

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PARTIE I : BIBLIOGRAPHIES	5
I. La Gastrite	5
1. Définition	5
2. Anatomie	5
3. Physiologie de l'Estomac	6
1.1. Fonction mécanique	6
3.2. Fonction chimique	6
3.3. Mécanisme de régulation	6
4. Classification des gastrites chroniques	7
5. Aspects histologiques	8
II. La maladie de Crohn	11
1. Définition	11
2. Anatomopathologie	12
3. Epidémiologie	14
4. Physiopathologie	15
III. Rectocolite Hémorragique	16
1. Définition	16
2. Anatomopathologie	17
3. Epidémiologie	18
4. Physiopathologie	19
IV. Microbiote intestinal	20
1. Origine du microbiote intestinal humain	20
2. Ecosystème digestif	22
3. Présentation des microorganismes de notre intestin	23
4. Facteurs de variation du microbiote intestinale	24
5. Relation entre le système nerveux central et le microbiote intestinal	28
6. Compétition entre les microorganismes de la flore intestinale	28
7. Les Grandes fonction du microbiote intestinale	28
7.1. Digestion, absorption, et métabolisme	28
7.2. Fonction immunologique	30
8. Relation hôte et microbiote intestinale	30
9. Notion de probiotique	31
9.1. Définition	31
9.2. Mécanisme d'action	31
PARTIE II : Méthodologie	33
Objectif	33
1. Examen endoscopique	33
2. Examen Anatomopathologie	34
3. Examen microbiologique	35
3.1. Examen microscopique du fragment biopsique	35
3.2. Culture et isolement	36
3.3. Identification	36
3.4. Examen macroscopique	37
3.5. Examen microscopique	37
4. Tests biochimiques	37

4.1. Test à la catalase.....	37
4.2. Test de l'oxydase.....	37
4.3. Test à l'urée.....	37
4.4. Milieu Triple Sugar(TSI).....	38
4.5. Test Manitol Mobilité.....	38
4.6. Galeries API.....	39
5. Antibiogramme.....	39
6. Interaction bactérienne.....	41
7. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	42
PARTIE IV : Résultats et Discussion	
1. Examen endoscopique	45
2. Examen Anatomopathologie.....	46
3. Examen microscopique du fragment biopsique.....	48
4. Identification	48
4.1. Examen macroscopique.....	48
4.2. Examen microscopique.....	49
4.2.1. Culture en aérobie.....	49
4.2.2. Culture en anaérobie.....	51
4.3. Tests biochimiques.....	56
4.3.1. Test à l'urée-indole.....	56
4.3.2 Test à la catalase et l'oxydase.....	59
4.3.3. Test Manitol Mobilité Nitrate.....	61
4.3.4. Résultat du test Triple Sugar(TSI).....	64
4.3.5. Identification par les Galeries API.....	67
4.3.6 Test de coagulase.....	68
4.4. Résultat du test antibiogramme.....	70
5. Effet inhibiteur des bactéries lactiques.....	76
6. Critères d'identification.....	80
Discussion.....	96
Conclusion et perspective.....	110
Références bibliographiques.....	112
Annexe.....	130

REMERCIEMENTS

C'est grâce aux conseils et orientations de membres universitaires compétents que ce travail a été élaboré. A cet effet, il m'est agréable de leur présenter mes remerciements ainsi que l'expression de mon plus profond respect.

Je tiens à remercier particulièrement mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur HEDDADJI MILOUD, Enseignant au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université d'OranI, pour m'avoir encouragé à poursuivre mes études de post-graduation. En outre, il a bien voulu promouvoir mon travail de recherche tout en prodiguant ses précieux conseils et orientations avec persévérance, ainsi que son soutien moral durant la réalisation de ce travail. Enfin, il m'a fait confiance et je l'assure de ma profonde reconnaissance et lui manifeste ma haute considération.

Je tiens à remercier particulièrement mon coencadreur Monsieur le Professeur BEKADA AHMED MOHAMMED ALI, Enseignant au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie du centre Universitaire de Tissimsilt, pour sa grande patience, son suivi de toute les étapes de ma présente étude de recherche, et de ses conseils qui m'ont étaient très bénéfiques, fructueux et précieux.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur KIHAL MABROUK, Enseignant au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université d'OranI, et directeur du Laboratoire de Microbiologie Appliquée pour l'honneur qu'il me fait en acceptant la présidence du jury. Je lui adresse toute ma gratitude.

Je suis très reconnaissant à mon enseignante, Madame MAATALLAH-BOUTIBA AMARIA, Professeur Enseignante au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université d'OranI, pour sa compréhension, et ses sincères encouragements. C'est un moment particulier qui s'offre à moi pour lui témoigner mon respect et mes salutations les plus sincères, et merci d'avoir accepté d'examiner ma présente thèse en siégeant au sein de ce jury.

J'exprime également mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur MEDDAH BOUMEDIENE, Enseignant au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université de Mascara pour s'être intéressé à mon travail et pour avoir accepté de l'examiner en siégeant au sein de ce jury. Qu'il me soit permis de lui exprimer ma sincère gratitude.

Il m'est particulièrement agréable de pouvoir exprimer mes vifs et sincères remerciements à Monsieur le Professeur NEMMICHE SAÏD, Enseignant au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université de Mostaganem pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'examiner ce travail de recherche, je lui adresse toute ma gratitude.

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude au défunt, Monsieur le Professeur **ZITOUNI BOUTIBA**.*

Je ne voudrai pas oublier de remercier et saluer, les Médecins spécialistes, respectivement DR N.SETTACHE Gastroentérologue et DR I.TAKARLI anatomopathologiste, qui, sans leur collaboration ce travail de recherche ne sera pas achevé. Je leur adresse toute ma gratitude et plus profond respect.

Je tiens à remercier DR D.AÏT SAADA enseignant à l'université de Mostaganem et directeur de laboratoire de Nutrition, d'avoir m'autoriser l'accès au sein du laboratoire. Je lui exprime toute ma gratitude.

Monsieur ABED ARABI, Docteur au sein du Département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Université de Mostaganem, par l'amitié qui nous lie, à son aide et ses conseils qui m'étaient très précieux. L'occasion m'est offerte pour lui témoigner toute ma gratitude, mes remerciements, et mon respect le plus profond.

A l'ingénieur du Laboratoire de Microbiologie appliquée, Monsieur MERAH ABDELKADER pour son amabilité, ses orientations et son aide technique efficace pendant la période expérimentale de ma thèse de Doctorat.

Merci à mes enseignants du Magister F. CHAHROUR, S. CHAHROUR , S. MOUFFOK , D. MERZOUG, O.ROUENE, A. BRAHIM TAZI, A. BENGUERMI, et M.BOUDERBELA pour leurs conseils toujours attentionnés et souvent bien vus. L'occasion m'est offerte pour leur témoigner toute ma gratitude.

Il me faudra plus d'une occasion pour pouvoir remercier chaleureusement et sincèrement tous mes enseignants de DES, au département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université d'Oran.

A mes collègues de Magister, avec qui, j'ai eu le plaisir, d'étudier, de travailler, et leurs transmet mes respects les plus profonds et les plus sincères.

Merci aux ingénieurs de laboratoire de recherche de Microbiologie de l'université de Mostaganem pour leur aide inestimable et pour m'avoir facilité mon travail.

Je ne voudrai pas oublier de remercier et saluer Monsieur le Directeur d'hôpital de la Wilaya de Mostaganem et toute son équipe.

*Je réserve une place particulière à mes **très chers parents** qui sont décédés, à qui je leur adresse toute ma gratitude et plus profond respect.*

Je remercie Madame W. BEKADA, et mes chers enfants pour leur aide inestimable, leurs précieux conseils et suggestions, leur participation efficiente, ainsi que leur soutien moral durant la réalisation de ce travail.

Je remercie toute ma famille pour leur soutien moral ainsi mon frère et mes sœurs pour leur encouragement.

Enfin, mes remerciements les plus intenses vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, J'espère n'avoir oublié personne, et si c'est le cas que j'en sois pardonné.

RESUME

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales posent un problème de recherche scientifique et non à visé diagnostic où interviennent, un dysfonctionnement immunitaire et une dysbiose bactérienne. Le pronostic est sombre et l'évolution se traduit par des Cancers. La présente étude a porté sur l'isolement et l'identification de l'écosystème bactérien gastrique et intestinal impliqué d'une part dans la pathologie de la gastrite de type B et d'autre part dans la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique. Les patients étaient de sexe masculin et féminin avec un intervalle d'âge compris entre 18 et 60ans. L'isolement effectué après broyage des différentes biopsies récoltées par le biais d'endoscopie haute et basse, sur des milieux de culture sélectives spécifiques a permis de sélectionner un ensemble de bactéries appartenant à l'écosystème gastrique et intestinal. Les données ont été identifiées sur le plan phénotypique par l'emploi de tests biochimique, les différentes galeries API, puis génotypiquement grâce à l'utilisation de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). En revanche l'étude anatomopathologique avait permis de poser et confirmé les différents diagnostics des pathologies correspondant à notre étude de recherche.

Au cours de l'observation microscopique à la coloration de Gram, dans le cas de la Gastrite B, on avait observé que les bacilles à Gram négatifs étaient surtout considérés par les genres et espèces, *Helicobactere pylori* et *Proteus mirabilis*, secondairement par les bacilles à Gram positifs représentés par *Bacillus cereus*, et *Lactobacille sp* et en dernière position par les cocci à gram positifs identifiés comme étant *Streptococcus entericus*, et puis *Staphylococcus aureus*. En parallèle dans le cas de la maladie de Crohn et de la Rectocolite Hémorragique, l'identification par la coloration de Gram est majoritairement représentée par les bacilles à Gram positifs identifiés comme étant *Clostridium difficile* et *Bacillus subtilus*, et par les bacilles à Gram négatifs en faveur d'*Enterobacter cloacae*. Ces souches bactériennes secrètent des toxines capables de provoquer un état inflammatoire au niveau de la muqueuse gastrique et intestinale et induire ainsi leurs pouvoirs pathogènes pouvant engendrer un désordre immunitaire chez ces patients. Néanmoins, la souche *Lactobacille sp* est une bactérie non pathogène faisant partie de la niche gastrique, et la souche *Bacillus subtilus* se présente comme un agent pouvant induire une défense contre l'agressivité des bactéries pathogènes.

L'antibiogramme nous a permis de faire un choix vers d'autres antibiotiques qui ont la faculté de rendre par le biais de leurs principes actifs ces souches bactériennes sensibles pouvant aboutir à l'inhibition ou à affaiblir l'effet toxigène secrété par ces bactéries.

L'utilisation du test d'inhibition par les bactéries lactiques nous a ramené à constater que la majorité de ces bactéries présentaient d'une manière générale une sensibilité vis-à-vis de la majorité de ces bactéries lactiques, et pouvant ainsi l'introduire comme complément alimentaire en association avec le traitement conventionnel dans le cas de la Gastrite B, la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique.

Mots clés : Biopsies, Culture et Isolement, Tests biochimiques, PCR.

ABSTRACT

The present study focused on the isolation and identification of the gastric and intestinal bacterial ecosystem involved on the one hand in the pathology of gastritis type B and on the other hand in Crohn's disease and Rectocolitis Hemorrhagic. Isolation performed after grinding of the various biopsies collected through high and low endoscopy, on specific selective culture media has made it possible to select a set of bacteria belonging to the gastric and intestinal ecosystem. The data were phenotypically identified, by biochemical assays use, different API galleries, and genotypically through the use of polymerase reaction in at a real time (PCR).

On the other hand, the anatomopathological study allowed to ask and confirmed the different diagnoses of the pathologies corresponding to our research study.

During microscopic observation with Gram stain, in the case of Gastritis B, it was observed that Gram-negative bacilli were mostly considered by genera and species, *Helicobacter pylori* and *Proteus mirabilis* secondarily by Gram positive bacilli represented by *Bacillus cereus*, and *Lactobacillus sp* and in the last position by Gram positive cocci identified primarily as *Streptococcus entericus*, then *Staphylococcus aureus*. In parallel, in the case of Crohn's disease and Haemorrhagic rectocolitis, identification by Gram staining is mainly represented by Gram-positive bacilli identified as *Clostridium difficile* and *Bacillus subtilis*, and by Gram-negative bacilli in favor of *Enterobacter cloacae*.

These bacterial strains secrete toxins capable of causing an inflammatory state in the gastric and intestinal mucosa and thus induce their pathogenic powers that can cause an immune disorder in these patients. Nevertheless the strain *Lactobacille sp* is a non-pathogenic bacterium belonging to the gastric niche. These bacterial strains secrete toxins capable of causing an inflammatory state in the gastric mucosa and thus induce their pathogenic powers that can generate an immune disorder to these patients, and the strain *Bacillus subtilis* is an agent that can induce a defense against the aggressiveness of pathogenic bacteria

The antibiogram has allowed us to make a choice towards other antibiotics that have the ability to render through their active ingredients these sensitive bacterial strains, which may lead to inhibition or weaken the effect of toxins secreted by these bacteria. The use of the inhibition test by lactic acid bacteria led us to observe that the majority of these bacteria generally had a sensitivity towards the majority of these lactic acid bacteria, and could thus introduce it as a dietary supplement in combination with conventional treatment in the case of Gastritis B and in Crohn's disease and Rectocolitis Hemorrhagic.

Key words: Biopsies, Culture, Isolation , Biochemical tests, PCR.

ملخص:

تتمحور الدراسة الحالية حول عزل و تعريف النظام الايكولوجي الجرثومي المعدية و المعوية المدمج من جهة في مرض التهاب المعدة من نوع ب (Gastrite B) ، و من جهة أخرى في مرض كرون و الالتهاب النزيفي المستقيم المعوى (Rectocolite Hémorragique) .

إن العزل الذي تم بعد إجراء مختلف العينات عن طريق التنظير (Endoscopie) المعدية و المعوية ، وسط الزراعة الانتقائية الخاصة اى استنابت البكتيريا في الفرن، مكن من عزل مجموعة من البكتيرية التابعة للنظام المعدى والمعوى. تم تحديد مجمل الجراثيم من الجانب الفحوصات الميكروبيولوجية و عن طريق استعمال التجارب البيوكيماوية ، و تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR).

وهذا لم يتم الا بعد ما مكنت الدراسة للفحوصات النسيجية (Examens anatomopathologie) من وضع و تأكيد مختلف التشخيصات الأمراض الموافقة لدراسة بحثنا.

إن مختلف الأصناف المعزولة في حالة إتهاب المعدة ممثلة فى عصيات غرام سلبية هيليكوباكتر بيلوري و بروتيويس ميرابيليس و ثانويا عصيات غرام ايجابية ممثلة بباسيلوسسيريويس، و لاکتوباسيليس (بكتيرية الملينة)، و في المرتبة الأخيرة عن كوكسيس (مكورات) قرام موجبة معرفة بسترابتكوكيس أو ننتيريكوس (العقدية المعوية) و على نحو ثانوي تاتى (المكورات العنقودية الذهبية) ستافيلوكوك .

الكلمات المفتاحية:

الخزعات - استنابت - العزلة البكتيرية - التجارب البيوكيماوية - تفاعل البلمرة المتسلسلي .

Liste des figures

Figure. 1: Structure de l'estomac.....	06
Figure. 2: Schéma général de la muqueuse gastrique.....	08
Figure. 3: Structure de la muqueuse fundique.....	09
Figure. 4: Structure de la muqueuse pylorique.....	10
Figure. 5: Localisation des lésions dans la maladie de Crohn.....	12
Figure. 6: Localisation des altérations intestinales caractéristiques de la MC.....	13
Figure. 7: Comparaison entre un intestin normal et l'intestin touché par la maladie de Crohn...	14
Figure. 8: Cascade immuno-inflammatoire dans la MC.....	16
Figure. 9: Localisation des atteintes intestinales dans la maladie de Crohn et la RCUH.....	17
Figure. 10 : Localisation des altérations intestinales caractéristiques de la RCH.....	18
Figure. 11 : Répartition des différentes espèces bactériennes dans le tube digestif.....	22
Figure. 12 : Etat des lieux (non exhaustif) des micro-organismes de nos intestins.....	23
Figure. 13: Age et microbiote intestinal.....	25
Figure. 14 : Les microorganismes intestinaux impliqués dans le métabolisme glucidique.....	29
Figure. 15 : Récapitulatif du mécanisme d'action des probiotiques.....	32
Figure. 16 : Les étapes de l'antibiogramme.....	40
Figure. 17 : Prélèvement d'une biopsie d'une antrite érythémateuse.....	45
Figure. 18 : Antrite exulcéreuse.....	45
Figure. 19 : Crohn colique.....	45
Figure. 20 : Crohn Coecal.....	45
Figure. 21: Rectocolite Hémorragique. (RCH).....	46
Figure. 22 : Observation anatomopathologique de fragment biopsique avec présence..... <i>d'Helicobacter pylori</i> (Gr X 100).	46
Figure. 23 : Observation anatomopathologique au microscope optique de fragment biopsique... au (Gr X 100).	47
Figure. 24 : Observation anatomopathologique au microscope optique de microfragment..... biopsique colorectale (Gr X 20) : Rectocolite Hémorragique.	47
Figure. 25 : Observation anatomopathologique au microscope optique de microfragment..... biopsique colique.(Gr X 10) : Crohn.	47
Figure. 26 : Observation au microscope optique d'un fragment de biopsie gastrique humain..... (Gr X100)	47
Figure. 27: Culture en anaérobiose et en aérobie des bactéries sur gélose Columbia au sang. Gastrite.....	49
Figure. 28 : Culture en anaérobiose et en aérobie des bactéries sur gélose nutritive sabouraud , et VF. Crohn et Rectocolite hémorragique.....	49



Figure. 29 : L'isolat S1,2. (Gr X100).....	50
Figure. 30 : L'isolat L1, 2. (Gr X100).....	50
Figure. 31 : Isolat L4, 1. (Gr X100).....	51
Figure. 32 : Isolat L2, 1. (Gr X100).....	51
Figure. 33 : Isolat L4,2. (Gr X100).....	52
Figure. 34 : Isolat L3. (Gr X100).....	52
Figure. 35 : Isolat L4, 1. (Gr X100).....	53
Figure. 36 : Isolat I.6. (Gr X100).....	53
Figure. 37 : Isolat I.9. (Gr X100).....	54
Figure. 38 : Isolat: C. (Gr X100).....	54
Figure. 39 : Isolat B. (Gr X100).....	55
Figure.40 :Isolat D.d. (Gr X100).....	55
Figure. 41 : Isolat D. (Gr X100).....	56
Figure. 42 : Résultat du test de l'urée : cas de la Gastrite B.....	57
Figure. 43 : Lecture du test indole : cas de la Gastrite B.....	58
Figure. 44 : Lecture du test indole : cas de la maladie de Crohn et RCH.....	59
Figure. 45 : Tests de catalase et d'oxydase.....	61
Figure. 46 : Test mannitol-mobilité pour les bactéries anaérobies et aérobies. Gastrite.....	62
Figure. 47 : Réaction nitrite 1 et 2 avec ou sans ajout de Zn. Gastrite.....	63
Figure. 48 : Test mannitol-mobilité pour les bactéries anaérobies et aérobies. Crohn et RCH.....	63
Figure. 49 : Résultat du TSI pour les isolats aérobies. Gastrite.....	65
Figure. 50 : Résultat du TSI pour les isolats anaérobies. Gastrite.....	66
Figure. 51 : Résultats du TSI : cas de la maladie de Crohn et RCH.....	67
Figure. 52 : Galerie API utilisée comme témoin.....	67
Figure. 53 : Résultats de l'api 20 E pour S1, 2 (S1,2').....	68
Figure. 54 : Résultats de l'api 20 E pour I.6).....	68
Figure. 55 : Résultats de l'api 20 E pour I.9).....	68
Figure. 56 : Culture sur milieu Chapman des isolats L3, et L3,1.....	69
Figure.57 : Résultat du test de coagulase pour les isolats, L3, L3,1.....	69
Figure. 58 : Test de coagulase positif des isolats L3, L3,1.....	70
Figure. 59 : Antibiogramme des isolats aérobies sur milieu Muller Hinton. Gastrite.....	72

Figure. 60: AntibioGramme des isolats anaérobies sur milieu Muller Hinton. Gastrite.....	73
Figure. 61: AntibioGramme des bactéries anaérobies sur milieu Muller Hinton. Crohn et RCH...	75
Figure. 62: AntibioGramme des bactéries aérobies sur milieu Muller Hinton. Crohn et RCH...	76
Figure. 63: Effet inhibiteur des lactobacilles sur les bactéries aérobies gastriques.....	77
Figure. 64: Effet inhibiteur des lactobacilles sur les bactéries anaérobies gastriques.....	78
Figure. 65: Effet inhibiteur des lactobacilles sur les isolats aérobies. Crohn et RCH.....	79
Figure. 66: Effet inhibiteur des lactobacilles sur les isolats anaérobies : Crohn et RCH.....	80
Figure. 67: Culture en VF dans les dilutions décimales.....	93

Liste des tableaux

Tableau. 01: Résumé des régimes inducteurs de dysbiose.....	26
Tableau. 02: Les différentes concentrations et volume utilisé dans la mixture. PCR.....	43
Tableau. 03: Résultat du test urée indole pour les bactéries aérobies et anaérobies. Gastrite B.....	57
Tableau. 04: Résultat du test urée indole pour les isolats aérobies et anaérobies. Crohn. RCH.....	58
Tableau. 05: Resultats du test de la catalase et de l'oxydase pour bactéries aérobies. Gastrite.....	59
Tableau. 06: Resultats du test de la catalase et de l'oxydase pour bactéries anaérobies. Gastrite.....	60
Tableau. 07: Resultats du test de la catalase et de l'oxydase. Crohn et RCH.....	60
Tableau. 08: Resultats du test mannitol-mobilité pour les bactéries aérobies et anaérobies. Gastrite.....	62
Tableau. 09: Resultats du test mannitol-mobilité pour les bactéries anaérobies. Crohn et RCH.....	64
Tableau. 10: Résultats du test TSI pour les isolats anaérobies et aérobies. Gastrite.....	65
Tableau. 11: Résultats obtenus par l'utilisation du test TSI pour les isolats anaérobies. Crohn. et RCH.	66
Tableau. 12: Résultat du test d'antibiogramme des bactéries aérobies. Gastrite.....	71
Tableau. 13: Résultat de l'antibiogramme des bactéries anaérobies. Gastrite.....	71
Tableau. 14: Résultat de l'antibiogramme des bactéries anaérobies. Crohn et RCH.....	74
Tableau. 15: Résultat du test d'antibiogramme des bactéries aérobies. Crohn et RCH.....	76
Tableau. 16: Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries aérobies. Gastrite.....	77
Tableau. 17: Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries anaérobies. Gastrite.....	78
Tableau. 18: Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries aérobies. Crohn et RCH.....	79
Tableau. 19: Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries anaérobies. Crohn et RCH.....	80
Tableau. 20: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat, L3= L3, 1. Gastrite.....	81
Tableau. 21: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L4, 2'= L4, 2. Gastrite.....	81
Tableau. 22: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L4, 1. Gastrite.....	82
Tableau. 23: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L2, 1. Gastrite.....	82
Tableau. 24: Résultat de l'identification de <i>Helicobacter pylori</i> . Gastrite.....	83
Tableau. 25: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat S1,2. Gastrite.....	83
Tableau. 26: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L1,2. Gastrite.....	84
Tableau. 27: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L4, 1. Gastrite.....	86
Tableau. 28: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat I.6. Crohn. RCH.....	90
Tableau. 29: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat I.9. Crohn. RCH.....	90
Tableau. 30: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat D. Crohn. RCH.....	91
Tableau. 31: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat B. Crohn. RCH.....	94
Tableau. 32: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat D.d. Crohn. RCH.....	95
Tableau. 33: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat C. Crohn. RCH.....	95

Liste des Abréviations

RCH	Rectocolite Hémorragique
MC	Maladie de Crohn
MICI	Maladies inflammatoires Chroniques Intestinales
IPP	Inhibiteurs de la pompe à proton
Fig	Figure
Tab	Tableau
PH	Potentiel Hydrogène
Nit1	Nitrate1
Nit2	Nitrate2
MH	Mueller-Hinton
Tr/min	Tour par minute
ADN	Acide désoxyribonucléique
BET	Bromure d'éthidium
AIEC	Escherichia coli adhérent invasive
IgA	Immunoglobuline A
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNr	Acide désoxyribonucléique ribosomique
AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
AGCC	Acides gras à chaîne courte
ATCC	American Type Culture Collection http://www.atcc.org

PARTIE I : INTRODUCTION

Le tractus gastro-intestinal est un écosystème favorable aux microorganismes exogènes. Il est géré par une coopération entre l'épithélium gastro-intestinal, le système immunitaire, et le microbiote appelé communément flore intestinale. Les interactions entre les microorganismes et l'hôte peuvent être de trois types: symbiose, commensalisme et pathogénicité (Hooper et Gordon, 2001).

Le microbiote du tractus gastro-intestinal a été estimé à près de 10^{13} - 10^{14} cellules microbiennes représentant 400 à 500 espèces et sous espèces (Moore et Holdeman, 1974; Bjorksten, 2004).

Le microenvironnement gastrique présente dans son habitat les microorganismes acidotolérants, et anaérobies facultatifs comme les *lactobacilles*, *streptocoques*, levures, (Cummings *et al.*, 1989; Gournier-Château, 1994).

L'écosystème gastrique héberge une bactérie pathogène nommée *Helicobacter pylori* qui est reconnue pour son pouvoir inducteur de certaines pathologies gastriques, comme les gastrites, ulcère gastrique, lymphome gastrique du MALT et aussi du cancer gastrique. (Mégraud, 2004).

L'intervention d'agents infectieux dans la pathogénie de certaines affections gastroduodénales a été suspectée en 1915. (Berstad, 1993; Vallot, 1994).

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) affectent l'être humain depuis des siècles. Certaines descriptions anatomo-cliniques remontant à l'antiquité sont compatibles avec le diagnostic de MICI. Elles ont été décrites dès le deuxième siècle après J.-C. par les médecins grecs Soranus et Aretaeus de Cappadocia.

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) représentent un groupe de pathologies caractérisées par une inflammation chronique d'une partie de la paroi du tube digestif. Cette inflammation peut être intermittente ou continue, et mène fréquemment à des ulcérations de la paroi digestive. Les MICI évoluent par poussées

entrecoupées de phases de rémission (Levy, 2008). Actuellement, aucune étiologie des MICI n'a été clairement identifiée. Néanmoins, de nombreuses données semblent les définir comme étant la résultante d'une réaction immunitaire exacerbée contre la flore intestinale chez des sujets prédisposés génétiquement (Baumgart and Carding, 2007; Kaser *et al.*, 2010).

La maladie de Crohn a été décrite en 1932 dans « Journal of the American Medical Association » par les Docteurs B. Crohn, L. Ginsberg et G.D. Oppenheimer comme iléite terminale (atteignant l'iléon). L'extension des lésions à d'autres segments du tube digestif a ensuite été rapportée et le nom de maladie de Crohn attribué à cette pathologie.

Quant à la recto-colite hémorragique (RCH), le premier cas décrit de RCH fut reporté par Sir S. Wilks dans « London Medical Times and Gazette » en 1859 suite à l'autopsie d'une jeune femme dont le décès avait été attribué à un empoisonnement (Wilks, 1859). En 1875, Wilks et Moxon furent les premiers à la présenter comme pathologie non infectieuse. (Wilks S, 1875).

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) ne sont pas des maladies rares. Le nombre de malades est estimé en Europe à 1 million de patients ayant une MC et 1,5 millions une RCH dont près de 200.000 en France (Chouraki *et al.*, 2011; Shivananda *et al.*;1996). Aux USA, les dernières données publiées estiment à 1,3 millions le nombre de personnes atteintes de MICI, posant un véritable problème de santé publique (Loftus,2004 ; Abramson *et al.*, 2010). Ces maladies sont des affections cryptogénétiques qui résultent de l'inflammation chronique, intermittentes ou continues, d'une partie de la paroi intestinale. Elles débutent chez le sujet jeune avec un pic de fréquence autour de 30 ans et près de 10% des nouveaux cas chez les enfants. Leur évolution se fait par poussées entrecoupées de périodes de rémissions plus ou moins longues (Cosnes *et al.*, 2011; Peyrin-Biroulet *et al.*, 2010). La diversité des manifestations digestives, la présence de lésions extra-intestinales de type oculaires, articulaires, et cutanées, le risque inéluctable de complications liées notamment à la fibrose et à la dégénérescence cancéreuse en font des maladies difficiles à prendre en charge. (Gillen *et al.*, 1994; Palli *et al.*, 1998).

Leur cause est encore mal connue, l'hypothèse actuelle est celle d'une anomalie de la réponse immunitaire de l'intestin vis-à-vis de certains composants de la flore bactérienne survenant chez des individus génétiquement prédisposés. (Cho, 2008 ; Xavier et *al.*, 2008).

Ce constat fait donc état d'une participation du microbiote intestinal dans la physiopathologie des MICI (Baumgart and Carding, 2007).

Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes constitué de bactéries, levures, champignons, et virus, dans un environnement spécifique appelé microbiome. Par exemple, le microbiote intestinal, anciennement appelé flore intestinale, constitue l'ensemble des microorganismes vivant dans l'intestin, soit environ 100 000 milliards, soit au moins deux fois plus que le nombre moyen de cellules de l'organisme (Seksik, 2010). La MC serait liée à une dérégulation de la réaction immunitaire muqueuse dérégulée vis-à-vis d'un microbiote intestinal déséquilibré entraînant une situation de dysbiose, sous l'influence de facteurs environnementaux et génétiques (Cho, 2008 ; Macfarlane et *al.*, 2009; Rioux et *al.*, 2007). L'étude du microbiote intestinal comme cible antigénique et facteur d'inflammation chronique au cours de la MC suscite un intérêt grandissant. La mise en évidence d'une dysbiose bactérienne correspondant à un déséquilibre entre des bactéries pathogènes et saprophytes constitue un facteur prédictif de rechute après l'arrêt de certains traitements de la MC est un argument fort en faveur de cette hypothèse. (Sokol et *al.*, 2008).

L'objectif de cette étude consiste à isoler, identifier les différents microbiotes, et à rechercher d'éventuelles bactéries anaérobies cohabitant avec *Helicobacter pylori*, et aussi des bactéries tolérant l'aérobiose, et ceci à partir des biopsies gastriques et intestinales des malades, prises au niveau du service de gastroentérologie de l'hôpital de Mostaganem, et des cabinets privés.

Après examen endoscopique, un des prélèvements biopsiques est destiné à subir un examen d'anatomopathologie afin de confirmer le diagnostic endoscopique d'une part, de la gastrite ou d'ulcère gastrique, et d'autre part de la maladie de Crohn et de la Rectocolite Hémorragique (RCH). Les autres prélèvements seront destinés à l'étude microbiologique.

Après l'étape d'isolement, des tests biochimiques destinés à l'identification bactérienne, et l'utilisation des différentes galeries api indiquées pour chacune des souches bactériennes isolées ont été réalisés. Le présent travail sera ainsi achevé par l'utilisation de la PCR, pour chacune des espèces pré-identifiée.

PARTIE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I-Gastrite

1-Définition

La Gastrite est considérée comme étant une maladie inflammatoire de la muqueuse gastrique dont le diagnostic repose surtout sur l'examen anatomopathologique (Rugge *et al.*, 2011). Le diagnostic différentiel se pose avec les gastropathies qui se caractérisent au microscope par la présence ou non d'infiltrat inflammatoire, néanmoins il existe parfois des similitudes cliniques et endoscopiques (Lee, 2012).

La gastrite aiguë est secondaire à une agression brutale de la muqueuse gastrique qui est soit, de nature infectieuse, toxique, et ou médicamenteuse. Son diagnostic anatomopathologique repose sur la présence d'un infiltrat à polynucléaires neutrophiles et qu'on peut le retrouver au cours de la chronicité. Par contre dans les gastrites chroniques on retrouve surtout un infiltrat mononucléé (Rugge *et al.*, 2011).

2-Anatomie

L'estomac est un organe creux musculaire prenant une forme d'un J majuscule, qui siège dans l'étage sous diaphragmatique entre l'œsophage et l'intestin grêle (Poilleux, 1943; Frexinos, 1983; Labayle, 1990). Il communique en haut avec l'œsophage par un orifice appelé le cardia, par contre en bas, il est en rapport avec le duodénum par le biais d'un orifice nommé le pylore et éventuellement avec l'intestin grêle (Poilleux, 1943; Frexinos *et al.*, 1989). L'estomac a une capacité volumique fluctuante entre 0,1 à 1,5 litres (Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*, 1989). Il est constitué de deux parties, une verticale correspondant au fundus occupant les 2/3, et une horizontale dite antrum (Poilleux, 1943; Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*, 1989 ; Labayle, 1990) (Fig. 1).

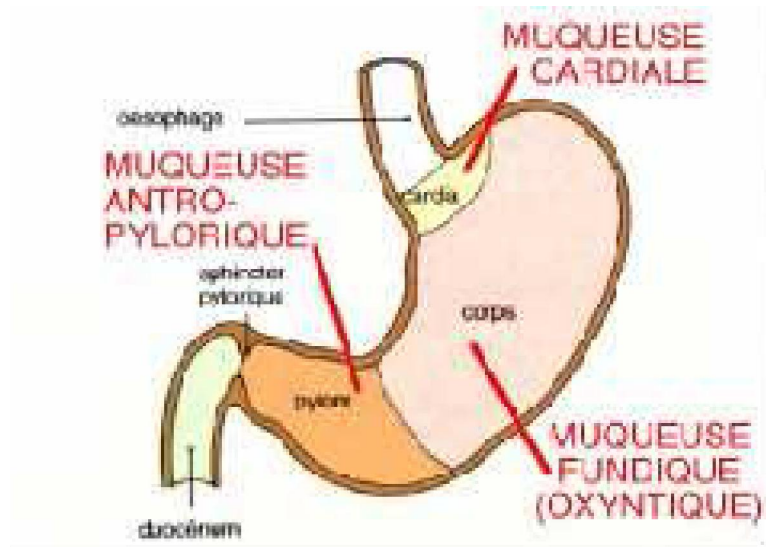


Figure 1 : Structure de l'estomac (Frexinos, 1983).

3-Physiologie de l'estomac

3.1 Fonction mécanique

L'estomac permet d'assurer la digestion par sa fonction mécanique qui est sous forme de brassage. Il reçoit un mélange d'aliments solides et liquides provenant de la déglutition, les évacue vers l'intestin sous une forme fluide appelé le chyme (Lambo *et al.*, 1990).

3.2 Fonction chimique

Le volume de la sécrétion gastrique varie entre un à deux litres par jour. Cette sécrétion est sous la commande des glandes gastriques stimulée par la prise des repas. Cette sécrétion est constituée d'eau, d'acide chloridrique et d'enzyme protéolytiques. Le mucus tapissant la paroi gastrique assure la défense contre l'agression chimique des sécrétions acides dont le PH varie entre 1.5 et 3.5 (Lambo *et al.*, 1990).

3.3 Mécanisme de régulation

La prise des repas stimule la sécrétion de la gastrine, par contre l'état de jeûn l'inhibe. La cellule G antrale assure la production de la gastrine qui est responsable de la stimulation de la sécrétion acide. En revanche et toujours au niveau antral les cellules D synthétisant la somatostatine qui inhibe l'activité de la cellule G (Sobhani *et*

al., 1994,1995). Par ailleurs la bactérie *Helicobacter pylori* cohabite avec ces cellules (Sobhani *et al.*, 1994).

Helicobacter pylori induit une hyperactivité de la Gastrine (Vallot et Merrouche, 1992; Ruszniewski, 1994; Sobhani *et al.*, 1995) qui va entraîner un hyperfonctionnement des cellules G antrales générant une diminution de la somatostatine antrale produite par les cellules D antrales (Gotz *et al.*, 1994; Delchier, 1995; Sobhani *et al.*, 1995).

4-Classification des gastrites chroniques

Il a été établi plusieurs classification, telles que celles, de Schindler(1947), de Whitehead(1972), Cheli(1983), et celle de Stolte(1989). Par ailleurs il existe une autre classification en fonction de la topographique et l'étiopathogénie, telles que les classifications, de Strickland et McKay intéressant la gastrite de type A et B, de Strickland *et al.*, 1973, et la gastrite chimique de type C (Wyatt et Dixon, 1988) .

Le Système Sydney, adopté en 1990 à Sydney , puis en 1994 à Houston, puis en 1996, est cadré par une étude morphométrique des gastrites chroniques et une quantification de l'infection de *Helicobacter pylori* de l'estomac (Dixon, 1996 ; Price, 1991 ; Widgren, 1992 ; Dixon *et al.*, 1996) . Le nombre optimal de biopsies prélevées par voie endoscopique œsogastrique est de cinq (Rugge *et al.*, 2011 ; Dixon *et al.*, 1996; Lamarque *et al.*, 2012), trois biopsies dans l'antra, et deux au niveau du corps gastrique(Fundus), placées dans deux tubes séparés. Il est souhaitable de réaliser une biopsie au niveau de l'angulus (Rugge *et al.*, 2011) .

Dans le cas d'une muqueuse endoscopiquement normale, il est systématiquement indiqué de pratiquer des biopsies (Lamarque *et al.*, 2012). Et c'est le cas aussi pour les gastrites à *Helicobacter pylori*. (Lamarque *et al.*, 2012 ; Malfertheiner *et al.*, 2012) .

Pour la confirmation de la gastrite à *Helicobacter pylori*, il existe une faible relation entre l'endoscopie et l'histologie (Redeen *et al.*, 2003 ; Bah *et al.*, 1995), mais moins présent chez l'adulte que chez l'enfant (Bah *et al.*, 1995 ; Calabrese *et al.*,

1999 ; Koletzko *et al.*, 2011). L'absence de plis gastriques et la présence d'un réseau vasculaire trop bien visible ne confirme pas le diagnostic d'atrophie (Redeen *et al.*, 2003).

5- Aspects histologiques

La paroi gastrique possède une épaisseur de 5 mm, constituée de quatre tuniques, muqueuse, sous muqueuse, musculuse, et séreuse. La muqueuse est revêtue d'un épithélium tapissé par un mucus la protégeant contre l'acidité gastrique (Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*; 1989). L'épithélium repose sur un chorion, la lamina propria, dessine à la surface luminale des cryptes qui s'invaginent profondément dans la lamina propria pour former des glandes au niveau du fundus et au niveau de l'antrum (Czyba et Girod, 1967; Frexinos *et al.*, 1989) (Fig. 2)

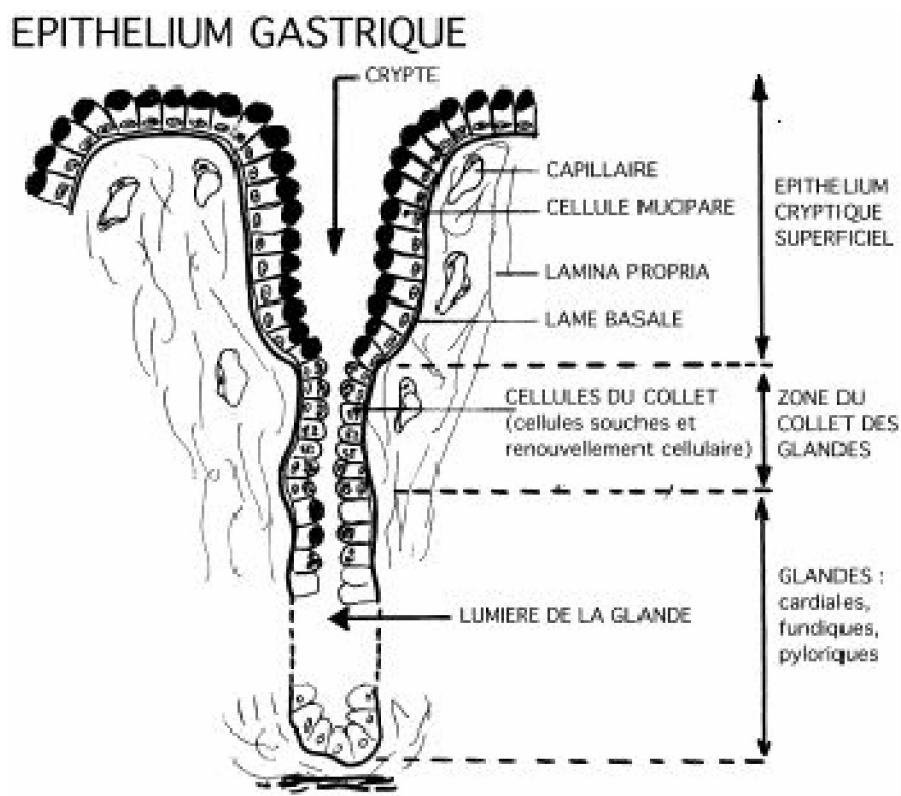


Figure 2 : Schéma général de la muqueuse gastrique (Frexinos *et al.*, 1989).

La muqueuse gastrique normale comporte des populations glandulaires distinctes dans l'antrum qui représente la muqueuse mucosécrétante, le corps est recouvert par la muqueuse oxyntique acidosécrétante, et l'angulus prend un aspect

transitionnel. Le principe de l'étude histologique des biopsies est considéré d'une part par la reconnaissance et la quantification des lésions élémentaires, d'autre part l'étude se penchera sur la topographie, l'extension et la combinaison des anomalies élémentaires sur les différentes biopsies (Rugge *et al.*, 2011).

L'examen cytologique utilisera la coloration à base de l'hématoxyline-éosine (HES) et le Giemsa destiné surtout à la recherche d'*Helicobacter pylori* (Rugge *et al.*, 2011).

Au niveau du fundus, les cryptes sont courtes et étroites, les glandes sont tubulaires et rectilignes (Fig. 3) (Czyba et Girod, 1967; Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*, 1989). Elles sont surtout exocrines qui produisent presque la totalité du suc gastrique. Les glandes fundiques présentent deux types de cellule principaux, les cellules pariétales qui sécrète l'acide chlorhydrique et les cellules principales produisant la pepsine sous forme de précurseur, le pepsinogène inactif, qui sera activé lors de l'abaissement du pH gastrique (Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*, 1989).

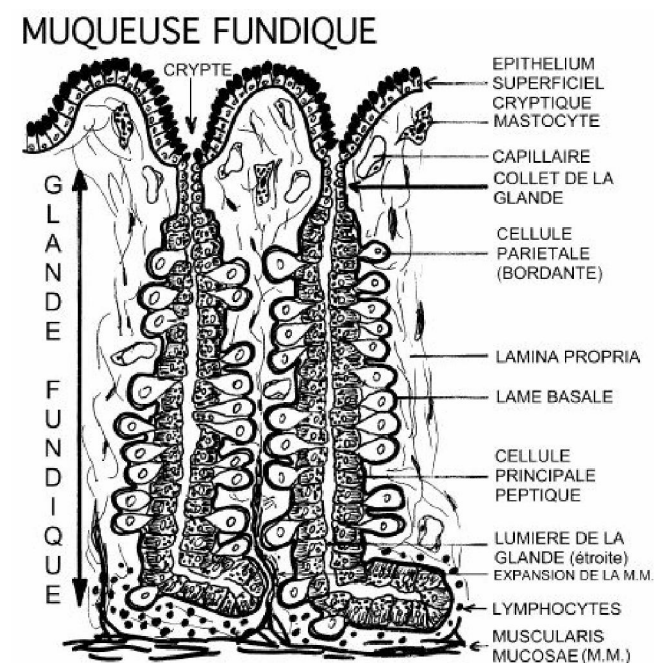


Figure 3 : Structure de la muqueuse fundique ((Frexinos *et al.*, 1989).

Au niveau de l'antra, les cryptes sont hautes et étroites, les glandes sont courtes (fig. 4). Les cellules sont quasiment de type muqueux (Czyba et Girod, 1969; Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*, 1989).

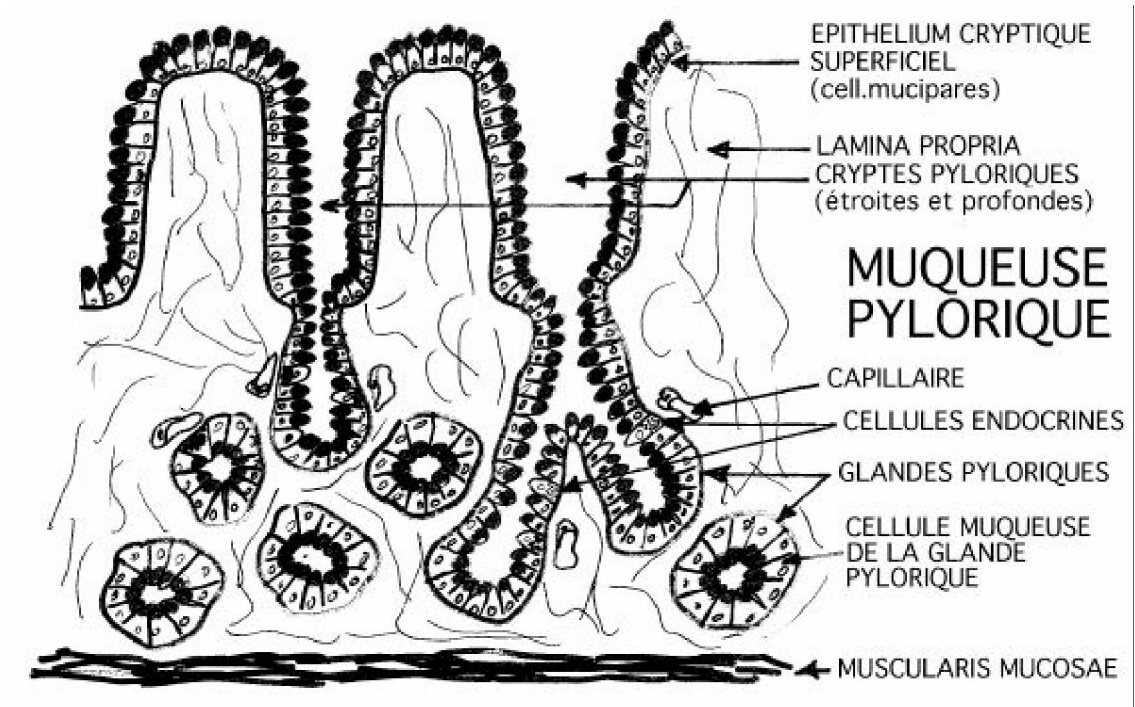


Figure 4 : Structure de la muqueuse pylorique (Frexinos *et al.*, 1989).

La cellule G, considérée comme cellule endocrine, est responsable de la sécrétion de la gastrine. Les cellules D se localisant au niveau de la muqueuse antrale et la muqueuse fundique, ont pour rôle la production de la somatostatine (Frexinos, 1983; Frexinos *et al.*, 1989).

La réponse inflammatoire est plus intense et l'expression de la maladie plus sévère lorsque *Helicobacter pylori* présente certains facteurs de virulence, principalement CagA et l'îlot de pathogénicité cag et la cytotoxine vacuolante (VacA) (Cid *et al.*, 2013).

Il existe un rapport entre le phénotype de la gastrite et les manifestations clinicopathologiques, qui sont issus des interactions entre la bactérie et l'hôte. Ce phénomène est généré par des facteurs, génétiques, environnementaux, et

nutritionnels (Rugge et Fassan, 2011 ; (McLean et El-Omar, 2009; Nogueira et *al.*, 2001).

L'évolution a tendance à évoluer vers la gastrite chronique, la dyspepsie fonctionnelle, l'ulcère gastroduodénale, et le lymphome gastrique du MALT et au cancer gastrique (De Korwin et *al.*, 2014) . Les variations physiologiques de la sécrétion acide contribuent au passage à ces complications (De Korwin et Lehours, 2010).

Dans les Gastrites microbienne, *Helicobacter pylori* représente la principale étiologie (Rugge et Fassan, 2011). Elle est considérée comme facteur carcinogène depuis 1994, responsable de l'adénocarcinome gastrique de type intestinal (Stolte et Meining, 2001), et pouvant évoluer vers le cancer gastrique diffus (De Korwin, 2014).

L'augmentation de la prévalence de l'atrophie gastrique de 1 à 3 % par an est secondaire à, l'infection à un âge précoce, la production de cytotoxine VacA par les souches infectantes, et la diminution de la sécrétion acide (Malfertheiner et *al.*, 2012 ; Rugge et Capelle, 2013) .

Avec l'utilisation du traitement antisécrétoire gastrique par les inhibiteurs de la pompe à proton (IPP), la topographie de l'infection se transforme rapidement avec diminution dans l'antrum et augmentation dans le corps sous l'effet des variations de pH (McColl et El-Omar, 2000). La sensibilité des méthodes diagnostiques sur biopsie est diminuée principalement dans l'antrum (De Korwin et Kalach, 2014). Il est strictement indiqué l'arrêt des IPP au moins deux semaines avant toute investigation à la recherche d'une infection (Lamarque et *al.*, 2012 ; Malfertheiner et *al.*, 2012) .

II. LA MALADIE DE CROHN

1. Définition

La maladie de Crohn (MC) est considérée par un état inflammatoire chronique pouvant toucher n'importe quel segment du tube digestif. Sa situation de prédilection est surtout au niveau de l'iléon terminal, le côlon et l'anus avec une tendance scléro-ulcéro-nécrotique (Frexinos et Buscail, 2004). Sur le plan histologique, Les

lésions s'étendent à toutes les parties de la paroi intestinale, la couche interne, la muqueuse ainsi que les couches plus profondes. Ceci explique la survenue fréquente de sténoses et de fistules (Cadiot et *al.*, 2008).(Fig. 5).

Néanmoins il existe des Manifestations extra-digestives intéressant le système ostéo-articulaire, la peau, les muqueuses, les yeux, et le système hépatobiliaire (Baumgart, 2009). Elles sont plus communes lorsque la MC affecte le colon (Van et *al.*, 2010).

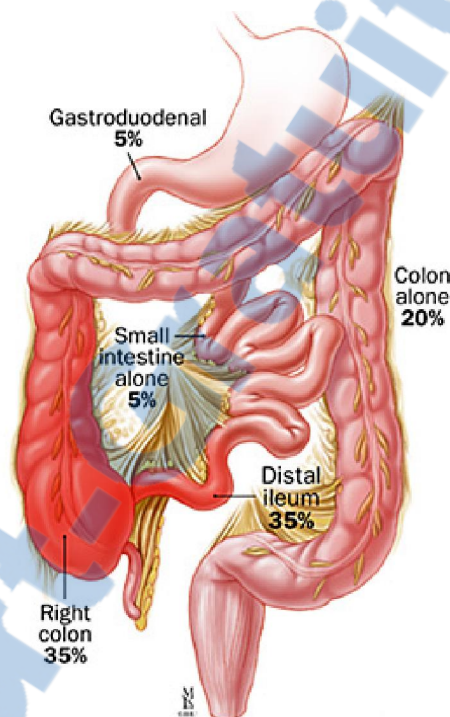


Figure 5 : Localisation des lésions dans la maladie de Crohn. D'après «The Johns Hopkins Medical Institutions. Gastroenterology &Hepatology Resource Center».

2. Anato-pathologie

La MC est caractérisée par une inflammation transmurale, discontinue pouvant toucher l'ensemble des segments du tube digestif, de la bouche à l'anus (Marteau and Jian, 2001; Xavier and Podolsky, 2007) (Fig. 06). Elle atteint le plus souvent l'iléon terminal et le côlon dans 40% des cas, l'iléon uniquement dans 30% des cas et enfin le côlon et la région ano-perinéale dans 30% des cas (De Saussure and Bouhnik, 2007). Les lésions du tissu intestinal sont de type d'infiltrations leucocytaire par foyers, de granulomes, sous forme des cryptes intestinales avec parfois des abcès, d'hypertrophie neuromusculaire, et des fissures et ulcérations (De Saussure and Bouhnik, 2007; Evans, 2000; Marteau and Jian, 2001).

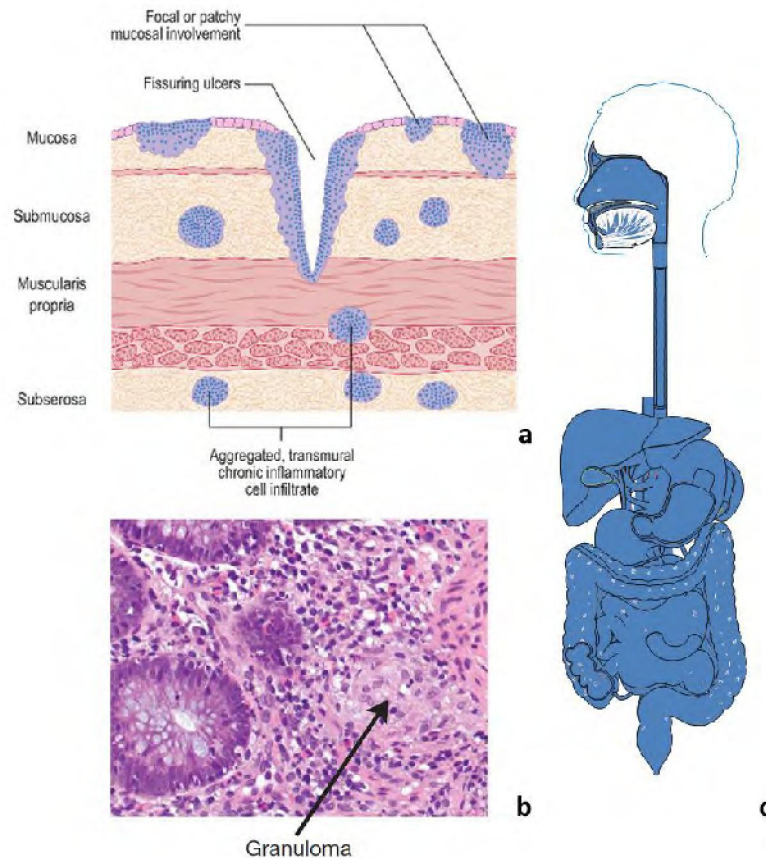


Figure 06: Localisation des altérations intestinales caractéristiques de la MC.

(a) Lésions inflammatoires au niveau de la paroi intestinale : infiltration immunitaire sur l'ensemble des couches de la paroi intestinale caractéristique d'une atteinte transmurale à l'origine d'ulcères, de fissures et de granulomes, (Grabsch, 2013) **(b) coupe histologique représentant un granulome** secondaire à l'agrégation d'un grand nombre de macrophages (Xavier and Podolsky, 2007) **(c) Localisation des segments du tube digestif touchés en cas de MC** les segments inflammatoires apparaissent en bleu (Servier).

L'anatomopathologie permet d'objectiver une inflammation intestinale granulomateuse discontinue (Van et *al.*, 2010). Les lésions caractéristiques de la MC sont des zones d'érythème, des ulcérations superficielles ou profondes, parfois des sténoses ou des orifices de fistule. Ces lésions sont hétérogènes, segmentaires, laissant des intervalles macroscopiquement sains. La présence d'ulcérations aphtoïdes est assez évocatrice (Frexinos et Buscaïl, 2004). L'iléocoloscopie permet de réaliser des biopsies, d'orienter le diagnostic mais également elle se présente comme élément fondamental dans la surveillance de l'évolution de la maladie (Ebalian et Balian, 2008).

La figure 07 nous renseigne sur l'état d'un intestin sain et l'intestin d'un patient atteint de MC (Schering Canada Inc, 2004).

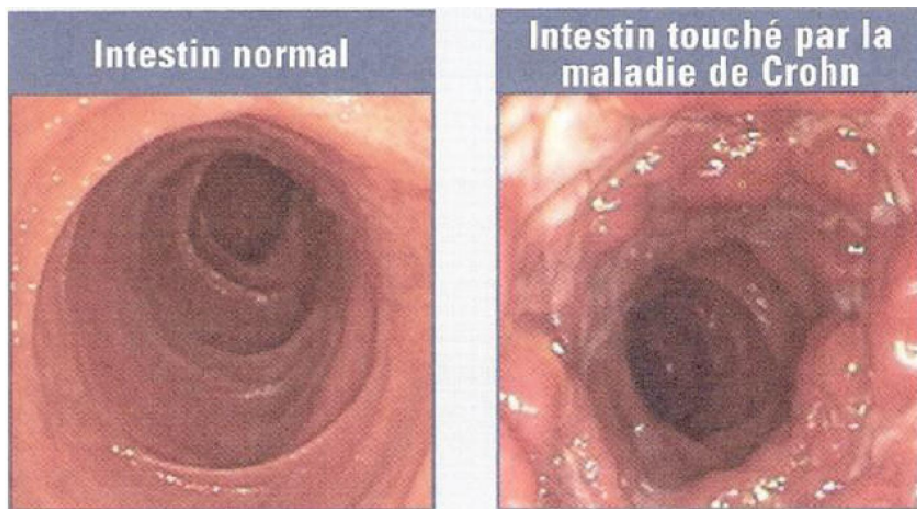


Figure 07 : Comparaison entre un intestin normal et l'intestin touché par la maladie de Crohn. Figure extraite du document : « Comprendre la maladie de Crohn » publié (par Schering Canada Inc, 2004).

3. Epidémiologie

En Europe, l'incidence de la maladie de Crohn (MC) fluctue entre 0,3 et 9,8 pour 100.000 habitants. Sa prévalence varie de 8,3 à 214 cas pour 100 000 personnes (Piront et *al.*, 2003; Cosnes et *al.*, 2011). Elle touche surtout les pays riches, avec une incidence affectant majoritairement la population blanche de souche européenne. Dans la maladie de Crohn le sexe féminin est plus touché avec un ratio homme/femme égal à 0,8 (Baumer, 2002).

L'environnement contribue au développement et à l'évolution de la maladie de Crohn. Le risque d'apparition de cette maladie est en rapport avec la chronicité du tabagisme permettant l'accélération des complications de la maladie imposant le recours aux traitements immunosuppresseurs (Ebalian et Balian, 2008). Le tabagisme actif est considéré comme l'unique facteur environnemental contribuant à l'installation de cette pathologie (Frexinos et Buscail, 2004).

Parfois le système immunitaire présente une défense quasiment faible et ceci suite à une très bonne hygiène durant l'enfance (Ebalian et Balian, 2008).

L'utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens peut entraîner un blocage des cyclo-oxygénases qui sont impliqués au maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale, facilitant ainsi une augmentation de la perméabilité épithéliale (Miner, 1997).

Les infections entériques peuvent contribuer à l'installation ou à la récurrence de cette maladie. (Baliellas *et al.*, 1996 ; Miner, 1997).

4. Physiopathologie

Le dysfonctionnement du système immunitaire est considéré comme un facteur fondamental dans la genèse de la maladie de Crohn, et se positionne pour renforcer la physiopathologie de cette pathologie. Le début de cette altération physiologique est déclenché par une hyperactivation du système immunitaire local. Parallèlement, chez des individus prédisposés génétiquement, le microbiote intestinal s'associe avec cette réponse immunitaire perturbée afin de renforcer cette physiopathologie (Podolsky, 2002).

Dans la maladie de Crohn, la défense immunitaire se dirige contre les constituants de leur flore intestinale (Duchmann *et al.*, 1996).

Les cellules dendritiques intestinales acceptrices d'antigènes sont responsables de l'activation et de la différenciation des lymphocytes T appelée T helper 0 ou Th0. Cette activation se réalise respectivement en trois étapes sous forme de profil, Th1 pro-inflammatoire, Th2 anti-inflammatoire, et Th3/reg régulateur (Mottet *et al.*, 2003). Ces cellules Th3/reg régulatrices, en freinant les réponses Th1 et celle de Th2 stimulatrices, seront responsables de l'installation de la tolérance immunitaire vis-à-vis des antigènes ou bactéries non pathogènes (Michetti, 2004).

La prolifération importante et l'hyperactivité des lymphocytes T, génèrent les mécanismes inflammatoires (Zhoua *et al.*, 2009). Cette stimulation lymphocytaire T sera responsable de la synthèse de cytokines pro inflammatoires tels que les interleukines IL-1, IL-6, IL-8, et le facteur de nécrose tumorale (TNF- α) entraînant une inflammation de la muqueuse intestinale (Ebalian et Balian, 2008) (Fig. 08).

Le TNF- α , est responsable de la dégranulation d'enzymes et de la libération de radicaux libres par les neutrophiles et les fibroblastes qui sont à l'origine des lésions épithéliales intestinales. Ceci va faciliter la perméabilité de l'épithélium et renforcer la présentation d'antigènes permettant l'installation et la continuité de la réaction inflammatoire (Michetti, 2004 ; Zhoua *et al.*, 2009).

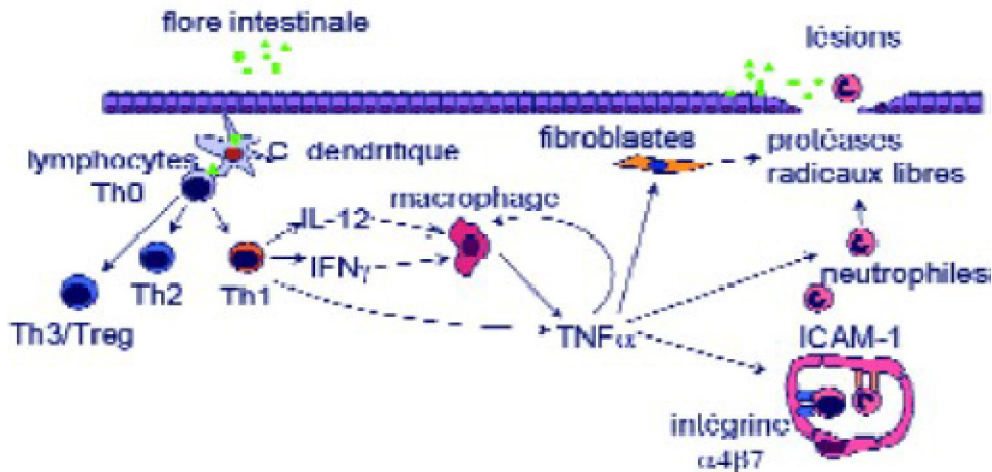


Figure 08 : Cascade immuno-inflammatoire dans la MC. (Michetti 2004).

III. Rectocolite Hémorragique(RCH)

1. Définition

La Rectocolite Hémorragique(RCH) est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) qui se caractérise par une inflammation mucosale localisée au niveau du côlon et du rectum (De Dombal, 1968; Faharat *et al.*, 1999; Kirsner, 2001; Levy, 2008). Cette inflammation débute au bas rectum et qui peut s'étendre de manière continue dans le côlon, parfois jusqu'au cæcum. On distingue trois degrés d'extension de la maladie, la rectite isolée, la colite gauche, ne dépassant pas l'angle colique gauche, et la pancolite se localisant en amont de l'angle gauche (Silverberg *et al.*, 2005) (Fig. 09).

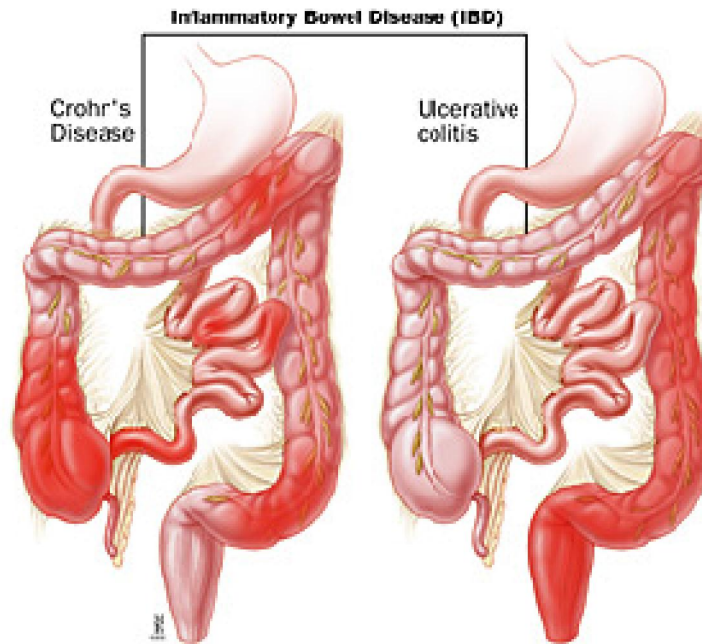


Figure 09 : Localisation des atteintes intestinales dans la maladie de Crohn et la RCUH.
D'après The Johns Hopkins Medical Institutions. Gastroenterology & Hepatology Resource Center.

2. Anatomopathologie

La RCH est caractérisée par une inflammation continue de la muqueuse colique et rectale (Faharat et *al.*, 1999; Xavier and Podolsky, 2007) (Fig. 10). Le tissu intestinal est touché par de nombreuses altérations qui sont de type, de réduction de la population des cellules à mucus, avec présence, des abcès des cryptes intestinaux, d'infiltrat immunitaire uniforme, un épaissement de la muscularis propria, et une dilatation des capillaires sanguins avec hémorragies (Evans, 2000; Xavier and Podolsky, 2007).

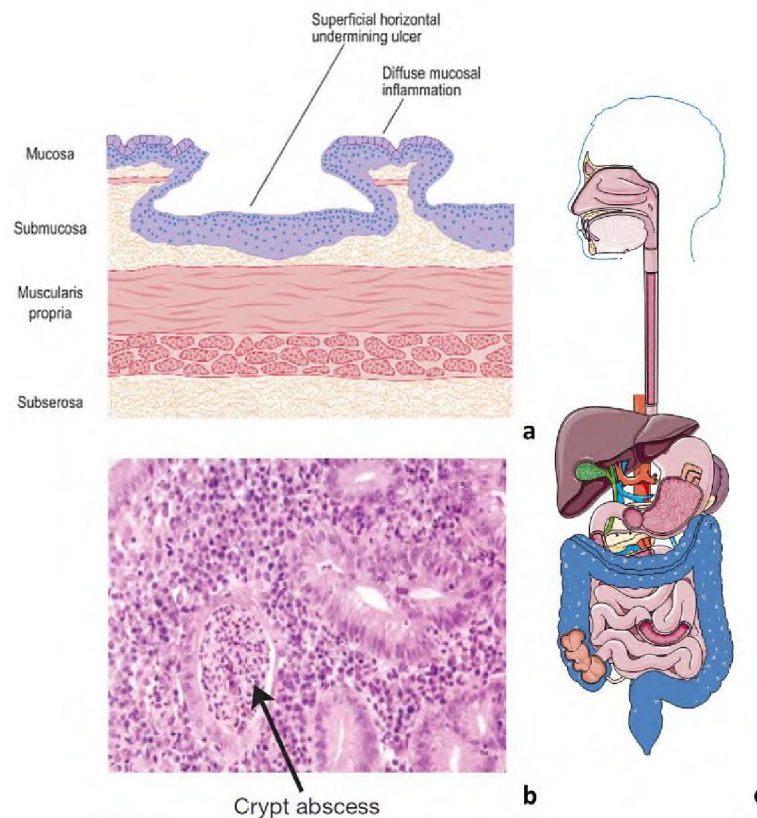


Figure 10: Localisation des altérations intestinales caractéristiques de la RCH.

- (a) **Lésions inflammatoires au niveau de la paroi intestinale** : infiltration immunitaire uniquement dans la muqueuse et la sous-muqueuse caractéristique d'une inflammation muqueuse (Grabsch, 2013) (b) **coupe histologique représentant un abcès cryptique** secondaire à une infiltration des PNN (Xavier and Podolsky, 2007) (c) **Localisation des segments du tube digestif touchés en cas de RCH** les segments inflammatoires apparaissent en bleu (Servier).

3. Epidémiologie

Les MICI sont des maladies des pays industrialisés, l'Amérique du Nord et l'Europe présentent une prévalence et l'incidence les plus fortes, alors que les MICI sont moins fréquentes dans l'hémisphère Sud (Loftus et Sandborn, 2002). En France, l'incidence de la RCH et celle de la Maladie de Crohn sont respectivement de 4,1 et 06,0 pour 100 000 habitants par an, la prévalence étant estimée à 39 600 personnes environ 0,7/1000 et pour la RCH et 66 000 environ 0,7/1000 pour la MC (Gower-Rousseau et *al.*, 2013). Cependant, au niveau mondial, la RCH est la maladie inflammatoire intestinale la plus fréquente. La prévalence est un peu plus élevée chez l'homme que chez la femme. Il existe deux pics d'incidence de la maladie, le principal de 15 à 30 ans, puis le second plus faible, de 50 à 70 ans (Loftus et Sandborn, 2002).

4. Physiopathologie

Les mécanismes physiopathologiques de la RCH sont encore mal compris, mais ils sont multifactoriels, et font intervenir des facteurs génétiques, épithéliaux, immunitaires, et environnementaux. Un antécédent familial au premier degré de RCH est le plus important facteur de risque indépendant de développer la maladie dont le risque individuel étant de 5,7 à 15,5 % sur toute la vie (Monsén et *al.*, 1987).

Il existe deux facteurs assurant une prévention contre la RCH, le tabagisme actif avec un odd ratio (OR) égale à 0,58 (Mahid et *al.*, 2006), et l'appendicectomie réalisée pour une appendicite vraie avant l'âge de 20 ans présente un odd ratio (OR) équivalent à 0,31 (Baumer, Philippe, 2002). Par contre un antécédent de gastroentérite infectieuse à *Salmonella*, *Shigella* ou *Campylobacter* accentue le risque d'apparition ultérieure d'une RCH (García et *al.*, 2006). Le stress psychologique probablement contribue dans la modulation des réponses inflammatoires du tube digestif, mais il n'est actuellement pas reconnu comme un facteur de risque indépendant de la maladie (Vidal et *al.*, 2006) .

Dans la RCH, l'épithélium colique n'assure pas correctement son rôle de barrière suite à une accentuation de sa perméabilité, l'exposant ainsi à des agressions antigéniques coliques. Parallèlement, la sécrétion, par les colonocytes épithéliales, de peptides antimicrobiens et de mucus se trouve très perturbée, contribuant à fragiliser la barrière épithéliale. La rupture de l'équilibre de tolérance entre le système immunitaire intestinal et le microbiote intestinal a engendré un dysfonctionnement de la réponse immunitaire se transformant comme facteur agressif contre la flore commensale non pathogène. La phase aiguë de l'inflammation se caractérise par une infiltration de la muqueuse colique par des polynucléaires neutrophiles activés, conduisant à la formation des microabcès des cryptes coliques et des lésions épithéliales provoquant ainsi des ulcérations. Néanmoins la phase chronique se caractérise par une infiltration lymphoplasmocytaire du chorion, et des transformations dans l'architecture épithéliale. Plus tardivement, il y'aura apparition des lésions épithéliales précancéreuses issues par la régénération épithéliale secondaire aux lésions inflammatoires chronique (Meyer, et Treton, 2017).

IV. Le microbiote intestinal

Le microbiote, anciennement appelé flore digestive, est une notion récente dont le domaine d'étude s'est développé en France dans les années 1970-80. Les principaux investigateurs de ce courant se nomment Edmont Sacquet, Pierre Raibaud, et Robert Ducluzeau, Cyril Tancrede et Antoine Andremont (Corthier, 2007). C'est pourquoi le microbiote est aujourd'hui considéré comme un organe à part entière (Louis and Marteau, 2010; Marteau, 2013).

1. Origine du microbiote intestinal humain

Le microbiote intestinal s'acquiert à la naissance, en effet, le nouveau-né naît stérile et son tractus digestif est colonisé dès l'accouchement par la flore vaginale de sa mère par les *Lactobacilles*, et par les *Entérobactéries* et *Bifidobactéries* de la flore fécale. En outre, les premières bactéries qui nous colonisent sont aéro-anaérobies facultatives telles qu'*Escherichia coli*, des *Entérocoques* ou des *Staphylocoques*. Elles consomment l'oxygène présent dans le tractus digestif de l'enfant favorisant ainsi l'implantation de bactéries anaérobies strictes du genre *Firmicutes*, par exemple. C'est entre 2 et 4 ans que la composition du microbiote de l'enfant se stabilise. L'individu a alors constitué son propre microbiote (Campeotto et al., 2007).

En effet, la présence de bactéries dans le méconium et le liquide amniotique laisse à penser que le nouveau-né est au contact d'espèces bactériennes avant la naissance (DiGiulio et al., 2008).

La tolérance immune du nourrisson favoriserait donc sa colonisation par des micro-organismes extérieurs (Dore and Corthier, 2010; Langhendries et al., 2010).

Enfin, la présence de mucus au sein de la paroi digestive permettrait aux micro-organismes à croissance lente de coloniser le tractus (Dore and Corthier, 2010).

Par ailleurs, le mode d'accouchement peut faire varier la mise en place du microbiote intestinal, les nourrissons nés par voie basse ont une installation et une composition de la flore différente des nourrissons nés par césarienne. En effet, ces derniers ne sont pas exposés à la flore vaginale et auront peu d'*Escherichia coli*,

Bacteroides et *Bifidobacterium* dans leur tractus digestif. En conséquence, la mise en place de la flore anaérobie stricte est plus tardive et c'est le cas également chez les prématurés. Les mesures d'hygiène au cours de l'accouchement tendent à réduire la colonisation bactérienne des nouveau-nés dans les pays occidentalisés (Campeotto et *al.*, 2007; Di Mauro et *al.*, 2013).

Aujourd'hui, les études de métagénomiques ont permis l'identification d'un grand nombre de micro-organismes de notre tractus intestinal (De Preter and Verbeke, 2013; Lagier et *al.*, 2012).

L'étude du profil métabolique du microbiote intestinal reste un élément de choix pour l'interaction des nutriments, le métabolisme intestinal et la composition du microbiote dans des conditions physiologique et pathologique telles que les MICI (De Preter and Verbeke, 2013).

Les micro-organismes se concentrent majoritairement dans la région intestinale côlon et iléon (Marteau, 2013) (Fig. 11).

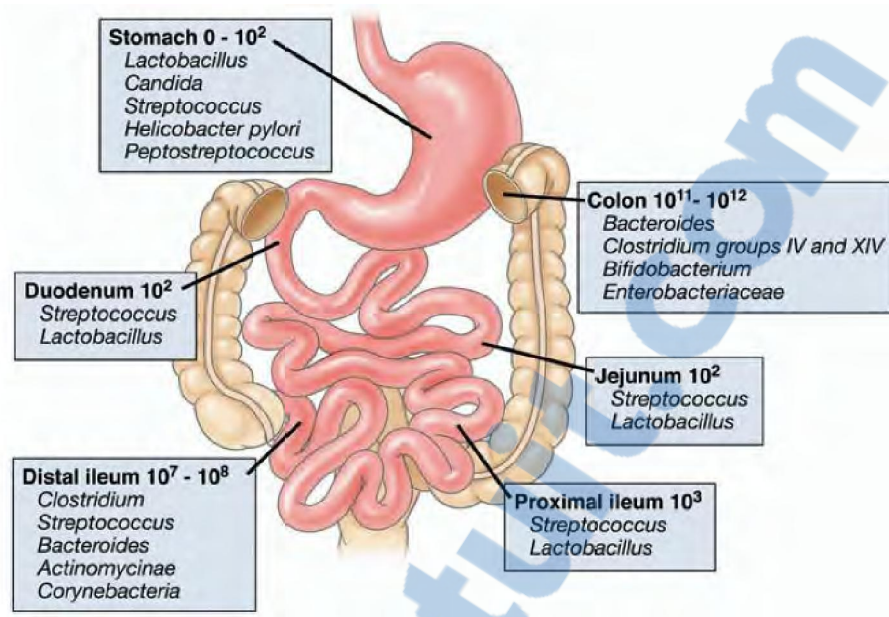


Figure 11: Répartition des différentes espèces bactériennes dans le tube digestif (Sartor, 2008).

2. Ecosystème digestif

La bouche renferme 700 espèces de micro-organismes réparties dans 9 *phyla* bactériens et un *phylum* archéen. Elles colonisent les dents, les gencives, la langue et la muqueuse buccale. Les organismes majoritaires appartiennent aux genres *Streptococcus* et aux espèces *Actinomyces spp.* La surface d'attachement de ces bactéries est un élément clé de cette colonisation. Par exemple, les dents supportent des agrégats de bactéries organisés en biofilm générant la plaque dentaire favorable au développement des caries. L'œsophage a une composition microbienne proche de celle de la bouche et compte une diversité de 06 *phyla* de 95 espèces. L'estomac présente un pH peu favorable à l'implantation de micro-organismes, c'est donc une première barrière qui prévient l'entrée de micro-organismes exogènes. Les micro-organismes qui l'occupent se situent principalement dans le mucus stomacal et développent des adhésions. L'un des plus connus est *Helicobacter pylori*. L'intestin grêle est une zone plus favorable à la colonisation. La présence de mucus permet l'implantation de nombreux micro-organismes luminaux et pathogènes. Néanmoins le temps de séjour court des composés luminaux limite leur croissance à cet endroit. C'est dans le côlon que la multiplication des micro-organismes devient optimale, favorisée et majorée par, un temps de transit lent, l'abondance de facteurs alimentaires

comme les polysaccharides et la présence de mucus. C'est une zone qui favorise également la diversité microbienne avec l'identification de plus de 800 espèces, (Dethlefsen *et al.*, 2006; Tlaskalova-Hogenova *et al.*, 2004).

D'autre part, on peut parler de plusieurs types de microbiotes intestinaux, le microbiote, fécale, luminal et le celui associé à la muqueuse intestinale. Le premier est étudié grâce au recueil de matières fécales, le dernier par des biopsies réalisées au décours d'une coloscopie de contrôle (Louis and Marteau, 2010).

3. Présentation des micro-organismes de notre intestin :

De manière générale, le microbiote intestinal se compose de nombreux micro-organismes aux diverses origines, bactéries, virus, archées, levures et virus (Lagier *et al.*, 2012) (Fig. 12).

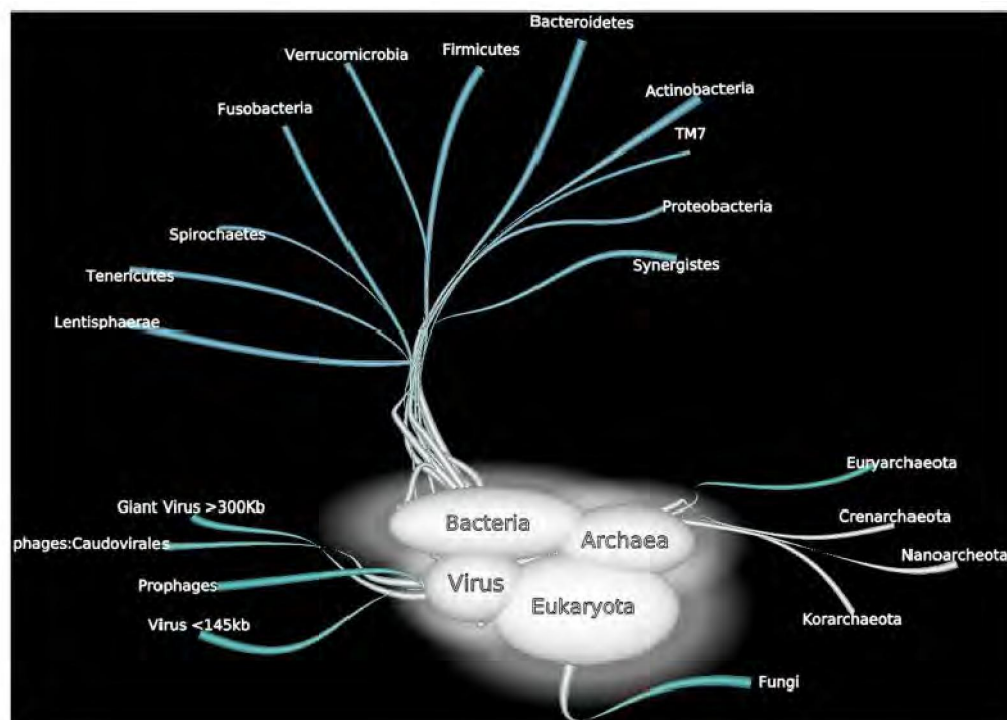


Figure 12 : Etat des lieux (non exhaustif) des micro-organismes de nos intestins : Bactéries, Archées, Virus et Levures (Lagier *et al.*, 2012).

En outre, il existe des micro-organismes de passage dans notre tractus digestif, ce sont le plus souvent des levures ou des bactéries lactiques mais aussi certains pathogènes (Marteau, 2013).

Les organismes eucaryotes tels que les levures et les champignons peuplent donc aussi notre tractus digestif. Les plus communes sont les levures issues des espèces *Candida* et *Saccharomyces* détectées par des techniques de culture et de microscopie. Néanmoins la diversité de ces organismes est encore très sous-estimée (Lagier et al., 2012).

Les archées sont présentes chez 4% des individus. En effet, l'analyse de leur ADNr 16S a permis d'identifier au sein de nos fèces la présence de *Méthanobrevibacter smithii* et *Méthanobrevibacter stadtmanae* (Dridi et al., 2011).

Enfin, les virus de notre tractus digestifs sont pour l'essentiel des phages (ADN) et des virus végétaux (ARN) (Lagier et al., 2012).

4. Facteurs de variation du microbiote intestinal

La diversité des espèces dominant notre tractus digestif est stable dans le temps à l'exception des lactobacilles qui sont souvent transitoires car ils sont apportés par l'alimentation, on parle ainsi de normobiose. Les modifications du microbiote intestinal ou dysbiose sont généralement la conséquence d'une colonisation par des micro-organismes exogènes ou suite à une modification des niches écologiques tels que, le temps de transit, alimentation, et le pH. Cependant, il est difficile d'induire un changement durable du microbiote intestinal (Dore and Corthier, 2010).

Au cours de la vie, le microbiote intestinal varie en fonction des changements de régime alimentaire, et à l'évolution du système immunitaire. En effet, le microbiote de la personne âgée sera différent de celui de l'enfant. Le genre *Bacteroides* augmente avec l'âge et sa diversité se réduit fortement chez la personne âgée. Cette élévation est responsable d'une chute du nombre et de la diversité des espèces du genre *Bifidobacterium* dont *Bifidobacterium adolencensis*, *Bifidobacterium angulatum* et *Bifidobacterium longum* à ces âges. Par ailleurs, les populations du genre *Eubacterium* augmentent au fil des années. *Eubacterium* a été mis en cause dans l'apparition de l'arthrite du sujet âgée. L'émergence de souches à *Clostridium* au cours du temps et leurs diversifications est également observée. De nombreuses espèces ont été isolées des fèces des personnes âgées dont des pathogènes (*Clostridium difficile*, *Clostridium sordellii*, *Clostridium malenominatum*) (Woodmansey, 2007) (Fig. 13).

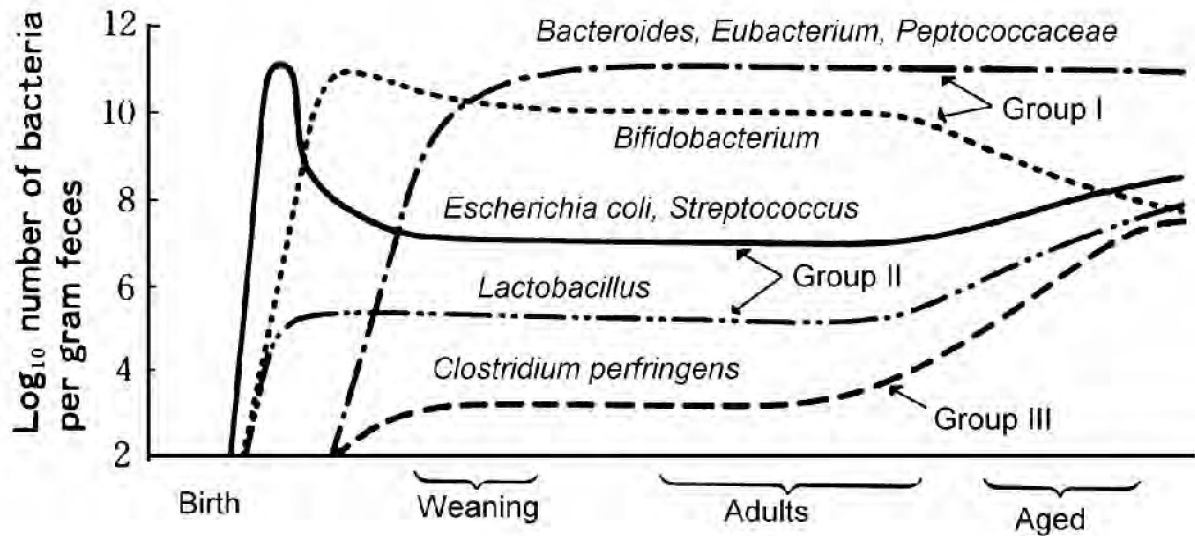


Figure 13 : Age et microbiote intestinal. (Mitsuoka, 1992).

L'alimentation est un facteur de variation du microbiote. D'une part, elle influence la maturation du microbiote du nourrisson par sa diversification comme l'introduction des légumes, et de la viande. Des aliments peuvent également orienter l'émergence de certains germes à condition qu'ils soient ingérés sur le long terme (Dethlefsen et *al.*, 2006; Finegold and Sutter, 1978). Les modifications du microbiote induites par les régimes alimentaires sont résumées dans le tableau 01.

Tableau 01: Résumé des régimes inducteurs de dysbiose. Tableau traduit de (Brown et al., 2012).

REGIME	BACTERIES ALTEREES	EFFETS SUR LES BACTERIES
Riche en graisse	<i>Bifidobacteria</i>	↓
Riche en graisse et sucres	<i>Clostridium innocuum</i> <i>Catenibacterium mitsuokai</i> <i>Enterococcus spp.</i> <i>Bacteroides</i>	↑ ↓
Pauvre en carbohydrates	<i>Bacteroides</i>	↑
Hypocalorique	<i>Clostridium coccoides</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> <i>Bifidobacteria spp.</i>	↓ (croissance limitée)
Carbohydrates complexes	<i>Mycobacterium avium</i> <i>subspecies paratuberculosis</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Bifidobacterium. longum</i> , <i>Bifidobacterium. breve</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	↓ ↑
Sucre raffinés	<i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium difficile</i>	↑
Végétarien	<i>Escherichia coli</i>	↓
Riche en oméga 6	<i>Bacteroides</i> <i>Firmicutes</i> <i>Actinobacteria</i> <i>Proteobacteria (δ-Proteobacteria)</i>	↓ ↑
Graisse saturés (graisse du lait animal)	<i>δ-Proteobacteria</i>	↑

La consommation de fibres semble augmenter le taux de *Bifidobactéries* lorsque ces populations sont faiblement représentées dans le tractus digestif. La mise en place d'un régime végétarien fait varier la composition du microbiote car il est riche en fibres. En conséquence, la concentration en Acides gras à chaîne courte (AGCC) est diminuée et il en résulte une diminution du pH intestinal. Les modifications des conditions de la niche écologique donnent lieu à une variation de la composition de la flore. Un régime occidental riche en graisses et en sucre conduit à une recrudescence de la colonisation intestinale par les *Firmicutes* au détriment des *Bacteroides*. L'augmentation de la consommation de sucres raffinés favorise la croissance de

Clostridium difficile. Un régime enrichi en acides gras saturés conduit à l'augmentation des δ -*Proteobacteria* et riche en oméga 6 facilite la recrudescence des *Firmicutes*, *Actinobacteria* et *Proteobactéria* (Brown et al., 2012).

Les antibiotiques présentent un effet sur la composition du microbiote intestinal, ils éliminent les souches qui leur sont sensibles en favorisant parfois la recrudescence de souches pathogènes minoritaires de notre flore. Elles vont engendrer ainsi certaines pathologies infectieuses favorisant le développement de candidoses digestives sous céphalosporines, et la colite pseudomembraneuse liée à *Clostridium difficile* sous amoxicilline (Dorosz, 2012; Robinson and Young, 2010).

D'autres médicaments modulent la composition du microbiote intestinal, ils agissent sur ce dernier par des modifications des conditions de la niche écologique telles que la variation du PH notamment sur les inhibiteurs de la pompe à proton et les antihistaminiques H2, l'altération du mucus par les anti-inflammatoires non stéroïdiens(AINS), ou encore des modifications de la motilité intestinale comme par exemple les Opioides et les laxatifs (Simren et al., 2013).

Les probiotiques et les prébiotiques sont deux facteurs qui vont influencer la composition de la flore bactérienne. L'un délivrant des microorganismes bénéfiques à l'homéostasie des fonctions intestinales comme les *Lactobacilles*, *bifidobacteries*, et *Saccharomyces boulardii*, l'autre favorisant la croissance bactérienne colique comme c'est le cas des *Bifidobacteries* et de *Faecalibacterium prausnitzii* (Marteau, 2013; Scaldaferri et al., 2013).

Les conditions d'hygiène influencent la composition du microbiote intestinal, en effet, lorsque l'on compare le microbiote d'un africain des zones rurales où les conditions d'hygiènes sont basses à celui d'un européen citadin, on constate que la première population présente un microbiote intestinal plus riche en *Bacteroides* que la seconde. Néanmoins les *Firmicutes* sont plus représentés lorsque le sujet est exposé à un environnement plus hygiénique (Simren et al., 2013).

Des conditions d'hygiène diminuées prédisposent, d'autant plus dans l'enfance à la recrudescence d'infections et notamment de gastroentérites. Ces pathologies

induisent des dysbioses avec une augmentation des bactéries aérobies et une diminution des anaérobies strictes (Joly et *al.*, 2007).

5. Relation entre le système nerveux central et le microbiote intestinale

Sur le plan fonctionnel il existe un véritable dialogue entre le microbiote intestinal et notre cerveau. En effet, l'axe hypothalamo-hypophysaire semble influencer sur la composition du microbiote par le biais de la sécrétion des neurotransmetteurs, de neuropeptides, de cytokines, de facteurs de croissance, des modifications du pH et de la motilité. Par exemple, le cerveau régule la sécrétion de cortisol, qui est majorée par le degré d'intensité du stress. En revanche, le cortisol va moduler la composition du microbiote et agir sur certains paramètres de la perméabilité de la barrière épithéliale intestinale (Di Mauro et *al.*, 2013; Montiel-Castro et *al.*, 2013).

6. Compétition entre les microorganismes de la flore intestinale

les micro-organismes utilisent des mécanismes qui lui permettent de coloniser le milieu en inhibant la propagation de leurs voisins par émission de toxines produites par *Williopsis spp* et *Clostridium tetani*, production de peptides antimicrobiens par l'intermédiaire de la bactériocine sécrétée par *Lactobacillus Bulgarius*, Colicine par *Escherichia Coli*, métabolismes des nutriments provoquant ainsi des variations de pH, émission de produits toxiques, production de l'acide lactique par *Lactobacillus rhamnus* délétère pour *Salmonella*, et répression des adhérences par *Lactobacillus delbrueckii* empêchant l'adhésion d'*Escherichia coli*. D'autres s'associent dans des structures de résistances telles que les biofilms. Cette interaction entre les microorganismes contribue largement dans le devenir de la composition du microbiote intestinal (Abedi et *al.*, 2013; Bevins and Salzman, 2011; Guyard et *al.*, 2000; Stephani et *al.*, 2011).

7. Les grandes fonctions du microbiote intestinal

7.1. Digestion, absorption et métabolisme

Le rôle primordial dans la physiologie intestinale est d'assurer une bonne absorption des nutriments qui se déroule surtout dans le jéjunum, l'iléon, c'est le cas

de la vitamine B12 et les sels biliaires, par contre le côlon est le siège d'absorption d'eau et des électrolytes (Teisserenc, 2002).

Le microbiote du tractus intestinal fournit beaucoup d'enzymes qui contribuent à la régulation de trois métabolismes nécessaires à la digestion, celui des glucides, des lipides et des protéines. La synthèse d'acides aminés tels que la lysine ou la thréonine par le microbiote intestinal va lui permettre d'être une source de vitamine K et B pour l'organisme (Stephani *et al.*, 2011) (Fig. 14).

Le microbiote peut participer au métabolisme de médicaments qui vont subir des processus de modifications proches de ceux des hormones stéroïdiennes. On peut citer notamment l'exemple de la sulfazalazine, pro-drogue transformée en produit actif par les bactéries coliques (Gérard and Bernalier-Donadille, 2007; Louis and Marteau, 2010; Rajilic-Stojanovic, 2013).

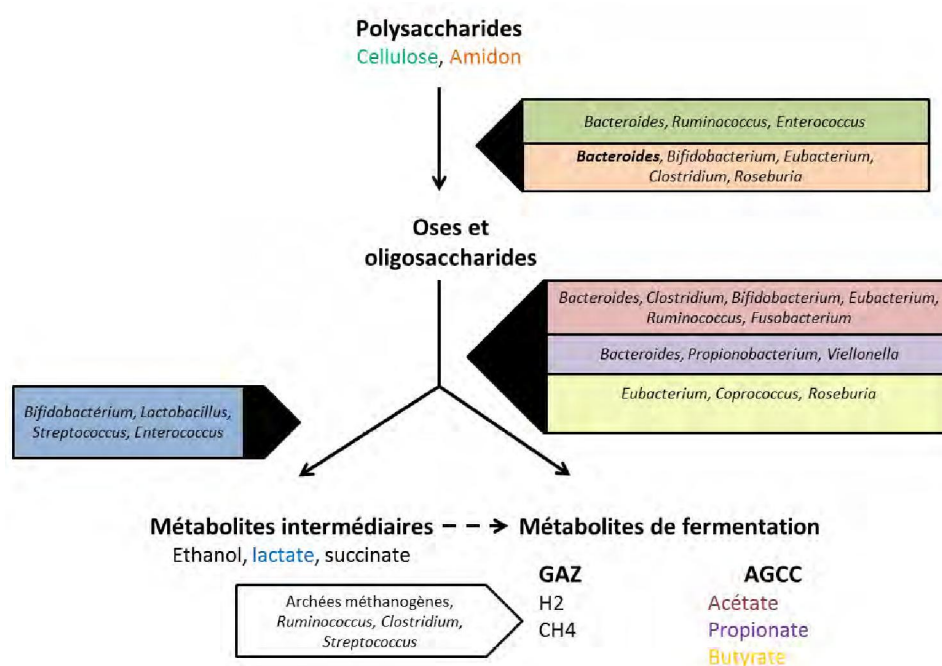


Figure 14 : Les microorganismes intestinaux impliqués dans le métabolisme glucidique. Inspiré de (Gérard and Bernalier-Donadille, 2007).

En vert les microorganismes qui dégradent la cellulose, en orange l'amidon. En rose, les microorganismes producteurs d'acétate, en violet de propionate, en jaune de butyrate, en bleu de lactate et en noir et blanc de gaz intestinaux.

7.2. Fonction immunologique

Le microbiote intestinal se représente comme un facteur intervenant dans le maintien de la barrière intestinale. Par exemple, *Escherichia Coli*, *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* protègent les cellules épithéliales des effets pro-apoptotiques de certains germes. Ils interviennent dans la régulation de certains gènes impliqués dans la translocation des jonctions serrées ou le maintien des desmosomes, assurant ainsi une stabilité de l'intégrité de l'épithélium (Di Mauro et al., 2013; Gérard and Bernalier-Donadille, 2007).

Cette consolidation de la barrière par les bactéries correspond à un mécanisme de défense destinés contre les pathogènes invasifs. En effet, la synthèse de mucine par les *lactobacilles* inhibent l'adhésion épithéliale de *Escherichia Coli* entéropathogène, renforçant la barrière protectrice de mucus (Stephani et al., 2011).

Le microbiote exerce donc des effets immunogènes et nutritifs bénéfiques pour l'hôte qui en contrepartie lui apporte l'écosystème nécessaire à son développement, en réalisant ainsi une relation dite commensalisme.

8. Relation hôte et microbiote intestinal

Le microbiote exerce un véritable dialogue avec l'épithélium intestinal sans générer une réaction immunitaire dirigée contre lui. Ce phénomène prend le nom de tolérance orale et s'exerce à plusieurs niveaux. L'épithélium intestinal met en place des systèmes qui font de lui une véritable barrière physique. Le renouvellement continu de la barrière épithéliale qui se fait tous les 5 jours, la production de mucus par les cellules caliciformes vont limiter la translocation bactérienne et réduire son contact avec les microorganismes (Tlaskalova-Hogenova et al., 2004).

D'autre part, la présence des plaques de Peyers concourt à la régulation de la population microbienne par la production de peptides antimicrobiens. De plus, les cellules épithéliales de l'intestin mettent en œuvre des molécules inhibitrices (Melmed et al., 2003).

9. Notion de probiotiques

9.1. Définition

Le concept de probiotiques est le fruit des travaux du biologiste russe Elie Metchnikoff en 1908 à l'institut Pasteur de Paris. De nombreuses définitions de probiotiques se succèdent après 1965. La définition de Fuller est validée par la communauté scientifique en 1989 qui considère les probiotiques comme un supplément alimentaire microbien vivant qui agit au bénéfice de l'animal hôte en améliorant l'équilibre microbien intestinal. Enfin, McFarland distingue en 2000 la notion de probiotiques avec celle des biothérapeutiques qu'il définit comme des microorganismes qui ont prouvé leur efficacité sur une pathologie s'appuyant sur des essais cliniques (Ducluzeau, 2002).

9.2. Mécanisme d'action

Les probiotiques ont de nombreux mécanismes d'action. Ils agissent sur la lumière intestinale en modifiant les conditions de la niche écologique, la rendant impropre à la colonisation par des microorganismes pathogènes. Le métabolisme des *Lactobacilles* implique la production d'acide lactique, réduisant le pH luminal, l'acidité de la lumière bloque alors la croissance de bactéries Gram négatifs (Chermesh and Shamir, 2009).

De plus, ils exercent une pression de sélection par la production de substances bactéricides comme les peptides antimicrobiens, et les protéases. Par exemple, *Saccharmyces boulardii* produit des protéases qui vont éliminer la Toxine A sécrétée par le *Clostridium difficile* (Stephani et al., 2011).

Les probiotiques vont également stimuler l'immunité en induisant la sécrétion d'IgA et de peptides antimicrobiens et assure l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale. C'est le cas de *Lactobacillus plantarum* qui pallie l'adhésion de pathogènes à l'épithélium intestinal en activant la sécrétion de mucines par les cellules caliciformes. La souche *Escherichia coli* inhibe l'adhésion et l'invasion intestinale d'*Escherichia coli* adhérent invasif (AIEC). *Lactobacillus rhamnosus* agit, quant à lui, en induisant la sécrétion d'Immunoglobuline A (IgA) en réponse au Rotavirus.

La plupart des probiotiques vont protéger la barrière épithéliale intestinale en limitant l'altération de sa perméabilité suite à une infection par un entéropathogène. (Heyman, 2006; Stephani et al., 2011). (Fig. 15).

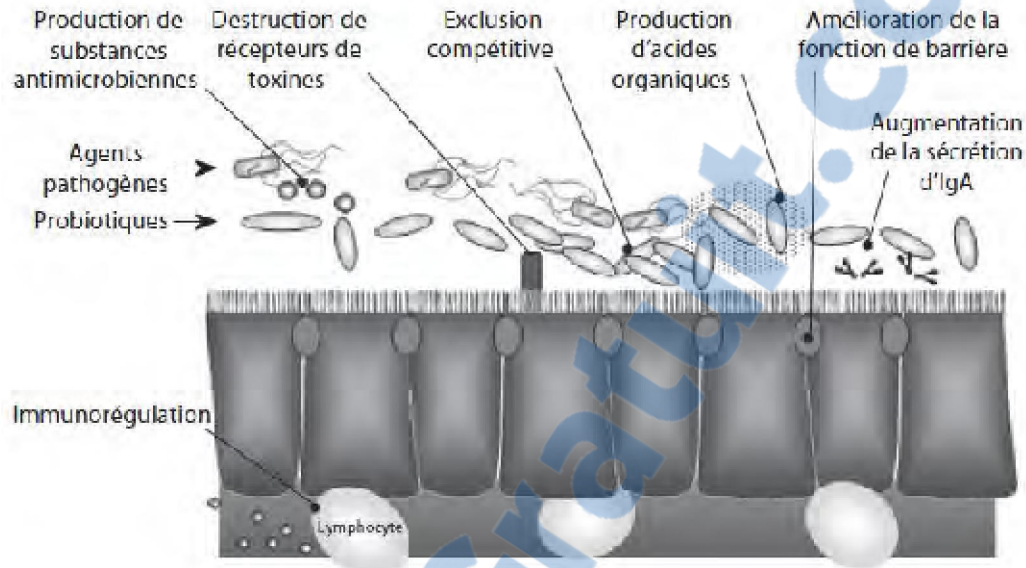


Figure 15 : Récapitulatif du mécanisme d'action des probiotiques (Chermesh and Shamir, 2009).

PARTIE III : METHODOLOGIE

Objectif :

L'objectif de cette étude consiste à isoler, identifier les différents microbiotes, et à rechercher d'éventuelles bactéries anaérobies cohabitant avec *Helicobacter pylori*, et aussi des bactéries tolérant l'aérobiose, et ceci à partir des biopsies gastriques et intestinales des malades, prises au niveau du service de gastroentérologie de l'hôpital de Mostaganem, et des cabinets privés.

Après examen endoscopique, un des prélèvements biopsiques est destiné à subir un examen d'anatomopathologie afin de confirmer le diagnostic endoscopique d'une part, de la gastrite ou d'ulcère gastrique, et d'autre part de la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique. Les autres prélèvements seront destinés à l'étude microbiologique.

Après l'étape d'isolement, des tests biochimiques destinés à l'identification bactérienne, et l'utilisation des différentes galeries api indiquées pour chacune des souches bactériennes isolées seront réalisés. Le présent travail sera ainsi achevé par l'utilisation de la PCR, pour chacune des espèces pré-identifiée.

Cette partie se penchera sur l'isolement et l'identification des souches bactériennes retrouvées dans le cas de trois maladies inflammatoire du tube digestif, l'une à l'étage supérieur, c'est le cas de la Gastrite microbienne ou de type B, les deux autres se localisant au niveau intestinale, considérées par la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique. Ce travail de recherche utilisera différents outils de travail qui permettront d'obtenir une identification phénotypique et génotypique des différentes bactéries.

1- Examen endoscopique

Les prélèvements biopsiques ont été effectués à distance d'un traitement par des antibiotiques ou des antiseptiques. Les conditions de stérilité doivent être respectées au moment du prélèvement. Les prélèvements ont été effectués sous endoscopie dans la région Fundique, et antrale à environ de 2 cm du pylore à l'aide

d'un endoscope type (Olympus GIFXQ 10) et d'une pince à biopsie, préalablement désinfectées au glutaraldhyde et bien rincées en raison du pouvoir inhibiteur de ce produit sur *Helicobacter pylori* (Lamouliatte *et al.*, 1992; Megraud,1992 ; Lozniewski, 1996).

Les biopsies prélevées, serviront à pratiquer respectivement, un examen cytologique, un examen anatomopathologique et une culture. Les pièces de biopsie sont mises dans des tubes secs stériles contenant de l'eau physiologique ou sérum salé, puis acheminées au laboratoire à 4 °C et ceci pour un délai de transport n'excédant pas les 4 heures (Lamouliatte *et al.*,1992; Megraud, 1992 ; Megraud 1994g).

Le même protocole est adopté concernant la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique, seulement l'acte endoscopique se fera par voie basse. La réalisation d'une coloscopie du colon et de l'iléon est indispensable pour visualiser et biopsier les lésions suspectes mais aussi les zones saines (Frexinos et Buscaïl, 2004). Le diagnostic est confirmé par une évaluation clinique et une combinaison d'examens biologiques, histologiques et surtout endoscopiques (Gersemann *et al.*, 2008 ; van assche *et al.*, 2010).

2- Examen anatomopathologique :

L'objectif de cet examen est de confirmer le diagnostic endoscopique, permettant dans le cas de la pathologie Gastrique, d'une part d'étudier la muqueuse gastrique et ses modifications histologiques, et d'autre part de visualiser les bactéries spiralées pouvant correspondre à *Helicobacter pylori*. Pour cela, Il a été effectué sur des coupes histologiques préparées à partir des biopsies gastriques, colorées à la coloration de Giemsa modifiée, puis observées au fort grossissement (Megraud, 1994a).

En parallèle, l'anatomopathologie permet d'objectiver dans le cas de la maladie de Crohn une inflammation intestinale granulomateuse discontinue (Van assche *et al.*, 2010). Par contre l'aspect endoscopique caractéristique de la Rectocolite Hémorragique RCH est une atteinte continue, commençant dès la jonction anorectale,

s'étendant plus ou moins loin vers l'amont et s'interrompant de façon assez brusque. (Meyer, et Treton, 2017).

La technique la plus utilisée par les anatomopathologistes est la suivante :

- Fixation : Consiste à mettre le formol tamponné durant 4 à 6 heures pour les biopsies, et 24 heures au moins pour les pièces opératoires.

- Mensurations et description des pièces : C'est l'étape de la macroscopie, les biopsies sont mesurées et mises en cassette en totalité, et les pièces opératoires sont mesurées, pesées pour certaines et décrites.

- Notant que la mise en cassette nous a permis de faire, un échantillonnage pertinent des lésions, du tissu avoisinant, et oriente les limites d'exérèses.

- Déshydratation : Cette étape prépare les tissus à l'inclusion en paraffine. Elle est réalisée dans un automate. L'inclusion en paraffine consiste à mettre les tissus dans du paraplast qui est un mélange de paraffine purifiée et de polymères plastiques.

- Coupe au microtome : cette étape consiste à couper le bloc de paraffine contenant le tissu en fin rubans de 04 à 05µm.

- Étalement sur lames : Plusieurs motifs de coupe tissulaire sont étalés sur lames qui sont alors séchées afin d'assurer une bonne adhésion à la lame des tissus avant coloration.

- Coloration standard à Hématoxyline-Eosine-Safran (HES) : L'hématoxyline colore les noyaux en violet foncé, l'éosine rend les cytoplasmes en rose, et le safran rendant les fibres collagènes en jaune.

- Analyse des coupes au microscope photonique : Cette coloration permet le diagnostic de la grande majorité des lésions tumorales et non tumorales. Dans environ 20% des cas, des analyses spécialisées (colorations spéciales, immunohistochimie, hybridation in situ, PCR) sont requises.

3-Examens microbiologiques

3.1. Examen microscopique du fragment biopsique

Cet examen consiste par un examen cytologique de l'empreinte biopsique, de mettre en évidence des germes des différentes formes, appartenant à la niche

écologique gastrique et intestinale, et qui pouvant témoigner de la présence de bactérie. Pour cela, une biopsie est déposée sur une lame, puis écrasée à l'aide d'une seconde lame afin d'obtenir un frottis fin et régulier. Le frottis préparé est ensuite séché, fixé, puis coloré à la coloration de Gram (Sobhani *et al.*, 1991; Megraud, 1994b; Cellini *et al.*, 1995b). Ensuite la préparation est observée au microscope optique au faible grossissement dans le but de visualiser et repérer les zones plus riches en cellules, puis au fort grossissement à la recherche, d'une part des germes de coloration de gram différente, et d'autre part des formes spiralés à Gram négative. Il est nécessaire d'observer un grand nombre de champs microscopiques du fait de la répartition parfois non homogène des bactéries surtout dans la biopsie gastrique (Megraud, 1989; Lamouliatte *et al.*, 1992).

3.2- Culture et isolement

Pour l'isolement, les différentes biopsies gastriques et intestinales sont broyées dans 1 ml de bouillon nutritif à l'aide d'un mortier stérile de manière à libérer les bactéries, puisensemencées dans un milieu à la gélose Columbia modifié en ajoutant 10% de sang de mouton, et ceci après des dilutions décimales successives. L'état frais consiste à déposer sur une lame, une goutte de la suspension bactérienne recouverte par une lamelle à la recherche d'éventuelle mobilité des microorganismes, observée au grossissement (x 40) (Marchal *et al.*, 1991).

Après ensemencement, quelques boîtes sont incubées aussitôt dans une jarre en atmosphère microaérobie pour favoriser le développement en anaérobiose, et les autres boîtes sont mises directement dans l'incubateur afin de permettre la croissance en aérobie à 37°C pendant 5 à 7 jours. L'atmosphère est renouvelée au moins tous les deux jours pour avoir une croissance optimale.

3.3-Identifications

L'identification est basée sur la détermination des caractères morphologiques, et biochimiques (Cassel *et al.*, 1996).

3.4- Examen macroscopique

La morphologie des colonies et leur dimension sont étudiées à partir des cultures obtenues sur les milieux suivants : la gélose Columbia ou la gélose chocolat (Lamouliatte *et al.*, 1992), (Fauchère, *et al.*, 1991). (Annexe).

3.5- Examen microscopique

Il a été effectué sur un frottis bactérien, préparé à partir des colonies suspectes en cultures pures, puis fixé et coloré par la méthode de Gram (Megraud, 1994b).

4-Tests biochimiques

4.1- Test de la catalase

La catalase est une enzyme produite en abondance par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit le peroxyde d'hydrogène et libère de l'oxygène (Vezina et Lacroix, 2000).

La technique consiste à prélever une partie de la colonie et à l'émulsionner dans une goutte d'eau oxygénée (30 V). Le dégagement des bulles de gaz signifie qu'il y a production de catalase (Prescott *et al.*, 2003).

4.2- Test de l'oxydase

Le test de l'oxydase est basé sur une éventuelle production bactérienne d'une enzyme oxydase intracellulaire en présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C (Vezina, et Lacroix, 2000).

Pour déterminer l'activité oxydase, une colonie prélevée est mise sur le réactif oxydase (Biomerieux France). Le développement d'une couleur violette signifie que le test est positif et que l'isolat possède l'enzyme oxydase (Kovacs *et al.*, 1995).

4.3 -Test à l'Urée-Indole

Un fragment biopsique est mis à l'aide d'une anse stérile dans un tube contenant 0,5 ml de milieu urée-indole. La lecture des résultats s'interprétant par un virage de l'indicateur vers le rose, s'effectuant, au bout de 20 min, et 24 h après

incubation à 37°C (Cassel, et al 1996). Ce test est généralement destiné aux bactéries à Gram négatifs (*Entérobactéries*).

4.4- Milieu Triple Sugar Iron (TSI)

Cette méthode permet de mettre en évidence d'une part, la fermentation du glucose avec ou sans dégagement de gaz, du lactose, du saccharose et d'autre part, la production du sulfate d'hydrogène (H₂S). C'est un milieu coulé en pente et en culot par ensemencement d'une colonie bactérienne, la pente est ensemencée par stries et le culot par piqure centrale, puis incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, et ceci dans le but d'évaluer l'activité métabolique des différentes souches bactérienne, comme, la fermentation du lactose sur la pente qui se traduit par virage au jaune, la fermentation du saccharose également qui est visualisée par un virage au jaune, la présence de gaz qui se manifeste par le décollement du culot ou la présence de bulles d'air, et la production de H₂S qui s'interprète par une coloration noire (Marchal et Bourdon, 1982). (Leveau et Bouix, 1980).

4.5- Test mannitol-mobilité (Le Minor ,1993)

L'ensemencement du milieu se fait par piqure centrale à la pipette Pasteur boutonnée et chargée avec une suspension bactérienne pure, puis mis dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

Le Mannitol-Mobilité-Nitrate est un milieu de culture caractérisé par l'utilisation de mannitol et de Nitrate et permet la mise en évidence ou non de la mobilité bactérienne, il permet aussi de voir le métabolisme énergétique des bactéries.

La lecture de l'utilisation du mannitol est possible grâce à la présence d'un indicateur de pH, le rouge de phénol.

L'utilisation du mannitol acidifie le milieu qui peut ainsi être révélé par le virage de l'indicateur de pH à sa teinte acide (jaune).

Si la bactérie fermente le mannitol, la réaction est dite mannitol positif (+), par contre si le milieu vire vers le rouge, pas de fermentation du mannitol, la réaction est dite mannitol négatif (-).

Fermentation du mannitol avec production de gaz :

L'observation de bulles témoigne d'une présence de gaz, on dit que la réaction est dite mannitol positif (+) avec production de gaz.

Mobilité :

La présence d'une faible teneur d'agar (gélose semi-molle) rend possible le déplacement des bactéries mobiles autour de la piqûre centrale. Les germes immobiles ne poussent qu'au niveau de la piqûre central alors que les germes mobiles diffusent dans la gélose.

La mobilité des bactéries est déterminée par une diffusion de ces dernières au niveau de ce milieu, les bactéries sont donc mobiles.

S'il ya culture uniquement au niveau de la piqûre centrale, pas de déplacement des bactéries dans le milieu, et les bactéries sont donc immobiles.

Recherche du nitrate réductase :

On ajoute deux(02) gouttes de Nitrate1(Nit1) et Nitrate2(Nit2) dans les différents tubes, s'il ya présence d'un anneau rouge on dit qu'on a une réaction de nitrate réductase positif(+), mais s'il n'y a pas de réaction, on procédera à l'ajout de poudre de Zinc :

S'il y a absence d'anneau rouge, pas de réaction, c'est le stade de diazote, on dit nitrate réductase positif(+). Mais s'il y a présence d'anneau rouge, on dit nitrate réductase négatif(-).

4.6- Galeries API (Annexe)

L'étude des caractères biochimiques est basée sur l'utilisation des galeries API qui permettront de réaliser des tests biochimiques spécifiques pour chaque bactérie isolée (Sobhani, et *al* 2000).

5- Antibiogramme

Ce test permet d'étudier la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques, cette sensibilité est testée par la méthode de diffusion (méthode de disques) sur milieu Mueller-Hinton(MH) additionné de 10% de sang de mouton, en utilisant plusieurs

antibiotiques (Lozniewski, 1996). Le choix des antibiotiques était adopté selon les recommandations de la société Française de l'antibiogramme (2012). Les différentes étapes de l'antibiogramme utilisé dans notre étude de recherche sont représentées dans la figure16 (Roland, 2006).

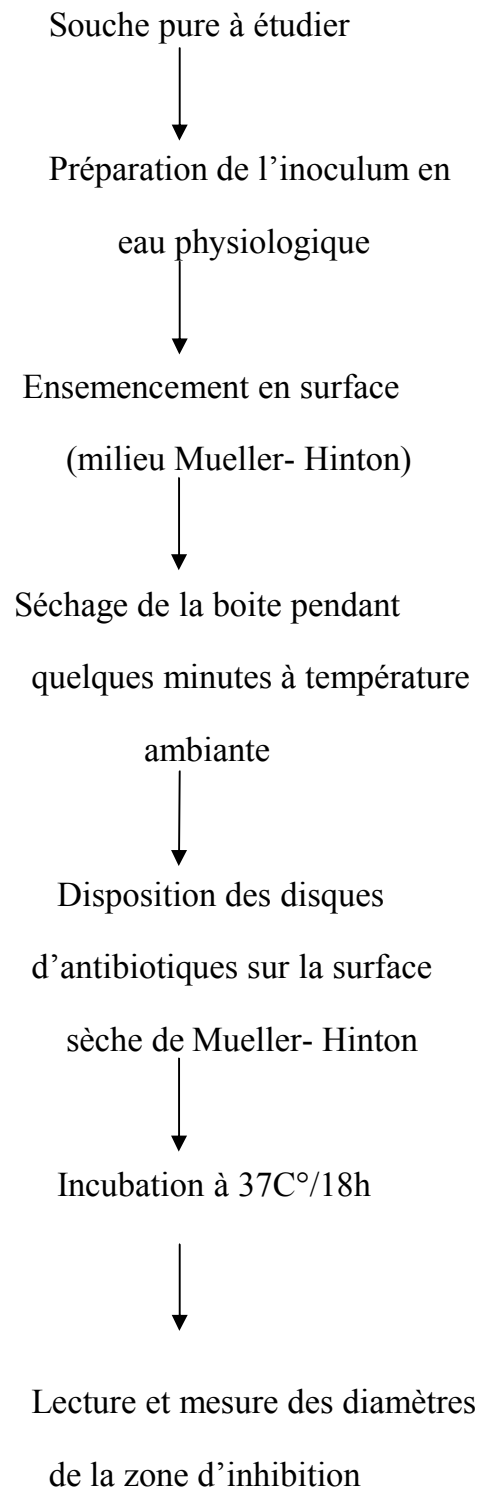


Figure N°16 : Les étapes de l'antibiogramme. (Roland, 2006).

6 -Interactions bactériennes :

Dans ce volet, nous allons tester l'effet inhibiteur des *Lactobacillus sp*, sélectionnés vis-à-vis des bactéries Gram positive et Gram négative retrouvées dans notre étude de recherche.

Pour cela, quatre souches appartenant au genre *Lactobacillus* (LAA, B116, LV21 LV22) ont été procuré auprès du laboratoire de recherche de production et de Biotechnologie animale de l'université de Mostaganem.

Le choix des ferments mixtes repose sur l'étude des interactions entre les bactéries lactiques. On les classe en deux catégories, les interactions positives qui se caractérisent par la stimulation d'un ou de plusieurs micro-organismes et les interactions négatives qui correspondent à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Choisy *et al.*, 1997).

Les souches lactiques sont testées pour leur pouvoir inhibiteur à l'égard de certaines bactéries pathogènes, permettant ainsi de déterminer leur spectre d'activité (Geis *et al.*, 1983).

Pour tester l'effet des lactobacilles sur les bactéries identifiées dans notre étude, la méthode de double gélose (spot on the lawn method) décrite par Fleming *et al.*, 1975) a été adoptée avec une légère modification.

Schématiquement, 5µl de chaque lactobacille sous forme de spot, ont été déposés en surface d'une gélose MRS modifié contenant 0,2% de glucose et 1,2% d'agar, et puis mises en incubation en anaérobiose pendant 24 h à 37° C. 100 µl d'une culture d'une nuit des bactéries indicatrices ont été mélangés avec 7 ml de MH-semi solide (0,7%), et versé dans une boîte de Pétri contenant la culture développée.

La présence d'une zone claire autour du spot de bactéries lactiques est considérée comme une inhibition positive et ce traduit par la mesure de diamètre. La symbiose est révélée par l'absence des zones d'inhibition, par contre l'antagonisme se traduit par la présence de ces dernières après une incubation à 37°C pendant 24h (Benkerroum *et al* ; 1993).

7- Application de la technique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel sur biopsies gastriques ou sur les colonies permettrait de confirmer l'identification des souches bactériennes retrouvées dans notre étude de recherche (Raymond *et al.*, 2010).

Le choix du protocole utilisé pour l'identification des différents isolats bactériens par le biais de la PCR est celui adopté par Lane, 1990.

Préparation des cellules bactérienne et extraction de l'ADN génomique

Le principe de cette technique consiste à mettre dans des tubes Eppendorfs stérile quelques colonies bactériennes de culture pure de 24 heures associées à 500 μ l d'eau pure.

Après agitation du tube contenant le mélange, on soumit ce dernier à une température de 95°C dans un thermobloc ou dans un bain maré pendant 10mn, puis on déposera ce tube dans un cryobloc à -20 °C ou bain de glace pendant 5mn afin de réaliser un choc thermique qui permettra la lyse cellulaire.

Après centrifugation à 10000 tr/min pendant 10 minutes on récupère le surnageant correspondant à l'ADN et le garder à 4 °C pendant une nuit pour provoquer la lyse de l'ARN et son élimination. L'ADN doit être conservé à -20 °C afin de l'utiliser pour d'autre examens.

La quantification de l'ADN :

Le principe de la quantification de l'ADN consiste à déposer 1 μ l de chaque échantillon dans une cellule de l'appareil Nanodrop dans le but d'évaluer la quantité et vérifier la pureté de l'ADN. L'unité du résultat quantitatif de l'ADN est déterminée en ng/ μ l.

L'amplification de l'ADN ribosomique 16S

Dans la Polymerase Chain Reaction(PCR) , le thermocycleur, permet d'amplifier l'ADN ribosomique 16S, et ceci est réalisé par l'utilisation des amorces

universelles décrites par LANE (1990) synthétisées par Eurofins Genomique, (France) : 27f (forward):5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3',

1492R.(Reverse):5'GGTTACCTTGTTACGACTT 3'

4 µl d'ADN génomique obtenu sont amplifiés dans un volume de 25µl de mixture réactionnelle contenant tous les réactifs nécessaires pour l'amplification PCR résumés dans le tableau 02.

Tableau 2: Les différentes concentrations et volume utilisé dans la mixture. PCR.

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volume à prélever
Eau ultra pure			10 µl
Tampon de TaqPromega	5X	1X	5 µl
MgCl ₂	25mM	1,5 mM	1,5 µl
dNTP	25mM	0,2mM	0,3 µl
Amorce 27F	10 µM	0,5µM	1,5 µl
Amorce 1492R	10 µM	0,5µM	1,5 µl
Taq polymérase Promega	5U	1U	0,2 µl
ADN génomique			5 µl
Volume final			25µl

- L'amplification a été effectuée selon les conditions suivantes:

Dénaturation initiale de la matrice d'ADN à 95 °C pendant 5 min, puis 35 cycles de dénaturation à 95 °C pendant 30 sec, hybridation à 55 °C pendant 30 sec ,extension à 72 °C pendant 45 sec. A la fin des cycles, le mélange réactionnel a été maintenu à 72 °C pendant 7 min pour l'élongation finale, puis refroidi à 4 °C.

Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits de la PCR ont fait l'objet d'une électrophorèse sur gel d'agarose de 1.5 % contenant du bromure d'éthidium (BET). La préparation du gel est faite par l'ajout de 150 mg d'agarose en poudre (DNA grade, Euromedex) à 100 ml de tampon TAE 1X (Tris Acétate-EDTA; Euromedex). Cette solution est homogénéisée par ébullition dans une micro-onde pendant 3min avant d'être coulé dans une plaque d'électrophorèse horizontale après refroidissement. Les puits dans lesquels les échantillons seront déposés sont formés par positionnement d'un peigne qui est retiré après solidification du gel.

Un volume de 5 µl d'amplifiât (produits de PCR) de chaque isolat est alourdi par 1 µL de tampon de charge contenant du bleu de bromothymol est déposé dans un des puits du gel déjà immergé dans le tampon TAE 1X. Le puits de l'extrémité est utilisé pour le dépôt d'un marqueur de taille de 1 Kb DNA ladder.

La migration a été effectuée à 100 volts pendant 20 min afin de visualiser les bandes d'ADN et de vérifier leurs tailles.

Séquençage des gènes amplifiés (16S rRNA)

Le séquençage d'un ADN, consiste à déterminer la succession des nucléotides qui le composent. Aujourd'hui une technique de routine pour les laboratoires de biologie, ainsi il est devenu indispensable dans les domaines de la recherche de base, de la biotechnologie et dans le diagnostic médical. Dans cette étude les amplifiats d'ADN ont été purifiés à partir du gel d'agarose en utilisant un kit (QIA quick® gel extraction) puis séquencer par la firme (DIAG GENE, Angers-France) en appliquant la technologie de séquençage (Big Dye terminator, Applied Biosystems, UK) dont le principe se base sur la méthode de Sanger.

Soumission des séquences génétiques à la base de données Genbank

Après l'assemblage et la correction des séquences brutes et l'obtention des séquences consensus pour chaque souche sélectionnée. Ces dernières ont été traitées par la base de données Genbank à NCBI, (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ensuite chaque séquence a été comparée à l'ensemble des gènes codant la sous unité 16S rRNA publiées par la communauté scientifique dans la base de données NCBI p.

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1-Examen endoscopie

Le siège de l'inflammation est caractéristique pour chaque patient, elle est soit antrale, soit fundique. Le résultat du diagnostic endoscopique indique qu'il s'agit d'une gastrite érythémateuse avec un fundus et antre congestive, avec parfois un reflux bilieux (Fig 17 et 18).



Figure 17 : Prélèvement d'une biopsie d'une antrite érythémateuse.

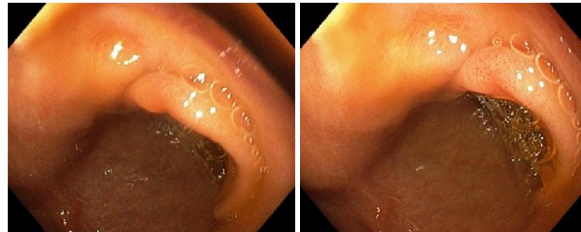


Figure 18 : Antrite exulcèreuse.

La figure19, représente une lésion de la maladie de Crohn, correspondant à des ulcérations longitudinales au niveau du colon droit donnant l'aspect d'un champ fraîchement labouré.

La figure 20, donne l'aspect de lésion polyploïde au niveau du Coecum, posant ainsi le diagnostic endoscopique de Crohn Coecal.



Figure 19: Crohn colique.



Figure 20 : Crohn Coecal.

La figure 21, donne l'aspect de lésion du colon posant ainsi le diagnostic endoscopique de Rectocolite Hémorragique (RCH).

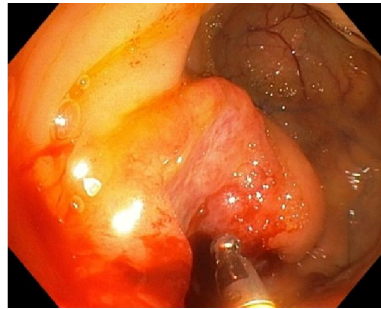


Figure 21 : Rectocolite Hémorragique. (RCH).

2-Examen anatomopathologique

L'examen histopathologique effectué sur des microfragments biopsiques montre qu'il s'agit d'une gastrite chronique atrophique, avec parfois observation d'*Helicobacter pylori* sous forme de virgule(,), de V, et incurvée (Fig. 22). Par contre, sur la Figure, 23 on n'observe que des lésions de la muqueuse gastrique en faveur d'une gastrite, sans la présence des formes d'*Helicobacter pylori*.

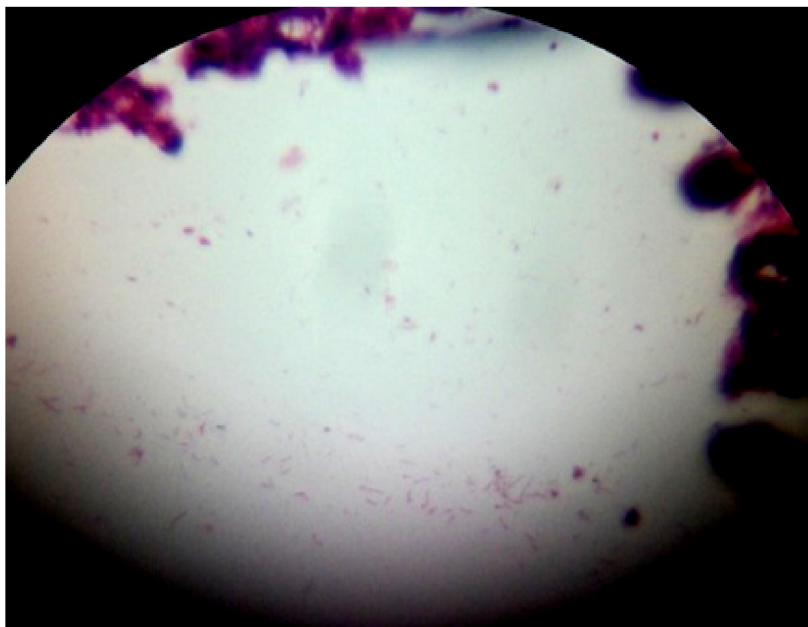


Figure 22 : Observation anatomopathologique de fragment biopsique avec présence d'*Helicobacter pylori* (Gr X 100).

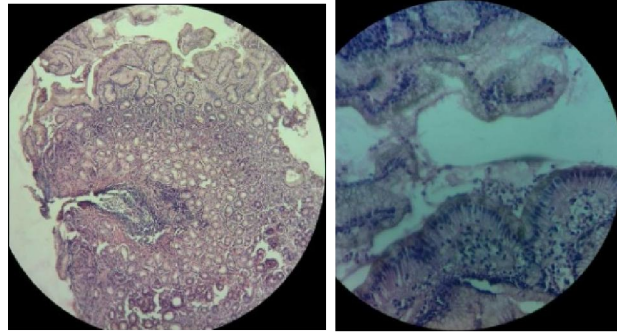


Figure 23 : Observation anatomopathologique au microscope optique de fragment biopsique au (Gr X 100).

L'examen histopathologique effectué sur des microfragments biopsiques colorectaux observés au microscope optique au grossissement x 20 avait mis en évidence une Rectocolite Hémorragique (RCH) en poussée aigue au niveau de la muqueuse où siègent des abcès cryptiques avec présence des eosinophyles en coloration rouge (Fig. 24).

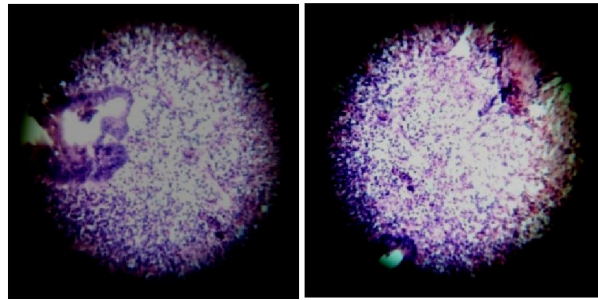


Figure 24: Observation anatomopathologique au microscope optique de microfragment biopsique colorectale (Gr X 20) : Rectocolite Hémorragique.

L'examen histopathologique réalisé au microscope optique au grossissement x 10, d'un microfragment biopsique colique avait objectivé des lésions dépassant la muqueuse témoignant ainsi de la maladie de Crohn (Figure. 25).

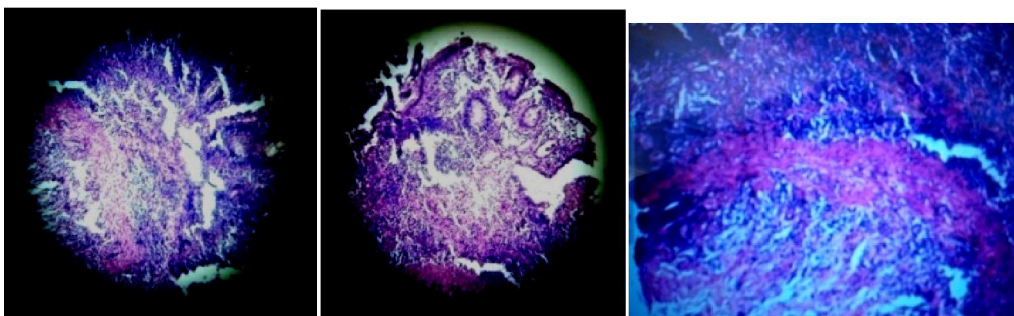
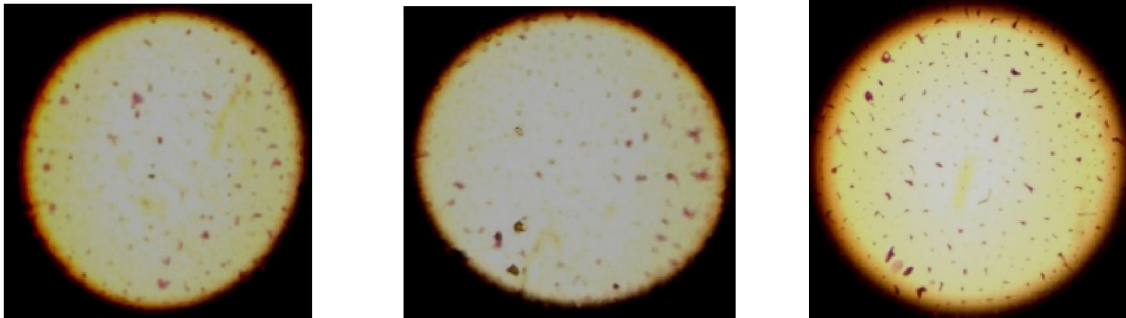


Figure 25: Observation anatomopathologique au microscope optique de microfragment biopsique colique.(Gr X 10) : Crohn.

3- Examen microscopique du fragment biopsique

Après coloration de Gram de l'empreinte biopsique gastrique, l'observation au microscope optique au grossissement (x1000) révèle une prédominance de bacille Gram négatif sous forme de V(Fig, 26a), de virgule (Fig, 26b), incurvé (Fig, 26c), et cocoïde (Fig. 26. a,b,c).



a. Forme V

b. Forme virgule (,)

c. Forme incurvée

Figure 26 : Observation au microscope optique d'un fragment de biopsie gastrique humain (Gr X1000).

L'observation à l'état frais, au microscope optique au faible grossissement x 40, révèle que certaines bactéries sont mobiles, par contre d'autre sont immobiles.

4-Identification

4.1 Examen macroscopique

Après ensemencement à partir des différentes dilutions décimales issues du broyage des biopsies humaines, gastriques d'une part, et intestinale d'autre part sur différents milieux sélectifs d'isolement, nous avons constaté l'apparition de colonies bactériennes de différents diamètres de forme arrondie et parfois bombée, de couleur marron clair et foncée, crémeuse, transparentes, et luisantes. Ces caractères macroscopiques sont caractéristiques de différentes colonies de bactéries aérobies et anaérobies (Fig, 27) et (Fig,28).

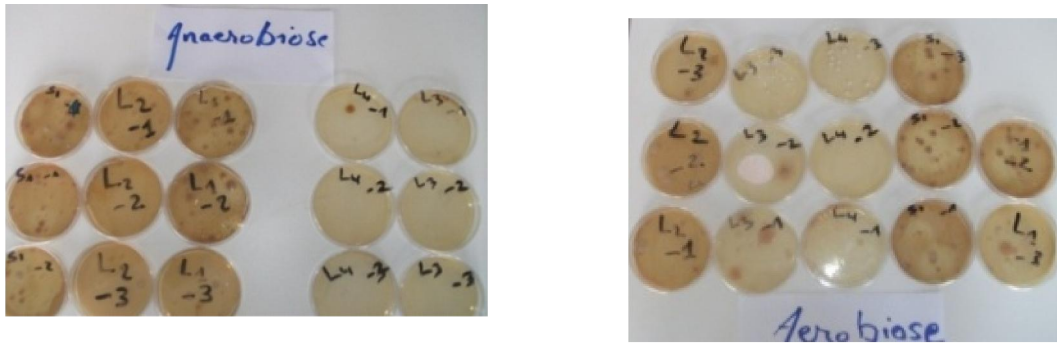


Figure 27 : Culture en anaérobiose et en aérobie des bactéries sur gélose Columbia au sang. Cas de Gastrite.

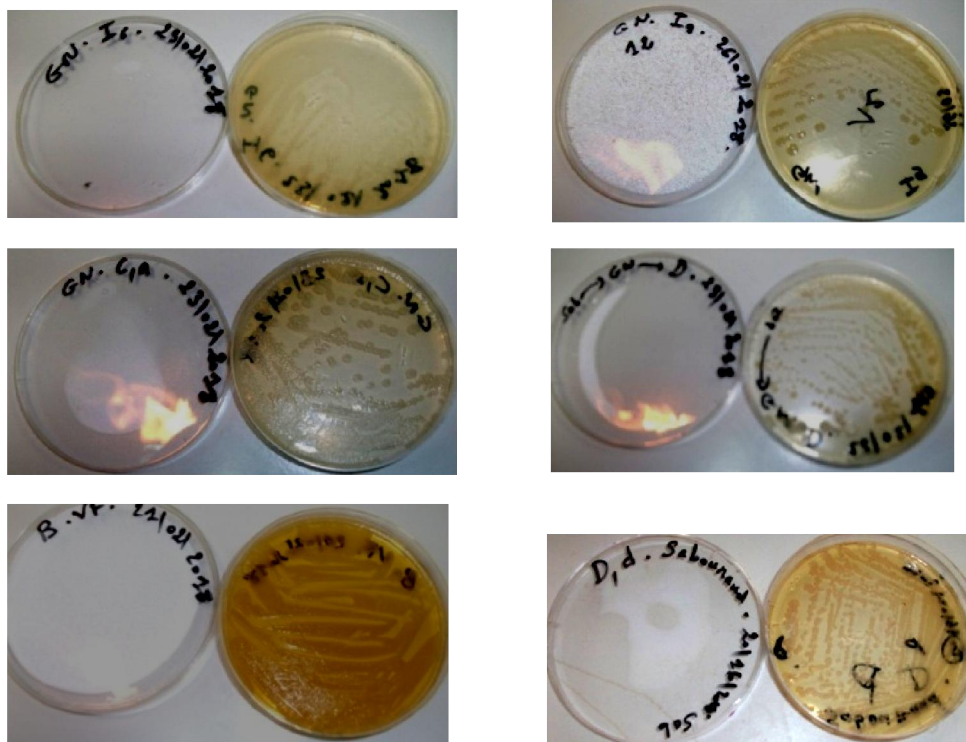


Figure 28 : Culture en anaérobiose et en aérobie des bactéries sur gélose nutritive, sabouraud, et VF. Cas de Crohn et Rectocolite hémorragique.

4.2 Examen microscopique

Afin d'obtenir des cultures bactériennes pures, plusieurs repiquages successifs ont été effectués sur les différentes colonies obtenues à partir des biopsies gastriques, et intestinales, et soumises à la coloration de Gram. Les résultats de l'examen microscopique au grossissement x 100, a révélé la présence de bactéries sous forme de cocci et de bacilles à Gram (+) et à Gram (-).

4.2.1. Cultures en aérobie

Cette culture a permis d'isoler les bactéries correspondants aux isolats suivants :

-L'isolat S1, 2

L'observation au microscope a révélé la présence des bacilles de petite taille et de coccobacilles à Gram négatif (-) (Fig. 29).

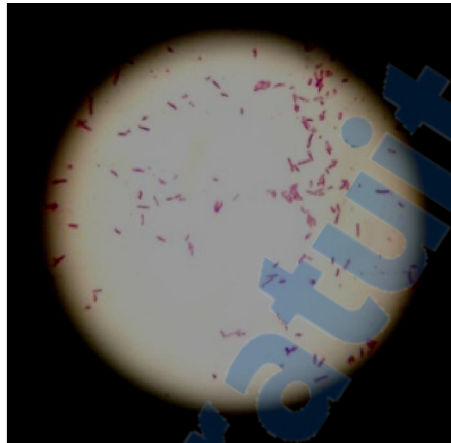


Figure 29 : L'isolat S1,2. (Gr X1000).

- L'isolat L1, 2

L'observation au microscope montre la présence de bacille Gram négatif (-) plus ou moins long (Fig. 30).



Figure 30 : L'isolat L1, 2 (Gr X1000).

- L'isolat L4, 1

Observé au microscope, cet isolat se présente sous forme de cocci Gram positif (+), disposé, en diplocoque, tétrade, isolé, et en chaînette (Fig. 31).

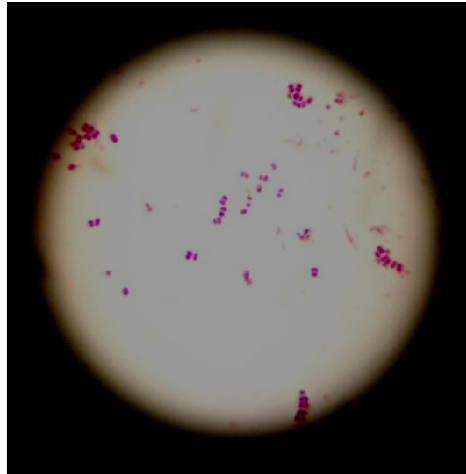


Figure 31 : Isolat L4, 1 (Gr X1000).

4.2.2. Culture en anaérobie

- L'isolat L2,1

L'observation de L'isolat L2,1 indique qu'il s'agit d'un bacille Gram négatif(-) se présentant sous différents aspects, en V(a), virgule (b), en S (c), légèrement incurvé (d), et coccoïde (e) (Fig, 32).

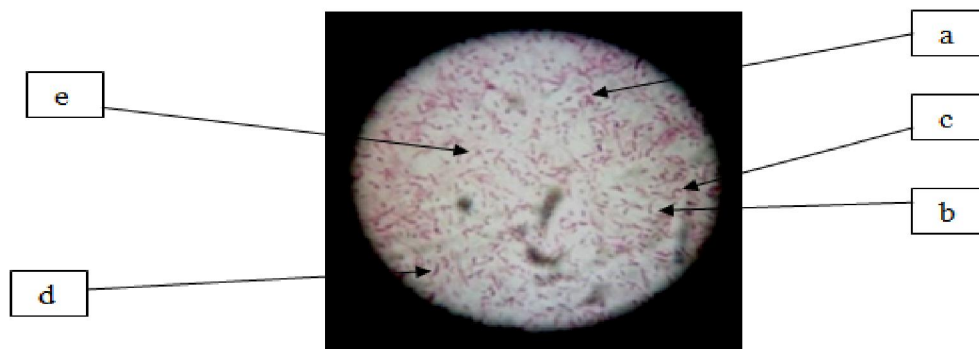


Figure 32 : Isolat L2, 1. (Gr X1000).

- **La souche L4,2**

L'observation microscopique indique la présence de bacilles longs Gram positif (+) (Fig. 33).



Figure 33: Isolat L4,2. (Gr X1000).

- **L'isolat L3**

L'observation microscopique de l'isolat L3 montre qu'il s'agit de bactéries cocci Gram positif (+) regroupés, en amas, associés donnant l'aspect de grappe de raisin (Fig. 34).

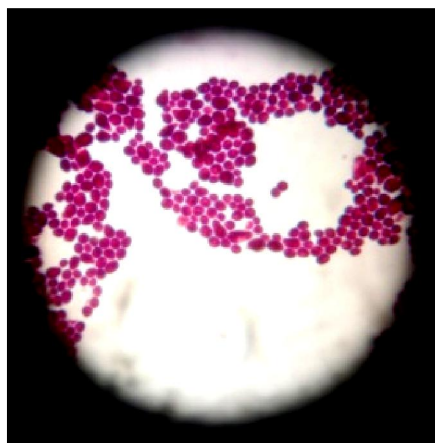


Figure 34 : Isolat L3. (Gr X1000).

- L'isolat L4,1

L'observation microscopique de l'isolat L4,1 met en évidence la présence de Cocci Gram positif (+) sous différents aspects, isolés, en tétrades et en diplocoques (Fig.35).

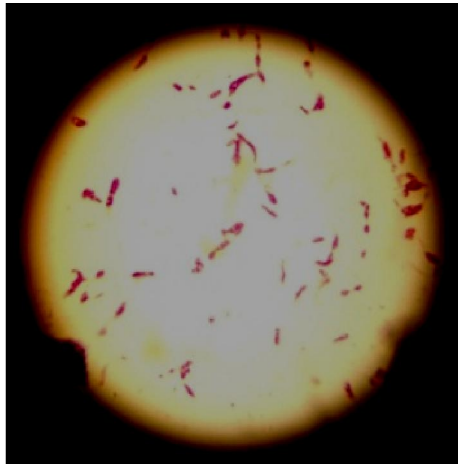


Figure 35: Isolat L4, 1. (Gr X1000).

- L'isolat I.6

L'observation microscopique de l'isolat I.6 met en évidence la présence de petits bacilles Gram négatifs(-) regroupés, et avec présence de quelques coccobacilles (Fig. 36).

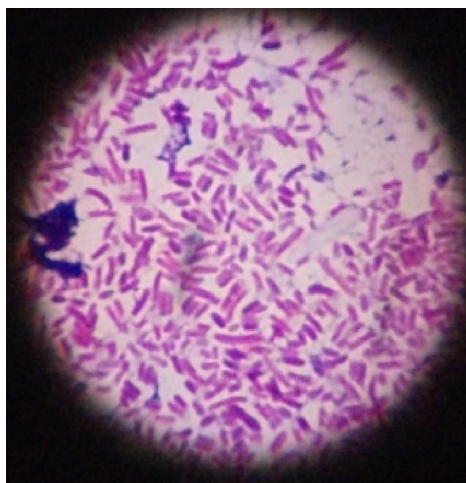


Figure 36: Isolat I.6. (Gr X1000).

- L'isolat I.9

L'observation microscopique de l'isolat I.9 met en évidence la présence de bacilles Gram négatifs (-) à majorité de taille moyenne, regroupés, néanmoins on a constaté la présence de quelques, coccobacilles et bacilles toujours gram négatif un peu plus grand (Fig. 37).

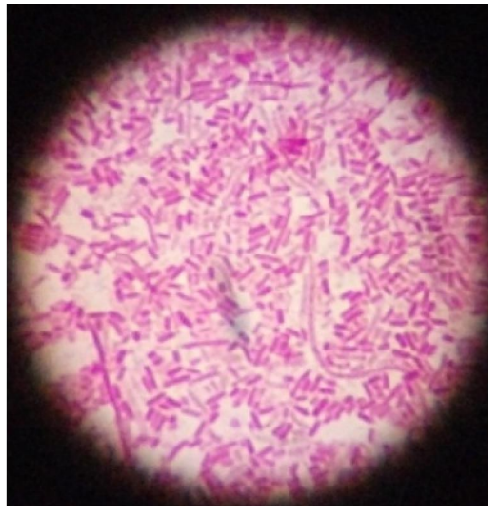


Figure 37: Isolat I.9. (Gr X1000).

- L'isolat C

L'observation au microscope a révélé la présence de grands bacilles gram positifs(+) groupés en chaînette, sur lesquels on retrouve parfois quelques endospores centrales et aux extrémités (Fig. 38).



Figure 38 : Isolat C. (Gr X1000).

- L'isolat B

L'observation au microscope a révélé la présence de bacilles gram positifs(+) sur lesquels on retrouve parfois quelques endospores surtout aux extrémités (Fig.39).

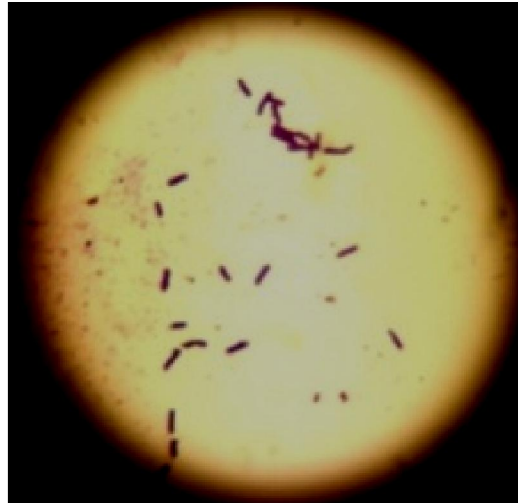


Figure 39: Isolat B. (Gr X1000).

- L'isolat D.d

L'observation au microscope a révélé la présence de bacilles gram positifs(+), épais avec des extrémités légèrement renflées, et sporulés, isolés et parfois regroupés (Fig. 40).

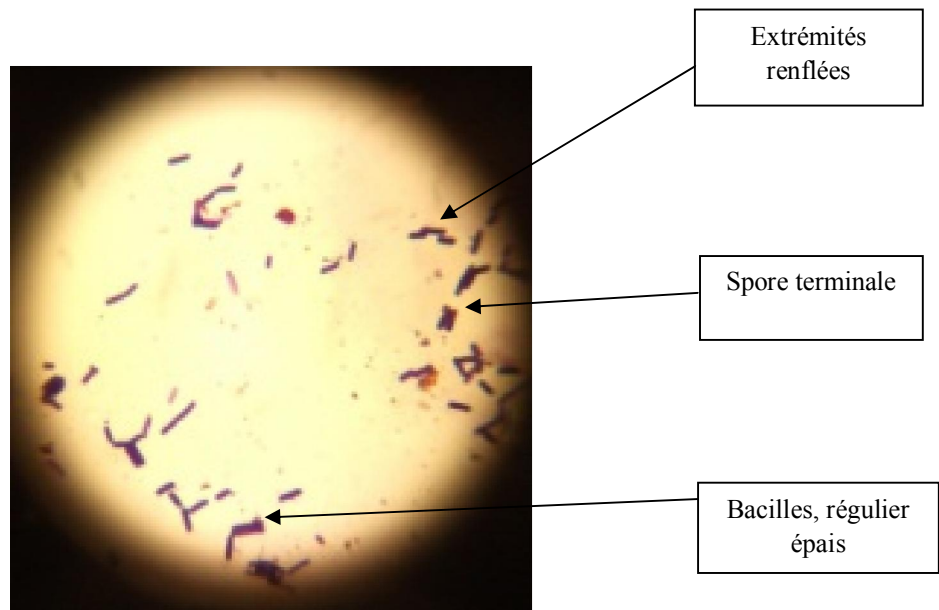


Figure 40 : Isolat D.d. (Gr X1000).

- L'isolat D

L'observation au microscope a révélé la présence de bacilles gram positifs(+), groupés en chaînette, avec présence de spore aux extrémités (Fig. 41).



Figure 41 : Isolat D. (Gr X1000).

4.3 Tests biochimiques

4.3.1 Test urée- indole

- Dans le cas des germes isolés des biopsies gastriques, il a été observé la présence d'une uréase positive(+) se manifestant par un virage de la couleur jaune vers la couleur rose pour les isolats anaérobies L1.2, L2.1 et L4.2, néanmoins l'isolat L3 et L4,1 présentent une uréase négative(-), et contrairement aux isolats aérobies L1, 2, L4, 1, et S1, 2 possèdent une uréase négative(-) (Fig.42), (Tableau, 02).

La lecture après 24 heures, après l'ajout du réactif Kovacs, a montré que l'ensemble des isolats testés aérobies ou anaérobies dégradent le tryptophane et produisent de l'indole indole positif (Fig. 43), (Tableau, 03).

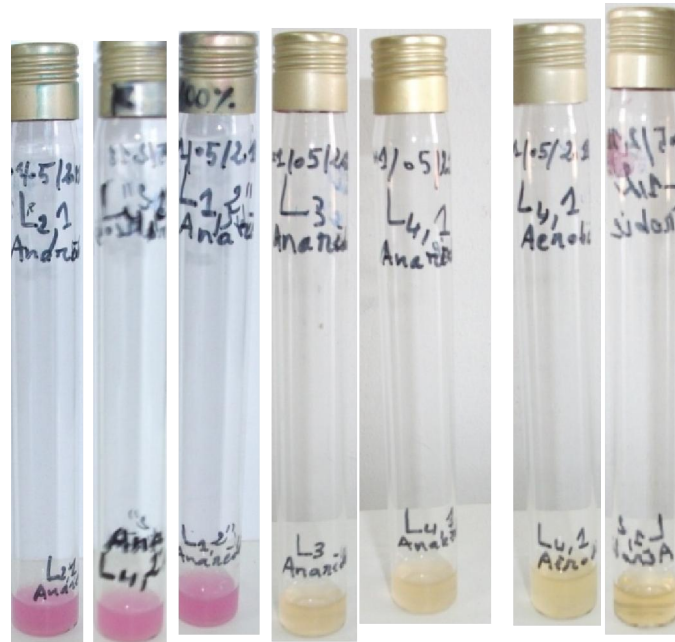


Figure 42 : Résultat du test de l'urée. Cas de la Gastrite B.

Tableau 03 : Résultat du test urée indole pour les bactéries aérobies et anaérobies. Cas de la Gastrite B.

Tests Souches	Uréase	Indole
L1,2 " =L1,1	+	+
L2,1	+	+
L3=L3,1	-	+
L4,1	-	+
L4,2 ² =L4,2	+	+
L1,2	-	+
L4,1	-	+
S1,2	+	+



Figure 43 : Lecture du test indole. Cas de la Gastrite B.

- Dans le cas des germes aérobies et anaérobies isolés des biopsies intestinales, il a été constaté que tout les isolats présentaient une uréase négative(-) (Tableau, 03), (Fig. 44).

La lecture après 24 heures, après l’ajout du réactif Kovacs, a montré que l’ensemble des isolats testés aérobies ou anaérobies dégradent le tryptophane et produisent de l’indole et sont par conséquent indole positif (Fig. 44), (Tableau, 04).

Tableau 04 : Résultat du test urée indole pour les isolats aérobies et anaérobies. Cas de Crohn et RCH.

Tests Isolats	Uréase	Indole
I.6	-	+
I.9	-	+
C	-	+
B	-	+
D	-	+
D.d	-	+

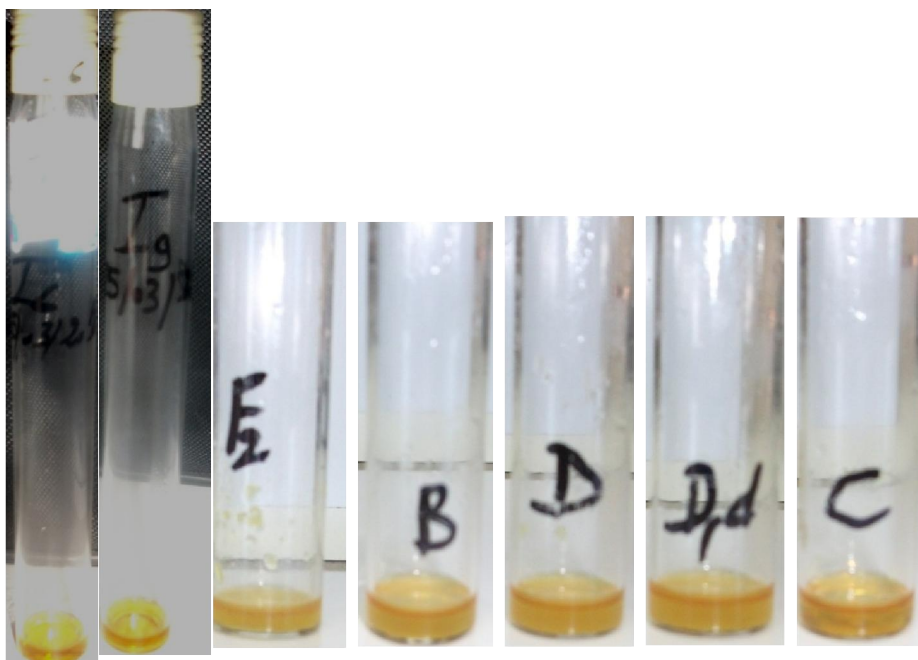


Figure 44 : Lecture du test indole. Cas de la maladie de Crohn et RCH.

4.3.2 Test de la catalase et de l'oxydase

Le tableau 05, résume les résultats des tests de catalase et de l'oxydase pour l'ensemble des germes isolés concernant la GastriteB, montrant ainsi une oxydase négative pour tous les isolats, et une catalase positive pour L1, 2, et S1, 2, néanmoins cette catalase est négative pour le germe L4, 1(Fig. 45).

Tableau 05 : Résultats du test de la catalase et de l'oxydase pour bactéries aérobies. Cas de Gastrite.

Tests	Oxydase	Catalase
Bactéries aérobies		
L1, 2	-	+
L4, 1	-	-
S1, 2	-	+

Le tableau 06, montre les résultats du test de la catalase et celui de l'oxydase testés sur les bactéries anaérobies, elles présentent toutes une réaction positives pour les deux tests, sauf pour les isolats L1 ,2 " =L1,1 et L4, 2' qui présentent une oxydase négative.

Tableau 06 : Resultats du test de la catalase et de l'oxydase des bactéries anaérobies. Cas de Gastrite.

Tests bactéries anaérobies	Oxydase	Catalase
L1 ,2 “ =L1,1	-	+
L2, 1	+	+
L3	+	+
L4, 1	+	+
L4, 2'	-	+

Le tableau 07, résume les résultats concernant la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique(RCH), des tests de la catalase et de l'oxydase pour l'ensemble des germes isolés, montrant ainsi une oxydase négative pour les isolats I.6, et I.9, par contre les autres isolats C, B, D,et D.d présentaient une oxydase positive.

Le test catalase est positif pour les isolats I.6, I.9, I.8, et C, par contre les isolats B, K, et D.d possede une catalase négative (Fig 23).

Tableau 07 : Resultats du test de la catalase et de l'oxydase. Cas de Crohn et RCH.

Tests Isolats	Catalase	Oxydase
I.6(RCH)	+	-
I.9(RCH)	+	-
C(RCH)	+	+
B(RCH)	-	+
D(Crohn)	+	+ -
D.d(Crohn)	-	+ -

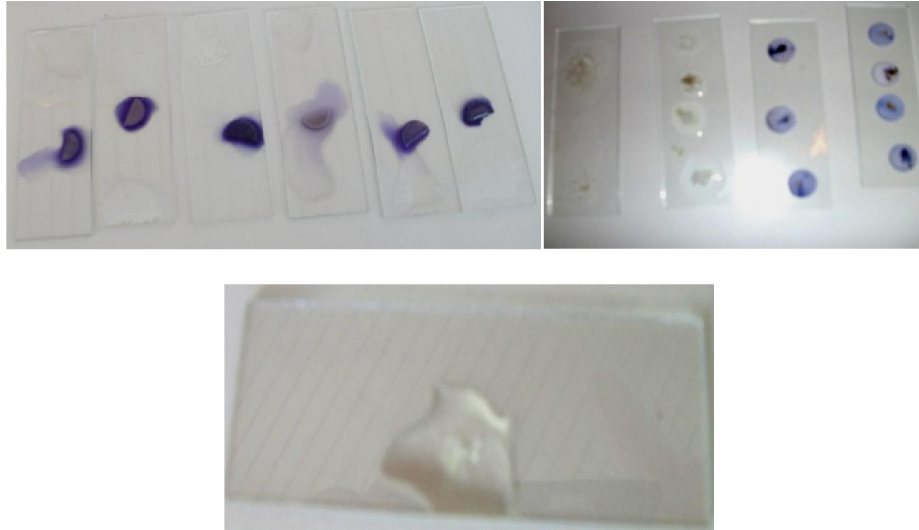


Figure 45 : Tests de catalase et d'oxydase.

4.3.3 Test mannitol-mobilité-nitrate

- Concernant les isolats issues des biopsies gastriques, Le tableau. 08 montre que toutes les bacteries aerobies L1, 2, L4, 1, et S1, 2 sont mannitol négative(-), ne produisent pas de gaz, immobiles, et sont nitrate réductase négatif(-), par conte la bactérie L4,1 présente une nitrate réductase (+) (Fig. 46, 47).

Les isolats anaérobie L1 ,2 “, L4,1 sont Mannitol négatifs (-), ne produisent pas de gaz, immobiles et sont nitrate réductase positifs (+), contrairement aux isolats L2,1, L4, 2'et L3 qui sont Mannitol positifs (+) , produisent du gaz mais ce n'est pas le cas de la bactérie L3, sont mobiles et sont nitrate réductase positif (+) correspondant au stade de diazote (Fig. 48, 49).

Tableau 08 : Resultats du test mannitol-mobilité pour les bactéries aérobies et anaérobies. Cas de Gastrite.

Tests Bactéries aérobies	Mannitol	Gaz	Mobilité	Nitrate réductase
L1, 2	-	-	Mobile	-
L4, 1	-	-	Immobile	+
S1, 2	-	-	Immobile	-
L1, 2 " =L1,1	-	-	Immobile	+
L2, 1	+	+	Mobile	+
L3	(+)	(-)	Mobile	(+)
L4, 1	(-)	(-)	Immobile	(+)
L4, 2'	(+)	(+)	Mobile	(+)

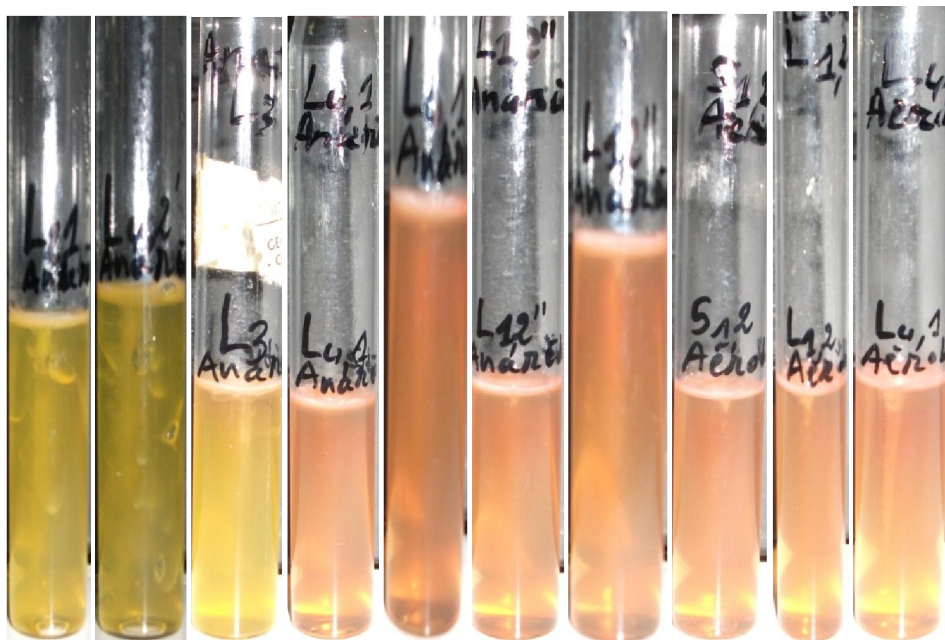


Figure 46 : Test mannitol-mobilité pour les bactéries anaérobies et aérobies. Cas de Gastrite.

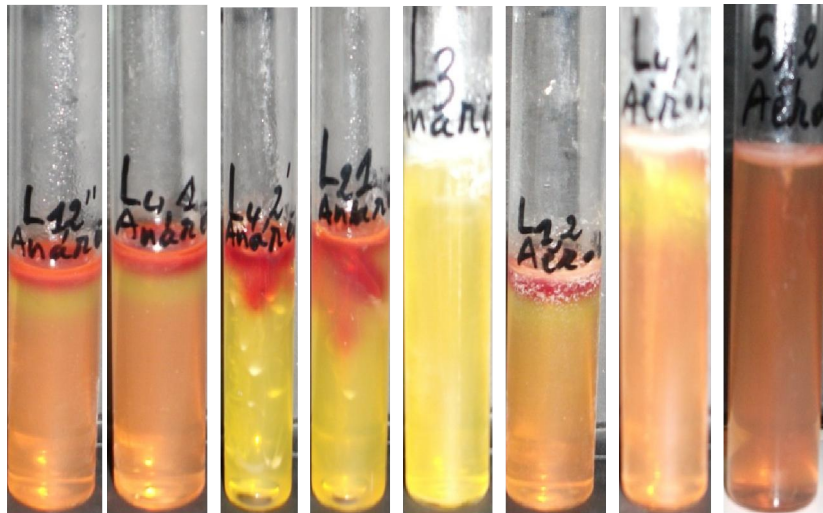


Figure 47 : Réaction nitrite 1 et 2 avec ou sans ajout de Zn. Cas de Gastrite.

- Concernant des isolats issus des biopsies intestinales, le tableau 09 résume les résultats du test **mannitol-mobilité-nitrate**. Il a été observé que tous les isolats sont Mannitol positif (+), ne produisent pas de gaz, néanmoins la réaction détermine une production de gaz pour l'isolat I.6. Par contre la mobilité concerne uniquement le germe I.9, et donc les autres isolats sont immobiles. Il a été observé dans la figure, 50, que l'isolat C est nitrate réductase positif (+) correspondant au stade de diazote. Contrairement aux autres isolats, la réaction est nitrate réductase négative (Fig. 48).

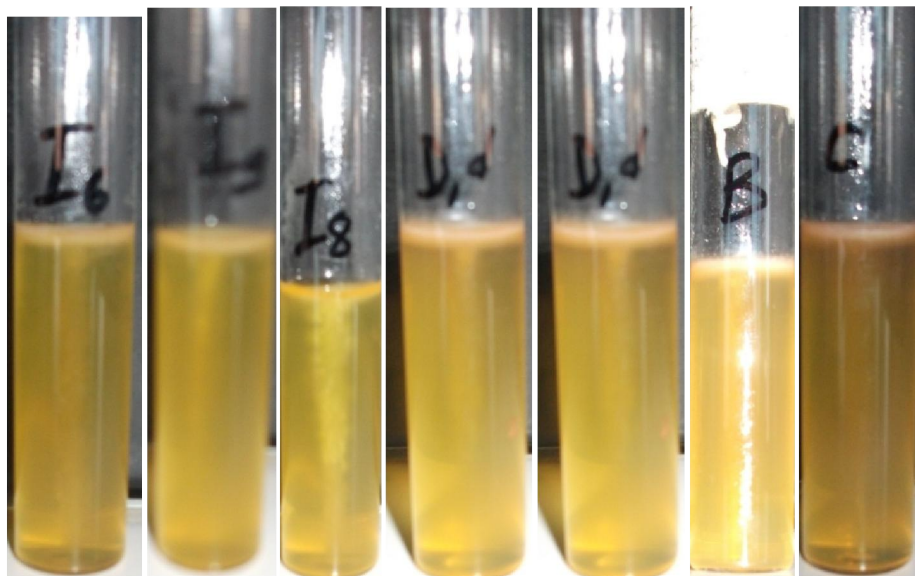


Figure. 48: Test mannitol-mobilité pour les bactéries anaérobies et aérobie. Cas de Crohn et RCH.

Tableau 09 : Résultats du test mannitol-mobilité pour les bactéries anaérobies. Cas de Crohn et RCH.

Tests Isolats	Mannitol	Gaz	Mobilité	Nitrate
I.6(RCH)	+	+	Immobile	-
I.9(RCH)	+	+ -	Mobile	-
C(RCH)	+	-	Immobile	+
B(RCH)	+	-	Immobile	-
D(Crohn)	+	- +	Immobile	-
D.d(Crohn)	+	-	Immobile	-

4.3.4 Résultats du test Milieu Triple Sugar Iron (TSI)

- Concernant les isolats issues des biopsies gastriques, le tableau, 10 montre respectivement les résultats des isolats aérobie et anaérobies soumis aux test Triple Sugar Iron (TSI). Certains isolats fermentent ou non le lactose et le saccharose avec présence ou non de gaz, et éventuellement production ou non de H₂S (Fig. 49 et 50).

Tableau 10 : Résultats du test TSI pour les isolats anaérobies et aérobie. Cas de Gastrite.

Résultats Souches	lactose	Saccharose	H ₂ S	Gaz
L1,2 “=L1,1	-	+	-	+
L2, 1	-	-	minime	-
L3=L3,1	+	+	minime	Leger décollement
L4, 1	-	+	+	Leger décollement
L4, 2’=L4,2	+	+	-	-
L1, 2	-	-	+	-
L4, 1	+	+	+	-
S1, 2	+	+	-	-

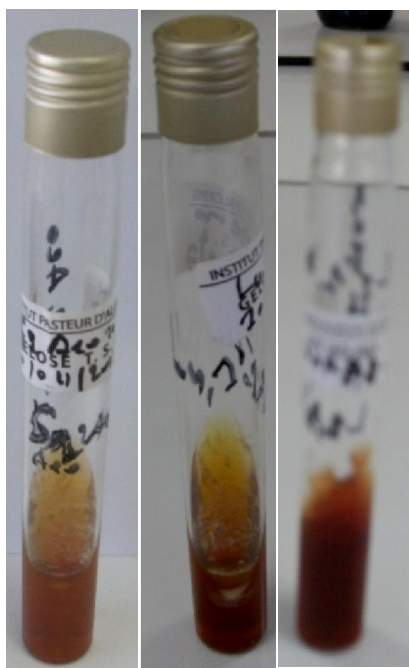


Figure 49 : Résultat du TSI pour les isolats aérobie. Cas de Gastrite.

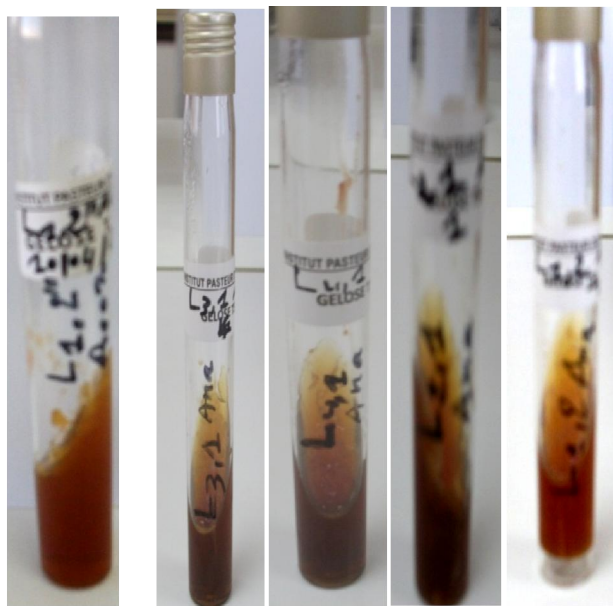


Figure 50 : Résultat du TSI pour les isolats anaérobies. Cas de Gastrite.

- Concernant les isolats issus des biopsies intestinales, le tableau 11 regroupe les résultats du test Triple Sugar Iron (TSI), certains isolats fermentent ou non le lactose et le saccharose avec présence ou non de gaz, et éventuellement production ou non de H₂S (Fig. 51).

Tableau 11 : Résultats obtenus par l'utilisation du test TSI pour les isolats anaérobies. Cas de Crohn et RCH.

Résultats Souches	lactose	saccharose	Glucose	H ₂ S	Gaz
I.6(RCH)	+	+	+	+	+
I.9(RCH)	+	+	+	-	+
C(RCH)	+	+	+	-	-
B(RCH)	+	+	+	+	+
D(Crohn)	+	+	+	-	-
D.d(Crohn)	+	+	+	+	+

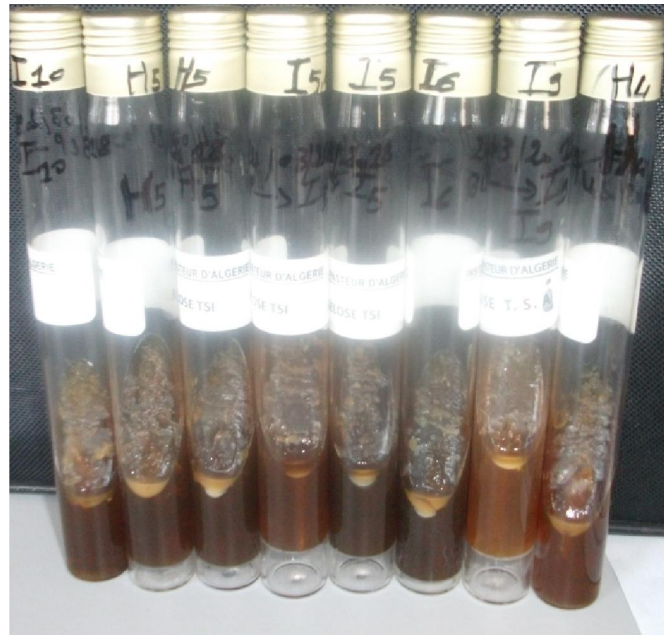


Figure 51 : Résultats du TSI. Cas de Crohn et RCH.

4.3.5 Identification par les galeries API

L'usage des galeries API 20 E avait servi à fournir une clé d'identification biochimique, et éventuellement nous a permis de réaliser d'autre tests biochimiques pour des isolat retrouvés à partir des biopsies gastriques et intestinales (Fig. 52).

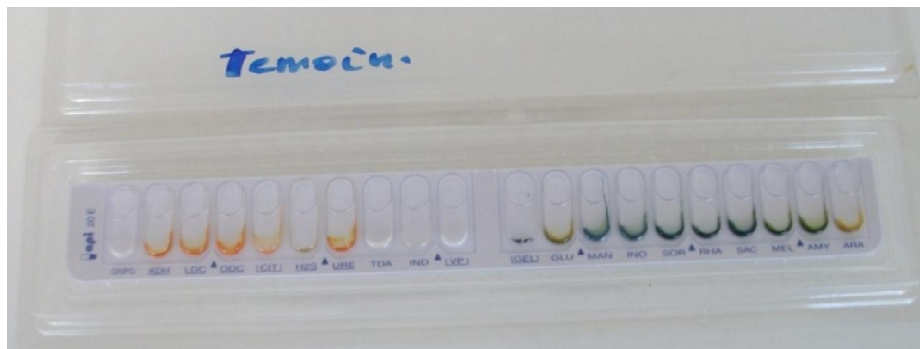


Figure 52: Galerie API utilisée comme témoin.

-Isolat S1,2

La galerie API 20E a identifié l'isolat S1,2 comme étant *Proteus mirabilis* avec une clé d'identification ATCC 7323000 (Fig. 53).



Figure 53 : Résultats de l’api 20 E pour S1, 2 (S1,2’).

-Isolat I.6

La galerie API E a identifié l’isolat I.6 comme étant *Enterobacter cloacae* avec une clé d’identification ATCC 3727573 (Fig. 54).



Figure 54: Résultats de l’api 20 E pour I.6.

-Isolat I.9

La galerie API E a identifié l’isolat I.9 comme étant *Enterobacter cloacae* avec une clé d’identification ATCC 3327573 (Fig 55).



Figure 55: Résultats de l’api 20 E pour I.9.

4.3.6 Test de coagulase

L’aspect microscopique de cocci gram positif en grappe de raisin, des isolats L3, et L3,1 nous a orienté vers le genre *staphylocoque*. Parallèlement, la culture sur le milieu Chapman de ces trois isolats a été positive, le milieu a viré vers la couleur jaune dorée (Fig 58). Par ailleurs, le test de la coagulase soumis aux isolats a montré

la présence d'un dépôt au niveau du fond du tube, ceci confirme que le test a réagi positivement et donc coagulase positive (+) (Fig. 56, 57 et 58). On en déduit que ces isolats présentent les caractères phénotypiques du *staphylococcus aureus*, appelé aussi *staphylocoque doré* lié à la forte coloration jaune correspondant à la dégradation du lactose.

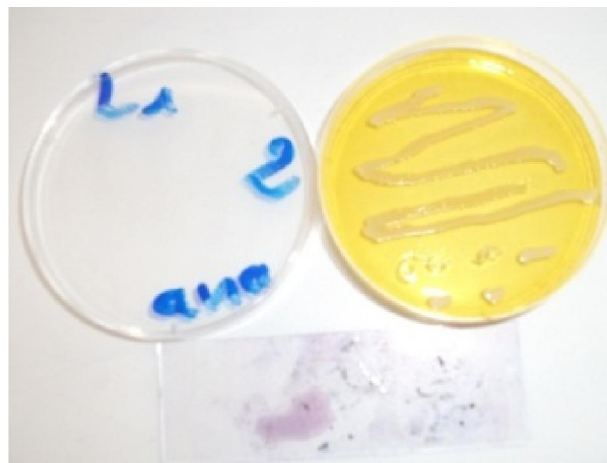


Figure 56 : Culture sur milieu Chapman des isolats L3, et L3,1.

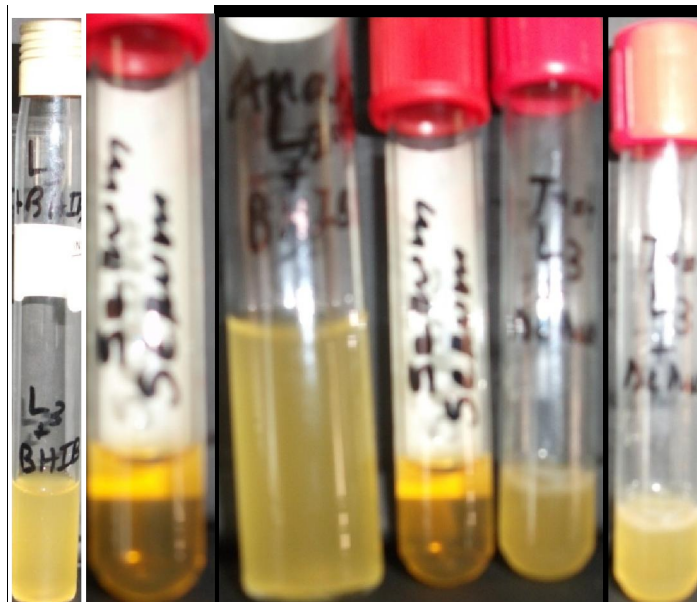


Figure 57: Résultat du test de coagulase pour les isolats, L3, L3,1.

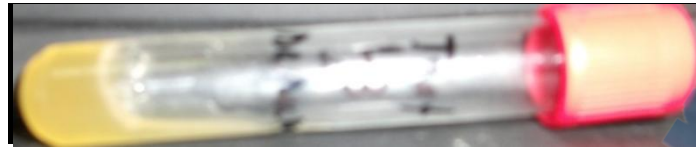


Figure 58: Test de coagulase positif des isolats L3, L3,1.

4.4 Résultats du test d'antibiogramme

Le tableau. 12, résume les résultats du test d'antibiogramme des isolats de bactéries aérobies L1, 2 ; S1, 2 ; L4, 1 isolés des biopsies gastriques (Fig. 59). L'étude de la sensibilité des différentes bactéries testées aux antibiotiques habituellement utilisées dans le choix thérapeutique par la technique de diffusion de disque a montré l'excellente activité inhibitrice de la majorité des antibiotiques utilisés vis-à-vis des ces bactéries.

En effet, la souche L1, 2 est sensible à CTX, CN, K, et NA dont le diamètre de la zone d'inhibition est respectivement égale à 25, 25, 19, et 19mm. Par contre elle est résistante respectivement à Céfoxitine (FOX) , Ampicilline (AM) , et Amoxicilline - Acide clavulanique (AMC) dont le diamètre respectif est de 07, 06, et 07 (mm). Par ailleurs, la souche S1, 2 est sensible à, Céfoxitine(FOX) (12 mm), Amoxicilline - Acide clavulanique (AMC) (18mm), Gentamycine (CN) (26mm), et Kanamycine (K) (20mm), mais présente une résistance vis-à-vis Céfotaxime (CTX) (08mm), Ampicilline (AM) (09mm), et Acide nalidixique (NA) (07mm), alors que la souche L4, 1 est sensible pour la majorité des disques testés avec un maximum de 22 mm, et un minimum de 12 mm de diamètre. Par contre, elle résiste à l'Acide nalidixique(NA) avec un diamètre de la zone d'inhibition égale à 08mm.

Tableau 12 : Résultat du test d'antibiogramme des bactéries aérobies. Cas de Gastrite.

Disques Isolats Aérobies	CTX(mm)	FOX(mm)	AM (mm)	AMC(mm)	CN(mm)	K(mm)	NA(mm)
L1, 2	25	07	06	07	25	19	18
L4, 1	17	15	12	20	22	15	08
S1, 2	08	12	09	18	26	20	07

Les résultats du test d'antibiogramme des isolats de bactéries anaérobies L4, 1, L3(L3,1), L1 ,2”(L1 ,1), L2,1 L4,2'(L4,2) isolés des biopsies gastriques sont mentionnés dans le tableau. 13.

Tableau 13 : Résultat de l'antibiogramme des bactéries anaérobies. Cas de Gastrite.

Disques Isolats Aérobies	CTX(mm)	FOX(mm)	AM(mm)	AMC(mm)	CN(mm)	K(mm)	NA(mm)
L4, 1	20	17	14	24	25	12	12
L3=L3,1	07	13	07	07	07	06	12
L1 ,2 “= L1 ,1	07	06	07	06	06	06	08
L2,1	26	12	07	07	27	25	22
L4,2'=L4,2	07	25	07	08	07	07	35

La souche L4, 1 est sensible à l'ensemble des antibiotiques testés avec un maximum de diamètre d'inhibition de 25mm, et un minimum de 12mm (Fig. 60), alors que la souche L3 (L3,1) est résistante à la majorité des antibiotiques testés avec un diamètre d'inhibition compris entre 06 et 07 mm, mais elle est légèrement sensible à la Céfoxitine (FOX) (13mm) et l'Acide nalidixique (NA) (12mm).

On note également que la souche L1,2“(L1,1) a présenté une résistance à l’ensemble des antibiotiques testés avec un diamètre d’inhibition compris entre 06 et 08 mm. En revanche, la souche L2,1 s’est révélée sensible à la Céfotaxime (CTX)(26mm), Céfoxitine (FOX) (12mm), Gentamycine (CN) (27mm), Kanamycine (K) (25mm) , et Acide nalidixique (NA) (22mm), mais s’est montrée résistante à l’Ampicilline (AM) et l’Amoxicilline - Acide clavulanique (AMC) , présentant des diamètres d’inhibition respectifs de 06 et 07 mm .

Enfin, la souche L4, 2’(L4,2) a été sensible uniquement à la Céfoxitine (FOX) (25mm) et Acide nalidixique (NA) (35mm), mais a présenté une résistance vis-à-vis la Céfotaxime (CTX) , l’Ampicilline (AM), l’Amoxicilline - Acide clavulanique (AMC), la Gentamycine (CN) et la Kanamycine (K) avec un diamètre d’inhibition de l’ordre de 07 mm.

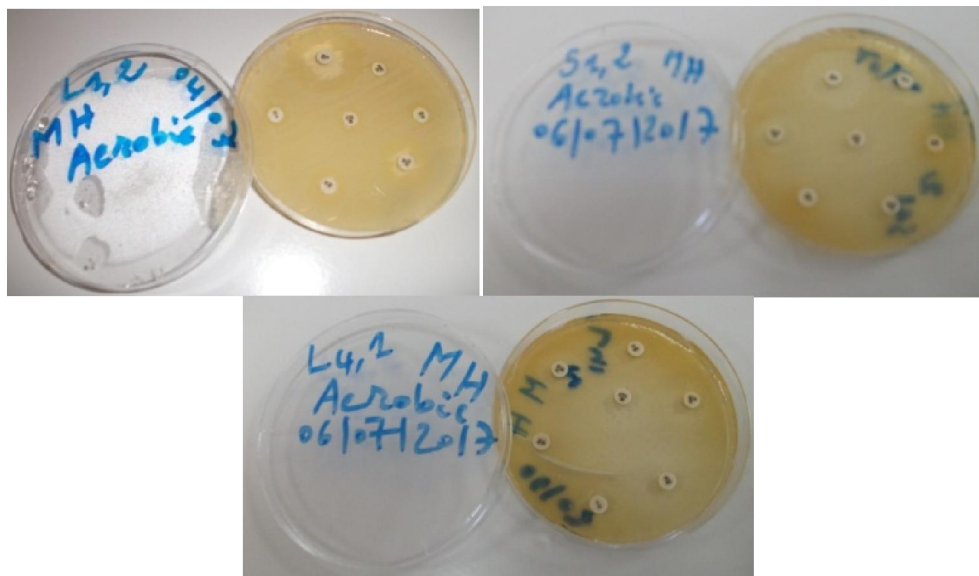


Figure 59: Antibiogramme des isolats aérobies sur milieu Muller Hinton. Cas de Gastrite.

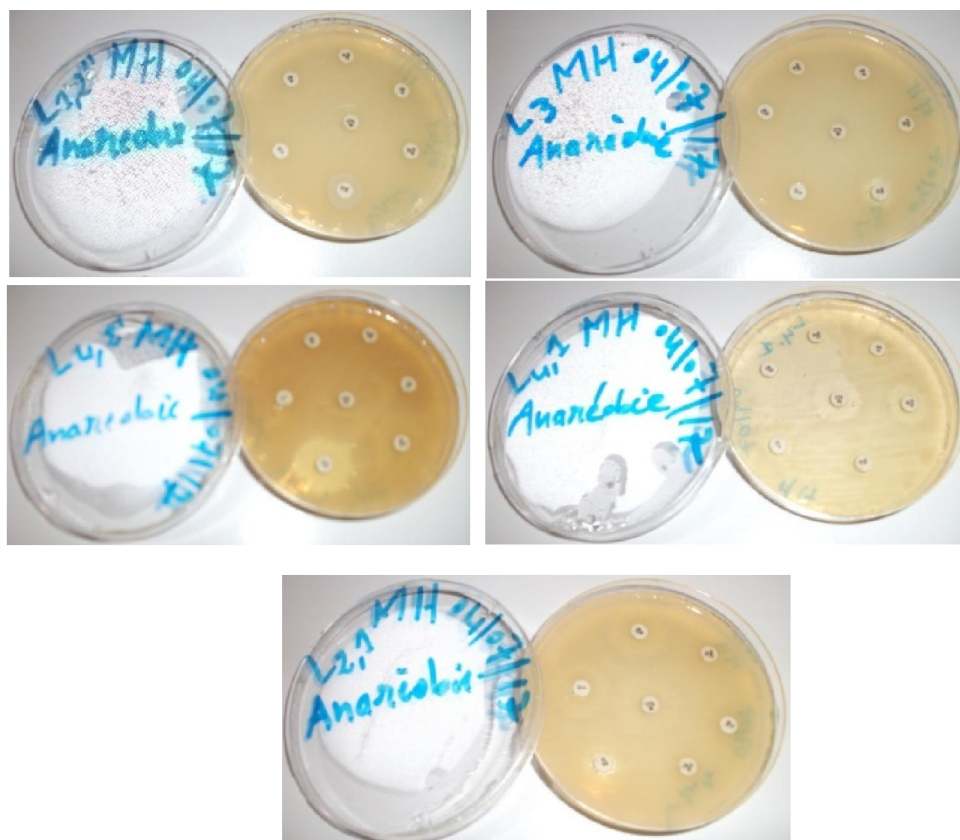


Figure 60 : Antibiogramme des isolats anaérobies sur milieu Muller Hinton. Cas de Gastrite.

Le tableau 14, résume les résultats du test d'antibiogramme des isolats de bactéries anaérobies, C, B, K, D, D.d isolés des biopsies intestinales (Fig. 61). Il a été observé dans ce tableau que la majorité des isolats soumis à l'étude à la sensibilité aux antibiotiques habituellement utilisées dans le choix thérapeutique par la technique de diffusion de disque, a montré l'excellente activité inhibitrice de la majorité des antibiotiques utilisés vis-à-vis des ces bactéries. Néanmoins, la bactérie D.d présente une résistance par rapport à la majorité des disques.

L'isolat C, a présenté une résistance à Ticarcilline-Acide Clavulanique(TIM) (07mm), Ampicilline (AM) (06mm) et la Céfotaxime(CTX) (06mm). En parallèle, est révélée sensible à l'Amoxicilline - Acide clavulanique (AMC)(11mm), Céfoxitine FOX(13mm), Vancomycine(VA)(43mm), Ticarcilline(TIC)(36mm), Imipinem(IMP)(32 mm),et Pipèracilin (PRL)(13mm).

L'isolat B, a présenté une sensibilité à l'ensemble des antibiotiques testés avec un diamètre d'inhibition compris entre 11 et 37 mm. En revanche, cette bactérie s'est révélée résistante à TIM et l'Ampicilline (AM) déterminant un diamètre de 06mm.

L'isolat D, a présenté une résistance à CTX (08mm), Ampicilline (AM)(06mm). En parallèle, est révélée sensible à la majorité des disques d'antibiotiques donnant un diamètre d'inhibition, de l'Amoxicilline - Acide clavulanique (AMC)(10mm), de 12mm pour Ticarcilline-Acide Clavulanique (TIM), Céfoxitine FOX(14mm), VA(25mm), Ticarcilline(TIC)(30mm), Imipinem IMP(26mm), et Pipèracilin (PRL)(17mm).

L'isolat D.d, a présenté une sensibilité uniquement pour Céfotaxime(CTX), et Céfoxitine FOX, avec des diamètres d'inhibition respectifs de 26 et 27 mm. En revanche, cette bactérie s'est révélée résistante à tous les autres disques d'antibiotiques donnant un diamètre d'inhibition, tantôt 06mm et tantôt 07mm.

Tableau 14 : Résultat de l'antibiogramme des bactéries anaérobies. Cas de Crohn et RCH.

Disques Isolats	TIM (mm) 85	CTX (mm) 30	AMC (mm) 30	FOX (mm) 30	AM (mm) 10	VA (mm) 30	TIC (mm) 75	IMP (mm) 10	PRL (mm) 100
C(RCH)	07	06	11	13	06	43	36	32	13
B(RCH)	06	12	11	14	06	26	37	25	12
D(Crohn)	12	08	10	14	06	25	30	26	17
D.d(Crohn)	06	26	06	27	06	06	07	07	07

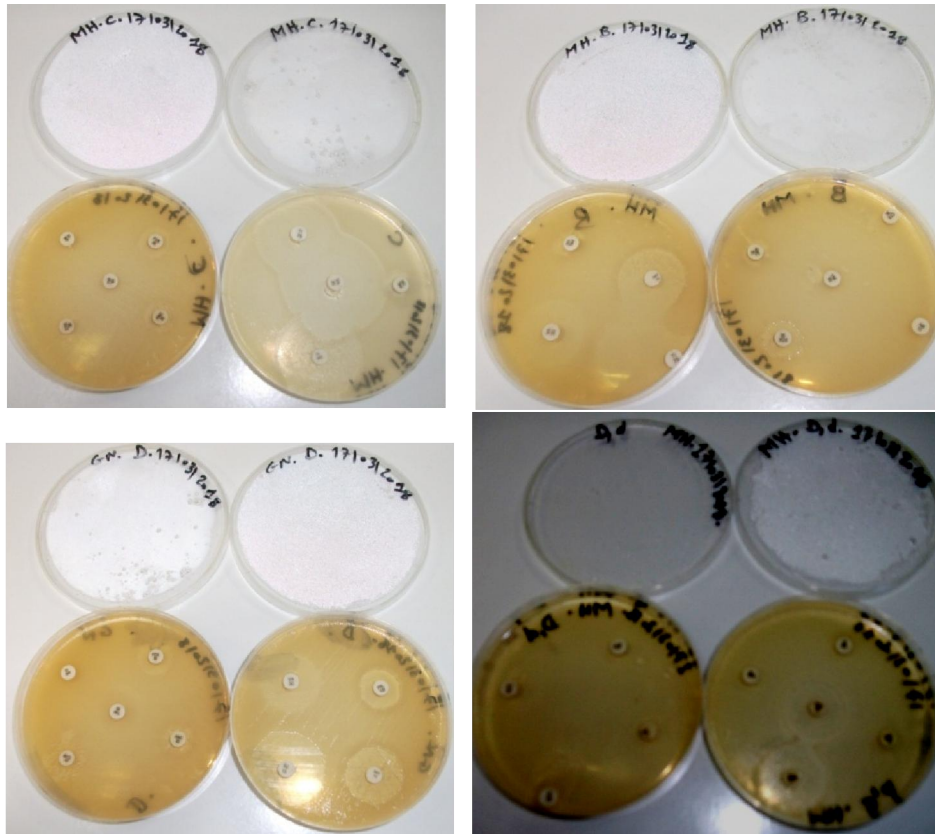


Figure 61 : Antibiogramme des bactéries anaérobies sur milieu Muller Hinton. Cas de Crohn et RCH.

Le tableau 15, résume les résultats du test d'antibiogramme des isolats de bactéries aérobies, I.6, I.9, isolés des biopsies intestinales (Fig. 62).

L'isolat I.6, a présenté une résistance uniquement à Ticarcilline-Acide Clavulanique (TIM)(06mm). En revanche est révélée sensible à la majorité des disques d'antibiotiques donnant un diamètre d'inhibition, de 11mm pour l'Amoxicilline - Acide clavulanique(AMC), de 12mm pour Céfoxitine(FOX), 30mm pour Gentamycine(CN), et 12mm pour Céfotaxime (CTX).

L'isolat I.9, a présenté une résistance à l'Amoxicilline - Acide clavulanique AMC(06mm), et Ticarcilline-Acide Clavulanique(TIM)(06mm). Néanmoins, est révélée sensible à la majorité des disques d'antibiotiques donnant des diamètres d'inhibition respectifs, Céfoxitine FOX(16mm), Gentamycine CN(26mm), CéfotaximeCTX(23mm).

Tableau 15 : Résultat du test d'antibiogramme des bactéries aérobies. Cas de Crohn et RCH.

Disques	AMC (mm)	FOX (mm)	CN (mm)	CTX (mm)	TIM (mm)
Isolats	30	30	10	30	85
I.6(RCH)	11	16	30	12	06
I.9(RCH)	06	16	26	23	06

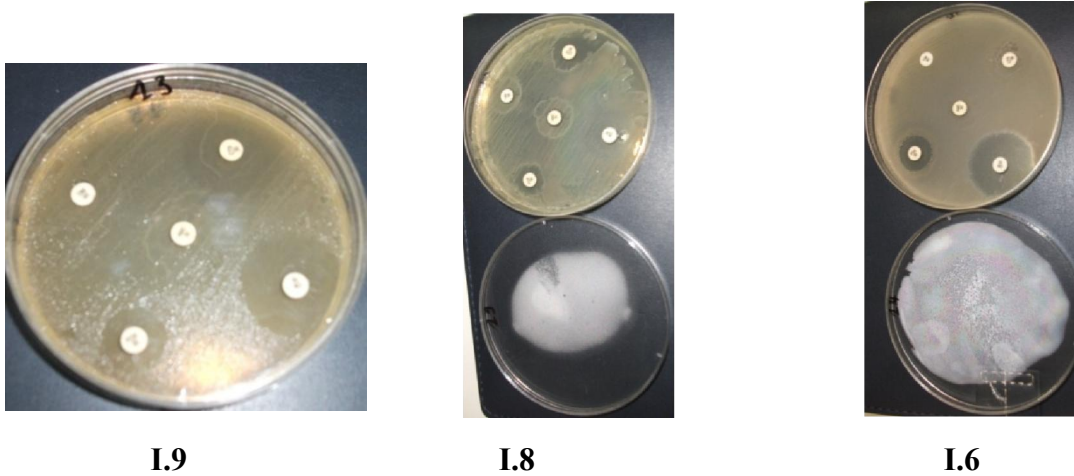


Figure 62 : Antibiogramme des bactéries aérobies sur milieu Muller Hinton. **Cas de Crohn et RCH.**

5. Effets inhibiteurs des bactéries lactiques

L'intérêt de ce test est la mise en évidence d'éventuel antagonisme, existant entre les bactéries lactiques (lactobacilles : LAA, B116 , LV21 LV22) vis à vis des isolats bactériens, aérobies et anaérobies cohabitant dans l'écosystème gastrique humain.

Le tableau 16, résume les résultats de l'effet antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des isolats aérobies isolées des biopsies gastriques. L'examen des résultats obtenus, a montré que l'isolat L1, 2 est légèrement sensible à l'ensemble des bactéries lactiques testées présentant ainsi un diamètre d'inhibition compris entre 08 et 12 mm (Fig. 63), alors que l'isolat L4, 1 est sensible à toutes les bactéries lactiques soit un diamètre d'inhibition compris entre 11 et 14 mm. Tandis que l'isolat S1, 2 s'est

montré sensible à LV22 (11 mm), LAA (13 mm), mais résistant à B116 (06mm) et LV21(07mm).

Tableau 16 : Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries aérobies. Cas de Gastrite.

Lactobacilles Bactéries Aérobies	B116 mm	LV21 mm	LV22 mm	LAA mm
L1,	10	12	08	11
L4, 1	11	12	12	14
S1, 2	06	07	11	13

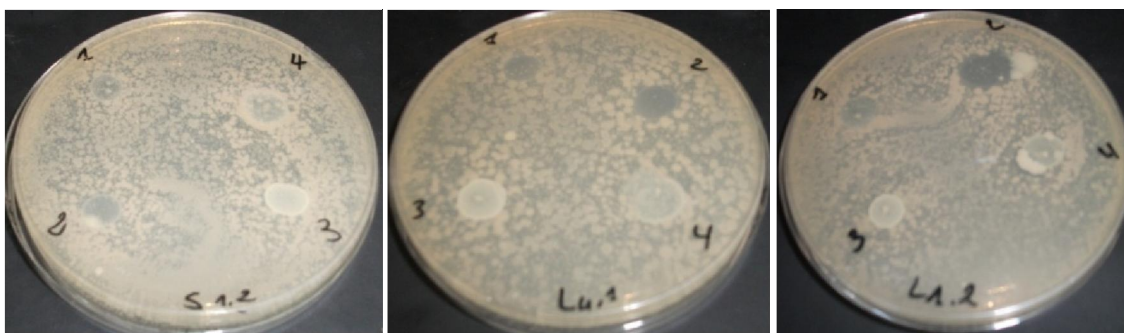


Figure 63: Effet inhibiteur des lactobacilles sur les bactéries aérobies gastriques.

- Souches anaérobies

Le tableau 17, interprète les résultats de l'effet antagoniste des bactéries lactiques sur les bactéries anaérobies (Fig. 64).

L1,2 “= L1,1 est résistante à B116 (08mm), légèrement sensible à LV21(09mm), mais elle sensible à LV22(13mm) et LAA(14mm).

L3 est légèrement sensible à B116 (09mm), résistante à LV21 (08mm), mais elle sensible à LV22 (10mm) et LAA (17mm).

L2, 1 est légèrement sensible à B116 (09mm), sensible à LV21 (10mm), à LV22 (11mm) et LAA (13mm). L'isolat L4,1 est sensible à B116(09mm), à LV21(10mm), à LV22(10mm) et LAA(10mm). La bactérie L4, 2' est sensible à B116 (16mm), sensible à LV21 (10mm), à LV22 (09mm) et LAA (10mm).

Tableau 17 : Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries anaérobies. Cas de Gastrite.

Lactobacilles Bactéries anaérobies	B116 mm	LV21 mm	LV22 mm	LAA mm
L1 ,2“(L1 ,1)	08	09	13	14
L3= L3, 1	09	08	10	17
L2, 1	09	10	11	13
L4, 1	09	10	10	10
L4, 2’(L4, 2)	16	10	09	10

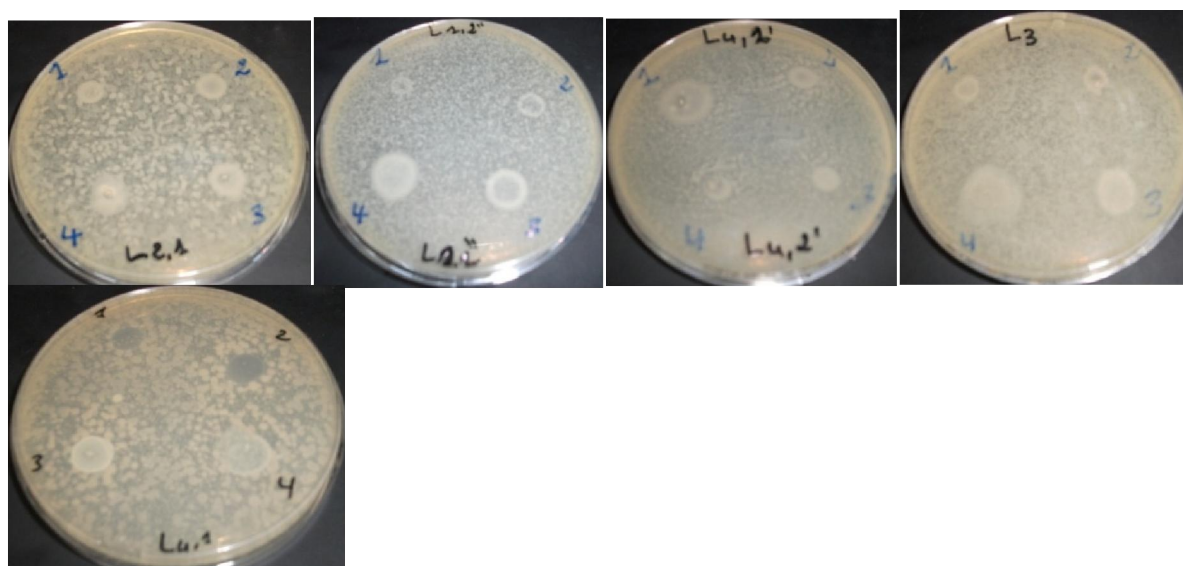


Figure 64 : Effet inhibiteur des lactobacilles sur les bactéries anaérobies gastriques.

Dans ce volet, l'intérêt de ce test est la mise en évidence d'éventuel antagonisme, existant entre les bactéries lactiques (*Lactobacilles* : LAA, B116 , LV21 LV22) vis à vis des isolats bactériens, aérobies et anaérobies isolés des biopsies intestinales des malades atteint de la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique.

Le tableau 18, résume les résultats de l'effet antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des souches aérobies. L'examen des résultats obtenus, montre que l'isolat

I.6(RCH) est légèrement sensible à B116 et LV21, et sensible à LV22 et LAA des bactéries lactiques testées présentant respectivement un diamètre d'inhibition de 08, 09 mm, 10mm et 12mm. En revanche l'isolat I.9 est sensible à toutes les bactéries lactiques soit un diamètre d'inhibition compris entre 09 et 14 mm (Fig. 65).

Tableau 18 : Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries aérobies. Cas de Crohn et RCH.

Lactobacilles \ Isolats	B116 mm	LV21 mm	LV22 mm	LAA mm
I.6(RCH)	08	09	10	12
I.9(RCH)	14	11	09	09

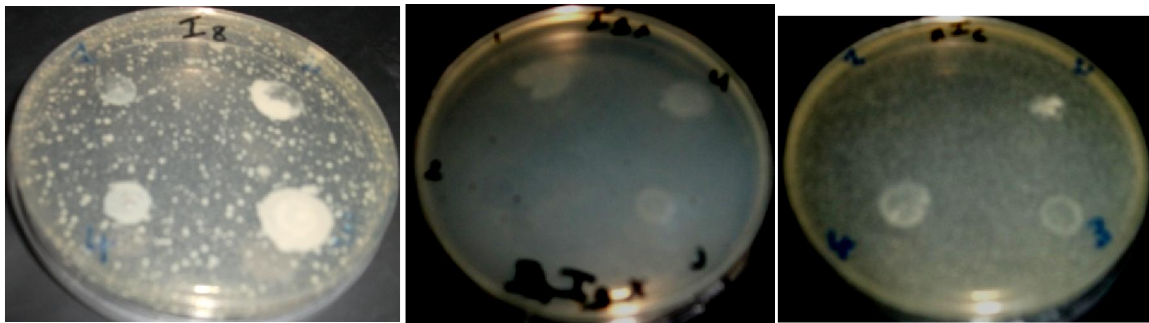


Figure 65 : Effet inhibiteur des lactobacilles sur les isolats aérobies. Cas de Crohn et RCH.

Le tableau 19, résume les résultats de l'effet antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis des souches anaérobies isolés des biopsies intestinales des malades atteints de la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique.

L'observation des résultats obtenus a révélé que l'isolat C(RCH) est résistant uniquement à LV22(07mm), mais il est sensible à l'B116(10mm), LV21(12mm) et LAA(11mm). En revanche l'isolat B(RCH) est sensible à toutes les bactéries lactiques soit un diamètre d'inhibition maximal à 13 mm et minimal à 10mm. Parallèlement, l'isolat D (Crohn) est résistant présentant ainsi les diamètres d'inhibition à 08 mm pour B116 et LV22, faiblement sensible à LV21(09mm), et sensible à LAA (15 mm). Il a été constaté que l'isolat D.d (Crohn), est résistant à B116 et LV21 avec un diamètre respectif de 06mm et 08mm, néanmoins il présente une sensibilité moyenne

vis-à-vis des Lactobacillus LV22 et LAA ayant les deux un diamètre d'inhibition commun évalué à 10mm. (Fig. 66).

Tableau 19 : Résultat de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries anaérobies. Cas de Crohn et RCH.

Lactobacillus Isolats	B116 mm	LV21 Mm	LV22 mm	LAA mm
C(RCH)	10	12	07	11
B(RCH)	10	10	10	13
D(Crohn)	08	09	08	11
D.d(Crohn)	06	08	10	10

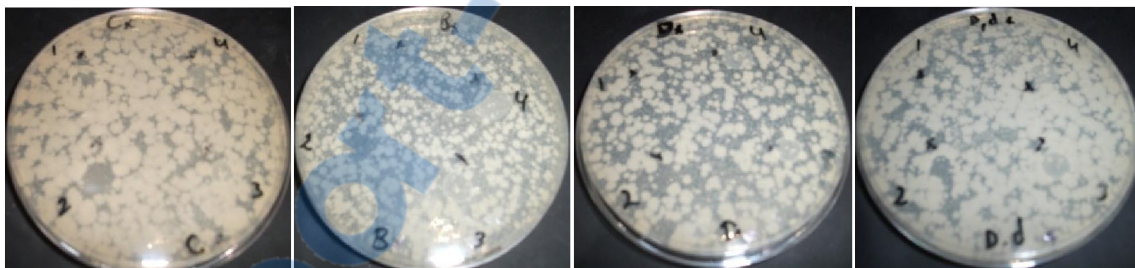


Figure 66 : Effet inhibiteur des lactobacilles sur les isolats anaérobies. Cas de Crohn et RCH.

6. Critères d'identification


L'identification du germe s'effectue à partir des résultats obtenus, de l'aspect macroscopique de la colonie de la bactérie, de la coloration de gram, les caractères biochimiques et le phénotype de résistance aux antibiotiques, les autres caractères biochimiques étant généralement étudiés à partir de galerie API. Les isolats présentant un diagnostic différentiel avec les autres bactéries, ont été soumis à l'examen de la PCR.

Souches anaérobies

- L'isolat L3= L3, 1

L'ensemble des résultats de l'isolat L3(L3, 1), regroupées dans le tableau 20, nous oriente vers le genre *Staphylococcus*. Parallèlement à cet aspect phénotypique, la coloration jaune en milieu Chapman, et la positivité du test de coagulase adoptent la souche *Staphylococcus aureus* pour cet isolat.


Tableau 20 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat, L3= L3, 1. Cas de Gastrite.

critères Isolat Anaérobie	Gram	mobilité	Catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Culture chapman	coagulase	Type respiratoire	sucres
L3= L3, 1 	Cocci gram +	Immobilie	+	-	+	+	+	+	+	Aéro anaérobie facultatif	Lactose positif Gaz négative

- L'isolat L4, 2'= L4, 2.

Il a été constaté dans le tableau 21, que les résultats obtenus représentent les caractères phénotypique des *lactobacilles*.

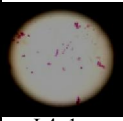
Tableau 21 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L4, 2'= L4, 2. Cas de Gastrite.

critères Isolat Aérobie	Gram	Mobilité	Catalase	Oxydase	Urée	Indole	Mannitol	Culture Chapman	Coagulase	Type respiratoire	Sucres
L4, 2'= L4, 2 	Bacille gram +	Immobilie	+	-	+	+	+	-	-	Aéro anaérobie facultatif	Lactose positif Gaz négative

- L'isolat L4,1

Les résultats figurant dans le tableau 22, regroupant les caractères phénotypiques de l'isolat L4 (cocci Gram positif), orientent vers le genre *Streptococcus*.


Tableau 22 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L4, 1. Cas de Gastrite.

critères	Gram	mobilité	catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Culture chapman	coagulase	Type respiratoire	sucres
Isolat Aérobie											
 L4, 1	Cocci gram +	Immobile	+	-	-	+	-	-	-	Aéro anaérobie facultatif	Lactose négative Gaz négative

- L'isolat L2,1

L'ensemble des résultats qui ont été constaté sur le tableau 23, nous a orienté vers une pré identification de l'isolat L2,1 comme étant *Helicobacter pylori*.

Tableau 23 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L2, 1. Cas de Gastrite.

critères	Gram	mobilité	catalase	Oxydase	Urée	indole	mannitol	Type respiratoire	AUTRES
Isolat aérobie									
L2, 1 	gram -	mobile	+	+	+	+	+	Micoaérobie	Lactose (-) Saccharose (-) H2S(+) Gaz (-) Nitrate(+)

Parallèlement aux résultats du tableau 23, (tests biochimiques), il a été constaté que le tableau. 24 regroupe les caractères phénotypiques de l'isolat L2, 1, en faveur d'*Helicobacter pylori*, en se référant respectivement, à l'examen

anatomopathologique, cytologique du fragment biopsique à l'état frais, et à l'étude microscopique de la bactérie.

Tableau 24 : Résultat de l'identification de *Helicobacter pylori*. Cas de Gastrite.


critères Isolat	Observation au microscope optique (x 1000) ASPECT			mobilité	catalase	oxydase	Urée	Type respiratoire
	Anatomopathologie	Etat frais	Isolat					
L2, 1	V Virgule(,) Figure :22	V S Incurvée Virgule(,) figure :26	V S Incurvée Virgule(,) figure :32	mobile	positive	positive	+	microaérobie

Souches aérobies

- L'isolat S1,2

L'ensemble des résultats, regroupés dans le tableau 25, parallèlement à ceux obtenus par la galerie api20E ont permis d'identifier l'isolat S1,2 comme *Proteus mirabilis* avec une clé d'identification ATCC 7323000.

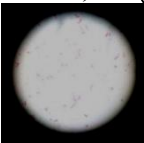
Tableau 25: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat S1,2. Cas de Gastrite.

critères Isolat Aérobic	Gram	mobilité	catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Culture chapman	coagulase	Type respiratoire	sucre
S1,2 	Cocobcilles Gram-	mobile	+	-	+	+	+	-	+ -	Aéro anaérobie facultatif	Lactose - saccharose - H2S - Gaz - Nitrate -

-L'isolat L1,2

Les résultats figurant dans le tableau 26, orientent l'isolat **L1, 2** aérobie à bacille gram positif (+) plus ou moins long vers le genre *Bacillus*.

Tableau 26: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L1,2. Cas de Gastrite.

critères	Gram	mobilité	catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Culture chapman	coagulase	Type respiratoire	sucres
Isolat Aérobie L1,2 	Bacille gram-	immobile	+	-	-	+	+	-	-	anaérobie	Lactose - saccharose(-) H2S(+) Gaz négative Nitrate -

Les résultats de La PCR de l'isolat aérobie L1, 2 l'identifie comme étant *Bacillus cereus*. Complete génome Séquence ID: NC_004722.1Length: 5411809Number of Matches: 13:

Related Information

Genome-Genomic Sequence

Range 1: 9708 to 10645GenBankGraphics Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1472 bits(797)	0.0	894/941(95%)	5/941(0%)	Plus/Minus
Query 4		GGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAA 63		
Sbjct 10645		GGTTACCCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAA 10586		
Query 64		GGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGGCTTCA 123		
Sbjct 10585		GGCCCGGAACGTATTACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCA 10526		

Query	124	TGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGACTTTATCGGATTAGCTCCCTC	183
Sbjct	10525	TGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAACGAGTTTATGAGATTAGCTCCACC	10466
Query	184	TCGCGAGT-TGGCAACCGTTTGTATCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAA	242
Sbjct	10465	TCGCG-GTCTTGCAGCTCTTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAA	10407
Query	243	GGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCACCTT	302
Sbjct	10406	GGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCACCTT	10347
Query	303	AGAGTGCCCAACTAAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA	362
Sbjct	10346	AGAGTGCCCAACTTAATGATGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA	10287
Query	363	CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACCGTTGCCCCCG	422
Sbjct	10286	CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACCTC-TGCTCCCG	10228
Query	423	AAGGGGAAACTATATCTCTACAGTGGTCAACGGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCG	482
Sbjct	10227	AAGGAGAAGCCCTATCTCTAGGGTTTTTCAGA-GGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCG	10169
Query	483	CGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTG	542
Sbjct	10168	CGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTG	10109
Query	543	AGTTTCAGTCTTGCAGCCGACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACT	602
Sbjct	10108	AGTTTCAGCCTTGCAGCCGACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAACTTCAGCACT	10049
Query	603	AAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTA	662
Sbjct	10048	AAAGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTA	9989
Query	663	TCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTC	722
Sbjct	9988	TCTAATCCTGTTTGTCTCCCCACGCTTTCGCGCCTCAGTGTCAGTTACAGACCAGAAAGTC	9929
Query	723	GCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCAAATCTCTACGCATTTACCGCTTACACTTGAATTCC	782

```

|||||
Sbjct  9928  GCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCATATCTCTACGCATTTACCGCTACACATGGAATTCC  9869

Query  783   ACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTG  842
|||||
Sbjct  9868  ACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTCTCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGAGCCGTG  9809

Query  843   GGCTTTCACATCAGACTTAAAGGACCGCCTGCGCGCGCTTTACGCCAATAAATCCGGAC  902
|||||
Sbjct  9808  GGCTTTCACATCAGACTTAAAGAAACCACCTGCGCGCGCTTTACGCCAATAAATCCGGAT  9749

Query  903   AA-GCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA  942
||
Sbjct  9748  AACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTA  9708

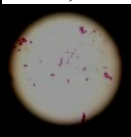
```

Les résultats obtenus, par le biais des critères d'identification renforcé par la PCR ont adopté le phénotype et le génotype de l'isolat L1,2 aérobic comme étant *Bacillus cereus*.

- L'isolat L4, 1

Les résultats figurant dans le tableau 27, oriente l'isolat L4,1 cocci Gram positif vers le genre *Streptococcus*.

Tableau 27: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat L4, 1. Cas de Gastrite.

critères	Gram	mobilité	catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Culture chapman	coagulase	Type respiratoire	sucres
Isolat Aérobic											
L4, 1 	Cocci gram +	Immobile	+	-	-	+	+	-	+ -	Aéro anaérobie facultatif	Lactose - Gaz -

La PCR a identifié l'isolat L4, 1 comme étant *Streptococcus entericus*, DSM 14446. A3GWDRAFT_scaffold_30.31, whole genome shotgun sequence.

Sequence ID: NZ_KB904179.1Length: 3636Number of Matches: 1

Related Information

Range 1: 3282 to 3454 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match.

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
292 bits(158)	2e-76	169/174(97%)	2/174(1%)	Plus/Plus

```

Query 8 CACCTTCGGCGGCTGGCTCCAAA-GGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCG
66
Sbjct 3282 CACCTTAGGCGGCTGGCTCCAAACGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCG
3341

Query 67 TGGTGTGACGGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCC
126
Sbjct 3342 TGGTGTGAC-GGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCC
3400

Query 127 GCGATTACTAGCGATTCCGGCTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAA 180
Sbjct 3401 GCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAATCCGAA 3454

```

Les résultats obtenus, par le biais des critères d'identification renforcé par la PCR ont adopté le phénotype et le génotype de l'isolat L4, 1 aérobie et anaérobie comme étant *Streptococcus entericus*.

L'isolat I.6

L'ensemble des résultats, regroupés dans le tableau 28, associés à ceux obtenus par la galerie API 20 E ATCC 3727573, et ceux confirmés par la PCR, ont permis d'adopter l'identification phénotypique et génotypique de l'isolat I.6 comme étant *Enterobacter cloacae*.MS2 16S ribosomal RNA gène, partial séquence ID: HQ179578.1Length: 1426Number of Matches:

Range 1: 436 to 1421 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1821 bits(986)	0.0	986/986(100%)	0/986(0%)	Plus/Minus
Query 3	TGGTAGCGCCCTCCCGAAGGTTAAGCTACCTACTTCTTTTGCAACCCACTCCCATGGTGT		62	
Sbjct 1421	TGGTAGCGCCCTCCCGAAGGTTAAGCTACCTACTTCTTTTGCAACCCACTCCCATGGTGT		1362	
Query 63	GACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTA		122	
Sbjct 1361	GACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTA		1302	
Query 123	CTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTT		182	
Sbjct 1301	CTAGCGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTTGCAGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTT		1242	
Query 183	TATGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTG		242	
Sbjct 1241	TATGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTTCTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTG		1182	
Query 243	TGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCAGTTTA		302	
Sbjct 1181	TGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCAGTTTA		1122	
Query 303	TCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGCCTAACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGC		362	
Sbjct 1121	TCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGCCTAACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGC		1062	
Query 363	GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCAC		422	
Sbjct 1061	GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTACACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCAC		1002	
Query 423	CTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGATGTCAAGAG		482	
Sbjct 1001	CTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACCAAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGATGTCAAGAG		942	
Query 483	TAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCC		542	
Sbjct 941	TAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCC		882	

```

Query 543   CCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGC GGCCGTACTCCCCAGGCGGTCGACTTAACG   602
           |||
Sbjct 881   CCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGC GGCCGTACTCCCCAGGCGGTCGACTTAACG   822

Query 603   CGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCG   662
           |||
Sbjct 821   CGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCG   762

Query 663   TGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTC   722
           |||
Sbjct 761   TGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTC   702

Query 723   TTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCCGC   782
           |||
Sbjct 701   TTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCGGTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCCGC   642

Query 783   TACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTC   842
           |||
Sbjct 641   TACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACAAGACTCTAGCCTGCCAGTTTCGAATGCAGTTC   582

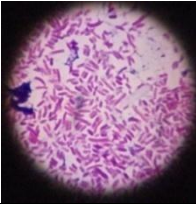
Query 843   CCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACATCCGACTTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGC   902
           |||
Sbjct 581   CCAGGTTGAGCCCGGGGATTTACATCCGACTTGACAGACCGCCTGCGTGCGCTTTACGC   522

Query 903   CCAGTAATTCCGATTAACGCTTGACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTA   962
           |||
Sbjct 521   CCAGTAATTCCGATTAACGCTTGACCCTCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGTTA   462

Query 963   GCCGGTGCTTCTTCTGCGGGTAACGT   988
           |||
Sbjct 461   GCCGGTGCTTCTTCTGCGGGTAACGT   436

```

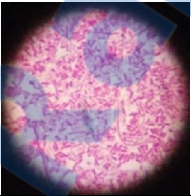
Tableau 28: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat I.6. Cas de Crohn et RCH.

critères \ Isolat	Gram	mobilité	catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Type respiratoire	Sucres
I.6 	Petits bacilles Gram-	immobile	+	-	-	+	+	Aérobie	Lactose + saccharose + Glucose - H2S + Gaz +

L'isolat I.9

L'ensemble des résultats, regroupés dans le tableau 29, parallèlement à ceux obtenus par la galerie api 20E ATCC 3327573 ont permis d'identifier phénotypiquement l'isolat I.9 comme *Enterobacter cloacae*.

Tableau 29: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat I.9. Cas de Crohn. et RCH.

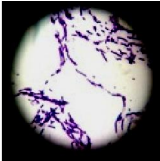
critères \ Isolat	Gram	mobilité	catalase	oxydase	Urée	indole	manitol	Type respiratoire	Sucres
I.9 	Petits bacilles Gram-	immobile	+	-	-	+	+	Aérobie	Lactose + saccharose + Glucose + H2S - Gaz +

L'isolat D(Crohn)

Les résultats obtenus, par le biais des critères d'identification (Tableau 30) renforcé par la PCR ont adopté le phénotype et le génotype de l'isolat D aéroanaérobie facultatif comme étant *Bacillus subtilis* strain SA 91 16S ribosomal RNA gène, partial séquence ID: KY194727.1 Length: 1435Number of Matches: 1

Related Information

Tableau 30 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat D. Cas de Crohn. RCH.

critères Isolat	Coloration de Gram	catalase	Oxydase	Urée	indole	manitol	mobilité	Type respiratoire
D 	-Bacille gram + -Groupée en chaînette	+	+	-	+	+	+ ou - mobile	Aéro anaérobie facultatif

Range 1: 443 to 1426 [GenBankGraphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Alignment statistics for match #1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1818 bits(984)	0.0	984/984(100%)	0/984(0%)	Plus/Minus
Query 1	TCACTTCGGCGGCTGGCTCCTAAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTC	60		
Sbjct 1426	TCACTTCGGCGGCTGGCTCCTAAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTC	1367		
Query 61	GTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTCACCGGGCATGCTGATCC	120		
Sbjct 1366	GTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTCACCGGGCATGCTGATCC	1307		
Query 121	GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGA	180		
Sbjct 1306	GCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGA	1247		
Query 181	ACAGATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTA	240		

Sbjct	1246	ACAGATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTA	1187
Query	241	GCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTC	300
Sbjct	1186	GCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTC	1127
Query	301	CGGTTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAG	360
Sbjct	1126	CGGTTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAG	1067
Query	361	GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG	420
Sbjct	1066	GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG	1007
Query	421	CACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGT	480
Sbjct	1006	CACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGT	947
Query	481	CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTG	540
Sbjct	946	CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTG	887
Query	541	CGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGC	600
Sbjct	886	CGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGC	827
Query	601	TTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTT	660
Sbjct	826	TTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTT	767
Query	661	TACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGC	720
Sbjct	766	TACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGC	707
Query	721	GTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCCACATCTCTACGCATT	780
Sbjct	706	GTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTCCACATCTCTACGCATT	647
Query	781	TCACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCTCTTCTGCACTCAAGTCCCCAGTTTCCAAT	840
Sbjct	646	TCACCGCTACACGTGGAATTCCACTCTCTCTTCTGCACTCAAGTCCCCAGTTTCCAAT	587
Query	841	GACCCTCCCCGTTGAGCCGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCTGCGAGCCC	900

```

|||||
Sbjct  586  GACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAGAAACCGCCTGCGAGCCC  527

Query   901  TTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC  960
|||||
Sbjct  526  TTTACGCCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC  467

Query   961  GTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTT  984
|||||
Sbjct  466  GTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTT  443

```

Recherche du genre *Clostridium*

La culture à partir des deux premières dilutions dans le milieu Viande foie (VF) nous a orienté vers une pré identification phénotypique du *Clostridium*. Ceux-ci nous a ramené à isoler deux isolats D.d et B correspondant au genre *Clostridium* dans chacun des deux pathologies respectivement la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique (RCH) (Fig.38).



I

Isolat : B(RCH).



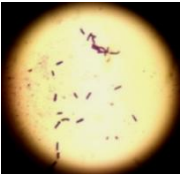
Isolat : D.d(Crohn).

Figure 67 : Culture en milieu VF.

Isolat B (RCH).

Les résultats obtenus, par le biais du critère d'identification du genre *Clostridium* issu de la culture, associés à ceux qui figurent dans le tableau 31, nous ont orienté vers une identification phénotypique de l'isolat B bacille gram négatif et à catalase négative comme étant *Clostridium difficile*.

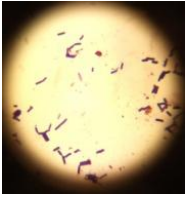
Tableau 31 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat B. Cas de Crohn et RCH.

critères Isolat	Coloration de Gram	catalase	Oxydase	Urée	indole	manitol	Mobilité	Type respiratoire
<p>B</p> 	<p>-Bacille gram + - Bacille épais - Extrémité légèrement renflée.</p>	-	-	-	+	+	+ ou – mobile	Anaérobie strict

L'isolat D.d (Crohn)

Il en est de même pour l'isolat D.d, Les résultats ainsi obtenus, par le biais du critère d'identification du genre *Clostridium* issu de la culture associés à ceux qui figurent dans le tableau 32, nous ont orienté vers une identification phénotypique de l'isolat D.d, bacille gram négatif et à catalase négative comme étant *Clostridium difficile*.


Tableau 32 : Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat D.d. Cas de Crohn et RCH.

critères Isolat	Coloration de Gram	Catalase	Oxydase	Urée	Indole	Manitol	Mobilité	Type respiratoire
D.d 	- Bacille gram + - Bacille épais - Extrémité légèrement renflée. - Spore subterminale	-	-	-	+	+	+ ou - mobile	Anaérobie strict

L'isolat C (RCH)

Il a été constaté dans le tableau 33, que les résultats obtenus pour l'isolat C à bacille gram positif et à catalase positive, nous orientent vers une identification phénotypique genre et espèce comme étant *Bacillus subtilis*.

Tableau 33: Résultat résumant les critères d'identification pour l'isolat C. Cas de Crohn et RCH.

critères Isolat	Coloration de Gram	catalase	Oxydase	Urée	indole	manitol	Mobilité	Type respiratoire
C 	-Bacille gram + -Groupée en chaînette - Présence de spores terminales	+	+	-	+	+	+ ou - mobile	Aéro anaérobie facultatif

Discussion

La réalisation des biopsies gastriques et intestinales lors de la fibroscopie respectivement haute et basse suivie par des examens cytologiques, histologique, le test à l'uréase-indole, l'identification biochimique et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ont permis de mettre en évidence un certain nombre de souches bactériennes.

Selon Vincent et Leclerc, (1991), les bactéries ingérées au cours des repas ont une survie limitée à l'estomac à l'exception de celles qui traversent rapidement l'estomac ou qui résistent au pH gastrique. La présence bactérienne dans l'estomac par des espèces d'origine aérodigestive telles que *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Bacteroides*, *Bifidobactérie*, et occasionnellement les entérobactéries, les bacilles pyocyaniques et les levures (*Candida*), peuvent être dues à l'hypochloridrie liée à l'âge, au traitement antiscréttoire ou à la chirurgie telles que la vagotomie et la gastrectomie (Savage, 1977; Drasar, 1989; Vincent et Leclerc, 1991).

La niche gastrique présente un milieu fortement acide où l'oxygène est présent, où cohabitent des micro-organismes acido-tolérants et anaérobies facultatifs comme les *streptocoques* et les *lactobacilles* ainsi qu'un microaérophile, *Helicobacter pylori*, mais ils sont peu nombreux allant de 10^1 à 10^3 cfu/ml en raison de l'acidité et de l'activité motrice intestinale qui limite une colonisation stable de l'épithélium gastrique.(Florence, Lamine, 2004). Dans l'intestin grêle, le microbiote est constitué de bactéries anaérobies facultatives tels que les *streptocoques*, les *lactobacilles* et les *Entérobactéries* et d'anaérobies strictes comme les *Bifidobactéries*, les *Bactéroides* et les *Clostridies*. La flore gastrique est relativement pauvre en raison du péristaltisme et de l'abondance des sécrétions. La densité passe de 10^3 à 10^8 cfu/ml du duodénum à l'iléon. Dans le côlon, la flore microbienne est de plus en plus variée et abondante, elle est de l'ordre de 10^{12} cfu/ml, elle est surtout considérée par les bactéries anaérobies strictes telles que les *Bacteroides* évaluées à 10^{11} cfu/g dans les selles, des *Bifidobacterium*, et des *Clostridium*, tandis que les bactéries anaérobies facultatives comme les *Lactobacilles* disparaissent presque totalement (Ann M O'Hara, 2006).

Le microbiote de l'homme se répartit principalement dans la cavité orale et le long du tractus digestif mais c'est dans la partie distale du tube digestif que les bactéries sont en plus grand nombre. Elles sont disposées suivant un gradient oro-anal croissant avec une richesse microbienne maximale dans le côlon distal. Il y aurait en tout 10^{14} bactéries dans le tractus digestif soit 10 à 20 fois le nombre total de cellules de tous les tissus du corps (Antonia Suau, 1999).

Les résultats obtenus suite à l'ensemble des tests et examens effectués, ont identifié l'isolat **L4,1** comme étant *Streptococcus entericus*.

En 1984, de nombreuses bactéries autrefois considérées *Streptococcus* ont été séparées dans les genres *Enterococcus* et *Lactococcus* (Facklam, 2002).

La méthode de génétique moléculaire, notamment le séquençage de l'ARN 16S ont fortement contribué à l'amélioration de la taxonomie du genre *Streptococcus*. L'analyse phylogénétique basée sur l'analyse de l'ARNr 16S a aidé à clarifier l'intragénicité de relations entre les *Streptocoques* (Bentley et al., 1991; Kawamura et al., 1995; Hardie et Whiley, 1997), et a aidé son identification dans l'espèce humaine, (Kawamura et al., 1998; Collins et al., 2000; Schlegel et al., 2000), l'espèce animale (Devriese et al.; 1999, Rurangirwa et al., 2000), et dans les aliments (Tsakalidou et al., 1998; Schlegel et al., 2000).

Les *Streptocoques* peuvent être isolés dans le cadre de la flore normale, du tractus digestif, respiratoires, génito-urinaires, ainsi que celle de la peau de l'homme et des animaux (Kilian, 1998). Certaines espèces sont des pathogènes pouvant entraîner des pathologies telles que, l'endométrite, les infections respiratoires, l'endocardite, la méningite, l'arthrite et la mammite (Chanter, 1997).

Selon les résultats obtenus, l'isolat L3= L3, 1 a été reconnu comme étant *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), se présente sous forme de cocci, Gram positif et catalase positif, parfois regroupés en amas donnant l'aspect d'une grappe de raisin, sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom (George et al., 2005).

Staphylococcus aureus est commensale de l'homme, elle est présente chez 15 à 30 % des individus dits porteurs sains se révèle pathogène opportuniste dans certains emplacements ou dans certaines circonstances. Par ailleurs, *Staphylococcus aureus* possède des pouvoirs pathogènes, notamment un pouvoir invasif, une capacité à se multiplier et à se disséminer dans l'organisme et un pouvoir toxique par capacité d'élaboration d'une toxine qui exerce à la fois des propriétés toxiques et antigéniques chez l'hôte (Joël, et Odile, 2017).

Staphylococcus aureus est retrouvé chez environ 27 % des individus sains au niveau des fosses nasales, dans le tube digestif, et en moindre quantité sur la peau et les autres muqueuses (Leyden et al., 1974).

Selon les critères d'identification retenus, il a été constaté que l'isolat L4, 2'=L4, 2 présente les caractères phénotypiques des *Lactobacilles*. Ce sont des bactéries lactiques gram positif, catalase négative, immobiles, non sporulés, aérotolestants et anaérobies. Les *Lactobacilles* sont considérés parmi la flore dominante du microbiote intestinal et sont présents tout au long du tractus gastro-intestinal en quantités variables. Ils représentent environ 1% des micro-organismes, soit approximativement 10^3 à 10^7 bactéries/g de contenu intestinal (DalBello et al., 2003; Tannock, 2005).

Lactobacillus peut être cultivée à partir de l'estomac et de l'intestin grêle est généralement très faible et que la majorité de ces bactéries transitent probablement à partir de la cavité orale et de la nourriture, par contre, la population de *Lactobacilles* dans les échantillons fécaux est fluctuante. Beaucoup de sujets traversent des périodes durant lesquelles aucun *Lactobacille* n'est détectable (Walter, 2008).

De nombreuses espèces de *Lactobacilles* ont été détectées dans la salive, les principales étant *Lactobacillus fermentum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. salivarius*, *Lb. casei* et *Lb. acidophilus*. Une corrélation forte a été établie entre la quantité de *Lactobacillus* dans la salive et les caries dentaires (Badet, 2008).

Il a été également démontré suite aux résultats des différents tests effectués que l'isolat S1,2 était identifié comme étant *Proteus mirabilis*.

La souche *Proteus mirabilis* est l'hôte habituel de tube digestif de l'homme et des animaux, présente les caractères généraux des *Entérobactéries*, c'est une bactérie aéroanaérobie facultative, fermentant le glucose avec production de gaz, H₂S positif, oxydase négatif, catalase positive, possède une nitrate-réductase positive. (Maryse et Danielle, 2004).

Selon Belas, (1996), les bactéries appartenant à l'espèce *Proteus mirabilis*, ont une morphologie de petits bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur, très flagellé. De plus, *Proteus mirabilis* a la capacité de sécréter un polysaccharide lorsqu'il est en contact avec des surfaces solides, ce qui le rend extrêmement mobiles sur des éléments tels que l'équipement médical. Elle se caractérise par, sa capacité à fermenter le maltose et son incapacité à fermenter le lactose (Liu, 2010). Par ailleurs, *Proteus mirabilis* nécessite un environnement ayant une alcalinité élevée soit un pH supérieur à 7. (Frasca et al., 2008). Néanmoins, il a été constaté dans notre étude, que cette bactérie avait présenté une uréase positive suite au test urée indole, lui permettant de rendre le milieu favorable lui facilitant de s'adapter à l'environnement gastrique à pH acide.

Il a été rapporté que l'uréase est très importante dans la pathogenèse de *Proteus mirabilis*, cette enzyme est composée de trimères en UréA, UréB, UréC (Jones et Mobley, 1998) et un co-enzyme de nickel, qui catalyse la formation de calculs rénaux et de la vessie (Cocker et al., 2000).

Selon Mclean et al., 1988, L'activité uréasique se développe lors d'un contact avec l'urée, l'uréase provoque la décomposition de ce dernier en ammoniac et en dioxyde de carbone. Ainsi, l'ammoniac augmente le pH et provoque la précipitation des minéraux dans l'urine, ce qui peut conduire à des calculs de la vessie et du rein, ainsi que la formation de biofilms cristallins le long d'un cathéter (Jones et Mobley, 1988). En effet, cette modification du pH va permettre à *Proteus mirabilis* l'adhérence bactérienne (Nicholson et al., 1991). Ces caractères biochimiques sont facilement mis en évidence sur les galeries miniaturisées (Maryse et al., 2004).

Par ailleurs, *Proteus mirabilis* secrète l'hémolysine qui est cytotoxique pour les cellules épithéliales des voies urinaires (Misra et al., 1984). Cette l'hémolysine peut induire par sa toxicité un désordre cellulaire et provoquer un état inflammatoire au niveau de la muqueuse gastrique grâce à son pouvoir d'adaptation et à sa capacité de sécréter de l'enzyme uréase.

Concernant l'isolat L1, 2, aérobic, les résultats obtenus sont en faveur de la l'espèce *Bacillus cereus*.

Les souches de *Bacillus cereus* sont des bacilles Gram positif de 1,4 µm, habituellement observés en paires ou en chaînettes courtes (Logan et al., 2006), anaérobies facultatifs, mobiles et capables de former des endospores, leurs colonies sont blanches, d'aspect granuleux, mesurant entre 2 et 7 mm de diamètre (Ray, 2004). Leur croissance est observée à des températures se situant entre 10-20 °C et 35-45 °C, la température optimale étant d'environ 37 °C (Murray, 2007). Le bacille peut produire six types de toxines, à savoir cinq entérotoxines et une toxine émétique, pouvant être thermostables ou thermolabiles selon les souches (From et al., 2005).

Par ailleurs, *Bacillus cereus* est responsable d'intoxications alimentaires spontanément résolutives au bout de 24 à 48 heures qui sont à l'origine de syndrome diarrhéique et syndrome émétique, ainsi que d'infections opportunistes (Le Scanff et al., 2006 ; Rosovitz et al., 1998). La forme diarrhéique de l'intoxication à *Bacillus cereus* est caractérisée par la présence de crampes abdominales, d'une diarrhée aqueuse profuse et d'un ténésme rectal parfois associés à de la fièvre et à des vomissements. La forme émétique de l'intoxication alimentaire à *Bacillus cereus* est quant à elle caractérisée par la présence de nausées, de vomissements et d'une sensation de malaise parfois associés à une diarrhée (Logan et al., 2006), sachant que de point de vue physiopathologique les vomissements ont une origine gastrique.

Selon Logan et al., (2006), la toxine responsable de la forme diarrhéique de l'intoxication est produite par le bacille dans l'intestin grêle. La dose infectieuse est alors de 10⁴-10⁹ bacilles par gramme d'aliment. La toxine émétique est préformée dans l'aliment ingéré au niveau gastrique à environ 10⁵ à 10⁸ bacilles par gramme

d'aliment, et sont nécessaires à la production d'une quantité suffisante de toxine. De nombreux auteurs indiquent que la forme diarrhéique de l'intoxication à *Bacillus cereus* est associée à un délai d'apparition de 8 à 16 heures tandis que la forme émétique apparaît en 1 à 6 heures. Dans les deux cas, il y a habituellement résolution complète des symptômes en 24 heures (Barrie, 1992 ; Logan et al., 2006 ; Murray et al., 2007).

Bacillus cereus forme des spores et se propage facilement en milieu hospitalier, il peut être transmis par contact avec de la literie contaminée (Barrie, 1992 ; Kotiranta et al., 2000).

Bacillus cereus est sensible à l'imipénem et à la vancomycine, la plupart des souches sont aussi sensibles au chloramphénicol, aux aminosides, à la ciprofloxacine, à l'érythromycine et à la gentamicine (David et al., 1994 ; Rosovitz et al., 1998 ; Logan et al., 2006 ; Murray et al., 2007), Néanmoins, il produit de grandes quantités de β -lactamases le rendant résistant à la pénicilline, à l'ampicilline, aux céphalosporines et au triméthoprime (Murray et al., 2007).

L'isolat L2,1, est identifié comme étant *Helicobacter pylori*. La faculté d'*Helicobacter pylori* de mettre en évidence de l'uréase, est une caractéristique essentielle entraînant hydrolyse de l'urée normalement présente dans l'estomac en ammoniac et gaz carbonique. L'ammoniac libéré va agir comme un système tampon afin de neutraliser le micro-environnement de la bactérie en la protégeant de l'acidité gastrique (Vincent et Leclerc, 1991 ; Lamouliatte et al., 1992; Bretagne, 1996). La rapidité et l'intensité de la réaction dépendent du temps du virement de la couleur et de la charge bactérienne (Sobhani et al, 1991; Souquet, 1995; Megraud, 1996a). Dans le cas de l'isolat L2,1 avec l'urée indole, le temps de virement était de 20 minutes. Ce résultat est en accord à ceux obtenus suite à des études sur des patients souffrants d'une affection gastroduodénale, rendant donc cette réponse rapide comme indice très favorable dans la pré-identification (Lamouliatte et al., 1992; Megraud, 1992 ; Fennerty, 1994). Néanmoins, sur environ 80% des cas étudiés,

Delchier, (1996b) a observé une réaction positive du test de l'uréase dans la première demi-heure.

Par ailleurs, le virement positif de la coloration est fonction de la charge bactérienne dans le milieu urée indole et donc, du nombre des bactéries présentes dans la biopsie estimé à 10^5 bactéries (Lamouliatte *et al.*, 1992; Megraud, 1992; Missonier et Dorval, 1994 ; De Korwin, 2003). En revanche, on ne peut pas établir la présence d'*Helicobacter pylori* uniquement par la positivité du test urée indole et l'identification doit être obligatoirement couplée à d'autres tests (Delchier, 1994).

L'examen cytologique d'un frottis de fragment de biopsie indique la présence d'une morphologie caractéristique et spécifique à *Helicobacter* (Fauchère et Rosenau, 1991). Ceci corrobore ainsi nos résultats de l'examen cytologique qui révèlent la présence des bacilles gram négatif, incurvés, en V, S, en virgule, parfois cocoïdes et légèrement spiralés pour l'isolat L2,1. La présence de ces formes dans les empreintes biopsiques a déjà été signalée par (Lamouliatte *et al.*, 1992 ; Cassel-Béraud *et al.*, 1996; Megraud,1996a).

Cette localisation gastrique ne fait que confirmer la présence de *Helicobacter pylori* au niveau de l'épithélium de cet organe mettant en évidence les rapports de contact entre cette bactérie et les cellules épithéliales gastriques, site préférentiel de *Helicobacter pylori* et confirme son appartenance aux bactéries du mucus digestif (Fauchère, 1994a; Lamouliatte *et al.*, 1992; Missonier et Dorval, 1991).

La culture bactériologique est un outil primordial dans l'identification de *Helicobacter pylori*, ainsi que le test de la sensibilité aux antibiotiques, mais elle nécessite une attention particulière (De Korwin, 2003).

L'isolement d'*Helicobacter pylori* nécessite une culture pratiquée en microaérobie (système de Campy-pack), dans un milieu de culture enrichi par le sang, le sérum ou l'amidon (Sobhani *et al.*, 1991 ; Fennerty, 1994 ;Sobhani *et al.*, 1995). Pour cela, nous avons utilisé des milieux d'isolement additionnés de sang comme celui de la gélose Columbia à laquelle on a ajouté du sang. Ceci a été démontré par l'équipe de Graham en utilisant un milieu gélosé, enrichi avec 7% de sang de cheval pour traiter les biopsies gastriques (Hachem *et al.*, 1994).

Une fois la bactérie isolée, nous avons procédé à l'étude de l'identification de l'isolat L2,1 qui est fondée sur des caractères morphologiques (macroscopiques, microscopiques) et biochimiques. L'aspect particulier de *Helicobacter pylori* facilite son identification et ses caractères spécifient l'espèce de *Helicobacter pylori* (Megraud, 1994a, 1994b).

L'examen direct à l'état frais de l'isolat L2,1 confirme la présence de bactéries mobiles. Cette mobilité dépend de forme spiralée et des flagelles polaires, comme cela a été rapporté par Lamouliatte *et al.*, (1992) et Monteiro, (1995). Cette mobilité permet à cette bactérie (*Helicobacter pylori*) de se déplacer dans le mucus gastrique (Lamouliatte *et al.*, 1992; Fauchère et Roseneau, 1991; Fauchère, 1994a).

L'observation microscopique de l'isolat L2,1 a mis en évidence une bactérie à Gram négatif présentant des formes caractéristiques à *Helicobacter pylori*. D'autre part, l'existence des formes cellulaires variables (incurvés, en virgules, en forme de C, de V ou de S) est une caractéristique particulière d' *Helicobacter pylori* (Fauchère, 1994a; Megraud, 1994b).

Par ailleurs, les tests biochimiques indiquent que l'isolat L2,1 possède une oxydase, une catalase et une uréase positives, ce qui nous a orienté vers une pré-identification de *Helicobacter pylori*. Ce résultat est en accord à ceux obtenus par Megraud, (1989); Yousfi *et al.*, (1997); Fauchère, (1994a); Medouakh et Bensoltane, (2010); Medouakh (2011).

Notons aussi qu'après plusieurs repiquages, on a pu observé l'isolat (L2,1) qui présentait les caractéristiques phénotypiques d'*Helicobacter pylori*. L'échec de la culture est favorisé par la sensibilité de la technique extrêmement dépendante des conditions de transport, de stockage et de culture (atmosphère microaérobie). (Lozniewski,1996 ; Megraud, 1996a; Yousfi *et al.*, 1997).

Selon Yousfi *et al.*, (1997), la répartition irrégulière de la bactérie dans la muqueuse gastrique peut retentir défavorablement sur l'apparition des colonies dans les milieux de culture et peut donc contribuer à des résultats faussement négatifs.

Il a été constaté que *Helicobacter pylori* (isolat, L2,1) est résistant vis-à-vis de l'Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC) avec un diamètre d'inhibition égale à 07 mm.

La résistance au métronidazole et parfois à la clarithromycine pose de nombreux problèmes à l'inverse de l'amoxicilline et de la tétracycline, ces antibiotiques ne donnant qu'exceptionnellement des résistances (De Korwin, 2003).

Cette résistance aux antibiotiques généralement rencontrée en thérapie constitue le principal facteur d'échec du traitement d'éradication, elle doit donc inciter les gastroentérologues à ne traiter les malades infectés par *Helicobacter pylori* qu'en fonction des résultats de l'antibiogramme ou par l'usage aux résultats des tests moléculaires (PCR) conduisant ainsi à un traitement d'éradication efficace de *Helicobacter pylori* (Burucoa, 2009; Fellous, 2009; Raymon *et al.*, 2010).

L'écosystème intestinal et notamment la région colique est considéré comme l'habitat idéal et permanent pour la flore microbienne avec une population dense et active essentiellement anaérobie, produisant localement de nombreux métabolites (Cebra, 1999). Cette flore a la faculté de se multiplier dans les conditions environnementales du tube digestif (Mountzouris *et al.*, 2002).

Certaines bactéries anaérobies facultatives comme c'est le cas des *Escherichia coli*, les *Enterobacter* ont le pouvoir de synthétiser des métabolites de type vitaminique, comme la biotine, riboflavine, acide pantothénique, pyridoxine et vitamine K). Par contre les bactéries anaérobies strictes comme les genres *Clostridium* sont capables de synthétiser la vitamine B12, indispensable pour la croissance bactérienne (Shanahan, 2002).

Néanmoins, parmi cette flore commensale intestinale, certaines espèces bactériennes peuvent induire leur pouvoir virulent et devenir des agents microbiens très pathogènes. Cette transition vers la pathogénecité est la conséquence à une antibiothérapie mal adaptée ou un régime alimentaire sévère au cours d'une maladie quelconque. Les germes pathogènes d'origine exogène peuvent aussi contribuer à la genèse de cette dysbiose bactérienne au niveau de l'écosystème digestif (Mountzouris *et al.*, 2002).

Un régime alimentaire dont la valeur nutritionnelle faible et pauvre en fibres alimentaires contribue à l'élaboration d'une dysbiose bactérienne favorisant ainsi la présence de bactéries pathogènes, et une baisse de la proportion de bifides (Goulet, 2009).

Notant que la chronicité des traitements antiacides transformant ainsi l'écosystème gastrique alcalin va engendrer un affaiblissement de la défense physiologique vis-à-vis de certaines bactéries pathogènes (Goulet *et al.*, 2012).

Le *Clostridium difficile* (*Clostridioides*) sont des bactéries anaérobies et mobiles, de nature omniprésentes et particulièrement présentes dans le sol, sont en forme de batonnets, pléomorphes (capacité que possède un organisme ou des cellules d'un organisme de revêtir des formes différentes dans certaines conditions ou sous des influences déterminées), et se présentent par paires ou par de courtes chaînes. Au microscope, elles apparaissent sous la forme de batonnet avec un renflement à leur extrémité terminale formant des spores sous terminales. *Clostridium difficile* sont à Gram positif et présentent, après une culture en anaérobie strict, une croissance optimale sur la gélose nutritive ou au sang. *Clostridium difficile* présente une catalase négative et produit deux types de toxines, l'entérotoxine A et la cytotoxine B, qui perturbent les transductions du signal cytosquelettique chez l'hôte. Lorsque *Clostridium difficile* est soumis à un stress, il produit des spores capables de tolérer des conditions extrêmes que les bactéries actives ne peuvent tolérer et deviennent ainsi des bactéries extrémophiles (Ryan et Ray, 2004).

Clostridium difficile cohabite dans le colon humain, représentant jusqu'à 2 à 5% dans la population adulte. Parfois, une antibiothérapie prise à long terme génère un déséquilibre du microbiote intestinal. Dans ce cas, le *Clostridium difficile* peut dominer de manière opportuniste, induisant ainsi son pouvoir de pathogénécité (Ryan et Ray, 2004).

Les souches pathogènes de *Clostridium difficile* produisent plusieurs toxines. (Di Bella *et al.*, 2016). Ces toxines sont considérées par l'entérotoxine et la cytotoxine, représentées respectivement par la toxine A et la toxine B pouvant

provoquer une diarrhée et une inflammation. La diarrhée peut en quelques jours se compliquer vers une colite pseudomembraneuse menaçant le pronostic vital. La Colite pseudomembraneuse est associée à une inflammation intense du côlon et à la formation de pseudomembranes à la surface de la muqueuse intestinale (Ryan et Ray, 2004).

Clostridium difficile secrète un facteur d'adhésion appelé la hyaluronidase qui lui permet de se fixer aux cellules du côlon humain (Murray et Mosby, 2005). La bactérie produit également le para-crésol chimique qui inhibe la croissance d'autres bactéries à proximité et lui permet de dominer et être majoritaire par rapport aux différents germes appartenant à la flore intestinale humaine normale (Calle, 2018).

Les spores de *Clostridium difficile* sont transférées aux patients principalement par les mains du personnel de santé ayant touché une surface ou un objet contaminé. *Clostridium difficile* peut vivre longtemps sur des surfaces (March, 2017). Une fois que les spores sont ingérées, leur résistance aux acides leur permet de traverser l'estomac indemne. Ils germent et se multiplient dans les cellules végétatives du côlon après exposition à des acides biliaires. En conséquence, l'Organisation mondiale de la santé préconise l'utilisation de savon en plus des solutions alcooliques afin de limiter la propagation des spores (Didier, 2009).

Clostridium difficile est commun dans le système digestif humain. Cependant, cette bactérie devient un compétiteur potentiel et se distingue souvent des autres bactéries pour les nutriments présents dans le système digestif. En conséquence, *Clostridium difficile* est maintenu à une quantité gérable. Si l'introduction soudaine d'antibiotiques perturbe le microbiome, la bactérie *Clostridium difficile* pourrait se développer en raison de la mort d'un grand nombre de ses concurrents (Murray, Mosby, 2005).

Chez les patients atteints de la maladie de la Rectocolite Hémorragique (RCH), *Clostridium* en population importante, pourrait être impliqué dans la toxicité intestinale (Machiels et al., 2013; Vignsnaes et al., 2013). *Clostridium difficile* génère une réactivation de la maladie de Crohn (MC) et entraîne des lésions épithéliales de

type inflammatoire in vitro (Sartor, 2008). Par ailleurs, l'apoptose des cellules épithéliales intestinale contribue à l'augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale suite à la libération de certaines toxines comme la toxine A de *Clostridium difficile* (Guerra et al., 2011).

Les *Enterobacter cloacae* sont des bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des entérobactéries qui constituent un grand groupe de bactéries ayant une forte similitude. La création de ce groupe a été proposée par Rahn en 1937 qu'il dénomma *Enterobacteriaceae* (Joly et Reynaud, 2007).

Les *Enterobacter* sont des bacilles à Gram négatif généralement mobiles, fermentent ou non le lactose (Fauchère et Avril, 2002). Sur gélose nutritive, *Enterobacter cloacae* forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 à 3 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers (Grimont et Grimont, 2006).

Enterobacter cloacae est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales et colonise généralement la flore intestinale endogène des patients hospitalisés, mais peut également se trouver comme source d'épidémie ou de diffusion de patient à patient. Les infections surviennent principalement chez des patients ayant reçu un traitement antibiotique ainsi que ceux en unités de soins intensifs (Qureshi et al., 2011).

Enterobacter cloacae est classé au sein de la famille des entérobactéries, se caractérise par la production naturelle, inductible et à bas niveau, d'une céphalosporinase chromosomique AmpC, leur conférant une résistance aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} génération et à l'action de l'acide clavulanique (Philippon et Arlet, 2006).

Bacillus subtilis est une bactérie à Gram positif, en forme de batonnet et à catalase positive. Il a été nommé *subtilis Vibrio* par Christian Gottfried Ehrenberg, et rebaptisés *Bacillus subtilis* par Ferdinand Cohn en 1872 (Cohn, 1872). Au microscope, la morphologie de *Bacillus subtilis* est sous la forme de batonnets et mesurent environ 4 à 10 micromètres (μm) de long et 0,25 à 1,0 μm de diamètre. Par son appartenance au genre *Bacillus*, il a la faculté de former des endospores lui

permettant de survivre dans des conditions environnementales extrêmes de température et de dessiccation. (Madigan, Martinko. 2005).

Bacillus subtilis se trouve généralement dans les couches supérieures du sol, et il est prouvé que *Bacillus subtilis* cohabite dans l'intestin normal chez l'homme. Une étude comparative faite en 2009 a déduit que la densité des spores trouvées dans le sol est évaluée environ à 10^6 spores par gramme par rapport à celle trouvée dans les selles humaines qui est évaluée à environ à 10^4 spores par gramme. En revanche, le nombre de spores trouvées dans l'intestin humain était trop élevé pour être attribué uniquement à des facteurs exogènes considérés surtout par des apports alimentaires (De Hong et al., 2009).

Avant l'introduction des antibiotiques, les cultures de *Bacillus subtilis* étaient utilisées comme agent immunostimulateur pour aider au traitement des maladies gastro-intestinales et des voies urinaires . Pendant les années 1950, il a été utilisé comme médicament alternatif qui, lors de la digestion, stimule de manière significative l'activité immunitaire à large spectre, notamment l'activation de la sécrétion d'anticorps spécifiques IgM , IgG et IgA (Ciprandi, 1986) , et à la stimulation de l'activité de production de leucocytes et de cytokines importante dans le développement de cytotoxicité vis-à-vis des cellules tumorales (Shylakhovenko, 2003).

Bacillus subtilis a la capacité de croître rapidement, et à sécréter un grand nombre de molécules à large spectre d'activités biologiques, notamment les antibiotiques. *Bacillus subtilis* est capable de produire des molécules peptidiques qui ne sont pas issues du dogme central de la biologie moléculaire, c'est à dire la synthèse peptidique non ribosomale (Bolay, 2001). Sa capacité à produire des antibiotiques, comme la bacitracine en fait un organisme d'intérêt également pour l'industrie pharmaceutique (Kunst, 1997).

Chez *Bacillus subtilis*, plusieurs gènes impliqués dans la réponse adaptative codent notamment des enzymes de dégradation, des systèmes de transport, des enzymes du métabolisme, des protéines participant à l'activation du système de

compétence, des protéines impliquées dans la synthèse d'antibiotiques, des protéines de sporulation et la flagelline (Sonenshein, 2005, Sonenshein, 2007).

PARTIE IV : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Conclusion

Le but de ce présent travail est de faire un état des lieux de l'environnement gastrique et intestinal respectivement dans le cas des pathologies, de la Gastrite B, la maladie de Crohn(MC) et la Rectocolite Hémorragique(RCH) en rapport avec les souches bactériennes isolés et identifiées à partir des biopsies gastriques et intestinales.

L'identification des bactéries pathogènes y compris *l'Helicobacter pylori*, a été effectuée par des méthodes nécessitant le broyage des biopsies gastriques et intestinales humaines afin de libérer les différentes bactéries pouvant être un des facteurs responsable de ces pathologies.

Les tests microbiologiques nous ont permis d'établir une classification en fonction de la coloration de Gram et de décrire les caractères morphologiques de chacun des germes en les classant en bacille gram négatif, bacille gram positif, et cocci gram positif, issus de culture aérobie et anaérobie.

La culture reste la méthode diagnostique de référence car elle permet d'une part un isolement de *l'Helicobacter pylori*, et d'autre part une identification des bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus enterococcus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus sp*, *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium difficile*, et *Enterobacter cloacae*.

En revanche et afin de renforcer les tests microbiologiques, d'autres d'ordre biochimiques ont été associés, tels que, l'urée indole, l'examen cytologique, manitol mobilité, Triple Sugar Iron (TSI), l'utilisation des Galeries API, conduisant à établir une identification phénotypique, et qui restent encore importants aujourd'hui pour la classification de ces bactéries.

Le recours à la PCR est utilisé surtout pour les isolats difficiles à identifier phénotypiquement, et éventuellement à établir une identification génotypique.

Les *Lactobacilles* sont connus pour leur effet antibactérien et donc pouvant protéger l'homme contre les bactéries pathogènes.

Et d'autre part, l'utilisation de l'antibiogramme permettra de connaître le spectre de sensibilité et de résistance des souches bactériennes vis-à-vis des antibiotiques. Ceci aidera à orienter le traitement médical afin d'arriver à une

thérapie induisant une éradication des différentes souches bactériennes identifiées dans notre étude de recherche.

Par exemple, Il a été constaté qu' *Helicobacter pylori* c'est révélée résistante à l'Ampicillin (AM) et Amoxicillin + Clavulanic acid (AMC), et sensibles aux autres antibiotiques. Ceci pourra expliquer l'échec aux traitements des antibiotiques pour l'éradication d' *Helicobacter pylori*.

Par contre, on peut conclure que *Bacillus subtilis* se présente comme un moyen de défense par, son pouvoir de sécrétion des molécules peptidiques, sa capacité à produire des antibiotiques, et sa stimulation de manière significative de l'activité immunitaire à large spectre notamment l'activation de la sécrétion des différents anticorps spécifiques IgM , IgG et IgA .

Perspective

- Elargir le spectre des disques d'antibiogramme afin d'adopter une antibiothérapie sélective.
- Utiliser la métagénomique sur des tissus biopsiques pour obtenir une évaluation complète du microbiote Gastrointestinale.
- Utilisation différentes molécules biochimiques issues de la flore ou de la faune continentale ou aquatique afin d'élargir le spectre thérapeutique contre toutes les bactéries résistantes aux traitements conventionnels.
- Intégrer dans la thérapie les tests d'inhibition des *Lactobacilles* qui pourraient être exploité et utilisé comme un agent adjuvant thérapeutique pouvant éradiquer ces souches bactériennes pathogènes.

PARTIE V : REFERENCES BIBLIOGRQPHIAUES

Ann, M O'Hara . (2006). The gut flora as a forgotten organ, *EMBO Reports*, vol. 7, n° 7 p. 688-693.

Antonia, Suau.(1999). « *Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut* », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 65, n° 11., p. 4799-4807 (ISSN 0099-2240 et 1098-5336).

Abramson O, Durant M, Mow W, Finley A, Kodali P, Wong A, et al. (2010). Incidence, prevalence, and time trends of pediatric inflammatory bowel disease in Northern California, 1996 to 2006. *The Journal of pediatrics*.157(2):233-9.

Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., and Jafarian-Dehkordi, A. (2013). In vitro anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Research in pharmaceutical sciences* 8, 260-268.

Abraham, C., and Medzhitov, R. (2011). Interactions between the host innate immune system and microbes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 140, 1729-1737.

Bah A, Saraga E, Armstrong D, Vouillamoz D, Dorta G, Duroux P, et al. (1995). Endoscopic features of *Helicobacter pylori*-related gastritis. *Endoscopy*. 27:593–6.

Baliellas C, Xiol X, Barenys M, et al. (1996). Infectious gastroenteritis in relapses of inflammatory bowel disease. Therapeutic implications. *Rev Esp Enferm Dig*. 88: 419-434.

Balows, M. Sussman, A. Balows & B. I. Duerden (Eds.), Topley & S Wilson's. (1998). Microbiology and Microbial Infection : *Systematic Bacteriology* . pp. 731—782. USA : Arnold.

Barth H, Aktories K, Popoff MR, Stiles BG. (2004). "Binary Bacterial Toxins: Biochemistry, Biology, and Applications of Common Clostridium and Bacillus Proteins". *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*. 68 (3): 373–402, table of contents. doi:10.1128/MMBR.68.3.373-402.2004. PMC 515256. PMID 15353562.

Baumer Philippe. (2002). La maladie de Crohn. Association François-Aupetit, septembre. www.afa.asso.fr/.

Baumgart, D.C., and Carding, S.R. (2007). Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 369, 1627-1640.

Baumgart Daniel C. (2009). The diagnosis and treatment of Crohn's disease and ulcerative colitis *Dtsch Arztebl Int*. 106(8): 123–33.

Bevins, C.L., and Salzman, N.H. (2011). Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nature reviews Microbiology* 9, 356-368.

Bretagne J.F., 1996. *Helicobacter pylori*. De la bactérie à la pathologie gastroduodénale. *Quot. Med*. pp: 9 – 13.

Brown, K., DeCoffe, D., Molcan, E., and Gibson, D.L. (2012). Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients* 4, 1095-1119.

Bullock, N.R., Booth, J.C., and Gibson, G.R. (2004). Comparative composition of bacteria in the human intestinal microflora during remission and active ulcerative colitis. *Current issues in intestinal microbiology* 5, 59-64.

Benkerroum (N.), Ghouati (Y.), Sandine (W.E.), Tantaoui-Elaraki (A.). (1993). Methods to demonstrate the bactericidal activity of bacteriocins. - *Lett. Appl. Microbiol.* 17(2), 78-81.

Burucoa C., (2009). Résistance aux antibiotiques. XXIIInd International Workshop on Helicobacter and related bacteria in chronic digestive inflammation.

Badet, C. (2008). «*Ecology of Lactobacilli in the Oral Cavity: A Review of Literature* », *The Open Microbiology Journal*, vol. 2, 29, p. 38-48.

Barrie, D., Wilson, JA., Hoffman, PN., & Kramer, JM. (1992). *Bacillus cereus* meningitis in two neurosurgical patients : an investigation into the source of the organism. *J Infect.*, 25(3), 291-297.

Belas, R. (1996). *Proteus mirabilis* Swarmer Cell Differentiation and Urinary Tract Infection in Urinary Tract Infections: *Molecular Pathogenesis and Clinical Management.*" J.W. Warren, Editor, ASM Press: Washington, D.C., , pp 271-298.

Bentley, R. W., Leigh, J. A. & Collins, M. D. (1991). Intrageneric structure of *Streptococcus* based on comparative analysis of smallsubunit rRNA sequences. *Int J Syst Bacteriol* 41, 487±494.

Bjorksten, B. (2004). Effects of intestinal microflora and the environment on the development of asthma and allergy. *Springer Seminras in Immunopathol* : 25 : 257-270.

Bolay,A. (2001). Les dépérissement des arbres fruitiers dus aux champignons du sol. *Vitic.Arboric. Hortic.*, 20, pp.2565-270.

Bretagne J.F., 1996. *Helicobacter pylori*. De la bactérie à la pathologie gastroduodénale. *Quot. Med.* pp: 9 – 13.

Calle, Widmann (2018). **The chemical weapon that helps bacterium wreak havoc in the gut".** *Nature: International Journal of Science.* Retrieved 8 October 2018. <https://www.nature.com/articles/d41586-018-06650-4>.

Cosnes Jacques, Gower–Rousseau Corinne, Seksik Philippe, Cortot Antoine. (2011). Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases *Gastroenterology*.140:1785–1794.

Calabrese C, Di Febo G, Brandi G, Morselli-Labate AM, Areni A, Scialpi C, et al. (1999). Correlation between endoscopic features of gastric antrum, histology and *Helicobacter pylori* infection in adults. *Ital J Gastroenterol Hepatol.* 31:359–65.

Cho JH. (2008). The genetics and immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature reviews Immunology.* 8(6):458-66.

- Chouraki V, Savoye G, Dauchet L, Vernier-Massouille G, Dupas JL, Merle V, et al. (2011).** The changing pattern of Crohn's disease incidence in northern France: a continuing increase in the 10- to 19-year-old age bracket (1988-2007). *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011 ;33(10):1133-42.
- Ciprandi G, Scordamaglia A, Venuti D, Caria M, Canonica GW (1986).** In vitro effects of *Bacillus subtilis* on the immune response. *Chemioterapia*. 5 (6): 404–7. PMID 3100070.
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** Edition Janvier 2012. [http:// www.sfm-microbiologie.org](http://www.sfm-microbiologie.org).
- Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. (2011).** Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*.140(6):1785-94.
- Corthier, G. (2007).** Le microbiote intestinal: un monde polymorphe aux fonctions multiples. *Cahier de nutrition et diététique* 42, 21-26.
- Cassel-Berraud, A.M., Peghini, M., Mouden, J.C., & Rajaonarison, P. (1996).** Prévalence de l'infection a *Helicobacter pylori* a Tananarive, Madagascar. *Bacteriologie*.144 : 4.
- Cellini L., Allocati N., Piatteli A., Petrelli I., Fanci P., & Dianelli B. (1995b).** Microbiological evidence of *Helicobacter pylori* from dental plaque in dyspeptic patients. *Microbiol*. 18: 187-192.
- Chanter, N. (1997).** Streptococci and enterococci as animal pathogens. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 26, 100S±109S.
- Cebra JJ. (1999).** Influences of microbiota on intestinal immune system development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(5), 1046S-1051S.
- Coker, C., Poore, C., Lix., & Mobley, H. (2000).** Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection, *Microbes and Infection*, Vol 2 ,pp 1497– 1505.
- Choisy C., Desmaeaud M., Gueguen M., Lenoir J., Schmidt J., et Tourneur C. (1997) (b).** Les phénomènes microbiens, Dans *Le fromage* (Coord. ECK A. et GILLIS J.C.), 3ème ed., Tec et Doc. Lavoisier. pp 377.
- CidT.P.,FernándezM.C.,Benito Martínez S., JonesN.L.(2013).** Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection.*Helicobacter*. 18(Suppl. 1):12–17. [PubMed]. 7.
- Collins,M. D., Hutson, R. A., Falsen, E., Nikolaitchouk, N., LaClaire, L., & Facklam, R. R. (2000).** An unusual *Streptococcus* from human urine, *Streptococcus urinalis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 50, 1173±1178.
- Cummings, J. H., Gibson, G. R., & Macfarlane, G. T., (1989).** Quantitative estimates of fermentation in the hind gut of man. *Acta. Veterinaria. Scandinavica.*, 86: 76-82.
- Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A.J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., and Butel, M.J. (2007).** [Establishment of the intestinal microflora in neonates]. *Gastroenterologie clinique et biologique* 31, 533-542.

Chermesh, I., and Shamir, R. (2009). Rôle du microbiote dans les maladies inflammatoires de l'intestin. *Annales Nestlé* 67, 27-38.

Cohn F (1872). Untersuchungen über Bacterien . *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* . 1 . pp. 127-224.

Corthier, G. (2007). Le microbiote intestinal: un monde polymorphe aux fonctions multiples. *Cahier de nutrition et diététique* 42, 21-26.

De Korwin JD, Kalach N, Raymond J, Burucoa C. (2014). Prise en charge diagnostique et thérapeutique en cas d'infection à *Helicobacter pylori*. *EMC Gastroentérologie* .9 .[Article 9-021-E-20].

De Saussure, P., and Bouhnik, Y. (2007). Maladie de Crohn de l'adulte. *EMC Gastroenterologie*.

De Korwin JD, Kalach N, Raymond J, Burucoa C. (2014). Prise en charge diagnostique et thérapeutique en cas d'infection à *Helicobacter pylori*. *EMC Gastroentérologie*.9 .[Article 9-021-E-20].

De Korwin JD, Lehours P. (2010). *Helicobacter pylori* : notions fondamentales, épidémiologie, méthodes diagnostiques. *EMC* (Elsevier Masson SAS, Paris), Gastroentérologie, 9-000-B-60,. 16 p.

De Korwin JD. (2014). Épidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori* et du cancer gastrique. *Rev Prat.* 64:189–95.

De Dombal, F.T. (1968). Ulcerative colitis: definition, historical background, aetiology, diagnosis, naturel history and local complications. *Postgraduate medical journal* 44, 684-692.

De Preter, V., and Verbeke, K. (2013). Metabolomics as a diagnostic tool in gastroenterology. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics* 4, 97-107.

Dethlefsen, L., Eckburg, P.B., Bik, E.M., and Relman, D.A. (2006). Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends in ecology & evolution* 21, 517-523.

Di Mauro, A., Neu, J., Riezzo, G., Raimondi, F., Martinelli, D., Francavilla, R., and Indrio, F. (2013). Gastrointestinal function development and microbiota. *Italian journal of pediatrics* 39, 15.

DiGiulio, D.B., Romero, R., Amogan, H.P., Kusanovic, J.P., Bik, E.M., Gotsch, F., Kim, C.J., Erez, O., Edwin, S., and Relman, D.A. (2008). Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. *PloS one* 3, e3056.

Dore, J., and Corthier, G. (2010). The human intestinal microbiota. *Gastroenterologie clinique et biologique* 34 *Suppl 1*, S7-15.

Doros, Z. (2012). Guide pratique des médicaments-Dorosz, 31ème édition edn.

Dridi, B., Raoult, D., and Drancourt, M. (2011). Archaea as emerging organisms in complex human microbiomes. *Anaerobe* 17, 56-63.

Ducluzeau, R.(2002). Concept des probiotiques: histoire, définition et principales caractéristiques. *Antibiotiques* 4, 234-238.

Dal bello, F., Walter J., Hammes, W.P., & Hertel, C. (2003). Increased complexity of the species composition of lactic acid bacteria in human feces revealed by alternative incubation condition. *Microbiol. Ecol.* 45, 455–463.

David, D. B., Kirkby, G. R., & Noble, B. A. (1994). *Bacillus cereus* endophthalmitis. *The British Journal of Ophthalmology*, 78(7), 577-580.

De Buyser, M. L., & Sutra L. (2005). Staphylococcus aureus. In: Federighi M.. *Food Bacteriology - Compendium of Food Hygiene Economica, Paris*, 25-51.

De Korwin J.-D., 2003. Advantages and disadvantages of different methods of *H. pylori* infection diagnosis. *Clin. Gastroenterology Biol.* 27 : 380-390.

De Mascrarel, A., & MERLIO J.P. (1989). Histological evidence of *Campylobacter pylori*. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 23: 26-30.

Dellarras, C. (2007). Practical microbiology for analysis laboratory, sanitary control techniques and documentation. France.Lavoisier. 462 p.

Delchier J.C., 1994. *Helicobacter pylori*. Diagnostic. Que penser de l'uréase test(CLO-test) ? *Gastrographie.* 19: 35 – 41.

Delchier J.C., 1996b. Méthodes de diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* ? Le point de vue du clinicien. *Let.*

Devriese, L. A., Pot, B., Vandamme, P., Kersters, K., Collins, M. D., Alvarez, N., Haesebrouck, F., & Hommez, J. (1997). *Streptococcus hyovaginalis* sp. nov. and *Streptococcus thoralensis* sp. nov., from the genital tract of sows. *Int J Syst Bacteriol* 47, 1073±1077.

Devriese, L. A., Vandamme, P., Collins, M. D., Alvarez, N., Pot, B., Hommez, J., Butaye, P. & Haesebrouck, F. (1999). *Streptococcus pluranimalium* sp. nov., from cattle and other animals. *Int J Syst Bacteriol* 49, 1221±1226.

De Hong HA, Khaneja R, Tam NM, A Cazzato, S Tan, M Urdaci, A Brisson, A Gasbarrini, Barnes I, SM de coupe. (2009). *Bacillus subtilis* isolé du tractus gastro-intestinal humain. *Recherche en microbiologie* . 160 (2): 134–43. doi : 10.1016 / j.resmic.2008.11.002 . PMID 19068230 .

Delchier J.C., (1996b). Méthodes de diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* ? Le point de vue du clinicien. *Let.*

Drasar, b.S. (1989). The bacterial flora of the stomach and small intestine. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 13: 18-2.

Dixon ME, Genta RM, Yardley JH, Correa P. (1996). Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system. *Am J Surg Pathol* . **20**:1161–81.

Di Bella, Stefano; Ascenzi, Paolo; Siarakas, Steven; Petrosillo, Nicola; di Masi, Alessandra (2016). "Clostridium difficile Toxins A and B: Insights into Pathogenic Properties and Extraintestinal Effects". *Toxins*. **8** (5): 134. doi:10.3390/toxins8050134. ISSN 2072-6651. PMC 4885049. PMID 27153087.

Didier Pittet. (2009). "WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: a Summary" (PDF). *World Health Organization*. p. 31. Retrieved June 18, 2018.

Duchmann R, Schmitt E, Knolle P, Meyer Zum Buschenfelde KH, Neurath M. (1996). Tolerance towards resident intestinal flora in mice is abrogated in experimental colitis and restored by treatment with interleukin-10 or antibodies to interleukin-12. *Eur J Immunol* ; **26** : 934-8.

Ebalian A., Balian C. (2008). Hépatogastro-entérologie ; Ellipses.

Evans, B. (2000). Inflammatory bowel disease *Gastrointestinal disorders 11*, 163-178.

Facklam, R. (2002). "What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes". *Clin. Microbiol. Rev.* **15** (4): 613–30.

Faharat, K., Sobhani, I., Bonnaud, G., Vallot, T., Vissuzaine, C., and M., M. (1999). Rectocolite ulcérohémorragique: épidémiologie, physiopathologie, diagnostic, histoire naturelle et stratégie thérapeutique. Encyclopedie médico-chirurgicale (Elsevier, Paris), Gastro-entérologie, 24.

Faucher, J.-L., & Rosenau, A. (1991). *Campylobacter et Helicobacter* in human digestive pathology. *Med. Sci.* **7**: 138-152.

Fauchère J.-L., (1994a). Infections gastriques à *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol. Clin. Biol.* **18** : 212-216.

Fauchère J.L. et Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing. Paris. p 250-260.

Finegold, S.M., and Sutter, V.L. (1978). Fecal flora in different populations, with special reference to diet. *The American journal of clinical nutrition* **31**, S116-S122.

Frexinos J., Buscail L. (2004). Hépatogastro-entérologie proctologie 5^{ème} édition. Masson.

Fellous M. 2009. Résistance aux antibiotiques aux *H. pylori*. Thèse de Doctorat. Faculté de Médecine Paris.

Fleming, H.R., Etchell, G.L., Costilow, R.N. (1985) .Microbial inhibition by isolate of pediococcus from cucumber brine. *Appl and Microbiology*, **30**:104-1042.

- Fennerty, M.B. (1994).** *Helicobacter pylori*. *JAMA*. Archives of Internal Medicine **154**, 721–727.19: 27-35
- Florence, Lamine. (2004).** *Lactobacillus farciminis a bacterium producing nitric oxide in the digestive tract: evidence of therapeutic potentiality*, thesis, National Polytechnic Institute of Toulouse.
- Frasca D, Dahyot-Frizelier C, Mimoz O. (2008).** La colistine en réanimation, , Vol 17, pp 8- 251.
- Frexinos J., Buscaïl L. (2004).** Hépatogastro-entérologie proctologie 5^{ème} édition. Masson.
- From, C., Pukall, R., Schumann, P., Hormazabal, V., & Granum, P. E. (2005).** Toxin-producing ability among *Bacillus spp.* outside the *Bacillus cereus* group. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(3), 1178-1183.
- García Rodríguez L.A., Ruigómez A., and Panés J. (2006).** Acute gastroenteritis is followed by an increased risk of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. *130*: pp. 1588-1594.
- Gérard, P.,and Bernalier-Donadille, A. (2007).** Le microbiote intestinal un monde polymorphe aux fonctions multiples. *Cahier de nutrition et diététique* *42*, 28-36.
- Guerra, L., Cortes-Bratti, X., Guidi, R., and Frisan, T. (2011).** The biology of the cytolethal distending toxins. *Toxins* *3*, 172-190.
- Geis A., Singh J. & Teuber M. (1983).** Potential of lactic streptococci to Produce bacteriocin. *Appl. Environ. Microbiol.*, *45*: 205-211.
- Greenstein A J, Janowitz H D, Sachar D B. (1976).**The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. *Medicine* .**55**: 401-412.
- Geis, A., Singh, J., & Teuber, M. (1983).** Potential of lactic streptococci to Produce bacteriocin. *Appl. Environ. Microbiol.*, *45*: 205-211.
- George, Y., Liu., A., Essex., John T., Buchanan, Vivekanand., Datta, Hal M., Hoffman, John F., Bastian, Joshua Fierer., & Victor Nizet. (2005).** *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity » *Journal of Experimental Medicine*. DOI: 10.1084/jem.20050846.
- Gillen CD, Andrews HA, Prior P, Allan RN. (1994).**Crohn's disease and colorectal cancer. *Gut*. *35*(5):651-5.
- Goulet O. 2009.** La flore intestinale : un monde vivant à préserver. *Journal de pédiatrie et de puériculture*, **22**, 102-106.
- Goulet O, Turck D, Vidailhet M. 2012.** Alimentation de l'enfant en situations normale et pathologique. 2e Edition. Pierre Cocha. Doin, 662.

Gournier-Château, N., Larpent, J. P., Castellanos, M. I., & Larpent, J.L.(1994). Probiotics in animal and human nutrition. Technology and Documentation Edition. *Lavoisier*. Paris. France. pp. 1-192.

Gower-Rousseau C., Vasseur F., Fumery M., Savoye G., Salleron J., Dauchet L., et al. (2013). Epidemiology of inflammatory bowel diseases: new insights from a French population-based registry (EPIMAD). *Dig Liver Dis.* 45: pp. 89-94.

Grabsch, H.I. (2013). Alimentary system. In Underwood's Pathology: A Clinical Approach S.S. Cross, ed. (Elsevier), pp. 731. www.amazon.co.uk/Underwoods-Pathology-Clinical-Approach-Student/dp/0702046728. Page consultée le 16/12/2013.

Grimont F. et Grimont P.A.D. (2006). The Genus *Enterobacter*. *Prokaryotes*; 6:197–214.

Guyard, C., Dehecq, E., Magliani, W., Polonelli, L., and Cailliez, J. (2000). Les toxines killers de levure. *J Mycol Med* 10, 9-20.

Hachem C.Y., Clarridge J.E., Evans D.G. & Graham D.Y., (1994). Which is the best medium for isolation of *Helicobacter pylori* from gastric mucosal biopsies ? *Am . J. Gastroenterol .* 89 : 9.

Hardie, J. M. & Whiley, R. A. (1997). Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 26, 1S±11S.

Holt, J., & Bergey, S. (1986). Manual of Systemic Bacteriology, *Williams & Wilkins*, Baltimore MD, Vol. I &II, J.

Heyman, H. (2006). Probiotic micro-organisms and immune regulation: the paradox. *Nutrition clinique et métabolisme* 20, 85-94.

Holzappel, W. H., & Wood, B.J. 1995 (2012). *The Genera of Lactic Acid Bacteria, 2*, Springer-Verlag, 1st ed. (ISBN 2-89448-084-9), « *The genus Lactobacillus par W.P. Hammes, R.F. Vogel* ».

Hooper, L. V., & Gordon J. I. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Sci.*

Intagliata, C. (2017). Bacteria Might Share the Blame for Eczema.

Jens Walter. (2008). Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 74, no 16, p. 4985-4996 (ISSN 0099-2240 et 1098-5336, DOI 10.1128/AEM.00753-08.

Jens, Walter. (2008). « *Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research* », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 74, n° 16, p. 4985-4996.

Joël Bockaert., Odile Jacob, 2017. The communication of the living, p. 87

Joffin, J.N., & Leyrol, G. (2006). Technical microbiology. *Volume 1. Dictionary of techniques.* Bordeaux: CRDP of Aquitaine. 363 p.

Jones, B., & Mobley, H. (1988). *Proteus mirabilis* urease: genetic organisation, regulation and expression of structural genes, *J Bacteriol*, Vol 170 n°8, pp 9-3342.

Joly, F., Coffin, B., and Messing, B. (2007). Role de la flore dans les pathologies digestives (maladie de Crohn, rectocolite ulcéro-hémorragique, cancer colorectal exclus). *Nutrition clinique et métabolisme* 21, 89-94.

Joly B. et Reynaud A. (2007). Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic. Edition Techniques et Documentation. Paris. p 3-182.

Just I, Selzer J, von Eichel-Streiber C, Aktories K (1995). "The low molecular mass GTP-binding protein Rh is affected by toxin a from *Clostridium difficile*". *The Journal of Clinical Investigation*. 95 (3): 1026–31. doi:10.1172/JCI117747. PMC 441436. PMID 7883950.

Kaser, A., Zeissig, S., and Blumberg, R.S. (2010). Inflammatory bowel disease. Annual review of immunology 28, 573-621.

Kaur, N., Chen, C.C., Luther, J., and Kao, J.Y. (2011). Intestinal dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut microbes* 2, 211-216.

Kawamura, Y., Hou, X.-G., Sultana, F., Miura, H., & Ezaki, T. (1995). Determination of 16S rRNA sequences of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus gordonii* and phylogenetic relationships among members of the genus *Streptococcus*. *Int J Syst Bacteriol* 45, 406±408.

Kawamura, Y., Hou, X.-G., Todome, Y., Sultana, F., Hirose, K., Shu, S.-E., Ezaki, T., & Ohkuni, H. (1998). *Streptococcus peroris* sp. nov. and *Streptococcus infantis* sp. nov., new members of the *Streptococcus mitis* group, isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 48, 921±927.

Kilian, M. (1998). *Streptococcus* and *Lactococcus*. In Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, vol. 2, *Systematic Bacteriology*, pp. 633±667. Edited by A. Balows & B. I. Duerden. London: Arnold.

Kirsner, J.B. (2001). Historical origins of current IBD concepts. *World journal of gastroenterology* : WJG 7, 175-184.

Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. (2000). Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*, 2(2), 189-198.

Kovacs, L.G., Ballati, P.A., Kroshman, H.B., & Pueppke, S.G. (1995). Transcriptional organisation and expression of *nol* XWBTUV. A Locus that regulate cultivar-specific nodulation soybean by *Rhizobium fredii* USDA257. *Molecular Microbiology*. 17: 923-933.

Koletzko S, Jones NL, Goodman K, Rowland M, Cadranel S, Chong S, et al. (2011). Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for *Helicobacter pylori* infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 53:230–43.

Kunst, (1997), The complete genome of sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*.

Lagier, J.C., Million, M., Hugon, P., Armougom, F., and Raoult, D. (2012). Human gut microbiota: repertoire and variations. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 2, 136.

Lane D J (1990). 16s /23s rRNA sequencing. In: Stachebrant E, Goodfellow M, editors. *Nucleic acid techniques in bacterial systematic*. Chichester United Kingdom: John Wiley and Sons. pp.1515-175

Langhendries, J.P., Maton, P., Francois, A., Marguglio, A., Marion, W., Smeets, S., and Philippet, P. (2010). [Implementation of the intestinal micro flora in the early stage and adequate immunity later on]. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie* 17 Suppl 3, S110-118.

Louis, E., and Marteau, P. (2010). *Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin*, Wolter Kluwer France edn (R. Zittoun).

Lamarque D, Burucoa C, Courillon-Mallet A, de Korwin JD, Delchier JC, Fauchère JL, et al. (2012). Révision des recommandations françaises sur la prise en charge de l'infection par *Helicobacter pylori*. *Hepato-Gastro Oncol Digest*. 2012;19:475–502.

Lamouliatte, H., Megrand, F., & Cayla R. (1992). *Helicobacter pylori* and gastroduodenal pathology. *Medical-Surgical Encyclopedia. Technical publications.EMC*.

Lee SY. (2012). Future candidates for indications of *Helicobacter pylori* eradication: do the indications need to be revised ? *J Gastroenterol Hepatol*;27:200–211.

Le Minor, L., & Richard, C. (1993). Laboratory methods for the identification of enterobacteria. *Institut Pasteur : Paris, France* ; 217. M.

Le Scanff, J., Mohammedi, I., Thiebaut, A., Martin, O., Argaud, L., & Robert, D. (2006). Necrotizing gastritis due to *Bacillus cereus* in an immunocompromised patient. *Infection*, 34(2), 98-99.

Leyden, J. J., MarpleS, R. R., & Kligman, A. M. (1974). *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology*, 90(5), 525-525.

Leveau, J.Y., & Bouix, Marielle. (1980). Technical analysis and control in the agro-food industries. *3rd edition.Tec & Doc, Lavoisier. Paris* ; P 106.193.

Levy, P. (2008). *Hepato-gastro-enterologie*, 2ème édition edn (Collégiale des universitaires en hepato-gastro-enterologie).

Liu, D. (2010). *Molecular Detection of Foodborne Pathogens*, CRC Press. Boca Raton.

Loftus,EV, Sandborn,WJ.(2002). Epidemiology of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 31(1):1-20.

Loftus EV, Jr.(2004). Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. May;126(6):1504-17.

- Logan, N. A., & Rodrigez-Diaz, M. (2006).** *Bacillus spp.* and Related Genera. In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and Practice of Clinical Bacteriology* (2nd ed., pp. 139-158). West Sussex, England, UK : John Wiley and Sons Ltd.
- Lozniewski, A. (1996).** Diagnostic methods of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 20 : 111-118.
- Macfarlane GT, Blackett KL, Nakayama T, Steed H, Macfarlane S. (2009).** The gut microbiota in inflammatory bowel disease. *Current pharmaceutical design.* 15(13):1528-36.
- Mclean, R., Nickel, J., & Costerton, T. (1988).** The ecology and pathogenicity urease producing bacteria in urinary tract, *Crit Rev Microbiol*, Vol 16 n°1, pp 505-1479.
- McColl KE, El-Omar E, Gillen D. (2000).** *Helicobacter pylori* gastritis and gastric physiology. *Gastroenterol Clin North Am.* 29:687–703.
- McLean MH, El-Omar EM. (2009).** Genetic aspects of inflammation. *Curr Opin Pharmacol.* 9:370–4.
- Machiels, K., Joossens, M., Sabino, J., De Preter, V., Arijs, I., Eeckhaut, V., Ballet, V., Claes, K., Van Immerseel, F., Verbeke, K., et al. (2013).** A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut.*
- Madigan M, J Martinko, eds. (2005).** Brock Biology of Microorganisms (11 e éd.). *Prentice Hall.* ISBN 978-0-13-144329-7.
- Mac Donald, and P B McIntyr E. (1982).** Crohn's disease of the mouth: an indicator of intestinal involvement. 23: 198-201.
- Mahid S.S., Minor K.S., Soto R.E., Hornung C.A., and Galandiuk S. (2006).** Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 81: pp. 1462-1471.
- Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. (2012).** Management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut.* 61:646–64.
- March,(2017).** "Clostridium difficile Infection Information for Patients | HAI | CDC". <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cdiff/cdiff-patient.html>.
- Marchal, N., Bourdon, JL., & Richard, C. (1982).** Culture media for isolation and biochemical identification of bacteria. *Doin, Paris.*
- Marchal, N., Bourdon, J.L., & Richard, C. (1991).** Culture media for isolation and biochemical identification of bacteria. *New edition. Doin éditeurs. Paris.* pp:3-511.
- Maryse, Archambaud., & Danielle, clave.(2004).** *C Data Sheet: Bacteriology 051 in ftbac, Laboratory of Bacteriology, Hygiene HU Toulouse Rangueil, , voll, pp 4.*
- Marteau, P., and Jian, R. (2001).** Maladie de Crohn. In AKOS Encyclopédie pratique de médecine, E. Masson, ed. (Paris), pp. 5.

- Marteau, P. (2013).** Microbiote intestinal. EMC Gastroenterologie 8, 1-8.
- Medouakh L. & Bensoltane A., (2010).** Acquisition of iron and production of siderophores in *Helicobacter pylori*. *Sci. Technol.* 31: 46-51.
- Medouakh L. (2011).** Mise en évidence de *Helicobacter pylori* à partir des biopsies gastriques et son antagonisme avec les lactobacilles. Thèse de Doctorat es sciences, université dOran, Algérie. 234 p.
- Megraud, F. (1989).** Bacteriological methods for the diagnosis of *Campylobacter pylori*. *Gastroenterol.Clin. Biol.* 13: 31-36.
- Megraud, F. (1992).** Diagnostic methods for *Helicobacter pylori*. *GEFH.* pp:15-19.
- Megraud, F. (1994a).** Direct and indirect diagnostic methods of *Helicobacter pylori*.*Gastroenterol. Clin. Biol.* 18 : 217-222.
- Megraud, F. (1994b).** Demonstration of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies by bacteriological methods. *French Journal of Laboratories.*
- Megraud F. (1994g).** *Helicobacter pylori*. Diagnostic. Comment transporter les biopsies pour un examen bactériologique ? *Gastrographie.* 19 : 35 – 41.
- Megraud F. (1996a)** . Comment rechercher *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 20: 38-43.
- Megraud F., (2007).** Détection de *H. pylori* et de sa sensibilité aux antibiotiques. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 31: 791.
- Melmed, G., Thomas, L.S., Lee, N., Tesfay, S.Y., Lukasek, K., Michelsen, K.S., Zhou, Y., Hu, B., Arditi, M., and Abreu, M.T. (2003).** Human intestinal epithelial cells are broadly unresponsive to Toll-like receptor 2-dependent bacterial ligands: implications for host-microbial interactions in the gut. *Journal of immunology* 170, 1406-1415.
- Meyer A, Treton X. Rectocolite hémorragique.(2017).**EMC - Traité de Médecine Akos 2017;12(4):1-8 [Article 4-0510].
- Michetti P. (2004).** Mieux comprendre pour mieux traiter la maladie de Crohn *Revue Médicale Suisse* .502.
- Mitsuoka, T. (1992).** Intestinal flora and aging. *Nutrition reviews* 50, 438-446.
- Misra, T., Silver, S., Mobley,H., & Rosen, B. (1984).** Molecular genetics and biochemistry of heavy metal resistance in bacteria. In *A.H. Tashjian, Jr. (ed.), Molecular and Cellular Approaches to Understanding Mechanisms of Toxicity. Harvard School of Public Health,* , pp 63-81.
- Miner PB JR. (1997).** Factors influencing the relapse of patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 92 : 1S-4S.

- Missonnier, F., & Dorvale, D. (1994).** *Helicobacter pylori*. *Conc. Méd.* 116: 2590-2592.
- Monteiro L., (1995).** *Helicobacter pylori*: facteurs pathogènes bactériens. *Hepat. Gastro.* 2: 23-27.
- Mottet C, Uhlig HH, Powrie F. (2003).** Cutting edge : Cure of colitis by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Immunol.* 170 : 3939-43.
- Moore W. E. C., & Holdeman L. V. (1974).** Human faecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Applied Microbiology*, 27, 961-979.
- Monsén U., Broström O., Nordenvall B., Sörstad J., and Hellers G. (1987).** Prevalence of inflammatory bowel disease among relatives of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 22: pp. 214-218.
- Mountzouris KC, McCartney AL, Gibson GR.(2002).** Intestinal microflora of human infants and current trends for its nutritional modulation. *British Journal of Nutrition*, 87(5), 405-420.
- Murray Patrick, Mosby Elsevier, (2005).** *Medical Microbiology*, Fifth Edition, , page 412].
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (2007).** *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed.) *American Society of Microbiology Press*.
- Nicholson, E., Concaugh, E., & Mobley, H. (1991).** *Proteus mirabilis* urease: use of a urea lac Z fusion demonstrates that induction is highly specific for urea *Infection and Immunity*, Vol 59, PP 3360–3365.
- Nogueira C, Figueiredo C, Carneiro F, Taveira Gomes A, Barreira R, Figueira P, et al. (2001).** *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. *Am J Pathol.* 158:647–54.
- Nakano MM, Zuber P (1998).** Croissance anaérobie d'un" aérobie strict (*Bacillus subtilis*)". *Revue annuelle de microbiologie* . 52 (1): 165–90. doi : 10.1146 / annurev.micro.52.1.165 . PMID 9891797.
- Palli D, Trallori G, Saieva C, Tarantino O, Edili E, D'Albasio G, et al. (1998).** General and cancer specific mortality of a population based cohort of patients with inflammatory bowel disease: the Florence Study. *Gut.* 42(2):175-9.
- Peyrin-Biroulet L, Loftus EV, Jr., Colombel JF, Sandborn WJ. (2010).** The natural history of adult Crohn's disease in population-based cohorts. *The American journal of gastroenterology.* 105(2):289-97.
- Piront Patricia, J. Belaiche, E. Louis. (2003).** Epidemiology of Crohn's disease in Europe: a review. *Acta Endoscopica.* 33(2); 199-206.
- Podolsky DK. (2002).** Inflammatory bowel disease *N Engl J Med.* 347: 417-29.
- Philippon A. et Arlet G. (2006).** β-Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Annales de Biologie Clinique*; 64 (1): 37-51.

Prescott, L.M., Harley, J.P., & Klein, A. (2003). Microbiology. Ed : De Boeck. Paris (France).128(2) : 28-29.

Qureshi Z.A., Paterson D.L., Pakstis D.L., Adams-Haduch J.M., Sandkovsky G., Sordillo E., Polsky B., Peleg A.Y., Bhussar M.K. et Doi Y. (2011). Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. International Journal of Antimicrobial Agents; 37: 26–32.

Rajilic-Stojanovic, M. (2013). Function of the microbiota. Best practice & research Clinical gastroenterology 27, 5-16.

Ray, C. G. (2004). Enteric Infections and Food Poisoning. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris Medical Microbiology* (4th ed., pp. 857-865). USA: Mcgraw Hill.

Raymond J., D. Lamarque S. Chaussade , C. Burucoa,.(2010). La résistance aux antibiotiques. 18e réunion annuelle du GEFH. Paris.

Redeen S, Petersson F, Jonsson KA, Borch K. (2003). Relationship of gastroscopic features to histological findings in gastritis and *Helicobacter pylori* infection in a general population sample. *Endoscopy* . 35:946–50.

Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, Silverberg MS, Goyette P, Huett A, et al. (2007). Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nature genetics*. 39(5):596-604.

Roland Leclercq. (2006). Antibiogramme 3e édition .

Rosovitz, M. J., Voskuil, M. I., & Chambliss, G. H. (1998). *Bacillus*. In L. Collier, A.

Robinson, C.J., and Young, V.B. (2010). Antibiotic administration alters the community structure of the gastrointestinal microbiota. *Gut microbes* 1, 279-284.

Rugge M, Fassan M, Pizzi M, Farinati F, Sturniolo GC, Plebani M, et al. (2011). Operative link for gastritis assessment vs operative link on intestinal metaplasia assessment. *World J Gastroenterol*. 17: 4596–601.

Rugge M, Pennelli G, Pillozzi E, Fassan M, Ingravalle G, Russo VM, et al. (2011). Gastritis: the histology report. *Dig Liver Dis*;43:S373–84.

Rugge M, Capelle LG, Cappellesso R, Nitti D, Kuipers EJ. (2013). Precancerous lesions in the stomach: from biology to clinical patient management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 27:205–23.

Rurangirwa, F. R., Teitzel, C. A., Cui, J., French, D.M., McDonough, P. L., & Besser, T. (2000). *Streptococcus didelphis* sp., a streptococcus with marked catalase activity isolated from opossums (*Didelphis virginiana*) with suppurative dermatitis and liver brosis. *Int J Syst Evol Microbiol* 50, 759±765.

Ryan, KJ., & Ray, CG, eds. (2004). *Sherris Medical Microbiology (4th ed.)*. McGraw Hill. pp. 293–4.

Ryan KJ, Ray CG, eds. (2004). *Sherris Medical Microbiology (4th ed.)*. McGraw Hill. pp. 322–4. ISBN 0-8385-8529-9.

Salomez JL, Dupas JL, Marti R, Nuttens MC, Votte A, Lemahieu M, Lemaire B, Colombel JF, Cortot A. (1994). Incidence of inflammatory bowel disease in Northern France (1988-1990). *Gower-Rousseau C*; 35: 1433-8.

Sartor, R.B. (2008). Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 134, 577-594.

Savage, D.C. (1977). Microbiol ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbiol.* 31: 107-133.

Scaldaferri, F., Gerardi, V., Lopetuso, L.R., Del Zompo, F., Mangiola, F., Boskoski, I., Bruno, G., Petito, V., Laterza, L., Cammarota, G., et al. (2013). Gut microbial flora, prebiotics, and probiotics in IBD: their current usage and utility. *BioMed research international* 2013, 435268.

Shanahan F. (2002). The host-microbe interface within the gut. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 16(6), 915-931.

Schering Canada Inc. (2004). Comprendre la maladie de Crohn.

Schlegel, L., Grimont, F., Collins, M. D., Gnault, B., Grimont, P. A. D., & Bouvet, A. (2000). *Streptococcus infantarius* sp. nov., *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius* subsp. nov. and *Streptococcus infantarius* sub sp. *coli* subsp. nov., isolated from humans and food. *Int J Syst Evol Microbiol* 50, 1425±1434.

Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, et al. (1996). Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut*.39(5):690-7.

Shylakhovenko VA (2003). Anticancer and Immunostimulatory effects of Nucleoprotein Fraction of *Bacillus subtilis*. *Experimental Oncology*. 25: 119–123.

Seksik, P. (2010). Gut microbiota and IBD. *Gastroenterologie clinique et biologique* 34 *Suppl* 1, S44-51.

Simren, M., Barbara, G., Flint, H.J., Spiegel, B.M., Spiller, R.C., Vanner, S., Verdu, E.F., Whorwell, P.J., Zoetendal, E.G., and Rome Foundation, C. (2013). Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut* 62, 159-176.

Sinead Harty, Pdraig Fleming, Marion Rowland, Ellen Crushell, Michael Mcdermott, Brendan Drumm, and Billy Bourke A. (2005). Prospective Study of the Oral Manifestations of Crohn's Disease *Clinical Gastroenterology and Hepatology*.3:886–891.

Sonenshein AL (2005). CodY, a global regulator of stationary phase and virulence in Gram-positive w. *Curr Opin Microbiol* 8: 203-207.

- Sonenshein AL (2007).** Control of key metabolic intersections in *Bacillus subtilis*. *Nat Rev Microbiol* 5: 917-927.
- Silverberg M.S., Satsangi J., Ahmad T., Arnott I.D.R., Bernstein C.N., Brant S.R., et al. (2005).** Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol.* 19: Suppl A:5A-36A.
- Sobhani, I., Flourie B., Lavergne A., Colimon R., Mignon M., Modigliani R., & Rambaud J.-C. (1991).** Helicobacter pylori and gastroduodenal pathology *Gastroenterol. Clin. Biol.* 15: 405-420.
- Sobhani I., Vallot T. & Mignon M., (1995).** Helicobacter pylori, une bactérie redécouverte. Son implication dans les maladies gastroduodénales. *Press. Med.* 24: 67-79.
- Sobhani, I., & Wyatt, JI. (2000).** Histopathology of gastro duodenal inflammation : the impact of *Helicobacter pylori*. *Histopathology.* 26:1-15.
- Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, et al. (2008).** Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 28;105(43):16731-6.
- Souquet, J.C. (1995).** Diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Hepato. Gastro.* 2: 17-22.
- Stephani, J., Radulovic, K., and Niess, J.H. (2011).** Gut microbiota, probiotics and inflammatory bowel disease. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis* 59, 161-177.
- Stolte M, Meining A. (2001).** The updated Sydney system: classification and grading of gastritis as the basis of diagnosis and treatment. *Can J Gastroenterol.* 15:591-8.
- Strickland RG, MacKay IR. (1973).** A reappraisal of the nature and significance of chronic atrophic gastritis. *Dig Dis.* 118:426-40.
- Strober, W. (2011).** Adherent-invasive E. coli in Crohn disease: bacterial "agent provocateur". *The Journal of clinical investigation* 121, 841-844.
- Tannock, G.W. (2005).** Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects. *Caister Academic Press, Wymondham. Techniques. Bordeaux : CRDP d'aquitaine.* 363 p.
- Teisserenc, M. (2002).** Les applications thérapeutiques dans la maladie de Crohn. In Haute Garonne (Toulouse: Université Paul Sabatier), pp. 153.
- Tlaskalova-Hogenova, H., Stepankova, R., Hudcovic, T., Tuckova, L., Cukrowska, B., Lodinova-Zadnikova, R., Kozakova, H., Rossmann, P., Bartova, J., Sokol, D., et al. (2004).** Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunology letters* 93, 97-108.

- Tsakalidou, E., Zoidou, E., Pot, B., Wassill, L., Ludwig, W., Devriese, L. A., Kalantzopoulos, G., Schleifer, K. H., & Kersters, K. (1998).** Identification of streptococci from Greek Kasserli cheese and description of *Streptococcus macedonicus* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 48, 519±527.
- Van assche G. et al. (2010).** The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis*.4, 7–27.
- Varela, E., Manichanh, C., Gallart, M., Torrejon, A., Borrueal, N., Casellas, F., Guarner, F., and Antolin, M. (2013).** Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 38, 151-161.
- Vesina, L., & Lacroix, M. (2000).** Classical biochemical tests for the identification of *pectobacterium*(*Erwinia pectinolytiques*) et des *pseudomonas flurescents*. *Laboratoire de diagnostic en phytprotection- MAPAQ*.9p
- Vidal A., Gómez-Gil E., Sans M., Portella M.J., Salamero M., Piqué J.M., et al. (2006).** Life events and inflammatory bowel disease relapse: a prospective study of patients enrolled in remission. *Am J Gastroenterol*. 101: pp. 775-781.
- Vignas, L.K., van den Abbeele, P., Sulek, K., Frandsen, H.L., Steenholdt, C., Brynskov, J., Vermeiren, J., van de Wiele, T., and Licht, T.R. (2013).** Microbiotas from UC patients display altered metabolism and reduced ability of LAB to colonize mucus. *Scientific reports* 3, 1110.
- Vincent, P., & Leclerc, H. (1991).** Digestive tract and pancreas. *Helicobacter*, etiology and epidemiology. *Gastroenterol. Clin. Biol*. 15: 121-123.
- Woodmansey, E.J. (2007).** Intestinal bacteria and ageing. *Journal of applied microbiology* 102, 1178-1186.
- Wang, K., Lu, Wenxin., Tu, Qichao., Ge, Yichen., He, Jinzhi., Zhou, Yu., Gou, Yaping., Nostrand, Joy D Van., Qin, Yujia., Li, Jiyao., Zhou, Jizhong., Li, Yan., Xiao, Liying., & Zhou, Xuedong. (2016).** "Preliminary analysis of salivary microbiome and their potential roles in oral lichen planus". *Scientific Reports*. 6 (1). doi:10.1038/srep22943. PMC 4785528 PMID 26961389. Retrieved 6 May 2017.
- Wyatt JI, Dixon ME.(1988).**Chronic gastritis.A pathogenic approach. *J Clin Pathol*.154:113–24.
- Xavier, R.J., and Podolsky, D.K. (2007).** Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 448, 427-434.
- Xavier RJ, Huett A, Rioux JD. (2008).** Autophagy as an important process in gut homeostasis and Crohn's disease pathogenesis. *Gut*. 57(6):717-20.
- Yousfi M.M., Reddy R., osato m.S. & Graham D., (1997).** Antre ou corps gastrique : quel est le meilleur site biopsique pour mettre en culture *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 1: 25-26.

Zhoua L., H. Braatb, K. N. Fabera, G. Dijkstraa and M. P. Peppelenboschb. (2009). Monocytes and their pathophysiological role in Crohn's disease. *Cell. Mol. Life Sci.* **66** .192 – 202.

ANNEXES

Gélose Mueller-Hinton. (https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose_Mueller-Hinton).

La gélose Mueller-Hinton est une gélose riche pour la réalisation de l'antibiogramme standard.

Composition

- Infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- Peptone de caséine : 17,5 g
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar : 17,0 g
- PH = 7,4

Préparation

38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 121,1 °C.

Lecture

Cette gélose standardisée est la gélose permettant de tester l'action des antibiotiques sur les bactéries. Elle peut être additionnée de sang (pour les *Streptococcus*), d'extrait globulaire (pour *Haemophilus*), Elle doit être coulée en boîte de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm. Il existe un bouillon équivalent.

Gélose Columbia. (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Columbia>)

La gélose Columbia est un milieu très nutritif pour la culture de germes exigeants, comme les *Streptocoques* ou *Pneumocoques* et ou *Hélicobacter pylori*. C'est un milieu d'isolement, base de gélose au sang.

Composition

Polypeptones : 17,0 g/L
Peptone pancréatique de cœur : 3,0 g/L
Amidon de maïs : 1,0 g/L
Chlorure de sodium : 5,0 g/L
Extrait de levure : 3,0 g/L
Agar : 13,5 g/L
PH = 7,3 +/- 0,2

Préparation

42,5 g par litre. Stérilisation classique.

Lecture

Gélose relativement riche. Elle peut être additionnée de nombreux suppléments pour la rendre sélective de groupes bactériens.

Gélose nutritive. (https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%AGélose_nutritive).

Gélose ordinaire est un milieu d'isolement non-sélectif. L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne pur s'il y a un type de colonie sur la gélose ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée.

L'isolement permet de séparer des micro-organismes différents dans un mélange qui pourront être ainsi étudiés individuellement. Sur cette gélose nutritive on observe le nombre de colonies différentes (nombre de type de colonies) et on fait une description des colonies isolées.

Composition

- Extrait de viande : 1,0g/L
- Extrait de levure : 2,5g/L
- Peptone : 5,0g/L
- Chlorure de sodium : 5,0 g/L
- Agar : 15,0 g/L
- PH : 7,0

Préparation

28 g par litre avec stérilisation à l'autoclave.

Viande foie(VF). (https://fr.wikipedia.org/wiki/Viande_foie)

Le milieu viande foie est un milieu de culture. Il est principalement utilisé en tube profond pour la détermination du type respiratoire des micro-organismes, mais aussi pour la culture de germes anaérobies stricts tels que les *Clostridium*. Pour la culture de ceux-ci, on peut utiliser le milieu viande foie en tube profond (composition identique

au milieu de détermination du type respiratoire) ou coulé en boîte de Petri (la composition est identique mais la concentration en agar est de l'ordre de 15 g/L).

Composition

- Base viande foie : 30,0 g
- Glucose : 2,0 g
- Agar : 6,0 g
- PH = 7,4

Préparation

38 g par litre. Autoclavage classique. Conditionnement en tube longs et fins.

Recherche du genre Clostridium

Après avoir laissé fondre de la gélose VF dans un bain mari à 90°C, on l' a avait refroidie dans un bain d'eau à 45°C , puis on a ajouté 02ml de sulfate de Sodium, et 03ml d' Alun de fer ammoniacal, puis mélangé soigneusement le milieu, en le maintenant à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation. Les tubes contenant les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} issus de la solution mère, sont soumis d'abord à un chauffage à 80°C pendant 10mn, puis suivi à un choc thermique c'est-à-dire à un refroidissement sous l'eau de robinet. À partir de ces dilutions on porte aseptiquement 1ml de chaque dilution dans deux tubes stériles, puis on ajoute de la gélose VF prête à l'emploi dans chaque tube jusqu'à ce que le tube soit complètement rempli, et puis on a laissé solidifier sur paillasse pendant 30mn. Apes incubation à 46°C pendant 06, 12, 24, et 48 heures, on a constaté l'apparition des auveins noirs, et puis la coloration noirâtre était étendue dans le tube. (Fig.38).

L'absence de culture révèle des bactéries exigeantes comme les Haemophilus NAD dépendants. La hauteur de la culture permet de déterminer le type respiratoire :

- Culture sur toute la hauteur : aéro-anaérobie facultatif (AAF)
- Culture seulement en haut : aérobie stricte (AS)
- Culture limitée entre 0,5 et 1,5 cm du haut : micro-aérophile
- Culture seulement 1 cm au-dessous du haut : anaérobie stricte (AnS).

Gélose de Sabouraud.(https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose_de_Sabouraud)

La gélose de Sabouraud (qui doit son nom à Raymond Sabouraud) est un milieu d'isolement des Fungi (moisissures et levures).

Il a été créé par, et est nommé d'après, Raymond Sabouraud en 1892. Plus tard ajusté par Chester W. Emmons lorsque le pH a été rapproché de la gamme neutre et la concentration de dextrose abaissée pour soutenir la croissance d'autres champignons. Le pH de 5,6 de la gélose sabouraud traditionnelle inhibe la croissance bactérienne.

Composition

- Peptone..... 10 g
- Glucose massé..... 20 g
- Agar-agar..... 15 g
- Eau distillée (qsp)..... 1 000 ml
- vitamines et facteurs de croissance
- pH = 6,0

Gélose de Sabouraud au chloramphénicol, à la gentamicine

Additionné de chloramphénicol à 0,5 g/l ou de gentamicine à 0,04 g/l, la gélose de Sabouraud empêche la croissance des bactéries (et isole donc les Mycètes : levures, moisissures...).

Bouillon cœur-cervelle. (https://fr.wikipedia.org/wiki/Bouillon_c%C5%93ur-cervelle).

Milieu polyvalent riche utilisé pour la recherche de la coagulase libre (enzyme thermostable des Staphylococcus permettant la formation de caillots de fibrine, coagulation) et la DNase thermostable des Staphylococcus. Il peut aussi servir dans la recherche de streptococcus résistant enterococcus dans la galerie de sherman.

Composition

- Protéose-peptone 10,0 g
- Infusion de cervelle de veau 12,5 g
- Infusion de cœur de bœuf 5,0 g

- Glucose 2,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium 2,5 g
- pH = 7,4

Préparation

37 g par litre. Stérilisation classique.

Gélose Chapman. (https://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose_Chapman).

La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique. Il est utilisé pour l'isolement des *Staphylococcus*.

Composition

- Peptone 10,0 g
- Extrait de viande de bœuf 1,0 g
- Chlorure de sodium 75,0 g
- Mannitol 10,0 g
- Rouge de phénol 0,025 g
- Agar-Agar 15,0 g
- Eau distillée qsp 1 Litre
pH = 7,4

Préparation

111 g par litre de milieu Autoclavage classique.

Lecture

- Pas de virage (le milieu reste rouge) : les colonies **mannitol -** car elles ne fermentent pas le mannitol, légère alcalinisation du milieu par l'utilisation de peptones dans leur métabolisme énergétique.
- Virage au jaune du milieu : les colonies sont **mannitol +** car elles fermentent le mannitol dans leur métabolisme énergétique avec acidification du milieu.

Remarquons que la gélose Chapman est une gélose sélective des staphylococcus.

Dans tous les cas, les micro-organismes cultivant sur ce milieu ont mis en évidence leur caractère halophile.

Bouillon nutritif. (www.biokar-diagnostics.fr)

Le bouillon nutritif constitue un milieu d'utilisation générale pour un grand nombre de microorganismes ne présentant pas d'exigences particulières.

Le bouillon nutritif est constitué d'un mélange de Tryptone et d'extrait de viande qui contribue à la croissance des microorganismes. Le chlorure de sodium est destiné au maintien de la pression osmotique.

Composition

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 10,0 g
- Extrait de viande 5,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g

PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,2 \pm 0,2$.

Préparation

Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté (BK003) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.

- Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Lectures

La croissance est mise en évidence par l'obtention d'une turbidité résultant de la multiplication microbienne.

Galleries API 20E

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 tests biochimiques

miniaturisés, ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

Mode opératoire

Test oxydase

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21ème test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

NOTE : API 20 E doit être utilisé avec des *Enterobacteriaceae* et/ou des bacilles à Gram négatif non fastidieux. Les microorganismes fastidieux, exigeants et nécessitant des précautions de manipulation particulières (ex. *Brucella* et *Francisella*) ne font pas partie de la base de données API 20 E. Il convient d'utiliser d'autres techniques pour exclure ou confirmer leur présence.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (5 ml) ou une ampoule d'API Suspension Medium (5 ml) comme indiqué au paragraphe "Précautions" de la notice

du produit, ou utiliser un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile, sans additif.

- A l'aide d'une pipette ou d'une PSipette, prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou –) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
 - Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur **marron-rougeâtre** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.
 - Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur **rose** diffusant dans toute la cupule indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats.
 - Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur **rose** ou **rouge** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration **rose** apparaissant après 10 minutes doit être considérée **négative**.

NOTE :

Le test de la recherche de production d'indole doit être réalisé en dernier, car cette réaction libère des gaz qui risquent d'altérer l'interprétation d'autres tests de la galerie. Ne pas remettre le couvercle d'incubation après l'ajout du réactif.

- Si le nombre de tests positifs avant ajout des réactifs (y compris le test GLU) est inférieur à 3 :
 - Réincuber la galerie 24 heures (\pm 2 heures) de plus sans rajouter les réactifs.
 - Révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs (voir paragraphe précédent).
 - Pour compléter l'identification, il peut être utile de réaliser des tests complémentaires (se reporter au paragraphe Identification).

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :

Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

- Identification :

Elle est réalisée à partir de la base de données (V4.1)

- * à l'aide du Catalogue Analytique :

- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.

- * à l'aide du logiciel d'identification **apiweb TM** :

- Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.

TRAVAUX PUBLIES



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Contribution to the evaluation of gastric microbiota, case of B gastritis

Djamel Eddine Bekada^{*1}, Ahmed Mohammed Ali Bekada², Naïma Settache³, Fatima Zohra, Bensadoun⁴, Ibtissem Takarli⁵, Djamel Ait Saada⁶, Abed Arabi⁷, Abdelkader Merahi¹, Mebrouk Kihal¹, Miloud Heddadji¹

¹Research Laboratory in Applied Microbiology, Department of Biology, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Oran 1 Ahmed Benbella, El M'Naouer, Oran, Algeria

²Laboratory of Agronomy-Environment, University Center of Tissemsilt, Algeria

³Gastroenterology Service, Health Public Department, Public Hospital of Mostaganem, Algeria

⁴Department of Infectiology, Center Hospitalouniversitaire (CHU), Oran, Algeria

⁵Laboratory of Pathology, Private Department of Mostaganem, Algeria

⁶Laboratory of Food Technology and Nutrition Microbiology, University of Mostaganem, Algeria

⁷Laboratory of Microbiology and Plant Biology, University of Mostaganem, Algeria

Key words: Gastritis, Biopsies, Culture, Bacteria, Biochemical tests, Phenotypic identification

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/14.2.522-536>

Article published on February 28, 2019

Abstract

The present study focused on the isolation and identification of the gastric bacterial ecosystem involved in the pathology of B type gastritis according to Sydney classification. Isolation performed after grinding the various biopsies on specific selective culture media permitted a selection a set of bacteria belonging to this gastric ecosystem. The data were phenotypically identified, by biochemical assays use, different API galleries. The main isolated germs belong to the genus and species, *Staphylococcus aureus*, *Proteus-mirabilis*, and *Helicobacter-pylori*.

* **Corresponding Author:** Bekada Djamel Eddine ✉djamelhalieut@gmail.com

Introduction

The gastrointestinal tract is an ecosystem, favorable to exogenous microorganisms. It is managed by a cooperation between the gastrointestinal epithelium, the immune system, and the microbiota commonly called intestinal flora. Interactions between microorganisms and the host can be of three types: symbiosis, commensalism and pathogenicity (Hooper and Gordon, 2001).

The microbiota of the gastrointestinal tract has been estimated at about 10^{13} - 10^{14} microbial cells representing 400-500 species and subspecies (Moore and Holdeman, 1974; Björkstén, 2004).

Bacteria have specific respiratory needs, they are either strict aerobes requiring oxygen for their breathing, or strict anaerobes whose presence of oxygen is toxic to them, or facultative aero-anaerobes that can develop in the presence or absence of oxygen. In the absence of oxygen, either micro-aerophiles that develop under a low oxygen pressure, or finally aero-tolerant anaerobes developing in the absence of oxygen, but they tolerate the presence of the latter in the medium. (Rolfe *et al.*, 1978)

The gastric microenvironment is home to acidotolerant and facultative anaerobic microorganisms such as lactobacilli, streptococci, and yeasts (Cummings *et al.*, 1989; Gournier-Chateau *et al.*, 1994)

The gastric ecosystem hosts a pathogenic bacterium called *Helicobacter pylori* which is recently recognized for its inducing power of certain gastric pathologies, such as gastritis, gastric ulcer, gastric lymphoma MALT and also gastric cancer (Mégraud, 1994).

The objective of this study is to isolate, identify the different microbiota, and look for possible anaerobic bacteria coexisting with *Helicobacter pylori*, and also aerobic tolerant bacteria, and this from the gastric biopsies of patients, taken at of the gastroenterology department of Mostaganem Hospital, and private offices.

After endoscopic examination, one of the biopsy samples is intended to undergo an examination of pathology to confirm the endoscopic diagnosis of gastritis or gastric ulcer, the other samples will be intended for the microbiological study.

After the isolation step, biochemical tests for bacterial identification and the use of the different API galleries indicated for each of the isolated bacterial strains were performed.

Materials and methods

Endoscopic examination

Biopsy specimens were taken away from treatment with antibiotics or antisecretory agents. The conditions of sterility must be respected at the time of sampling. The samples were taken under endoscopy in the antral region about 2 cm from the pylorus using a standard endoscope (Olympus GIFXQ 10) and a biopsy forceps, previously disinfected with glutaraldehyde and rinsed well due to inhibitory activity of this product on *Helicobacter pylori* (Miftahussurur and Yamaoka, 2016)

(Mégraud and Lamouliatte, 1992) Four (04) antral biopsies were taken, which will be respectively used for cytology, histopathology and culture. The biopsy specimens are placed in sterile dry tubes containing saline or saline saline.

Pathological examination

The purpose of this examination is to confirm the endoscopic diagnosis. It allows on the one hand, to study the gastric mucosa and its histological modifications, and on the other hand to visualize the spiral bacteria. It was performed on histological sections prepared from gastric biopsies, stained with modified Giemsa stain, and observed at high magnification (Mégraud, 1995)

Microbiological examinations

Cytological examination

This examination consists of the demonstration under anaerobic and aerobic conditions of the germs of different forms, belonging to the gastric ecological

niche, and which can testify to the presence of bacterium, by a Gram stain of the biopsy imprint. For this, a biopsy is deposited on a slide, then crushed with a second blade in order to obtain a fine and regular smear. The prepared smear is then dried, fixed, and then stained with Gram stain (Sobhani *et al.*, 1991; Mégraud, 1994; Cellini *et al.*, 1995). Then, the preparation is observed under a light microscope at low magnification (X 10) in order to visualize and locate the richer areas in cells, then at high magnification to observe the different Gram stains, and selectively the negative Gram spiral shapes. It is necessary to observe a large number of microscopic fields because of the sometimes inhomogeneous distribution of the bacteria in the gastric biopsy (Mégraud, 1989; Mégraud and Lamouliatte, 1992)

Culture and isolation

For isolation, gastric antral biopsies are crushed in 1 ml of nutrient broth using a sterile mortar to release the bacteria and then seeded in modified Columbia agar medium with 10% blood mutton, and this after successive decimal dilutions. The fresh state consists of depositing on a slide, a drop of the bacterial suspension covered by a coverslip in search of possible mobility of the microorganisms, the preparation is observed at magnification (x 40). (Marchal *et al.*, 1991). After inoculation, few boxes are immediately incubated in a jar in a microaerobic atmosphere to promote the development in anaerobiosis, and the other boxes are put directly into the incubator to allow growth in aerobic at 37 ° C for 5-7 days. The atmosphere is renewed at least every two days for optimal growth.

Identifications

Identification is based on the determination of morphological and biochemical characters (Cassel, 1996).

Macroscopic examination

The morphology of the colonies and their size are studied from the cultures obtained on the following media: Columbia agar or chocolate agar (Mégraud and Lamouliatte, 1992), (Fauchère and Rosenau, 1991).

Microscopic examination

It was performed on a bacterial smear, prepared from suspicious colonies in pure cultures, then fixed and stained by the Gram method. (Mégraud, 1994).

Biochemical tests

Catalase test

Catalase is an enzyme produced in abundance by bacteria with a respiratory metabolism that destroys hydrogen peroxide and releases oxygen, (Vezina *et al.*, 1991; Lacroix *et al.*, 2000)

The technique involves taking a portion of the colony and emulsifying in a drop of hydrogen peroxide (30 V). The release of gas bubbles means that it has catalase production (Prescott *et al.*, 2003).

Oxidase test

The oxidase assay is based on the bacterial production of an intracellular oxidase enzyme in the presence of atmospheric oxygen and cytochrome C (Vezina *et al.*, 1991; Lacroix *et al.*, 2000).

To determine the oxidase activity, a taken colony is put in a drop of oxidase reagent (Biomerieux France). The development of a purple color means that the test is positive and that the isolate has the oxidase enzyme (Kovács *et al.*, 1995).

Urea rapid test

A biopsy fragment is put using a sterile loop in a tube containing 0.5 ml of urea-indole solution. The reading of the results is interpreted by a turn of the indicator towards red, taking place after 20 min and 24 h after incubation at 37° C. (Cassel-Béraud *et al.*, 1997).

Triple Sugar Iron medium (TSI)

This method makes it possible to demonstrate on the one hand, the fermentation of glucose (with or without release of gas), lactose, sucrose and on the other hand, the production of hydrogen sulphate (H₂S). It is a sloping and pellet medium by seeding a bacterial colony, the slope is seeded by streaks and the pellet by central bite, then incubation at 37°C for

18 to 24 hours, and this for the purpose of evaluating the metabolic activity of different bacterial strains, such as, the lactose fermentation on the slope that translates to yellow turn, the fermentation of sucrose which is also visualized by a yellow turn, the presence of gas that is manifested by the detachment of the pellet or the presence of air bubbles, and the production of H₂S which is interpreted by a black coloring. (Marchal *et al.*, 1991; Leveau and Bouix, 1999)

Mannitol-mobility test. (Le Minor, 1993)

Inoculation of the environment is realized by central stinging with the Pasteur pipette buttoned and loaded with a pure bacterial suspension, then put into oven at 37° C for 24 hours.

The use of mannitol acidifies the medium which can be revealed by turning the pH indicator to its acidic (yellow) hue.

If the bacterium ferments mannitol, the reaction is called positive(+) mannitol, on the other hand, if the medium turns to red, no fermentation of mannitol, the reaction is called: negative (-) mannitol.

Fermentation of mannitol with gas production

The presence of bubbles indicates a presence of gas, it is said that the reaction is called positive mannitol (+) with gas production.

Mobility

The immobile germs only grow at the level of the central stinging while the mobile germs diffuse in the agar.

Search for nitrate reductase

Two (02) drops of Nit1 and Nit2 are added in the different tubes, if there is a red ring it is said that we have a positive nitrate reductase (+) reaction, but if there is no reaction, we will proceed to the addition of Zinc powder:

If there is no red ring, no reaction, it is the stage of dinitrogen, one says nitrate reductase positive (+). But if there is presence of red ring, it is called nitrate reductase negative (-).

Interest of API galleries

The study of biochemical characters is based on the use of API galleries. 20E, 20NE, which will be used to perform specific biochemical tests for each isolated bacterium (Fabre *et al.*, 1994)

Antibiogramme

This test makes it possible to study the sensitivity of isolated strains to antibiotics, this sensitivity is tested by the dissemination method (disk method) on Muller-Hinton medium (MH) supplemented with 10% of sheep blood, using several antibiotics (Lozniewski *et al.*, 1996)

Bacterial Interactions

In this section we will test the inhibitory effect of *Lactobacillus sp.*, Selected against Gram-positive and Gram-negative bacteria found in our research study. The lactic strains are tested for their inhibitory power with respect to certain pathogenic bacteria, thus making it possible to determine their spectrum of activity (Geis *et al.*, 1983).

Results and discussion

Endoscopy examination: (Fig, 1 and 2).

The seat of inflammation is characteristic for each patient, it is either antral or fundic. The endoscopic diagnosis is that of erythematous gastritis with a congestive fundus and antrum, sometimes with bilious reflux.

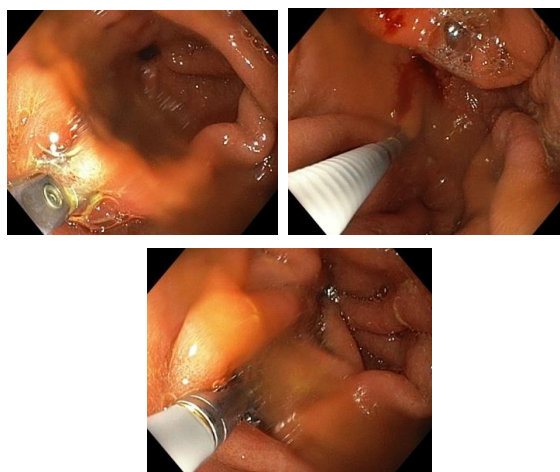


Fig. 1. Collection of a biopsy of an erythematous antrite.

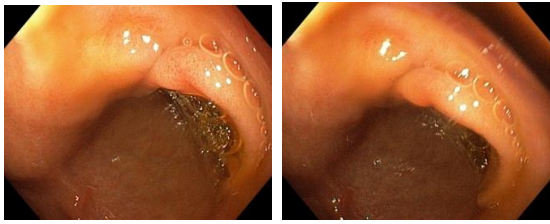


Fig. 2. Exulcerous Antrite.

Pathological examination

Histopathological examination of microfragments revealed chronic atrophic gastritis, with occasional observation of *Helicobacter pylori* in the form of comma (,), V, and curved (Fig. 3). On the other hand, it has been noted in the Fig, 4 only lesions of the gastric mucosa in favor of gastritis, without the presence of the *Helicobacter pylori* forms.

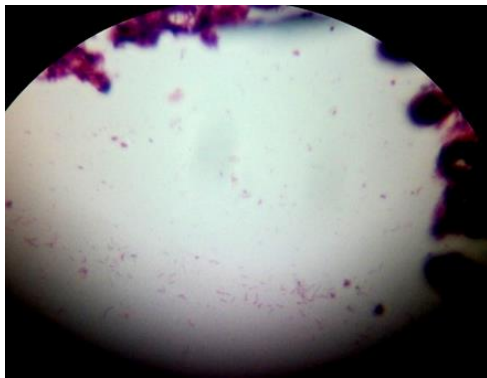


Fig. 3. Pathological microscopic observation of biopsy fragment with presence of *Helicobacter pillori*.

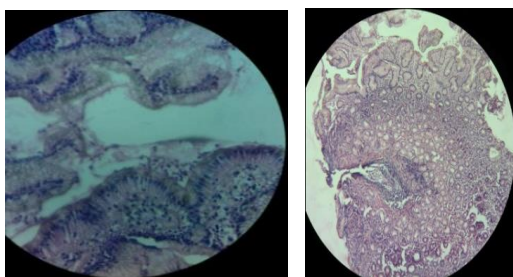
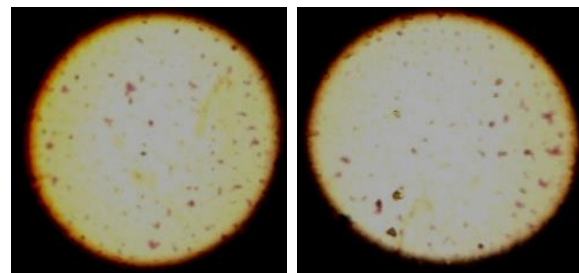


Fig. 4. Pathological microscopic observation of gastric biopsy fragment (Gr X 100).

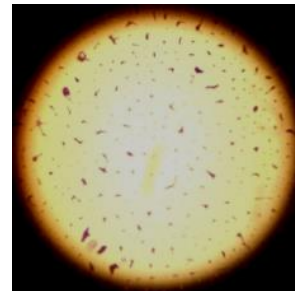
Cytological examination of the biopsy

After Gram staining of the gastric biopsy impression, the observation under the optical microscope at x100 magnification reveals the presence of Gram-negative bacillus in the form of V (Fig, 5a), Virgule (Fig, 5b), curved (Fig, 5c), and cocoid (Fig 5 a, b, c).



a. Shape: V

b. Comma form (,)



c. Shape: Curved

Fig. 5. (a, b, c). Optical microscope observation of a human gastric biopsy fragment, X100 magnification.

Culture and isolation

The observation in the fresh state, under the optical microscope at low magnification x 40, reveals that some bacteria are mobile, while others are immobile.

Macroscopic examination

After seeding from the different decimal dilutions from the crushing of human gastric biopsies, on different selective isolation media, and after aerobic and anaerobic culture in the oven at 37° C, there is an appearance of bacterial colonies of different diameters, the smallest of which can reach a millimeter (1 mm), of rounded and sometimes convex shape, light brown and dark, creamy, transparent and shiny. These macroscopic characters are characteristic of different colonies of aerobic and anaerobic bacteria (Fig. 6).

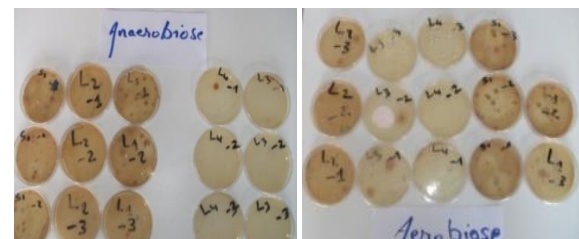


Fig. 6. Anaerobic and aerobic culture of bacteria on solid media colombia with blood.

Microscopic examination

In order to obtain pure bacteria, it was necessary to make several transplants, and following a gram stain, the observation under the light microscope at high magnification (x 100), revealed the presence of several microbiological Gram forms. Positive (+) and Gram negative (-) from aerobic culture (Fig 07), and anaerobic (Fig 08) that can be either bacilli or coccis.

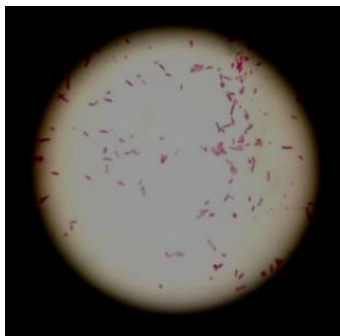
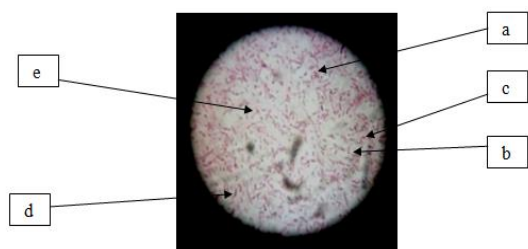
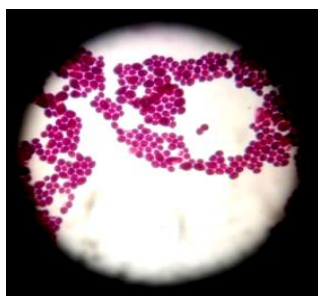


Fig. 7. Microscopic appearance of different aerobic isolate (S1, 2). (Isolate S1, 2 small bacilli and Gram negative cocobacillus).



Isolate L2, 1 Gram-negative Bacillus in different aspects, in V (a), comma (b), S (c), slightly curved (d), and coccoid (e).



Isolate L3 Gram (+) cocci (+), associated, grouped together into clusters.

Fig. 8. Microscopic appearance of different anaerobic isolates (L2, 1, L3).

Results of the antibiogram test

Aerobic isolates

Table, 01 interprets the results of the antibiogram of aerobic bacteria isolates, S1, 2. The study of the sensitivity of the different bacteria tested with the antibiotics usually used in the therapeutic choice by the disk diffusion technique showed the excellent activity of the majority of the antibiotics used with respect to these bacteria (Fig, 09).

The bacterium S1, 2, is sensitive to, cefoxitin (FOX) (12 mm), amoxicillin + clavulanic acid (AMC) (18mm), gentamycin (CN) (26mm), and Kanamycin (K) (20mm), but presents a resistance to Cefotaxime (CTX) (08mm), Ampicillin (AM) (09mm), and Nalidixic Acid (NA) (07mm).

Table 1. Result of the antibiogram against aerobic bacteria.

Aerobic bacteria	Discs of antibiotic						
	CTX (mm)	FOX (mm)	AM (mm)	AMC (mm)	CN (mm)	K (mm)	NA (mm)
S1, 2	08	12	09	18	26	20	07



Fig. 9. Antibiogram of aerobic bacteria on Mueller Hinton medium (S1, 2).

Anaerobic isolates

Table, 02 interprets the results of the antibiogram of isolates of anaerobic bacteria, L2,1, and L3 (L3,1), (Fig, 10).

The bacterium L2.1 is sensitive to discs, Cefotaxime (CTX) (26mm), Cefoxitin (FOX) (12mm), Gentamycin (CN) (27mm), Kanamycin (K) (25mm), and Nalidixic Acid (NA) (22mm). It is resistant to Ampicillin (AM) and Amoxicillin + Clavulanic acid (AMC), respectively having a zone diameter of inhibition at 06 and 07 mm.

The L3 (L3,1) bacterium is resistant to the majority of discs with an inhibition zone diameter of 06 and 07 mm, but is slightly sensitive to cefoxitin (FOX) (13mm) and nalidixic acid (NA) (12mm).

Table 2. Result of antibiogram against anaerobic bacteria.

anaerobic bacteria	Discs of antibiotic							
	CTX (mm)	FOX (mm)	AM (mm)	AMC (mm)	CN (mm)	K (mm)	NA (mm)	
L2,1	26	12	07	07	27	25	22	
L3=L3,1	07	13	07	07	07	06	12	

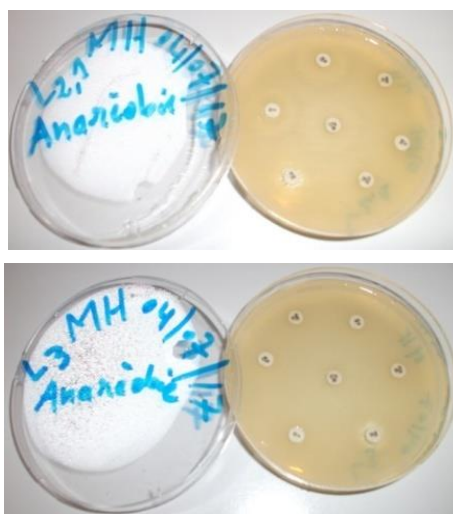


Fig. 10. Antibiogram of anaerobic bacteria on Mueller Hinton medium (L2, 1, L3).

Inhibitory effects of lactic acid bacteria

The interest of this test is the demonstration of possible antagonism existing between lactic acid bacteria (lactobacilli: LCA, B116, LV21 LV22) with respect to bacterial, aerobic and anaerobic isolates coexisting in the human gastric ecosystem. Table, 03, interprets the results of the antagonistic effect of lactic acid bacteria on the aerobic bacteria found in our research study (Fig, 11).

Table 3. Result of the inhibitory effect on aerobic bacteria.

Aerobic bacteria	lactobacilli			
	B116(1) Mm	LV21(2) mm	LV22(3) Mm	LAA(4) Mm
S1, 2	06	07	11	13

The bacterium S1, 2 is sensitive to LV22 (11 mm), LAA (13 mm), however it is resistant to B116 (06mm) and LV21 (07mm).



Fig. 11. Inhibitory effect of lactobacilli on aerobic gastric bacteria (S1, 2).

Table, 04, interprets the results of the antagonistic effect of lactic acid bacteria on anaerobic bacteria. (Fig, 12).

Table 4. Result of the inhibitory effect on anaerobic bacteria.

Anaerobic bacteria	lactobacilli			
	B116(1) Mm	LV21(2) Mm	LV22(3) Mm	LAA(4) Mm
L3= L3, 1	09	08	10	17
L2, 1	09	10	11	13

The bacterium L2, 1 is slightly sensitive to B116 (09mm), sensitive to LV21 (10mm), to LV22 (11mm) and LAA (13mm).

The bacterium L3 is slightly sensitive to B116 (09mm), resistant to LV21 (08mm), but sensitive to LV22 (10mm) and LAA (17mm).

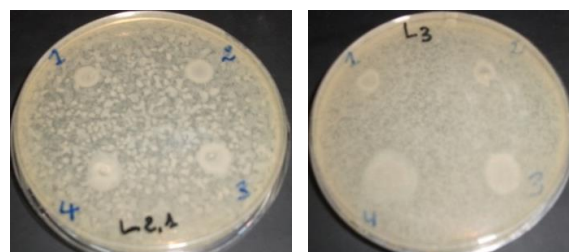


Fig. 12. Inhibitory effect of lactobacilli on gastric anaerobic bacteria (L2, 1, L3).

Criteria for identification

The identification of the isolates was performed against certain criteria obtained from the results, which are respectively related to the macroscopic appearance of the colony of the bacterium, the gram stain, the biochemical characteristics and the resistance phenotype. Antibiotics, the other biochemical characters being generally studied from API 20 NE, and API 20 E.

Anaerobic bacteria

The isolate L2, 1

The set of results that were found in the table, 05, directs us towards a pre-identification of the L2, 1

isolate as *Helicobacter pylori*. In parallel with the results of the table, 06 (biochemical tests), it was found that the table, 07 groups the phenotypic characteristics of the isolate L2, 1, in favor of *Helicobacter pylori*, referring, respectively, to the anatomopathological examination, cytological biopsy fragment in the fresh state, and microscopic study of the bacterium.

The results of the isolate L3 (L3, 1), grouped in Table 07, point to the genus *Staphylococcus*. In parallel with this phenotypic aspect, the yellow coloration in Chapman medium, and the positivity of the coagulase test adopt the strain *Staphylococcus aureus* for this isolate.

Table 5. Result summarizing the identification criteria for isolate L2, 1.

Anaerobic isolate	Critères								
	Gram	mobility	catalase	oxydase	Uréa	indole	mannitol	Respiratory type	Others
L2, 1	Gram negative	mobile	+	+	+	+	+	microaerobic	Lactose(-) sucrose (-) H2S(+) Gas (-) Nitrate(+)

Table 6. Result of the identification of *Helicobacter pylori*.

Isolate	Optical microscope observation (x 100)			mobility	catalase	oxydase	Uréa	Respiratory type
	ASPECT							
	Pathology	Fresh state	Microscopic					
L2, 1	V Y	V Incurved comma(,)	V S Incurved comma(,)	mobile	+	+	+	microaerobic
	Figure :3	Figure :5	Figure : 08					

The isolate L3 = L3, 1

Table 7. Result summarizing the identification criteria for isolate L3= L3, 1.

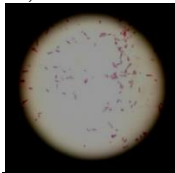
Anaerobic isolate	Tests										
	Gram	mobility	catalase	oxydase	Urea	indole	mannitol	Chapman culture	coagulase	Respiratory type	others
L3= L3, 1	Cocci gram +	Immobil	+	-	+	+	+	+	+	Optional anaerobic air	Lactose + Gas -



*Aerobic Bacteria**The isolate S1, 2*

The set of results, grouped in the table 08, parallel to those obtained by the api20E gallery, made it possible to identify the isolate S1,2 as *Proteus mirabilis*: 7323000.

Table 08. Result summarizing the identification criteria for isolate S1, 2.

Aerobic isolate S1,2	Tests										
	Gram	mobility	catalase	oxydase	Ur�ea	indole	Mannitol	chapman Culture	coagulase	Respiratory type	Others
	Cocobacillus Gram-	mobile	+	-	+	+	+	-	-	Optional anaerobic air	Lactose - sucrose - H2S - Gas - Nitrate -

Discussion

The realization of the gastric biopsies during fibroscopy followed by histological, cytological, culture, rapid urease test, and identification by other biochemical tests revealed a number of bacterial strains belonging to the gastric ecosystem.

In our research study we isolated several bacteria but the most considered are, *Helicobacter pylori*, *Proteus mirabilis*, and *Staphylococcus aureus* and are therefore predominant in the gastric microenvironment. Their presence at the gastric level is justified by their resistance to high gastric acidity by their secretion of a strong urease. Nevertheless, this is not the case of the strain *Staphylococcus aureus* which, despite having a negative urease, resists gastric acidity and this resistance is probably due to a variable and powerful genetic code.

These three bacterial strains secrete toxins capable of causing an inflammatory state in the gastric mucosa and thus induce their pathogenic powers that can generate an immune disorder to these patients.

The antibiogram has allowed us to make a choice towards other antibiotics that have the ability to render through their active ingredients these sensitive bacterial strains, which may lead to inhibition or weaken the effect of toxins secreted by these bacteria.

The use of the inhibition test by lactic acid bacteria

derived from goat's milk led us to observe that the majority of these bacteria generally had a sensitivity towards the majority of these lactic acid bacteria, and could thus introduce it as a dietary supplement in combination with conventional treatment in the case of Gastritis B.

Bacteria ingested during meals have limited survival in the stomach (Vincent, Vach e, & Leclerc, 1995) with the exception of those that pass quickly through the stomach or that are resistant to gastric pH (Savage, 1977). Indeed, the cases of *Streptococcus entericus*, bacterial colonization of the stomach by species of aerodigestive origin (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Bacteroides*, *Bifidobacteria* ...), and occasionally *enterobacteria*, *pyocyanic bacilli* and yeasts (*candida*), may be due to age-related hypochloridemia, antisecretory treatment or surgery (Vagotomy, gastrectomy); (Bishop and Anderson, 1960; Savage, 1977; Drasar, 1989; Vincent *et al.*, 1995).

The stomach, a strongly acidic medium (up to PH 2) where oxygen is present, hosts acid-tolerant and facultative anaerobic microorganisms such as *streptococci* and *lactobacilli*, and a microaerophilic *Helicobacter pylori* (Lamine *et al.*, 2004). But they remain small (10¹ to 10³ cfu / ml) because of the acidity and the intestinal motor activity which limits a stable colonization of the gastric epithelium. In the small intestine, the microbiota is composed of facultative

anaerobic bacteria such as *streptococci*, *lactobacilli* and *enterobacteria* and strict anaerobes such as *bifidobacteria*, *bacteroids* and *clostridia*. The flora is still relatively poor because of the peristalsis and the abundance of secretions; the density increases from 10³ to 10⁸ cfu/ml from the duodenum to the ileum. In the colon, the microbial flora is more and more varied and abundant (10¹² cfu/ml). It is dominated by anaerobic bacteria (*Bacteroides* 10¹¹ per stool gram, *Bifidobacterium*, *Clostridium*) while facultative anaerobic bacteria (such as *lactobacilli*) disappear almost completely (O'Hara and Shanahan, 2006).

The human microbiota is distributed mainly in the oral cavity and along the digestive tract but it is in the distal part of the digestive tract that the bacteria are in greater numbers. They are arranged according to a growing oro-anal gradient with maximum microbial richness in the distal colon. There would be a total of 10¹⁴ bacteria in the digestive tract, which is 10 to 20 times the total number of cells in all tissues of the body (Suau *et al.*, 1999).

S1.2 isolate (aerobic)

The overall results, had identify S1.2 isolate as *Proteus mirabilis*: 7323000. This strain is the usual host of digestive tract of man and animals. The strain *Proteus mirabilis* exhibits the general characteristics of *Enterobacteria*, it is an optional anaerobic bacterium, fermenting glucose with gas production, H₂S positive, oxidase negative, catalase positive, has a nitrate reductase, (Archambaud *et al.*, 2015).

Bacteria belonging to the species *Proteus mirabilis*, have a morphology of gram-negative rod-shaped bacilli, generally very mobile, polymorphic, measuring from 0.4 to 0.8µm in diameter over 1.0µm to 80µm in length, very alternately flagellated between vegetative swimmers and hyper-flagellate teeming cells (Belas *et al.*, 1991). *Proteus mirabilis* has the ability to elongate and secrete a polysaccharide when in contact with solid surfaces, making it extremely mobile on items such as medical equipment. It is characterized by its motility of

swarming, its ability to ferment maltose and its inability to ferment lactose (Liu, 2009).

Proteus mirabilis requires an environment with high alkalinity. A suitable medium for *Proteus mirabilis* must have a pH greater than (Frasca *et al.*, 2008). Nevertheless, it was found in our study, that this bacterium had presented a positive urease following the urea indole test, allowing it to develop a favorable environment to adapt to the acidic PH gastric environment.

Urease is very important in the pathogenesis of *Proteus mirabilis*, this enzyme is composed of UreA, UreB, UreC trimers (Jones and Mobley, 1988) and a nickel co-enzyme, which catalyzes the formation of kidney stones and bladder (Coker *et al.*, 2000; Armbruster *et al.*, 2018).

On the other hand, *Proteus mirabilis* secretes hemolysin which is cytotoxic for epithelial cells of the urinary tract (Silver and Misra, 1984). This hemolysin can induce by its toxicity a cellular disorder and cause an inflammatory state in the gastric mucosa, and this thanks to its adaptability due to its ability to secrete urease enzyme.

L2.1 isolate (anaerobic)

The detection of urease by the indole- urea test is favorable for the presence of the bacteria (Baumer *et al.*, 1992). This enzyme, an essential characteristic of *Helicobacter pylori* hydrolyzes the urea normally present in the stomach in ammonia and carbon dioxide. The ammonia released neutralizes the bacterial microenvironment by protecting it from gastric acidity (Mégraud and Lamouliatte, 1992).

The speed and intensity of the reaction depend on the time of the transfer and the bacterial density (Sobhani *et al.*, 1991) (Mégraud and Lehours, 2007; Werme *et al.*, 2015). In the case of the reaction of isolate L2,1 with indole urea, the transfer time to the pink color is obtained at 20 minutes.



similar to our results (Mégraud and Lamouliatte, 1992; Fennerty, 1994) obtained positive reactions in 20 minutes in patients suffering from a gastroduodenal disease, thus making this speed as a very favorable index in the meadow identification.

Nevertheless, about 80% of the cases studied (Delchier *et al.*, 1996) observed a positivity of urease in the first half hour.

In addition, the positive transfer of the coloration is a function of the bacterial load in the indole urea medium, that is to say depends on the number of bacteria present in the biopsy which is of the order of 10⁵ bacteria (Megraud *et al.*, 1991; Lamouliatte, 1993; Danquechin Dorval *et al.*, 1994; De Korwin, 2003) On the other hand, the presence of *Helicobacter pylori* can not be established solely by the positivity of the indole urea test, however, the identification must be coupled by other tests (Delchier *et al.*, 1996)

Following the cytological examination of a biopsy fragment smear, the presence of a characteristic morphology specific to *Helicobacter pylori* was found (Fauchère and Rosenau, 1991). Our cytological examination confirms the presence of gram-negative, curved, V, S, comma and sometimes coccoid and slightly spiral bacilli for isolate L2,1. The presence of these forms in biopsy impressions has already been reported by (Mégraud and Lamouliatte, 1992; Mégraud, 1995; Cassel-Béraud *et al.*, 1997)

This examination demonstrates the presence of a characteristic morphology of *Helicobacter pylori* and confirms its particular location (de Mascarel *et al.*, 1989; Mégraud, 1995). At the same time, this technique has been confirmed by (de Mascarel *et al.*, 1989; Megraud *et al.*, 1991; De Korwin, 2003)

This gastric localization only confirms the presence of *Helicobacter pylori* at the level of the epithelium of this organ, highlighting the contact relations between this bacterium and the gastric epithelial cells, preferential site of *Helicobacter pylori* and confirms its membership in mucous bacteria digestive

(Lamouliatte, 1993; Danquechin Dorval *et al.*, 1994; Mégraud and Lehours, 2007)

Bacteriological culture is a key tool in the identification of *Helicobacter pylori*, as well as the antibiotic susceptibility test, but it requires special attention (De Korwin, 2003)

The isolation of *Helicobacter pylori* requires a microaerobic culture (Campy-pack system) in a culture medium enriched with blood, serum or starch (Sobhani *et al.*, 1991; Fennerty, 1994; Fabre *et al.*, 1994). For this purpose, we used isolation media with added blood, such as Columbia agar, to which blood was added. This was demonstrated by the Graham team using an agar medium, enriched with 7% horse blood to treat gastric biopsies (Hachem *et al.*, 1995)

Once the bacterium was isolated, we proceeded to the study of the identification of the L2.1 isolate which is based on morphological characters (macroscopic, microscopic) and biochemical (Megraud *et al.*, 1991; Mégraud and Lamouliatte, 1992; Lamouliatte, 1993; Mégraud, 1995; Mégraud and Lehours, 2007). The particular appearance of *Helicobacter pylori* facilitates its identification (Mégraud and Lamouliatte, 1992) and these traits specify the species of *Helicobacter pylori* (Megraud, 1989; Mégraud, 1994, 1995; Mégraud and Lehours, 2007)

Microscopic observation of the L2.1 isolate revealed a Gram-negative bacterium with characteristic *Helicobacter pylori* forms. At the same time, (Mégraud, 1994) confirmed the Gram-negative nature of this bacterium. On the other hand, the existence of variable cell forms (curved, comma, C-shaped, V or S), do strengthen this particular morphology of *Helicobacter pylori* (Fauchère and Rosenau, 1991; Mégraud, 1994).

It has been found in biochemical tests that the L2.1 isolate has a positive oxidase, catalase and urease. The positivity of these three biochemical characters directed us towards a pre-identification of *Helicobacter pylori* (Megraud, 1989; Fauchère and Rosenau, 1991;

Sobhani *et al.*, 1991; Mégraud, 1994) (Perry *et al.*, 2006; Medouakh and Bensoltane a, 2011)

According to (Samuels *et al.*, 2000) the irregular distribution of bacteria in the gastric mucosa may adversely affect the appearance of colonies in culture media and may therefore contribute to false negative results. *Helicobacter pylori* (isolate, L2,1) was found to be resistant to the antibiotic disk Amoxicillin + clavulanic acid (AMC) with a diameter of the inhibition zone equal to 07 millimeters (mm).

Resistance to metronidazole and sometimes to clarithromycin poses many problems in contrast to amoxicillin and tetracycline, antibiotics which only exceptionally give resistance (De Korwin, 2003).

L3 = L3, 1 isolate (anaerobic)

This bacterium has been recognized as *Staphylococcus aureus* presenting as a hull in clusters, Gram positive and catalase positive. Its carotenoid content gives it a golden color at the origin of its name (George Y *et al.*, 2005). The species *Staphylococcus aureus* is commensal of the man, it is present in 15 to 30% of the so-called healthy carriers in whom it has a role of ecological protection, and turns out opportunistic pathogen in certain places or in certain circumstances. *Staphylococcus aureus* has pathogenic powers, including an invasive ability, ability to multiply and spread in the body, and a toxic power, ability to develop a toxin by the bacterium that has both toxic and antigenic in the host (Joël, 2017).

Staphylococcus aureus is found in about 27% of healthy individuals in the nasal cavity, in the gastrointestinal tract, and in lesser amounts on the skin and other mucous membranes. It is also found in small amounts in the digestive tract and often in the perineum (Leyden *et al.*, 1974)

Conclusions

The aim of this current work is to make a state of gastric environment concerning the bacteria isolated from gastric biopsies, co-existing with *Helicobacter pylori* in the case of Gastrite B.

The identification of pathogenic bacteria, including *Helicobacter pylori*, was carried out by methods requiring the performance of human gastric biopsies, among which we mention the rapid urease test, the cytological examination, the histological examination, culture, and the use of API Galleries.

The culture remains the reference diagnostic method because it allows on the one hand an isolation of *Helicobacter pylori* and identification of bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Proteus-mirabilis*. And on the other hand the study of antibiotic sensitivity for an effective treatment allowing the eradication of *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, and *Proteus-mirabilis*.

In parallel, the identification of these bacteria isolated from gastric biopsies was made on the basis of their morphological, biochemical characters, and API galleries. Phenotypic criteria are still important today for the classification of these isolated bacteria in research study.

Lactobacilli are known for their antibacterial effect and therefore they have the ability to protect humans against pathogenic bacteria.

In the case of our research study, lactobacilli could therefore be exploited and used as a therapeutic adjunctive agent to eradicate infection with *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, and *Proteus-mirabilis* identified from biopsies of patients with gastritis type B.

Acknowledgments

The authors wish to thank the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria for financial support.

Compliance with ethical standards

I respected all ethical standards

Disclosure

The authors declare no conflict of interest.

Références

- Archambaud M, Clavé D, Grosjean J, Pasquier C.** 2015. Bacteriologie et Virologie Pratique. Bruxelles: De Boeck.
- Armbruster CE, Mobley HLT, Pearson MM.** 2018. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Infection. *EcoSal Plus* **8**.
- Baumer P, Danquechin Dorval E, Bertrand J, Vetel JM, Schwartz JC, Lecomte JM.** 1992. Effects of acetorphan, an enkephalinase inhibitor, on experimental and acute diarrhoea. *Gut* **33**, 753-758.
- Belas R, Erskine D, Flaherty D.** 1991. *Proteus mirabilis* mutants defective in swarmer cell differentiation and multicellular behavior. *Journal of Bacteriology* **173**, 6279-6288.
- Bishop RF, Anderson CM.** 1960. The Bacterial Flora of the Stomach and Small Intestine in Children with Intestinal Obstruction. *Archives of Disease in Childhood* **35**, 487-491.
- Björkstén B.** 2004. Effects of intestinal microflora and the environment on the development of asthma and allergy. *Springer Seminars in Immunopathology* **25**, 257-270.
- Cassel-Béraud AM, Peghini M, Mouden JC, Rajaonarison P.** 1997. [Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Tananarive, Madagascar]. *Bulletin De La Societe De Pathologie Exotique (1990)* **90**, 6-9.
- Cellini L, Allocati N, Piattelli A, Petrelli I, Fanci P, Dainelli B.** 1995. Microbiological evidence of *Helicobacter pylori* from dental plaque in dyspeptic patients. *The new microbiologica* **18**, 187-192.
- Coker C, Poore CA, Li X, Mobley HL.** 2000. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes and Infection* **2**, 1497-1505.
- Cummings JH, Gibson GRM, Macfarlane GT.** 1989. Quantitative estimates of fermentation in the hind gut of man. *Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum* **86**, 76-82.
- Danquechin Dorval E, Barbieux JP, Picon L, Alison D, Codjovi P, Rouleau P.** 1994. [Simplified measurement of colonic transit time by one radiography of the abdomen and a single type of marker. Normal values in 82 volunteers related to the sexes]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* **18**, 141-144.
- De Korwin J-D.** 2003. [Advantages and limitations of diagnostic methods for *H. pylori* infection]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* **27**, 380-390.
- Delchier JC, Elamine I, Goldfain D, Chaussade S, Barthelemy P, Idstrom JP.** 1996. Omeprazole-amoxicillin versus omeprazole-amoxicillin-clarithromycin in the eradication of *Helicobacter pylori*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **10**, 263-268.
- Drasar BS.** 1989. The bacterial flora of the stomach and small intestine. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* **13**, 18B-20B.
- Fabre R, Sobhani I, Laurent-Puig P, Hedef N, Yazigi N, Vissuzaine C, Rodde I, Potet F, Mignon M, Etienne JP.** 1994. Polymerase chain reaction assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens: comparison with culture, rapid urease test, and histopathological tests. *Gut* **35**, 905-908.
- Fauchère J-L, Rosenau A.** 1991. *Campylobacter* et *Helicobacter* en pathologie digestive humaine.
- Fennerty MB.** 1994. *Helicobacter pylori*. *Archives of Internal Medicine* **154**, 721-727.
- Frasca D, Dahyot-Fizelier C, Mimoz O.** 2008. La colistine en réanimation. [/data/revues/16240693/00170003/08000340/](https://doi.org/10.1016/j.annrpt.2008.08.003).
- Geis A, Singh J, Teuber M.** 1983. Potential of Lactic Streptococci to Produce Bacteriocin. *Applied and Environmental Microbiology* **45**, 205-211.
- George YL, Essex A, Buchanan JT, Datta V, Hoffman HM, Bastian JF, Fierer J, Nizet V.** 2005. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *The Journal of Experimental Medicine* **202**, 209-215.

- Gournier-Chateau N, Larpent JP, Castellanos MI, Larpent JL.** 1994. Probiotics in animal and human nutrition. Probiotics in animal and human nutrition.
- Hachem CY, Clarridge JE, Evans DG, Graham DY.** 1995. Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Pathology* **48**, 714-716.
- Hooper LV, Gordon JI.** 2001. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science (New York, N.Y.)* **292**, 1115-1118.
- Joël B.** 2017. *La Communication du vivant*. Paris: Odile Jacob.
- Jones BD, Mobley HL.** 1988. *Proteus mirabilis* urease: genetic organization, regulation, and expression of structural genes. *Journal of Bacteriology* **170**, 3342-3349.
- Kovács LG, Balatti PA, Krishnan HB, Pueppke SG.** 1995. Transcriptional organization and expression of noIXWBTUV, a locus that regulates cultivar-specific nodulation of soybean by *Rhizobium fredii* USDA257. *Molecular Microbiology* **17**, 923-933.
- Lacroix L, Broersen LM, Feldon J, Weiner I.** 2000. Effects of local infusions of dopaminergic drugs into the medial prefrontal cortex of rats on latent inhibition, prepulse inhibition and amphetamine induced activity. *Behavioural Brain Research* **107**, 111-121.
- Lamine F, Fioramonti J, Bueno L, Nepveu F, Cauquil E, Lobysheva I, Eutamene H, Theodorou V.** 2004. Nitric oxide released by *Lactobacillus farciminis* improves TNBS-induced colitis in rats. *Scandinavian journal of gastroenterology* **39**, 37-45.
- Lamouliatte H.** 1993. Effect of lansoprazole on *Helicobacter pylori*. *Clinical Therapeutics* **15 Suppl B**, 32-36.
- Leveau JY, Bouix M.** 1999. Microbiologie industrielle: Les micro-organismes d'intérêt industriel. Paris: Tec & Doc.
- Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM.** 1974. *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *The British Journal of Dermatology* **90**, 525-530.
- Liu D.** 2009. *Molecular Detection of Foodborne Pathogens*. CRC Press.
- Lozniewski A, Drouinot V, Weber M, Le Faou A.** 1996. Approche pharmacocinétique du traitement antibiotique des infections génitales chroniques masculines. *Andrologie* **6**, 228.
- Marchal N, Bourdon JL, Richard C.** 1991. Les milieux de culture: pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin.
- de Mascarel A, Merlio JP, Coindre JM, Goussot JF, Broustet A.** 1989. Gastric large cell lymphoma expressing cytokeratin but no leukocyte common antigen. A diagnostic dilemma. *American Journal of Clinical Pathology* **91**, 478-481.
- Medouakh ML, Bensoltane A, Bensoltane.** 2011. Microbiological Evidence of *Helicobacter Pylori* from Patients Suffering from Gastrointestinal Disease: (a). *Sciences & technologie. C, Biotechnologies* 17-23.
- Megraud F.** 1989. [Bacteriologic methods for the diagnosis of *Campylobacter pylori*]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* **13**, 31B-36B.
- Mégraud F.** 1994. [Direct and indirect diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infections]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* **18**, 217-222.
- Mégraud F.** 1995. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Bailliere's Clinical Gastroenterology* **9**, 507-518.
- Megraud F, Boyanova L, Lamouliatte H.** 1991. Activity of lansoprazole against *Helicobacter pylori*. *The Lancet* **337**, 1486.

- Mégraud F, Lamouliatte H.** 1992. Helicobacter pylori and duodenal ulcer. *Digestive Diseases and Sciences* **37**, 769-772.
- Mégraud F, Lehours P.** 2007. Helicobacter pylori Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clinical Microbiology Reviews* **20**, 280-322.
- Miftahussurur M, Yamaoka Y.** 2016. Diagnostic Methods of Helicobacter pylori Infection for Epidemiological Studies: Critical Importance of Indirect Test Validation. *BioMed Research International* **2016**.
- Moore WE, Holdeman LV.** 1974. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Applied Microbiology* **27**, 961-979.
- O'Hara AM, Shanahan F.** 2006. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Reports* **7**, 688-693.
- Perry S, de la Luz Sanchez M, Yang S, Haggerty TD, Hurst P, Perez-Perez G, Parsonnet J.** 2006. Gastroenteritis and transmission of Helicobacter pylori infection in households. *Emerging Infectious Diseases* **12**, 1701-1708.
- Rolfe RD, Hentges DJ, Campbell BJ, Barrett JT.** 1978. Factors related to the oxygen tolerance of anaerobic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **36**, 306-313.
- Samuels AL, Windsor HM, Ho GY, Goodwin LD, Marshall BJ.** 2000. Culture of Helicobacter pylori from a Gastric String May Be an Alternative to Endoscopic Biopsy. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 2438-2439.
- Savage DC.** 1977. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annual Review of Microbiology* **31**, 107-133.
- Silver S, Misra TK.** 1984. Bacterial transformations of and resistances to heavy metals. *Basic Life Sciences* **28**, 23-46.
- Sobhani I, Flourié B, Lavergne A, Colimon R, Mignon M, Modigliani R, Rambaud JC.** 1991. [Helicobacter pylori and gastroduodenal pathology. Second part: Clinical aspects and therapy]. *Gastroenterologie Clinique Et Biologique* **15**, 412-420.
- Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, Doré J.** 1999. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 4799-4807.
- Vezina P, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP.** 1991. Opposed Behavioural Outputs of Increased Dopamine Transmission in Prefrontocortical and Subcortical Areas: A Role for the Cortical D-1 Dopamine Receptor. *The European Journal of Neuroscience* **3**, 1001-1007.
- Vincent P, Vachée A, Leclerc H.** 1995. Transmission de l'infection à Helicobacter pylori chez l'adulte et l'enfant. *Annales de l'Institut Pasteur / Actualités* **6**, 185-191.
- Werme K, Bisseye C, Ouedraogo I, Yonli AT, Ouermi D, Djigma F, Moret R, Gnoula C, Nikiema JB, Simporé J.** 2015. Diagnostic moléculaire d'helicobacter pylori par PCR chez les patients en consultation gastroentérologique au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou. *The Pan African Medical Journal* **21**.

RESUME

La présente étude repose surtout sur les prélèvements biopsiques et les cultures, et a porté sur l'isolement et l'identification de l'écosystème bactérien gastrique et intestinal impliqué d'une part dans la pathologie de la gastrite de type B et d'autre part dans la maladie de Crohn et la Rectocolite Hémorragique. Au cours de l'observation microscopique à la coloration de Gram, dans le cas de la Gastrite B, on avait observé, et suite aux tests biochimiques et la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) que les bacilles à Gram négatifs étaient surtout considérés par les genres et espèces, *Helicobactere pylori* et *Proteus mirabilis*, secondairement par les bacilles à Gram positifs représentés par *Bacillus cereus*, et *Lactobacille sp* et en dernière position par les cocci à gram positifs identifiés comme étant *Streptococcus entericus*, et puis *Staphylococcus aureus*. En parallèle dans le cas de la maladie de Crohn et de la Rectocolite Hémorragique, l'identification par la coloration de Gram est majoritairement représentée par les bacilles à Gram positifs identifiés comme étant *Clostridium difficile* et *Bacillus subtilus*, et par les bacilles à Gram négatifs considérés par les *Enterobacter cloacae*.

Mots clés :

Biopsies; Culture; Isolement; Tests biochimiques; Bacilles; PCR; Identification; Gastrite; Crohn; Rectocolite Hémorragique.