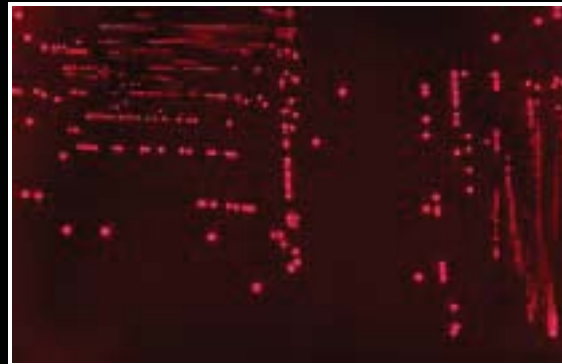


WHO/CDS/CSR/EDC/99.8

# Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la dysenterie épidémique et du choléra

Centers for Disease Control and Prevention  
Atlanta, Georgia 2002



# **Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la dysenterie épidémique et du choléra**

**Centers for Disease Control and Prevention  
Atlanta, Georgia 2002**

Le présent manuel a été préparé par le Centre national des maladies infectieuses (NCID), des Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Georgia, États-Unis, en collaboration avec le Bureau régional OMS pour l'Afrique (OMS/AFRO) Harare, Zimbabwe.

Jeffrey P. Koplan, M.D., M.P.H., Directeur, CDC

James M. Hughes, M.D., Directeur, NCID, CDC

Mitchell L. Cohen, M.D. Directeur, Division des maladies bactériennes et mycosiques, NCID, CDC

Ebrahim Malek Samba, M.B., B.S., Directeur régional, OMS/AFRO

Antoine Bonaventure Kabore, M.D., M.P.H., Directeur, Division de la prévention et de la lutte contre les maladies transmissibles, OMS/AFRO

***Les membres suivants des CDC ont préparé le présent rapport :***

Cheryl A. Bopp, M.S.

Allen A. Ries, M.D., M.P.H.

Joy G. Wells, M.S.

***Production :***

J. Kevin Burlison, Graphiques

James D. Gathany, Photographie

Lynne McIntyre, M.A.L.S., Rédaction



***Traduction :***

Traduction française réalisée par le projet SARA, le Bureau régional pour l'Afrique de l'OMS (AFRO), Zimbabwe et par le Bureau de l'OMS de Lyon (CSR/LYO), France. Coordination Antoine Pierson, Pharmacien-Biologiste

Imprimé en français en 2002 par le projet SARA. Le projet SARA (Soutien pour l'analyse et la recherche en Afrique), mis en oeuvre par l'Académie pour le Développement de l'Éducation, est financé par l'Agence des États-Unis pour le Développement international, Bureau de l'Afrique, Division du Développement durable aux termes du contrat AOT-C-00-99-00237-00.

**Page de couverture :** A partir du haut, *Escherichia coli* O157:H7 sur une gélose de MacConkey, *V. cholerae* O1 sur une gélose TCBS et *Shigella flexneri* sur une gélose de xylose-lysine-désoxycholate (XLD).

## Remerciements

Le financement pour la réalisation de cet ouvrage a été apporté par l'Agence des États-Unis pour le Développement international, Bureau de l'Afrique, Division du développement durable.

Ce manuel a été rédigé grâce à un effort conjoint du Bureau régional pour l'Afrique de l'Organisation Mondiale de la Santé, du Siège de l'OMS et des Centers for Disease Control and Prevention dans le cadre des activités de l'Équipe spéciale de l'OMS pour la lutte contre le choléra. Le personnel du projet de l'amélioration de la préparation et de la réponse au choléra et aux autres maladies diarrhéiques épidémiques en Afrique australe a travaillé en étroite collaboration avec un grand nombre de techniciens de laboratoire et d'épidémiologistes en Afrique australe pour mettre au point une approche intégrée du diagnostic du choléra et de la dysenterie grâce aux méthodes de laboratoire, sur laquelle repose le présent manuel.

Nous tenons à mentionner la précieuse assistance de Madame Katherine Greene, du Docteur Eric Mintz, de Madame Nancy Puhr, du Docteur Nancy Strockbine, du Docteur Robert Tauxe et du Docteur Fred Tenover, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgie, États-Unis ; du Docteur Lianne Kuppens, Organisation Mondiale de la Santé, Genève, Suisse ; du Docteur Elizabeth Mason, Organisation Mondiale de la Santé, Harare, Zimbabwe et de Madame Catherine Mundy, École de médecine tropicale de Liverpool, Liverpool, Royaume-Uni.

## Introduction

Le choléra et la dysenterie ont affligé l'humanité pendant des siècles. Les épidémies ainsi causées ont marqué le destin des pays, alourdissant les pertes dues aux guerres. Dans la majeure partie du monde, le choléra et la dysenterie épidémiques sont devenus de plus en plus rares, mais, depuis une dizaine d'années, ces deux maladies ont fait leur réapparition dans un grand nombre de pays en voie de développement et contribuent à l'augmentation significative de la morbidité et de la mortalité.

Seuls quelques pathogènes peuvent être la cause de diarrhées épidémiques mais un grand nombre d'entre eux peuvent entraîner une diarrhée sporadique. Dans les pays en développement, deux agents étiologiques sont responsables de la majorité des diarrhées épidémiques : *V. cholerae* O1 toxinogène qui est à l'origine des épidémies de diarrhées aqueuses et *Shigella dysenteriae* type 1, causant des épidémies de diarrhées sanglantes. Récemment, deux nouveaux organismes à l'origine de diarrhées épidémiques ont fait leur apparition, *V. cholerae* O139 qui engendre des diarrhées aqueuses et *Escherichia coli* O157:H7 qui est à l'origine de diarrhées sanglantes. Ce dernier agent est très courant et ce, uniquement dans les pays développés.

Le présent manuel se concentre sur l'épidémiologie de ces quatre organismes et les méthodes de laboratoire utilisées pour les identifier et tester la résistance aux antimicrobiens dans un contexte épidémique. Ce recueil présente des techniques et une méthodologie d'étude en laboratoire qui fournira une information exacte et utile pour lutter contre l'épidémie tout en utilisant un minimum de ressources. Il accorde une place importante à la coordination des activités du microbiologiste et de l'épidémiologiste afin d'obtenir une information utile pour l'élaboration d'un protocole de traitement efficace face à ces maladies diarrhéiques épidémiques. Il préconise la mise en place d'études ciblées pour identifier les organismes à l'origine de l'épidémie et leurs profils de sensibilité aux antimicrobiens plutôt que de se fier à des informations aléatoires qui ne permettent pas d'établir un tableau représentatif de la situation.

Souvent, les pays qui doivent prendre des mesures face à une épidémie sont ceux qui ont le moins de ressources. Par conséquent, le laboratoire de microbiologie doit utiliser rationnellement ses faibles ressources afin d'avoir le plus d'impact possible sur la réduction de la morbidité et de la mortalité pendant une épidémie. Il existe souvent plusieurs manières d'identifier l'organisme causant l'épidémie. Il est vrai que pour obtenir un petit avantage supplémentaire, un investissement important en matériel et en temps est souvent nécessaire. Le présent manuel s'attache tout particulièrement à ce problème. Les procédures décrites ici ne sont pas nouvelles et la plupart d'entre elles sont même utilisées depuis des années. Mais elles ont été choisies surtout pour étudier des spécimens provenant d'épidémies plutôt que pour un emploi courant dans un

laboratoire de microbiologie clinique. Ces procédures ainsi choisies permettent de réduire la quantité de matériel nécessaire au laboratoire tout en délivrant l'information la plus utile qui soit, et ce avec le minimum de moyens.

# Table des matières

## Remerciements

## Introduction

<b>Chapitre 1 : Rôle des laboratoires cliniques en santé publique .....</b>	<b>1</b>
A. Diarrhée épidémique .....	1
B. Rôle des laboratoires en santé publique .....	2
<b>Chapitre 2 : Prélèvement et transport des échantillons de matières fécales ..</b>	<b>7</b>
A. Recueil des selles .....	7
B. Préparation des échantillons pour le transport .....	10
<b>Chapitre 3 : Épidémiologie de la dysenterie causée par <i>Shigella</i> .....</b>	<b>13</b>
A. Épidémiologie de <i>Shigella</i> .....	13
B. Manifestations cliniques .....	14
C. Traitement .....	14
<b>Chapitre 4 : Isolement et identification de <i>Shigella</i> .....</b>	<b>17</b>
A. Méthodes d'isolement .....	17
B. Tests de dépistage biochimique .....	20
C. Identification sérologique de <i>Shigella</i> .....	26
D. Milieux d'isolement et d'identification de <i>Shigella</i> .....	28
<b>Chapitre 5 : Étiologie et épidémiologie du choléra .....</b>	<b>37</b>
A. Données historiques .....	37
B. Manifestations cliniques .....	38
C. Traitement .....	39
D. Épidémiologie .....	39
E. Vaccin contre le choléra .....	40
<b>Chapitre 6 : Isolement et identification de <i>Vibrio cholerae</i> sérogroupes     O1 et O139 .....</b>	<b>41</b>
A. Méthodes d'isolement .....	41
B. Identification sérologique de <i>V. cholerae</i> O1 et O139 .....	49
C. Milieux et réactifs pour <i>V. cholerae</i> .....	51
<b>Chapitre 7 : Épidémiologie d'<i>Escherichia coli</i> sérotype O157:H7 .....</b>	<b>55</b>
<b>Chapitre 8 : Isolement et identification d'<i>Escherichia coli</i> sérotype O157:H7</b>	<b>57</b>
A. Méthodes d'isolement et d'identification .....	57
B. Préparation et contrôle de qualité de la gélose MacConkey .....	60
<b>Chapitre 9 : Test de sensibilité aux agents antimicrobiens (méthode de     diffusion en milieu gélosé) .....</b>	<b>61</b>
A. Divers aspects à prendre en compte pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens .....	61
B. Procédure de diffusion en milieu gélosé .....	61
C. Aspects particuliers pour le test de sensibilité de <i>V. cholerae</i> ..	71
D. Préparation et contrôle de qualité des milieux et des réactifs ...	72

<b>Chapitre 10 : Conservation des isolements .....</b>	<b>75</b>
A. Courte durée .....	75
B. Longue durée .....	75
<b>Chapitre 11 : Contrôle de qualité des milieux et des réactifs .....</b>	<b>77</b>
A. Contrôle de qualité des milieux .....	77
B. Contrôle de qualité des réactifs .....	78
C. Avantages liés aux acquisitions centralisées des milieux et des réactifs .....	79
<b>Chapitre 12 : Pratiques de sécurité standard dans le laboratoire de microbiologie .....</b>	<b>81</b>
A. Pratiques de sécurité standard en microbiologie .....	81
B. Pratiques spéciales .....	84
C. Habits et équipement de protection .....	85
<b>Chapitre 13 : Emballage et expédition des échantillons cliniques et agents étiologiques .....</b>	<b>87</b>
A. Préparation pour le transport des échantillons infectieux et des cultures .....	87
B. Transport et expédition des cultures et des échantillons .....	87
<b>Annexe A : Fournitures de laboratoire nécessaires annuellement pour la confirmation de flambées de cas et la surveillance au laboratoire de la sensibilité de <i>V. cholerae</i> O1/O139 .....</b>	<b>93</b>
<b>Annexe B : Fournitures de laboratoire pour l'identification de <i>Shigella dysenteriae</i> 1 pendant une flambée de cas .....</b>	<b>95</b>
<b>Annexe C : Directives pour la création d'un réseau de laboratoires de santé publique pour lutter contre le choléra .....</b>	<b>97</b>
<b>Annexe D : Laboratoires internationaux de référence .....</b>	<b>101</b>
<b>Annexe E : Conception d'une étude en vue d'examiner la sensibilité aux antimicrobiens des organismes à l'origine d'une diarrhée épidémique .....</b>	<b>103</b>
<b>Annexe F : Fiches de données avec échantillons de selles – diarrhée épidémique .....</b>	<b>105</b>
<b>Annexe G : Réactions rencontrées le plus souvent lors de l'étude des caractères biochimiques .....</b>	<b>106</b>
<b>Annexe H : Fournitures de laboratoire pour l'isolement et l'identification de présomption d'<i>Escherichia coli</i> O157:H7 lors d'une flambée de cas (suffisant pour 100 échantillons) .....</b>	<b>107</b>
<b>Citation suggérée .....</b>	<b>108</b>