

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS  
SECONDIAIRE, SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
**UNIVERSITEDEBAMAKO**

\*\*\*\*\*



REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple Un But Une Foi

**Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie**

**Année Universitaire 2007 - 2008**

**Thèse N° \_\_\_\_/P**

**ETUDE COMPARATIVE DE LA TECHNIQUE D'AGGLUTINATION SUR LAME  
et LA TECHNIQUE DE DILUTIONS EN TUBES du sérodiagnostic de Widal  
et Félix AU LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES DU CHU**

**GABRIEL TOURE**

**THESE**

**Présentée et soutenue publiquement le \_\_\_ / \_\_\_ / 2008  
Devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie**

**Par Mr Corneille DIARRA**

**Pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)**

**JURY**

**Président:**

**Pr. Sounkalo DAO**

**Membre:**

**Dr Seydou S. DIARRA**

**Co- directeur:**

**Dr Souleymane DIALLO**

**Directeur:**

**Pr. Flabou BOUGOUDOGO**

# **DÉDICACES**

## **Je dédie ce travail**

A Dieu, le Tout Puissant, le clément et le Miséricordieux.

Par ta bonté et ta grâce tu m'as permis de mener à terme ce travail si long et pénible. Fasse que je me souvienne toujours de toi en toute circonstance, à chaque instant du reste de ma vie.

## **A mon père : Sabéré Barthélemy DIARRA**

Ce travail est le fruit de ta patience, de et ton encouragement.

Cher père, ta rigueur dans le travail, ton sens de l'honnêteté n'ont jamais cessé d'être pour nous les repères d'une ligne de conduite. Nous ne trouverons jamais assez de mots pour t'exprimer toute notre admiration et notre fidèle affection. Père, tu as été et tu resteras pour nous le guide pour toujours. Puisse ce travail être le couronnement de tes intenses efforts. Que Dieu te prête longue vie. Amen !

## **A ma très chère mère : Sohan Jeannette DIARRA**

Ces mots n'exprimeront pas assez tout ce que j'éprouve ce jour. Tu as tant souffert pour tes enfants. Tes sacrifices en notre faveur sont inestimables et ont fait de nous ce que tu as souhaité. Tu nous incarnes l'affection pure, naturelle de mère dévouée, courageuse et tolérante. Nous ne saurons jamais te payer ce prix d'affection. Saches en effet que l'honneur de ce travail te revient car tu es le pilier de notre réussite. Merci, Maman ! Que le Tout Puissant te garde aussi longtemps auprès de nous ! Amen ! Que l'avenir soit pour toi soulagement et satisfaction, Amen !

**A mon frère : Frédéric DIARRA**

Je n'ai aucune expression pour traduire mes sentiments à ton égard. Toi qui m'as inscrit à l'école, tes encouragements et ta rigueur dans le travail m'ont fait ce que je suis et ce que je serais. Trouve alors dans ce travail le fruit de tes efforts. Ce travail est le tien. Courage et bonne chance. Que le Tout Puissant te prête longue vie, Amen !

**A mon frère : Ernest DIARRA**

Ce travail est également le fruit de tes efforts, tu as toujours manifesté un intérêt particulier à la réussite de mes études. Cher frère, tes conseils sont pour moi des encouragements infinis. Trouve dans ce travail le fruit de tes efforts. Que Dieu t'accorde longue vie et bonne chance.

# **REMERCIEMENTS**

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube dan le sérodiagnostic de Widal et Félix

Mes remerciements vont à l'endroit de tous ceux qui m'ont accompagné dans ce travail si important et difficile, notamment :

Le personnel du laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE.

Je me garderais de vous citer, au risque d'omettre involontairement un nom quelconque. Sachez que vous êtes des fidèles collaborateurs.

A tout le personnel de l'Officine Toudi, également à celui de l'Officine AMANI et plus particulièrement : **Dr Seynou SEMEGUEM, Dr Oumar OUOLOGUEM, Dr Modibo FOMBA** et **Pr. Abdoulaye DJIMDE**, votre soutien et vos encouragements ne m'ont jamais fait défaut, vous êtes et vous resterez mes fidèles conseillés.

Que le tout puissant vous accorde longue vie.

A tous mes amis notamment **Mr Xavier DIARRA, Emmanuel KEITA, Dr Yansian Charles KONE, Cephass DIARRA, Boubacar DOUMBIA, Ives DEMBELE, Mathias Thèra, Elisé DIARRA** et tous les collègues de la FMPOS.

Recevez ici le fruit de vos encouragements.

Au comité religieux de l'église évangélique de Moribabougou, aux pasteurs : **Abdias DIARRA** et **Sylvain Sanou**, soyez rassurés que vos prières ont été exhaussées. QUE DIEU SOIT LOUE !

A la famille **COULIBALY** au Point G, pour qui je garderais des bons souvenirs

A tous les militants et militantes de l'Association "PARISI" de la FMPOS.

A ma très chère **Saran THERA**, sache que ce travail est le fruit de ton encouragement.

**HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY**

**A notre MAITRE et président du jury**

**Professeur Sounkalo DAO**

**Responsable de l'enseignement des maladies infectieuses à la FMPOS**

**Praticien Hospitalier au Service des Maladies Infectieuses**

**Maître de Conférences à la FMPOS**

**Investigateur Clinique au SEREFO sur la tuberculose /VIH.**

Cher Maître, malgré vos multiples préoccupations vous avez accepté de présider ce jury de thèse.

Homme aux qualités scientifiques importantes, nous avons été touchés par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements.

En plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie vous force le respect.

**A notre Maître et juge**

**Monsieur Seydou S. DIARRA**

**Spécialiste en microbiologie**

**Chef de service bactériologique à l' INRSP**

**Maître chargé de l'enseignement de la bactériologie à l'institut de formation des techniciens de laboratoire**

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Votre simplicité, votre modestie et votre rigueur dans la recherche scientifique font de vous un homme respecté et admirable.

Veillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

**A notre MAÎTRE et Co- Directeur**

**Docteur Souleymane DIALLO**

**Pharmacien biologiste, Colonel des forces armées du Mali**

**Maître assistant de Bactériologie- Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie**

**Chef de service du laboratoire d'Analyses Médicales du CHU Gabriel TOURE**

Honorable Maître, nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en nous pour effectuer ce travail. Votre rigueur scientifique, votre simplicité votre ardent désir à transmettre aux autres vos larges connaissances font de vous un homme de science apprécié. Je peux d'ailleurs affirmer que j'ai fait mes premières initiations dans le monde de la microbiologie à vos côtés. Votre participation pour la réalisation ce travail fut considérable car il est également le vôtre.

Cher Maître, trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude et de nos sincères reconnaissances.

**A notre Maître et Directeur de thèse**

**Professeur Flabou BOUGOUDOGO**

**Maître de conférences agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie**

**Directeur Général de l'Institut National de la Recherche en Santé Publique  
Responsable des cours de bactériologie et virologie à la FMPOS.**

Cher Maître, vous nous avez fait honneur en acceptant la réalisation de cette thèse dans le service de laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE. En plus de statut de chercheur confirmé et aguerri, nous avons vite apprécié vos immenses qualités humaines et scientifiques. Vos remarques et suggestions ont sans doute contribué à l'amélioration de ce travail.

Votre simplicité et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admiré de tous.

Soyez assuré, cher maître, de notre sincère admiration et de notre profonde gratitude. Nous vous réitérons tous nos remerciements.

**ABREVIATIONS :**

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**FP** : Faux Positifs

**FN** : Faux Négatifs

**HGT** : Hôpital Gabriel TOURE

**IC 95%** : intervalle de Confiance à 95%

**LDC** : Lysine Décarboxylase

**ODC**: Ornithine Décarboxylase

**ONPG**: Ortho Nitro -Phenyl BD- Galactopyranosydase

**Se** : Sensibilité

**Sp.** : Spécificité

**TSA** : “ Trypcase Soja Agar ”

**Vp** : Vrais Positifs

**VN** : Vrais Négatifs

**VPN** : Valeur Prédictive Négative

**VPP** : Valeur Prédictive Positive

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube dan le sérodiagnostic de Widal et Félix

## **PLAN**

### **INTRODUCTION**

### **OBJECTIF GÉNÉRAL**

### **OBJECTIFS SPÉCIFIQUES**

### **1. GÉNÉRALITÉS SUR LES SALMONELLA**

### **2. MÉTHODOLOGIE**

### **3. RÉSULTATS**

### **4. COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

### **5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

### **6. REFERENCES**

### **RÉSUMÉ**

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube dan le sérodiagnostic de Widal et Félix

# **SOMMAIRE**

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Généralités sur les salmonella.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Historique.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2. Définition et Systématique .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Habitat.....</b>	<b>6</b>
<b>1.4. Physiopathologie.....</b>	<b>7</b>
<b>1.4.1. Pouvoir pathogène naturel.....</b>	<b>8</b>
<b>1.4.2. Pathogénie.....</b>	<b>9</b>
<b>1.5. Caractères bactériologiques.....</b>	<b>10</b>
<b>1.5.1. Morphologie et colorabilité.....</b>	<b>11</b>
<b>1.5.2. Caractères cultureux et milieux de culture.....</b>	<b>11</b>
<b>1.5.3. Caractères biochimiques.....</b>	<b>12</b>
<b>1.5.4. Caractères antigéniques.....</b>	<b>12</b>
<b>1.5.4.1. Antigènes de paroi ou antigènes O .....</b>	<b>13</b>
<b>1.5.4.2. Antigènes d'enveloppe.....</b>	<b>14</b>
<b>1.5.4.3. Antigènes flagellaires ou antigènes H.....</b>	<b>14</b>
<b>1.5.4.4. Identification du sérovar .....</b>	<b>15</b>
<b>1.6. Nomenclature .....</b>	<b>16</b>
<b>1.7. Diagnostic biologique.....</b>	<b>17</b>

<b>1.7.1. Prélèvement pour examen direct.....</b>	<b>17</b>
<b>1.7.2. Examens bactériologiques.....</b>	<b>17</b>
<b>1.7.3. Tests biochimiques et métaboliques.....</b>	<b>18</b>
<b>1.7.3.1. Galerie classique pour entérobactéries.....</b>	<b>19</b>
<b>1.7.3.2. Galerie API 20E.....</b>	<b>23</b>
<b>1.7.4. Antibiogramme.....</b>	<b>23</b>
<b>1.7.5. Diagnostic indirect .....</b>	<b>24</b>
<b>2. Méthodologie</b>	
<b>2.1. Cadre de l'étude.....</b>	<b>25</b>
<b>2.2. Etude.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.1. Type et durée de l'étude.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.3. Critères d'inclusion et de non inclusion.....</b>	<b>26</b>
<b>2.2.4. Prélèvement pour examen indirect.....</b>	<b>26</b>
<b>2.3. Méthodes indirectes.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.1. Sérodiagnostic de Widal et Félix .....</b>	<b>28</b>
<b>2.3.2. Technique d'agglutination sur lame.....</b>	<b>33</b>
<b>2.4. Evaluation du test d'agglutination sur lame.....</b>	<b>39</b>
<b>3. Résultats.....</b>	<b>41</b>
<b>4. Commentaires et discussion.....</b>	<b>57</b>
<b>5. Conclusion et recommandations.....</b>	<b>60</b>
<b>6. Références.....</b>	<b>62</b>

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube dan le sérodiagnostic de Widal et Félix

# **INTRODUCTION**

## Introduction

Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes sont des infections septicémiques strictement humaines dues à un nombre très limité de sérotypes de Salmonelles tels que ***Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi A*, *B* et *C*** [17]. La source de contamination réside dans les matières fécales de personnes malades ou porteuses saines mais excrétrices lors d'épisodes chroniques. La transmission est possible tant que l'excrétion de la bactérie persiste, généralement de la première semaine de la maladie et pendant toute la durée de la convalescence [1]. Elles constituent un problème majeur de santé publique, certes elles ont régressé de façon spectaculaire dans les pays occidentaux, mais restent toujours répandues dans les pays en voie de développement où les conditions socio-économiques et l'absence d'hygiène favorisent cette maladie (Asie, Afrique et Amérique du sud). Les fièvres typhoïde et paratyphoïdes sont des infections à déclaration obligatoire et le diagnostic biologique repose sur l'isolement du germe, soit par hémoculture, la coproculture ou par le sérodiagnostic de Widal et Félix (mise en évidence des anticorps circulants) lorsque les hémocultures ou la coproculture sont négatives. La recherche de ces anticorps spécifiques était d'un appoint précieux au diagnostic des fièvres typhoïde et paratyphoïdes. Le sérodiagnostic de Widal et Félix a été un moyen de diagnostic rapide des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, car basé sur la capacité des anticorps sériques d'agglutiner des suspensions antigéniques de bactéries tuées (agglutinines), ceci par agglutination sur lame ou par dilutions successives du sérum.

Cependant ce sérodiagnostic n'est qu'un test de présomption au diagnostic des fièvres typhoïde et paratyphoïdes car de nombreuses réactions antigéniques croisées sont possibles avec d'autres sérotypes de **Salmonella**, ou avec d'autres entérobactéries (**Yersinia pseudotuberculosis**), voire d'autres bacilles à Gram négatif non apparentés.

Des Salmonelles donnant lieu à des gastro-entérites peuvent s'accompagner de réactions sérologiques en raison des parentés antigéniques. Malgré tout cela, on observe une prolifération de tests d'agglutination, d'interprétation difficile par rapport au test standard de dilution lui-même sujet de beaucoup de contre verses. L'arrivée de multitudes de tests d'agglutination non contrôlés dans le domaine de la biologie pose des problèmes de diagnostic.

Quelle est la valeur diagnostique de ces tests par rapport aux tests de dilutions?

Pour élucider cette question, nous nous sommes proposés alors d'évaluer une technique d'agglutination sur lame par rapport à la technique de dilutions en tube.

Le présent travail se situe dans ce cadre et s'est donné comme objectifs suivants :

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube dan le sérodiagnostic de Widal et Félix

# **OBJECTIFS**

### Objectif général

- Evaluer le technique d'agglutination sur lame par rapport à la technique de dilutions en tube du sérodiagnostic de Widal et Félix au laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE.

### Objectifs spécifiques

1- Déterminer la sensibilité (Se) ; la spécificité (sp.) ; la valeur prédictive positive (VPP) ; la valeur prédictive négative (VPN) du technique qualitative d'agglutination sur lame.

2- Déterminer la fréquence de détection des anticorps dirigés contre les antigènes des **Salmonella Typhi, Salmonella Paratyphi A, B et C** dans les prélèvements de sang.

3- Interpréter le test de Widal et Félix et montrer ses limites dans nos conditions de travail.

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube dan le sérodiagnostic de Widal et Félix

# **GENERALITES SUR LES SALMONELLA**

## 1.1. Historique

La fièvre typhoïde est une maladie strictement humaine dont l'entité nosologique a été reconnue dès 1813 par Petit et Serres. Elle a constitué un modèle dans l'étude des maladies infectieuses. Cette maladie a été décrite en 1820 par Bretonneau qui l'appelait dothiéntenterite. En 1880, la mise en évidence du bacille dans les coupes histologiques de ganglions de malades morts de fièvre typhoïde a été faite par Eberth [9].

En 1884, Gaffky réalise la première culture de ce bacille dénommé **Salmonella Typhi**. Mais à cette époque les caractères permettant le diagnostic différentiel avec d'autres bacilles étaient peu nombreux et ces observations étaient mises en doute jusqu'à ce que Pfeiffer et Kolle d'une part, Gruber et Durham d'autre part (1896) montrèrent que le sérum d'un animal immunisé d'une culture de bacille typhique acquérait des propriétés agglutinantes pour celle-ci. La même année, (1896), Widal a montré que les sérums des malades atteints de fièvre typhoïde, agglutinaient les cultures de bacille d'Eberth, mettant ainsi au point le sérodiagnostic de la maladie. La même année Achard et Bensaude, appelèrent bacilles paratyphiques, les souches de bacilles isolées de malades présentant un syndrome typhoïdique mais dont le sérum n'agglutinait pas les cultures de bacille typhique. La même observation fut faite par Gwynn en 1898. Le nom de **Salmonella** a été donné par Lignières en 1900 à ce groupe bactérien.

Ce nom fut choisi en l'honneur de Salmon vétérinaire américain dont la contribution à l'étude de ses bactéries fut majeure.

En 1917, Félix découvre les bases de l'analyse antigénique des bactéries en découvrant les antigènes O et H.

En 1930, Kauffmann et White proposent une classification des bactéries proches du bacille d'Eberth basée sur les caractères antigéniques O et H.

En 1935, Reilly, montre le rôle du système nerveux neurovégétatif dans la pathogénie de la fièvre typhoïde.

En 1948, le chloramphénicol a été découvert de même que ses applications thérapeutiques dans les salmonelloses.

## **1.2. Définition et systématique.**

Les ***Salmonella*** appartiennent à la famille des *ENTEROBACTERIACEAE*, bacilles Gram négatif, mobiles (excepté ***Salmonella pullorum-gallinarum***), aéro- anaérobie facultatif, essentiellement des parasites intestinaux des animaux vertébrés ; ils fermentent le glucose avec dégagement de gaz ; lactose négatif (sauf le genre ***Arizonae***) ; catalase positive ; H<sub>2</sub>S positif ; réaction de Vauges Proskauer (VP) négative. Ils sont responsables des fièvres typhoïde et paratyphoïdes A, B et C. Cette famille des *ENTEROBACTERIACEAE* comporte plus de 120 espèces génomiques. Dans le genre ***Salmonella***, deux espèces génomiques ont été initialement reconnues : ***Salmonella enterica*** l'espèce la plus courante qui renfermait sept sous-espèces : ***enterica (I)***, ***Salamae (II)***, ***arizonae (IIIa)***, ***diarizonae (IIIb)***, ***houtenae (IV)***, ***indica et (VI) subspecies (VII) et Salmonella bongori*** (espèce rare).

Les travaux de taxonomie moderne, en particulier les hybridations d'acides désoxyribonucléiques, ont montré que le genre **Salmonella** ne comporte qu'une seule espèce (**Salmonella enterica**) qui comprend elle-même sept sous-espèces **enterica (I), Salamae (II), arizonae (IIIa), diarizonae (IIIb), houtenae (IV), indica et (VI) subspecies (VII)** facilement différenciables par leurs caractères phénotypiques. Les sous-espèces I, II et IV correspondent respectivement aux sous-genres I, II et IV de Kauffmann. Celles désignées IIIa et IIIb correspondent respectivement aux sérovars monophasiques et diphasiques des **Salmonella** du sous-genre III de Kauffmann, qui furent successivement appelées **Salmonella arizona**, groupe <<Arizona>>, **Arizona arizonae**, et **A. hinshawii**. Enfin, la sous-espèce V a été individualisée en 1982, la sous-espèce VI en 1986. La très grande majorité des salmonella isolées de l'homme et des animaux à sang chaud appartiennent à la sous-espèce I. A l'exception de certaines régions comme l'Afrique du Sud ou des souches de la sous-espèce II ne sont pas rares chez l'homme, les salmonella des sous-espèces autres que I sont surtout isolées d'animaux à sang froid et de l'environnement et ne sont qu'exceptionnellement la cause de troubles pathologiques chez l'homme

[26 ; 27].

### 1.3. Habitat.

Les **Salmonella** sont essentiellement des bactéries de l'intestin des animaux vertébrés [11]. Elles peuvent être disséminées dans l'environnement par les excréta [5 ; 2].

### 1.4. Physiopathologie.

Les **Salmonella** ne peuvent pas se multiplier de manière significative mais peuvent survivre dans le sol pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables. Ces bactéries pathogènes spécifiques provoquent des maladies consécutives à un défaut d'hygiène générale ou à une contamination alimentaire [5].

#### 2.4.1. Pouvoir pathogène naturel.

Les Salmonelles sont des entérobactéries à tropisme digestif, elles sont pathogènes pour l'homme et pour de nombreux animaux vertébrés. Elles sont surtout responsables de gastro-entérites à évolution le plus souvent défavorable [11]. Certains sérotypes très virulents apparaissent pathogènes seulement pour une espèce animale donnée [30], c'est le cas de **Salmonella Typhi** et **Paratyphi A, B** et **C** respectivement responsables chez l'homme des fièvres typhoïde et paratyphoïdes. Les fièvres typhoïdes sont des septicémies caractérisées par une pénétration des salmonelles dans le système lymphatique mésentérique et une multiplication dans les cellules mononuclées qui peuvent ainsi constituer un réservoir à l'origine des rechutes. La localisation au niveau de la vésicule biliaire peut favoriser un portage chronique au niveau digestif [29].

Les ***Salmonella abortus*** et ***Salmonella ovis*** sont pathogènes pour les ovins et ***Salmonella gallinarum***, ***Salmonella pullorum*** pour les volailles. D'autres salmonelles ont un pouvoir pathogène plus étendu notamment ***Salmonella Typhimurium***, ***Salmonella enteritidis*** et peuvent déterminer des infections chez de nombreuses espèces animales, ils n'ont pas d'hôtes préférentiels [30]. Ces sérotypes sont des agents de toxi-infections alimentaires chez l'homme, leur passage dans le sang est exceptionnel [28] mais certains auteurs soulignent des cas de septicémies graves chez des immunodéprimés [9] et chez des leucémiques. En outre, ces sérotypes ubiquitaires peuvent provoquer des épidémies dans les services de pédiatrie [7 ; 8]. Les ***Salmonella*** sont enfin responsables de manifestations extra digestives qui, bien que plus rares, surviennent surtout chez des sujets à risque avec des tableaux cliniques multiples en fonction du site de l'infection. Ces manifestations extra digestives peuvent être isolées ou associées à une septicémie ou à une fièvre typhoïde. On souligne des ostéites à ***Salmonella*** chez les drépanocytaires surtout les enfants de 6 mois à 10 ans [3]. On note un portage fécal ou urinaire chez les malades atteints de schistosomiase [3 ; 19]. Des infections pleuro - pulmonaires et des infections du système nerveux central dominées par les méningites beaucoup plus fréquentes chez l'enfant ont été mentionnées par certains auteurs [14 ; 29] des infections uro-génitales sont exceptionnelles quoique des cas aient été cités par différents auteurs [28]. Chez des sujets présentant une affection tumorale, ou chez des sujets atteints d'achlorhydrie grave, des infections abdominales (abcès du foie, abcès du pancréas...) autres que les gastro-entérites ont été signalées [27]. Enfin des manifestations cardio-vasculaires à ***Salmonella*** [26]. Dominées par l'endocardite, la péricardite et les atteintes artérielles furent décrites.

### **1.4.2. Pathogénie**

Les *Salmonella* sont des bactéries entéropathogènes invasives. A partir d'expérience chez des volontaires sains, la dose infectante a été estimée entre  $10^5$  -  $10^9$  UFC/ml [17 ; 25], cette dose dépendra de plusieurs facteurs dont la virulence du germe, l'acidité gastrique du sujet. Après invasion silencieuse du tube digestif et du système réticulo-endothélial, les salmonelles pénètrent l'épithélium intestinal et l'adhèrent par un mécanisme inconnu, le traversent sans provoquer de lésions importantes pour atteindre la lamina propia et la sous muqueuse. Elles induisent des réactions inflammatoires avec afflux de polynucléaires et de macrophages qui phagocytent les bactéries. Les salmonelles gagnent ensuite les ganglions mésentériques, s'y multiplient et se propagent dans la circulation sanguine par le canal thoracique. Ce qui explique les septicémies ; une partie des salmonelles se lyse avec libération d'une toxine qui va irriter le sympathique abdominal provoquant par son intermédiaire l'ulcération des plaques de Peyer. Cette toxine transportée au niveau des ventricules cérébraux provoque l'abattement, le tufhos d'où le nom de fièvre typhoïde donnée à cette maladie [5]. L'évolution spontanée cyclique de la fièvre typhoïde non traitée est devenue aujourd'hui exceptionnelle [7].

### 1.4.3. Epidémiologie

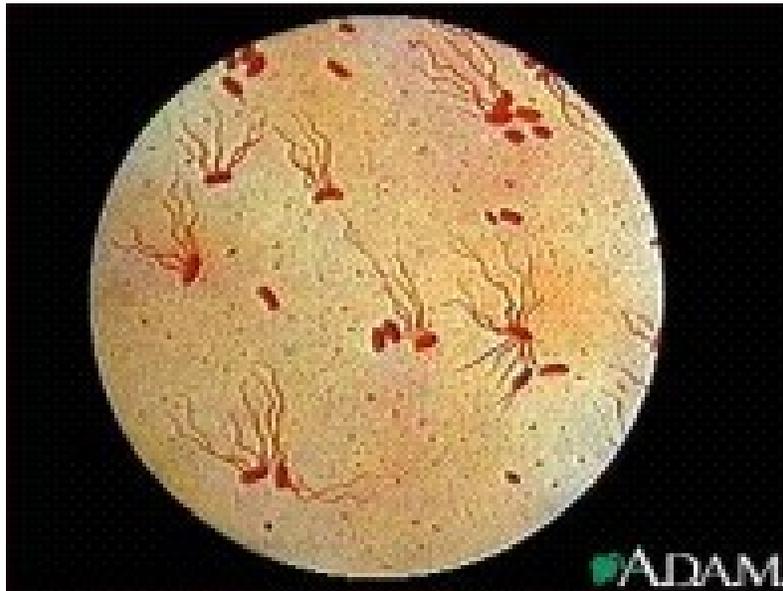
***Salmonella Typhi***, agent de la fièvre typhoïde, est un germe essentiellement humain [6.]. La maladie n'est pas endémique en Europe, en Amérique du Nord et en Australie. Les porteurs sains qui représentent l'unique réservoir du germe, sont les convalescents qui excrètent le germe dans leur vésicule pendant des mois et les porteurs sains chroniques qui hébergent le germe pendant plus d'un an. Près de 3 à 5p 100 des convalescents éliminent des salmonelles dans leurs selles à partir d'un gîte vésiculaire ou dans leurs urines sur des périodes de plusieurs mois. La transmission du germe, d'un être humain à un autre, se fait par voie oro- fécale, le plus souvent par l'eau et les aliments contaminés ou les ustensiles souillés. L'amélioration des conditions socio-économiques dans les pays développés a entraîné une nette diminution du nombre annuel de typhoïde par rapport aux salmonelloses non typhoïdiques qui augmentent considérablement. [3].

En revanche, dans les pays où les conditions sanitaires sont précaires, des cas importants d'épidémies sévissent (Afrique, sud-est Asiatique, Mexique...). [9]. Les autres *Salmonella* sont responsables d'une infection connue sous divers noms : fièvre paratyphoïde, fièvre entérique et salmonellose. Les animaux contaminés et ce qu'ils produisent (matières fécales, lait, viande, etc.) constituent le plus grand réservoir de ces germes, bien que les humains infectés et porteurs chroniques en constituent une large part. C'est ainsi que les bovidés, la volaille et certains animaux familiers tels que les chiens, les petites tortues sont les réservoirs les plus souvent cités. Dans les pays en développement, ces salmonelloses constituent l'une des principales causes de mortalité infantile par déshydratation aiguë. [6]

## 1.5. Caractères bactériologiques

### 1.5.1. Morphologie et colorabilité

Les bactéries du genre *Salmonella* sont des bacilles à Gram négatif [13, 31], pouvant mesurer 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long sur 0,6  $\mu\text{m}$  de large pendant leur croissance exponentielle. A l'exception des *Salmonella* appartenant aux sérotypes aviaires, tels *Salmonella gallinarum* et *Salmonella pullorum* et quelques rares mutants immobiles, les salmonelles sont généralement mobiles avec une ciliature péritriche [18].



**figure 1** : Les *Salmonella* vues au microscope électronique

### 1.5.2. Caractères culturels et milieux de culture

Les milieux sélectifs le plus souvent utilisés pour l'isolement des **Salmonella** sont le milieu **Salmonella- Shigella** (SS), le milieu Mac Conkey, le milieu Hecktoen. Sur le milieu SS, les colonies de **Salmonella** apparaissent incolores, à centre noir, car elles ne fermentent pas le lactose et produisent du H<sub>2</sub>S. Ces colonies peuvent se confondre à celles d'autres comme les Proteus.

Les colonies de **Salmonella** après 18 - 24 heures d'incubation à 37 °C sont lisses et mesurent 2 à 3 mm de diamètre. Des colonies naines s'observent rarement, de même que des colonies rugueuses ou des colonies muqueuses ressemblant à des colonies de **Klebsiella** [33]. L'aptitude à donner des colonies muqueuses est souvent perdue après quelques mois de conservation.

#### Milieux de culture

##### - **Gélose Salmonella- Shigella (SS)**

Milieu sélectif permettant l'isolement d'entérobactéries pathogènes. Il est très utilisé pour la recherche de Salmonella dans les selles et les denrées alimentaires peu pour les Shigella car trop sélectif.

-**La gélose Hektoen** : C'est un milieu d'isolement des Salmonelles et des Shigelles, bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif puissent se développer sur ce milieu. L'identification d'entérobactéries pathogènes repose sur la non utilisation des glucides présents dans le milieu [34]

### **1.5.3. Caractères biochimiques**

Le profil de la majorité des souches de *salmonella* isolées de l'homme et des animaux à sang chaud, appartenant à la sous-espèce I est le suivant :

Uréase négative, TDA négatif, Indole négatif, glucose positif avec production de gaz, lactose négatif, adonitol négatif, LDC positive, ODC positive, Citrate de Simmons positif, Gélatinase négative, RM positif, VP négatif [31], H<sub>2</sub>S positif.

### **1.5.4. Caractères antigéniques.**

Les *Salmonella*, comme toutes les entérobactéries possèdent trois types d'antigènes d'intérêt diagnostique : Les antigènes de paroi ou antigènes O, les antigènes d'enveloppe et les antigènes flagellaires ou H.

#### **1.5.4.1. Antigènes de paroi ou antigènes O**

L'étude par absorption croisée des immuns sérums préparés sur lapin a permis d'individualiser de nombreux facteurs antigéniques, dont 67 ont été utilisés pour le diagnostic. Les facteurs O désignés par un même symbole sont fortement apparentés mais non obligatoirement identiques, (il en est de même pour les facteurs H). Les facteurs O peuvent être classés en facteurs O majeurs et facteurs O accessoires.

- Facteurs O majeurs :

Les souches qui ont en commun un facteur O majeur sont classées dans un même groupe O. Par exemple, le facteur O4 est caractéristique du groupe B : toutes les souches de ce groupe le possèdent. Il en est de même pour le facteur O9 du groupe D, le facteur O2 du groupe A, le facteur O3 du groupe E

- Facteurs O accessoires :

Les facteurs O accessoires sont d'un intérêt diagnostique mineur car ils sont toujours liés à un facteur O caractéristique de groupe. Par exemple, le facteur O12 existe chez toutes les souches des groupes A, B, D, où ils sont liés respectivement à O2, O4, O9. Il est donc sans intérêt diagnostique de le rechercher. Ces facteurs résultent de la modification du polysaccharide lié à la spécificité du facteur O majeur par une enzyme à déterminisme chromosomique. Le facteur O5 résulte de l'addition d'un radical acétyle sur l'abéquose, sucre constitutif du polysaccharide des sérovars du groupe B et qui n'existe pas dans les autres groupes O.

Le facteur O5 ne peut donc exister que chez les souches qui ont le facteur O4, si elles possèdent une acétylase de l'abéquose. Ceci explique aussi que les souches fortement agglutinables par le sérum anti O5, sont plus faiblement agglutinables par le sérum anti O4, puisque le O5 est une modification de ce dernier.

#### 1.5.4.2. Antigènes d'enveloppe

Ces antigènes sont peu répandus chez les *Salmonella*. Ils peuvent masquer l'antigène O, rendant les bactéries O inagglutinable. Le chauffage à 100°C de la suspension bactérienne pendant une dizaine de minutes suffit en général à solubiliser l'antigène d'enveloppe et en conséquence à démasquer l'antigène O qui devient alors agglutinable. On n'en connaît qu'une seule spécificité, appelée Vi parce que découverte par **FELIX ET PITT** chez des souches de *Salmonella Typhi*, qui avaient pensé que la virulence était conditionnée par cet antigène. L'existence de l'antigène Vi n'est connue que chez trois sérovars de *Salmonelle : Typhi, Paratyphi C* et **Dublin**. Les souches de ces sérovars ne possèdent pas obligatoirement l'antigène Vi. Les souches de Typhi riches en antigène Vi et O inagglutinables sont dites sous formes V, celles qui n'en possèdent pas et sont O agglutinables sont dites formes W. Les cultures O et Vi agglutinables sont dites sous formes VW. Elles sont le plus souvent constituées d'un mélange de bactéries les unes sous forme V, les autres sous forme W. [28].

#### 1.5.4.3. Antigènes flagellaires ou Antigènes H

Les flagelles sont des polymères de flagelline, molécules de protéine fibreuse, d'un poids moléculaire de 40 000 environ. Ces molécules d'un diamètre de 4 à 4,5 nm sont disposées sur le flagelle comme les torons d'une corde. La composition en acides aminés de la flagelline est constante pour un type antigénique déterminé. Les anticorps H ont deux propriétés importantes : celle de produire une agglutination floconneuse, d'apparition rapide et dissociable par agitation et celle d'immobiliser les bactéries, quand leur spécificité correspond à celle de l'antigène des flagelles. [27].

#### 1.5.4.4. Identification d'un sérovar

L'identification d'un sérovar se fera dans l'ordre suivant :

- Détermination du facteur O majeur caractéristique de groupe

Seule en pratique **Salmonella Typhi** peut être O inagglutinable quand il est sous forme Vi. Ses caractères biochimiques très particuliers et une forte agglutinabilité dans le sérum anti-Vi permettent aisément l'identification ; le chauffage à 100 °C permet de démasquer l'antigène O9.

#### 1.6. Nomenclature

Les noms donnés aux **Salmonelles** ne suivent pas les règles habituelles. En raison de leur importance en pathologie, les premières souches isolées ont reçu abusivement un nom d'espèce : l'agent de la fièvre typhoïde humaine fut appelée **Salmonella Typhi**, des bactéries voisines **Salmonella Paratyphi**, l'agent de l'avortement des ovins **Salmonella abortus - ovis**, une Salmonelle isolée d'une épidémie chez les souris **Salmonella Typhimurium**, etc. Ce système de nomenclature a deux grands inconvénients : tout d'abord, il attribue un nom d'espèce à ce qui n'est qu'un sérovar de l'espèce Salmonelle. Ces noms sont en réalité des surnoms donnés pour des raisons de commodité à ces sérovars. D'autre part, ces noms étaient mal choisis quand ils laissaient supposer une spécificité zoologique (par exemple les sérovars **Typhimurium** et **Bovis morbificans** sont ubiquistes), alors que dans d'autres cas ils étaient bien choisis quand il s'agit de sérovars strictement adaptés à une espèce animale (**Abortusovis**, **Abortusequi** par exemple).

C'est pourquoi, afin de ne plus commettre d'erreur, les noms que l'on continue à donner aux sérovars de la sous-espèce I indiquent l'origine géographique de la première souche isolée : London, Panama, Stanleyville etc. Cette nomenclature est maintenue pour des raisons de commodité : il est plus aisé d'utiliser ces noms dans le domaine médical où l'on isole presque uniquement des *Salmonelles* de la sous-espèce I. Il n'est pas justifié d'écrire ces noms en italiques puisqu'il ne s'agit pas de nom d'espèce, ni d'en écrire la première lettre en minuscule. La nomenclature la plus convenable pour le travail courant (la nomenclature conforme au code qui devrait indiquer le nom d'espèce, le nom de sous-espèce avant le sérovar, est inutilisable en pratique courante en raison de sa longueur) est de rassembler en un mot les noms qui en comportaient plusieurs et de les écrire en caractères droits avec une majuscule. Exemple : **S.I ser.Typhimurium, S.I ser.** London, ou en abrégé puisque les noms de sérovars seront à l'avenir conservés uniquement pour ceux de la sous-espèce I, **S.Typhimurium** ou **S.** London Au contraire, les nouveaux sérovars des autres sous-espèces sont désignés uniquement par le chiffre indiquant la sous-espèce concernée, et la formule antigénique, par exemple S. II 17 : b : Z6, S. IIIa 47 : g, Z51, IIIb 42 : 1, v : Z etc. Les noms qui avaient été donnés jadis à certains de ces sérotypes (par exemple S. II Sofia) doivent être abandonnés. Cette nomenclature des sérovars de **Salmonelles** n'est certes pas conforme au Code de Nomenclature des bactéries ni à la nomenclature utilisée pour les autres espèces bactériennes. Elle est un compromis qui a des origines historiques en raison de l'importance médicale de certains sérovars comme **Typhi** et qui utilise pour les sérovars fréquents des noms familiers aux médecins.

Il est, pour cette raison médicale, impossible de l'abandonner. Mais il faut savoir qu'un nom de sérovar de *Salmonelle* n'est pas un nom d'espèce, mais un surnom d'emploi commode donné à un sérovar

## 1.7. Diagnostic biologique

### 1.7.1. Prélèvements pour examen direct

Les prélèvements concernent le sang pour hémoculture, les selles pour coproculture, le LCR et d'autres prélèvements.

### 1.7.2. Examen bactériologique.

- L'hémoculture permet le diagnostic des bactériémies et septicémies. Sa réalisation doit être conduite avec une grande rigueur, c'est-à-dire au moment des variations brutales de température (ascension). En quelques heures, on peut réaliser jusqu'à 3 hémocultures, ce qui permet d'augmenter les chances de trouver les germes souvent présents de façon intermittente dans la circulation sanguine.

- En coproculture, l'examen direct permet de décrire le type de la flore mono ou polymorphe avec la présence de polynucléaires et d'hématies.

On utilise des milieux sélectifs pour **Salmonella** comme le milieu de Rapaport. Ainsi, les cultures sont faites sur milieux d'enrichissement (Mueller Kauffmann ou bouillon sélénite) et sur milieux d'isolement (Gélose SS, Gélose Hecktoen ou Mac Conkey). Ces milieux ensemencés seront placés à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

Au bout de ce temps, on examinera le milieu SS, si les selles contiennent beaucoup de **Salmonella** on aura de nombreuses colonies à centre noir ; si les selles contiennent très peu de **Salmonella**, on aura très peu de colonies ou pas du tout ; dans ce cas, on fera un ré- isolement sur un milieu d'enrichissement qu'on placera à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. En cas de fièvre typhoïde ou de fièvre paratyphoïde, on aura de nombreuses colonies caractéristiques.

Le maximum de la positivité de la coproculture se situe à la 2<sup>ème</sup> semaine mais dès la 1<sup>ère</sup> semaine, cette positivité commence et persiste durant toute la maladie.

- Pour les autres prélèvements dont le LCR, on fait un examen microscopique après coloration de Gram puis une culture sur la gélose SS pendant 24 heures à 37°C. Les colonies suspectes des **Salmonella** sont identifiées au moyen de galeries classiques minimales ou de galerie (Api 20E).

### **1.7.3. Tests biochimiques et métaboliques**

Les Salmonella comme toutes les *ENTEROBACTERIACEAE* sont des bacilles à Gram négatif qui :

- s'ils sont mobiles, sont péritriches (cils disposés tout autour du corps bactérien);
- poussent sur milieux ordinaires ;
- poussent en aérobiose et en anaérobiose ;
- réduisent les nitrates en nitrites ;
- ont une réaction d'oxydase négative ;
- utilisent le glucose par voie fermentative.

### **1.7.3.1. Galeries classiques pour entérobactéries**

#### **-Test à l'ONPG**

##### **Principe**

Bien que certaines bactéries possèdent une enzyme intracellulaire (E) capable de scinder la molécule de lactose en galactose et glucose (sucre fermenté par toutes les entérobactéries), comme par exemple la bêta galactosidase (en abrégé  $\beta$  gal) ; elles ne fermentent pas ou fermentent tardivement le lactose.

Chez les bactéries, une autre enzyme (P) (perméase par exemple la galactoside perméase), qui permet la pénétration du lactose dans la cellule bactérienne, est absente ou n'est pas fonctionnelle.

Le test ONPG est une méthode simple et rapide, qui permet de rechercher directement l'enzyme (E) et par suite de distinguer les bactéries potentiellement lactose positives des bactéries lactose négatives.

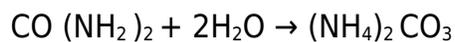
Il présente un grand intérêt diagnostique : comme le lactose, l'ONPG (= Orthonitrophényl -  $\beta$  - galactopyranoside) composé incolore, est scindé par l'enzyme (E) en libérant de l'orthonitrophénol soluble en jaune.

## - Recherche de l'uréase

### Principe

L'uréase est mise en évidence au moyen du milieu «urée indole » ; milieu synthétique utilisé pour rechercher simultanément l'uréase, la tryptophane - désaminase (TDA) et la production d'indole.

Dans ce milieu tamponné, les bactéries qui possèdent une uréase suffisamment active, transforment l'urée en carbonate d'ammonium, selon la réaction :



Il en résulte une alcalinisation du milieu dans des délais plus ou moins rapides. La présence de l'uréase est révélée par alcalinisation donnant une coloration jaune.

### Recherche de l'indole

**Principe :** Certaines bactéries possèdent une tryptophanase, capable de scinder la molécule de tryptophane en donnant de l'indole. A partir de la culture en eau peptonée ou de suspension bactérienne en milieu « urée - indole » ; qui fermentent toutes deux du tryptophane, on peut rechercher la production d'indole à l'aide du réactif de Kovacs.

**Technique :** Ajouter quelques gouttes de réactif de Kovacs à une culture de 18h-20h en eau peptonée ou bien à une suspension dense de bactéries en milieu « urée - indole » après 18h à 24h d'incubation 37°C ou 30°C. Agiter et laisser reposer, la présence d'indole est révélée par un anneau rouge en surface. Cet anneau n'apparaît que lorsque la bactérie possède une tryptophanase.

**- Recherche du thiosulfate - réductase** (production d'H<sub>2</sub>S)

**Principe :** Cette enzyme permet de réduire S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> en S<sup>2-</sup>. L'anion S<sup>2-</sup> peut être révélé grâce à la coloration noire de certains sulfures métalliques : sulfure de fer (milieu Hajna-Kligler), sulfure de plomb (gélose au sous - acétate de plomb).

**- Réaction de Voges- Proskauer,**

**Principe :** Les bactéries dites Voges - Proskauer positives (VP<sup>+</sup>) possèdent une voie métabolique particulière dans la fermentation des hexoses. A partir de l'acide pyruvique CH<sub>3</sub>CO - COOH, produit d'oxydation du glucose, elles peuvent former de l'acétyle méthyle carbinol (= acetoïne) : CH<sub>3</sub>CO - CHOH - CH<sub>3</sub> et du butane diol 2-3 :  
CH<sub>3</sub> - CHOH - CHOH - CH<sub>3</sub>.

La présence de ces deux composés est décelée par la réaction de VP : en milieu fortement alcalin, ils sont oxydés en diacétyl : CH<sub>3</sub>CO - COCH<sub>3</sub>, qui réagit avec le groupement guanidine des peptones pour produire un complexe de couleur rose rouge cerise ; l'alpha - naphthol accélère cette réaction colorée. D'une façon générale, les produits de dégradation obtenus par les bactéries qui possèdent cette voie métabolique, présentent une réaction peu acide (virage au jaune du rouge de méthyle : RM<sup>+</sup>).

### - Milieu synthétique au citrate de Simmons

**Principe** : Le milieu au citrate de Simmons est un milieu minéral synthétique tamponné avec comme source d'azote un sel d'ammonium et comme source unique de carbone et d'énergie du citrate, dont l'utilisation en aérobiose par certaines bactéries se traduit par leur croissance et l'alcalisation du milieu. Les entérobactéries, qui exigent des facteurs de croissance (auxotrophes, par exemple : **Salmonella Typhi** et les **Shigella**), ne peuvent pas pousser sur ce milieu.

### - Recherche des décarboxylases et dihydrolase (LDC, ODC, ADH)

**Principe** : Les décarboxylases sont des enzymes qui décarboxylent les acides aminés en formant l'amine correspondante avec dégagement de CO<sub>2</sub>.

Les décarboxylases présentant un intérêt taxonomique sont :

- la lysine- décarboxylase ou LDC : sa décarboxylation conduit à la formation de la cadavérine.
- l'ornithine- décarboxylase ou ODC : sa décarboxylation conduit à la formation de la putrescine
- l'arginine- décarboxylase et dihydrolase ou ADH conduit à l'agmatine et à l'ornithine) [27].

### Le milieu de Hajna-Kligler :

Le milieu de Hajna-Kligler est un milieu complexe, qui permet la recherche de plusieurs caractères biochimiques. Il est très utilisé dans l'identification des entérobactéries.

### **1.7.3.2. Galerie API 20E**

L'API 20E est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif qui poussent facilement. Le système consiste en une galerie de 20 microtubes contenant les substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne, incubés pendant la nuit dans un incubateur en aérobiose, et ensuite interprétés.

### **1.7.4. Antibiogramme :**

Méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer.

Ce procédé définit l'utilisation de la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques in vitro selon Kirby- Bauer pour tester la sensibilité, d'importants isolats en clinique. Les résultats de cet examen peuvent aider les médecins dans la sélection de l'antibiotique approprié pour la thérapie.

**Principe :** la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques selon Kirby- Bauer est basée sur l'observation qu'il y a une corrélation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour d'un disque d'antibiotique. La taille de la zone d'inhibition de croissance est déterminée par la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique, la concentration du disque d'antibiotique, le taux de diffusion de l'antibiotique du disque et le taux de croissance du micro-organisme. En standardisant les conditions du test (exemple : préparation d'un seul antibiotique contenu dans le disque, milieu de culture spécial, atmosphère et durée d'incubation) et avec une concentration du micro-organisme du test, la zone d'inhibition mesurée sera corrélée avec la sensibilité du micro-organisme à l'antibiotique (plus la zone est grande, plus l'organisme est sensible).

Interprétation :

1. Tous les tests de sensibilité sont lus après 20 à 24 heures d'incubation. Si les examens sont lus plutôt ou après 24 heures, les résultats pourraient ne pas être précis ;
2. La limite est l'aire dans laquelle une croissance évidente est visible à l'œil nu, excepté la trace de la ligne de croissance à la lisière de la zone d'inhibition. **[13]**.

#### **1.7.5. Diagnostic indirect :**

Les méthodes indirectes utilisées pour le sérodiagnostic des fièvres typhoïde et paratyphoïdes sont :

La technique d'agglutination sur lame (le latex).

Le sérodiagnostic de Widal et Félix en dilution du sérum en tube.

# **MÉTHODOLOGIE**

## **Méthodologie**

### **2.1. Cadre de l'étude**

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE situé dans le centre commercial de Bamako. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel TOURE» en hommage au sacrifice d'un jeune Médecin Soudanais mort d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934. L'Hôpital Gabriel TOURE a été érigé en établissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. L'Hôpital Gabriel TOURE est l'un des onze établissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU), il comprend les services suivants :

La réanimation, les Urgences, la pédiatrie, la gynécologie, le service de la médecine interne, la chirurgie, la traumatologie la Pharmacie et le Laboratoire.

Le Laboratoire comprend : une salle d'hématologie, une salle de biochimie, une salle pour les prélèvements et la parasitologie, une salle de stérilisation équipée d'autoclaves et de fours, une salle de garde, un bureau du chef de service. En 2001 une partie du laboratoire a été aménagée pour les activités de bactériologie et équipée en conséquence.

Le personnel comprend : un pharmacien biologiste ; un pharmacien ; des internes ; des assistants de biologie ; des techniciens supérieurs ; un personnel de surface.

## **2.2. Etude**

### **2.2.1. Type et durée de l'étude**

Il s'agit d'une étude prospective basée sur l'évaluation de la technique d'agglutination sur lame comparée à la technique de dilutions en tube dans le sérodiagnostic de Widal et Félix. Elle s'étend d'août 2006 à Septembre 2006.

### **2.2.2. Critères d'inclusion et de non inclusion**

#### **- Critères d'inclusion**

Pendant la période d'étude, étaient inclus tous les patients chez lesquels le sérodiagnostic de Widal et Félix a été demandé.

#### **- Critères de non inclusion**

N'étaient pas inclus dans notre étude, les patients chez lesquels le sérodiagnostic de Widal et Félix n'a pas été demandé ou leur refus de faire le test de Widal.

### **2.2.3. Echantillonnage :**

L'échantillonnage utilisé dans cette étude a concerné l'ensemble des patients qui s'étaient présentés au laboratoire du CHU Gabriel TOURE pour un examen de sérodiagnostic de Widal et Félix.

**2.2.3.1. Taille de l'échantillon :** Durant la période d'étude allant d'août 2006 à Septembre 2006, l'effectif des patients testés tant par la méthode d'agglutination sur lame que par le test de dilutions en tube dans le sérodiagnostic de Widal et Félix a été 118 patients qui ont constitué notre échantillonnage. De nos jours, la technique habituelle utilisée au laboratoire du CHU Gabriel TOURE est le test de dilutions en tube. En 2007. Le nombre total d'examen effectués a été 12427 dont 2011 de demandes en Widal soit 16,18%.

### **2.2.3.2. Conditions de prélèvement**

- Le prélèvement de sang veineux (en général au pli du coude) a été fait sur tube sec, à noter qu'il n'est pas indispensable d'être à jeun.

Le sang prélevé a été laissé jusqu'à formation complète d'un caillot puis centrifugé à 3000 tours pendant 5mn.

- Après centrifugation, le sérum a été extrait et testé par nos deux tests (agglutination sur lame et dilutions en tube).

## **2.3. Méthodes indirectes**

### **2.3.1. Sérodiagnostic de Widal et Félix :**

Il permet de détecter dans le sang la présence d'anticorps dirigés contre les constituants des Salmonella : les anticorps anti-O et les anticorps anti-H par la méthode d'agglutination sur lame et de dilution du sérum en tube **[10]**.

**Principe :** Il est basé sur la capacité des anticorps sériques (agglutinines) d'agglutiner une suspension de bactéries tuées. Cette suspension de bactéries est préparée de façon à détruire les flagelles par action de l'alcool donnant une suspension antigénique O et à les préserver (sans chauffage ni action d'alcool) ce qui donne une suspension antigénique H.

**Tableau I: Présentation d'un flacon de 50ml de réactifs**

Etiquetage	Code Bio-Rad
<b>Salmonella Typhi</b> antigene O (TO)	63402
<b>Salmonella Typhi</b> antigene H (TH)	63312
<b>Salmonella Paratyphi A</b> antigene O (AO)	63412
<b>Salmonella Paratyphi A</b> antigene H (AH)	63322
<b>Salmonella Paratyphi B</b> antigene O (BO)	63422
<b>Salmonella Paratyphi B</b> antigene H (BH)	63332
<b>Salmonella Paratyphi C</b> antigene O (CO)	63432
<b>Salmonella Paratyphi C</b> antigene H (CH)	63342

- Conservation des réactifs à +2-8°C

- Validité : jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret (y compris après ouverture).

## Protocole

La détection se fait in vitro en mettant en présence du sérum du malade à une dilution croissante, une quantité constante de suspension antigénique appartenant aux différents sérotypes responsables des fièvres typhoïde et paratyphoïdes. Le temps d'incubation est de 18 heures et le titre des anticorps est déterminé par la plus forte dilution donnant encore lieu à une agglutination. L'agglutination O, indissociable et granuleuse est différente de l'agglutination H qui est floconneuse facilement dissociable par agitation [4].

### - Mode opératoire

- **Matériels nécessaires** : Eau physiologique, tubes à hémolyse, incubateur ou bain-marie, gants à usage unique, pipettes réglables ou fixes pouvant distribuer de 10 à 1000µl et 1,2 à 10ml

#### 2.3.1.1. Technique rapide par centrifugation (selon Bio-Rad)

Faire de façon séparée deux dilutions des sérums à tester :

**Dilution au 1/10<sup>e</sup>** : 200µl de sérum pour 1800µl d'eau physiologique

**Dilution au 1/20<sup>e</sup>** : 100µl de sérum pour 1900µl d'eau physiologique

On obtient alors deux premières dilutions : 1/10<sup>e</sup> et 1/20<sup>e</sup>

- Pour ce qui concerne la dilution au 1/10<sup>e</sup> : On répartit dans une série de huit tubes, 100µl de cette dilution, et ajouter 900µl des suspensions antigéniques, la dilution finale est alors 1/100, puis on fait la lecture après centrifugation. Nous n'avons pas validé nos résultats par cette dilution en raison de la non précision du sérotype de Salmonella

- Pour ce qui la dilution au 1/20<sup>e</sup> :

On prélève ensuite 700µl de la dilution réalisée au 1/20<sup>e</sup> à la quelle on ajoute la même quantité d'eau physiologique (700µl) ce qui donne une deuxième dilution.

On répartit dans une série de huit tubes, 100µl de cette deuxième dilution, et ajouter 900µl des suspensions antigéniques, la dilution finale est alors 1/400.

On Centrifuge pendant 5 minutes à 3000 tours /mm pour faire sédimenter la suspension bactérienne, effectuer une lecture à la lumière par une légère agitation du tube en remettant le culot en suspension.

Si le résultat est positif, on observe une agglutination floconneuse facilement dissociable pour les antigènes H par contre elle est fine, granulaire et difficilement dissociable pour les antigènes O.

En présence d'une agglutination par exemple avec les suspensions TO et TH au 1/200 alors que tout est négatif recommencer l'opération avec des dilutions au 1/40 ; 1/80 ; 1/160 du sérum à tester ; afin de déterminer son titre ; ne procéder à ce 2<sup>e</sup> test que pour les suspensions ayant agglutinées dans l'exemple TO et TH.

Les titres finaux seront 1/400 ; 1/800 ; 1 /1600.



**figure 2: Agglutination par dilution dans un tube [18].**

### 2.3.1.2. Technique d'agglutination sur lame (Fortress Diagnostics Limited)

- Elle se fait en déposant sur une lame propre 50µl de sérum du patient dilué au 1/10<sup>e</sup> auquel on ajoute 25µl (une goutte) de suspensions antigéniques O ou H des Salmonelles respectives : **Salmonella Typhi** ; **Salmonella Paratyphi A ; B et C**.

On constitue un mélange homogène par rotation de la lame doucement et continuellement pendant une minute.

- Si le résultat est positif on observe une agglutination en grumeaux du mélange contenant les antigènes

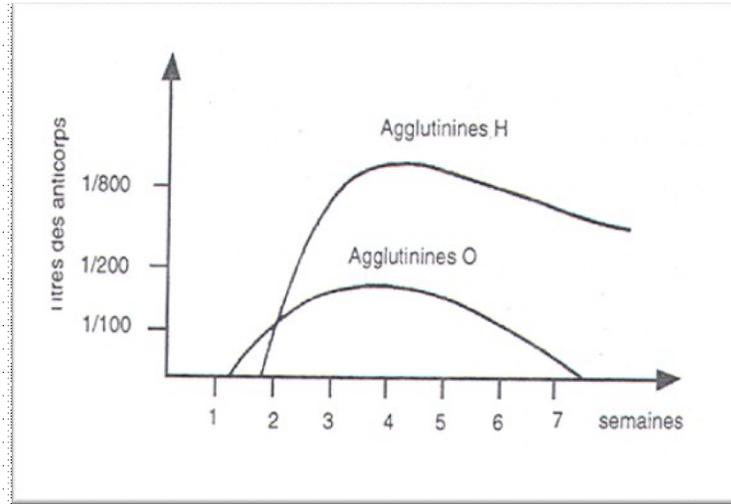
- En absence d'antigène le résultat est négatif et il n'y a pas d'agglutination.



**figure 3 : Agglutination sur lame [18]**

## Evolution des anticorps

Au cours des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, les agglutinines O apparaissent vers le 8<sup>e</sup> jour, montent à un titre moyen de 1/400 et disparaissent rapidement après la guérison clinique ; les agglutinines H apparaissent un peu plus tard, vers le 10 - 12<sup>e</sup> jour, montent rapidement à un titre plus élevé, 1/800 - 1/1600 en moyenne ce titre baisse dans les semaines qui suivent la guérison clinique, mais se maintient à un taux faible (1/100 à 1/200) pendant des mois voire des années après la guérison [17].



**figure 4 : Evolution du titre des agglutinines des anticorps au cours des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes**

### **2.3.1.5. Interprétation des résultats**

#### **Du point de vue qualitatif**

Les principales éventualités rencontrées lors de l'interprétation d'un sérodiagnostic de Widal et Félix sont résumées dans le tableau II.

Le sérodiagnostic de Widal et Félix est un test de présomption au diagnostic des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes car de nombreuses réactions antigéniques croisées sont possibles avec d'autres sérotypes de **Salmonella**, ou avec d'autres entérobactéries tels que **Yersinia pseudotuberculosis**, voire d'autres bacilles à Gram négatif non apparentés : c'est ce qui explique le mécanisme et les causes des faux positifs.

Enfin, le traitement antibiotique précoce diminue considérablement, ou même abroge totalement la réponse anticorps en réduisant la stimulation antigénique, dans ce cas les anticorps anti-O peuvent ne pas apparaître et les anticorps anti-H atteignent un taux faible et parfois, même ni les anticorps anti-O ni les anticorps anti-H n'apparaissent : c'est ce qui explique le mécanisme et les causes des faux négatifs.

En conclusion, le sérodiagnostic de Widal et Félix n'est pas le meilleur moyen de faire le diagnostic biologique de la fièvre typhoïde [27].

#### **Du point de vue quantitatif :**

Il faut noter que la quantité d'agglutinines n'est pas en rapport avec la gravité de la maladie, qu'en présence d'agglutination la réaction est dite positive.

**Tableau II : Exemple d'interprétation du sérodiagnostic de Widal et Félix**

	1	2	3	4	5	6
<b>TO</b>	400	200	200	100	-	400
<b>TH</b>	800	-	-	-	400	1.600
<b>A0</b>	-	-	-	-	-	-
<b>AH</b>	-		-	100	-	100
<b>B0</b>	100	400	-	200	-	-
<b>BH</b>	-	800	-	-	200	200
<b>C0</b>	-	-	-	-	-	-
<b>CH</b>	-	-	-	-	-	-

## Interprétation du tableau II

1. Fièvre typhoïde à la période d'état. (Co agglutination BO due au facteur 12)
2. Fièvre paratyphoïde B à la période d'état.
3. Trois hypothèses sont envisagées :
  - a- Fièvre typhoïde au début vers le 8<sup>e</sup> jour, les agglutinines O sont apparues, les agglutinines H ne le sont pas encore.
  - b- Infection due à un sérotype ayant un antigène O commun avec **Salmonella Typhi** mais des antigènes H différents.
  - c- Infection à **Yersinia pseudotuberculosis** type IV.
4. Trois hypothèses sont envisagées
  - a- Paratyphoïde B au début avec co agglutination T0
  - b- Salmonellose due à un sérotype ayant un antigène O commun avec **Salmonella Paratyphi B**.
  - c- Infection à **Yersinia pseudotuberculosis** type II.
5. Sujet vacciné au TAB depuis plus de 3 mois : les antigènes O ont disparus, les antigènes H persistent pendant de nombreuses années.
6. Fièvre typhoïde chez un vacciné ayant ingéré une grande quantité de **Salmonella Typhi** addition des cas 1 et 5. Un taux d'anticorps O constitue un argument important en faveur d'une infection évolutive ou récente. Il n'existe pas de relation entre le titre des agglutinines et la gravité de la maladie. L'interprétation du sérodiagnostic qualitatif n'est pas toujours aussi aisée. Elle doit être faite en fonction des signes cliniques. En présence d'un résultat aberrant, diverses hypothèses doivent être soulevées.

### - Résultats faussement positifs

La présence d'agglutinines TO seules peut être due à une infection par une *Salmonella* ayant un antigène O commun avec ***Salmonella Typhi***, mais des antigènes H différents, il s'agit de plus souvent de ***Salmonella enteritidis***. De même la présence d'agglutinines BO seules peut être due à une infection à ***Salmonella Typhimurium***, par exemple, certaines souches de ***Yersinia pseudotuberculosis***, à cause de communautés antigéniques, peuvent donner une agglutination avec TO (pour le séro groupe IV) ou avec BO (pour le séro groupe II). Des réactions faussement positives peuvent être observées au cours de certaines maladies : Le typhus exanthématique, des dysglobulinémies, des cirrhoses, le paludisme et certaines infections (entérobactéries, ***Candida albicans***).

Des Salmonelles donnant lieu à des gastro-entérites peuvent s'accompagner de réactions sérologiques en raison des parentés antigéniques [4, 17].

## 2.4. Evaluation du test d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution.

L'application des éléments de performance ci-dessous permet cette évaluation.

- **La sensibilité d'un test** : C'est la capacité du test à détecter les vrais positifs. [17].

$$Se = (\text{vrais positifs} / \text{vrais positifs} + \text{faux négatifs}) \times 100$$

- **La spécificité d'un test** : C'est la capacité du test à détecter les vrais négatifs

$$SP = (\text{vrais négatifs} / \text{vrais négatifs} + \text{faux positifs}) \times 100$$

- **La valeur prédictive positive** : elle permet de définir que lorsqu'on dit que le test d'agglutination est positif, combien de fois cette prédiction est vraie [14 ;32]. Elle est définie par : **VPP= vrais positifs/vrais positifs+faux positifs.**

- **La valeur prédictive négative** : elle permet de définir que lorsqu'on dit que le test d'agglutination est négatif, combien de fois cette prédiction est vraie.

Elle est définie par : **VPN= vrais négatifs/vrais négatifs+faux négatifs.**

**Le seuil de positivité** : variable arbitraire qui sépare les résultats positifs des résultats négatifs.

Soit Kappa la constante permettant d'apprécier la concordance entre les deux tests (test d'agglutination sur lame et dilutions en tubes). Elle varie entre -1 et +1.

- Kappa proche de -1 : c'est la discordance
- Kappa proche de 0, la concordance est dite moyenne ;
- Kappa proche de +1, la concordance est dite absolue.

**Tableau III** : comparaison des résultats [32].

Test à Evaluer (Agglutination sur lame)	Test de référence (dilution en tube)		Total
	sérums positifs	sérums négatifs	
Patients positifs (+)	VP	FP	VP+FP
Patients négatifs (-)	FN	VN	FN+VN
Total Référence	VP+FN	VN+FP	

## 2.5. Analyse des données

La saisie et l'analyse des données ont été effectuées dans les logiciels EPI-INFO version 6 et SPSS. La rédaction des résultats et le graphisme ont été réalisés dans les logiciels WORD et EXCEL. Les tests statistiques utilisés sont :

L'intervalle de confiance (IC), les tests de validités tels que : la **Se**, la **Sp.**, la **VPN**, la **VPP**, la **FP**, la **FN**.

## **2.6. Aspects éthiques :**

Dans un premier temps les prélèvements sanguins ont été fait sachant que les patients savaient qu'il s'agissait d'un examen biologique des fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

Le prélèvement a été destiné uniquement au sérodiagnostic de Widal et Félix sans autre examen d'analyse complémentaire.

Dans un second temps c'est une étude qui sert non seulement de support pour les études ultérieures mais aussi d'estimer la qualité des examens de laboratoire quant au sérodiagnostic des fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

# **PRESENTATION DES RESULTATS**

**Tableau IV** : Fréquence des demandes d'examens de Sérodiagnostic de Widal et Félix pendant la période d'étude.

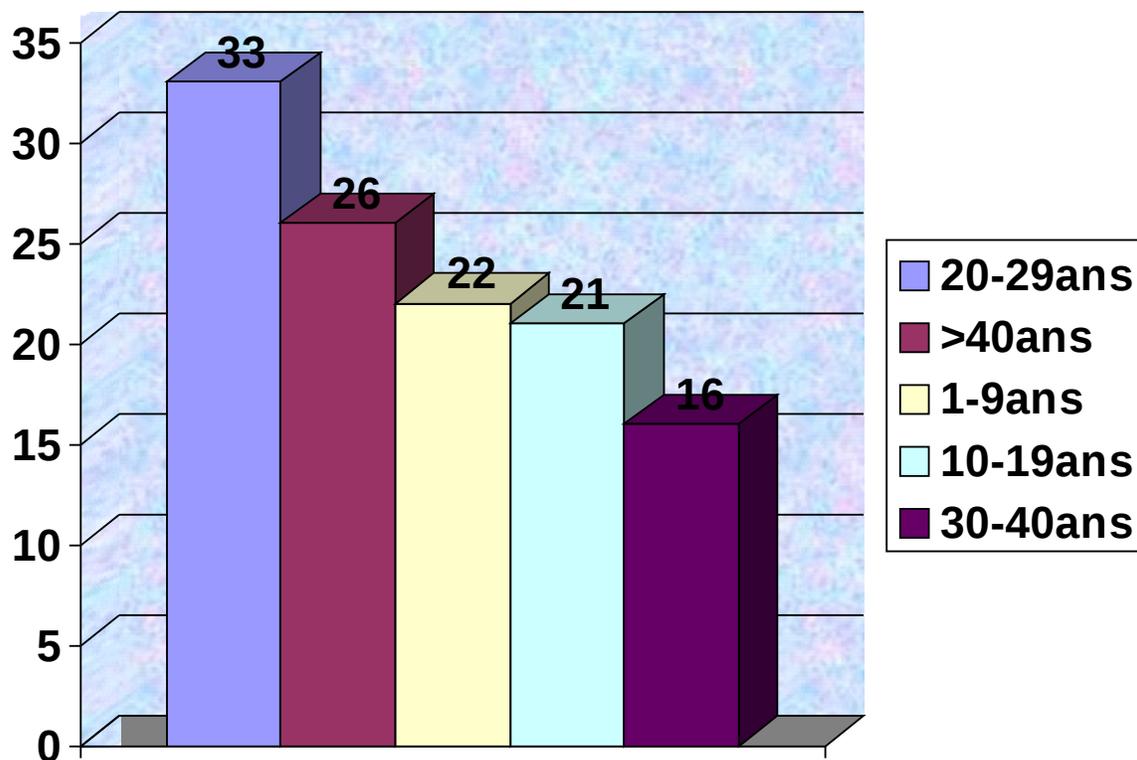
<b>Périodes</b>	<b>Nombre d'analyses</b>	<b>%</b>
Août 2006	<b>66</b>	<b>55,93%</b>
Septembre 2006	52	44,07
Total	<b>118</b>	<b>100</b>

Près de 55,93% des demandes d'examens du Sérodiagnostic de Widal et Félix ont été enregistrées pendant le mois d'août.

**Tableau V:** Répartition des patients en fonction de l'âge.

<b>Ages</b>	<b>Nombre</b>	<b>%</b>
1-9ans	22	18,64
10-19ans	21	17,79
20-29ans	33	27,96
30-40ans	16	13,56
>40ans	26	22,03
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>100</b>

La fréquence des demandes du Widal a été particulièrement élevée chez les sujets de 20 à 29 ans soit **27,96%**



**figure 5** : Distribution des patients par catégories d'âges.

**Tableau VI** : Répartition des patients en fonction du sexe

<b>Sexes</b>	<b>Nombre</b>	<b>%</b>
Masculin	68	57,62
Féminin	50	42,37
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>100</b>

Les hommes ont été les plus nombreux au cours de notre étude, soit une fréquence de 57,62%.



**figure 6** : Distribution des patients en fonction du sexe

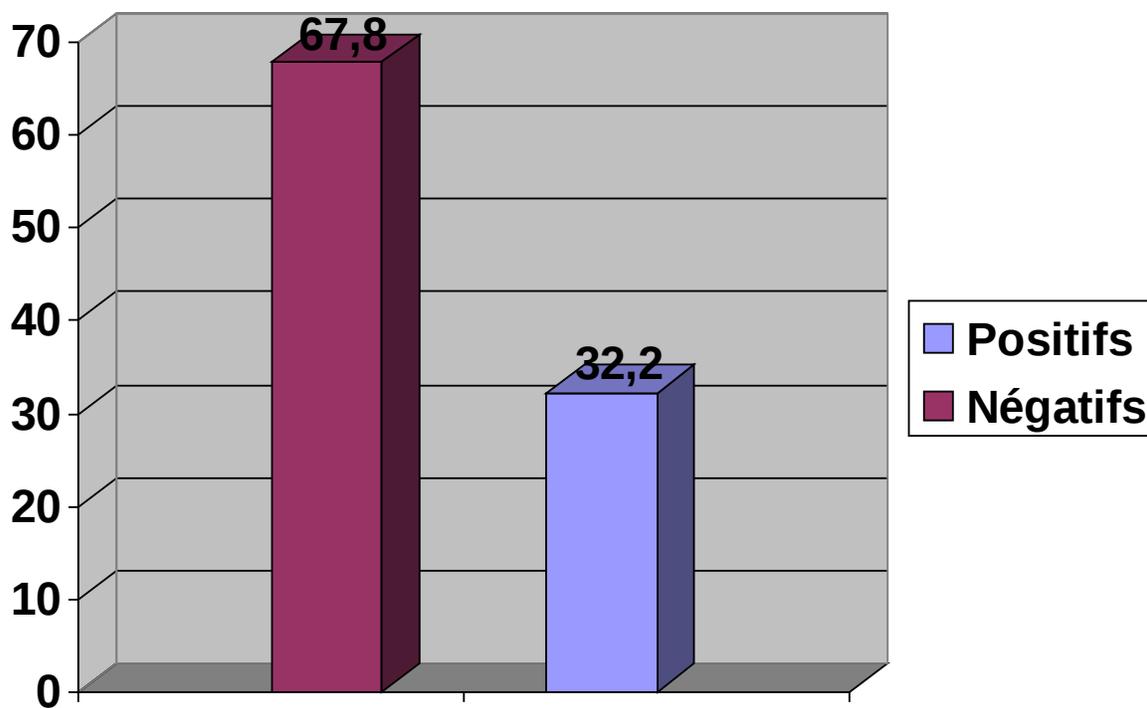
**Tableau VII** : Répartition des résultats selon le test de dilutions en tube

<b>Résultats</b>	<b>Nombre</b>	<b>(%)</b>
Positifs	38	32,20
Négatifs	80	67,80
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>100</b>

$P < 0,001$

IC 95% = (28% - 36%)

Nous avons une chance à 95% de trouver nos vrais positifs dans l'intervalle (28% - 36%) avec 5% de risque d'erreur.

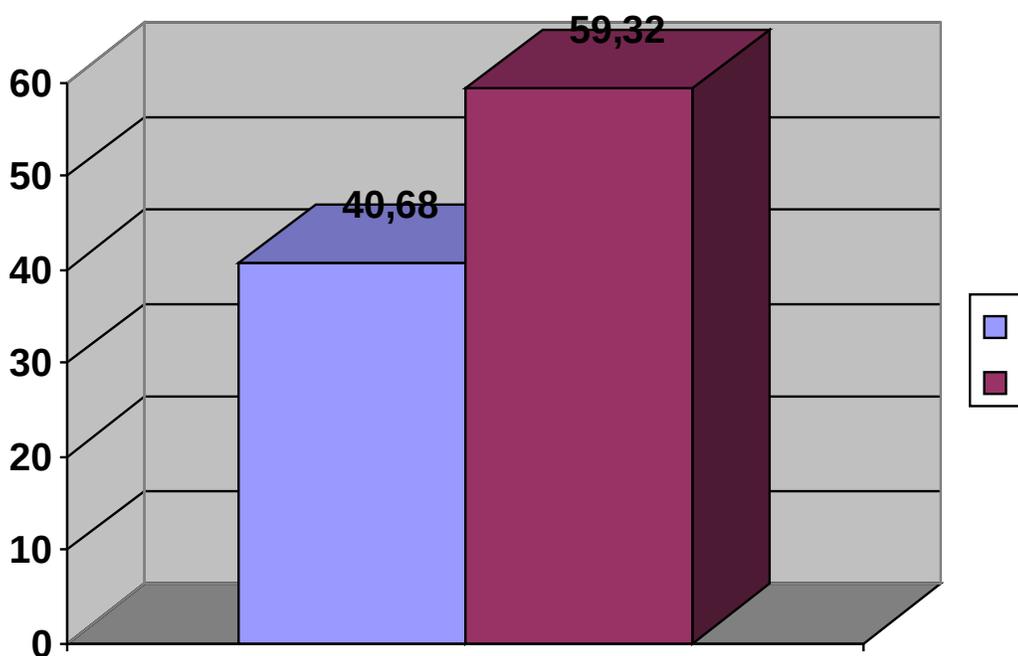


**figure 7** : Représentation des résultats obtenus par le test de dilutions

**Tableau VIII:** Répartition des résultats du test d'agglutination sur lame

<b>Résultats</b>	<b>Nombre</b>	<b>(%)</b>
Positifs	48	40,68
Négatifs	70	59,32
<b>Total</b>	<b>118</b>	<b>100</b>

Chez 70 de nos patients soit **59,32%** le test d'agglutination sur lame était négatif, et positif chez 48 de nos patients.



**figure 8** : Représentation des résultats obtenus par le test d'agglutination sur lame.

**Tableau IX:** Evaluation du test d'agglutination sur lame par rapport au test de référence en dilution.

Test d'agglutination sur lame (test à évaluer)	<b>Test de référence (dilution)</b>		<b>TOTAL</b>
	Patients positifs (+)	Patients négatifs (-)	
Patients positifs (+)	38	10	48
Patients négatifs (-)	0	70	70
<b>Total référence</b>	<b>38</b>	<b>80</b>	<b>118</b>

VP = 38 ; VN = 70 ; FP = 10 ; FN =0

Vrais positifs sont les résultats positifs obtenus avec le test de la dilution.

Faux positifs sont les résultats positifs obtenus par le test d'agglutination et qui sont négatifs avec le test de la dilution.

Vrais négatifs = les négatifs obtenus par le test de la dilution.

Faux négatifs = les résultats qui sont négatifs par agglutination et positifs par dilution.

Se = 99%

SP = 87,50%

VPP = 79,16%

VPN = 99%

Kappa est une constante qui permet d'apprécier la concordance entre les deux tests (test d'agglutination sur lame et dilution en tubes), soit Pa le pourcentage des résultats observés et Po le pourcentage des observations attendues.

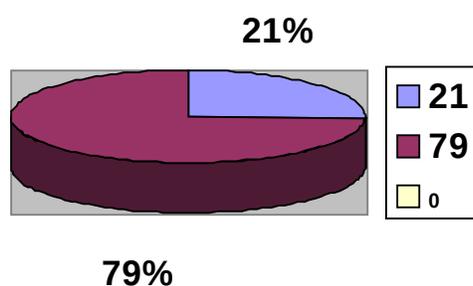
**Kappa =  $\frac{Pa - po}{1 - Pa}$  avec  $Pa = \frac{38 \times 48 + 80 \times 70}{13924} = 0,533$**

**Po =  $\frac{38 + 70}{118} = 0,91$**

**Kappa = - 0,80** donc proche de -1. La concordance est alors complète.

**Tableau X:** Concordances des deux tests

Concordances		Discordances		Total
38	79%	10	21%	48



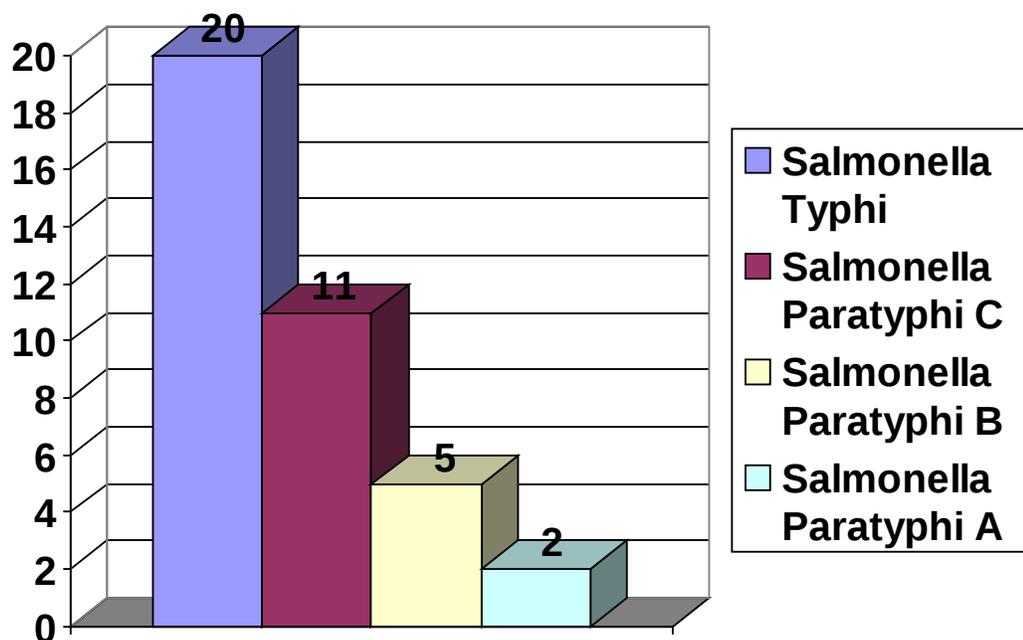
**figure 9 : répartition des résultats de discordance et concordance entre les tests en dilutions et test d'agglutination sur lame.**

Cette répartition montre que sur 118 sérums testés, nos deux tests sont concordants à 80% et discordants à 20%.

**Tableau XI** : Résultats des sérotypes de *Salmonella* typhoïdiques obtenus par le test de dilution.

Sérotypes	Test de dilution en tube	
	Nombre	%
<b><i>Salmonella</i> Typhi</b>	<b>20</b>	<b>52,63</b>
<b><i>Salmonella</i> Paratyphi A</b>	2	5,26
<b><i>Salmonella</i> Paratyphi B</b>	5	13,16
<b><i>Salmonella</i> Paratyphi C</b>	11	28,95
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>100</b>

***Salmonella* Typhi** est détectée dans 52,63% de nos résultats positifs obtenus par le test de dilution en tube, suivi de ***Salmonella* Paratyphi B** avec 28,95%.

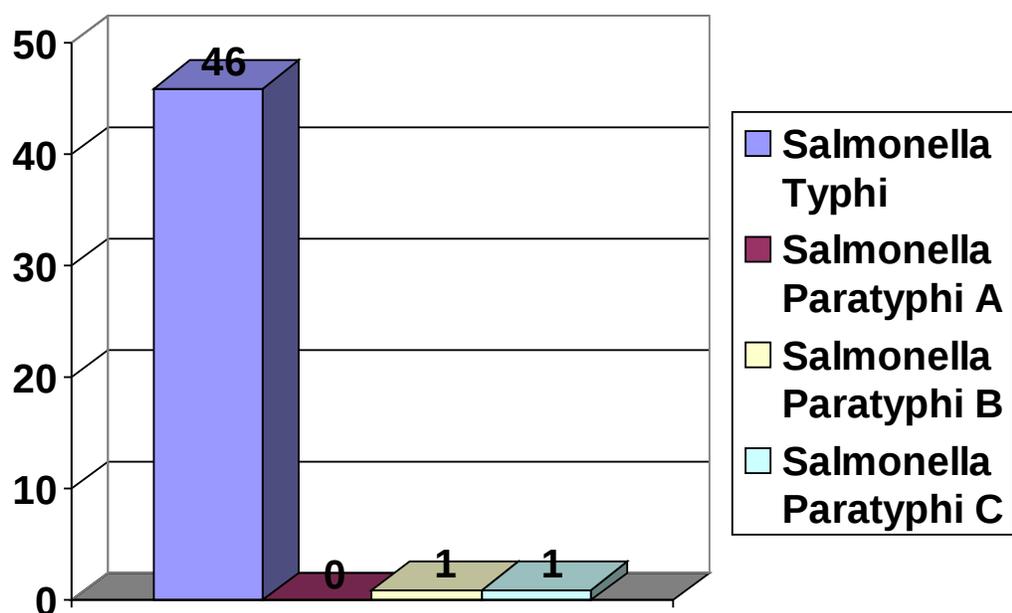


**figure 10:** Détermination des sérotypes de *Salmonella* typhoïdiques par le test de dilution en tube. Cet histogramme montre une prédominance des *Salmonella Typhi*

**Tableau XII** : Sérotypes de *Salmonella* typhoïdiques obtenus par le test  
d'agglutination sur lame

<b>Sérotypes</b>	<b>Test d'agglutination sur lame</b>	
	<b>Nombre</b>	<b>%</b>
<b><i>Salmonella</i> Typhi</b>	<b>46</b>	<b>95,83</b>
<b><i>Salmonella</i> Paratyphi A</b>	0	0
<b><i>Salmonella</i> Paratyphi B</b>	1	2,08
<b><i>Salmonella</i> Paratyphi C</b>	1	2,08
<b>Total</b>	<b>48</b>	<b>100</b>

Plus de 95% des sérotypes de *Salmonella* détectés par le test d'agglutination sur  
lame étaient des *Salmonella* Typhi.



**figure 11:** Détermination des sérotypes de Salmonella par la méthode d'agglutination sur lame.

**Tableau XIII : Titrage des antigènes**

Titre de dilution	Positifs	
	Nombre	%
1 / 200 <sup>e</sup>	28	<b>73,68</b>
1 / 400 <sup>e</sup>	8	21,05
1 / 800 <sup>e</sup>	2	5,26
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>100</b>

Plus de **73%** de nos résultats sont obtenus par dilution au 1/200.

# COMMENTAIRES

## **Commentaires**

Notre étude, a porté sur 118 patients chez lesquels le sérodiagnostic de Widal et Félix a été demandé. Le prélèvement sanguin pour cet examen était fait dans un tube sec.

### **5.1. Les contraintes méthodologiques.**

Au cours de la réalisation de ce travail, nous avons été confrontés à certaines difficultés dominées surtout par la rupture du stocke du réactif du test d'agglutination sur lame ceci a contribué à la limite précoce de notre échantillon à 118 patients.

La non disponibilité du réactif de contrôle utilisé comme témoin.

Nous n'avons pas pu différencier les vrais positifs des autres résultats positifs dus aux réactions croisées énumérées ci-dessus, seuls les résultats obtenus par dilution en tube ont été considérés comme nos vrais résultats.

### **5.2. Les données sociodémographiques**

#### **5.2.1. L'âge :**

La tranche d'âge la plus prédominante était celle de 20 à 29 ans avec 27,96%. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'à cette tranche d'âge, les manipulations manuelles sont plus fréquentes et préjudiciables à l'hygiène alimentaire, la fièvre typhoïde étant une maladie des mains sales. Nos résultats sont similaires à ceux de Sacko F [32] qui a eu une prédominance de la tranche d'âge de 21 à 30 ans.

### 5.2.2. Le sexe :

Le sexe masculin a été le plus retrouvé dans notre étude avec 57,62%. Ceci s'expliquerait par l'effectif plus élevé des hommes dans notre étude. Nos résultats sont inférieurs à ceux de Sacko F [32] qui a eu 50,5%.

### 5.3. Les résultats du laboratoire

#### 5.3.1. Agglutination sur lame et dilutions en tube :

Les sérums des 118 patients ont été analysés tant par la méthode d'agglutination sur lame que la méthode de dilution en tube, la fréquence de positivité par agglutination sur lame a été prédominante à 40,20% contre 32,20% pour le test de dilution en tube. Ceci s'expliquerait par la sensibilité plus élevée du test d'agglutination sur lame. Nos résultats sont inférieurs à ceux de Sacko F [32] qui avait trouvé 77,90% par agglutination sur lame. La réaction anticorps- antigènes liée aux suspensions antigéniques des *Salmonella* nous a permis de détecter par agglutination sur lame 95,83% de ***Salmonella Typhi*** ; 2,08% de ***Salmonella Paratyphi B***. Par dilution en tube on a obtenu 52,63% de ***Salmonella Typhi*** ; 13,15% de ***Salmonella Paratyphi B*** ; 5,26% de ***Salmonella Paratyphi A*** et 28,94% de ***Salmonella Paratyphi C***. Ces variations de résultats s'expliqueraient par la faible spécificité de nos deux tests utilisés (Agglutination sur lame et dilutions en tube). Du point de vue des discordances et concordances, nos deux tests ont été concordants à 80% et discordants à 20%. Contrairement à celui de Sacko F [32] qui avait eu, sur 92 sérums une concordance de 84,78% et 15,22% de discordance.

Les discordances entre les sérotypes de **Salmonella** ont été respectivement 43,22% pour **Salmonella Typhi** ; 5,26% pour **Salmonella Paratyphi A** ; 11,07% pour **Salmonella Paratyphi B** ; et 26,86% pour **Salmonella Paratyphi C**.

Le titrage des agglutines a été déterminé par dilution successive du sérum : aux 1/100<sup>e</sup> ; 1/200<sup>e</sup> ; 1/400<sup>e</sup> et 1/800<sup>e</sup> mais 73,68 % de nos résultats sont sortis avec la dilution au 1/200<sup>e</sup>. Aucun résultat n'a été validé à la dilution au 1/100<sup>e</sup> au cours de notre étude. Le test d'agglutination sur lame a été sensible à 99%, ce qui permet de dire que ce test a une très bonne sensibilité par rapport à la technique de dilutions en tube, la spécificité a été de 87,50% elle est par conséquent assez bonne. La VPP a été de 79%. La VPN a été de 99%. Nos résultats sont alors supérieurs à ceux de **Sacko F [32]** qui avait obtenu 83% de sensibilité, 85% de spécificité, 57% de VPP et 95% de VPN.

## **CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

## CONCLUSION

Ce travail a porté sur 118 cas de sérodiagnostic de Widal et Félix effectués dans le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Gabriel TOURE entre Août 2006 et septembre 2006 avec un recensement de 48 cas de positifs pour le test d'agglutination sur lame soit 40,70% contre 38 pour celui de la dilution en tube avec 32,20%.

Au terme de cette étude nous avons pu détecter les quatre sérotypes de **Salmonella** responsables des fièvres typhoïde et paratyphoïdes, dont les plus prédominants de part et d'autre de nos tests (test d'agglutination sur lame test de dilution en tube) ont été **Salmonella Typhi**. Nous avons pu également déterminer les éléments de performance du test d'agglutination sur lame tels que la sensibilité la spécificité les valeurs prédictives positives (ou VPP) et négatives (ou VPN). Les titres de dilutions des sérums ont été réalisés au 1/100<sup>e</sup> ; 1/200<sup>e</sup> ; 1/400<sup>e</sup> et 1/800<sup>e</sup> mais la majorité de nos résultats sont sortis à la dilution au 1/200<sup>e</sup>. Les propriétés antigéniques communes aux entérobactéries sont à l'origine des réactions croisées, donnant des faux résultats dans les sérogroupes O. La grande sensibilité et la faible spécificité de la technique d'agglutination sur lame pour différencier d'une part les sérotypes de salmonella et d'autre part les salmonella des autres entérobactéries posent un grand problème dans l'interprétation du sérodiagnostic de Widal et Félix. Par ailleurs les discordances notées dans l'interprétation des résultats sont sujettes à des incertitudes pour la fiabilité de nos deux techniques. Par conséquent le sérodiagnostic de Widal et Félix par agglutination sur lame n'est pas une bonne technique pour le diagnostic Salmonelloses.

# **RECOMMANDATIONS**

Au terme de cette étude, nous recommandons :

Aux cliniciens :

- Demander le sérodiagnostic de Widal et Félix dans les seuls cas où les hémocultures et /ou les coprocultures sont négatives.
- Eviter toute antibiothérapie avant un prélèvement pour examens de laboratoire.

Aux biologistes :

- Assurer la disponibilité permanente des réactifs destinés aux différents examens de diagnostic de salmonelloses.
- Former le personnel de laboratoire aux différentes techniques de diagnostic de salmonelloses et l'interprétation des résultats.

Au ministère de la santé :

- Assurer le fonctionnement de la structure technique chargée du contrôle de qualité et des conditions de mise sur le marché de tous les réactifs et articles de santé.

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame et la technique de dilutions en tubes dan le sérodiagnostic de  
Widal et Félix

## **REFERENCES**

## REFERENCES

- 1 - ACHARYA (IL), LOWE (CU), THAPA (R) et coll.** Prevention of typhoid fever in Nepal with the Vi capsular polysaccharide of **Salmonella Typhi**. N Engl J Med 1987; 317: 103-04
- 2 - ANGE (B), AVRIL (JL), CAYLA (AM).** Les salmonelloses humaines en Ile et Vilaine en 1983. Rev epidemiol et Santé Publique 1984 ; 32 : 344-49
- 3 - ASTRUC (J), RODIERE (M).** Les salmonelloses en pédiatrie. Méd. mal inf 1986; 16: 344-49
- 4 - AZELE (F).** Bactériologie médicale. 10<sup>e</sup> éd: Editions C et R, 1979 : 26
- 5 - AZELE (F).** Bactériologie médicale. 12<sup>e</sup> éd La Madeleine : Editions C et D, 1982 : 24
- 6 - BASTIN (R), CHARMOT (G), FROTTIER (J), WILDE (JL).** Maladies infectieuses et parasitaires. 2<sup>e</sup> ed. Paris: Flammarion, 1981: 66-73.
- 7- BEN-HASSEN (A), BEJAOUI (M), LAKHOUA (MR), BEN REDJEB (S).** profil épidémiologique de la résistance de 153 souches de **Salmonella (Salmonella Typhi** exclue) isolées en milieu pédiatrique tunisien de 1985 à 1990.Path Biol. 1993, 41: 706-12.
- 8 - BEN REDJEB (S).** Profil épidémiologique de la résistance de 153 souches de **Salmonella (Salmonella Typhi** exclue) isolées en milieu pédiatrique tunisien de 1985 à 1990. Path Biol. 1993 ; 41 : 706-12.

**9 - BERCHE (P), GAILLARD (JL), SIMONET (M).** Les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion ; 1988 : 77-92 et 572-92.

**10 - CAQUET (R).** Guide pratique des examens de laboratoire. 6<sup>e</sup> Edition, Paris 1994.

**11 - CAVALLO (JD), MEYRAN (M).** Les Salmonelloses et leur pathologie : base bactériologique du traitement. Med mal inf 1992, 22: 31

**12 - CHRISTMANN (D), STAUD (T), HANSMANN (Y).** Manifestations extra digestives des salmonelloses. . Méd. mal inf 1992 ; 21 : 413-416.

**13 - CISSÉ (MF), SOW (AI), DIEYE- SARR (E) et al.** Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées en milieux pédiatrique Dakarois. Bull Soc Path Ex 1993, 86: 43.

**14 - DAUBE (G), VAN LOOCK (F).** 1997. Arch. Public. Health, 55 : 351-61.

**15- DUTKA-MALEN S, COURVALIN P.** Résistances aux glucopeptides et aux aminosides chez les entérocoques méd. Mal In 1994, 24: 158-64.

**16 - EDWARD WH.** Salmonella Species « including typhoid fever » In: Mandell GL, Douglas RG, Benett JE. Eds principles and practics of infectious diseases 2<sup>e</sup> Ed 1985; 53: 17-20

**17 - FAUCHERE (J.L), AVRIL (J.L).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses édition. Marketing S.A. 2002. 15: 247-48

**18 - FRAVALLO (P), LE FELIC (M), QUEGUINER (S), SALVAT (G).** 2002. 2<sup>ème</sup> colloque international Francophone de bactériologie. Vét. 5-6 Septembre 2002, Ploufragan France.

**19 - GENTILINI (M).** Médecine tropicale 4<sup>e</sup> éd Paris : Flammarion, 1986 : 330-34

**20 - GREVENNA (PB), BUENDIA (A).** Cambiosen la epidemiologia de la typhoidea Salud Pub Mex 1973 ; 15 : 839-47

**21 - GUILLEMONT (D), CARBON (C).** Les salmonelloses : aspects thérapeutiques. Rev Prat 1992; 42:86-91.

**22 - HIRSCHOWITZ (B).** Pyogenic liver abscess. Review with a case report of solitary abscess caused by *Salmonella enteritidis*. Gastro enterology 1952; 21:291.

**23 - HOLT (P).** Severe *Salmonella* infection in patient with reduced gastric acidity. The practitioner 1985 : 225- 27.

**24 - HUBERT (B).** Surveillance et prévention des salmonelloses en France. Med Mal Inf 1992: 22-25.

**25 - JEAN (LF) :** Technique en Bactériologie clinique éd. Marketing SA, 1997

**26 - LECLERC (H).** Microbiologie générale. 2<sup>e</sup> édition. 1983, 199-202.

**27 - LE MINOR (L), RICHARD (C).** Institut Pasteur Méthode de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries.

**28 - LE MINOR (L).** Les salmonelles. In : **LE MINOR (L).** Bactériologie médicale  
Paris : Flammarion, 1992, 259-74

**29 - MARCOU, MEURISSE (JJ).** Salmonelloses : aspects thérapeutiques. Med Mal Inf  
1992, 22 : 340

**30 - OMS.** Lutte contre les salmonelles : le rôle de l'hygiène appliquée aux animaux  
et aux produits. Série de rapports techniques. Genève : 1988 ; n°7

**31 - PERELMAN (CD) et coll.** Infections à **Salmonella** Salmonelloses. Pédiatrie  
pratique Paris : Maloine s.a Editeur 1977 : 103-11.

**32 - Sacko (F).** Evaluation d'un test rapide (sérodiagnostic qualitatif) dans le  
diagnostic de la fièvre typhoïde dans les centres de santé périphériques du District de  
BAMAKO. Thèse 2004 n°65.

**33- SEROLOGICAL DIAGNOSTIC OF TYPHOID AND PARATYPHOID FEVERS.BIO-  
RAD:** notice.

**34 - WWW. Milieux de culture.com/** ©copyright Pr. Guillaume 2004.)

# RESUME

## FICHE SIGNALÉTIQUE

**Nom :** DIARRA

**Prénom :** Corneille

**Titre :** Etude Comparative du Sérodiagnostic de Widal et Félix en Agglutination sur lame et le test de dilutions du sérum en tube au laboratoire d'analyses médicales du Gabriel TOURE

**Année universitaire :** 2007- 2008

**Pays d'origine :** Mali

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

**Secteur d'intérêt :** Virologie Bactériologie.

### Résumé

Notre étude a porté sur le sérodiagnostic de Widal et Félix. Il nous a semblé intéressant de nous pencher sur l'évaluation du test d'agglutination sur lame par rapport au test de dilution en tube. L'étude a été menée sur une période d'août 2006 à Septembre 2006 au laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel TOURE. En effet, 118 sérums représentatifs de notre échantillonnage ont été testés par nos tests (agglutination sur lame et dilution en tube) et le sexe ratio a été en faveur des hommes (masculin) soit 57,62% des cas, la tranche d'âge la plus prédominante a été les patients de 20 à 29 ans avec 27,96%. A l'issue de ce travail 40,70% des sérums des patients ont été positifs par agglutination sur lame et 32,20% par dilution en tube. Le test d'agglutination sur lame a été 99% sensible, et 87,50% spécifique Les deux tests ont été concordants à 80% et discordants à 20%. Le sérodiagnostic de Widal et Félix n'est pas un bon diagnostic des fièvres typhoïde et paratyphoïdes.

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame et la technique de dilutions en tubes dan le sérodiagnostic de  
Widal et Félix

**Mots clés** : sérodiagnostic de Widal et Félix

Agglutination sur lame

Dilution en tube.

## **FACTS**

**Name: DIARRA**

**First name:** Corneille

**Title:** Comparative Study of Serodiagnostic of Widal and Felix Agglutination on a blade and the dilution test tube serum to the laboratory for medical analyses of Gabriel TOURE

**Academic Year:** 2007 - 2008

**Country of origin:** Mali

**Place of deposit:** Library of the Faculty of Medicine and Pharmacy and Odonto-Stomatology.

**Area of interest:** Virology Bacteriology.

### **Abstract**

Our study focused on Serodiagnostic of Widal and Felix. It seemed interesting to look at evaluating the agglutination test on lame compared to the dilution test tube. The study was conducted over a period from August 2006 to September 2006 the lab's medical CHU Gabriel TOURE. In total, 118 were tested serums and sex ratio was in favour of men (male) or 57.62% of cases, the age group most predominant patients was 20 to 29 years with 27.96 %. At the end of this work serums 40.70% of patients were positive agglutination on a blade and 32.20% by dilution tube. The agglutination test on blade was 99% sensitive and specific 87.50%.The two tests were consistent at 80% and 20% discordant. The serodiagnostic of Widal and Felix is not a correct diagnostic of typhoid fever and paratyphoid.

## SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruits dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur engagement ;
- d'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter no seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et ma dignité humaine ;
- en aucun, cas je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque

**Je le jure**

Evaluation de la technique d'agglutination sur lame et la technique de dilutions en tubes dan le sérodiagnostic de  
Widal et Félix