d'action de la botuline et les symptômes du botulisme**

La toxine et les bactéries vivantes ingérées passent sans dommage la barrière gastrique.

La toxine retrouvée dans l'intestin correspond à la toxine ingérée et, à la toxine libérée lors de la lyse bactérienne. Elle résiste donc à l'acidité gastrique et aux sucs digestifs. Une fois dans l'intestin elle passe dans les lymphatiques puis dans le sang et, va se fixer sur le tissu nerveux.

L'intoxication se traduit par une **paralysie générale (de type flasque)** de l'activité neuromusculaire et du système nerveux autonome. Elle empêche la transmission cholinergique dont le médiateur est l'acétylcholine, empêchant ainsi l'activation du mécanisme de libération par les ions calcium (Ca)

Tous les individus sont susceptibles de développer une intoxication botulique. Les jeunes enfants sont plus à risque et, les drogués vis-à-vis du botulisme par blessure.