

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة جيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaama Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de: Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de **Master** en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité: Analyses Biologiques et Biochimiques

Etude histopathologique et bactériologique de la maladie de Crohn chez des patients Algériens.

Présenté par : M^{lle} Aissou Meriem

Soutenu le 16 Juin 2015, Devant le jury:

Président:	Mr, MAHI.M	M.A.A	U.K.M
Promotrice :	Dr, GUETARNI.H	M.C.B	U.K.M
Examineur:	Mr, OUSMAAL.MF	M.A.A	U.K.M
Examinatrice :	Mm, GHOMARI.F	M.A.B	U.K.M

Année universitaire : 2014/2015

Dédicace

Je dédie ce mémoire à la raison de ce travail, Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude qu'Allah la garde et la protège.

Mon père, j'espère qu'il soit fier de trouver ici le résultat des longues années, des sacrifices et des privations pour m'aider à avancer dans ma vie, qu'Allah faire en sorte que ce travail porte ses fruits. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Ma sœur Amina qui n'a jamais cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité, merci pour tous ces conseils et le soutien morale, merci de me rendre confiante que je peux faire ce que je veux et sans oublier son fiancé Halim.

À ma sœur Asmaa, son mari Azzedine et sa fille Hadile qui ne cessent pas d'arrêter de m'encourager.

À mes frères AbdErrahim et Mohamed.

À ma chère tante Nacira, que je la considère comme ma deuxième mère, et à ma grand-mère.

À mon ami Mohamed qui m'a beaucoup aidé.

À mon amie khadidja et toute la famille Idioni

À mes amies Faiza, Houda, Meriem.

A tous mes amis sans citer ces noms et toute la promo Master 2014/2015 de toutes les spécialités.

Remerciement

*Au terme de ce travail, il m'est agréable d'exprimer mes profondes reconnaissances et ma gratitude à **Allah** qui m'a orienté durant mon travail vers le bon chemin.*

*Je tiens à remercier ma promotrice **Dr.Ghuetarni Hassina**, pour ses conseils judicieux, ses critiques constructives et sa patience.*

*Je tiens à remercier les membres de jury, **Mr MAHI Miloud, Mme GHOUARI Faiza et Mr OUSMAAL Mohamed El Fadel**, qui je fais l'honneur d'examiner ce modeste travail*

*Je tiens à remercier le chef de département de biologie **Mr.MEKHATTI Mohamed** et tous les enseignants qui ont contribué dans ma formation,qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*Je remercie le chef de service de laboratoire université Djilali Bounaama et toutes les techniciennes de laboratoire particulièrement **Wassila, Fatiha, Nadjiba**.*

*Je tiens à remercier le chef de service de gastro entérologie de CHU Mustapha Bacha **Pr. BERKANE Saadi** qui a permet de réaliser mon stage au siens de son service et **Pr. BOUNAB Nassima et Pr. KISSILI** (unité d'endoscopie) pour son direction.*

*Je tiens à remercier le chef de service de médecine interne unité endoscopie CHU Kouba **Mr. ATHMANE Omar et Mr. SLINANI Farid et Dr. FISSAH**.*

*Je tiens à remercier le chef de service de la médecine interne CHU Beni Messouse **Pr. BOUMEDIENNE** et le responsable de l'unité d'endoscopie **Dr. BENKANOUNE**, et sans oublier **Nacira**.*

*Je tiens à remercier le chef de service d'ANAPATH CHU Médéa **Mr. BAILICHE Mohamed** et chef des médecines **Dr. HAMADOU**, aussi **Dr. SOUNNA** pour ces conseils de me bien orienté, et tous l'équipe de travail **Asmaa, Nawel, Saraa, Abdelmalk, Amina, Soumia**.*

*Je tiens à remercier le directeur de laboratoire des analyses médicales Ain defla **Dr.ZIBOUCHE** et tout l'équipe de travail particulièrement **Fatiha, Asmaa, Sarra, Saida**.*

Sommaire

Résumé

Index

Abréviation

Introduction 01

Revue bibliographique

Chapitre I : Maladie de Crohn

1.	Définition.....	02
2.	Epidémiologie	02
	2.1. Descriptive	02
	2.2. Analytique	02
3.	Étiologie	03
	3.1. Susceptibilité génétique à La MC	03
	3.1.1. Mise en évidence d'une prédisposition génétique	03
	3.1.2. Recherche de loci associée à la MC	03
	3.1.3. Autres gènes impliqués	03
	3.2. Intervention des facteurs environnementaux	04
	3.2.1. Hypothèses étiologiques infectieuses	04
	3.2.2. Hypothèses étiologiques non infectieuses	04
	3.3. Réponses immunitaires anormales	05
4.	Pathogénie.....	05
	4.1. Mécanisme pathologique proposé	05
	4.2. Rôle de NOD2/CARD15	06
	4.3. Immuno-pathologie	06
5.	Symptômes	08
	5.1. Symptômes digestifs généraux	08
	5.2. Symptômes extra-intestinaux	09
	5.2.1. Manifestations suivant l'activité de la maladie intestinale	09
	5.2.2. Manifestations associées aux MICI (inflammations mais évoluant indépendamment)	10
	5.2.3. Manifestations associées à l'atteinte de la fonction intestinale	10
	5.3. Complications	10
6.	Lésions	11
	6.1. Localisation	11
	6.2. Aspect macroscopique	11

6.3.	Aspect microscopique	12
7.	Diagnostic	12
7.1.	Diagnostic clinique	12
7.2.	Diagnostic différentiel	12
7.3.	Diagnostic expérimental	13
7.3.1.	Imagerie médicale	13
7.3.2.	Hématologie	14
7.3.3.	Coprologie	14
7.3.4.	Histologie	14
8.	Traitement	14
8.1.	Traitement médicale	14
8.1.1.	Traitement symptomatique de la phase clinique	14
8.1.2.	Traitement Immunosuppresseur	15
8.1.3.	Traitements spécifiques « Anti-TNF α »	15
8.1.4.	Antibiothérapie	15
8.2.	Traitement chirurgicale	15
8.3.	Traitement diététique et support nutritionnel	16
9.	Evolution et pronostic	16
9.1.	Evolution naturelle	16
9.2.	Evolution clinique de l'activité inflammatoire	16
Chapitre II : Matériel et méthodes		
1.	Matériel	17
1.1.	Matériel biologique	17
1.2.	Milieux de culture	18
2.	Méthodologie	18
2.1.	Endoscopie digestive base	18
2.2.	Examen anatomo-pathologique	19
2.2.1.	Prélèvement	19
2.2.2.	Étude macroscopique	19
2.2.3.	Fixation	19
2.2.4.	Déshydratation et éclaircissement et imprégnation	20
2.2.5.	Inclusion	21
2.2.6.	Microtomie	21
2.2.7.	Coloration des lames	22

2.2.8. Montage des lames	23
3. Examen bactériologique des biopsies intestinales	23
3.1. Broyage des biopsies intestinales	23
3.2. Examen à l'état frais	24
3.3. Frottis	24
3.4. Bactérioscopie : Coloration de Ziehl Neelsen sur suspension biopsique	24
3.5. Culture	25
3.6. Examen macroscopique des colonies	25
3.7. Isolement	25
3.8. Identification	26
3.9. Identification des caractères biochimiques	26
3.10. Antibiogramme	27
3.11. Coproculture	28
Chapitre III : Résultats et discussion	
1. Résultats.....	30
1.1. Apport de l'endoscopie	30
1.2. Examen anatomopathologique	30
1.2.1. Examen anatomopathologique des biopsies intestinales	30
1.2.2. Examen anatomopathologique de la pièce de résection colique	30
1.3. Résultats d'examen bactériologique des biopsies intestinales	32
1.3.1. Examen à l'état frais	32
1.3.2. Coloration de Gram	32
1.3.3. Coloration de Ziehl Neelsen.....	32
1.3.4. Culture.....	36
1.3.5. Isolement et identification microscopique.....	36
1.3.6. Identification	39
1.3.7. Antibiogramme	42
1.3.8. Coproculture	43
2. Discussion	44
Conclusion	51

Référence bibliographique

Annexe

Résumé

Résumé :

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire intestinale chronique qui touche tout le tube digestif. Pour cela ce travail a pour but d'identifier les aspects histopathologiques de la MC sur une pièce de résection colique et sur des biopsies intestinales avec coloration topographique HE, et de déterminer les bactéries pathogènes responsables de la MC.

Les biopsies prélevées par endoscopie basse permettent de visualiser l'inflammation chronique chez 15 patients Algériens ; l'observation microscopique des biopsies intestinales et de la pièce de résection colique indique la présence surtout d'ulcération fissuraire, granulome inflammatoire polymorphe et follicule lympho-plasmocytaire.

Mycobacterium avium paratuberculosis suspecte d'être l'agent causal de la maladie a été trouvé chez deux patients, observation réalisée sur des frottis des biopsies broyées après coloration de Ziehl Neelsen. La culture des biopsies intestinales et des selles révèle la présence des bactéries inhabituelles comme : *Salmonella spp*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Spp*, dont *E.coli* est la plus dominante.

Mots clés : maladie de Crohn, Granulome inflammatoire, Follicule lympho-plasmocytaire, Endoscopie basse, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *E.coli*, *Salmonella Spp*.

Abstract:

Crohn's disease is an inflammatory chronic bowel disease, which affects all digestive tract. For this reason this work aims to identify the histopathological aspects of CD on a piece of colonic resection and intestinal biopsies with topographic HE staining, and determine the pathogenic bacteria responsible of CD.

Biopsies taken by lower endoscopy visualize chronic inflammation in 15 patients Algerians, microscopic observation of intestinal biopsies and colonic resection specimen indicates the presence especially of fissured ulceration, polymorphic inflammatory granuloma and lympho-plasmocytic follicle.

Mycobacterium avium paratuberculosis suspected of being the causative agent of the disease was found in two patients observation performed on smear crushed biopsies coloring with Ziehl Neelsen. The culture of intestinal biopsies and stool reveals the presence of unusual bacteria like: *Salmonella spp*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Spp*, *E.coli* which is dominant.

Keywords: Crohn's disease, polymorphic inflammatory granuloma, lympho-plasmocytic follicle, lower endoscopy, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *E.coli*, *Salmonella Spp*.

المخلص

داء كرون هو عبارة عن التهاب مزمن في الأمعاء يمكن أن يصيب أي جزء في الجهاز الهضمي, من اجل هذا تهدف هذه الدراسة الي التعرف على الجوانب التشريحية المرضية من داء كرون على قطعة من استئصال القولون والخزعات المعوية مع التلوين الطبوغرافي HE وتحديد البكتيريا الضارة المسؤولة عن هذا المرض

الخزعات المأخوذة عن طريق التنظير السفلي تبين التهاب مزمن عند 15 مريض جزائري, الملاحظة المجهرية للخزعات المعوية وقطعة القولون المستأصلة تدل على وجود خصوصا تقرحات متشققة, التهاب حبيبية متعددة الاشكال و بصيل اتمن الخلايا اللمفاوية وخلايا البلازما

يقترح ان يكون *Mycobacterium avium paratuberculosis* العامل المسبب للمرض ولقد تم ايجاده عند مريضين , الملاحظة اجريت على مسحات من الخزعات المسحوقة بعد تلوين Ziehl Neelsen استنبات الخزعات المعوية والبراز اظهر توجو بكتيريا غير عادية مثل *Salmonella spp*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Spp* مع *E.coli* سائدة

الكلمات المفتاحية : داء كرون , التهاب حبيبية متعددة الاشكال بصيل اتمن الخلايا اللمفاوية وخلايا البلازما, التنظير السفلي ,
Mycobacterium avium paratuberculosis, *E.coli*, *Salmonella Spp*.

Index

Liste des figures

Figure 01 : Comparaison des profils des cytokines chez l'humain normale et lors de la MC	(P07)
Figure 02 : Vue d'ensemble des manifestations extra-intestinale de la MC	(P09)
Figure 03 : Les régions anatomiques du tube digestif humain affectées par les MICI....	(P13)
Figure 04 : Automate de déshydratation et l'inclusion tissulaire leica tp1020.....	(P20)
Figure 05 : Inclusion manuelle.....	(P21)
Figure 06 : Etapes de microtomie.....	(P21)
Figure 07 : Les étapes de la coloration HE rapide.....	(P22)
Figure 08 : Automate de coloration standard de type sakura-cyto-stain.....	(P23)
Figure 09 : Résultats de l'identification par la Galerie Api20E	(P39)
Figure 10 : Antibiogramme d'E. Coli.....	(P43)

Liste des tableaux

Tableau 01 : Localisation de la MC lors du diagnostic dans les études rétrospectives..	(P11)
Tableau 02 : Caractérisation des patients.....	(P17)
Tableau 03 : Les antibiotiques à tester pour les entérobactéries et leur mode d'action...	(P27)
Tableau 04 : Illustration des résultats obtenus de la galerie biochimique classique, photographie des résultats positif et négatif de chaque teste.....	(P40-41)
Tableau 05 : Résultats des souches testés par la galerie biochimique classique et sa comparaison par les souches de référence.....	(P42)

Liste des planches

- Planche 01** : Coupes histologiques des biopsies intestinales..... (P31)
- Planche 02** : Macroscopie de la pièce de résection colique et les coupes sectionner... (P33)
- Planche 03** : Coupes histologiques de la pièce de résection colique..... (P34)
- Planche 04** : Examen bactériologique avant culture..... (P35)
- Planche 05** : Résultats de la culture obtenus après incubation à 37°C/ 24h..... (P37)
- Planche 06** : Isolement et identification microscopique par coloration de Gram..... (P38)

*liste des
abréviations*

Liste des abréviations

5-ASA: 5-aminosalicylic acid.

AC: Anticorp.

ADH : Arginine dihydrolase.

AG: Antigène.

AK : Amikacine.

AMC : Amoxicilline+ acide clavulanique.

API20E : Application Programming Interface 20Test Entérobactéries.

AX : Amoxicilline.

BHIB: Milieu Brain Heart Infusion Broth.

BGT : Bouillon glucosé tamponné.

CARD15: Caspase recruitment domain-containing protein 15.

CD: Cluster of differentiation.

CFM: Cefixime.

CIP: Ciprofloxacine.

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité.

CMI : concentration minimale d'inhibition.

CN : Gentamicine.

CPA: Cellules présentatrices d'antigènes.

CRP : Protéine réactive C.

CTX : Cefotaxime.

DAEC: *Diffusely adherent Escherichia coli*.

EAEC: *Escherichia coli* entéroagréatives.

ECG: Electrocardiogramme.

E. Coli : *Escherichia coli*.

EHEC: *Enterohaemorrhagic Escherichia coli*.

EIEC: *Enteroinvasive Escherichia coli*.

EPEC: *enteropathogenic Escherichia coli*.

ETEC: *Enterotoxigenic Escherichia coli*.

ExPEC : *Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli*.

Liste des abréviations

FNS: Formule de numération sanguin.

F300 : Nitrofurantoin.

GS : glutamine synthétases.

HE: Hématoxyline eosin.

H₂S: Hydrogen de sulfur.

IL: Interleukin.

IND : Indole.

KZ : Cefazoline.

LAM: Lipoarabinomannane.

LDC: Lysine décarboxylase.

LPS: Lipo-polysaccharides.

Map: *Mycobactérium avium paratuberculosis*.

MC : Maladie de Crohn.

MICI : Maladies inflammatoires chroniques intestinales.

NA : Acide Nalidixique.

NOD2: Nucleotide-binding oligomerization domain 2.

MH : Gélose Mueller Hinton.

ODC: Ornithine décarboxylase.

ONPG: Ortho-Nitrophenyl-β-galactoside.

PEG: Polyéthylène-glycol.

PRR: Pattern recognition receptor.

RCH: Recto-colite hémorragique.

RM : Rouge de méthyle.

S.typhi : *Salmonella typhi*.

Subsp / Spp : Sous espèce.

STX : Triméthoprime + sulfaméthoxazole.

TCA : temps de céphaline activée.

TDA : Tryptophan deaminase.

Th: Lymphocytes T auxiliaires ou helper.

Liste des abréviations

TNF: Tumor necrosis factors.

TP : Taux de prothrombine.

TSI : Triple sugar iron.

VP : Voges-Proskauer.

VS : Vitesse de sédimentation

ZN: Ziehl Neelsen.

Introduction

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) pouvant affecter tout le tube digestif, de la bouche à l'anus, le plus souvent l'iléon et le colon (Weiming *et al.*, 2015) Son atteinte est transmurale, se définissant par une atteinte muqueuse pouvant s'étendre à toutes les couches de la paroi. Son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques, endoscopiques et histologiques. Elle évolue par poussées, entrecoupées de rémissions, et peut se compliquer de sténoses, d'abcès et de fistules. Le but du traitement est de cicatrifier les lésions avant la survenue de complications irréversibles (Klotz *et al.*, 2015).

La maladie de Crohn a une prévalence élevée dans les pays développés avec un gradient décroissant du nord vers le sud. Elle touche 80 000 sujets en France. Son incidence est de 6 à 8 nouveaux cas pour 100 000 habitants par an. Elle atteint plus volontiers les femmes, avec un sex-ratio de 1,2. Le pic de fréquence se situe entre 20 et 30 ans, mais elle peut survenir à tout âge « notamment chez l'enfant et le sujet âgé » (Nørgård *et al.*, 2014).

Un certain nombre des théories concernant l'étiologie de la MC ont été proposés tels que le régime alimentaire, les infections et d'autres facteurs environnementaux non identifiés et la dérégulation immunitaire, tous travaillant sous l'influence d'une prédisposition génétique, ont été considérés avec suspensions (Chamberlin *et al.*, 2007).

Les objectifs de ce travail visent :

- A représenter les aspects histopathologiques de la MC sur une pièce de résection colique et sur des biopsies intestinales avec une coloration topographique HE.
- A mise en place des bactéries pathogènes comme agents causales (*Mycobactérium avium paratuberculosis*, *E.coli*).
- A déterminer la présence d'une corrélation entre la maladie et l'exposition aux infections par des bactéries inhabituelles particulièrement les pathogène (*Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus pyogènes*, *Klebsiella*).

Chapitre I

Revue

Bibliographique

1. Définition

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire chronique humaine non spécifique de l'intestin qui touche le plus souvent l'iléon distal et le colon mais qui peut se produire aussi à n'importe quel niveau du tube digestif, de la bouche à l'anus et à la région périanale (**Hermon-Taylor et Bull, 2002; Chacon *et al*, 2004**).

Cette maladie doit son nom à la description en 1932 par **Crohn, Ginzburg et Oppenheimer** de huit cas d'iléite régionale distinct de cas de tuberculose intestinale. La maladie de Crohn est caractérisée par l'alternance des phases de rémission qui peuvent être très longues, et des rechutes plus ou moins sévères, nécessitant une ou plusieurs interventions chirurgicales chez une grande proportion des patients (**Rubery, 2001; Munkholm et Binder, 2004 ; Sandborn, 2004**).

2. Epidémiologie

2.1. Descriptive

Cette maladie touche généralement des patients au début de leur vie, son incidence était le plus élevé dans la tranche d'âge de 15 à 24 ans (**Chacon *et al.*, 2004 ; Grant, 2005**). Un second pic d'apparition de la maladie, moins marqué que le premier pic concerne les personnes de 55 à 65 ans (**Chacon *et al.*, 2004**). Cependant, la maladie peut se déclarer à tout âge (**Grant, 2005**). Selon les auteurs, l'incidence de la MC est légèrement plus élevée chez les femmes (**Molinie *et al*, 2004**). Plus fréquents dans les pays occidentaux (**Aranda *et al.*, 2009**).

2.2. Analytique

L'épidémiologie analytique de la MC n'est pas bien connue, seule l'intervention d'un facteur de risque génétique à pour l'instant été prouvée, ainsi la mutation du gène NOD2 (domaine d'oligomérisation des nucléotides) confère une sensibilité à la MC elle pourrait prédisposer à l'infection humaine par *Mycobacterium avium paratuberculosis* « Map » (**Hugot *et al.*, 2001**). L'exposition à la fumée de cigarette pendant l'enfance pourrait aussi augmenter le risque de la MC (**Andus et Gross, 2000**).

3.Étiologie

L'étiologie de la MC comme celle des autres maladies intestinales chronique inflammatoire (MICI) est inconnus, même si l'on admet généralement qu'elle est complexe et multifactorielle.

3.1. Susceptibilité génétique à La MC

3.1.1. Mise en évidence d'une prédisposition génétique

Près de 20% des patients atteints de MC ont un parent atteint d'une forme de MICI, le plus souvent un frère ou une sœur, parfois un parent ou un enfant (**Anonyme, 2003**). Le risque de développer la MC est 30 fois plus élevé pour le frère ou la sœur d'un malade que pour une autre personne (**Van Heel et al., 2001**). Selon **Russell et Satsangi** en 2004 36% des jumeaux monozygotes et 4% des jumeaux dizygotes sont concordant vis-à-vis de la MC alors que cette concordance est de 16% et 4% pour la colite ulcéreuse.

3.1.2. Recherche de loci associés à la MC

La recherche systématique dans le génome humain de tous les loci de susceptibilité est maintenant réalisable dans les affections polygéniques, elle a été utilisée avec succès pour la MC (Sanco/B3/R16/2000). Les régions chromosomiques 16q, 12q, 1p, 1q, 3p, 3q, 5p, 6p, 7q, 14q et 19p pourraient être spécifiquement associées à la MC (**Cho, 2000**). Le gène de susceptibilité localisé sur le chromosome 16 est le gène, qui code une protéine dénommée CARD15 avec deux domaines de recrutement de la caspase et une région riche en leucine (**Chacon et al., 2004**).

Le risque de développer la maladie est augmenté de 1,5 à 4,5 fois chez les sujets possédant une copie mutée de ce gène et de 15 à plus de 42 fois chez les sujets homozygotes ou hétérozygotes avec deux allèles mutés (**Van Heel et al., 2001 ; Ogura et al., 2003**).

3.1.3. Autres gènes impliqués

La présence d'un gène de susceptibilité sur le chromosome 5, en 5q31 a été établie récemment, un haplo-type de ce chromosome associé à un certain groupe des cytokines et conférant une susceptibilité à la MC a été identifié par cartographie des déséquilibres des liaisons (**Rioux et al., 2001**), d'autres gènes de régulation immunitaire ont été associés aux

MICI, parmi lesquels l'allèle R241 de la molécule d'adhésion intercellulaire avec la rectocolite hémorragique (RCH) et MC (Braun *et al.*, 2001).

3.2. Intervention des facteurs environnementaux

3.2.1. Hypothèses étiologiques infectieuses

- a. **Agents infectieux pathogènes** : Un agent infectieux chronique pourrait être responsable de l'activation soutenue de l'immunité muqueuse (Klein, 2006) : *Klebsiella spp*, *Chlamydia spp*, *Eubacterium spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Mycobacteria Spp*, *Helicobacter pylori* et *Pseudomonas spp*.

Du fait l'importance grandissante accordée à la transmission des maladies infectieuses de l'animal à l'homme et de l'évolution chronique de la MC tout comme celle de la lèpre et de tuberculose ; la possibilité que *Map* joue un rôle dans l'étiologie de la MC a été considérée avec attention (Rubery, 2001).

- b. **Rôle de la flore intestinale normale** : Chez des modèles animaux, la maladie inflammatoire est produite par les bactéries commensales de la flore intestinale normale, cultivable ou non, plus que par les bactéries pathogènes, on peut donc supposer qu'il en va de même chez l'homme (Sartor *et al.*, 1996 ; Shanahan, 2002).

3.2.2. Hypothèses étiologiques non infectieuses

- **Fondement** : L'influence de l'environnement sur la MC est probable du fait des changements dans l'épidémiologie de cette maladie (Gould *et al.*, 2004 ; Shanahan, 2004), une explication plus probable est que les conditions environnementales interviennent dans la régulation de l'immunité (Gould *et al.*, 2004).
- **Mode de vie et exposition aux micro-organismes** : Il est possible que les gènes conférant la résistance aux maladies infectieuses dans un environnement riche en micro-organismes deviennent des facteurs de risque d'une réponse immunitaire excessive dans un environnement moderne et quasiment « aseptisé » (Gould *et al.*, 2004). La MC pourrait ainsi être une hypersensibilité immunitaire à des stimuli

intestinaux gères normalement par la plus part des gens comme certains aliments ou les bactéries de la flore intestinale normale (**Rubery, 2001**). Autres facteurs environnementaux comme la fumée de cigarette ont une influence sur la réponse immunitaire locale dans la MC (**Andus et Gross, 2000**).

3.3. Réponses immunitaires anormales

La théorie d'un mécanisme immunitaire est basée sur le concept que les manifestations extra-intestinales accompagnant les MICI sont des phénomènes auto-immuns (**Chacon et al., 2004**), parmi lesquelles les arthrites (**Hodgson et al., 1997**), les patients atteints de la MC possédant des anticorps dirigés contre les cellules du colon, contre des antigènes bactériens comme les lipo-polysaccharides (LPS) et contre les antigènes étrangers comme les protéines du lait de vache (**Van Den Bogaerde et al., 2002**), Les cytokines pro-inflammatoires sont à un niveau élevé dans la MC il serait intéressant de réaliser leur mesure en pratique, il se peut qu'elles soient corrélées à l'activité de la maladie (**Chacon et al., 2004**).

Des études sur des patients et sur des modèles murins ont montré que la MC était associée à une réponse immunitaire de type Lymphocytes T auxiliaires (Th1) (**Okazawa et al., 2002**), les cellules dendritiques pourraient jouer un rôle important dans cette réponse lymphocytaire T anormale car les patients atteints de MC ont un nombre élevé des cellules dendritiques possédant un facteur d'adhésion particulier et de cellule dendritique avec récepteur CD38 (Cluster of differentiation) (**Tevelde et al., 2003**), l'implication de ce facteur d'adhésion qui est le récepteur à la leptine peut aussi être en faveur d'une hypothèse infectieuse, car certains agents pathogènes comme *Map*, se lient aux cellules dendritiques sur ce récepteur pour fausser le processus normal de présentation d'antigène « AG » (**Geijtenbeek et al., 2003**).

4. Pathogénie

4.1. Mécanisme pathologique proposé

Il est probable que la pathogénie de la MC mette en jeu une interaction entre des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux, mais le mécanisme responsable de l'initiation de l'inflammation chronique de l'intestin reste inconnu, tout comme l'étiologie exacte de cette maladie (Sanco/B3/R16/2000). Sans préjuger de la nature de l'agent étiologique, trois théories concernant le mécanisme de cette maladie sont citées actuellement.

La réaction à une infection intestinale persistante, l'existence d'une barrière intestinale perméable aux AG lumineux, comme les bactéries ou les aliments on ne se réparant pas assez rapidement, et la perte de la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte envers des AG ubiquistes (Sartor *et al.*, 1996).

4.2. Rôle de NOD2/CARD15

La protéine CARD15, pour laquelle code le gène NOD2, est impliquée dans la réponse initiale de système immunitaire à une infection bactérienne et exprimée dans les seuls monocytes (Hugot *et al.*, 2001 ; Ogura *et al.*, 2001), sa région riche en leucine est essentielle à l'interaction avec les polysaccharides bactériens (Ogura *et al.*, 2001) ont suggéré que ce processus passait par une reconnaissance du LPS par des récepteurs Toll-Like, la mutation de CARD15 pourrait provoquer une susceptibilité accrue des patients la possédant envers certains microorganismes intestinaux, ces éléments suggèrent que la réponse immunitaire innée à des composants bactériens joue un rôle dans le développement de la maladie (Hugot *et al.*, 2001 ; Ogura *et al.*, 2001).

NOD2 pourrait également jouer un autre rôle dans les cellules épithéliales intestinales, celui de permettre la destruction directe des bactéries intracellulaires (Hisamatsu *et al.*, 2003). Il a été identifié aussi dans les cellules de paneth de l'intestin ce qui suggéré un rôle dans la régulation de la réponse immunitaire de ces cellules contre les bactéries intestinales (Ogura *et al.*, 2003).

4.3. Immuno-pathologie

Les études immunologiques récentes ont cependant ciblés les anomalies des profils de sécrétion des cytokines par les Lymphocytes T (LT) qui contribuent à différencier la MC des autres MICI, ces profils sont représentés sur la « **figure 01** », dans l'intestin humain normal les deux voies Th1 et Th2 coexistent avec des cytokines régulatrices émises par les populations Th1 et Th3 (Shanahan, 2002), dans la MC, les cellules Th1 stimulées par l'interleukine12 (l'IL12) prédominent alors que normalement les voies Th1 et Th2 s'équilibrent (Shanahan, 2002 ; Okazawa *et al.*, 2002), l'IL12 est produite par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) au contact des bactéries (Shanahan, 2002), ces cellules Th1 produisent des cytokines pro-inflammatoires, les IL-1,2,6, Tumor necrosis factors (TNF- α) et l'interféron γ , des chémokines et activent ainsi l'immunité cellulaire par l'intermédiaires des macrophages dont les métallo-protéases créent les lésions (Okazawa *et al.*, 2002 ; Shanahan,

2002), la TNF- α est une cytokine pro-inflammatoire clé dans le développement des lésions et l'entretien de la sécrétion d'interféron- γ par les Th1 (Sanco/B3/R16/2000) les niveaux d'IL6 corrélés à la sévérité de la maladie (Louis *et al.*, 1997).

La production des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-10, IL-13 et IL-4n'est pas suffisante pour contrer la tendance pro-inflammatoire de la réponse immunitaire d'autant plus que les cellules T activées résistent mieux à l'apoptose après stimulation par l'IL-6, l'accumulation de ces cellules T activées responsable de la chronicité de la MC (Shanahan, 2002), il faut noter que la réponse Th1 est celle qui est mise en œuvre contre les bactéries intracellulaires « mycobactéries », cette réponse continue pourrait être une réponse chronique mais inappropriée aux mycobactéries, incapable de les éradiquer mais lésant la muqueuse (Shanahan, 2002).

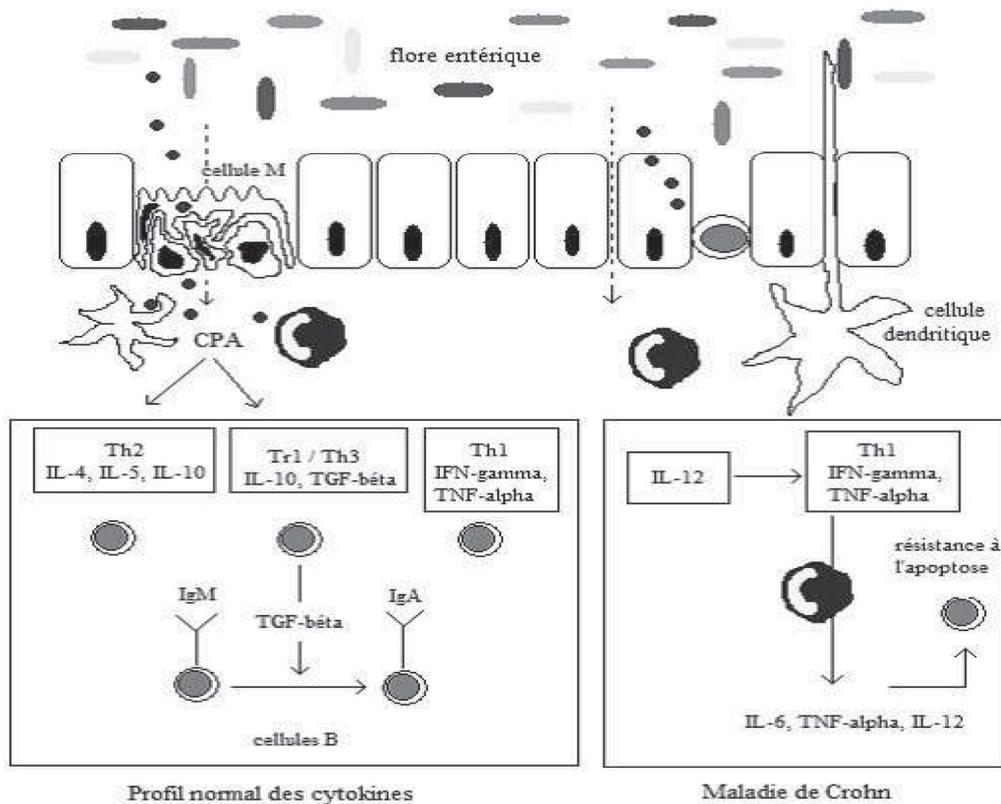


Figure 01: Comparaison des profils des cytokines chez l'humain normale et lors de MC d'après (Shanahan, 2002).

5. Symptômes

5.1. Symptômes digestifs généraux

Les symptômes majeurs de la MC qui sont présentés chez plus de 70% des patients au moment du diagnostic sont les diarrhées chroniques et les douleurs abdominales (**Munkholm et Binder, 2004**). Les diarrhées chroniques sont intermittentes et généralement non hémorragique lors de MC (**Fridman et Bulumberg, 1999**). Associée à des douleurs abdominales, à de la fièvre, de l'anorexie, de la fatigue et une sensation de malaise, une perte de poids pouvant aller jusqu'à 10 au 20% et une masse ou une distension du quadrant abdominale inférieur droit (**Rubery, 2001**). La masse correspond à des anses intestinales enflammées et des nœuds lymphatiques hypertrophier.

Trois types de formes cliniques de MC pouvant être distinguées : les formes inflammatoires, les formes sténosantes et les formes fistuleuses (**Gashe et al., 2000**). L'évolution de la maladie passe de la forme inflammatoire à l'une des deux autres formes précédentes (**Munkholm et al., 2004**). La phase inflammatoire est caractérisée par une douleur et une sensibilité du quadrant abdominale inférieur droit, mimant une appendicite lorsqu'elle est aiguë (Sanco/B₃/R₁₆/2000). L'obstruction intestinale partielle est causée par le gonflement de la paroi et de la sténose cicatricielle de l'intestin, elle se traduit par des douleurs postprandiales, des colites sévères lors de rétrécissement de diarrhée ou constipation des vomissements et de distension de l'abdomen (**Friedman et Blumberg, 1999**). Les abcès et fistules abdominales observé à des stades avancés causent de la fièvre, des masses abdominales, douleurs et affaiblissement généralisé (Sanco/B₃/B₁₆/2000). Les fistules peuvent être entero-entérique, entero-vésicales, entero-vaginale, entero-cutanées ou rétro-péritonéales, formant des abcès du psoas (**Anonyme, 2003**).

La jéjuno-iléite diffuse, avec inflammation et obstruction, cause de stéatorrhée, d'affaiblissement chronique et mal nutrition due à mal absorption, lors des phases d'activité sont responsable de diarrhée par le défaut de la réabsorption des acides biliaires (prolifération bactériennes au niveau de l'obstruction ou dans les fistules) et l'inflammation intestinale (**Friedman et Blumberg, 1999**). L'association de nausées de vomissements et des douleurs épigastriques suggéré une implication gastroduodénale dans la MC (**Friedman et Blumberg, 1999**).

5.2. Symptômes extra-intestinaux :

Les manifestations les plus rencontrées chez les patients de la MC sont représentées dans la figure 2.

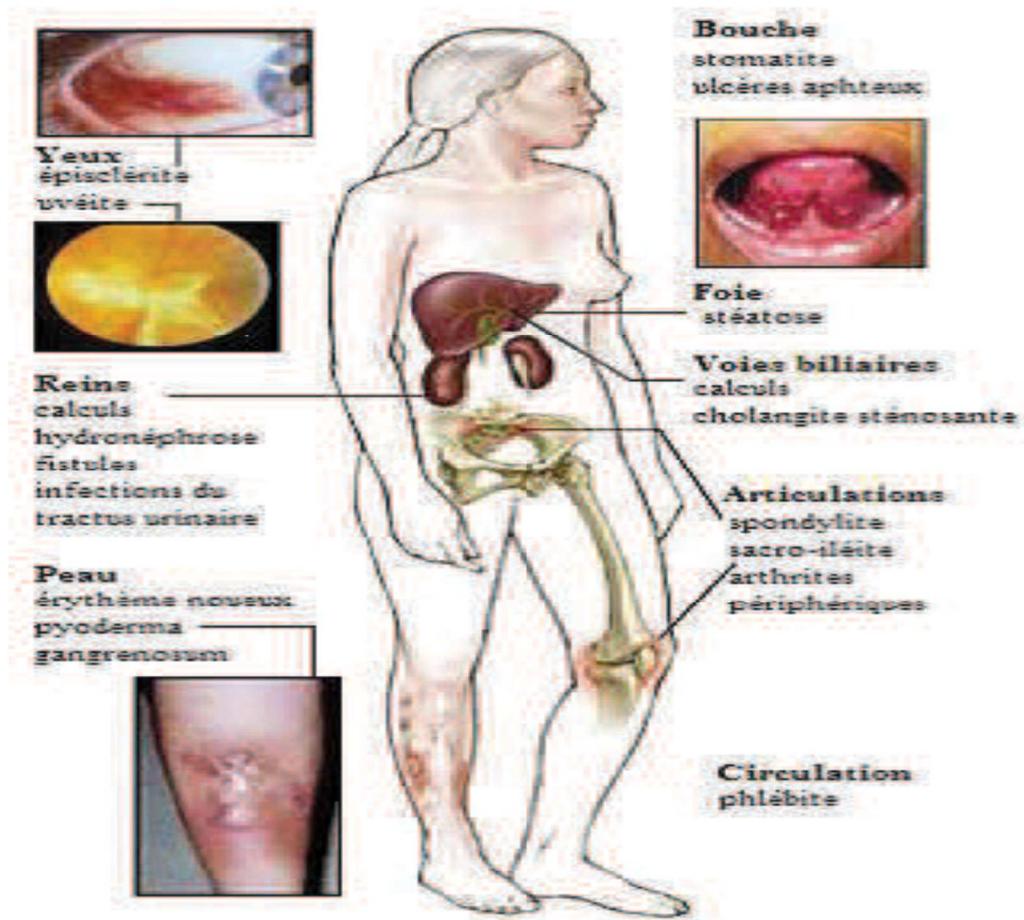


Figure 2 : l'ensemble des manifestations extra-intestinales de la MC (Bayless *et al.*, 2006).

5.2.1. Manifestations suivant l'activité de la maladie intestinale

Les manifestations articulaires les plus fréquentes elles comprennent des arthralgies et des arthrites périphériques ; les complications cutanées comme le cas d'érythème noueux et de *pyoderma gangrenosum* (Munkholm et Binder, 2004), les troubles oculaires évoluant comme les maladies intestinales sont les épisclérites (Friedman et Blumberg, 1999 ; Munkholm et Binder, 2004), on peut citer des trombo-embolies et des stomatites aphteuses (SANCO/B3/B16/2000) comme d'autres complications.

5.2.2. Manifestations associées aux MICI inflammations mais évoluant indépendamment

Ces manifestations incluent les spondylites ankylosantes, les sacro-iléites, les uvéites, les iridocylites et les cholangites sclérosantes primaire (**Munkholm et Binder, 2004**).des cas d'eczéma non spécifique (**Gilat *et al.*, 1987**).

5.2.3. Manifestations associées à l'atteinte de la fonction intestinale

Les conséquences de la modification de la physiologie intestinale sont majoritairement les problèmes rénaux (Dysfonctionnement du métabolisme de l'acide urique, les infections urinaires lors des fistules entero-vésicale) (**Sanco/B3/R16/2000**). Les autres complications incluent la mal absorption et les carences nutritionnelles ce qui provoque de nombreuses manifestations systémiques(le retard de croissance chez l'enfant, la pellagre, l'anémie mégaloblastique, fractures vertébrales (**Rubery, 2001**).

5.3. Complications

L'obstruction, la fistulisation et la formation des abcès microscopiques et macroscopiques sont des complications communes de l'inflammation persistente (**Munkholm et Binder, 2004**).le traitement chirurgicale des abcès permet la prévention avant la formation des fistules et l'atteinte de la longueur de l'intestin (**Munkholm et Binder, 2004**). Des fissures, des abcès péri-anaux, des plages étendues d'hémorroïdes ou des fistules sont les complications périanales (**Sanco/B3/R16/2000**).

La MC augmente le risque de cancer colorectal environ 19 fois plus important selon des études rétrospectives (**Gellen *et al.*, 1994**). Ce cancer se développe toujours au niveau des segments d'intestin enflammés, et le risque est une fonction de l'étendu et la durée de la maladie (**Binder, 2004**).Les adénocarcinomes ne se développent que dans les segments d'intestin atteints, et sont difficiles à diagnostiquer de façon précoce car ils ont le même aspect radiographique que les sténoses de la MC (**Munkholm et Binder, 2004**). Les saignements intestinaux et les perforations se développent rarement (**Rubery, 2001**).

6. Lésions

6.1. Localisation

Toutes les régions du tube digestif puissent être touchées, plus de 90% des nouveaux cas de lésions macroscopiques sont détectables et localisés au colon, à l'intestin grêle ou au deux. Le segment le plus touché est l'iléon terminal cliniquement enflammé chez deux tiers des patients (Munkholm et Binder, 2004).

Tableau 1: localisation de la MC lors du diagnostic dans les études rétrospectives (Munkholm et Binder, 2004).

Référence	Intestin grêle seul(%)	Colon seul (%)	Intestin grêle et colon (%)	Autres (%)
Nyhlím Et Danilsson, 1986	48	20	32	–
Ekbom Et Al, 1991	39	25	26	10
Munkholm Et Al, 1992	29	30	33	08
Gower-Rousseau, 1994	11	19	48	22
Moum Et Al, 1996	27	44	29	–
Lapidus Et Al, 1997	27	32	41	–
Loftus Et Al, 1998	22	32	45	01
Bjornsson Et Johansson, 2000	18	51	31	–
Witte, 2000(Ec-Ibd)	20.6	18.7	31	29.7
Molinie Et Al, 2004	20.6	18.7	60.7	-
Moyenne (plage)	27(11-48)	31(18.7-51)	37.7 (26-60.7)	07.07 (00-29.7)

6.2. Aspect macroscopique

Une caractéristique de cette maladie est que les lésions habituellement discontinues, segmentaires séparées par des portions d'intestin sain sont dénommées « skip lésions » ulcérations aphteuses focales de la muqueuse, avec généralement des nodules de tissu lymphoïde en dessous, l'inflammation progresse jusqu'à impliquer toutes les couches de la paroi intestinale épaississant ainsi considérablement cette dernière, l'alternance des ulcères longitudinaux et des ulcères transversaux avec la muqueuse non ulcères mais œdématiée crée un aspect macroscopique en pavés caractéristique (Sanco/B3/R16/2000), le mésentère en

relation avec la portion d'intestin atteinte et épaissi et présente un œdème lymphatique et une lymphadénite mésentérique est souvent présente (Sanco/B3/R16/2000). L'inflammation pariétale et son épaississement, les ulcérations profondes, l'œdème et la fibrose sont responsables de l'obstruction par réduction progressive du diamètre de la lumière intestinale (Friedman et Blumberg, 1999).

6.3. Aspect microscopique

Les modifications microscopiques les plus évidentes concernent la sous-muqueuse, avec une infiltration lymphocytaire et un œdème lymphatique initial, puis une fibrose étendue (Friedman et Blumberg, 1999). La présence des granulomes est utile pour différencier histologiquement la MC à des autres formes des MICI, c'est l'inflammation chronique impliquant toutes les couches de la paroi intestinale qui est la plus caractéristique de cette maladie, les lymphocytes et les macrophages sont les deux populations cellulaires présentes dans les granulomes et/ou dans l'infiltrat inflammatoire. Les macrophages activés et les monocytes de l'infiltrat, associés à des cellules géantes et à des cellules épithéloïdes dans les granulomes, semblent très impliqués dans la pathogénie des lésions par la production des cytokines pro-inflammatoires, d'enzymes lysosomales, des radicaux libres oxygénés, de monoxyde d'azote et des composants de matrice extracellulaire (Sanco/B3/R16/2000).

7. Diagnostic

7.1. Diagnostic clinique

La présence des diarrhées et/ou des douleurs abdominales durant plus de 3 mois, et la présence des fistules ou abcès en relation avec la lésion intestinale (Munkholm *et al.*, 1992).

7.2. Diagnostic différentiel

La MC est difficile à diagnostiquer car ces symptômes sont semblables à ceux d'autres maladies intestinales comme le syndrome du côlon irritable et la colite ulcéraire, les infections de colon dont la tuberculose intestinale et les colites induites par les médicaments (Sandborn, 2004).

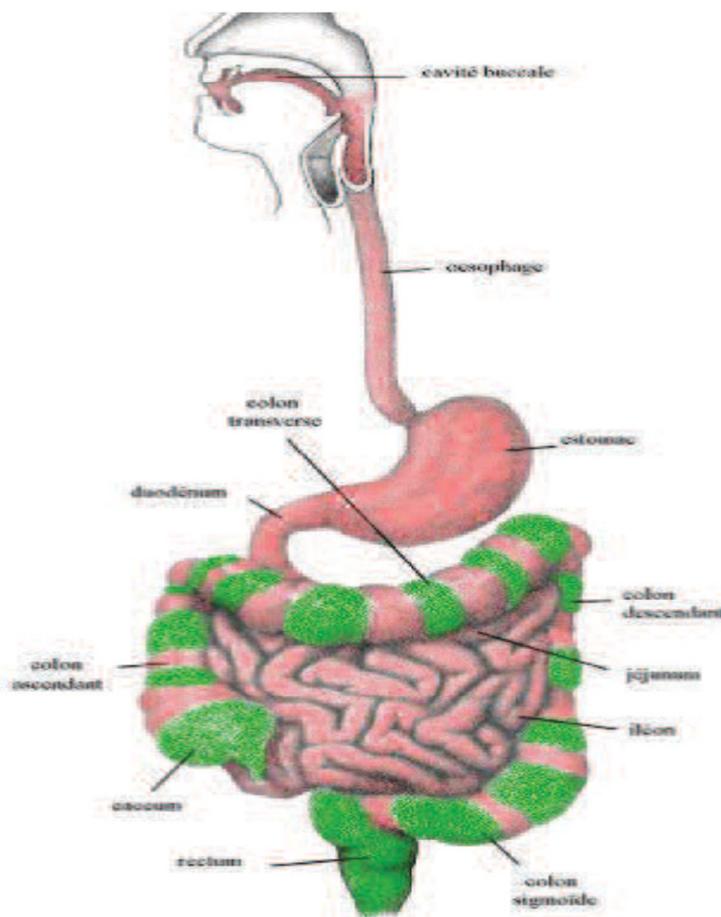


Figure 3: les régions anatomiques du tube digestif humain affectées par les MICI (Chacon *et al.*, 2004).

La MC (région colorées en rose) peut toucher tous le tube digestif, alors que colite ulcéreuse (vert) concerne le colon et le rectum, les régions hachurées peuvent être touché par ces deux maladies proportionnellement à la couleur qui les représente.

7.3. Exploration

7.3.1. Imagerie médicale

La coloscopie, qui utilise un endoscope, permet de visualiser la muqueuse du gros intestin, de détecter une inflammation ou un saignement, et de réaliser une biopsie (Anonyme, 2003). La présence des lésions segmentaires de l'intestin avec un aspect en pavé et/ou des sténoses est un critère de diagnostic de la MC (Munkholm *et al.*, 1992), La radiographie sans produit de contraste permet lorsque le diagnostic de la MC est établi, de déterminer l'étendue de l'affection (Anonyme, 2003).

7.3.2. Hématologie

La recherche d'une éventuelle anémie peut permettre de détecter un saignement intestinale (**Anonyme, 2003**), la mise en évidence d'une leucocytose indique la présence d'un foyer inflammatoire dans l'organisme (**Anonyme, 2003**).

7.3.3. Coprologie

Des traces de sang ou des signes d'infection bactérienne sont recherchés par analyse coprologique (**Anonyme, 2003**).

7.3.4. Histologie

Le critère de diagnostic de la MC est l'infiltration lymphocytaire transmurale et/ou la présence de granulomes épithéliaux avec des cellules géantes de Langhans (**Munkholm et al., 1992**).

8. Traitement

8.1. Traitement médicale

8.1.1. Traitement symptomatique de la phase clinique

Il comprend les anti-diarrhéiques et les anti-inflammatoires (**Rubery, 2001**). Plusieurs principes actifs anti-diarrhéiques peuvent être utilisés, parmi lesquels le diphénoxylate, le lopéramide et la codéine (**Anonyme, 2003**). La mésalamine et les autres dérivés du 5-aminosalicylic acid (5-ASA) sont des substances qui contrôlent l'inflammation, les effets secondaires possibles de ces principes actifs sont des nausées, des vomissements, des céphalées, des douleurs épigastriques et de la diarrhée dans une minorité de cas présentant une hypersensibilité au 5-ASA (**Sandborn, 2004**).

Des corticoïdes à action locale comme le budésonide, ou à action systémique comme la prednisolone ou la méthylprednisolone, peuvent aussi être dans ce but (**Sandborn, 2004**), ils sont les plus efficaces lors de la MC est active (**Anonyme, 2003**). Les dérivés du 5-ASA et les corticoïdes à action locale, administrés par voie orale, agissent à différents niveaux du tube digestif, il est donc important de connaître la localisation des lésions du patient pour les employer de la façon la plus efficace possible (**Sandborn, 2004**).

8.1.2. Traitement Immunosuppresseur

Le traitement immunosuppresseur est utilisé pour maintenir le patient en rémission, les principes actifs les plus utilisés sont la 6-mercaptopurine et l'azathioprine qui est son précurseur (Sandborn, 2004). Ces médicaments bloquent la réaction immunitaire qui contribue à l'inflammation, ils sont efficaces pour induire la rémission, et ferme certains fistules (Sandborn, 2004).

8.1.3. Traitements spécifiques « AC Anti-TNF α »

Le TNF α est une cytokine produite par le système immunitaire qui pourrait causer l'inflammation associée à la MC (Anonyme, 2003), l'infliximab est un anticorps (AC) monoclonal chimérique dirigé contre le TNF α , qui le fixe dans le flux sanguin avant qu'il n'atteigne l'intestin, prévenant ainsi l'inflammation (Sandborn, 2004). Ce traitement est autorisé pour les formes modérées à sévères de la MC réfractaires, qui ne répond pas aux thérapies standards, et pour le traitement des fistules ouvertes (Sandborn, 2004).

8.1.4. Antibiothérapie

Les antibiotiques sont utilisés pour traiter la prolifération bactérienne dans l'intestin grêle causée par l'obstruction, les fistules, ou avant une intervention chirurgicale (Rubery, 2001). Un ou plusieurs sont prescrit pour ce problème courant : l'ampicilline, le sulfonamide, les céphalosporines, la tétracycline ou les métronidazole (Anonyme, 2003).

8.2. Traitement chirurgicale

Le traitement chirurgicale est nécessaire pour la plus part des patients qui ne répondant pas aux corticoïdes et pour traiter les complications locales de la MC comme les fistules (Hermon-Taylor et Bull, 2002). Il consiste en la résection du segment d'intestin grêle ou de colon enflammé et ou sténose ou une colectomie (Munkholm et Binder, 2004). Les abcès et les fistules périanales sont traités par drainage, les sténoses isolées pouvant être traitées par stricturo-pastie (Bayless *et al.*, 2006). Lors d'implication d'une grande partie du gras intestin, une colectomie ou une proctocolectomie avec iléostomie peut être nécessaire (Bayless *et al.*, 2006).

8.3. Traitement diététique et support nutritionnel

Aucun régime alimentaire n'a été prouvé efficace pour la prévention ou le traitement de cette maladie, des suppléments nutritionnels peuvent être prescrits pour contrôler la perte de poids, notamment pour les enfants dans la croissance a été freinée (**Rubery, 2001**).

9. Evolution et pronostic

9.1. Evolution naturelle

Des études de traitement de la MC avec des lots témoins traités par placebo montrent qu'après trois mois, le quart à la moitié des patients dont la maladie était active sont entrés spontanément en phase de rémission, même si seulement 15 à 18% des patients étaient en cours en rémission après une année (**Summers *et al.*, 1979**).

9.2. Evolution clinique de l'activité inflammatoire

La maladie peut suivre plusieurs schémas d'évolution, parmi lesquels une évolution chronique intermittente, avec des périodes de rémission de plus d'un mois sans traitement par les glucocorticoïdes, et une évolution symptomatique continue, sans ces phases de rémission (**Munkholm et Binder, 2004**).

CHAPITRE II

Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée dans plusieurs unités :

- Service gastro-entérologie CHU Mustapha Bacha(Alger) ; Service médecine interne CHU Kouba(Alger) ; Service médecine interne CHU Beni Messouse(Alger) pour le recueil des biopsies intestinales (deux fragments dans le formol à 10% et deux autre dans l'eau physiologique).
- Service d'anatomo-pathologique et cytologique CHU Médéa: Examen anatomo-pathologique des biopsies intestinales.
- Service microbiologie Laboratoire des analyses médicales Ain defla « Clinique de Dr Zibouche » : Examen bactériologique des biopsies intestinales.

1. Matériel :

1.1. Matériel biologique :

Des biopsies intestinales sont obtenus à partir des 15 patients représentant la MC iléale et colique, (diagnostiqués) ayant subis une endoscopie basse (coloscopie de contrôle), pour la recherche des *Map* et l'examen bactériologique ; deux fragments sont mise dans du sérum physiologique conserver à 4°C ; les biopsies doivent être prélevées à partir de muqueuse pathologique et sain pour l'examen bactériologique ; et deux fragments biopsiques prélevées à partir de muqueuse pathologique inclus dans le formol à 10% pour l'examen anatomo-pathologique. Les caractéristiques des patients sont représentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : caractérisation des patients.

Nombre des Patients	Sexe	Age (ans)	Durée de la maladie	Diagnostic/ localisation	Chirurgie
01	Homme	32	4 ans	MC iléo-colique	Non
01	Femme	41	18 ans	MC diffuse, plusieurs localisations	Colectomie partielle (partie distale de colon droit)
02	Homme	39	6 ans	MC iléale	Non
02	Homme	25	3 ans	MC colique	Non
02	Femme	17	8 mois	MC iléale	Non
02	Femme	22	3 ans	MC iléo-caecale	Non
02	Femme	53	14 ans	MC iléale	Non
03	Femme	23	3 ans	MC colique	Non

Des selles des mêmes patients (5 parmi 15 patients) ont été ramenées dans des pots en plastiques stériles pour la comparaison des résultats bactériologiques.

Une pièce opératoire d'une femme âgée 39 ans, subit une colectomie le 20/04/2015 dans le CHU Médéa (service de médecine interne), la patiente présente un échec au traitement depuis un mois avec une colite grave et des sténoses explorées par coloscopie, l'examen anatomo-pathologique sur la pièce a pour but de comparer les aspects histologiques des biopsies coliques et de la pièce opératoire.

1.2. Milieux de culture

- Milieu Hektoen (Institut Pasteur Alger) a été utilisé pour l'isolement des Gram négatifs entéropathogènes (*E. Coli*, *S.typhi*).
- Milieu Brain Heart Infusion Broth « BHIB », (Institut Pasteur, Alger) a été utilisé pour le broyage des biopsies intestinales et l'enrichissement des selles.
- Milieu Macconkey (Institut Pasteur, Alger) a été utilisé pour l'isolement des entérobactéries et la recherche de *Salmonella* et *Shigella* et *E. Coli*.
- Gélose Mueller Hinton « MH » (Institut Pasteur, Alger) pour effectuer l'antibiogramme.
- Bouillon glucosé tamponné « BGT » (Institut Pasteur, Alger) pour la culture des streptocoques, pneumocoques, méningocoques et autres germes exigeants.
- Gélose au sang a été utilisé pour déterminer le type d'hémolyse des streptocoques s'ils sont présents.

2. Méthodologie

2.1. Endoscopie digestive basse

L'endoscopie par voie basse ou coloscopie est un examen endoscopique réalisé sous analgésie ou non qui permet de visualiser les parois internes du côlon grâce à l'introduction par l'anus d'un coloscope.

Le coloscope de taille adaptée est un tube souple d'environ 1m20 et de 7 à 13mm de diamètre. Une extrémité comporte les manettes d'orientation de l'appareil et les manettes d'insufflation et d'aspiration, le canal à biopsie et l'optique. L'autre extrémité comporte deux faisceaux de fibres (lumière et image). Nécessite matériel à biopsie. Il faut bien préparer les patients psychologiquement (explication le but de l'examen), et la préparation physique qui

consiste à un régime sans résidus pendant 3 jours avant l'examen puis le lavage intestinal proprement dit la veille de l'examen (4 litres de polyéthylène-glycol (PEG) : n'est pas réabsorbé par l'intestin ou le côlon, il garde l'eau à l'intérieur de la lumière colique et il est évacué par l'anus avec les selles. Cette purge provoque une diarrhée pendant plusieurs heures jusqu'à ce que toutes les matières fécales soient éliminées et que le colon soit parfaitement propre. L'évacuation d'un liquide clair et transparent traduit que la préparation est correcte).

La coloscopie réalisée sous anesthésie nécessite une cascade des analyses (E.C.G., radiographie pulmonaire, Ionogramme, FNS, plaquette, Groupe sanguin, rhésus, Bilan de coagulation « TP, TCA »).

Déroulement de l'examen : Patient en chemise d'opéré et alèse de protection. Position en décubitus latéral gauche, jambes repliées ; Lubrifié avec du gel le coloscope et le canal anal, le patient est changé de position lors du passage des angles coliques. Pendant l'examen, on insuffle de l'air pour déplisser la muqueuse.

L'inspection de la muqueuse se fait au retour du coloscope et lorsque les différents gestes d'examen sont fait (polypectomie, biopsie).L'air est aspiré avant le retrait du coloscope.

2.2. Examen anatomo-pathologique

2.2.1. Prélèvement

- ✓ Des biopsies intestinales prélevées à partir des patients par endoscopie digestive basse (coloscopie) sont mise dans le formol à 10% pour l'examen anatomo-pathologique.
- ✓ Une pièce opératoire inclus totalement dans 10% de formol.

2.2.2.Étude macroscopique

L'examen macroscopique détaillé est une partie essentielle de l'étude d'une pièce opératoire ; la pièce est examinée : mesurée, pesée, palpée puis disséquée.

2.2.3. Fixation

L'Intérêt de la fixation c'est l'immobilisation des constituants tissulaires/cellulaires et prévient l'autolyse cellulaire, pour assurer les bonnes colorations ultérieures.

2.2.4. Déshydratation et éclaircissement et imprégnation

Les prélèvements ayant achevé leur fixation sont déposés dans des cassettes en plastique puis l'on passe dans des bains d'alcool de degré croissant (55°/2h ; 70°/1h ; 80°/1h ; 90°/1h ; 95°/1h ; en fin à 98°/1h). L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur, elle consiste à remplacer l'eau des cellules par un liquide hydrophobe : l'alcool ou l'acétone. L'alcool (éthanol) est ensuite remplacé par un solvant miscible à la paraffine : il s'agit soit de xylène, soit de toluène (hydrocarbures) dans notre méthodes on utilise 2 bains de xylène. Ces substances éliminent l'éthanol. Les tissus ont tendance à s'éclaircir : cette étape est donc parfois appelée éclaircissement ou clarification. Une fois totalement imprégné, le tissu est placé dans de la paraffine fondue (portée à 60°C) ; la chaleur provoque l'évaporation du solvant (et sa dissolution dans la paraffine) : les espaces ainsi libérés sont remplis par la paraffine. C'est la première étape d'inclusion. Ces étapes se déroulent dans un automate pour la déshydratation et l'inclusion des tissus leica tp1020 représenté dans la figure 04.



Figure 04 : automate de déshydratation et l'inclusion tissulaire leica tp1020.

2.2.5. Confection du bloc

L'étape finale de l'inclusion est manuelle et consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe s'il s'agit d'une pièce opératoire dans un moule de paraffine.



Figure 05 : Confection du bloc.

2.2.6. Microtomie

On isole ensuite des coupes dans le bloc de paraffine. On utilise pour cela un microtome type Leica, qui fait avancer le bloc sur un rasoir : le bloc avance d'environ 2 à 3 μm à chaque fois, L'ensemble des coupes vont former un ruban dans lequel on retrouve des coupes sériées de prélèvement biopsique. Les rubans sont déposés sur des lames contenant de l'eau distillée. On chauffe les lames sur une plaque chauffante pendant 1h, et étuvées après à 60°C pendant 15min, pour la paraffine colle à la lame.



Figure 06 : microtomie et étalement.

2.2.7. Coloration des lames

a. Coloration à hématoéine/éosine HE

L'hématoéine est une substance plutôt basique, qui colore les acides nucléiques. L'éosine est une substance acide, qui colore plutôt les cytoplasmes (en rose) donc colore les protéines. Cependant, pour que l'on puisse utiliser une coloration, la paraffine doit être éliminée. On procède donc au déparaffinage, qui consiste à passer les lames dans des bains de toluène ou de xylène afin de dissoudre la paraffine. On effectue ensuite une réhydratation : l'alcool se mélange avec l'eau et le toluène, on passe les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant (de 97° à 95°). On a utilisé une méthode plus pratique (HE rapide) cette coloration est effectuée par un automate de coloration standard de type sakura cyto stain ; les étapes sont résumées dans la figure 07.

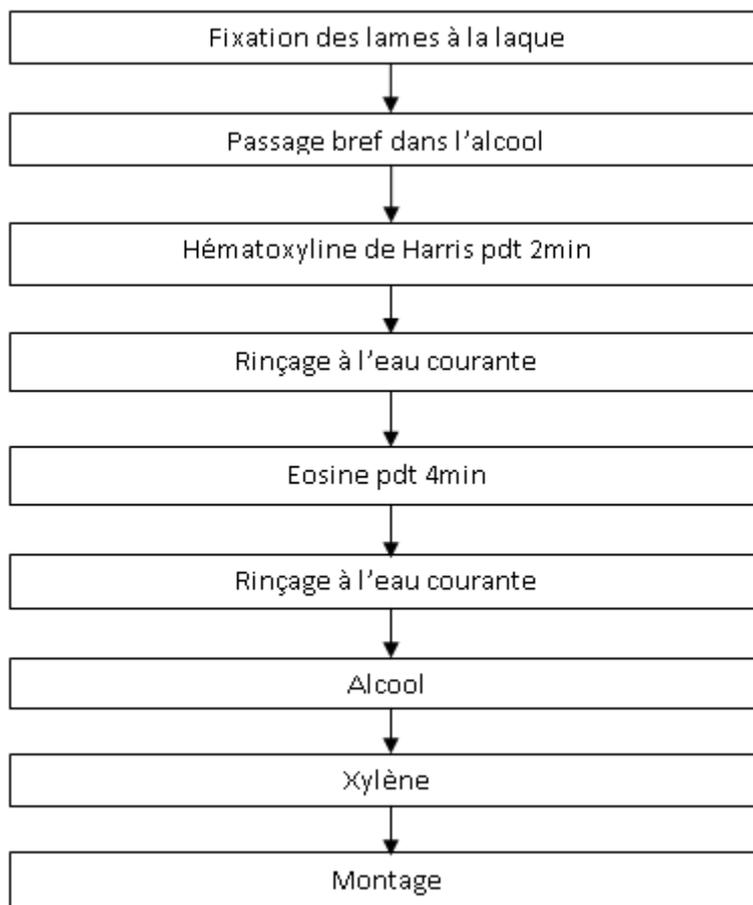


Figure 07 : Les étapes de la coloration HE rapide.



Figure 08 : automate de coloration standard de type sakura-cyto-stain

b. Coloration de Ziehl Neelsen sur les coupes histologiques (à froid)

Déparaffiner et réhydrater puis recouvrir les lames par la solution de carbofuch sine 0,3% pendant 30min. rinçage délicate par l'eau distillée, on passe à la décoloration par acide sulfurique 25% pendant 5min et puis l'alcool 3min, lavage pdt 5min et puis une contre coloration par le bleu de méthylène pdt 2min, rinçage à l'eau distillée puis 2min dans un bain de xylène et finalement monter.

2.2.8. Montage des lames

Les lames sont montées pour préserver les colorations, des lamelles de verre sont collées par-dessus (grâce à des résines synthétiques) afin de préserver les préparations.

3. Examen bactériologique des biopsies intestinales

2.3.1. Broyage des biopsies intestinales

Broyer les biopsies à l'aide d'un mortier dans 0,5ml de bouillon BHIB (le broyage permet la dispersion des bactéries et leurs libération des cellules à mucus), (**Allem et al., 2007**).

2.3.2. Examen à l'état frais

- ✓ Ils doivent être réalisés le plus rapidement possible après le prélèvement (Les 4 heures qui suivent le prélèvement ou il doit être conservé à 4°C pendant 8h).
- ✓ Etalement entre lame et lamelle d'une goutte de suspension permet de visualiser la présence éventuelle des bactéries et leurs mobilités.

2.3.3. Frottis

À l'aide de l'anse, on dépose sur la lame une goutte de suspension étalée. Après fixation, on colore le frottis au Gram et on lit à l'objectif x 1000 à huile d'immersion. L'examen direct du frottis coloré permet de observer la présence ou l'absence la diversité bactérienne dans la suspension biopsique.

2.3.4. Bactérioscopie : Coloration de Ziehl Neelsen sur suspension biopsique

a. Coloration

Un frottis préparé et coloré suivant la coloration de Ziehl Neelsen ; Placer les lames fixées sur le support de coloration la face d'étalement vers le haut. Les lames devraient être séparées par un intervalle de 1 cm et ne jamais se toucher l'une l'autre. On recouvre les lames l'une après l'autre au moyen de la solution de travail de fuchsine phéniquée de Ziehl à 0,3 %. En plaçant une bande de papier filtre ; on retiendra la solution de coloration et on évitera le dépôt des cristaux de fuchsine sur les frottis.

Chauffer les lames par le dessous au moyen de la flamme d'un bec Bunsen jusqu'à l'émission de vapeur. Il ne faut jamais aller jusqu'à l'ébullition de la solution de colorant. Laisser les lames recouvertes d'une solution chaude et fumante de fuchsine phéniquée pendant 5 minutes en repassant la flamme si c'est nécessaire.

Rincer les lames délicatement à l'eau distillé stérile pour écarter l'excès de fuchsine phéniquée ; Evacuer l'excès d'eau de rinçage des lames (Guide technique de diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus ; 2000).

b. Décoloration

Recouvrir les lames au moyen d'acide sulfurique à 25 % et laisser agir pendant 3 minutes, après cela la coloration rouge devrait avoir presque disparu. En cas de nécessité, répéter cette séquence durant deux minutes supplémentaires.

Laver délicatement l'acide sulfurique et l'excès de colorant à l'eau. Evacuer des lames d'eau de rinçage ; les lames sont recouvert par une solution d'alcool 95° pendant 5min puis on passe au rinçage à l'aide d'eau distillé stérile (Guide technique de diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus ; 2000).

c. Contre-coloration

Recouvrir les lames l'une après l'autre avec la solution de contre-coloration (bleu de méthylène à 0,3 %) et laisser agir pendant une à deux minutes ; Rincer les lames à l'eau individuellement. Evacuer l'eau des lames et les laisser sécher à l'air. On passe à l'observation à un objectif à immersion grossissement 1000(Guide technique de diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus ; 2000).

2.3.5. Culture

Prendre à l'aide d'une anse à platine une goutte du milieu préalablement enrichi et ensemercer sur les milieux (Hektoen ; Macconkey) en utilisant la méthode des stries, une autre goutte déposer sur le bouillon BGT, Incuber à 37°C pendant 24 h.

2.3.6. Examen macroscopique des colonies

Chaque bactérie présente un type de colonie caractérisé par la couleur, le contour, l'odeur, la taille et l'aspect. Le trouble présent dans le tube de BGT indique une croissance bactérienne des streptocoques.

2.3.7. Isolement

Les colonies suspectées sont isolés à l'aide d'une pipette Pasteur transmit dans un tube stérile remplis de 5ml d'eau physiologie stérile puis ensemercer sur milieu Hektoen et incuber à 37°C/ 24h ; pour le bouillon BGT on prend une goutte à l'aide de l'anse et on ensemece sur le milieu gélose au sang pour détecter le type d'hémolyse, l'Absence d'un halo

d'éclaircissement autour de la colonie signifier l'absence d'hémolyse, Halo d'éclaircissement complet, à bords nets signifié hémolyse β (lyse des hématies et digestion totale de l'hémoglobine libérée), Le Halo verdâtre, à bords flous est hémolyse α (lyse des hématies et digestion incomplète de l'hémoglobine libérée a méthémoglobine).

2.3.8. Identification

Identification macroscopique selon le type des colonies on peut suspecter l'espèce bactérienne. Identification microscopique un frottis préparé et coloré suivant la technique de Gram pour chaque colonie.

2.3.9. Identification des caractères biochimiques

a. Préparation de la suspension bactérienne : Prélever une colonie suspecte bien isolée à l'aide d'une anse à platine stérile, la déposer dans 5ml d'eau physiologique ; Mettre dans l'étuve à 37°C pendant 10 à 15 minutes.

b. Ensemencement d'une galerie biochimique classique : Les caractères biochimiques recherchés sont celles de la galerie classique (urée ; Indole ; RM ; ONPG ; LDC ; ODC ; ADH ; catalase ; TSI ; mannitol) ; le tableau est présenté dans l'annexe (tableau 01).

c. Galerie API20E : Les galeries Api utilisent plusieurs types des tests : étude de la fermentation des divers glucides, auxanogramme, recherche directe d'une enzyme. Chaque tubule contient un substrat différent sur lequel le micro-organisme considéré va réagir. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (de densité différente selon la galerie). Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque. Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose, soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH. Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par-dessus. L'ensemble est incubé à 37°/24 à 48h. Après addition des réactifs nécessaires à la révélation des différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée.

2.3.10. Antibiogramme

a. Inoculum

À partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'Hektoen, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% et bien homogénéiser la suspension bactérienne.

b. Ensemencement

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement (on le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose (MH).

c. Application des disques d'antibiotiques

Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre (Standardisation de l'antibiogramme en médecine Humain à l'échelle nationale ; 2008) ; Les antibiotiques à tester pour les entérobactéries sont représentés dans le tableau 03.

Tableau 03 : les antibiotiques à tester pour les entérobactéries et leur mode d'action.

Familles	Mode d'action	L'antibiotique
Aminosides/ aminoglycosides.	Inhibition de la synthèse protéique.	AK (Amikacine).
		CN (Gentamicine).
β - lactamine + inhibiteur de la β - lactamase.	Agissent sur la synthèse de peptidoglycane (inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne).	AMC (Amoxicilline+ acide clavulanique) AX (amoxicilline)
Céphalosporine	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	CTX (Cefotaxine)
		KZ (Cefazoline)
		CFM (Cefixime).
Quinolones.	Inhibiteur de la synthèse d'ADN.	CIP (Ciprofloxacine).
		NA (Acide Nalidixique).
Sulfamides et associes	Agissent sur la synthèse des folate, acide purique et acide nucléique (inhibiteur de synthèse d'ADN).	STX (Triméthoprime + sulfaméthoxazole).
Nitrofuranes.	Agissent directement sur l'ADN provoquant divers lésions.	F300 (Nitrofurantoin).

On utilise 2 boîtes de Pétri dans la 1^{ère} (AK, KZ, AMC, CTX, CFM, AX) ; le disque d'AMC doit être appliqué près d'un disque de CTX, pour montrer s'il y a une synergie, et pour la 2^{ème} on dépose CIP, F300, CN, NA et STX.

d. Incubation

Les boîtes seront incubées à 37°C pdt 18h à 24h.

e. Lecture

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition, et classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante ; les valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour entérobactéries sont représentés dans les tableaux 02 (Annexe).

2.3.11. Coproculture

a. Prélèvement et transport

Les selles sont recueillies des émissions dans un récipient propre. Le prélèvement doit être immédiatement acheminé au laboratoire ou conservé au maximum une nuit à + 4°C afin d'éviter la dessiccation et la prolifération des bactéries et levures commensales.

b. Mise en culture

Toute coproculture doit systématiquement mettre en œuvre la recherche de *Salmonella* et de *Shigella*. Outre un milieu sélectif d'isolement (Hektoen), un milieu d'enrichissement pour *Salmonella* est indispensable.

c. Enrichissement

Les selles testées doivent être diluées à l'aide d'un écouvillon on prend une petite quantité des selles, ajoutant environ 5ml d'eau distillée stérile, ensemercer à l'aide de l'anse sur milieu Hektoen, et une autre goutte de la suspension est enrichir par 4,5ml de BHIB incubé à 37°C/24h l'enrichissement doit être répété 3 fois à chaque on ensemercer sur le milieu Hektoen on obtienne 3 boîtes cultivées (1^{ère} enrichissement, 2^{ème} enrichissement, 3^{ème} enrichissement).

d. Lecture des résultats

L'identification des bactéries pathogènes se fait suivant leur aspect macroscopique sur la gélose, et l'identification biochimique.

CHAPITRE III

Résultats et

Discussion

1. Résultats

1.1. Apport d'endoscopie

La muqueuse iléale et/ou colorectale est ulcérée avec typiquement des intervalles de muqueuse saine, mais les lésions peuvent être continues dans les formes sévères et étendues. On observe une disparition de la trame vasculaire, un érythème, des érosions, des ulcérations aphtoïdes ou linéaires et parfois creusâtes. La présence des pseudo-polypes inflammatoires est un reflet d'une maladie ancienne.

1.2. Examen anatomopathologique

1.2.1. Examen anatomopathologique des biopsies intestinales

a. Après coloration d'hématoxyline éosine

- **Aspect microscopique des biopsies intestinales**
 - ✓ Muqueuse saine avec des zones enflammées.
 - ✓ Sous muqueuse parfois œdémateuse.
 - ✓ Remaniement des glandes peut important.
 - ✓ Présence de granulome inflammatoire.
 - ✓ Présence des follicules lymphoïdes à centre claire.
 - ✓ Type d'ulcération : en pavés/ en galets.

Les figures des coupes histologiques des biopsies intestinales sont représentées dans la **planche I**.

b. Coloration de Ziehl Neelsen sur les coupes histologiques

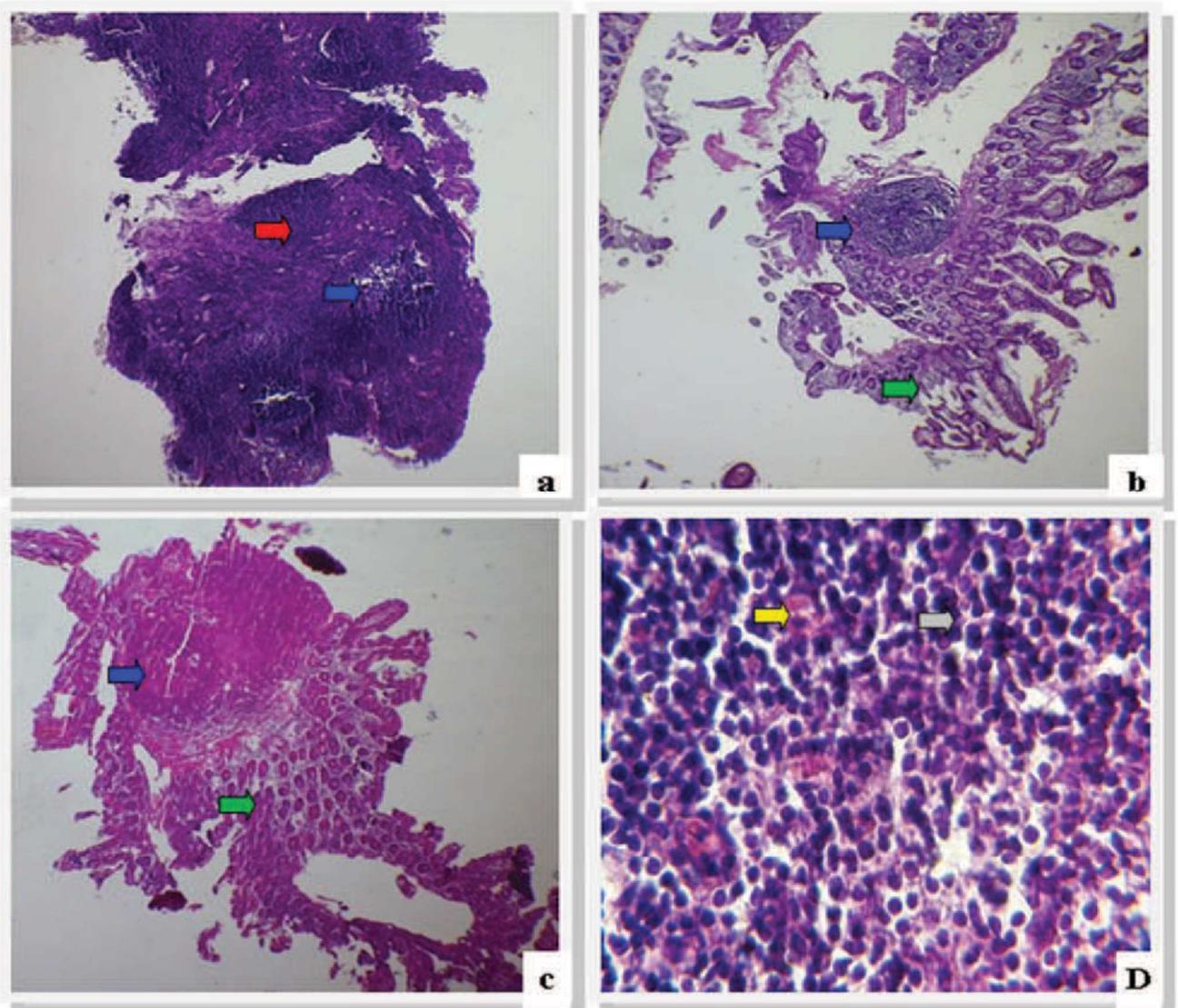
Toutes les lames sont négatives à la coloration de Ziehl Neelsen.

1.2.2. Examen anatomopathologique de la pièce de résection colique

a. étude macroscopique

L'étude macroscopique de la pièce de résection colique (colectomie), présente un segment colique de 12cm de longueur ; rigide ; montrant à son ouverture des larges zones d'ulcérations en pavés (quadrillage par des fissures d'une muqueuse boursouflée). La paroi est épaisse de consistance ferme (sténosante), outre les ulcérations plus ou moins profondes, les

Planche I :
Coupes histologiques des biopsies intestinales



A: coupe de biopsie colique coloré en HE vue au faible grossissement G.40, le fragment présente des ulcération fissuraire dans la totalité ; remplaçant toute l'épaisseur de la muqueuse par un granulome inflammatoire polymorphe → arrivant au profondeur de chorion avec infiltrat chronique réalisant des nodules hyperplasique présent le follicule lymphoïde avec un centre claire. →

B: coupe de biopsie iléale coloré en HE vue au faible grossissement G.40, La couche des glandes elle est épaisse de disposition variable est parfois grignoté par l'infiltrat inflammatoire en phase aigue → au centre on note la présence de follicule lymphoïde →

C: coupe de biopsie iléale coloré en HE G.40, le fragment présent des ulcérations de l'épithélium avec infiltrat inflammatoire chronique ; les glandes sont modérément inflammatoire avec un aspect conservé → le granulome inflammatoire polymorphe et follicule lymphoïde à centre claire sont toujours présentes → **(D)** G.1000 au niveau de follicule représente une richesse en polynucléaires ⇒

mésos sont le siège d'une scléro-lipomatose et les ganglions sont hypertrophiés ; le mésentère est généralement épaisse et rétracté, fibreux. L'aspect macroscopique de la pièce et les coupes pris représentées dans la planche II.

b. Aspect microscopique de la pièce de résection colique

La pièce de résection montre à l'étude microscopique une muqueuse colique siège de large ulcérations trans-pariétales accompagné d'un granulome inflammatoire dense et diffus, aigue pyogène et subaigüe polymorphe riche en plasmocytes et en lymphocytes. Notons une congestion vasculaire prononcée ; et des trainées, des follicules lymphoïdes dans la muqueuse.

Absence de follicules épithéloïde dans les limites de la pièce ; la séreuse est le siège d'une fibro-lipomatose ; cet aspect lésionnel est focal, il contient des zones de muqueuse lieu différenciée ; œdémateuse. Les coupes histologiques de la pièce de résection sont montrées dans la planche III.

1.3. Résultats d'examen bactériologique des biopsies intestinales

1.3.1. Examen l'état frais

On observe des cellules épithéliales disperser avec nombreuses hématies et leucocytes même des macrophages sont observer ; dans certains cas on observe des germes (coccis et bacilles mobiles).

1.3.2. Coloration de Gram

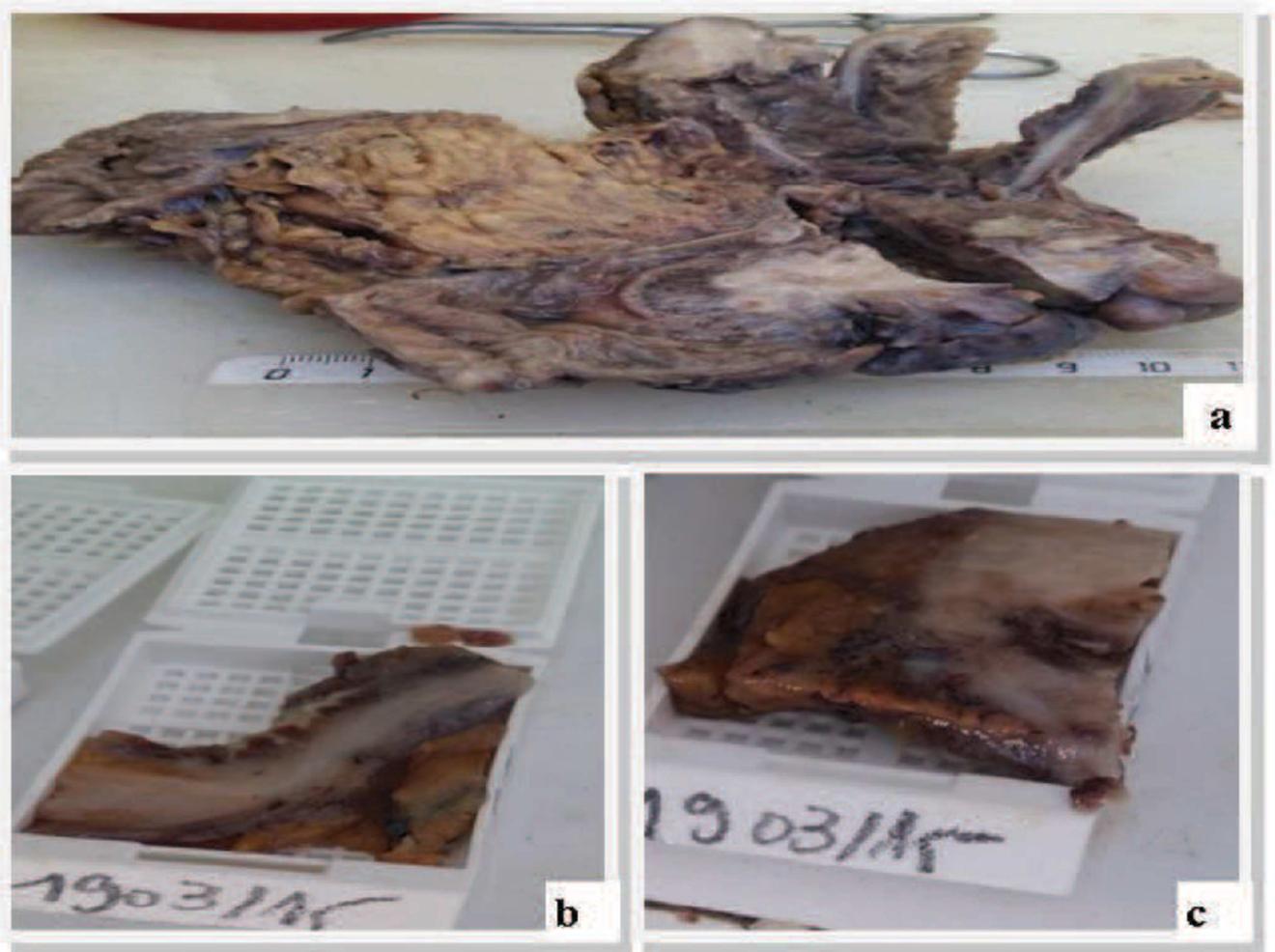
On note la présence d'une diversité bactérienne, on observe des bacilles à Gram+ et à Gram-, et des couques à Gram+ disposés en chaînette (Planche IV).

1.3.3. Coloration de Ziehl Neelsen

Parmi les 15 biopsies, on a trouvé que 2 cas sont positifs à la coloration de Ziehl, les BAAR présent dans le frottis comme des petits bacilles incurvés colorés en rouge ; ils sont peu nombreux (Planche IV).

Planche II:

Macroscopie de la pièce de résection colique et les coupes sectionner .

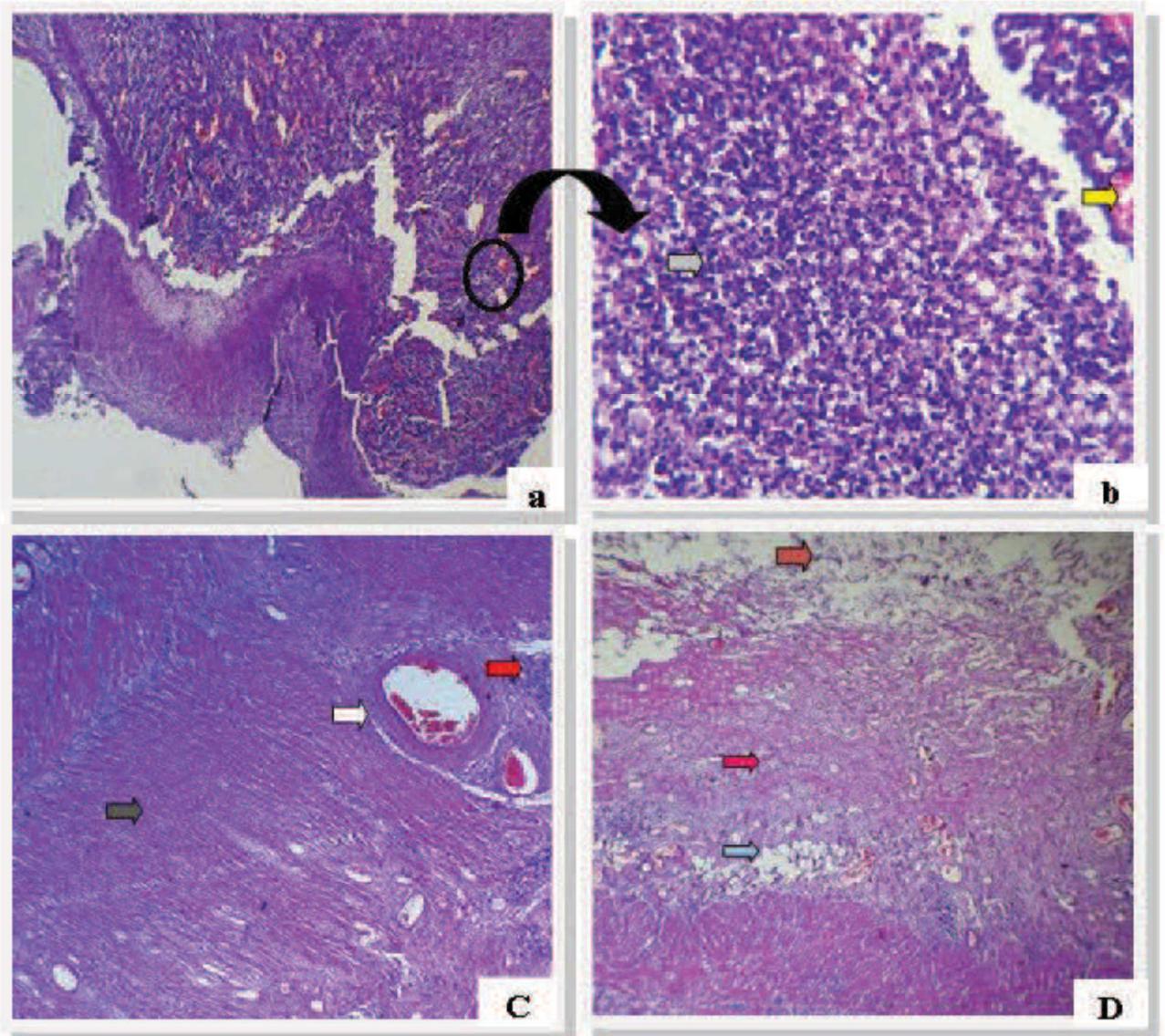


A: photographie d'une pièce opératoire de 12cm de longueur rigide et représente sur son aspect macroscopique une scléro-lipomatose .

(b) et (c) coupes macroscopiques de la pièce de résection colique obtenus par la dissection des parties sténosantes.

Planche III :

Coupes histologiques de la pièce de résection coliques.



A: coupe coloré en HE vue au faible grossissement G.40, le granulome inflammatoire s'étendue représente Large ulcération riche en polynucléaires.

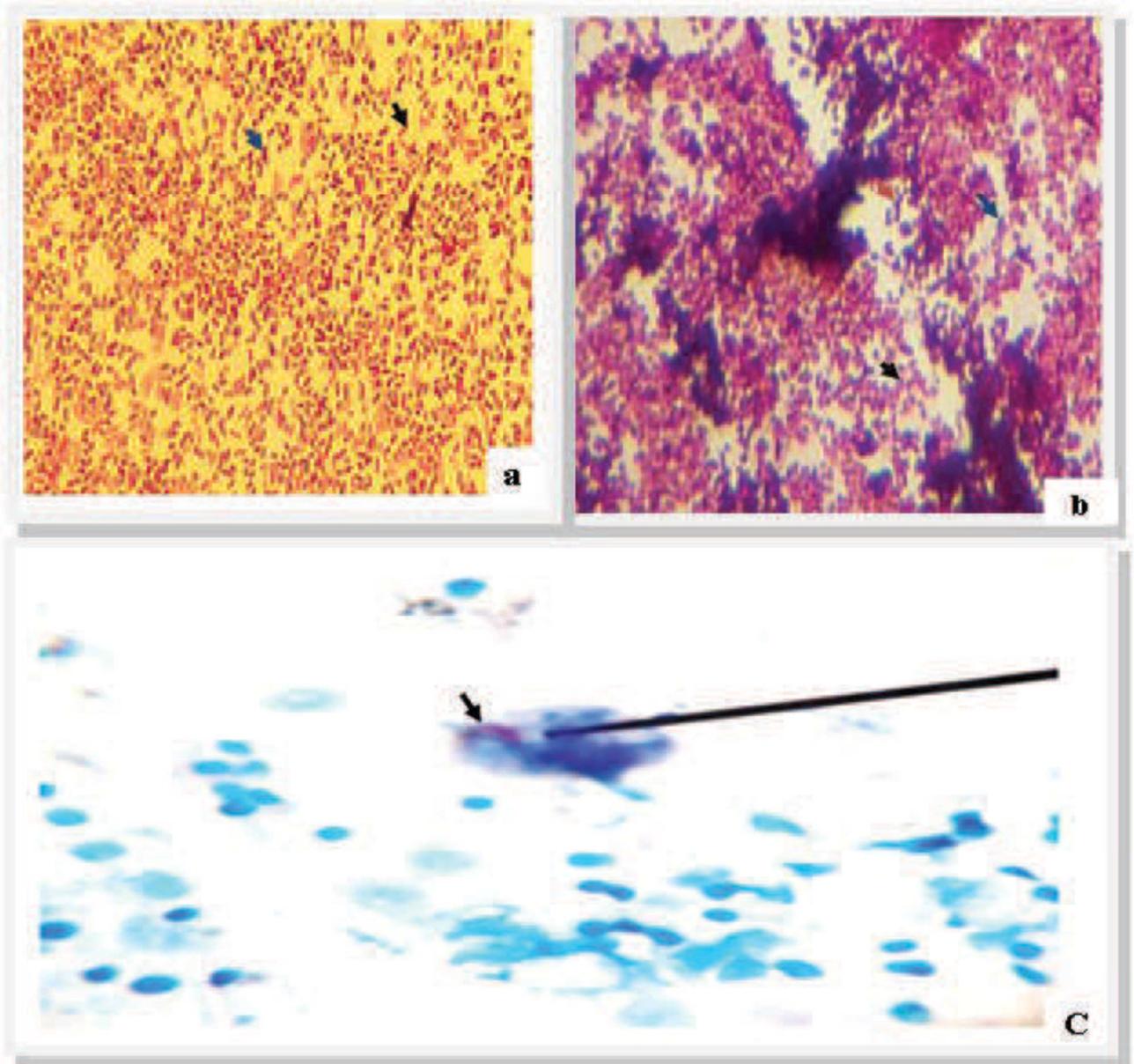
B: Observer au G.400 de la coupe précédente représente une zone riche en polynucléaires ⇨ accompagné d'une congestion vasculaire prononcée. ⇨

C: la coupe coloré en HE avec G.40, représente une fibrose périvasculaire ⇨ le granulome inflammatoire ⇨ et la couche musculuse légèrement enflammé ⇨

D: coupe coloré en HE vue au faible grossissement G.40, représente une couche des graisses sur la séreuse ⇨ et un aspect de fibro-lipomatose ⇨

Avec présence des gouttelâtes lipidique

Planche IV :
Examen bactériologique avant culture.



A et b: frottis de la suspension biopsique avant culture coloré par la méthode de Gram , vue en ME G.1000 à émergence. Présent une diversité bactérienne on observe dans des bacilles à Gram- → et à Gram+ → et des coques Gram+ →

C : frottis biopsique colorés par la méthode de ziehl Neelsen a chaud vue au ME G.1000 à émergence, avec différent éclairage *Map* est présente a l'intérieur de macrophage ; apparaisse comme une petite bacille incurvé coloré en rouge →

1.3.4. Culture

- Pour le milieu Hektoen : dans tous les cas étudiés on observe des colonies de couleur saumon (acidification du milieu, utilisation d'un ou plusieurs glucides parmi le lactose, le saccharose, la salicine), sans centre noire (absence de production de sulfure de fer par réduction du thiosulfate en H₂S) « souche H₂S- » ; et des Colonies bleu-vert (absence d'acidification du milieu, souche lactose -, saccharose -, salicine -) à centre noir (souche H₂S +) ou sans centre noire (H₂S-).

- Pour le milieu Macconkey : la fermentation de lactose change la couleur de milieu en rouge ; les souches sont Lac⁺ ; les colonies sont d'aspect muqueux, de consistance gélatineuse, de taille plus importante, présentant une tendance à la confluence (*Klebsiella* ou *E.coli*).

- Parmi les biopsies prélevées, 5 cas sur 15 ont donné un résultat positif dans le bouillon BGT (voir Planche V).

1.3.5. Isolement et identification microscopique

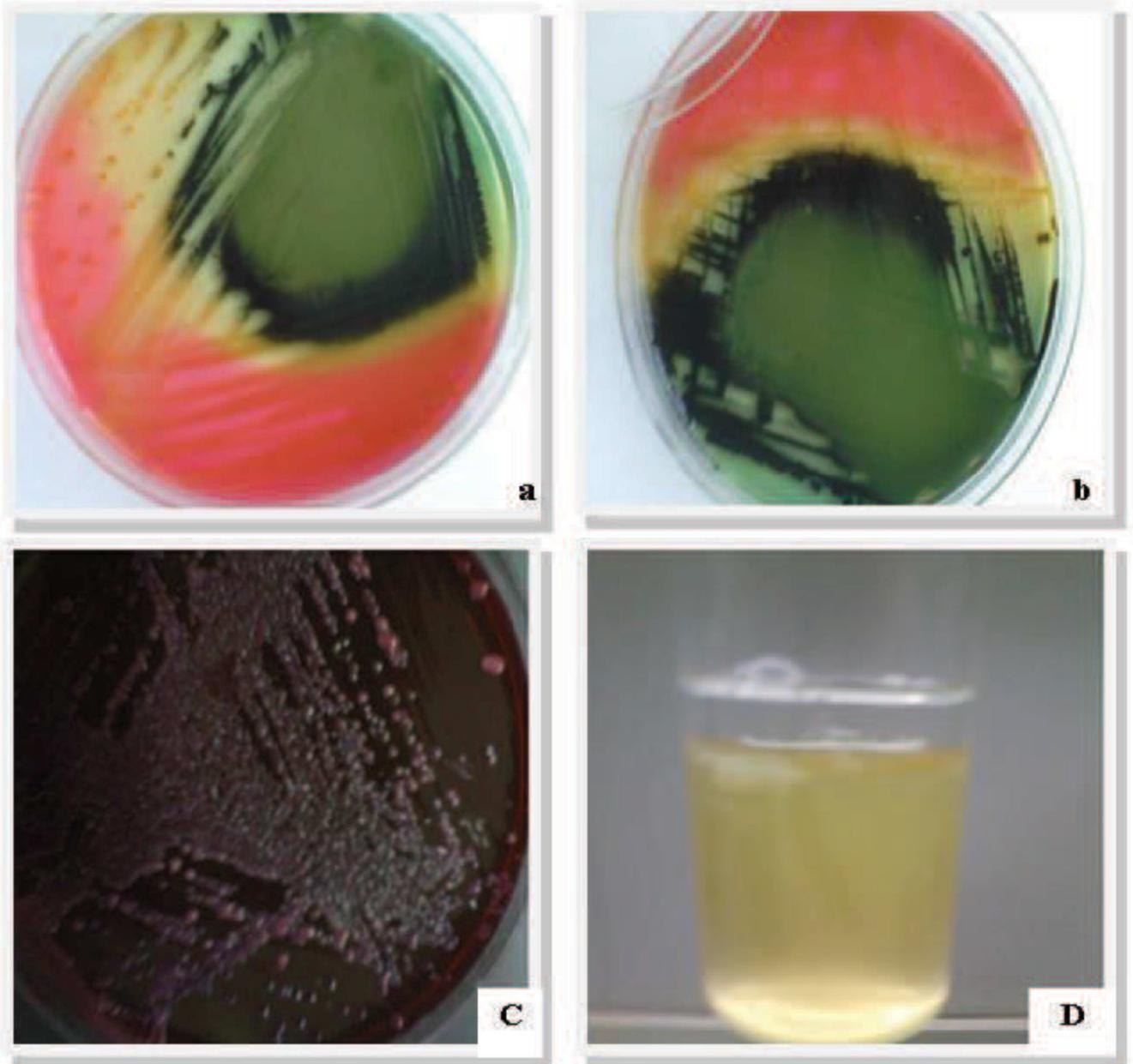
Après 24h d'incubation à 37°C, on observe sur gélose Hektoen des colonies pures de couleur saumon similaire dans toute la surface de la gélose. La coloration de Gram d'une colonie révèle des bacilles à Gram-. Ces colonies suspectent d'être *E.coli* ou *Klebsiella Spp*.

Des colonies bleu-vert à centre noir sont isolées sur la gélose Hektoen, des bacilles à Gram- ont été observés, ces bacilles peuvent être *Salmonella Spp* ou *Proteus Spp*.

Sur milieu gélose au sang on observe des petites colonies, translucides avec une hémolyse totale. Ces colonies sont des coques à Gram⁺ disposés en chaînette (streptocoques) (voir planche VI).

Planche V :

Résultats de la culture obtenus après incubation à 37°C/ 24h



A et b: culture de la suspension biopsique sur gélose Hektoen ; on observe des souches Lac+ (saumon) et des souches H₂S- (verte); d'autres sont H₂S+ (centre noire).

C: la culture obtenus à partir le milieu Macconkey .

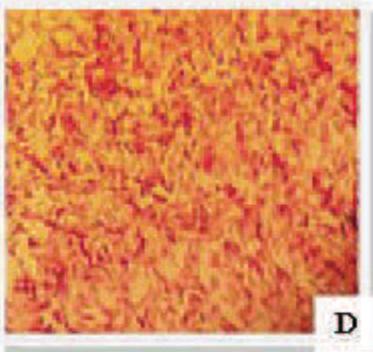
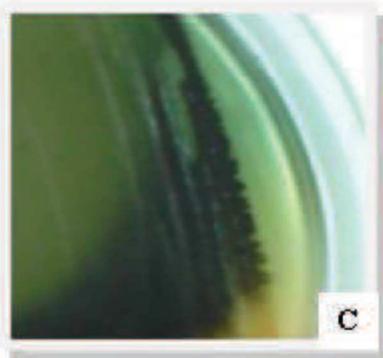
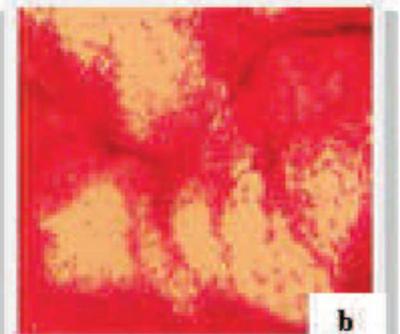
D: croissance bactérienne sur le bouillon BGT.

Planche VI :

Isolement et identification microscopique par coloration de Gram.

A: isolement de E. Coli sur milieu Hektoen, colonies saumons et d'aspect muqueux.

B: frottis coloré (coloration de Gram) vue en ME, G.100 représente des coccobacilles a Gram-.

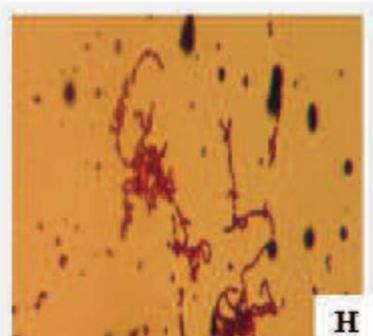
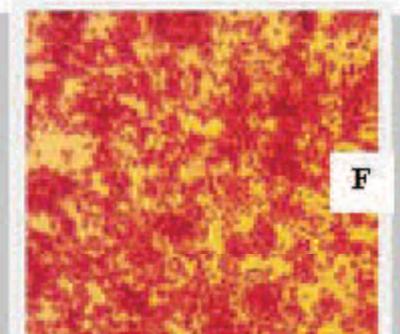
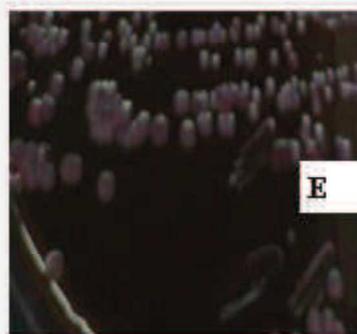


C: isolement de colonie H₂S+ (vert à centre noire).

D: frottis représente après coloration de Gram des BGN, vue en ME avec G.100.

E: colonies isolées sur milieu Macconkey.

F: frottis représente des BGN après coloration de gram vue en objectif à émergence



G: colonie isolée sur le milieu gélose au sang.

H: frotti montre des coques à Gram + en chaînette après coloration de Gram, vue en ME avec G.100.

1.3.6. Identification

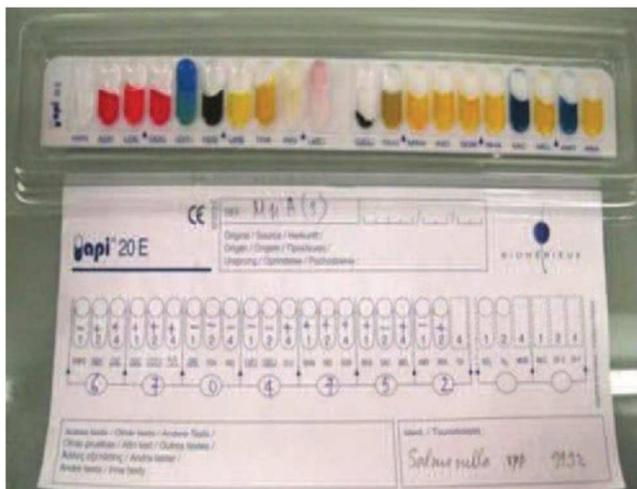
a. Galerie API20

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au logiciel de lecteur apiweb™. On note sur la fiche des résultats de toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :

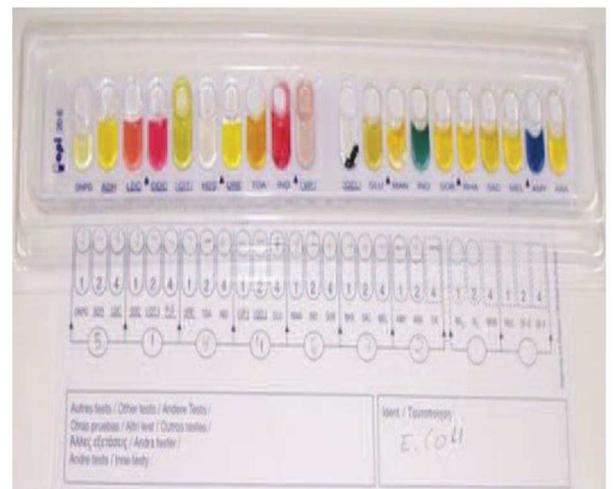
-Test Tryptophan deaminase (TDA) : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

-Test Indole (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 Voges-Proskauer (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. Les résultats obtenue par les galeries API20 ont montré dans la figure 08 ; après lecteur des résultats par le logiciel apiweb™ ; on arrive a identifié les deux espèces.



(a)



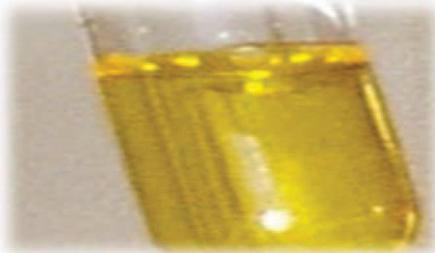
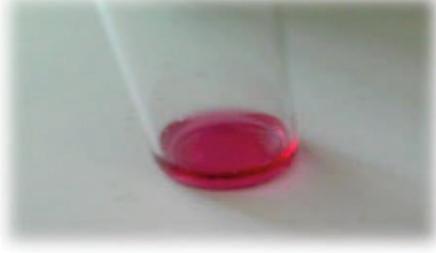
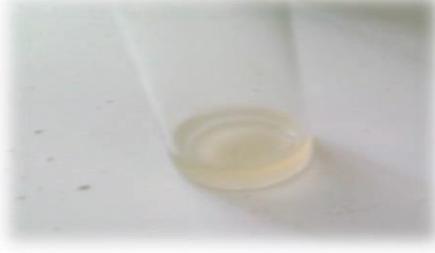
(b)

Figure 09 : résultats de l'identification par la Galerie Api20E. **(a)** :Galerie d'identification Api20 après incubation de 24h/37°C, suivie de la fiche de code qui présente les caractères biochimiques de *Salmonella Spp*, **(b)** : Galerie d'identification Api20, lecteur après incubation à 37°C/24h montrant les caractères biochimique de *E.coli*.

b. Galerie biochimique

Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux 04 et 05.

Tableau 04 : illustration des résultats obtenus de la galerie biochimique classique, photographie des résultats positif et négatif de chaque teste.

test	Résultats positif	Résultats Négatif
URE		
IND		
RM		
ONPG		
Catalase		

ODC			
LDC			
ADH			
Mannitol			
Mobilité			
TSI	GLU		
	GLU/H ₂ S		
	GLU/LAC/SAC		

Tableau 05 : résultats de l'identification des souches testés par la galerie biochimique classique.

Nbr souches Teste		05	10	15	05	04	10
		URE	-	+	-	-	-
IND	-	+/-	+	+	-	+	
RM	+	+	+	+	+	-	
VP	-	-	-	-	-	+	
ONPG	-	-	+	+	-	+	
ODC	+	+	+	-	-	-	
LDC	+	-	+	-	-	+	
ADH	-	-	-	-	+	-	
CATA	+	+	+	+	-	+	
MAN	+	+	+	+	-	+	
MOB	+	+	+	+	-	-	
TSI	GLU	+	+	+	+	+	
	LAC	-	-	+	-	+	
	SAC	-	-	+	-	+	
	H ₂ S	+	+	-	-	-	
Souche		<i>Salmonella Spp</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>Shigella Spp</i>	<i>Streptococcus pyogene</i>	<i>Klebsiella Spp</i>

L'utilisation de la galerie biochimique classique a permis d'identifier les espèces suivantes :

Salmonella Spp, *Proteus mirabilis*, *E.coli*, *Shigella Spp*, *Streptococcus pyogene*, *Klebsiella Spp*.

1.3.7. Antibiogramme

E.coli présente une sensibilité pour les céphalosporines de la 3^{ème} génération (CTX ; CFM), les aminosides (AK ; CN) et aussi pour les quinolones (CIP ; NA) ; et une résistance pour les céphalosporines de la 1^{er} génération (KZ), les B-lactamines (AMC ; AX) signifie la présence de la B-lactamases, pour les sulfamides (STX) et intermédiaire pour les Nitrofuranes (F300).

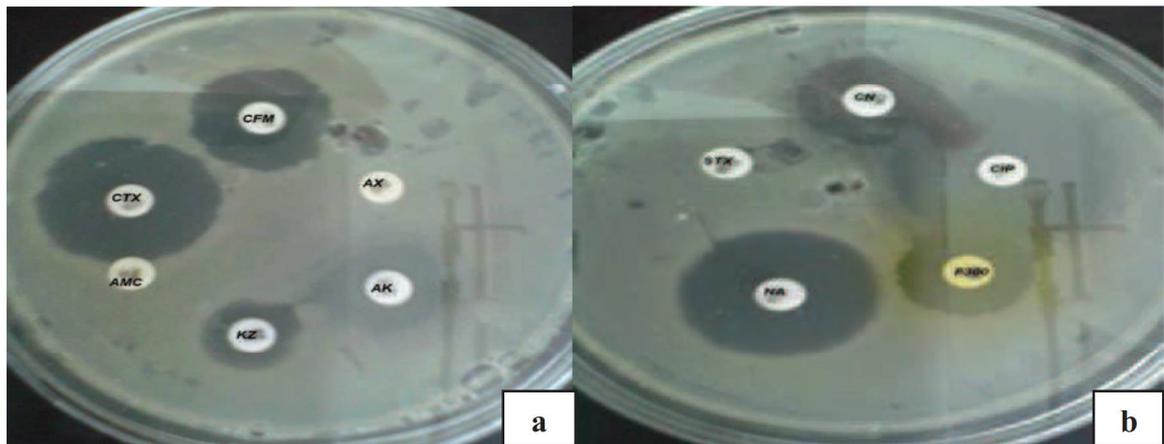


Figure10 : antibiogramme d'E. Coli après incubation à 37°C pendant 24h sur gélose MH.

(a) Représente 6 disques d'antibiotiques AMC ; CTX ; CFM ; AX ; AK ; KZ et (b) représente 5 disques d'antibiotiques STX ; CN ; CIP ; F 00 ; NA.

1.3.8. Coproculture

Dans l'analyse des selles on a trouvé des résultats similaires à celles des biopsies intestinales sauf que la coloration de Ziehl Neelsen a été négative. Nous avons identifié les mêmes espèces bactériennes déterminées par culture des biopsies intestinales, ces espèces sont : *E.coli* ; *Salmonella Spp*, *Proteus Spp*, *Klebsiella Spp*. Le dénombrement des bactéries isolées montre une diminution de celles-ci dans les selles pour *Salmonella Spp*, *Proteus Spp*, *Klebsiella Spp*. Par contre *E.coli* est non dénombrable, sa charge est toujours élevée dans les biopsies intestinales et dans les selles ceci indique que cette souche est dominante dans MC.

2. Discussion

La MC est une maladie inflammatoire chronique, qui touche le tube digestif; cette maladie est diagnostiquée par l'association des symptômes cliniques, suivie par l'exploration sérologique qui exprime des signes d'inflammation (VS et CRP élevés) ; on note aussi l'exploration radiologique, qu'elle est très importante, lors de l'endoscopie le médecin prélève des biopsies intestinales pour l'analyse anatomopathologique, qui aide à l'orientation de diagnostic.

Dans notre étude, les biopsies sont analysées pour bien comprendre la physiopathologie de la MC, en association de microbiote intestinal. L'aspect de la MC ou l'histopathologie de cette maladie et l'analyse bactériologique ont été vérifiés.

La MC est souvent reconnue par l'aspect macroscopique, des lésions intestinales qui révèle que le mésentère est souvent épaissi et rigide avec un blanc tissu adipeux (WAT), considéré comme une caractéristique de la MC, par une étude rétrospective de 225 résections intestinales (**Sheehan et al., 1992**), la graisse mésentérique est présente lorsque plus de 50% de circonférence intestinale est affectée, elle est défini comme étant une extension de mWAT qui couvre une petite et grande circonférence intestinale (**Laurent et al., 2007**), le mésentère est généralement rétracté, fibreux et l'intestin avec son environnement sont épaissie et hypertrophie par des lobules graisseux et ganglions mésentérique sont enflammées (**Geboes,2003**), l'ensemble de ces caractères est présent dans notre pièce d'étude ; c'est l'aspect de scléro-lipomatose, la graisse d'emballage a été corrélée avec une inflammation transmurale et d'autre changement de tissu conjonctif compris la fibrose, muscularisation et la formation des sténoses (**Laurent, 2007**).

La comparaison de nos résultats des aspects histologiques des biopsies intestinales et celles de la pièce de résection, a montré que les biopsies muqueuses ne contiennent qu'une seule tunique d'intestin, contrairement à la pièce opératoire qui représente les différentes tuniques de muqueuse jusqu'à la séreuse ; ces biopsies permettent de définir l'évaluation de la maladie (activité et identification des lésions précancéreuses), mais pas un diagnostic exact, elles doivent être associées à l'exploration radiologique, sérologique et clinique (**Geboes, 2003 ; Klotz, 2015**), car les lésions de la MC se produite fréquemment dans un fond de la normale muqueuse « reconnaissance de la dysplasie » (**Laurent et al., 2007**), lorsque les

échantillons chirurgicaux sont disponibles, la maladie peut être beaucoup plus identifiée (**Laurent *et al.* ; 2007**).

Les critères histologiques permettent de confirmer le diagnostic de la MC sont connues, parmi lesquels la présence d'infiltrat diffus trans-muqueux lympho-plasmocytaire associé à des ulcérations larges et fissuraires (**Klotz, 2015 ; Geboes, 2003**). Des cryptites et des abcès cryptiques (**Vilotte *et Sobhani*, 1996**), des lymphangiectasies (**Vignes *et Bellanger*, 2008**) et une inflammation périvasculaire (**Klotz, 2015**) due à des anomalies dans mWAT des patients de la MC et qui compris aussi les macrophages marqués dans l'infiltrat et la fibrose aussi l'épaississement des vaisseaux (**Laurent, 2007**), les adipocytes viscéraux sont nettement plus petits, ce qui entraîne une augmentation de quatre fois de nombre d'adipocytes à travers le mésentère chez les patients de MC par rapport aux témoins (**Yamamoto *et al.*, 2005**), l'hypothèse de l'association de l'emballage de graisse et la MC ; c'est que la production locale des médiateurs par mWAT pourrait améliorer la libération des médiateurs de l'inflammation et d'initier ou favoriser les dommages à la muqueuse intestinale (**Laurent, 2007 ; Ryan 2004**), la relation entre la graisse mésentérique et la MC doit être étudié.

Bien que la MC est considérée comme étant à l'origine auto-immune, il existe des preuves croissantes que cela peut avoir une cause infectieuse (**Greenstein, 2003**), nombreuse études ont été menées dans le but d'identifier la différence dans la diversité microbienne entre individus sains et patients atteints de MC, globalement ces études sont trouvés des preuves pour un déclin de la diversité bactérienne (**Hampe, Franke *et al.*, 2007 ; Franke *et al.*; 2008**).

La MC est due chez des sujets génétiquement prédisposés à une activation d système immunitaire muqueux intestinal inappropriée et que son stimulus est le contenu bactérienne intestinal « microbiote » (**Seksik, 2010**). Le microbiote intestinal contient environ 10^{14} bactéries de divers espèces, la coloration de Gram qu'on a utilisé sur les frottis des biopsies frais montre une grande diversité bactérienne ; un intérêt grandissant centré sur l'étude des communautés bactériennes comme source antigénique alimentant l'inflammation chronique dans la MC (**Seksik, 2010**).

Le microbiote intestinal était étudié en utilisant des techniques basées sur la culture bactérienne; 70% de ce microbiote était non cultivable, il resterait inexploré (**Suauetal.,1999**), l'étude de plusieurs bactéries associées à des biopsies intestinaux prélevées des patients de MC, montre que la MC est une maladie distincte bactériologiquement (**Seksik, 2010**), la

membrane de microbiote intestinal favorise les sources d'AG avec lesquels le système immunitaire est dysfonctionné (Schultz, 2004). À cause de cette grande diversité bactérienne, dans notre travail on a sélectionné un groupe d'étude grâce à des milieux ordinaires qui sont les entérobactéries (bactéries à Gram négatif), et pour enrichir ce travail on a mis en présence des bactéries pathogènes à Gram positif (streptocoque) aussi les BAAR le cas étudié est *Map*.

Dans notre étude on a comparé entre les populations obtenues par le broyage des biopsies intestinales et celles par la coproculture, la différence s'était dans la composition (diversité) et aussi la concentration des espèces similaires ; plusieurs études arrivant au même résultat que notre ; c'est maintenant reconnue que les populations microbiennes fécales diffèrent sensiblement de microbiote associés de muqueuse (MAM), et que chaque individu abrite une flore unique motif (Zoetendal, 2002; Eckburg, 2005) ; l'analyse du microbiote fécale reste informative ; le plus souvent, les biopsies coliques et iléales sont nécessaires pour l'analyse de la composition de MAM (Seksik, 2010).

Les biopsies intestinales utilisées à partir de muqueuse saine et pathologique ne montrent pas des différences dans notre étude et ça était confirmé par Rodriy *et al* en 2006 : la différence dans la composition bactérienne n'est pas due à l'état du tissu enflammé ce pourrait avoir modifié l'écologie microbienne du site, par ce que les collections bactériennes associées aux biopsies enflammées ou non enflammées ne diffèrent pas en composition. Les travaux de Vasquez *et al* en 2007 ont révélé qu'il n'y a pas de différence entre MAM (dominant) en zones lésées et saines.

Le microbiote intestinal pourrait porter une pathogénicité de deux façons : par l'expansion d'espèce « pro-inflammatoires » ou par la diminution des bactéries protectrices « anti-inflammatoires » ; deux stratégies complémentaires ont été poursuivies : la recherche d'un micro-organisme pathogène et l'analyse de microbiote intestinal « recherche de dysbiose » (Seksik, 2010), plusieurs études ont montré que la concentration des bactéries associées à la muqueuse sont significativement plus élevées chez les sujets atteints de la MC que chez les sujets témoins, surtout l'iléon distal et le colon précisément les concentrations des entérobactéries (Martinez *et al.*, 2006 ; Kotlowski *et al.*, 2007), une étude a montré que les patients avec la MC améliorant cliniquement lorsque les concentrations bactériennes liminales sont diminuées, les patients atteints de la MC affichent une augmentation de nombre des coliformes dans leurs excréments, en particulier pendant les périodes où la maladie est active (Darfeuille *et al.*, 2004), une augmentation des entérobactéries fécales dans les MAM

(Martinez *et al.*, 2006 ; Kotlowski *et al.* ; 2007), tels que *E.coli* (Kotlowski *et al.* ; 2007), dans notre étude l'espèce le prédomine est *E.coli*, l'analyse de la flore bactérienne associée à la muqueuse iléale des patients atteints de MC a montré que les souches *E.coli* étaient anormalement répandues, représentant entre 50% et 100% de nombre totale des bactéries aérobies anaérobies (Darfeuille *et al.*, 1998), l'augmentation de nombre de *E.coli* associés à la muqueuse intestinale a été observé chez les patients atteints par rapport aux symptomatiques de contrôle (Swidsinski *et al.* ; 2002) ; la plus part de ces souches de *E.coli* sont capables d'adhérer aux cellules épithéliales intestinales, une propriété qui leur permettrait de coloniser la muqueuse intestinale, l'immunocytochimie a démontré la présence d'AG de *E.coli* dans la plus part des résections intestinales des patients (Darfeuille *et al.*, 2004).

La présence d'AG anti-OMP (protéine de membrane externe d'*E.coli*) à un taux élevé semble associée à des formes particulièrement sévères de la MC « sténosante, perforante ou nécessitant une chirurgie de grêle » (Seksik, 2010), certaines souches de *E.coli* ayant des propriétés particulières d'adhésion ont été isolées à partir des échantillons muqueuses iléales provenant des patients de MC (Darfeuille *et al.*, 1998). Cette souche d'*E.coli* isolé ne possède pas les facteurs de virulence des autres *E.coli* pathogènes, c'est la souche AIEC (souche de référence LF82), ce sont généralement capables de survivre et de se multiplier fortement à l'intérieur des macrophages infectées sécrétant un taux élevés de TNF- α (Darfeuille *et al.*, 2004), les AIEC (LF82) sont capables d'adhérer à la bordure en brosse d'entérocytes iléaux isolées des patients de MC (Barnich *et al.*, 2007) et colonisé la muqueuse iléale puis franchir la barrière intestinale, et être phagocytées puis se multiplient dans les macrophages résidents de la lamina propria induisent une forte sécrétion des cytokines pro-inflammatoires TNF- α (Seksik, 2010). La plus grande richesse en AIEC chez les patients avec la MC suggéré que ce pathovar pourrait être plus stable dans la muqueuse de MC, France (Schwartz *et al.*, 2000), l'Espagne (Hulten *et al.*, 2001), USA (Naser *et al.* ; 2004), les AIEC capables d'induire la formation des granulome in vitro (Darfeuille *et al.*, 2004 ; Barnich *et al.*, 2007) les chercheurs suggèrent que ce sont des pathogènes facultatifs qui cause la maladie chez les personnes sensibles (Barnich *et al.*, 2013).

De plus de la concentration élevé, on note la présence des bactéries inhabituelles (Seksik *et al.*, 2003 ; Sokol ., Seksik *et al.*, 2006), comme celles trouvées dans notre étude parmi lesquels *Salmonella Spp*, *Shigella Spp*, *Streptocoque pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella Spp*, *Mycobactérium avium paratuberculosis*. L'autophagie qui est un processus par lequel les cellules eucaryotes maintient l'homéostasie en séquestrant le cytoplasme et

dégradants les endommages organites par voie lysosomale (Mizushima, 2007), l'autophagie protège les cellules en supprimant ou limitant la croissance des bactéries intracellulaires (Birmingham *et al.*, 2006 ; Gutierrez *et al.*, 2004), le dysfonctionnement dans l'autophagie conduit à une infection persistante comme *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes* et Mycobactérienne (Birmingham *et al.*, 2006 ; Nakagawa *et al.*, 2004 aussi par Kuballa *et al.*, 2008), les lésions observées dans cette maladie sont surtout présentes au niveaux des plaques de Peyer. Pour lesquelles de nombreuses bactéries présentent un tropisme particulier comme *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Lesteria*, *Klebsiella* (Hugot *et al.*, 2003), les ulcérations aphteuses résultant de la nécrose de cellules M de follicules lymphoïdes de Peyer, qui sont les lésions les plus précoces de la MC, ces ulcérations se produisent dans les shigellose, salmonelloses et l'entérocolite de yersinia, dans lesquelles l'envahissement est un élément essentiel de virulence de la bactérie (Darfeuille *et al.*, 2004).

La cause infectieuse la plus possible est *Mycobacterium avium paratuberculosis* (Greenstein, 2003), il a été suggéré que pendant des années. Il peut y avoir une association entre la maladie de Johne et la MC (Kuenstner *et al.*, 2005). Des études montrent une augmentation de la détection et l'isolement des *Map* chez les adultes atteints de MC (Sechi *et al.*, 2005) et les enfants nouvellement diagnostiqués (Kirkwood *et al.*, 2009), la théorie mycobactérienne et la théorie auto-immun dans la MC sont complémentaires, la première porte sur l'étiologie de la maladie et la seconde porte sur sa pathogénie (Chamberlin *et al.*, 2007).

La présence du *Map* a été étudiée en utilisant les méthodes de diagnostic dans différents échantillons de tissus provenant des patients atteints de MC, contrairement à d'autres mycobactéries d'environnement, les MAP ont les capacités spécifiques à provoquer une inflammation chronique de l'intestin (Liverani *et al.*, 2014).

En opposition des résultats obtenus par les chercheurs dans notre étude, on a obtenu deux cas positifs parmi 15 cas lorsque de la coloration de ZN, Les MAP sont difficiles à diagnostiquer par la coloration de Ziehl Neelsen, l'identification de MAP des êtres humains exige parfois la culture ou la détection d'ADN ou d'ARM (Greenstein, 2003)

des biopsies muqueuses ont été obtenues à partir des personnes atteintes de la MC utilisées pour faire un frottis et examiner par ZN, les frottis obtenus à partir des biopsies fraîches de tous les patients étaient négatifs par ZN, après 14 semaines d'incubation des cultures MGIT montrés en ZN des cellules caractéristiques et des BAAR (Leonardo *et al.*, 2005), si la forme de la paroi cellulaire déficiente chez les *Map*, la coloration de Ziehl-Neelsen sera négative, sous

des conditions approprié de culture et une période prolongée (semaines à plusieurs années) ces bactéries peuvent produire une paroi cellulaire protoplasmique (**Wall *et al.*, 1993, Greenstein, 2003**), et deviendra alors ZN positif (**Greenstein, 2003**), donc on peut suggérer que la période de latence ou d'incubation corporelle joue un rôle important, de plus l'hygiène de vie et le régime alimentaire des personnes atteints peu apparais des modifications dans la paroi cellulaire des *Map* qui on a obtenu positif. Alors que les conditions géographiques et environnementales peu donne une résistance de cette souche, donc on propose que les souches *Map* peuvent se différenciés selon les conditions environnementales.

L'utilisation de coloration ZN sur des coupes histologiques donne des résultats négatifs, alors que leurs utilisation sur des frottis biopsiques dans les même patients apparaitre positifs chez deux cas, on conclut que cette méthode est plus efficace sur des frottis que sur des coupes histologiques ; chez l'animale les tissus colorés en ZN pour la visualisation directe des mycobactéries dans l'étude de **Wells *et al* en 2006**, qui a identifié des BAAR dans 9% et 5,6% respectivement dans la muqueuse iléale et les nœuds lymphatiques, c'est une méthode qui requiert beaucoup de manipulations spécifiques et une expertise en anatomo-pathologie ; pour l'étude de **weber *etal* en 2009**, qui a été basé sue la technique de ZN sur un étalement de la matrice sur une lame de verre « frottis », cette étude a établi une sensibilité de 48% et une spécificité de 98% pour les animaux dans la phase clinique.

NOD2 est un senseur intracellulaire du peptidoglycane bactérienne (**Seksik, 2010**), l'identification des mutations dans le gène NOD2/CARD15 chez les patients atteints de la MC ont montrés un lieu entre la réponse immunitaire inné à des bactéries invasifs et le développement de la maladie (**Ogura *et al.*, 2001 ; Hugot *et al.*, 2001**), NOD2 a été trouvé pour être impliqués dans la clairance bactérienne de salmonella et streptocoques (**Hisamatsu *et al.*, 2003 ; Opitz *et al.*, 2004**), Enterococcus (**D'Inca *et al.*, 2006**), l'expression de NOD2 a été trouvé dans les monocytes et les cellules épithéliales (**Inohara *et al.*, 2005**) qui est un récepteur intracellulaire pour muramyl dipeptide, composant de peptidoglycane bactérienne (**Inohara *et al.*, 2005**) dans la muqueuse intestinale, NOD2 est exprimé de manière prédominante dans les cellules de paneth(**Lala *et al.*, 2003**) synthétiser et sécréter plusieurs peptides antimicrobiens, y compris les lysosomes, phospholipases, defensines, mais la fonction de NOD2 dans ces cellules ne sont pas claire, les defensines (peptides) sont très sensible aux défis administré par voie orale « bactéries pathogène », de même assure une protection contre salmonella (**Wehkamp *et al.*, 2005**), des études ont montré que ce peptides à un effet biologique significatif sur microbiote pathogène dans la lumière intestinale

(Salzman *et al.*, 2003), le defensine peut jouer un rôle centrale dans la physiopathologie de MC (Fellermann *et al.*, 2003), une carence de défense immunitaire innée fournies par defensines pourrait permettre aux bactéries d'adhérer à la muqueuse de la MC et déclenchent une réponse inflammatoire (Wehkamp *et al.*, 2004).

Conclusion

L'aspect histopathologique de la MC peut être mieux visualisé et identifié sur des pièces opératoires que sur des biopsies endoscopiques qui aide à la suivie de l'évolution de la maladie et doit être accompagné à l'exploration clinique, sérologique et radiologique ; l'aspect histopathologique courant de la MC est la présence de granulome inflammatoire avec follicule lymphoïdes à centre claire (riche en lympho-plasmocytes).

La coloration de Ziehl Neelsen pour mise en évidence des *Map* est efficace sur des frottis que sur des coupes histologiques, on a suggéré que les *Map* peut être influencé par plusieurs facteurs : l'incubation corporelle, le régime alimentaire, les facteurs environnementaux.

Le microbiote intestinal chez les patients atteints de la MC est différents, d'un côté d'augmentation des concentrations de certaines bactéries comme *E.coli*; et d'un autre cotés l'apparition de certaines bactéries inhabituelles pathogènes c'est le cas des *Salmonella Spp*, *Shigella Spp*, *Klebsiella Spp*, *streptococcus pyogène*, *Proteus mirabilis*.

Au-delà des dernières années les MICI deviennent très fréquentes en Algérie, nous souhaitons de fournir des groupes de recherche pour l'étude de la physiopathologie et surtout l'étiologie de la maladie qui est différents selon les zones géographiques :

- des recherches sur les *MAP* qui on suppose qui être plus résistant et différents aux souches de référence. Les études doit être accoupler par la culture, la méta-analyse et la PCR pour des résultats conformes.
- On espère d'introduire des nouveaux vaccins pour les animaux et les humain contre les *MAP*.
- L'étude de la régulation immunitaire provoquée par la mutation de gène NOD2/CARD15.

*Références
bibliographiques*

A

- ❖ **ALLEM.R, ELKEBIR F.Z ET GHUETARNI H. (2007).** Effet des bactéries lactiques sur *Helicobacter pylori* in vitro. *Médecine & Nutrition*, (43) 3 : 121-127.
- ❖ **ANDUS T., GROSS V. (2000).** Etiology and pathophysiology of inflammatory bowel disease – environmental factors. *Hepato-gastroenterol.* 47, 29-43.
- ❖ **ANONYME. (janvier 2003).** Crohn's disease. In: National digestive diseases information clearinghouse (NDDIC). [en ligne], Bethesda : NDDCI. [<http://digestive.niddk.nih.gov/ddiseases/pubs/crohns/index.htm>] (consultée le 25 avril 2015, 22 :15h).
- ❖ **ARANDA MJ, FENOGLIO PC.(2009).** Histochemical and immunohistochemical characterization of foamy histiocytes . *Biopsy Interpretation of The Gastro intestinal Tract Mucosa*;24:1009-1015.

B

- ❖ **BARNICH N, CARVALHO FA, GLASSER AL, DARCHA C, JANTSCHIEFF P, ALLEZ M, ET AL.(2007).** CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest*;117 (6):1566–74.
- ❖ **BARNICH N., DENIZOT J., DARFEUILLE-MICHAUD A. (2008).** *E. coli*-mediated gut inflammation in genetically predisposed Crohn's disease patients. Unité' sous contrat, laboratoire de bactériologie, service de pathogénie bactérienne intestinale, institut national de la recherche agronomique, CBRV, Clermont université', université' d'Auvergne, JE2526, 28, place Henri-Dunant, 63000 Clermont-Ferrand, France b Institut universitaire de technologie, université' d'Auvergne, 63172 Aubière, France, 2013
- ❖ **BARNICH N., DENIZOT J., DARFEUILLE-MICHAUD A. (2013).** *E. coli*-mediated gut inflammation in genetically predisposed Crohn's disease patients. *Pathologie Biologie*, 6:1 e65–e69.
- ❖ **BAYLESS T., TALAMINI M., KAUFMAN H., NORWITZ L., KALLOO A.N. (2006).** Digestive disease library. Colon and rectum. Crohn's disease. In: The Johns Hopkins medical institutions. *Gastroenterology and hepatology resource center*. [en-ligne] Baltimore: The Johns Hopkins University [http://hopkinsgi.nts.jhu.edu/pages/latin/templates/index.cfm?pg=disease1&organ=6&disese=21&lang_id=1], (consultée le 25 avril).
- ❖ **BIET F., BOSCHIROLI M.L., THOREL M.F., GUILLOTEAU L.A. (2005).** Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). *Vet. Res.* 36, 411-436.

- ❖ **BIRMINGHAM CL, SMITH AC, BAKOWSKI MA, YOSHIMORI T, BRUMELL JH. (2006).** Autophagy controls Salmonella infection in response to damage to the Salmonella-containing vacuole. *J Biol Chem*; 281(16):11374–83.
- ❖ **BJØRNSSON S., JOHANSSON J.H. (2000).** Inflammatory bowel disease in Iceland, 1990-1994: a prospective, nationwide, epidemiological study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 12, 31-38. Cité par BINDER, 2004, MUNKHOLM et BINDER, 2004.

C

- ❖ **CHACON O., BERMUDEZ L.E., BARLETTA R.G. (2004).** Johne's disease, inflammatory bowel disease, and Mycobacterium paratuberculosis. *Annu. Rev. Microbiol.* 58, 329-363.
- ❖ **CHAMBERLIN W, BORODY T, NASER S.(2007).** MAP-associated Crohn's disease MAP, Koch's postulates, causality and Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 39: 792-4.
- ❖ **CHO J. (2000).** Update on inflammatory bowel disease genetics. *Curr. Gastroenterol. Rep.* 2: 434-439. Cité par **CHACON et al., 2004.**
- ❖ **CROHN B.B., GINZBURG I., OPPENHEIMER G.D. (1932).** Regional ileitis: a pathologic and clinical entity. *J. Am. Med. Assoc*, 99: 1323-1328. Cité par **CHACON et al., 2004, CHIODINI, 1989., CHIODINI, 1992., CHIODINI et ROSSITER, 1996., THOMPSON, 1994., RUBERY, 2001., SANCO/B3/R16/2000.**

D

- ❖ **DARFEUILLE-MICHAUD A., NEUT C., BARNICH N., LEDERMAN E., DI MARTINO P., DESREUMAUX P., GAMBIEZ L., JOLY B., CORTOT A., COLOMBEL JF.(1998).** Presence of adherent Escherichia coli strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*; 115:1405–1413.
- ❖ **DARFEUILLE-MICHAUD A, BOUDEAU J, BULOIS P, NEUT C, GLASSER AL, BARNICH N, BRINGER MA, SWIDSINSKI A, BEAUGERIE L, COLOMBEL JF. (2004).** High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology.* Aug, 127(2):412-21.
- ❖ **D'INCA R., ANNESE V., DI LEO V., LATIANO A., QUAINO V., ABAZIA C., et al. (2006).** Increased intestinal permeability and NOD2 variants in familial and sporadic Crohn's disease. *Aliment Pharmacology Ther*, 23(10):1455–61.

E

- ❖ **EKBOM A., HELMICK C., ZACK M., ADAMI H.O. (1991).** The epidemiology of inflammatory bowel disease: a large population-based study in Sweden. *Gastroenterol.* 100, 350-358. Cité in **BINDER, 2004., MUNKHOLM et BINDER, 2004., SANCO/B3/R16/2000.**
- ❖ **ECKBURG PB, BIK EM, BERNSTEIN CN, et al. (2005).** Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308:1635–8.

F

- ❖ **FRIEDMAN S., BLUMBERG R.S. (1999).** Inflammatory bowel disease. In: Harrison's principles of internalmedicine. 15th Ed. *New York: McGraw-Hill*, 1679-1691. Cité in **CHACON et al., 2004.**
- ❖ **FELLERMANN, K., WEHKAMP, J., HERRLINGER, K. R. & STANGE, E. F. (2003).** Crohn's disease: a defensin deficiency syndrome?. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*, 15: 627-634.
- ❖ **FRANKE A, BALSCHUN T, KARLSEN TH, SVENTORAITYTE J, NIKOLAUS S, MAYR G ET AL. (2008).** Sequence variants in IL-10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nat Genet*, 40: 1319-23.

G

- ❖ **GASCHE C., SCHÖLMERICH J., BRYNSKOV J., D'HAENS G., HANAUER S.B., IRVINE E.J. et al. (2000).** A simple classification of Crohn's disease: report of the working party for the world congresses of gastroenterology Vienna 1998. *Inflamm. Bowel Dis.* 6, 8-15. Cité par **GRANT, 2005., MUNKHOLM et BINDER, 2004.**
- ❖ **GEBOES K. (2003).** Histopathology of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Diagnosis: a clinician's perspective*, IBD4E-18(255-276).
- ❖ **GEIJTENBEEK T.B., VAN VLIET S.J., KOPPEL E.A., SANCHEZ-HERNANDEZ M., VANDENBROUCKEGRAULSC.M. APPELMELK B. et al. (2003).** Mycobacteria target DC-SIGN to suppress dendritic cell function. *J. Exp. Med.* 197: 7-17. Cité par **CHACON et al., 2004.**
- ❖ **GENT A.E., HELLIER M.D., GRACE R.H., SWARBRICK E.T., COGGON D. (1994).** Inflammatory bowel disease and domestic hygiene in infancy. *Lancet.* 343: 766-767. Cité in **ANDUS et GROSS, 2000. SANCO/B3/R16/2000.**

- ❖ **GILAT T., HACOHEN D., LILOS P., LANGMAN M.J.S. (1987).** Childhood factors in ulcerative colitis and Crohn's disease. An international cooperative study. *Scand. J. Gastroenterology*, 22:1009-1024. Cité in **MUNKHOLM et BINDER, 2004.**
- ❖ **GOULD G., FRANKE N P., HAMMER P., MACKEY B., SHANAHAN F. (2004).** Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP) and the food chain. ILSI (International Life Sciences Institute) *Europe report series*. [en-ligne][<http://www.ilsa.org/file/RPMMyco.pdf>].
- ❖ **GOWER-ROUSSEAU C., SALOMEZ J.-L., DUPAS J.-L., MARTI R., NUTTENS M.C., VOTTE A. et al. (1994).** Incidence of inflammatory bowel disease in northern France (1988-1990). *Gut*. 35: 1433-1438. Cité par **MUNKHOLM et BINDER, 2004.**
- ❖ **GRANT I.R. (2005).** Zoonotic potential of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis: the current position. *J. Appl. Microbiol.* 98: 1282-1293.
- ❖ **GREENSTEIN R J. (August 2003).** Is Crohn's disease caused by a mycobacterium? Comparisons with leprosy, tuberculosis, and Johne's disease. *THE LANCET Infectious Diseases*, 3: 507-514.
- ❖ Guide technique Diagnostic de la tuberculose par examen microscopique direct des expectorations dans les pays à faibles revenus. *L'Union Internationale Contre la Tuberculose et les Maladies Respiratoires. Cinquième édition(2000)* , Pdf (60-97).
- ❖ **Gutierrez MG, Master SS, Singh SB, Taylor GA, Colombo MI, Deretic V. (2004).** Autophagy is a defense mechanism inhibiting BCG and Mycobacterium tuberculosis survival in infected macrophages. *Cell*, 119(6):753–66.

H

- ❖ **HERMON-TAYLOR J., BULL T. (2002).** Crohn's disease caused by Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis : a public health tragedy whose resolution is long overdue. *J. Med. Microbiol.* 51, 3-6.
- ❖ **HAMPE, J., FRANKE, A., ROSENSTIEL, P., TILL, A., TEUBER, M., HUSE, K., ALBRECHT, M., MAYR, G., DE LA VEGA, F.M., BRIGGS, J., GUNTHER, S., PRESCOTT, N.J., ONNIE, C.M., HASLER, R., SIPOS, B., FOLSCH, U.R., LENGAUER, T., PLATZER, M., MATHEW, C.G., KRAWCZAK, M., AND SCHREIBER, S. (2007).** A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet* **39**: 207-211.
- ❖ **HISAMATSU T, SUZUKI M, REINECKER HC, NADEAU WJ, MCCORMICK BA, PODOLSKY DK. (2003).** CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology*; 124(4):993–1000. Cité par GRANT, 2005.
- ❖ **HODGSON H.J., POTTER B.J., JEWEL D.P. (1977).** Immune complexes in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin. Exp. Immunol.* 29 : 187-196. Cité par **CHACON et al., 2004.**

- ❖ HUGOT J.P., CHAMAILLARD M., ZOUALI H., LESAGE S., CEZARD J.P. BELAICHE J. (2001). Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 411: 599-603. Cité in CHACON et al., 2004., GRANT, 2005, GREENSTEIN, 2003., HERMON-TAYLOR et BULL, 2002., RUBERY, 2001., SHANAHAN, 2002., VAN HEEL *et al.*, 2001.
- ❖ HUGOT, J.P., CEZARD, J.P., COLOMBEL, J.F., BELAICHE, J., ALMER, S., TYSK, C., MONTAGUE, S., GASSULL, M., CHRISTENSEN, S., FINKEL, Y., GOWER-ROUSSEAU, C., MODIGLIANI, R., ZOUALI, H., LESAGE, S., CHAMAILLARD, M., MACRY, J., THOMAS, G., AND VICTOR, J.M. (2003). Clustering of Crohn's disease within affected sibships. *Eur J Hum Genet* 11: 179-184.
- ❖ HULTEN K, EL-ZIMAITY HM, KARTTUNEN TJ, ET AL. (2001). Detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Crohn's diseased tissues by in situ hybridization. *Am J Gastroenterol*; **96**: 1529–35.

I

- ❖ INOHARA, N., CHAMAILLARD, M., MCDONALD, C. & NUNEZ, G. (2005). NOD-LRR proteins: role in host-microbial interactions and inflammatory disease. *Annu Rev Biochem*, 74: 355-383.

K

- ❖ KIM SC, TONKONOGY SI, ALBRIGHT CA, TSANG J, BALISH EJ, BARAUN J, *et al.*(2005). Variable phenotypes of enterocolitis in interleukin 10-deficient mice monoassociated with two different commensally bacteria. *Gastroenterology*; 128:891-906. (6).
- ❖ KIRKWOOD CD, WAGNER J, BONIFACE K, VAUGHAN J, MICHALSKI WP, CATTO-SMITH AG, CAMERON DJ, BISHOP RF BOWEL Dis. (2009). Nov *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in children with early-onset Crohn's disease. *World J Gastroenterology*, 15(11):1643-55.2015 Apr 7; 21(13): 4048–4062. Published online 2015 Apr 7. doi: 10.3748/ wjg.v21.i13 .4048PMCID: PMC4385555.
- ❖ KLOTZ C., DHOOGHE M., OUDJIT A., BEUYON F., CHAUSSADE S., CORIAT R., ABITBOL. (2015). Prise en charge de la maladie de Crohn. Vered Abitbol, CHU Cochin, service d'hépatogastro-entérologie, 27, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France, 411-417. [Disponible sur internet le : 23 janvier 2015].
- ❖ KLEIN S., (2006). *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* et maladie de crohn : actualités sur un risque hypothétique de zoonose. La faculté de médecine de Créteil.

- ❖ **KOTLOWSKI R, BERNSTEIN C N, SEPEHRI S. ET AL. (2007).** High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2 and D phylogenetic groups in inflammatory bowel disease. *Gut* 56:669–675.675 [PMC free article] [PubMed].
- ❖ **KUENSTNER T J, CHAMBERLIN W, NASER SA, COLLINS M T, COAD TD, AITKEN MJ, STUART W, GRZEGORZTELEGA, KURUVILLA J, HAAS D, TORSTEN ME, MAHER K, CHRISTINE W and PETRIE T.(2005).** Resolution of Crohn's disease and complex regional pain syndrome following treatment of paratuberculosis. *World J Gastroenterol.* 7; 21(13): 4048–4062.
- ❖ **KUBALLA P, HUETT A, RIOUX JD, DALY MJ, XAVIER RJ. (2008).** Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PLoS One*, 3 (10): pe3391.

ℒ

- ❖ **LALA S., OGIURA Y., OSBORNE C., HOR S. Y., BROMFIELD A., DAVIES S., OGUNBIYI O., NUNEZ G. & KESHAV, S. (2003).** Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology*, 125: 47-57.
- ❖ **LAPIDUS A., BERNELL O., HELLERS G., PERSSON P.-G., LÖFBERG R. (1997)** Incidence of Crohn's disease in Stockholm county, 1955-1989. *Gut.* 41: 480-486.
- ❖ **LAURENT P.B et al. (2007).** Mesenteric fat in Crohn's disease: a pathogenetic hallmark or an innocent bystander.
- ❖ **LEONARDO A. SECHI, PH.D., ANTONIO M. SCANU, M.D., PAOLA MOLICOTTI, PH.D., SARA CANNAS, PH.D., MANUELA MURA, PH.D., GIUSEPPE DETTORI, M.D., GIOVANNI FADDA, M.D., AND STEFANIA ZANETTI, PH.D.(2005).** Detection and Isolation of *Mycobacterium avium* Subspecies *paratuberculosis* from Intestinal Mucosal Biopsies of Patients with and without Crohn's Disease in Sardinia. *Journal of Gastroenterology*, 100:1529–1536.
- ❖ **LOFTUS E.V., SILVERSTEIN M.D., SANDBORN W.J., TREMAINE W.J., HARMSSEN W.S., ZINMEISTER A.R. (1998).** Crohn's disease in Olmsted county, Minnesota, 1940-1993: incidence, prevalence, and survival. *Gastroenterology.* 114: 1161-1168.
- ❖ **LOUIS E., BELAICHE J., VAN KEMSEKE C., FRANCHIMONT D., DE GROOTE D., GUEENEN V. et al. (1997).** A high serum concentration of interleukin-6 is predictive of relapse in quiescent Crohn's disease. *Eur. J.Gastroenterol. Hepatol.* 9, 939-944. Cité in SANCO/B3/R16/2000.

M

- ❖ **MARTINEZ-MEDINA M, ALDEGUER X, GONZALEZ-HUIX F, ACERO D, AND GARCIA-GIL LJ.(2006).** Abnormal microbiota composition in the ileo colonic mucosa of Crohn's disease patients as revealed by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis. *Inflammatory Bowel Diseases*.12(12):1136-1145.
- ❖ **MIZUSHIMA N. (2007).** Autophagy: process and function. *Genes Dev*, 21 (22):2861–73.
- ❖ **MOLINIE F., GOWER-ROUSSEAU C., YZET T., MERLE V., GRANDBASTIEN B., MARTI R. et al. (2004)**Opposite evolution in incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis in Northern France (1988-1999). *Gut*.53, 843-848.
- ❖ **MOUM B., VATN M.H., EKBOM A., AADLAND E., FAUSA O., LYGREN I. et al. (1996).** Incidence of Crohn's disease in four counties in Southeastern Norway, 1990-1993. *Scand. J. Gastroenterology*. 31: 355-361. Cité in **MUNKHOLM et BINDER, 2004.**
- ❖ **MUNKHOLM P., BINDER V. (2004).** Clinical features and natural history of Crohn's disease. In: SARTORR.B. SANDBORN W.J. Kirsner's inflammatory bowel diseases. 6th ed. *Philadelphia: Saunders*. 289-300.
- ❖ **MUNKHOLM P., LANGHOLZ E., DAVIDSEN M., BINDER V. (1993).** Intestinal cancer risk and mortality in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 105: 1716-1723. Cité in **BINDER, 2004., MUNKHOLM et BINDER, 2004.**

N

- ❖ **NAKAGAWA I, AMANO A, MIZUSHIMA N, YAMAMOTO A, YAMAGUCHI H, KAMIMOTO T, ET AL.(2004).** Autophagy defends cells against invading group A Streptococcus. *Science*, 306 (5698):1037–40.
- ❖ **NASER SA, GHOBRIAL G, ROMERO C, VALENTINE JF.(2004).** Culture of mycobacterium avium subspecies paratuberculosis from the blood of patients with crohn's disease. *World journal of Gastroenterology*. 364: 1039-44.
- ❖ **NØRGÅRD BM, NIELSEN J, FONAGER K, KJELDSSENJ, JACOBSEN BA, QVIST N. (2014).** The incidence of ulcerative colitis (1995–2011) and Crohn's dis-ease (1995–2012) – Based on nationwide Danish registry data. *J Crohns Colitis*, 8:1274–80.

O

- ❖ **OGURA Y., BONEN D.K., INOHARA N., NICOLAE DL., CHEN FF., RAMOS R., BRITTON H, MORAN T, KARALIUSKAS R, DUERR RH, ACHKAR JP, BRANT SR, BAYLESS TM., KIRSCHNER BS., HANAUER SB., NUNEZ G., CHO JH. (2001).** A

frame shift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 411, 603-606.

- ❖ **OGURA Y., LALA S., XIN W., SMITH E., DWODS T.A., CHEN F.F. et al. (2003).** Expression of NOD2 in Paneth cells : a possible link to Crohn's ileitis. *Gut*. 52, 1591-1597. Cité par **CHACON et al., 2004.**
- ❖ **OKAZAWA A., KANAI T., WATANABE M., YAMASAKI M., INOUE N., IKEDA M. et al. (2002).** Th-1mediated intestinal inflammation in Crohn's disease may be induced by activation of lamina propria lymphocytes through synergistic stimulation of interleukin-12 and inteleukin-18 without T cell receptor engagement. *Am. J. Gastroenterology*. 97: 3108-3117. Cité par CHACON et al., 2004.
- ❖ **OPITZ B, PU" SCHEL A, SCHMECK B, HOCKE AC, ROSSEAU S, HAMMERSCHMIDT S, ET AL. (2004).**Nucleotide-binding oligomerization domain proteins are innate immune-receptors for internalized Streptococcus pneumonia. *J BiolChem*, 279 (35): 36426–32.

P

- ❖ Possible links between Crohn's disease and paratuberculosis. *Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare* SAN CO/B3/R16/2000. European Commission Directorate-General Health and Consumer Protection, (2000). [enligne] [http://www.johnes.org/handouts/files/out38_en.pdf] (consultée le 1er avril 2006).

R

- ❖ **RIOUX J.D., DALY M.J., SILVERBERG M.S., LINDBLAD K., STEINHART H., COHEN Z. et al. (2001).** Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn's disease. *Nat. Genet*. 29: 223-228. Cité in **CHACON et al., 2004, GREENSTEIN, 2003.**
- ❖ **RUBERY E. (2001).** A review of the evidence for a link between exposure to Mycobacterium Paratuberculosis (MAP) and Crohn's disease (CD) in humans. *A report for the UK Food Standards Agency*. [enligne][<http://www.johnes.org/handouts/files/Review of evidence.pdf>] (Consultée le 1er avril 2015).
- ❖ **RUSSELL R.K., SATSANGI J. (2004).** IBD: a family affair. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterology*. 18, 525-539.
- ❖ **RYAN P, KELLY RG, LEE G, COLLINS JK, O'SULLIVAN GC, O'CONNELL J, SHANAHAN F.(2004).** Bacterial DNA within granulomas of patients with Crohn's disease--detection by laser captures micro dissection and PCR. *Am J Gastroenterology*, 99: 1539-1543

§

- ❖ **SALZMAN, N. H., GHOSH, D., HUTTNER, K. M., PATERSON, Y. & BEVINS, C. L. (2003).** Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin. *Nature*, 422: 522-526.

- ❖ **SANDBORN W.J. (2004).** Medical therapy for Crohn's disease. In: SARTOR R.B., SANDBORN W.J. Kirsner's Inflammatory bowel diseases. 6th ed. *Philadelphia: Saunders*. 531-554.

- ❖ **SARTOR R.B., RATH H.C., SELTON R.K. (1996).** Microbial factors in chronic intestinal inflammation. *Curr.Op. Gastroenterology*. 12: 327-333.

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

- ❖ **SCHULTZ, M., TIMMER, A., HERFARTH, H. H., SARTOR, R. B., VANDERHOOF, J. A., & RATH, H. C. (2004).** Lactobacillus GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. *BMC, Gastroenterology*. 4, 5.

- ❖ **SCHWARTZ D, SHAFRAN II, ROMERO C, ET AL. (2000).** Use of short-term culture for identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissue from Crohn's disease patients. *Clin Microbiol Infect*; 6: 303–07.

- ❖ **SECHI LA, SCANU AM, MOLICOTTI P, CANNAS S, MURA M, DETTORI G, FADDA G, ZANETTI S Am J GASTROENTEROL. (Jul 2005).** Detection and Isolation of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from intestinal mucosal biopsies of patients with and without Crohn's disease in Sardinia.; 100 (7):1529-36.

- ❖ **SEKSIK, P. (2010).** Gastroentérologie clinique et biologique 34 Suppl 1. [Gut microbiota and IBD]: S44-51

- ❖ **SEKSIK, P., RIGOTTIER-GOIS, L., GRAMET, G., SUTREN, M., POCHART, P., MARTEAU, P., ET AL. (2003).** Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut* 52, 237–242.

- ❖ **SHANAHAN F. (2002).** Crohn's disease. *Lancet*. 359: 62-69.

- ❖ **SHEEHAN AL, WARREN BF, GEAR MW, Br J Surg. (Sep 1992).** Fat-wrapping in Crohn's disease: pathological basis and relevance to surgical practice. 79(9):955-8.

- ❖ **SIMMS LA, DOECKE JD, WALSH MD, HUANG N, FOWTER EV, RADFOR-SMITH GL. (Gut 2008)** Reduced alpha-defensin expression is associated with inflammation and not NOD2 mutation status in iléal Crohn's disease.; 57: 903-10. (15).

- ❖ **SOKOL H, SEKSIK P, RIGOTTIER-GOIS L, ET AL. (2006).** Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 12:106-11.

- ❖ Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS ». *5ème édition* (2002). Pdf, p (1-88).
- ❖ **SUAU, A., BONNET, R., SUTREN, M., GODON, J.-J., GIBSON, G. R., COLLINS, M. D. & DORE', J. (1999).** Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 65, 4799–4807.
- ❖ **SUMMERS R.W., SWITZ D.M., SESSIONS J.T., BECKTEL J.M., BEST W.R., KERN F.Jr et al. (1979).** National cooperative Crohn's disease study: results of drug treatment. *Gastroenterology*. 77, 847-869. Cité in **MUNKHOLM et BINDER, 2004.**
- ❖ **SWIDSINSKI A, LADHOFF A, PERNTHALER A, SWIDSINSKI S, LOENING-BAUCKE V, ORTNER M, WEBER J, HOFFMANN U, SCHREIBER S, DIETEL M, LOCHS H. (2002).** Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 122:44–54.

T

- ❖ **TE VELDE A.A., VAN KOOYK Y., BRAAT H., HOMMES D.W., DELLEMIJN T.A., SLORS J.F. et al. (2003).** Increased expression of DC-SIGN+ IL-12+ IL-18+ and CD83+ IL-12- IL-18- dendritic cell populations in the colonic mucosa of patients with Crohn's disease. *Eur. J. Immunol.* 33 : 143-151. Cité in **CHACON et al., 2004.**

V

- ❖ **VAN DEN BOGAERDE J., CAHILL J., EMMANUEL A.V., VAIZEY C.J., TALBOT I.C., KNIGHT S.C. et al. (2002).** Gut mucosal response to food antigens in Crohn's disease. *Aliment. Pharmacology. Ther.* 16: 1903-1915. cite in **CHACON et al., 2004.**
- ❖ **VAN HEEL D.A., MCGOVERN D.P.B., JEWELL D.P. (2001).** Crohn's disease : genetic susceptibility, bacteria, and innate immunity. *Lancet.* 357, 1902-1904.
- ❖ **VASQUEZ, N., MANGIN, I., LEPAGE, P., SEKSIK, P., DUONG, J.P., BLUM, S., SCHIFFRIN, E., SUAU, A., ALLEZ, M., VERNIER, G., TRETON, X., DORE, J., MARTEAU, P., POCHART, P. (2007).** Patchy distribution of mucosal lesions in ileal Crohn's disease is not linked to differences in the dominant mucosa-associated bacteria: a study using fluorescence in situ hybridization and temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Inflamm. Bowel Dis.* 13, 684–692.
- ❖ **VILOTTE J et SOBHAN I, BENHAMOU G, COUTRIER D, MIGNON M.(01/01/1996).** protocologie université francophones. (461-462).
- ❖ **VIGNES S et BELLANGER J. (2008).** Primary intestinal lymphangiectasia (Waldmann's disease). *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 3:5 doi: 10.1186/1750-1172-3-5.

W

- ❖ **WALL S, KUNZE ZM, SABOOR S, ET AL. (1993).** Identification of spheroplast-like agents isolated from tissues of patients with Crohn's disease and control tissues by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*; **31**: 1241–45.
- ❖ **WEBER M F, KOGUT J, DE BREE J, VAN SCHAIK G AND NIELEN M. (2009).** Age at which dairy cattle become Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis faecal culture positive. *Prev VetMed*, **97**: 29-36.
- ❖ **WEHKAMP J, HARDER J, WEICHENTHAL M, SCHWAB M, SCHAFFELER E, SCHLEE M, et al. (2004).** NOD2 (CARD15) mutation in Crohn's disease are associated with diminished mucosal α - defensin expression. *National Library of Medicine, Gut* **53**: 1658-1664. (13).
- ❖ **WEHKAMP, J., SALZMAN, N.H., PORTER, E., NUDING, S., WEICHENTHAL, M., PETRAS, R.E., SHEN, B., SCHAEFFELER, E., SCHWAB, M., LINZMEIER, R., FEATHERS, R.W., CHU, H., LIMA, H., JR., FELLERMANN, K., GANZ, T., STANGE, E.F., AND BEVINS, C.L. (2005).** Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 18129-18134.
- ❖ **WEIMING Z L., YI L. , JIANFENG G., LUGEN Z., WEI Z., LEI C., LILI G., ZHEN G., NING L and JIESHOU L.(2015).** Tripterygium wilfordii Hook. f. versus azathioprine for prevention of postoperative recurrence in patients with Crohn's disease: A randomized clinical trial. *Digestive and Liver Disease*, (47)1 :14-19.
- ❖ **WELLS S J, COLLINS MT, FAABERG KS, WEES C, TAVORNPANICH S, PETRINI KR, COLLINS JE, CERNICCHIARO N AND WHITLOCK RH. (2006).** Evaluation of a rapid fecal PCR for detection for Mycobacterium valium subspecies paratuberculosis in dairy cattle. *Clin Vaccine Immunol*, **13**:1125-1130.
- ❖ **WITTE J., SHIVANANDA S., LENNARD-JONES J.E., BELTRAMI M., POLITI P., BONANOMI A. et al. (2000).** Disease outcome in inflammatory bowel disease: mortality, morbidity and therapeutic management of a796-person inception cohort in the European collaborative study on inflammatory bowel disease (EC-IBD). *Scand. J. Gastroenterology*. **35**: 1272-1277. Cité in **MUNKHOLM et BINDER, 2004.**

Y

- ❖ **YAMAMOTO K, KIYOHARA T, MURAYAMA Y, KIHARA S, OKAMOTO Y, FUNAHASHI T, ITO T, NEZU R, TSUTSUI S, MIYAGAWA1 J-I, TAMURA S, MATSUZAWA Y, SHIMOMURA I, SHINOMURA Y.(2005).** Inflammatory bowel disease Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gut* **2005**;54: 789-796 doi:10.1136/gut.2004.046516.

Z

- ❖ **ZOETENDAL EG, VON WRIGHT A, VILPPONEN-SALMELAT, BEN-AMOR K, AKKERMANS AD, DE VOS WM. (2002).** Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol*, 68:3401–7.

Annexes

Tableau 1 : Caractères biochimiques recherchés dans notre étude pour identifier les entéro-pathogènes.

Tests	Réaction/enzyme	Méthodologie	Résultats		Intérêt
			Positif	Négatif	
Urée	Activité d'une uréase sur milieu urée-indole	Faire suspension urée-tryptophane, incubé à 37°C/24h. Lecteur.	Rouge	Jaune	L'hydrolyse de l'urée suivie par l'alcalinisation
Indole	Tryptophanase	Ajouter le réactif de Kovacs dans un aliquote du milieu urée-indole ensemencé et incubé	Formation d'anneau rouge	Absence de coloration rouge	L'hydrolyse de tryptophane
RM	Réaction colorimétrique par RM	Mettre une suspension bactérienne dans le milieu CL après incubation 37°C/24h. Ajouter 2/3 gouttes de RM, lecteur.	rouge	Jaune	Voie de fermentation de glucose (fermentation des acides mixtes).
ONPG	β -galactosidase	Réaliser une suspension bactérienne testée en eau distillée, ajouter avec une flamme un disque imprégné d'ONPG, incubé à 37°C/24h.	Jaune	Incolore	Métabolisme de lactose
Catalase	Catalase	Sur une lame propre déposer une goutte de H ₂ O ₂ , ajouter à l'aide d'une pipette Pasteur l'inoculum bactérien, observation.	Apparition de bulles (dégagement de gaz)	Pas de bulles	Métabolisme respiratoire

Tests	Réaction/ enzyme	Méthodologie	Résultats		Intérêt
			Positif	Négatif	
ODC	Ornithine décarboxylase	Ensemencer sur milieu Folkow une goutte de suspension, agiter et recouvrir de vasline stérile (anaérobiose relative), incubation 37°C/24h.	Violet	Jaune	Production du dioxyde de carbone et des amines.
LDC	Lysine décarboxylase				
ADH	Arginine dihydrolase				
TSI	Fermentation de lactose et glucose et saccharose et production de H ₂ S	Ensemencer à l'aide d'une pipette pasteur la pente de la gélose en strie centrale puis piquer en profondeur jusqu'à 3-5mm du fond du tube par la suspension bactérien. Retiré la pipette pasteur et strier la surface de la pente, incubé à 37°C/24h.	<p>-pente alcaline et un culot acide (rouge/ jaune) : fermentation du D-GLU uniquement.</p> <p>-pente acide et culot acide (jaune/ jaune) : fermentation de glucose, lactose et saccharose.</p> <p>-pente alcaline et culot alcalin (rouge/ rouge) : pas de fermentation.</p> <p>-les fissures dans le milieu indiquent la production des gaz.</p> <p>-précipité noir dans le culot : production de H₂S.</p>		Différenciation des entérobactéries.
Mannitol		Ensemencer par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur chargé de suspension, incubation.	-virage au jaune (orange). -culture dans toute la gélose (trouble).	-absence de virage. -culture le long de la piqure.	Fermentation de mannitol et mobilité.

Tableau 2 : valeurs critique des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour entérobactéries.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)			CMI critique (µg/ml)	
		Sensible	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
β-lactamine Ampicilline	10µg	< 13	14-16	>17	>32	<8
Amoxiciline+ AC. clavulanique	20/10µg	<13	14-17	>18	>32/16	<8/4
cefazoline	30µg	<14	15-17	>18	>32	<8
cefalotine	30µg	<14	15-17	>18	>32	<8
Cefoxitine	30µg	<14	15-17	>18	>32	<8
Cefotaxime	30µg	<14	15-22	>23	>64	<8
Ceftriaxone	30µg	<13	14-20	>21	>64	<8
Imipenem	10µg	<13	14-15	>16	>16	<4
Aminosides : amikacine	30µg	<14	15-16	>17	>32	<16
Gentamicine	10µg	<12	13-14	>15	>8	<4
Quinolones : Acide nalidixique	30µg	<13	14-18	>19	>32	<16
Ciprofloxacine	5µg	<15	16-20	>21	>8	<4
Antibiotiques	Charge des	Diamètre critique (mm)			CMI critique	

testés	disques				(µg/ml)	
		Sensible	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible
Autres : Chloramphénicol	30µg	<12	13-17	>18	>32	<8
Furanes	300µg	<14	15-16	>17	>128	<32
Fosfomycine	200µg	<12	13-15	>16	>256	<64
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole.	1,25/23,75µg	<10	11-15	>16	>8/152	<2/38

FICHE TECHNIQUE N° 01

FIXATION AU FORMOL 10% AU PBS

Composition

- Formol..... 10ml
- PBS 90ml

Composition de PBS

- Nacl..... 08g
- Kcl..... 0,2g
- Na₂HPO₄..... 1,15g
- KH₂PO₄.....0,2g
- Eau distillée1000ml

Ajuster le PH de solution à 7,4 et conservée à température de 4 °C.

FICHE TECHNIQUE N°02

COLORATION DE HEMATOXYLINE EOSINE

Réactifs

- Hématoxyline de harris.
- Eosine.

Mode opératoire

- Déparaffiner dans bains de toluène ou de xylène..... 15min.
- Réhydratation dans des bains d'alcools à concentration décroissante.
- Alcool 97% 02 min.
- Puis alcool 95%..... 02 min.
- Colorer Hématoxyline de harris..... 02 min.
- Puis laver à l'eau courante.
- Colorer par éosine 04min.
- Laver à l'eau courante.
- Déshydrater par alcool.
- Eclaircir puis monter.

Résultats : Le cytoplasme colore en rose et les noyaux sont colore en noir.

FICHE TECHNIQUE N° 03**COLORATION DE ZIEHL NEELSEN****Réactifs**

- Carbofuchisine
- Acide sulfurique a 25%
- L'alcool 95°
- Bleu de méthylène

Mode opératoire

- Déparaffiner et hydrater.
- Carbofuchisine 0,3% 30min
- Puisrinçage délicate par l'eau distillée.
- Acide sulfurique 25%5min
- L'alcool..... 3min
- Coloration par le bleu de méthylène..... 2min
- Rinçage à l'eau distillée.
- Un bain de xylène..... 2min
- Montage.

Résultats

La présence des bacilles colorés en rouge dans un fond bleu.

Préparation des réactifs**ACIDE SULFURIQUE A 25% :**

- Acide sulfurique pure25ml
- Eau distillé75%

ALCOOL 95° :

- Alcool5ml
- Eau distillée95ml

FICHE TECHNIQUE N° 04**MILIEUX DES CULTURES****GELOSE AU HEKTOEN****Composition en grammes par litre d'eau distillée :**

- Peptone.....12 g/l

- Extrait de levure.....3 g/l
- NaCl.....5 g/l
- Sels biliaires.....9 g/l
- Thiosulfate de sodium.....5 g/l
- Citrate de fer ammoniacal.....1,5 g/l
- Lactose.....12 g/l
- Salicine.....2 g/l
- Saccharose.....2 g/l
- BBT.....0,002 g/l
- Fuchsine acide.....0,1 g/l
- Ag r = 14 pH
- final = 7,5

❖ GELOSE MAC CONKEY

Composition en grammes par litre d'eau distillée :

- Peptone de caséine.....17 g/l
- Peptone de viande.....3 g/l
- Sels biliaires.....1,5 g/l
- Cristal violet.....0,001 g/l
- Lactose.....10 g/l
- Rouge neutre.....0,03 g/l
- NaCl.....5 g/l
- Agar.....13,5 g/l
- pH final = 7,1

❖ GELOSE AU SANG FRAIS

Composition :

- Poudre de gélose nutritive.....500mg
- Eau distillée stérile.....500ml

2 Tube héparine remplie de sang humain

❖ BOUILLON BGT

Composition en grammes :

- peptone:.....20,0 g
- extrait de viande:.....2,0 g
- glucose:.....4,0 g
- chlorure de sodium:.....2,5 g
- dihydrogénophosphate de potassium:.....0,7 g
- hydrogénophosphate de sodium:.....8,3 g

- pH = 7,4 Préparation 37,5 g

Stérilisation classique.

❖ BOUILLON BHIB :

Composition

- Protéose-peptone 10,0 g
- Infusion de cervelle de veau12,5 g
- Infusion de cœur de bœuf..... 5,0 g
- Glucose 2,0 g chlorure de sodium..... 5,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium2,5 g
- pH = 7,4

Préparation 37 g par litre. Stérilisation classique.

FICHE TECHNIQUE N° 05

COLORATION DE GRAM

Mode opératoire

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne.
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute.
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes.
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer à l'eau.
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes.
- Laver à l'eau.
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.