

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Option: Microbiologie appliquée

## MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER II

Intitulé :

***EFFET DE L'INTERVALLE POST-MORTEM PROLONGEE  
SUR LES COMMUNAUTES BACTERIENNES DANS  
CERTAINS ORGANES DU CADAVRE D'UN LAPIN***

Présenté par :

**MESSOUS Aya, MEZEDJRI Rayane et MOUATS Lamia**

Membres de jury :

Président..... :	<b>BOUHAYENE.S</b>	<b>MCA</b>	Université du 20 Août 1955 Skikda
Directeur de mémoire.:	<b>BOULKENAFET.F</b>	<b>MCA</b>	Université du 20 Août 1955 Skikda
Examinatrice..... :	<b>BECHEKER.I</b>	<b>MCA</b>	Université du 20 Août 1955 Skikda

**Année universitaire 2021/2022**

# REMERCIEMENTS

*Au terme de ce cycle de formation à l'université du 20 Août 1955 à SKIKDA pour la préparation de ce mémoire de fin d'études, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et toute notre gratitude à notre encadreur Monsieur le Docteur BOULKENAFET Fouzi qui grâce à ses conseils, ses suggestions, sa disponibilité et ses nombreuses qualités professionnelles et intellectuelles, a pu nous orienter et nous conduire durant l'élaboration ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier le corps professoral de l'université dont les membres n'ont épargné aucun effort pour nous prodiguer généreusement le savoir et les connaissances liées aux sciences biologiques.*

*Nos remerciements s'adressent également à la Direction et l'ensemble du personnel qui nous ont soutenu et apporté leur assistance durant toute la formation, chacun dans son domaine de compétence.*

*Nous voudrions aussi exprimer notre profonde gratitude et notre haute considération à tous ceux qui nous ont soutenu, encouragé et aidé d'une manière ou d'une autre durant notre formation et la préparation de ce mémoire de fin d'études.*

*Nous tenons à remercier spécialement le chef service de l'unité de bactériologie du laboratoire de la wilaya de Skikda Monsieur Zayed Nacer pour tout le soutien qu'il nous a apporté pendant notre stage pratique.*

*Nous tenons à remercier le Dr Machia pour son aide et ses conseils réguliers concernant la méthode de travail, ce qui a grandement facilité*

*notre travail pendant notre stage pratique et la rédaction de notre mémoire.*

*Un grand merci au Dr Bendjamaa pour ses conseils et le matériel qu'il a mis à notre disposition pour compléter notre recherche pratique.*

*Nous tenons à remercier aussi les membres du jury qui m'ont honoré en jugeant ce travail.*

*Nous voudrions exprimer nos reconnaissances envers les amis et collègues qui nous avons apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de notre démarche.*

# DEDICACE

*Ce travail, qui représente le fruit des connaissances acquises à l'université et le résultat de nos efforts de recherche durant notre formation, est dédié en premier lieu à nos chers parents qui auront sûrement un sentiment de fierté à l'occasion de notre réussite.*

*Nous le dédions également à tous nos frères et sœurs, comme nous le dédions à tous ceux qui nous ont soutenus, encouragé et aidé durant notre formation et tout au long de la préparation de ce mémoire.*

# DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail :*

***A mon très cher Père Hacen***

*Ce travail est le résultat de l'esprit de ses sacrifices, son amour, ses encouragements, sa tendresse et son soutien tout au long de mes études.*

***A ma très Chère Mère BENACHOUR Nabila***

*Dont le mérite, ses sacrifices et ses encouragements, m'ont permis de vivre ce jour.*

***A mon petit Frères Mohamed***

*A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.*

***A toute ma famille***

*Pour leur amour et leur soutien.*

***A mes sœurs MEZEDJRI Rayane et MOUATS Lamia***

*Qui m'ont accompagnée dans tous les moments heureux et tristes.*

***A Mr SAADI Abd el Djalil***

*La personne qui m'a soutenue.*

***A ma deuxième famille IC TEAM CLUB***

*Les personnes qui m'ont toujours aidée.*

***A mes chères amies de loin ou de près***

*Pour leur encouragements permanant et leur soutiens moral.*

***Aya***

# DEDICACE

*Je dédie ce travail à :*

***Mon cher père Abdelaziz***

*Ma source de bonheur et mon soutien dans la vie qu'Allah te bénisse*

***A ma chère maman Chelbi karima***

*Mon âme et la personne la plus précieuse pour moi que dieu te bénisse*

***A mes chères frères Nassim, Mohammed et Adem***

*Pour être une source de soutien et de motivation pour moi.*

***A mes sœurs Messous aya et Mouats Lamia***

*La raison du succès de ce travail incroyable*

***A ma famille***

*Pour m'avoir toujours soutenu et encouragé à donner le meilleur de moi-même*

***A Mr. Saadi Abdeljalil et Hamiouda Mossab***

*Pour nous aider dans ce travail*

***A l'âme de Mr. Nassim Bensayah***

*Celui qui m'a appris à devenir une meilleure personne*

***A ICTEAM CLUB***

*Ma deuxième famille qui nous a donné tout leur amour et leur aide*

***Rayane***

# DEDICACE

*Avec un grand plaisir je dédie ce travail :*

***A l'âme de mes parents ;***

*J'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie, vous êtes toujours présents dans mon esprit et dans mon cœur.*

***A mon oncle maître Waheb Boukerma ;***

*Qui m'avez toujours soutenu et encourager durant cette période d'étude.*

***A ma tante Wahiba Boukerma ;***

*Qui a partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.*

***A ma très chère sœur Ibtissem ;***

*Ma source d'amour qu'elle a été toujours à mes côtés. Tu restes toujours ma fierté.*

***A mes sœurs et amies Rayane Mezedjri et Aya Messous ;***

*Source d'espoir et motivation, l'origine de notre réussite ; que dieu vous garde*

***A ma sœur Chaima, ma nièce Razan et ma cousine Karima Litim ;***

*Mes petites que je vous aime trop, je vous souhaite tout le bonheur de vie*

***♥A mon cher Mossaab Hamiouda ♥***

*Pour tout l'encouragement, le respect et l'amour que tu m'as offert*

***Lamia***

## **Résumé :**

La microbiologie post-mortem (PMM) est un outil important en médecine légale, qui aide à déterminer l'intervalle post mortem (IPM), la cause et le mode de décès (accidentel, suicide, homicide et indéterminé). La PMM aide également à identifier les bactéries qui participent au phénomène de la décomposition.

Pour explorer le microbiome de la décomposition, trois cadavres de lapins ont été échantillonnés à trois intervalles du temps (10 min, 1h, 5h) à partir de divers organes (caecum, rein, foie). Les échantillons ont été analysés par la méthode de culture bactérienne sur des milieux de culture spécifiques pour la recherche des streptocoques, Entérocoques et *Escherichia coli*.

Nos données ont montré qu'il y a une translocation bactérienne du caecum vers les autres organes extra-intestinaux au fil du temps avec augmentation de la charge bactérienne qui intervient à la putréfaction du cadavre.

Les résultats obtenus peuvent être considérés comme ensemble additif de données et s'ajoutent à l'ensemble des recherches émergentes.

**Mots clé :** Microbiologie post-mortem, médecine légale, intervalle post-mortem, translocation bactérienne, putréfaction.

**Abstract :**

Post-mortem microbiology (PMM) is an important tool in forensic medicine, which helps to determine post-mortem interval (PMI), cause and manner of death (accidental, suicide, homicide and undetermined). PMM also helps to identify bacteria that participate in the process of decomposition

To explore the microbiome of decomposition: three rabbit corpses were sampled at three time intervals (10 min, 1 h, 5 h) from various organs (caecum, kidney, liver), the samples were analyzed by the method of bacterial culture on specific culture media for the detection of streptococci, Enterococci and *Escherichia coli*.

Our data show that there is a bacterial translocation from the cecum to other extra-intestinal organs over time with an increase in the bacterial load, which intervenes in the putrefaction of the corpse.

The results obtained can be considered as an additive set of data and are added to the set of emerging research.

**Keywords:** Post-mortem microbiology, forensic medicine, post-mortem interval, bacterial translocation, putrefaction.

## ملخص :

يعد علم الأحياء الدقيقة بعد الوفاة أداة مهمة في الطب الشرعي، حيث يساعد في تحديد فترة ما بعد الوفاة وسبب وطريقة الوفاة (عرضي، انتحار، قتل، مجهول) ويساعد أيضًا في تحديد البكتيريا التي تشارك في عملية التحلل.

لاستكشاف ميكروبيوم التحلل: تم أخذ عينات من جثث ثلاث أرناب على فترات زمنية (10 دقائق، ساعة، 5 ساعات) من أعضاء مختلفة (المعي المستقيم، الكلى، الكبد)، وتم تحليل العينات بطريقة الزراعة البكتيرية في اوساط زرع معينة للكشف عن (العقديات، المكورات المعوية، والإشريكية القولونية).

تظهر بياناتنا أن هناك انتقالًا جرثوميًا من المعى المستقيم إلى أعضاء أخرى خارج الأمعاء بمرور الوقت، مع زيادة في العدد البكتيري الذي يتدخل في تعفن الجثة.

يمكن اعتبار النتائج التي تم الحصول عليها كمجموعة من البيانات المضافة، وتضاف إلى مجموعة الأبحاث الناشئة.

**الكلمات المفتاحية:** علم الأحياء الدقيقة بعد الوفاة، الطب الشرعي، فترة ما بعد الوفاة، الانتقال البكتيري، التعفن.

## TABLEAU DES ABREVIATIONS

Mot	Abréviation de
IPM	Intervalle post mortem
PMM	La microbiologie post-mortem
ARN	Acide ribonucléique
Mwgs	Whole genome sequencing (le séquençage métagénomique du génome entier)
pH	Le potentiel hydrogène
CEI	Cellules épithéliales intestinales
<i>E coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
LCR	Liquide céphalorachidien
VRBG	Gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre
GN	Gélose nutritive
H2O2	Peroxyde d'hydrogène
UFC	Unité formant colonie
BEA	Gélose Bile-Esculine-Azide
VF	Milieu viande foie

## Liste des figures

<b>fig.1</b> : Laboratoire de bactériologie alimentaire et contrôle de qualité de la wilaya de Skikda .....	14
<b>fig.2</b> : La dissection du trois lapins .....	16
<b>fig.3</b> : Prélèvement par écouvillonnage à partir des trois organes. ....	17
<b>fig.4</b> : Prélèvement de biopsie. ....	17
<b>fig.5</b> : Ensemencement dans les milieux sélectifs .....	18
<b>fig.6</b> : Test de catalase .....	19
<b>fig.7</b> : Test d'oxydase. ....	20
<b>fig.8</b> : Ensemencement de milieu mannitol par les trois souches <i>E coli</i> , Entérocoque, Streptocoque. ....	21
<b>fig.9</b> : Ensemencement sur milieu viande foie.....	21
<b>fig.10</b> : Réalisation de série de dilution .....	23
<b>fig.11</b> : Résultats macroscopique des souches présentes dans le caecum après 10 min du décès pendant 48h d'incubation. ....	26
<b>fig.12</b> : Noircissement de gélose BEA.ensemencés par les entérocoques isolé des trois organes .....	26
<b>fig.13</b> : Résultats macroscopique des souches présentes dans le rein après 10 min du décès pendant 48h d'incubation.....	27
<b>fig.14</b> : Aspect de boîtes ensemencées à partir du foie après 10 min du décès. ....	27
<b>fig.15</b> : Aspect de boîtes ensemencées à partir du caecum après 1h du décès .....	28
<b>fig.16</b> : Aspect de boîtes ensemencées à partir du rein après 1h du décès.....	29
<b>fig.17</b> : Aspect macroscopique des colonies de ( <i>E coli</i> , Entérocoque, Streptocoque) présent dans le foie après 1h du décès. ....	30
<b>fig.18</b> : Aspect macroscopique des colonies de ( <i>E coli</i> , Entérocoque, Streptocoque) présent dans le caecum après 5h du décès. ....	30
<b>fig.19</b> : Aspect macroscopique des colonies de ( <i>E coli</i> , Entérocoque, Streptocoque) présent dans le rein après 5h du décès. ....	31
<b>fig.20</b> : Aspect macroscopique des colonies de ( <i>E coli</i> , Entérocoque, Streptocoque) présent dans le foie après 5h du décès. ....	31
<b>fig.21</b> : Aspect microscopique (coloration de gram) de colonie d' <i>E coli</i> .G X100. ....	34
<b>fig.22</b> : Aspect microscopique (coloration de gram) de colonie de Streptocoque. G.X100.....	35

<b>fig.23</b> : Aspect microscopique (coloration de gram) de colonie de Enterocoque. G X100.....	35
<b>fig.24</b> : Résultats du test catalase sur <i>E coli</i> .....	36
<b>fig.25</b> : Résultats du test catalase sur Enterocoque.....	37
<b>fig.26</b> : Résultats du test catalase sur Streptocoque.....	37
<b>fig.27</b> : Réaction oxydase et virage du couleur du disque sur une colonie de <i>E coli</i> ..	38
<b>fig.28</b> : Réaction oxydase sur Streptocoque. ....	38
<b>fig.29</b> : Réaction oxydase sur Enterocoque. ....	39
<b>fig.30</b> : Résultat du test mannitol mobilite.....	40
<b>fig.31</b> : Résultat du test de type respiratoire. ....	41
<b>fig.32</b> : Aspect macroscopique sur CHROMagar .....	43
<b>fig.33</b> : Résultat du denombrement sous compteur de colonies .....	45

## Liste des tableaux

<b>Tab 1</b> : Changement du pH au cours de la décomposition.....	5
<b>Tab 2</b> : Poids des lapins.....	16
<b>Tab 3</b> : Résultats macroscopiques des bactéries observés après incubation.....	
... <b>Erreur ! Signet non défini.</b>	
<b>Tab 4</b> : Résultats de la culture des souches bactériennes aux différents intervalles étudiés. ....	33
<b>Tab 5</b> : Résultats microscopique obtenue après coloration de gram.....	34
<b>Tab 6</b> : Résultats des tests enzymatique des trois bactéries. ....	42
<b>Tab 7</b> : Identification des espèces bactériennes basée sur la couleur des colonies.....	43
<b>Tab 8</b> : Résultat de la charge bactérienne du 1 <sup>er</sup> lapin en UFC.....	44
<b>Tab 9</b> : Résultat de la charge bactérienne du 2 <sup>ème</sup> lapin en UFC .....	44
<b>Tab 10</b> : Résultat de la charge bactérienne du 3 <sup>ème</sup> lapin en UFC .....	44

# Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Tableau des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

**INTRODUCTION** .....ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.

**CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA MICROBIOLOGIE MEDICO-LEGALE**.....1

**I.1. LA MICROBIOLOGIE MEDICO-LEGALE** .....2

**I.1.1 Généralités** .....2

**I.1.2 Intérêt de la microbiologie médico-légale dans les enquêtes criminelles** ...3

**I.1.3 Estimation de l'intervalle post-mortem grâce à la flore microbienne post-mortem** .....4

I.1.3.1 Définition du l'intervalle post-mortem .....4

I.1.3.2 Méthode d'estimation de l'intervalle post-mortem .....4

<b>I.1.4</b>	<b>Facteurs influençant la décomposition du cadavre .....</b>	<b>4</b>
I.1.4.1	Présence d'oxygène .....	5
I.1.4.2	Humidité .....	5
I.1.4.3	Température .....	5
I.1.4.4	Potentiel hydrogène .....	5
<b>I.1.5</b>	<b>Changement macroscopique au cours de la décomposition .....</b>	<b>6</b>
I.1.5.1	L'autolyse .....	6
I.1.5.2	La putréfaction .....	6
<b>I.2.</b>	<b>THANATOMICROBIOME ET TRANSLOCATION BACTERIENNE ..</b>	<b>6</b>
<b>I.2.1.</b>	<b>Bactéries commensales .....</b>	<b>7</b>
I.2.1.1.	Flores bactériennes intestinales ante-mortem du lapin adulte .....	8
I.2.1.2	Flores bactériennes intestinales post-mortem du lapin adulte .....	8
<b>I.2.2.</b>	<b>La colonisation des tissus et des organes après le décès .....</b>	<b>10</b>
<b>I.2.3.</b>	<b>Culture bactériologique post mortem .....</b>	<b>10</b>
<b>I.3.</b>	<b>DENOMBREMENT ET VARIATION DE L'ABONDANCE DIFFERENTIELLE BACTERIENNE ENTRE LES ORGANES AU COURS DE LA DECOMPOSITION .....</b>	<b>11</b>
<b>I.3.1.</b>	<b>Effet du temps sur la charge du microbiome post-mortem des organes internes .....</b>	<b>11</b>
 <b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES</b>		
<b>ERRATA !      SIGNET      NON DEFINI.</b>		
<b>I.</b>	<b>OBJECTIF .....</b>	<b>14</b>
<b>II.</b>	<b>Matériel utilisés .....</b>	<b>14</b>
<b>III.</b>	<b>METHODES .....</b>	<b>15</b>
<b>A/</b>	<b>Protocole d'échantillonnage.....</b>	<b>15</b>

<b>B/ Protocol d'identification .....</b>	<b>18</b>
1. Isolement .....	18
2. Examen macroscopique des cultures .....	18
3. Examen microscopique des colonies .....	18
4. Test enzymatique .....	19
5. CHROMagar .....	22
6. Dénombrement .....	22
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>1</b>
<b>I.       RESULTATS .....</b>	<b>25</b>
1. Examen macroscopique .....	25
2. Examen microscopique .....	33
3. Tests enzymatique :.....	36
4. Test confirmatif CHROMagar .....	42
5. Dénombrement .....	43
<b>II.       DISCUSSION .....</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>50</b>

# INTRODUCTION

---

Depuis l'émergence de la médecine légale au 19<sup>ème</sup> siècle, l'utilité de l'examen microbiologique post-mortem a été un sujet de controverse. Le processus d'enquête médico-légale commence par la collecte de renseignements et d'informations sur le cadavre, cette collecte est suivie d'une enquête plus approfondie axée sur l'identification des empreintes digitales, la détermination de la cause du décès, la datation de la mort,... etc. La microbiologie médico-légale aide à diriger et à formuler les décisions judiciaires basées sur l'activité bactérienne après le décès pour déterminer le temps écoulé depuis la mort ou l'intervalle post-mortem. Ce travail de recherche s'intéresse particulièrement au terme de bactériologie post-mortem, qui étudie les communautés bactériennes présentes dans l'intestin en tant que participants majeurs de la putréfaction. Le microbiome peut également fournir un outil précieux dans les enquêtes médico-légales sur les décès en aidant à révéler l'intervalle post mortem d'un défunt qui est découvert après un laps de temps inconnu depuis le décès (Johnson et *al.*, 2016). Le changement de la composition des espèces observées dans chaque communauté bactérienne est une caractéristique précieuse qui donne beaucoup d'informations liées au crime. Il est principalement utilisé dans l'estimation de l'intervalle post mortem. Dans certaines enquêtes criminelles, de tels changements notables dans le microbiome peuvent déterminer la cause ou le temps réel du décès. Les traces microbiennes trouvées sur les lieux du crime peuvent également fournir des preuves claires de culpabilité (Speruda et *al.*, 2022).

Cette étude est un travail de recherche en microbiologie médico-légal pour démontrer le rôle des bactéries dans la décomposition du cadavre au fil du temps. Suite à cette activité nous allons répondre à la problématique suivante : quel est l'effet du temps sur les communautés bactériennes dans le corps après la mort ? Et à quel niveau la microbiologie participe à la datation de la mort ?

Dans ce travail nous avons analysé trois parties. En premier lieu, nous avons rappelé le concept de la microbiologie médico-légal, en seconde partie nous avons étudié le thanatomiome et la translocation bactérienne. Enfin une troisième partie où nous nous sommes intéressé au dénombrement et au calcul de l'abondance différentielle de la charge bactérienne entre les organes au cours de la décomposition cadavérique.

## INTRODUCTION

---

Afin de réaliser cette étude et répondre à la problématique posée, nous avons pratiqué l'expérience sur un modèle animal de trois lapins, afin d'identifier les espèces bactériennes purifiantes et suivre leur translocation du caecum vers les organes extra caeaux , et dénombrer la charge au cours de la décomposition du cadavre.

## **CHAPITRE I**

# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA MICROBIOLOGIE MEDICO-LEGALE**

# Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

## I.1. La microbiologie médico-légale :

### I.1.1 Généralités :

La microbiologie médico-légale est une discipline nouvellement émergente qui a d'abord acquis une reconnaissance mondiale à la suite des attaques de *Bacillus anthracis* lancé par le service postal américain en 2001 (Lehman, 2012). Elle est également connue sous le nom de microbiologie de la mort qui offre un domaine scientifique florissant qui est en partie utilisé dans les enquêtes criminelles. Certains cas peuvent être difficiles à résoudre en utilisant des techniques médico-légales standard et sont transformés en domaine d'application de l'analyse microbiologique (Speruda et *al.*, 2021).

Les bactéries sont un représentant majeur de la microbiologie médico-légale où elles jouent un rôle dans la détermination de la cause, du temps et du lieu du décès en effectuant des analyses microbiologiques dans le but d'étudier la migration bactériennes des organes intra intestinaux vers les organes externes aux différents stades de la putréfaction du cadavre. Ce cadavre à son tour est affecté par des facteurs externes tels que la température et l'humidité, qui à leur tour affectent la multiplication des bactéries quantitativement et qualitativement. Grâce à ces résultats, il devient relativement facile d'estimer le moment de la mort (Lehman, 2012).

Autrement, basée sur l'étude des résultats de l'analyse du thanatomiome (microorganismes trouvés dans le corps, les organes et les fluides après la mort) et la communauté épi-nécrotique (micro-organismes trouvés sur des cadavres en décomposition) afin de déterminer la date et la cause de la mort du cadavre (estimation de l'intervalle post mortem IPM) (Speruda et *al.*, 2021).

L'identification du microbiote isolé peut être réalisée d'une part, par les techniques de la biologie moléculaire (séquençage, hybridation de l'ARN 16s...etc) qui est très populaire, et donne des résultats efficaces, rapides, faciles à analyser et fiables mais elle est limitée de ne déterminer que le genre. D'autre part, par les techniques traditionnelles liées à la culture des échantillons sur des milieux spécifiques. Cette

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

méthode est rarement utilisée en bactériologie médico-légal en raison de longue attente des résultats mais reste aussi valable et satisfaisante. (Speruda et *al.*, 2021).

### **I.1.2 Intérêt de la microbiologie médico-légale dans les enquêtes criminelles :**

Les changements dans le microbiome humain après la mort semblent être particulièrement pertinents dans les enquêtes criminelles, mais ils n'ont pas encore fait l'objet de recherches adéquates. Les études en microbiologie post-mortem sont souvent considérées comme difficiles et controversées et ont un impact considérable sur les progrès de la discipline. En raison de la rareté des cadavres humains, des recherches non criminelles pour comprendre pleinement la population microbienne post-mortem sont fréquemment menées à l'aide d'un modèle animal « lapin » (Lawrence et *al.*, 2019 ; Can et *al.*, 2014).

L'identification de la cause du décès est un exemple moins extrême de l'utilisation des études microbiologiques dans les enquêtes médico-légales surtout en cas de décès inconnu ou de présence du corps dans des cas avancés de putréfaction, il est difficile d'identifier et de déterminer la cause du décès. Par exemple, dans le cas d'une mort subite à la suite d'une intoxication alimentaire, il y a des bactéries responsables de l'infection, de sorte que la médecine légale devient insuffisante à elle seule pour déterminer la cause principale et spécifique du décès, nécessite donc l'intervention de la microbiologie pour donner des résultats concluants en prélevant un échantillon du corps et les résultats sont ensuite analysés pour faire correspondre les bactéries obtenues après la mort avec celles qui sont dans un état normal (Morentin et *al.*, 2012).

Une autre utilisation de la microbiologie médico-légales dans les enquêtes criminelles consiste à déterminer la date du décès, en analysant les résultats de la migration des bactéries des organes internes vers les organes externes, sachant que les organes internes tels que le foie, par exemple, sont stériles et exempts de bactéries, et après la mort, les bactéries se propagent et occupent ces organes et se multiplie ; et leur nombre augmente avec le temps, ce qui facilite l'estimation de l'intervalle post-mortem (IPM) (Can et *al.*, 2014).

## **I.1.3 Estimation de l'intervalle post-mortem grâce à la flore microbienne post-mortem :**

### **I.1.3.1 Définition du l'intervalle post-mortem :**

La définition convenue de l'intervalle post-mortem est le temps écoulé du moment de la mort jusqu'à la date de la découverte du corps. Cette définition quand on parle de microbiologie médico-légale est l'utilisation des micro-organismes (bactéries) pour estimer la date du décès, lors de la découverte d'un cadavre inconnu ou dans les cas avancés de putréfaction. Il est difficile d'identifier la cause ou la date du décès par les méthodes médico-légales traditionnelles. La biologie doit donc intervenir, que ce soit par des insectes en entomologie ou par des bactéries en microbiologie (Lehman, 2012).

### **I.1.3.2 Méthode d'estimation de l'intervalle post-mortem :**

En microbiologie l'estimation de l'intervalle post-mortem (IPM) se fait soit par les techniques modernes de la biologie moléculaire (le séquençage métagénomique du génome entier (mWGS) et le séquençage de gènes marqueurs comme le gène ARN 16S), ou par les techniques classiques de la culture bactérienne post-morte.

Dans notre cas, nous avons réalisé notre expérience sur des lapins, après la collecte des échantillons par écouvillonnage des surfaces des organes et le prélèvement d'un petit fragment d'organe dans le but de compter la charge bactérienne dans les organes au fil du temps. Dans l'exemple du lapin les résultats seront effectués les 6 premières heures, mais dans le cas d'être humain les résultats ne seront significatifs qu'après 24h. Selon la propagation bactérienne on peut déterminer le temps du décès par la comparaison qualitative et quantitative de la flore bactérienne ante-mortem et post-mortem (Mayssa et *al.*, 2020).

### **I.1.4 Facteurs influençant la décomposition du cadavre :**

La putréfaction du cadavre diffère d'un individu à l'autre, en raison des différents facteurs externes et internes affectant le développement à ce stade (le taux d'oxygène, l'humidité, la température, pH...etc).

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

### I.1.4.1 Présence d'oxygène :

Le processus anaérobie assure la décomposition complète du cadavre en l'absence d'oxygène. S'il y a une source d'oxygène, les bactéries aérobies proliféreront et aideront à la décomposition du cadavre après la fermentation anaérobie dans les intestins. Une décomposition facilitée par les opérations combinées des bactéries aérobies et anaérobies est plus rapide qu'une décomposition par anaérobiose stricte (Yogeshwar et *al.*, 2008).

### I.1.4.2 Humidité :

Comme l'eau est utilisée par les bactéries anaérobies et aérobies pendant leur croissance, une humidité suffisante est nécessaire pour une décomposition rapide du cadavre humain. Lorsque l'apport hydrique est considérablement réduit (comme dans le sol désertique), la décomposition est très lente (Yogeshwar et *al.*, 2008).

### I.1.4.3 Température :

Le développement bactérien est lent ou inexistant à basse température (moins de 5°C), alors que la plupart des bactéries sont inactivées à haute température (plus de 40°C). La décomposition est fortement perturbée à ces deux extrêmes, donc la température ambiante pour la décomposition est de 10°C (Yogeshwar et *al.*, 2008).

### I.1.4.4 Potentiel d'hydrogène :

En général, le pH du corps d'un homme en bonne santé est alcalin. Après la mort, le PH change selon le tableau :

**Tab 1 :** Changement du pH au cours de la décomposition (Yogeshwar et *al.*, 2008).

pH	
7,4	Condition normale
5-6	Rigor mortis
>7	Décomposition avancé

La saponification (la création d'un matériau savonneux à partir de l'interaction des acides gras avec les ions OH) peut se produire à un pH alcalin pendant la décomposition avancée. Cette substance se forme au fond des cercueils après plusieurs semaines de décomposition (Yogeshwar et *al.*, 2008).

# Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

## **I.1.5 Changement macroscopique au cours de la décomposition :**

La décomposition peut être divisée en deux phénomènes fondamentaux : l'autolyse, qui est la destruction chimique aseptique des cellules et des organes ; et la putréfaction, qui est la lyse bactérienne et fermentaire des tissus (Vanessa, 2014).

### **I.1.5.1 L'autolyse :**

Dans les deux heures suivant la mort, les premiers signes extérieurs d'autolyse se développent. L'absence de circulation sanguine entraîne un manque d'oxygénation des tissus, entraînant une pâleur de ces tissus, ce processus se déclenche due à la diminution du pH intracellulaire à la suite d'une diminution de la teneur en oxygène des tissus (Vanessa, 2014).

Des modifications oculaires internes (coagulation intra-vasculaire des vaisseaux sanguins rétinien) et externes (opacité de la cornée ou "tache noire de la sclérotique") sont également observées aux premiers stades. Le sang devient de plus en plus acide en raison de l'accumulation de dioxyde de carbone et d'autres substances causées par la lyse des tissus, entraînant le développement d'une raideur cadavérique. Les premiers signes de décomposition, qui indique également une autolyse étendue, notamment une desquamation de la peau, une perte de cheveux et une perte d'ongles, peuvent apparaître dès 48 heures après le décès. L'hémolyse intravasculaire provoque une "marbrure" à l'intérieur, qui est la colonisation du système veineux par des bactéries intestinales qui hémolysent le sang (Vanessa, 2014).

### **I.1.5.2 La putréfaction :**

La putréfaction est un processus dynamique qui n'est ni homogène à l'échelle individuelle ni identique entre deux personnes décédées dans les mêmes circonstances. Même si les principales étapes de décomposition sont les mêmes, il peut y avoir des différences significatives dans la vitesse de décomposition ou le séquençage (Vanessa, 2014).

En général, les séquences observées pour un corps laissé à l'air libre sont utilisées pour classer la décomposition. Ces étapes de décomposition peuvent être variées voire absentes selon les milieux de conservation (corps enterré, corps immergé) (Vanessa, 2014).

## **I.2. Thanatomiocrobie et translocation bactérienne**

La translocation bactérienne est définie comme le passage de micro-organismes du tractus gastro-intestinal vers des sites extra-intestinaux, tels que le sang et les tissus. Ce phénomène survient chez les individus sains, est accru dans certaines maladies, et est encore plus intense après la mort (Vadim et al., 2017), ce mécanisme fait partie

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

de la putréfaction (Guérard et Chloé, 2019). Les bactéries intestinales sont des agents majeurs des changements post-mortem, mais le moment de la translocation bactérienne après la mort n'est pas encore entièrement compris. En raison de ces bactéries, nous pouvons savoir les mécanismes impliqués dans cette translocation et les changements post-mortem affectant le thanatobiome qui joue un rôle très important dans l'estimation du moment de la mort d'un corps en décomposition en fonction des changements qui ont lieu dans les communautés bactériennes (Vadim et *al.*, 2017). le thanatobiome est défini comme l'étude des bactéries qui colonisent l'intérieur des organes après la mort (Javan et *al.*, 2016). Cela est dû au fait que lorsque l'hôte meurt, différentes étapes séquentielles se produisent qui modifient les conditions de l'environnement, faisant que certaines bactéries se reproduisent sans inhibition et la quiescence et la mort d'autres. Cela se produit à la fois dans les organes internes qui sont déjà colonisés par des bactéries lorsque l'hôte est vivant (comme l'intestin), et des sites internes stériles (tels que le foie et les reins...etc), de sorte que lorsque l'hôte meurt, les deux sont colonisés par des bactéries suivant un ordre spécifique (Zhou et Bian, 2018).

### **I.2.1. Bactéries commensales :**

Une bactérie est dite commensale lorsqu'elle vit au contact de l'organisme sans provoquer de troubles et sans causer de préjudice à l'hôte. Différents territoires du corps ont des flores particulières (ex: Intestinale, respiratoire, génital...etc) Ces flores sont généralement non pathogènes et utiles (Catherine, 2016). Le tube digestif des lapins contient environ 100 billions ( $10^{14}$ ) de bactéries commensales bénéfiques, plus de dix bactéries pour chaque cellule de notre organisme. Cette flore intestinale joue un rôle vital dans le bon fonctionnement du système immunitaire, qui a « appris » à coexister de façon pacifique avec les populations bactériennes commensales (Hooper et Macpherson, 2010).

Les bactéries commensales et leurs hôtes ont co-évolué et se sont adaptés l'un à l'autre pour aboutir à une relation mutualiste. Les bactéries intestinales profitent d'un habitat, de nutriments qu'elles extraient de l'alimentation et assurent, en retour, de nombreuses fonctions telles que la digestion des carbohydrates, la colonisation de

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

niches, empêchant ainsi, par compétition, l'implantation de pathogènes (Gaboriau et Cerf-Bensussan, 2016).

### **I.2.1.1. Flore bactérienne intestinal ante-mortem du lapin adulte :**

La flore intestinale, aussi appelée microbiote intestinal, représente un ensemble de micro-organismes présents au niveau des intestins. Ces micro-organismes sont dits commensaux (Nicard, 2017). La flore bactérienne varie le long du tube digestif et la diversité bactérienne est maximale dans le gros intestin. Mais le microbiote intestinal reste relativement mal connu, car il possède une grande biodiversité et de nombreux microorganismes demeurent non cultivables chez le lapin (Abecia et *al.*, 2005, Cauquil et *al.*, 2007), ainsi que des archées (Bennegadi et *al.*, 2003, Michelland et *al.*, 2008). La colonisation du caecum débute chez le lapereau âgé de 2 ou 3 j, le nombre de bactéries varie considérablement selon les individus (Gouet et Fonty, 1973). La biocénose caecale du lapin ne contient ni protozoaires, ni champignons anaérobies (Bennegadi et *al.*, 2003). La présence de levures dans le contenu caecal a été peu étudiée, mais au moins une espèce de levure (*Saccharomycopsis guttulatus*) semblerait «commensale» du caecum de lapin (Peeters et Maertens 1988), et se multiplierait plus activement lors de problèmes intestinaux (Licois données non publiées). Le microbiote anaérobie facultatif apparaît simple, et dominé par les Streptocoques de groupe D. Trouvées fréquemment dans la flore bactérienne du tractus gastro-intestinal du lapin Les *Enterococcus (E.faecalis)*. Les entérobactéries apparaissent avec l'ingestion d'aliment solide Les bactéries anaérobies strictes et non sporulantes, particulièrement les bacilles gram négatifs (*Bacteroides*) sont prévalents dans tous les segments digestifs. Les bactéries sporulées appartiennent principalement aux genres *Clostridium*, *Endosporus* et *Acuformis*. Les streptocoques (*S. faecium*, *S. faecalis*), puis diminuent (Gouet et Fonty, 1979). *Escherichia Coli* est généralement absent chez le lapereau de 2 ou 3 j d'âge ; il apparaît à 7 jours chez les lapins (Padilha et *al.*, 1995). Quelques bactéries fibrolytiques ont été identifiées au niveau caecal : *Eubacterium cellulosolvans* et *Bacteroides sp.* Pour la cellulolyse, *Bacteroides ruminicola* et *Butyrivibrio fibrisolvens* pour l'hydrolyse de pectines et de xylanes (Boulahrouf et *al.*, 1991).

### **I.2.1.2 Flore bactérienne intestinal post-mortem du lapin adulte :**

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

Après le décès du lapin, les conditions hypoxiques du corps entraînent une autolyse des tissus et la libération de nutriments, qui constituent un milieu riche pour la croissance et le développement de certaines bactéries anaérobies intestinales commensales (Adserias-Garriga et *al.*, 2017 ; Oliveira & Amorim, 2018), les plus souvent *Escherichia coli*, les streptocoques et les entérocoques, se multiplient et migrent dans le sang et les tissus et augmentent avec le temps (Finley et *al.*, 2015). Ces bactéries attaquent le système digestif, puis tous les organes tels que le foie, les reins...etc et produisant des gaz (azote, dioxyde de carbone, ammoniac, etc) qui vont faire gonfler l'abdomen et libérer une forte odeur dans le processus de putréfaction (Emilie, 2021).

### **a. *Escherichia coli* :**

Autrement appelé colibacille et abrégée en E.coli (Flandrois, 2000), est une bactérie qu'on retrouve naturellement de façon commensale dans la flore intestinale (Kaper, Nataro et *al.*, 2004), elle en constitue même 80 %. Qui se présente sous la forme de bâtonnets allongés (bacille) à Gram négatif aérobie-anaérobie facultatif (Philippe, Stéphane, 2019). Ces bactéries nécessaires au bon fonctionnement du microbiote intestinal parce que elles empêchent le développement d'autres bactéries et interviennent dans la production de vitamine K (Kaper, Nataro et *al.*, 2004).

### **b. Streptocoques :**

Les streptocoques sont groupe des bactéries rassemblant plusieurs genres des cocci à Gram positif aérobie-anaérobie facultatif, le plus souvent en chaînettes (Jean-Pierre, 2009). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 %, font partie de la flore commensale (Olivieri, 1982). Sont classés en fonction des propriétés antigéniques d'un constituant de leur paroi, le polysaccharide C, en différents groupes dénommés A, B, C, D, F et G (Loubinoux et *al.*, 2004). Les streptocoques du groupe D (*Streptococcus bovis*) sont des hôtes normaux de l'intestin (Jean-Pierre, 2009).

### **c. Entérocoques :**

Les entérocoques sont des bactéries à gram positif qui se présentent sous forme de coques en courtes chaîne (CEAEQ, 2000; Facklam et *al.*, 1999; Hancock et Gilmore, 2000), autrefois considérés comme des streptocoques (plusieurs espèces appartenant antérieurement au genre *Streptococcus* ont été transférées vers le

genre *Enterococcus*), sont désormais classés comme un genre à part entière. Le genre *Enterococcus* comprend une vingtaine d'espèces qui se retrouvent dans différents habitats et chez différents hôtes, on les retrouve souvent dans le tractus gastro-intestinal (Clausen et al., 1977; Gleeson et Gray, 1997), et constituent 10 % de la flore commensale de l'intestin. Ils peuvent notamment hydrolyser l'esculine en présence de 40 % de bile (CEAEQ, 2000; Facklam et al., 1999; Hancock et Gilmore, 2000).

### **I.2.2. La colonisation des tissus et des organes après le décès :**

Lorsque la mort survient, la seule barrière protégeant les organes et les fluides physiologiques contre la colonisation bactérienne cesse de fonctionner, une augmentation il se produit une prolifération de certaines bactéries dans le tractus gastro-intestinal (Metcalf et al., 2013 ; Zhou & Bian, 2018). Par la suite, les populations bactériennes migrent et prolifèrent dans les restes parties du corps (Can et al., 2014). Le premier est le plus souvent identifié à l'entrée de bactéries vivant dans les parois intestinales dans les systèmes circulatoire et lymphatique, puis dans d'autres organes du corps en raison de la perte d'activité du système immunitaire (Oliveira & Amorim, 2018 ; Ventura Spagnolo et al., 2019). Après, ces bactéries s'attaquent aux tissus, où ils trouvent quantité de fluides riches en nutriments (Delphine, 2009). Les sites extra-intestinaux, y compris le sang cardiaque, les reins, le foie, les ganglions lymphatiques mésentériques et la rate, est envahis par ces bactéries intestinales dans les 5 minutes post-mortem (Gates et al., 2021), le passage des bactéries ou de produits bactériens d'origine digestive, à travers la muqueuse intestinale, entre les Cellules épithéliales intestinales (CEI), vers les ganglions lymphatiques mésentériques puis vers les organes à distance via la circulation sanguine (Berg et al., 1979).

### **I.2.3. Culture bactériologique post-mortem :**

La culture bactérienne après la mort est un examen relevant de la microbiologie, sert à la mise en évidence de bactéries ou d'une transmigration bactérienne post-mortem

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

de la flore intestinale mixte ou bien dans le cadre d'une infection (Stefan, 2014). Le diagnostic post-mortem est effectué sur des prélèvements du sang (hémoculture) (Suzanne, 2006) pour objectif de démontrer dans les meilleurs délais la présence de micro-organisme dans le sang (PHILIPPON *et al.*, 1983), ou le liquide céphalorachidien (LCR) est effectué entre deux vertèbres, dans le bas du dos, avec une fine aiguille pour déceler les traces d'une infection ou d'une maladie (Ce liquide est constitué à 80 % de flux sanguin et à 20 % de liquide cérébral) (Annabelle, 2018), peut être aussi réalisé un prélèvement d'organe entier du cadavre, un fragment d'organe ou un écouvillonnage. Les organes ou bouts d'organes sont généralement placés dans un pot stérile sans milieu particulier de conservation. Les écouvillons sont quant à eux remis dans leur tube stérile, dans lequel la présence d'un milieu de conservation est conseillée lors de recherche de bactéries fragiles (SYKES *et al.*, 2014). L'utilisation de cultures bactériologiques post-mortem s'est avérée utile dans les autopsies médico-légales et les enquêtes médico-légales pour détecter l'organisme responsable des décès dus à une infection et aussi comme outil de diagnostic et épidémiologique dans les situations d'épidémie (Mazuchowski et Meier, 2005).

### **I.3. Dénombrement et variation de l'abondance différentielle bactérienne entre les organes au cours de la décomposition :**

#### **I.3.1. Effet du temps sur la charge du microbiome post-mortem des organes internes :**

La connaissance des changements dans la composition des communautés microbiennes (microbiote) dans les tissus après la mort, au fil du temps, est essentielle pour interpréter correctement les résultats des tests microbiologiques à partir des examens post-mortem. Des informations limitées sont disponibles sur les modifications post-mortem du microbiote et des gènes microbiens associés des organes internes chez toutes les espèces. (Laurens *et al.*, 2019). La propagation des bactéries intestinales dans le corps après la mort, conduit à une prolifération bactérienne dans les différents sites corporels, qui serait détectée plus fréquemment avec une augmentation de l'abondance différentielle. Récemment, de nombreuses recherches sur le thanatomicrobiome ont été publiées, concluant toutes que la

## Chapitre I : Bibliographie sur la microbiologie médico-légale

---

diversité des bactéries dans le microbiote humain varie selon les organes et il est principalement affectée par le temps et la température. La migration des microbes intestinaux est le facteur principal qui décide dans quel ordre les organes internes sont colonisés (T, Sari et *al.*, 2013). Donc la quantité bactérienne varie selon l'état de la décomposition du cadavre.

# **CHAPITRE II**

# **MATERIEL ET METHODES**

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

### I. Objectif :

Notre travail a consisté à étudier l'évolution de l'espèce (*Escherichia coli*) et des deux genres (Streptocoque, Entérocoque) dans 3 organes de trois lapins (caecum, foie, rein). Afin de suivre la translocation bactérienne et la détermination de la première espèce qui migre du caecum vers les organes extra intestinaux, et dénombrer la charge au cours de la décomposition .

### ✓ Présentation du site d'étude et lieu du stage :

La première partie de notre expérience (échantillonnage) a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de l'université 20 Août 1955 Skikda. La deuxième partie (identification bactérienne) a été effectuée au niveau du laboratoire de bactériologie alimentaire et contrôle de qualité de la wilaya de Skikda durant une période de 15 jours.



**fig.1** : Laboratoire de bactériologie alimentaire et contrôle de qualité de la wilaya de Skikda. (Photo originale)

### ✓ Condition de travail :

Notre expérience a été effectuée à l'intérieur du laboratoire, donc toutes les règles d'asepsies ont été respectées pour réduire la contamination à partir du milieu extérieur et maintenir des conditions d'hygiène.

### II. Matériel utilisés :

#### a. Matériel d'échantillonnage :

Pour la réalisation de ce travail nous avons eu besoin de 3 lapins mâles adultes appartenant à l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (L,1758), de source synthétique, 2 becs

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

Bunsen, alcool 70°, couteau, une spatule, un scalpel, des pinces métalliques, coton, ciseau, 30 écouvillons, eau physiologique pour conserver les échantillons prélevés dans les écouvillons, 27 tubes secs pour conserver les biopsies, une glacière pour le transport des échantillons, plaque de polystyrène, des épingles, blouses, sur blouses, des gants chirurgicaux, des bavettes et un appareil photos pour photographier les étapes du travail.

### **b. Matériel d'identification :**

Pour l'identification des bactéries, nous avons eu besoin de 243 boîtes de pétri, des lames et lamelles, lance de platine, étuves pour l'incubation, réactif de coloration de gram, microscope optique, des tubes à essai, micropipettes, mortier.

#### • Milieux de culture sélectifs :

Milieu gélose (Columbia) au sang pour l'identification de Streptocoque.

Milieu VRBG pour l'identification d'*Escherichia coli*.

Milieu GN pour l'identification des Entérocoques.

Milieu CHROMagar pour la confirmation complémentaire .

- Test de type respiratoire : Milieu viande foie.
- Test enzymatique : test de catalase, test d'oxydase, test de mannitol (mobilité).
- Gélose BEA : pour confirmer la présence des Entérocoques.

## **III. Méthodes :**

### **A/ Protocole d'échantillonnage:**

La méthode de travail utilisée se divise en 3 étapes : dissection, prélèvement par écouvillonnage et biopsie à 3 intervalles de temps (10 minutes, 1 heure, et 5 heures).

Avant de procéder aux prélèvements nous sommes équipées du matériel de protection individuelle (blouse, sur blouse, gants et bavettes), les 3 lapins ont été abattus le 28 / 05 /2022 à (11h13 ; 11h54 ; 12h35) respectivement. Immédiatement après le décès nous avons pesé les lapins (Tab :2), puis une dissection a été effectuée (fig.2), près d'une flamme de bec Bunsen. Après 10 minutes nous avons effectué le premier prélèvement par écouvillonnage au niveau du caecum, puis du rein et enfin du

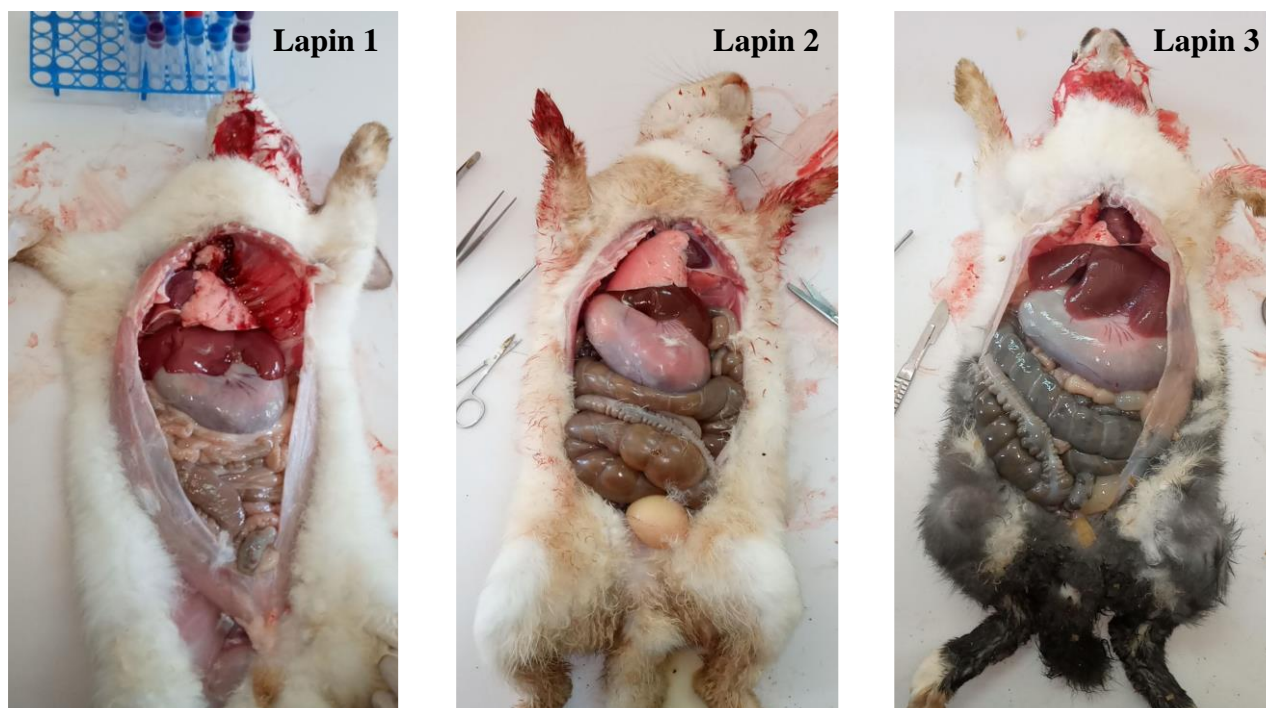
## Chapitre II : Matériel et méthodes

foie (fig.3). Les écouvillons ont été conservés dans l'eau physiologique afin d'ensemencer dans des milieux de culture sélectifs.

Des fragments du caecum, rein et foie ont été conservés dans des tubes secs stériles pour les broyer dans le but de dénombrer la charge bactérienne. Le même processus a été répété après 1 heure et 5 heures du décès pour détecter la succession des communautés bactériennes et la translocation vers les organes extra-caeaux. Une fois effectuée les échantillons ont été étiquetés en mentionnant la date, l'heure et le type d'organe, puis placés dans une glacière à 4C° pour inhiber la prolifération bactérienne, et les transporter vers le laboratoire de bactériologie alimentaire et contrôle de qualité de Skikda pour une analyse plus approfondie.

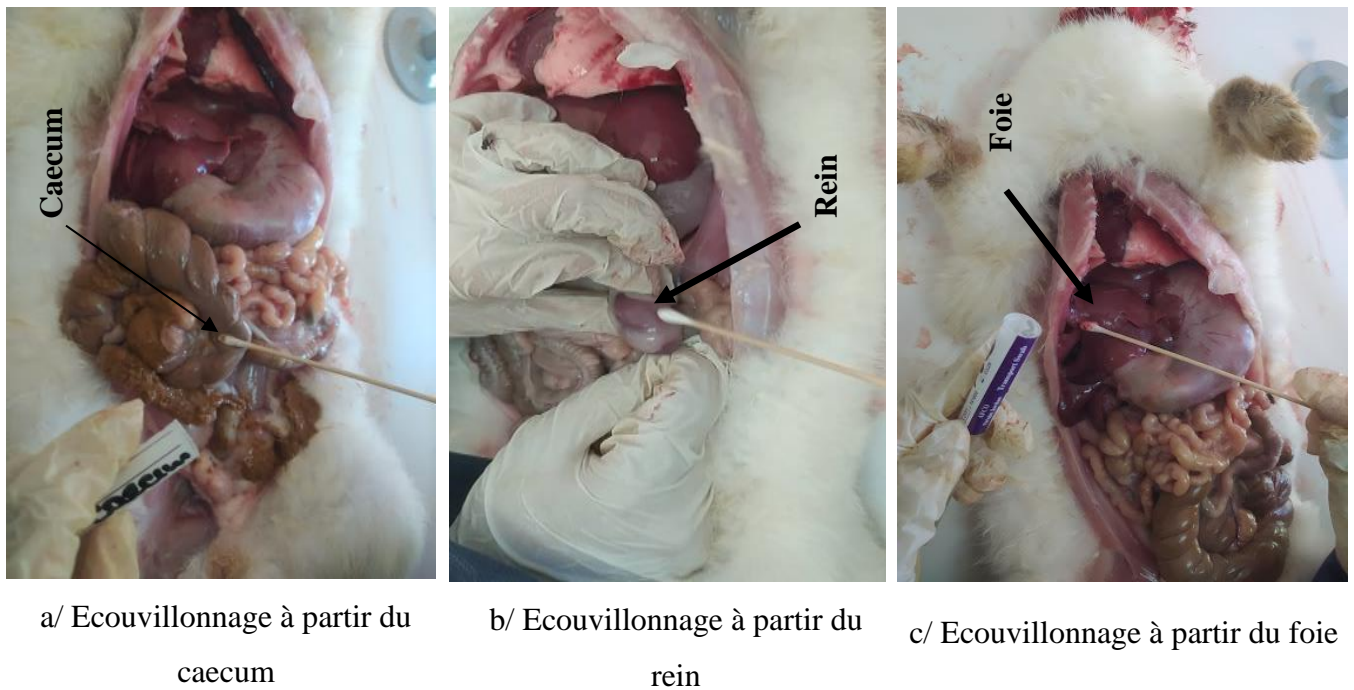
**Tab 2 : Poids des lapins**

lapin	poids (Kg)
Lapin 1	1,88 Kg
Lapin 2	1,90 Kg
Lapin 3	1,62 Kg



**fig.2 : la dissection des trois lapins. (Photo originale)**

## Chapitre II : Matériel et méthodes



**fig.3** : Prélèvement par écouvillonnage à partir des trois organes. (Photo originale)



**fig.4** : Prélèvement de biopsie. (Photo originale)

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

### B/ Protocol d'identification :

La procédure d'identification a été conduite selon les 6 étapes suivantes :

#### 1) Isolement :

Les échantillons prélevés au niveau des différents organes à l'aide des écouvillons au différents intervalle de temps ont été ensemencés dans des boites de pétri contenant des milieux de culture sélectifs (VRBG pour la recherche de *Escherichia coli*, GN pour la recherche des *Entérocoque*, gélose au sang pour la recherche des *Streptocoque* du groupe "D" (fig.5), puis incubé dans l'étuve à (37 – 45 c° pendant 24 h pour la croissance d'*E coli*, à 37 c° pendant 48 h pour la croissance des *Entérocoques* et à 37 – 45 c° pendant 1 à 3 jours pour la croissance des *Streptocoques* du group "D").



a/ Ensemencement sur VRBG

b/ Ensemencement sur gélose  
au sang

c/ Ensemencement sur GN

**fig.5** : Ensemencement dans les milieux sélectifs. (Photo originale)

#### 2) Examen macroscopique des cultures :

Afin d'étudier les souches bactériennes présent dans les organes internes, les diagnostics reposent sur la description macroscopique des colonies bien isolé qui nous a permet de connaître la bactérie ou le genre bactérien selon : la forme, le relief, le contour, la taille, la couleur, l'opacité, l'odeur ...etc.

#### 3) Examen microscopique des colonies :

- **Coloration de gram :**

## Chapitre II : Matériel et méthodes

Les colorations ont été effectuées selon la méthode classique de Gram. Des frottis de colonies de (*E coli*, *Streptocoque*, *Entérocoque*) obtenue à chaque intervalle ont été préparés (des colonies prélevé à partir des cultures ont été étalée sur la lame avec une goutte de l'eau physiologique). Après fixation du frottis par séchage, le protocole de coloration de gram est continué. Les échantillons sont observés sous microscope optique.

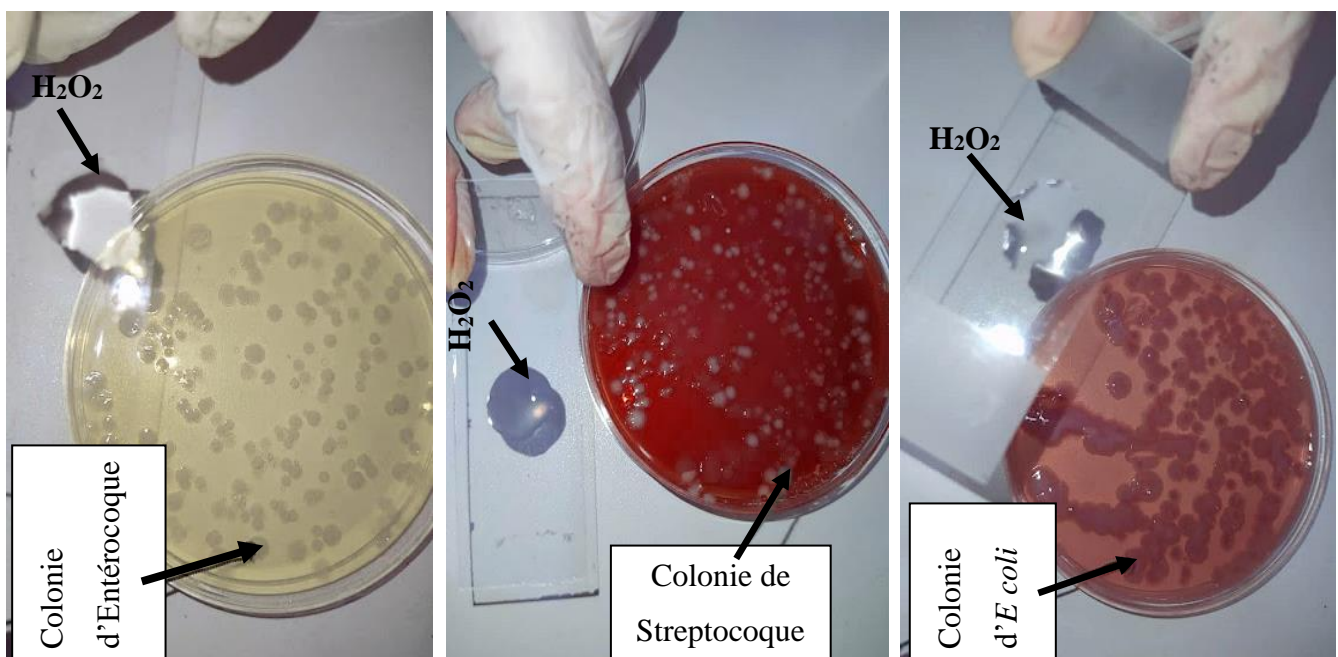
### 4) Test biochimique :

L'identification est aussi basée sur l'étude des caractères enzymatiques suivants :

#### a / Test de catalase :

##### Technique :

- déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (peroxyde d'oxygène  $H_2O_2$ ) à l'aide d'une pipette pasteur
- prélever une colonie à l'aide d'une pipette pasteur.
- dissocier la colonie dans la goutte de  $H_2O_2$ , et vérifier la réaction.



**fig.6** : Test de catalase. (Photo originale)

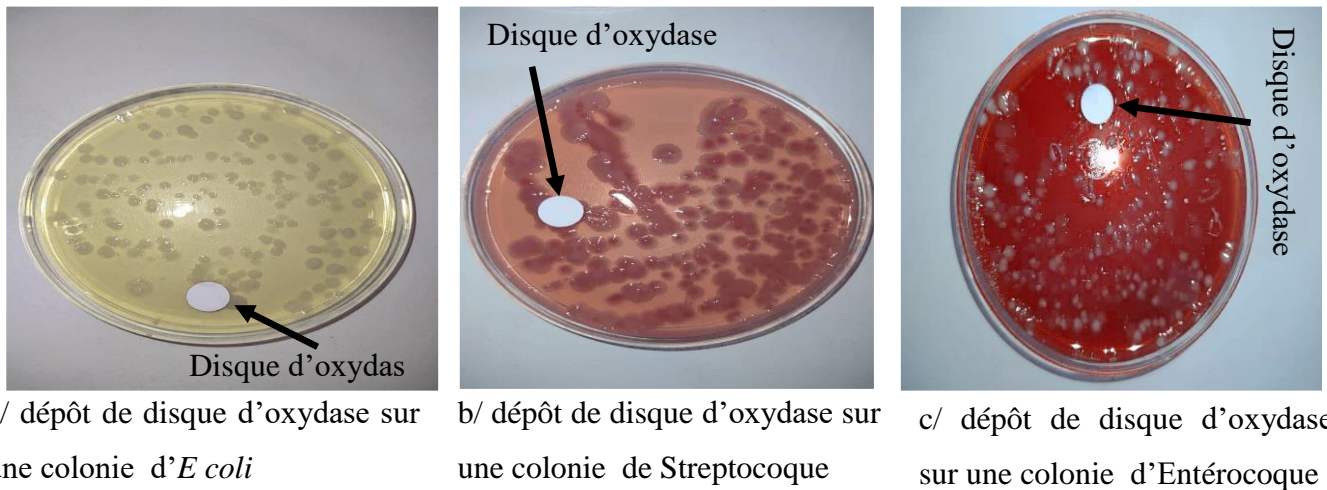
## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

### b/ Test d'oxydase :

#### Technique :

- déposer le disque d'oxydase doucement sur la colonie pendant quelques secondes.
- prélever le disque et vérifier le résultat.



**fig.7** : Test d'oxydase (Photo originale).

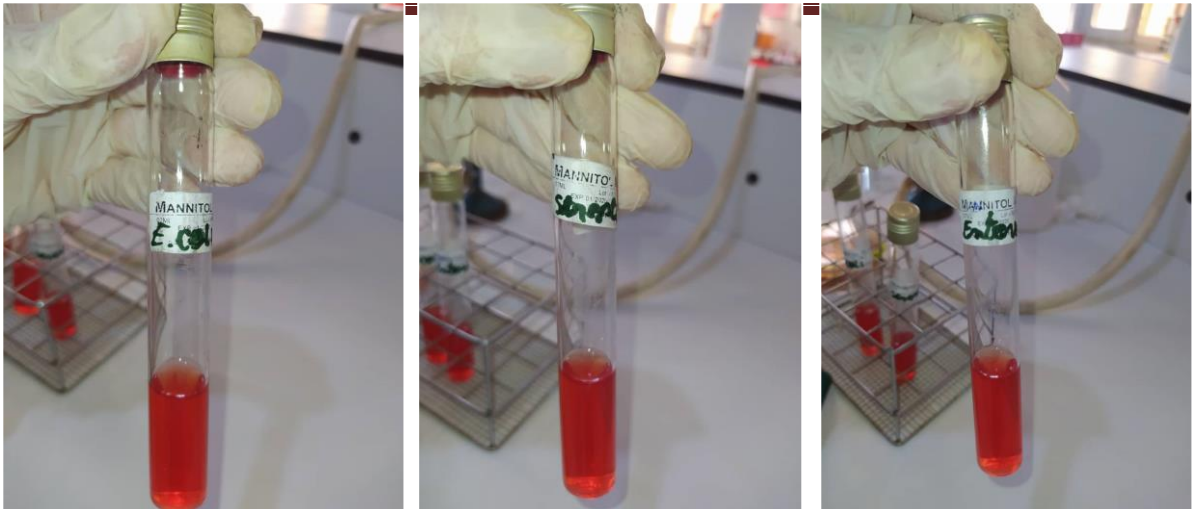
### c/ Test de mannitol- mobilité :

Consiste à étudier simultanément la dégradation du mannitol qui entraîne le virage de couleur du milieu vers le jaune, et la mobilité de chaque bactérie :

#### Technique :

- Ensemencer la culture dans des tubes de mannitol par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur fermée chargée de la suspension bactérienne .
- Incuber à 37 C° pendant 24h.

## Chapitre II : Matériel et méthodes

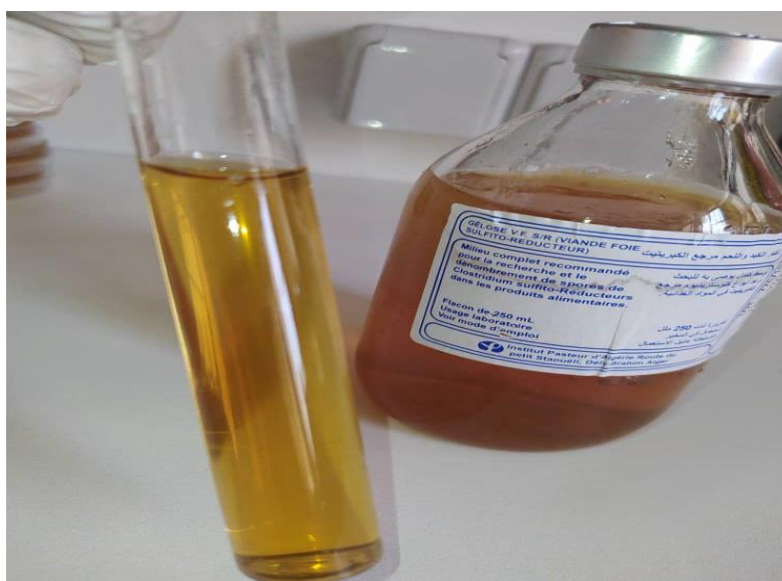


**fig.8** : Ensemencement de milieu mannitol par les trois souches *E coli*, *Entérocoque*, *Streptocoque*. (Photo originale).

### d/ Type respiratoire :

Pour déterminer la capacité de bactéries de se développer en aérobiose ou en anaérobiose ou les deux à la fois.

- Préparer la suspension bactérienne à étudier (*E coli*, *Streptocoque*, *Entérocoque*).
- Préparer les tubes à essai contenant le milieu viande foie
- Déposer à la surface du tube maintenu à 45C° la suspension bactérienne puis mélanger.
- Refroidir les tubes sous l'eau de robinet.
- Incuber à 37 C° pendant 24h.



**fig.9** : Ensemencement sur milieu viande foie (Photo originale).

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

### 5) CHROMagar ( test confirmatif pour l'identification) :

Afin d'obtenir des colonies isolées présentant des couleurs et des morphologies types pour l'identification directe de *E coli*, streptocoques et Entérocoques.

Le virage de couleur manifeste comme suit :

*E coli* : couleur Rose foncé à rougeâtre.

*Enterococcus* : couleur Bleu turquoise.

*Streptococcus* : couleur bleu.

#### Technique :

- A l'aide d'une anse, prélever une colonie d'*E coli* (à partir du milieu VRBG), une colonie de *streptocoque* (à partir du milieu gélose au sang), et une colonie d'*Entérocoque* (à partir du milieu GN).
- Ensemencer chaque colonie sur le CHROMagar avec des stries du bord de la boîte vers le centre.
- Incuber à (35 – 37 C°) pendant (20- 24h).

### 6) Dénombrement :

Pour évaluer la charge bactérienne contenue dans chaque organe au moment du décès et au cours de la décomposition, nous avons réalisé un dénombrement sur milieu solide (en surface) suivant cette technique :

#### a) broyage mécanique :

- peser 1g de chaque organe prélevé (rein, foie, caecum) dans les trois différents intervalles (10 min, 1 h, 5h).
- broyer à l'aide d'un mortier

#### b) Préparation de la suspension mère :

- dans un bécher, introduire 9ml de l'eau physiologique à l'aide d'une pipette puis ajouter le broyat et bien agiter environ 10s pour homogénéiser la suspension.

#### c) Réalisation de la série de dilution :

Cette série nécessite une gamme de dilution jusqu'à  $10^{-6}$ , chaque dilution nécessite un tube contenant 9 ml de diluant (eau physiologique) avec 1 ml prélevé de la suspension mère dont la dilution est  $10^{-1}$ . et à partir de la dilution précédente en prélève 1ml de la solution dans 9ml de l'eau physiologique pour l'obtention de la dilution  $10^{-2}$  le même

## Chapitre II : Matériel et méthodes

---

principe est suivi jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-6}$ . Cette dernière est utilisée pour l'ensemencement sur le milieu GN afin de réaliser la numération.

### d) Numération :

Afin de dénombrer les bactéries présentes dans l'inoculum, nous avons réalisé la technique d'ensemencement en surface selon les étapes :

- Couler la gélose nutritive dans 27 boîtes de pétri.
- Homogénéiser la dilution  $10^{-6}$  et prélever un volume de 0,1 ml à l'aide d'une pipette pasteur puis le déposer au centre de la surface de la gélose.
- Etaler à l'aide d'une pipette râteau.
- Incuber à l'étuve à  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 24h.

Le comptage des UFC a été réalisé selon la loi :  $N = \frac{\sum c}{v(n_1 + 0.1n_2)d}$  notant que:

$\sum c$  : la somme de toutes les colonies comptées sur toutes les boîtes

$v$  : le volume d'inoculum étalé dans chaque boîte

$n_1$  : nombre de boîtes retenues à la première dilution

$n_2$  : nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution

$d$  : facteur de dilution



**fig.10** : Réalisation de série de dilution. (Photo originale)

# **CHAPITRE III**

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

### I. Résultats :

Dans ce chapitre nous allons examiner aux résultats obtenus au cours de notre étude :

#### I.1. Examen macroscopique :

Après ensemencement des écouvillons prélevés des 3 lapins dans les 3 milieux de culture (GN, VRBG, Gélose au sang), et incubation à 37°C, nous avons observé les résultats suivants :

##### ✚ Lapin 1 :

###### ➤ Après 10 min du décès :

- **Au niveau du Caecum :**

**Sur milieu VRBG :** Aspect de colonie moyenne de (3 à 5 mm) arrondie, de couleur rose avec halo rouge, indique la présence d'E coli au niveau du caecum (Fig.11a)

**Sur milieu Columbia au sang :** croissance de colonies grises arrondie de petite taille comprise entre 1 et 2 mm, présentant la présence des Streptocoque du group D ( $\delta$ . Hémolytique). (Fig.11b)

**Sur milieu GN :** croissance de colonies arrondies de petite taille et d'autre de taille moyenne avec couleur blanche, indiquant la présence des Entérocoques (Fig.11c). Le test d'esculine a représenté un virage de couleur du jaune vers le noir tout au long du tube de gélose BEA suite à l'hydrolyse de l'esculine en glucose et esculétine, cela confirme la croissance des entérocoques (Fig.12).

## Chapitre III : Résultats et discussion



a/ Aspect de colonie de *E.coli* sur milieu VRBG. b/ Aspect des colonies des streptocoques sur milieu columbia. c/ Aspect de colonie des entérocoques sur milieu GN.

**fig.11** : Résultats macroscopique des souches présentes dans le caecum après 10 min du décès après incubation. (Photo originale)



**fig.12** : Noircissement de gélose BEA ensemencés à partir des entérocoques isolés des trois organes . (Photo originale)

- **Au niveau du Rein :**

**Sur milieu VRBG** : aucune croissance n'a été observé sur la boîte, ce signifie que l'organe est stérile et qu'il n'ya aucun passage de *E coli* après 10 min du décès (fig.13a).

**Sur milieu Columbia au sang** : croissance minimal et aspect de petite colonie grise ( $\delta$ . Hémolytique), indiquant la présence de streptocoque group D, et qu'il ya une migration de ce genre du caecum vers le rein après 10 min du décès. Nous

## Chapitre III : Résultats et discussion

avons constaté que les Streptocoques sont les premiers qui migrent du caecum (fig.13b).

**Sur milieu GN :** aucune colonie n'a été poussée dans la boîte, cela signifie que la translocation n'a pas eu lieu (fig.13c).



a/ aucune croissance de *E coli* sur le milieu VRBG.

b/ croissance minimal des Streptocoques  $\delta$ . hémolytique sur milieu gélose au sang.

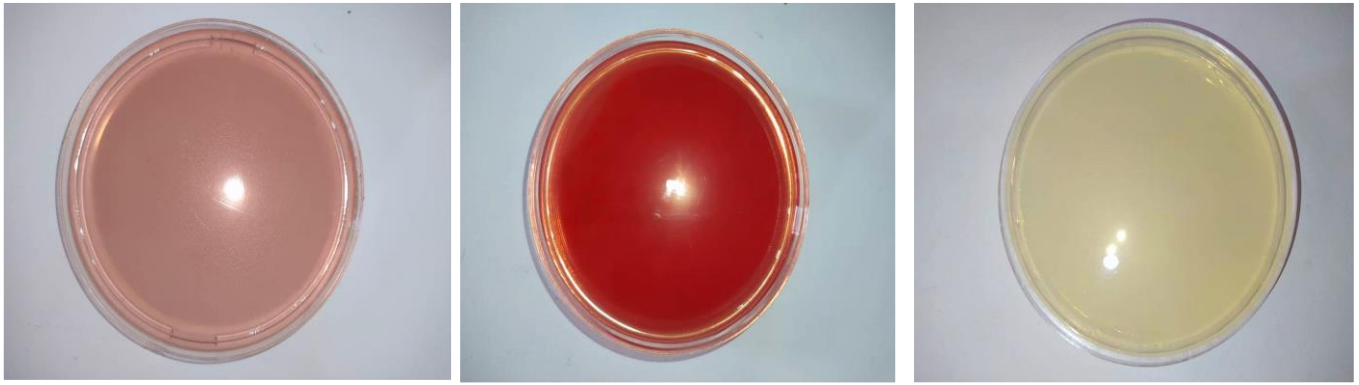
c/ aucune croissance des Entérocoques sur milieu GN.

**fig.13 :** Résultats macroscopique des souches présentes dans le rein après 10 min du décès après l'incubation. (Photo originale)

- **Au niveau du Foie :**

Aucun aspect de culture sur les boîtes ensemencées contenant les milieux (VRBG, Columbia, GN). Cela signifie qu'il n'y a aucun passage bactérien vers le foie après 10 min du décès (fig.14).

## Chapitre III : Résultats et discussion



a/Aucune colonie de *E.coli* sur milieu VRBG

b/ aucune colonie d'entérocoques sur milieu gélose au sang

c / Aucune colonie sur milieu GN

fig.14 : Aspects des boîtesensemencés à partir du foie après 10 min du décès .(photo originale )

### ➤ Après 1 heure du décès :

#### • Au niveau Caecum :

Les mêmes résultats après 10 min du décès ont été observés après 1h au niveau du caecum (fig.15).



a/ aspect de *Ecoli* sur VRBG

b/ aspect des streptocoques sur gélose au sang

c/ aspect des entérocoques sur GN

fig.15 : Aspect de boîtesensemencés à partir du caecum après 1h du décès. (Photo originale)

## Chapitre III : Résultats et discussion

- **Au niveau du Rein :**

**Sur milieu VRBG :** croissance moyenne des colonies rose avec halo rouge arrondi et de taille moyenne, indique la translocation d'*E coli* du caecum vers le rein après 1h du décès ainsi que c'est la deuxième espèce qui migre après le décès (fig.16a).

**Sur milieu Columbia :** croissance forte des colonies grise ( $\delta$ . Hémolytique) indique la présence et translocation des Streptocoques (fig.16b).

**Sur milieu GN :** croissance moyenne des colonies blanche au niveau de la boîte de pétri, et après confirmation par le test d'esculine sur gélose BEA, le virage de couleur du tube vers le noir indique la présence des Entérocoques et la translocation vers le rein après 1h du décès (fig.16c).



a/ Croissance moyenne de *E.coli* sur milieu VRBG

b/ Croissance forte des Streptocoques sur milieu gélose au sang

c/ croissance moyennes des Entérocoques sur GN

**fig.16 :** Aspect de boîtesensemencées à partir du rein après 1h du décès. (Photo originale)

- **Au niveau du Foie :**

**Sur milieu VRBG :** croissance moyenne des colonies de *E coli*, cela signifie une faible colonisation du foie après 1h du décès (fig.17a).

**Sur milieu Columbia :** croissance moyenne des colonies grise ( $\delta$ . Hémolytique) sur la boîte de pétri indiquant une présence avec faible colonisation par les *Streptocoques* (fig.17b).

## Chapitre III : Résultats et discussion

**Sur milieu GN :** croissance moyenne des colonies blanches, et le test de l'esculine a confirmé la présence et la translocation des *Entérocoques*, avec faible colonisation après 1h du décès (fig.17c).



**fig.17 :** Aspect macroscopique des colonies de (*E coli*, Entérocoque, Streptocoque) présent dans le foie après 1h du décès. (Photo originale)

### ➤ Après 5h du décès :

Nous avons observé une croissance maximale dans tous les milieux de culture ensemencés à partir du caecum vers les reins et le foie. La colonisation dans ces deux derniers est forte par rapport à la première heure qui suit la mort (fig.18, 19, 20).

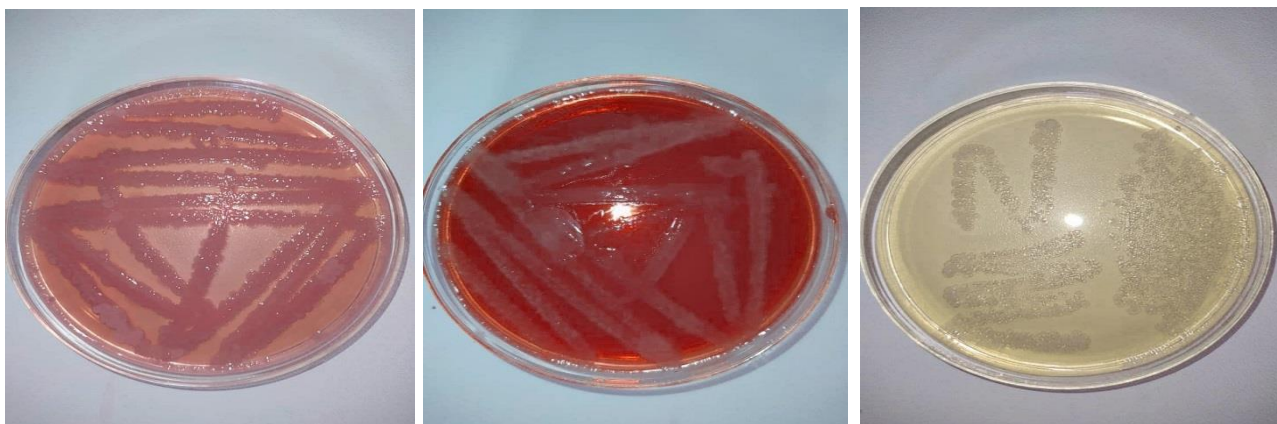


**fig.18 :** Aspect macroscopique des colonies de (*E coli*, Entérocoque, Streptocoque) présent dans le caecum après 5h du décès. (Photo originale)

## Chapitre III : Résultats et discussion



**fig.20** : Aspect macroscopique des colonies de (*E coli*, *Entérocoque*, *Streptocoque*) présent dans le rein après 5h du décès. (Photo originale)



**fig.19** : Aspect macroscopique des colonies de (*E coli*, *Entérocoque*, *Streptocoque*) présent dans le foie après 5h du décès. (Photo originale)

### ✚ Lapin 2 et 3 :

Les mêmes résultats apparus après l'incubation pour le premier lapin sont observés avec le deuxième et le troisième lapin.

L'ensemble des résultats macroscopique sont mentionné dans le tableau (Tab 3) :

## Chapitre III : Résultats et discussion

Tab 3 : Résultats macroscopiques des bactéries observé après incubation

Esp bactériennes	Forme	Relief	Contour	Taille	Surface	Opacité	Couleur	Consistance
<i>E.coli</i>	arrondies	bombés	Régulier	Colonies moyennes entre 3 et 5 mm	lisses	opaque	Rouge avec halo	Crémeuses
<i>streptocoque</i>	arrondies	convexe	Régulier	Petite colonies entre 1 et 2 mm	lisses	opaque	grise	crémeuses
<i>Entérocoque</i>	arrondies	plates	Régulier	Quelque colonie de petite taille et	lisses	translucides	Blanches	crémeuses

## Chapitre III : Résultats et discussion

Le tableau 4 résume les résultats de cultures observés après incubation notant que ces résultats sont les mêmes pour les 3 lapins.

**Tab 4 :** Résultats de la culture des souches bactériennes aux différents intervalles étudiés.

Organe	Temps	Espèce		
		<i>E.coli</i>	streptocoque	Entérocoque
Caecum	10 min	++	++	++
	1 h	+++	+++	+++
	5 h	+++	+++	+++
Rein	10 min	-	+	-
	1 h	+	+	+
	5 h	++	++	++
Foie	10 min	-	-	-
	1 h	+	+	+
	5 h	++	++	++

(Absence de colonie - ; présence de colonie +, ++ moyenne colonisation, +++ forte colonisation)

### ❖ Teste d'orientation :

Tous les résultats obtenus des tests sont les même pour les trois lapins

### I.2. Examen microscopique :

#### • Coloration de gram :

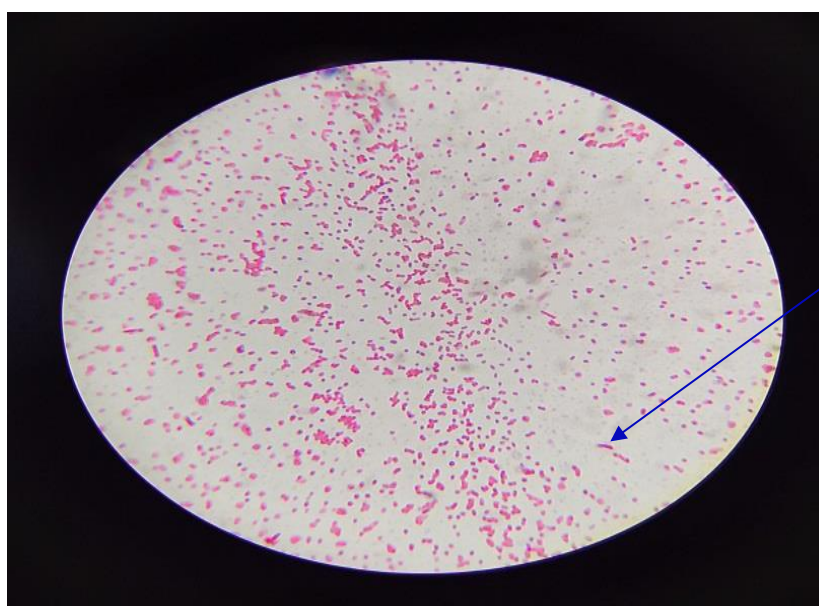
A partir de chaque colonie prélevé des 3 milieux de culture, nous avons réalisé la coloration de gram sur toutes les boitesensemencé, cet examen nous a permis d'observer les différents aspects microscopiques de (*E coli*, *Streptocoque* et *Entérocoque*) et de confirmer leur présence dans chaque organe après la mort .

A l'issue de cette coloration, nous avons observé sous le microscope (X100) les résultats suivants (Tab5) :

## Chapitre III : Résultats et discussion

Tab 5 : Résultats microscopique obtenue après coloration de gram

Souche	morphologie	Mode de regroupement	GRAM
<i>E.coli</i>	Colibacille	Bâtonnets isolés	(-) Couleur rose
<i>Streptocoque</i>	Cocci	Longue chaînette	(+) Couleur violet
<i>Entérocoque</i>	Cocci	Petite chaînette	(+) Couleur violet



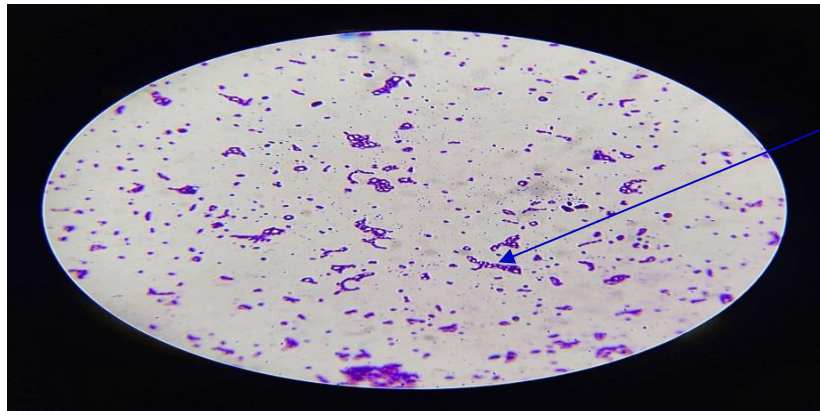
Bacille à  
Gram  
négatif.

fig.21 : Aspect microscopique (coloration de gram) de colonie d'*E coli* .G X100. (Photo originale)

- Des colibacilles à gram négatif ressemblent à la souche d'*E coli*.

## Chapitre III : Résultats et discussion

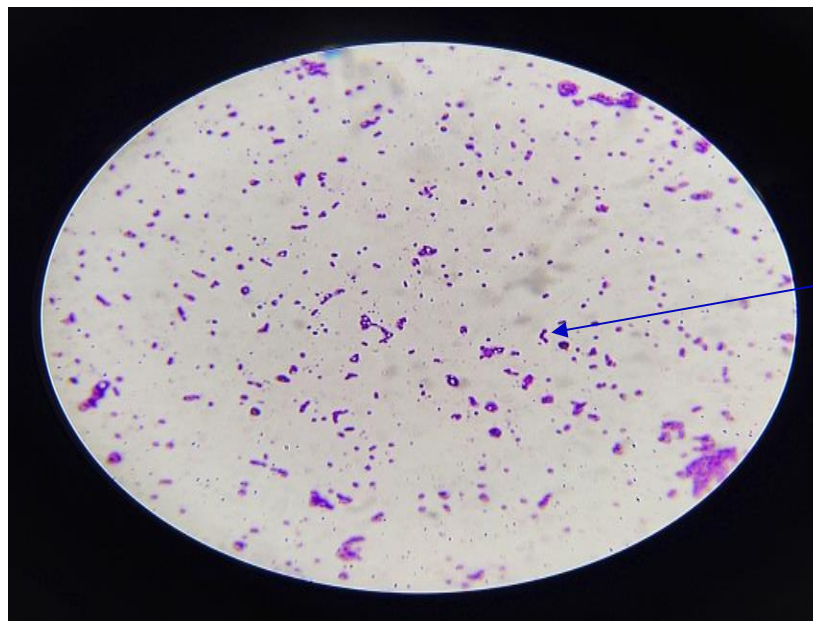
---



Cocci en  
chaînettes à  
gram  
positif.

**fig.22** : Aspect microscopique (coloration de gram) de colonie de streptocoque. G.X100. (Photo originale)

- Aspect des Cocci à gram positif regroupé en langue chainette ressemble au *Streptococcus sp.*



Cocci en  
courtes  
chaîne à  
gram  
positif.

**fig.23** : Aspect microscopique (coloration de gram) de colonie des Entérocoque. G X100. (Photo originale)

- Aspect de Cocci à gram positif regroupé en petite chainette ressemble à la souche des *Entérocoques*.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

### I.3. Tests enzymatique :

#### ➤ Test de catalase :

C'est une enzyme décomposant l'eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme par contre l'absence des bulles de gaz indique l'absence de l'enzyme.

Les résultats obtenus à partir des échantillons des trois lapins sont présentés comme suit :

**A partir du milieu VRBG :** après avoir effectué le test nous avons observé l'apparition des bulles gazeuses, indiquant que le catalase a métabolisé le peroxyde d'oxygène en  $H_2O$  et  $O_2$  ce qui montre que *E.coli* est catalase + (fig.24).

**A partir du milieu gélose au sang :** absence de bulles gazeuses donc absence d'enzyme responsable de la dégradation du peroxyde d'oxygène et cela indique que les *streptocoques* n'ont pas de catalase (catalase -) (fig.25).

**A partir du milieu GN :** absence de bulles gazeuses donc absence d'enzyme responsable de la dégradation du peroxyde d'oxygène et cela montre que les *Entérocoques* sont de catalase (-) (fig.26).



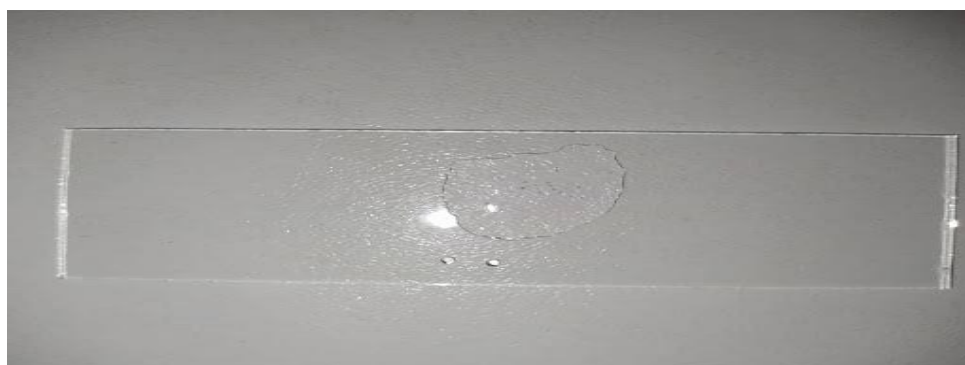
**fig.24 :** Résultats du test catalase sur *E coli* (catalase +). (Photo originale)

## Chapitre III : Résultats et discussion

---



**fig.25** : Résultats du test catalase sur entérocoque (catalase -).  
(Photo originale)



**fig.26** : Résultats du test catalase sur streptocoque (catalase -).  
(Photo originale)

### ➤ Test d'oxydase :

Le test d'oxydase est utilisé pour identifier les bactéries qui produisent le cytochrome c oxydase, qui est une enzyme de la chaîne de transport d'électrons bactériens. Lorsqu'elle est présente, 1% a cytochrome c oxydase oxyde le réactif (dichlorhydrate de tétraméthyl-p-phénylènediamine) en indophénols, un produit final de couleur bleu foncé. Lorsque l'enzyme n'est pas présente, le réactif reste réduit et incolore.

Les résultats obtenus sont présentés comme suit :

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

**A partir du milieu VRBG** : pas de virage de couleur du disque placé au-dessus de la colonie donc absence d'enzyme et cela indique qu'*E coli* est oxydase (-) Fig.27.

**A partir du milieu gélose au sang** : disque d'oxydase incolore, indique que les *Streptocoques* sont (oxydase -) (fig.28).

**A partir du milieu GN** : absence de couleur bleue foncé sur le disque donc cela indique que les *entérocoques* sont (oxydase -) (fig.29).



**fig.27** : Résultat du test d'oxydase sur une colonie de *E coli* (oxydase -). (Photo originale)



**fig.28** : Résultat du test d'oxydase sur Streptocoque (oxydase-). (Photo originale)

## Chapitre III : Résultats et discussion

---



**fig.29** : Résultat du test d'oxydase sur Entérocoque (oxydase -)  
(Photo originale).

### ➤ Test mannitol-mobilité :

Les résultats du test présentent la capacité des bactéries (*E.coli*, *Streptocoques*, *Entérocoques*) de fermenter le mannitol ainsi que leurs mobilités.

- **A partir du milieu VRBG** : virage du couleur de tube du rouge vers le jaune à cause de l'acidification du milieu donc *E coli* est capable de fermenter le mannitol et est noté Mannitol (+). La croissance dans tout le tube cela indique que la bactérie est mobile. (fig.30).
- **A partir du milieu gélose au sang** : pas de virage du couleur du tube donc absence d'acidification du milieu cela montre que les *streptocoques* n'ont pas la capacité de fermenter le mannitol et sont notés Mannitol (-).

Croissance juste dans la colonne de l'ensemencement cela montre que la bactérie est immobile (fig.30).

- **A partir du milieu GN** : absence du virage de couleur dans le tube alors pas d'acidification du milieu donc les *entérocoques* sont incapables de fermenter le mannitol et sont notés Mannitol (-).

Culture uniquement au niveau de la piqûre centrale cela montre que la bactérie est immobile (fig.30).

## Chapitre III : Résultats et discussion



fig.30 : Résultat du test mannitol mobilité (Photo originale).

### ➤ Type respiratoire :

L'étude du type respiratoire d'un micro-organisme permet de définir ses rapports avec l'oxygène.

Le type respiratoire peut donc être observé à travers le tube incubé qui aurait permis la croissance des bactéries à différents endroits du tube. Les résultats obtenus sont présentés dans la (fig.31).

- **A partir du milieu VRBG** : croissance avec production de gaz tout au long du tube cela indique que *E.coli* est aéro-anaérobie facultatif.
- **A partir du milieu gélose au sang** : croissance avec production de gaz tout au long du tube donc les *streptocoques* sont aéro-anaérobie facultatif.

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

- A partir du milieu GN :croissance avec production de gaz tout au long du tube cela montre que les *Entérocoques* sont aéro-anaérobie facultatif.



**fig.31** : Résultat du test de type respiratoire (Photo originale).

Ensemble des résultats précédents sont représentés dans le tableau suivant :

**Remarque:** AA= aéro-anaérobie, M= mobile, IM= immobile

## Chapitre III : Résultats et discussion

**Tab 6 :** Résultats des tests enzymatique des trois bactéries.

Tests Bactéries	Catalase	Oxydase	Mannitol	Mobilité	Type respiratoire
<i>E.coli</i>	-	-	+	M	AA
<i>streptocoque</i>	-	-	-	IM	AA
entérocoque	-	-	-	IM	AA

### **I.4. CHROMagar (Test confirmatif pour l'identification) :**

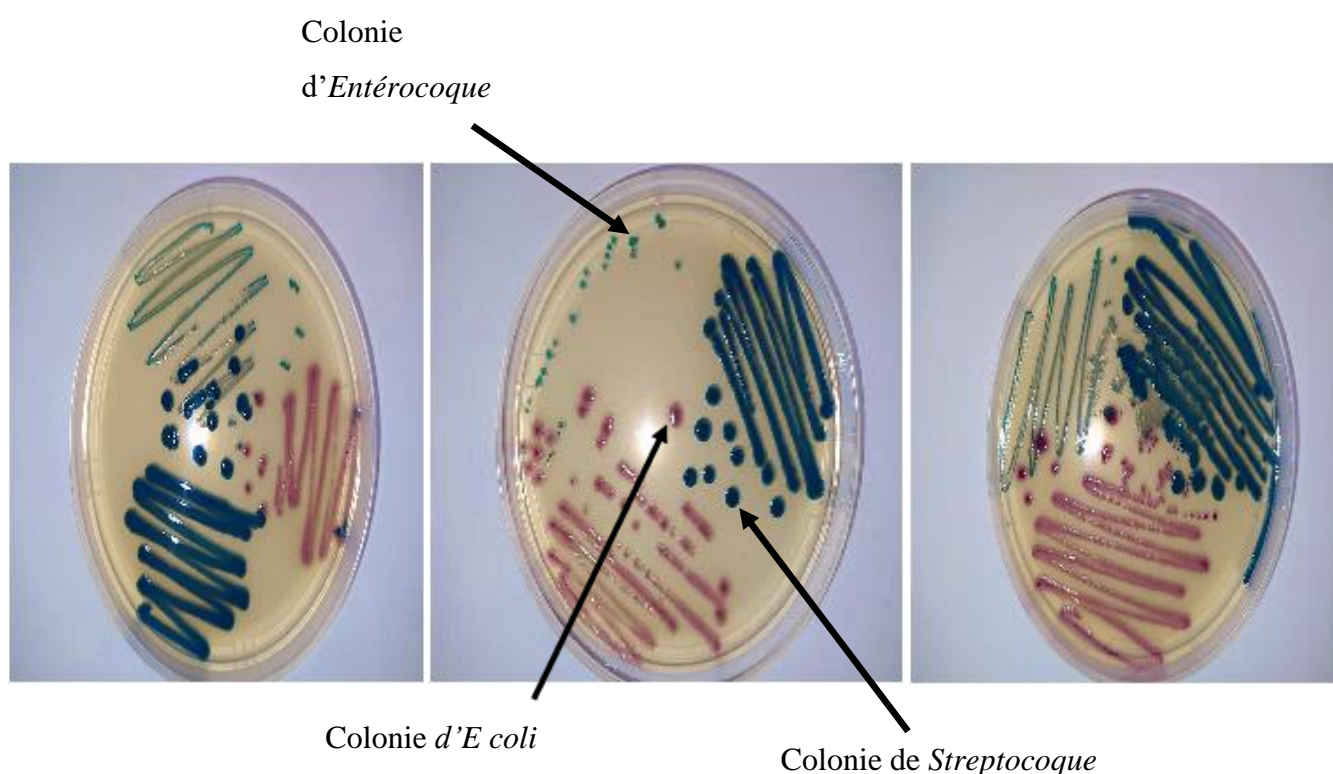
Après 24h d'incubation à 37° C, nous avons observé des colonies avec des aspects et couleurs différents (rose foncé, bleu, Bleu turquoise) (fig.32).

A partir des résultats (Tab 7), nous avons identifié et différencier rapidement *E coli* (colonies Rose foncé), *Streptocoque* (colonies bleues) et les *Entérocoques* (colonies bleu turquoise à bleu-vert).

## Chapitre III : Résultats et discussion

**Tab 7 :** Identification des espèces bactériennes basée sur la couleur des colonies

Esp bactériennes	Aspect sur CHROMagar
<i>E. coli</i>	Colonies de taille moyenne à grande, rose foncé à roses.
<i>Entérocoque</i>	Petites colonies bleu turquoise à bleu-vert.
<i>Streptocoque</i>	Colonies de taille moyenne à grande, bleu.



**fig.32 :** Aspect macroscopique sur CHROMagar (Photo originale).

### I.5. Dénombrement :

Les résultats des tableaux (Tab 8, 9,10), présentent une augmentation de la charge bactérienne dans les trois organes (caecum, rein, foie) des trois lapins au cours du temps. la valeur quantitative bactérienne varie avec le temps dans les trois organes suite une migration à partir du caecum.

## Chapitre III : Résultats et discussion

Dans le caecum nous avons remarqué une charge bactérienne élevée par rapport aux autres organes. Cela montre que le caecum est l'habitat naturel de ces bactéries. En revanche les reins dans lesquels la charge bactérienne est nulle lors la mort, commence à augmenter après la mort suite à une migration bactérienne avec une charge importante par rapport au foie, en raison de son localisation proches au caecum.

**Tab 8 :** Résultat la charge bactérienne du 1<sup>er</sup> lapin en UFC

Intervalle Organes	T1=10min	T2=1h	T3=5h
Caecum	$431 \times 10^6$	$559 \times 10^6$	(non dénombrable)
Rein	$137 \times 10^6$	$422 \times 10^6$	(non dénombrable)
Foie	$50 \times 10^6$	$290 \times 10^6$	(non dénombrable)

**Tab 9 :** résultat la charge bactérienne du 2<sup>ème</sup> lapin en UFC

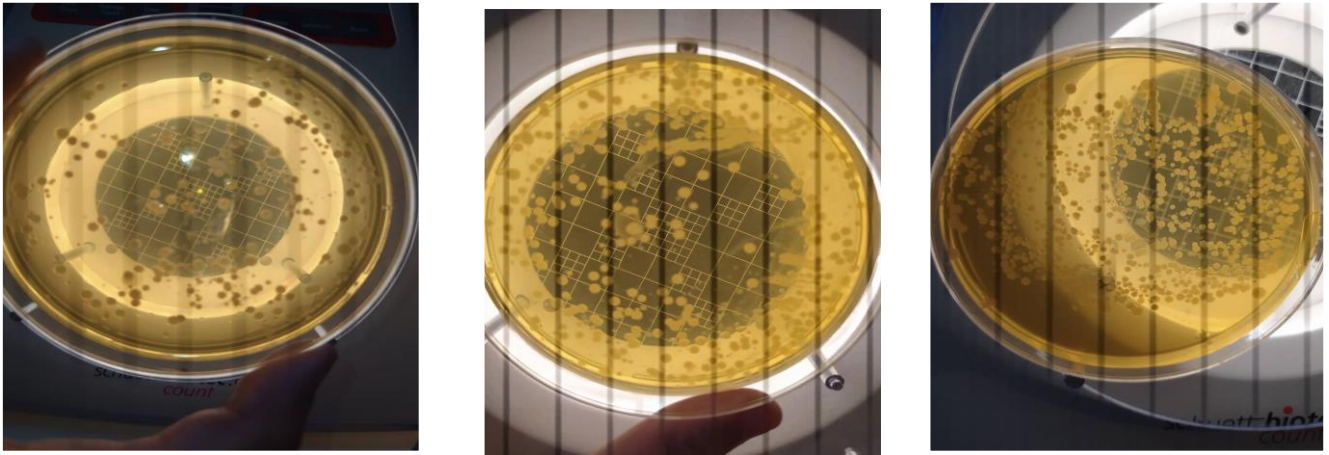
Intervalle Organes	T1=10min	T2=1h	T3=5h
caecum	$423 \times 10^6$	$273 \times 10^6$	(non dénombrable)
Rein	$133 \times 10^6$	$486 \times 10^6$	(non dénombrable)
foie	$63 \times 10^6$	$322 \times 10^6$	(non dénombrable)

**Tab 10 :** résultat la charge bactérienne du 3<sup>ème</sup> lapin en UFC

Intervalle Organes	T1=10min	T2=1h	T3=5h
caecum	$303 \times 10^6$	$499 \times 10^6$	(non dénombrable)
Rein	$72 \times 10^6$	$396 \times 10^6$	(non dénombrable)
foie	$48 \times 10^6$	$276 \times 10^6$	(non dénombrable)

## Chapitre III : Résultats et discussion

---



**fig.33** : résultat du dénombrement sous compteur de colonies. (Photo originale)

## Chapitre III : Résultats et discussion

---

### II. Discussion :

L'utilisation de la microbiologie et les données bactériennes dans le contexte des enquêtes médico-légales est très prometteuse dans le domaine de la médecine légale. Les bactéries identifiées dans notre étude sont (*E coli*, entérocoque, Streptocoque), ces sont des aéro-anaérobie facultatif appartenant à la flore caecal ante-mortem du lapin, impliquée dans la décomposition cadavérique.

D'après nos résultats de culture, le caecum était dominé par les *Entérocoques*, *streptocoque*, *E coli* et montrent une augmentation marquée de la charge au cours des cinq heures suivant le décès. Au fur et à mesure que la décomposition progresse la translocation des *Entérocoque* et *E coli* s'effectue et la charge augmente. Selon Hopkins et al(2000) la colonisation bactérienne d'un cadavre commence généralement par l'intestin, qui abrite naturellement un grand nombre de coliformes, de bacilles et de micro-cocci, ceci explique la charge bactérienne élevée au niveau caecal.

La culture à démontré aussi que le foie est le dernier organe a ce colonisé, il est considéré comme stérile, sa contamination a eu lieu après 1heure du décès avec un faible taux de colonisation. ce qui a été confirmé dans les recherches du Dr Gérard (2020) qui montre que la migration du tractus gastro-intestinal vers le reste des organes internes suit un ordre spécifique. Elle commence plus tôt dans les organes les plus proches du tractus gastro-intestinal et se termine dans les organes plus éloignés.

Actuellement, la médecine légale universelle utilise l'approche moléculaire pour déterminer l'IPM et suivre la translocation bactérienne. Plusieurs chercheurs ont adoptés cette approche pour étudier le microbiote de décomposition sur différents model tels que les souris et les porcs, selon Leclerc et al (2001) les anaérobie facultatif de la famille des *Enterobacteriaceae* tels que *Serratia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, et *Proteus* qui sont largement reconnus comme des pathogènes opportunistes et sont associés aux matières fécale animal deviennent abondant après le décès et participe à la décomposition.

D'autres études basées sur le même principe étudient le thanatomicrobiome humain, ont montré que 21 genres de différent bactéries migrent vers différent organes, les résultats les plus courant était (*Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, suivis de *claustridum*, *entérocoque* et *E coli*). (Sari, et al., 2012).

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

---

Comme discuté précédemment, le microbiome intestinal envahit les organes internes suivant un ordre particulier mais les microbes qui migrent ne sont pas toujours les mêmes, car lors de la décomposition les communautés microbiennes se déplacent pour s'adapter aux changements environnementaux de chaque étape Helena et Gérard (2020).

Notre étude a montré que le foie est le dernier organe envahie par les bactéries intestinales au fil du temps. Donc il est considéré comme l'organe optimal pour étudier le thanatomiobiome et donc prédire le PMI comme il est mentionné par Helena et Gérard (2020).

**CONCLUSION**

## **conclusion**

---

Le stage de fin d'études que nous avons effectué au niveau du laboratoire de bactériologie alimentaire et contrôle de qualité de la wilaya de Skikda, nous a permis de comprendre et mettre en évidence l'efficacité de la microbiologie dans le domaine de la médecine légale post-mortem. En effet les bactéries ont un rôle important, même après la mort, dans la détermination de la cause et la datation des cadavres (intervalle post-mortem) ; ce qui facilite la procédure des enquêtes.

Dans le cadre de notre stage de fin d'études, nous aurions voulu réaliser les expériences nécessaires avec les techniques de la biologie moléculaire. Toutefois nous n'avons pas pu réunir les conditions nécessaires pour concrétiser notre vœux, et ce, en raison de plusieurs facteurs (manque de matériel et autres obstacles).

Néanmoins, et en dépit de circonstances particulières défavorables, nous avons pu réaliser nos expériences selon la méthode traditionnelle de culture bactérienne qui nécessite plus de temps et plus d'efforts par rapport à la méthode de la biologie moléculaire et nous avons réussi à obtenir les résultats escomptés à partir desquels nous pouvons confirmer que les techniques de culture bactérienne post-mortem sont aussi efficaces.

La rédaction de ce Mémoire de fin d'études a été une expérience extrêmement enrichissante pour nous à différents titres. Tout d'abord parce qu'il s'agit d'un travail de conception et expérimental et que cela nous a permis de nous lancer dans la recherche et la réflexion sur le sujet traité qui est directement en relation avec notre future carrière professionnelle.

Ensuite, parce que cela nous a permis de découvrir la réalité d'une expérience pratique et d'acquérir un sens critique et un esprit de synthèse qui, nous en sommes persuadées, nous seront très utiles dans notre vie.

Autant de points positifs que nous devons à la formation que nous avons suivie au sein de l'université de Skikda dont nous tenons à souligner ici même la qualité et l'originalité de l'enseignement.

Cependant, quels qu'aient pu être nos efforts, pour circonscrire la question des effets de l'intervalle post-mortem prolonge sur les communautés bactériennes dans certains

## **conclusion**

---

organes du cadavre de lapin. Ce travail ne saurait épuiser ce domaine autant vaste et passionnant qu'inépuisable.

Notre souhait est d'apporter, à travers cette recherche, une modeste contribution dans le domaine de la médecine légale post-mortem, tout en souhaitant susciter les intérêts des membres du Jury, mais aussi auprès des institutions concernées.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## Références bibliographiques

### *Références Bibliographiques :*

Abecia L., Fondevila M., Balcells J., Edwards J.E., Newbold C.J., Mcewan N.R., 2005, Molecular profiling of bacterial species in the rabbit caecum, *Fems Microbiol. Lett*, 244.

Adserias-Garriga, J., Hernández, M., Quijada, NM, Rodríguez Lázaro, D., Steadman, D. et Garcia-Gil, J, 2017, Changements quotidiens du microbiome du thanatomo dans le sol en tant qu'approche de l'estimation de l'intervalle post-mortem : une perspective écologique. *Sciences médico-légales internationales*, 278, 388–395.

Annabelle I, 2018, Ponction lombaire ou Examen du liquide céphalo-rachidien (LCR), [en ligne], Disponible sur : [https://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/sa\\_735\\_lcr.htm](https://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/sa_735_lcr.htm).

Bennegadi N., Fonty G., Millet L., Gidenne T., Licois D., 2003, Effects of age and dietary fibre level on caecal microbial communities of conventional and specific pathogen-free rabbits. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 15, 23-32.

Berg, R. D. and A. W. Garlington, 1979, Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model." *Infect Immun* 23(2): 403-411.

Boulahrouf A., Fonty G., Gouet P., 1991. Establishment, counts and identification of the fibrolytic bacteria in the digestive tract of rabbit, Influence of feed cellulose content, *Curr. Microbiol.*, 22, 1-25.

Can I., Javan, G.T., Pozhitkov, A.E. & Noble, P.A, 2014, Distinctive thanatomicrobiome signatures found in the blood and internal organs of humans. *Journal of Microbiological Methods*, 106, 1– 7

Catherine N, 2016, Les agents infectieux et mécanismes d'action sur l'organisme humain, *Laboratoire de Bactériologie*, 44.

## Références bibliographiques

CEAEQ, 2000, Recherche et dénombrement des entérocoques: méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnemental du Québec, gouvernement du Québec, 27 p.

Clausen, EM, BL Green and W Litsky, 1977, Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp.: 247-264.

Delphine V, 2009, Post mortem: la vie tourmentée d'un cadavre, [en ligne], Disponible sur : <https://www.sciencepresse.qc.ca/actualite/2009/10/27/post-mortem-vie-tourmentee-cadavre>.

Emilie T, 24 mars 2021, un article scientifique, Passeport Santé, Parties du corps, Décomposition du corps : que devient le corps humain après la mort, [en ligne], Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=decomposition-corps-devient-corps-humain-apres-mort>. [Consulté le 21 avril 2022].

Finley SJ, Benbow ME, Javan G, 2015, Communautés microbiennes associées à la décomposition humaine et leur utilisation potentielle comme horloges post-mortem, Int J Legal Med; 623.

Flandrois.JP, 2000, Bactériologie Médicale, antibio-responsable, bactéries, colibacille, [en ligne], Disponible sur : <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/colibacille/>. [Consulté le 30 avril 2022].

Gates L, Klein NJ, Sebire NJ, Alber DG, 2021, Characterising Post-mortem Bacterial Translocation Under Clinical Conditions Using 16S rRNA Gene Sequencing in Two Animal Models. Front Microbiol, 2021;12:649312, doi:10.3389/fmicb.2021.649312

Gouet P., Fonty G., 1973. Evolution de la microflore digestive du lapin holoxénique de la naissance au sevrage, Ann, Biol Anim. Biochim. Biophys., 13, 733-735.

## Références bibliographiques

Guérard, Chloé, 2019, Intérêt de l'autopsie et des examens complémentaires dans le diagnostic post-mortem chez le chiot nouveau-né. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 162 p.

H.Leclerc et *al.*, 2001, Progrès de la bactériologie du groupe des coliformes : leur pertinence en tant que marqueurs de la sécurité microbienne de l'eau *Annu Rev Microbiol* 55 : 201–234.

Hooper LV, Macpherson AJ, 2010, Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota, *Nat Rev Immunol*, 10 : 159–169.

Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N, 2016, Microbiote intestinal et développement du système immunitaire. *Med Sci (Paris)*; 32 : 961–967.

HR Johnson, et *al.*, 2016, Une approche d'apprentissage automatique pour l'utilisation du microbiome cutané post-mortem pour estimer l'intervalle post-mortem, *PLoS ONE*, page 01.

Javan GT, Finley SJ, Can I, Wilkinson JE, Hanson JD et Tarone AM, 2016, Succession de Thanatomicrobiome humain et temps écoulé depuis la mort. *Rapports scientifiques*, 6 p1.

JB Kaper, JP Nataro, HL Mobley, 2004, Pathogenic *Escherichia coli*, *Nat Rev Microbiol* 2, 123–140.

Jean-Pierre W, 2009, livre le Larousse médical, encyclopédie [medical], streptocoque, 1 264p.

K.E Laurens et *al.*, 2019, Effet de la température et du temps sur le microbiome thanatomique du caecum, de l'iléon, des reins et des poumons de lapins domestiques, *national library of medicine*, page :1.

Lawrence.K.E., Lam. K.C., Morgun.A., Shulzhenko. N & Löhr.C.V, 2019, Effect of temperature and time on the thanatomi-crobiome of the cecum, ileum, kidney, and lung of domestic rabbits. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31, 155– 163.

Lehman DC, 2012, Microbiologie médico -légale. *Clin. Laboratoire, Sci.* 25(2), 114–119.

## Références bibliographiques

Licois D., Guillot J.F., Mouline C., Reynaud A., 1992, Susceptibility of the rabbit to an enteropathogenic strain of Escherichia coli 0103: effects of animals'age, Ann Rech. Vet, 23, 225-232.

Loubinoux J, Mihaila-Amrouche L, Bouvet A, 2004, Pathologie Biologie, Évaluation de Prolex™ pour l'identification rapide des streptocoques isolés en microbiologie médicale, Volume 52, Issue 8, pp : 434-437.

Mayssa Hachem, Hafiz Ahmad, Ishani Pilankar, Imtinan Abdelrahim, Fatma ALFalasi et Zainab Asif, 2020, Les progrès du microbiome humain en tant qu'outil émergent en médecine légale. Revue internationale sur les technologies émergentes 11(3): 70-76.

Mazuchowski EL, Meier PA, 2005, the modern autopsy: what to do if infection is suspected. Arch. Med. Res. 36:713–723. 10.1016/j.arcmed.2005.04.006 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].

Metcalf, JL, Wegener Parfrey, L., Gonzalez, A., Lauber, CL, Knights, D., Ackermann, G. et al., 2013, Une horloge microbienne fournit une estimation précise de l'intervalle post-mortem dans un système de modèle de souris.Elife, 2, e01104.

Morentin, B., Suárez-Mier, député, Aguilera, B., Arrieta, J., Audicana, C. & Fernández-Rodríguez, A, 2012, Caractéristiques clinicopathologiques de la mort infectieuse soudaine et inattendue : étude basée sur la population chez les enfants et les jeunes adultes.Sciences médico-légales internationales, 220, 80–84.

Nicard Q, Juillet 2017, un article scientifique, Passeport Santé, Parties du corps, La flore intestinale : Définition, Déséquilibre, Reconstitution, [en ligne], Disponible sur : <https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=flore-intestinale>. [Consulté le 14 mars 2022].

Oliveira, M. & Amorim, A, 2018, Microbial forensics: new breakpassages et perspectives d'avenir.Microbiologie appliquée et biotechnologie, 102, 10377–10391.

## Références bibliographiques

Olivieri VP, 1982, Bacterial indicators of pollution. Dans: Pipes, WO, edit, Bacterial indicators of pollution, CRC Press, pp: 21-41.

Padilha M, Licois D, Gidenne T, Carré B, Fonty G, 1995, Relationships between microflora and caecal fermentation in rabbits before and after weaning, *Reprod. Nutr. Develop*, 35, 375-386.

Peeters J.E., Maertens L., 1988, L'alimentation et les entérites post-sevrage. *Cuniculture*, 83, 224-229.

Philippe B, Stéphane B, 2019, BACTERIE\_EscherichiaColiShighella, [en ligne], Disponible au format PDF sur Internet : [https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE\\_EscherichiaColiShighella.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_EscherichiaColiShighella.pdf). [Consulté le 30 avril 2022].

PHILIPPON A, PAUL G, NEVOT P, 1983, L'hémoculture. *Rev Prat* ; 33 :1929-1938.

S. Mateusz, O.Rafal, P.Agata, B.Justyna, M.Kadej, 2021, Les traces microbiennes et leur rôle en criminalistique. *Journal of applied microbiology*, 11p.

Speruda M *et al.*, 2022, Microbial traces and their role in forensic science. *J Appl Microbiol*. 2022 .page 02.

Stefan R, 2014, *Journal Clinical of Microbiology*, The Value of Postmortem Microbiology Cultures, v.52(4) : 1028–1033, [en ligne], Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993482/>.

Suzanne Ch, 2006, Atlas de la peste à Madagascar, Diagnostic biologique de la peste à Madagascar, p. 42-46, [en ligne], Disponible sur : <https://books.openedition.org/irdeditions/6609?lang=fr>.

SYKES, Jane E. *Canine and feline infectious diseases*, St. Louis, Mo, 2014, Elsevier/Saunders, ISBN 978-1-4377-0795-3. SF781 .S95

T.Sari, *et al.*, 2012, Evaluation de la migration bactérienne post mortem à l'aide de la culture de la pcr quantitative en temps reel. *journal of forensics sciences*, page8.

## Références bibliographiques

TG. Helena, AB Gérard, 2020, le thanatomiobiome : une nouvelle direction de la science légale pour déterminer l'intervalle post-mortem. Master en génétique médico-légale, physique et chimie, page : 44.

Vadim M, Christel N, Valery H, 2017, Forensic Microbiology, Postmortem bacterial translocation, pp.192-211.

Vanessa URZEL, 2014. APPORT DE LA RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE DES SOLIDES À LA CARACTÉRISATION CHIMIQUE ET À LA DATATION DES OS EN ANTHROPOLOGIE MÉDICO-LÉGALE :422p.

Yogeshwar.E, Camille.P, Simon.V, 2008, risques sanitaires liées à l'exhumation des corps humains et des carcasses d'animaux pour les travailleurs en France métropolitaine. Ecole de hautes études en sante public (EHESP) :20-21.

Zhou W, Bian Y, 2018, Profilage de la composition du thanatomiobiome comme outil d'investigation médico-légale. Recherche en sciences judiciaires, 3(2),105–110.

**Etudiantes :** Mouats lamia, Mezedjri rayane, Messous aya.

**Thème :**

Effet de l'intervalle post-mortem prolongé sur les communautés bactériennes dans certains organes du cadavre de lapin

**Résumé**

La microbiologie post-mortem (PMM) est un outil important en médecine légale, aidant à déterminer l'intervalle post mortem (IPM), la cause et le mode de (décès accidentel, suicide, homicide et indéterminé). La PMM aide également à identifier les bactéries qui participent au phénomène de la décomposition.

Pour explorer le microbiome de la décomposition : trois cadavres des lapins ont été échantillonné à trois intervalle, du temps (10 min, 1h, 5h) à partir de divers organes (caecum, rein, foie), les échantillons ont été analysé par la méthode de culture bactérienne sur des milieux de culture spécifiques pour la recherche des (streptocoques, Entérocoque et *Escherichia coli*).

Nos données montrent qu'il y a une translocation bactérienne du caecum vers les autres organes extra-intestinaux au fil du temps avec augmentation de la charge bactérienne qui intervienne à la putréfaction du cadavre.

Les résultats obtenue peuvent être considérer comme base de donnés additifs et s'ajoutent à l'ensemble des recherche émergentes.

**Mots clé :** Microbiologie post-mortem, médecine légale, intervalle post-mortem, translocation bactérienne, putréfaction.

**Encadrant :**

Dr. Boulkenafet Fouzi