

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT



19/495

574 234

M215

## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie de l'environnement Santé, eau et environnement

### Thème

# Bactériologie des Otites

Présenté par :

Bouhalit Fouzia  
Frihi Amina  
Soussi Fayza



Devant le jury composé de :

Président : HOUHAMDI M. (Pr.)  
Examinateur : MERZOUG A. E. (M.A.A)  
Encadreur : ZITOUNI A. (M.A.A)  
MERZOUG S. E. (Doctorant)

Université de Guelma  
Université de Guelma  
Université de Guelma  
Université de Guelma

Juin 2011

## *Remerciements*

*Nous remercions Allah, Dieu le Miséricordieux qui nous a éclairé la voix de la science et de la connaissance et par sa grâce on a réussi à achever ce travail.*

*Nous tenons à remercier Monsieur HOUHAMDI M., Professeur au département de biologie, de nous avoir accordé le privilège de présider ce jury.*

*Notre respect et notre reconnaissance sont adressés à Monsieur ROUÏBI A. H., maître assistant au département de biologie, qui a bien voulu d'examiner ce mémoire.*

*Nous remercions très chaleureusement Monsieur ZITOUNI A., Maître assistant au département de biologie, de nous avoir exprimé son entière intérêt et disponibilité pour encadré ce modeste travail.*

*Nos reconnaissances, nos vives gratitude et nos sincères remerciements vont aussi à Monsieur MERZOUG S.E., Doctorant au département de Biologie de nous avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations, ses encouragements, sa disponibilité constante nous ont été d'une précieuse aide.*

*Enfin, que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude en particulier les enseignants et les étudiants du département de biologie.*

## Liste d'abréviation

**AMC:** Acétyl-Méthyl-Carbinol.

**ADH:** Argininedihyrolase.

**CIT:** Citrate de sodium.

**GCH:** Gélose de Chapman.

**GEL:** Gélatinase.

**GMC:** Gélose Mac Conkey.

**GN:** Gélose Nutritive.

**GSC:** Gélose au sang cuit.

**LDC:** Lysine décarboxylase.

**ODC:** Ornithine décarboxylase.

**OE:** Otite externe.

**OMA:** Otite moyenne aiguë.

**OMC:** Otite moyenne chronique.

**OMO:** Otite moyenne à tympan ouvert.

**ORL:**

**RM:** Rouge de Méthyle.

**TSI:** Triple Sugar Iron Agar.

**URE:** Uréase.

**VP:** Voges-Proskawer.

## La liste des figures

N°	Figures	Pages
1	Anatomie de l'oreille	2
2	Otite externe	7
3	Otite muqueuse à tympan ouvert	10
4	Otite cholestéatomateuse	10
5	Tympanosclérose du tympan	11
6	Tympanosclérose de l'oreille moyenne	11
7	L'otite adhésive	11
8	Atélectasie du tympan	12
9	La galerie API 20 E	23
10	La fiche de la lecture	24
11	Milieu citrate de Simmons	25
12	Milieu TSI	26
13	Milieu Mannitol-mobilité	27
14	Test d'indole	28
15	Test de TDA	28
16	La réaction de Voges-proskawer (VP)	30
17	La réaction au rouge de méthyle (RM)	30
18	La catalase	31
19	Staphylocoagulase	32
20	Schéma de la méthodologie suivie dans notre travail	35
21	Aspect des colonies sur le milieu Mac-Conkey	37
22	Aspect des colonies sur le milieu Chapman	38
23	Aspect des colonies sur le milieu GN	38
24	Aspect des colonies sur la gélose au sang cuit	38
25	Aspect des bactéries Cocci Gram +	41
26	Aspect des bactéries Bacilles Gram -	42
27	Résultats des API 20 E	43
28	Résultats des galeries biochimiques classiques	45
29	Aspect des streptocoques non hémolytique	47

## La liste des Tableaux

N°	Tableaux	Page
1	Les prélèvements réalisés	19
2	Lecture de test d'indole et TDA	27
3	Les principaux Staphylocoques isolées en microbiologie	32
4	Types d'hémolyses	34
5	Résultats d'études macroscopiques des colonies isolées	36
6	Résultats d'études microscopiques des colonies isolées	39
7	Résultats de la galerie API 20 E	42
8	Résultats de la galerie biochimique classique	44
9	Résultats d'identification des staphylocoques	46

Produced with Scantopdf

# Sommaire

Produced with ScanTOPDF

# Sommaire

Page

## Introduction

## Chapitre I : Généralité sur l'appareil oculaire humaine et ces maladies

1. Anatomie de l'oreille humaine.....	2
1.1. L'oreille externe.....	3
1.2. L'oreille moyenne.....	3
1.3. L'oreille interne.....	4
2. Les infections des oreilles (les otites).....	5
2.1. L'otite externe.....	6
2.2. L'otite interne.....	7
2.3. Les otites moyennes.....	8
2.3.1. L'otite moyenne aiguë (OMA).....	8
2.3.2. L'otite moyenne chronique (OMC).....	9
3. Les facteurs favorisants des otites.....	13
4. Les microorganismes responsables.....	13
4.1. Les Entérobactéries.....	14
4.2. Staphylococcus.....	14
4.3. Les Streptocoques.....	15
4.4. Pseudomonas aeruginosa.....	15
4.5. Branhamella catarrhalis.....	16
4.6. Haemophilus influenzae.....	16

## Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Prélèvement.....	18
1.1. Mode de Prélèvement.....	18
1.2. Condition de prélèvement.....	18
1.3. Nature et période de prélèvement.....	18
2. Analyse bactériologique.....	19
2.1. Enrichissement.....	19
2.2. Isolement.....	19
2.3. Technique d'isolement.....	20
3. La recherche bactériologique.....	20
3.1. Examen macroscopique.....	20
3.2. Examen microscopique.....	20
3.3. Identification biochimique.....	22

## Chapitre III : Résultats et Discussions

1. Résultats de l'isolement .....	36
2. Coloration de Gram.....	39
3. La galerie API 20 E.....	42
4. Identification de la galerie biochimique classique.....	44
5. Tests d'identification des staphylocoques.....	46
6. Résultats d'identification des Streptocoques.....	46

**Conclusion**

**Bibliographie**

**Annexe**

Produced with ScanTOPDF

# Introduction

Produced with ScanTopDF

## Introduction :

L'oreille humaine est l'organe auditif humain. Il sert à capter les sons et joue également un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre de l'homme. Ce mot fait souvent référence au système auditif entier qui effectue la collection et la compréhension des sons ou indique la partie extérieure seulement (Cyclor, 2009).

Comme tous les organes, les trois parties de l'oreille peuvent aussi être affectées par de nombreuses maladies dont la plus importante est l'otite. Ce terme assez général, englobe toutes les infections touchant l'oreille même si les diagnostics cliniques sont complètement différentes (Bonsigor *et al*, 2008).

L'otite est donc une pathologie dont l'étiologie est multifactorielle très dépendante de nombreux facteurs telles les compositions anatomiques et immunologiques de chaque individu. Les facteurs environnementaux et les facteurs socioéconomiques jouent également un rôle dans l'apparition de cette maladie. Du point de vue diagnostic, il est bien important d'identifier les otites afin de mieux orienter le traitement. (Taru *et al*, 2006).

Notre étude réalisée durant les mois d'avril et mai 2011 présente un manuscrit structuré en trois chapitres interdépendants :

- Le premier représente une synthèse bibliographique rassemblant des données sur la composition de l'oreille et ses maladies précisant les otites et leurs causes.
- Le deuxième chapitre décrit les méthodes employées pour la détermination du diagnostic bactérien (prélèvement, isolement et identification biochimique microbienne).
- le troisième chapitre décrit sous forme de graphiques et des tableaux les résultats au cours de la réalisation pratique ainsi qu'une discussions globale.
- Une conclusion finale clôture ce travail.



# Chapitre I

Produced with  
TOPDF

## 1. Anatomie de l'oreille humaine :

L'oreille est un organe plurifonctionnel, organe de l'audition grâce à sa composition complexe. (Badara, 1998).

Anatomiquement, elle est divisée en trois parties principales (Fig.1) :

- L'oreille externe.
- L'oreille moyenne.
- L'oreille interne.

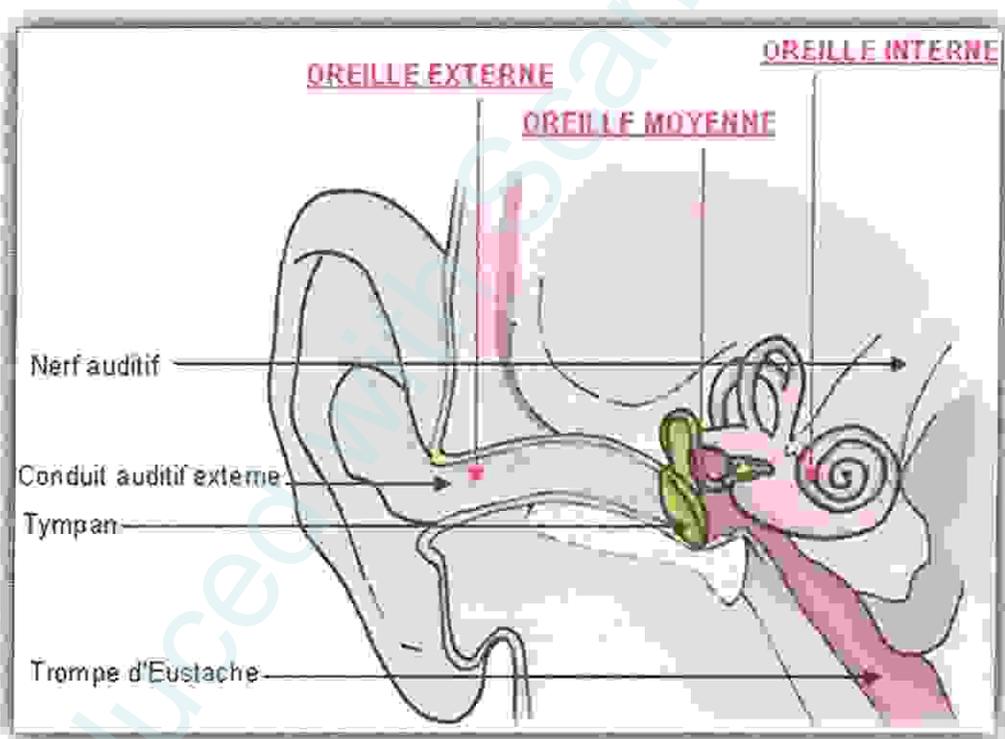


Fig.1. Anatomie de l'oreille. (3)

## 1.1. L'oreille externe :

L'oreille externe comprend deux segments: le pavillon et le conduit auditif externe.

### ❖ Le pavillon :

Il est une lame plissée sur elle-même en divers sens, ovalaire à grosse extrémité supérieure en ayant dans son ensemble la forme d'un pavillon de cornet acoustique.

Le pavillon possède un squelette fait de cartilage élastique lui permettant de reprendre sa position normale après une déformation.

À ce niveau il n'existe pas de tissu cellulaire sous-cutané. La partie inférieure du pavillon est représentée par le lobe de l'oreille dont la partie centrale est adipeuse, peu innervée et richement vascularisée. (Badara, 1998 ; Ganong , 2005).

### ❖ Le conduit auditif externe :

Il a la forme d'une corne acoustique diminuant de diamètre à mesure que l'on se rapproche vers le fond c'est-à-dire le tympan. Ces deux-tiers externes ont un squelette cartilagineux alors que son tiers interne est creusé dans l'os temporal. Cette partie interne est revêtue d'une peau dotée de nombreux pores et de glandes sébacées, ainsi que des glandes sudoripares apocrines (les glandes cérumineuses) qui fabriquent un liquide protéique et glucolipidique, pigmenté et visqueux, le cérumen. (Cycler, 2009).

## 1.2. L'oreille moyenne :

C'est un milieu aérien Située entre l'oreille externe et l'oreille interne. Le rôle de l'oreille moyenne est de transmettre et d'amplifier les vibrations qui sont les sons, captés par l'oreille externe, vers l'oreille interne Elle comprend:

### ❖ La caisse du tympan :

Contient une chaîne de trois osselets:

- Le marteau inclus par son manche dans l'épaisseur du tympan.
- L'enclume reliant le marteau et l'étrier.
- L'étrier enchâssé dans la fenêtre ovale, il transmet les vibrations du tympan à l'oreille interne. (Diop, 2001; Broca, 2010).

❖ **La trompe d'Eustache :**

Ce canal long de 3 centimètres est constitué par deux cornets opposés par leur sommet

- Le premier, proche de la caisse du tympan est un canal osseux.
- Le deuxième est membraneux et débouche dans l'arrière-nez.

Son rôle est de faire communiquer l'oreille moyenne avec la pression ambiante. (Diop, 2001).

❖ **La fenêtre ovale et la fenêtre ronde :**

Ce sont deux orifices obturés par des membranes, qui font communiquer l'oreille moyenne avec l'oreille interne. (Diop, 2001).

**1.3. L'oreille interne :**

Elle contient non seulement l'organe de l'ouïe, mais aussi le vestibule et les canaux semi-circulaires, organe de l'équilibre, responsable de la perception de la position angulaire de la tête et de son accélération. Les mouvements de l'étrier sont transmis à la cochlée via la fenêtre ovale et le vestibule. (Perino, 2009).

❖ **La cochlée :**

C'est un organe creux rempli d'un liquide appelé endolymphe. Elle est tapissée de cellules ciliées, des cellules sensorielles non renouvelables coiffées de structures filamenteuses ; les stéréocils. Ces cellules sont disposées le long d'une membrane (la membrane basilaire) qui vient partitionner la cochlée en deux chambres. L'ensemble des cellules ciliées et des membranes qui leur sont adjointes constitue l'organe de Corti. (Badara, 1998).

La membrane basilaire et les cellules ciliées qu'elle porte sont mises en mouvement par les vibrations transmises au travers de l'oreille médiane. Le long de la cochlée, chaque cellule répond préférentiellement à une certaine fréquence, pour permettre au cerveau de différencier la hauteur des sons. Ainsi, les cellules ciliées les plus proches de la base de la cochlée (fenêtre ovale, au plus près de l'oreille médiane) répondent préférentiellement aux aigus. Celles situées en son apex (dernier tour de la cochlée) répondent au contraire aux basses fréquences. (Perino, 2009).

Ce sont les cellules ciliées qui font la transduction mécano électrique : elles transforment un mouvement de leur cils en signal nerveux par le nerf auditif, qui va être interprété par le cerveau comme un son de la hauteur tonale correspondant au groupe de cellules excitées. (Bourrée et al, 2008).

❖ **L'appareil vestibulaire postérieur :**

Comprend deux cavités arrondies, l'utricule et le saccule, et trois canaux semi-circulaires situés dans trois plans perpendiculaires. Son rôle est capital dans l'équilibre. Les canaux semi-circulaires occupent la plus grande partie de l'oreille interne. Chaque canal contient un liquide; (l'inertie de ce liquide rend ce mouvement détectable par des cellules ciliées); tout à fait similaires à celles de la cochlée et des cils sensitifs reliés à des cellules réceptrices qui transmettent les informations au cervelet. Son dysfonctionnement serait impliqué dans la maladie de Manière. (Badara, 1998).

Les récepteurs vestibulaires comprennent deux taches situées, l'une dans l'utricule, l'autre dans le saccule, et trois crêtes situées dans des ampoules occupant la base des canaux semi-circulaires. (Bourrée et al, 2008).

## **2. Les infections des oreilles (les otites)**

De nombreuses classifications des otites ont été publiées sans qu'aucune d'elles deviennent universelle. On parle d'otite externe quand le conduit auditif externe est touché, d'otite moyenne quand l'oreille moyenne est touchée et d'otite interne quand l'oreille interne est touchée. Ces otites se différencient également par leur mode d'évolution – aigu ou chronique – et par leur aspect clinique visible à l'otoscopie : otite séreuse, muqueuse ou purulente, tympanosclérose ou otite adhésive. (Yannick, 2001).

Les otites moyennes sont les plus fréquentes dans les plus distinguées sont: l'otite moyenne aiguë (OMA) et l'otite moyenne chronique (OMC). (Bensoussan et al, 2008).

### **2.1. L'otite externe (OE) :**

#### **2.1.1. Définition :**

L'otite externe est une infection aiguë et le plus souvent bactérienne de la peau du conduit auditif externe, le tympan ne participant pas ou peu à cette maladie. Pour qu'une otite externe se déclare, la peau du conduit auditif doit avoir été modifiée par un facteur extérieur, car normalement elle est capable de se défendre toute seule. (Ganong; 2005).

De nombreux facteurs (climat chaud et humide, macération cutanée après la baignade) favorisent donc le développement d'une OE parfois appelée aussi « otite du baigneur » si elle apparaît après une baignade. (Pebret, 2003).

### 2.1.2. Cause :

Les germes les plus fréquemment rencontrés sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Proteus mirabilis*, *Peptostreptococcus* et le *Pseudomonas aeruginosa* qui répondent très bien aux nouvelles substances d'application locale. Ces dernières ne sont généralement pas ototoxiques et peuvent être utilisées chez l'enfant. Chez les patients diabétiques ou immunodéprimés, des contrôles réguliers sont nécessaires pour s'assurer de la guérison complète de l'otite. Ces patients peuvent en effet développer une otite externe nécrosante (inflammation de l'os de la base du crâne), complication grave à haut risque de mortalité. (Tarn *et al*, 2006).

### 2.1.3. Symptômes :

Sa symptomatologie est assez typique : douleur importante d'apparition assez rapide, souvent petit écoulement de l'oreille, peu (si obstruction complète du conduit par un œdème ou des sécrétions) ou pas d'atteinte de l'audition et pas de symptômes généraux comme de la fièvre. (Tarn *et al*, 2006).

La douleur irradie souvent dans les structures avoisinantes et est exacerbée par la mobilisation du pavillon. L'OE peut revêtir différents aspects, dont le plus fréquent est l'atteinte diffuse de toute la peau du conduit auditif par une rougeur, un gonflement et une sécrétion de pus d'importance variable. L'infection peut parfois gagner l'entrée du conduit auditif externe au niveau de la conque. L'aspect otoscopique dépend de l'étendue de l'atteinte. Il montre une rougeur plus ou moins associée à un œdème qui peut être sténosant. Des sécrétions sont souvent présentes et rendent parfois l'otoscopie difficile. (Bobin, 2007).

Il est absolument nécessaire de les nettoyer pour pouvoir examiner correctement l'oreille. Le tympan est le plus souvent normal (il peut parfois présenter une rougeur) même s'il est fréquemment recouvert de sécrétions. Des petits ganglions gonflés sont souvent présents autour de l'oreille. (Ayache *et al*, 2001).

#### 2.1.4. Traitement :

Le traitement de l'OE est essentiellement local, à base de gouttes ou de pommade antibiotique et de désinfectant fréquemment associés à un médicament antalgique et anti-inflammatoire per os, et ce en fonction de l'importance des douleurs. Un antibiotique per os est rarement nécessaire. (Bobin, 2007).

Si l'évolution n'est pas favorable après quelques jours de traitement, il est utile d'effectuer un prélèvement bactériologique pour mieux cibler l'antibiotique à utiliser. (Fig.2).



Fig.2. Otite externe. (4)

#### 2.1 L'otite interne:

C'est une infection rare et redoutée de l'oreille interne, car elle provoque souvent des dégâts irréversibles se manifestant par une perte de l'audition plus ou moins importante. L'oreille interne peut être atteinte par des infections virales, des infections bactériennes mais aussi par d'autres maladies comme la syphilis. Elle se développe le plus souvent dans le cadre d'une OMA qui évolue défavorablement, ou après un traumatisme ouvert de l'oreille. Elle peut aussi se rencontrer après une chirurgie de l'oreille moyenne.

L'otite touche à la fois la cochlée et le vestibule et sa symptomatologie est mixte avec une dégradation progressive de l'audition associée à des vertiges rotatoires et un mal-être général. (Devulder *et al*, 2002).

La distinction clinique entre otite interne virale et bactérienne étant impossible, il est impératif de prendre des antibiotiques et de la cortisone le plus précocement possible pour donner un maximum de chance de récupération au labyrinthe. (Bobin, 2007).

## 2.2. Les otites moyennes :

### 2.1.1. L'otite moyenne aiguë (OMA) :

L'OMA est une infection aiguë, généralement d'origine bactérienne (Actuellement les germes les plus fréquents sont, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, et *Branhamella catarrhalis*). Ces germes posent un problème de résistance croissante aux antibiotiques de la muqueuse de l'oreille moyenne et des cavités qui l'entourent. Elle a une histoire naturelle favorable dans la majorité des cas. En effet, de nombreux travaux montrent que 60 à 81% des cas se résolvent spontanément sans traitement particulier. (Perchère, 1982).

⇒ Les OMA touchent essentiellement l'enfant avec un maximum de fréquence entre 6 et 24 mois.

Cette fréquence est due à plusieurs facteurs :

- les infections des voies aériennes supérieures en particulier les rhinopharyngites qui sont très fréquentes à cet âge et se propagent par la trompe d'Eustache qui est particulièrement courte et béante.
- l'abondance du tissu lymphoïde au niveau du cavum qui joue le rôle d'un foyer obstructif et inflammatoire.
- Les OMA surviennent plus fréquemment en hiver.

#### ➤ Symptômes :

Ces symptômes habituels sont : la douleur, la diminution modérée de l'audition et parfois un écoulement si le tympan est perforé. Ces symptômes sont souvent associés, de manière plus ou moins marquée et variable; à de la fièvre, une rhinite, de la toux, de l'agitation voire de l'inappétence chez le petit enfant. (Asbl, 2000).

#### ➤ Traitement :

Les antibiotiques utilisés pour arrêter la multiplication de ces bactéries sont généralement la pénicilline et les céphalosporines.

Les pénicillines ne tuent pas les agents pathogènes sur lesquelles elles agissent ; elles bloquent simplement leur mécanisme de reproduction, ce qui leur permet de ne pas submerger par leur nombre les défenses naturelles de l'organisme. Les céphalosporines possèdent le

même mode d'action et sont d'ailleurs d'une famille apparentée à celle de la pénicilline. En effet, les gens allergiques à la pénicilline seront souvent aussi allergiques aux céphalosporines. (Saccharin, 1946 ; Perchère, 1982).

Les traitements antibiotiques contre les otites moyennes durent généralement 8 à 10 jours. Si l'otite persiste au-delà de 48 heures ou si les signes réapparaissent dans les 4 jours suivant l'arrêt du traitement, le médecin changera d'antibiotique après avoir fait un prélèvement bactérien. (Asbl, 2000).

### 2.1.2. L'otite moyenne chronique (OMC) :

L'otite moyenne chronique (OMC) regroupe tous les processus inflammatoires ou infectieux de l'oreille moyenne évoluant sur un mode chronique. En réalité, ces processus évoluent en général bien longtemps avant la découverte de l'OMC qui peut se présenter sous plusieurs formes (Saccharin, 1946).

❖ A tympan ouvert :

➤ L'otite muqueuse à tympan ouvert (OMO) :

Est caractérisée par un état inflammatoire chronique de la muqueuse de l'oreille moyenne, avec otorrhée à travers d'une perforation tympanique.

Elle peut être considérée comme l'équivalent auriculaire des rhino sinusites chroniques. (Fig.3) (Monneret, 1977).



Fig.3. Otite muqueuse à tympan ouvert. (1)

➤ **L'otite cholestéatomateuse :**

Elle est la forme la plus connue et la plus redoutée d'otite chronique. Sa définition la plus classique (présence de peau dans l'oreille moyenne) est sans doute inexacte car le cholestéatome ne correspond pas histologiquement à la peau. Il se définit classiquement par la présence dans l'oreille moyenne d'un épithélium malpighien kératinisant, desquamant, et doué d'un pouvoir d'érosion et de destruction. (Fig.4) (Bensoussan *et al*, 2008).

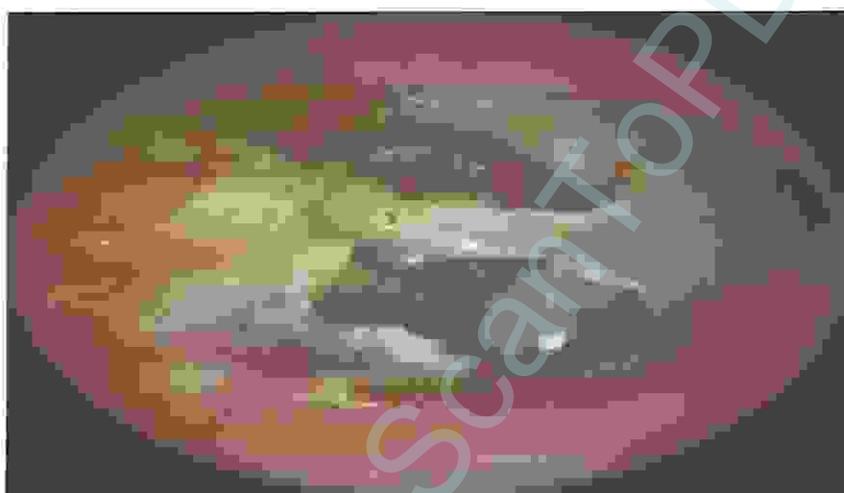


Fig.4. L'otite cholestéatomateuse. (1)

❖ **A tympan fermé :**

➤ **La tympanosclérose :**

Elle se définit comme un processus de cicatrisation caractérisé par une infiltration hyaline avec dépôts calcaires intra et extracellulaires et de cristaux de phosphate dans le tissu conjonctif sous-muqueux tapissant les osselets, les parois osseuses et la couche moyenne tympanique. (Fig.5, 6) (Asbl, 2000).



Fig.5. Tympanosclérose du tympan. (3)



Fig.6. Tympanosclérose de l'oreille moyenne. (3)

➤ **L'otite adhésive:**

Elle peut se définir comme une symphyse conjonctive de la caisse du tympan par un tissu conjonctif très inflammatoire, entraînant la disparition totale de tout espace aérien à l'intérieur de l'oreille moyenne. (Fig.7) (Bensoussan *et al*, 2008).



Fig.7. L'otite adhésive. (4)

➤ **L'otite atéléctasique :**

Elle se caractérise par un collapsus partiel de la caisse du tympan, c'est-à-dire par la rétraction d'une partie plus ou moins étendue d'une membrane tympanique fragilisée vers les cavités de l'oreille moyenne. (Fig.8) (Legent *et al*, 2003).

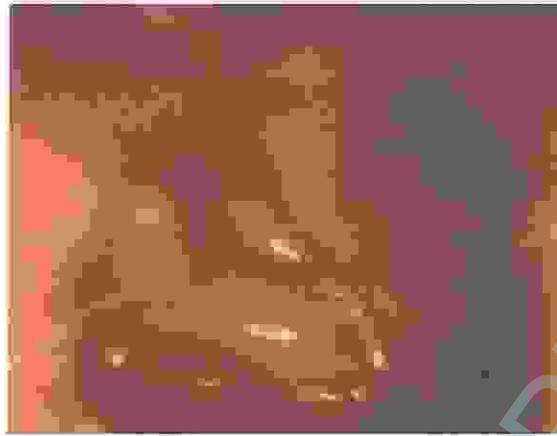


Fig.8. Atelectasie du tympan. (2)

➤ **Otite seromuqueuse:**

Elle se définit par la présence, dans les cavités de l'oreille moyenne, d'une effusion durant plus de 3 mois, en l'absence de tout signe inflammatoire aiguë. (Monneret, 1977).

### 3. Les facteurs favorisants

L'otite est plus fréquente chez les enfants alors que leur conduit auditif est plus court, plus étroit et presque horizontal.

Il existe plusieurs facteurs de risque car toute invasion microbienne vers l'oreille peut favoriser l'otite :

- Un rhume mal guéri qu'il soit causé par des bactéries ou des virus.
- le port prolongé d'embouts prothétiques la radiothérapie de la face et du cou.
- Il existe un canal qui s'étend entre l'arrière gorge et l'oreille, et c'est lorsque ce conduit devient enflammé qu'il se produit une otite.
- Un système immunitaire faible. On sait que, chez les enfants, leur résistance aux infections n'est pas encore parfaitement établie. Les jeunes enfants nourris aux seins offrent une meilleure résistance alors que la résistance de la mère est transmise à l'enfant.
- Le fait de côtoyer d'autres enfants (les garderies par exemple) favorise la transmission des bactéries ou des virus.
- Diminution de la production cérumineuse (maniaque de la coton tige)
- Dermatose chronique du CAE (eczéma, psoriasis, lichen...)

- Climat chaud et humidité chronique du CAE (bains en piscine ou rivière) modifiant la flore microbienne. (Yannick, 2001).

#### 4. Les microorganismes responsables

Alors que l'oreille moyenne et interne est normalement stérile, l'oreille externe est colonisée par une flore commensale au moins aussi abondante et variée que la flore intestinale.

Certaines bactéries de cette flore peuvent être impliquées dans le processus infectieux. Il s'agit principalement du pneumocoque, des hémophiles, du staphylocoque, des streptocoques et des entérobactéries. (Kubak *et al*, 2006).

##### 4.1. Les Entérobactéries :

###### ✓ Nomenclature et Classification

La Famille des Enterobacteriaceae rassemble en plusieurs Genres nombreux en fonction de leurs caractères biochimiques parmi lesquels, les genres Klebsiella, Enterobacter et Escherichia. (Cour de bactériologie, 2003).

###### ✓ Caractères bactériologiques :

Les entérobactéries comprennent une grande variété d'espèces y compris des bactéries commensales de l'intestin et d'importants pathogènes, comme les shigelles et les salmonelles.

La coloration de Gram ne permet pas de distinguer les différentes espèces, mais montre leurs aspects typiques.

Les entérobactéries (conformes) poussent toutes sur milieu de Mac Conkey qui différencie les espèces fermentant le lactose (colonies rosés) de celles qui n'en sont pas capables (colonies jaune pâle).

Cette famille est constitué de germes bactériens qui sont rassemblés en raison de leurs caractères bactériologiques communs ; ce sont des bacilles à Gram négatif dont les dimensions varient de 1 à 6 de long et 0 à 1 / $\mu$ m de large, Mobiles par une ciliature péritriche ou immobiles; se développant en aéra-anaérobiose 37°C en 24 heures à pH voisine de la neutralité et acidifiant le glucose par voie fermentative souvent avec production de gaz ; ne possédant pas d'oxydase et réduisant les nitrates en nitrites. (Delarras, 1998).

Il existe de nombreuses espèces identifiées grâce aux caractères cultureux, aux caractères biochimiques (galerie d'identification) et aux caractères antigéniques (antigènes O, antigènes H, antigènes K). (Pilet *et al*, 1987 ; Cours de Bactériologie, 2003).

#### 4.2. Les staphylocoques:

##### ✓ Nomenclature et Classification :

Les staphylocoques appartient à la famille des Micrococcaceae est composée de trois genres de cocci à Gram positif en amas:

- Staphylococcus;
- Micrococcus;
- Planococcus.

Le genre Staphylococcus comprend plus de 20 espèces dont quatre occupent une place privilégiée en pathologie humaine : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus intermedius*. (Ait Abed Ouahab, 2007).

##### ✓ Caractères bactériologiques :

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, disposés en amas, en diplocoques, en comtes chaînettes ou en grappes typiques.

Ils sont immobiles, se multiplient très bien à 37°C et 24 heures dans les milieux usuels, asporulés, parfois capsulés, anaérobies facultatifs, ils poussent sur milieux usuels. Ils ont catalase positive ; une Coagulase et fermentant du mannitol varies selon l'espèce. (Pilet *et al*, 1987).

##### ✓ Habitats :

Les staphylocoques sont des bactéries très répandues dans la nature aussi bien dans l'air que dans le sol ou dans l'eau. (Ait Abed Ouahab, 2007).

Ce sont des commensaux extrêmement fréquent de la peau et des cavités naturelles de l'homme et des animaux (avec une prédominance pour les fosses nasale et le périnée) la plupart des espèces rencontrées sont opportunistes (*Staphylococcus Epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*) d'autre peuvent être occasionnellement pathogènes (*Staphylococcus aureus*). Seules quelques souches productrices de toxine apparaissent constamment pathogènes. (Pilet *et al*, 1987).

### 4.3. Les streptocoques :

#### ✓ Culture :

Les pneumocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif, en flamme de bougie, encapsulés, groupés par paire (diplocoque), parfois en courtes chaînettes.

La culture du pneumocoque est aussi difficile que celle des streptocoques. Sur gélose au sang en anaérobiose ou sous CO<sub>2</sub>, le pneumocoque donne des colonies lisses, transparentes, en goutte de rosée, entourées d'une zone d'hémolyse partielle (alpha). Par repiquages successifs, les colonies deviennent rugueuses et correspondent à des pneumocoques ayant perdu leur capsule. (Berche *et al*, 2003).

#### ✓ Caractères biochimiques :

Comme tous les streptocoques, le pneumocoque n'est pas un germe à métabolisme anaérobie mais aérobie tolérant. Il n'a pas de catalase. L'adjonction de tensio-actifs (bile, sels biliaires) à une culture de pneumocoque en bouillon entraîne la lyse des capsules du pneumocoque et l'éclaircissement immédiat du bouillon. (Delarras, 1997).

### 4.4. *Pseudomonas aeruginosa* :

#### ✓ Nomenclature et Classification :

Cette Famille (*des Pseudomonadaceae*) est composée de deux genres principaux parmi les quelles on distingue:

Le genre de *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*). (Delarras, 1998).

#### ✓ Caractères bactériologiques :

Ce sont des bacilles à Gram négatif; mobiles par une ciliature polaire. Aérobie stricts, ils se cultivent sur tous les milieux (très peu exigeants); elle pousse facilement en 24 heures à une température de 37°C et de pH de 7.2.

Les *Pseudomonas aeruginosa* possèdent les caractères suivants : oxydase+, nitrate réductase, glucose+ (oxydé). (Cours de bactériologie, 2003).

✓ **Habitats :**

Ce sont des bactéries très répandue, saprophyte de l'air, du sol et surtout de l'eau. Pouvant coloniser les téguments et les muqueuses de l'homme et des animaux. (Delarras, 2007).

**4.5. Branhamella catarrhalis :**

✓ **Caractères bactériologiques :**

Ce sont des cocci isolés ou en paire. La morphologie est identique à celle des Neisseria. Ils sont à Gram négatif mais ils se décolorent difficilement. Ils peuvent être capsulés.

Ils sont aérobies stricts, respirent les nitrates en anaérobiose et possèdent un cytochrome C oxydase. L'hydrolyse de la tributylène; seul test positif, est facile à effectuer et est généralement corrélé à la présence d'une ribonucléase (désoxyribonucléase). Ils sont catalase positive et ne se cultivent pas sur les milieux des Neisseria.

A l'isolement, le milieu de culture est constitué par la gélose au Sang qui permet de satisfaire les exigences nutritives complexes des Moraxella. Pour le moment, il n'a pas été mis en évidence de facteur de virulence. (Denis *et al*, 2007).

✓ **Epidémiologie :**

*Branhamella catarrhalis* est responsable d'infections respiratoires hautes et Broncho-pulmonaires. Elle est souvent associée à *Haemophilus influenzae* et/ou à *Streptococcus pneumoniae*, surtout dans les otites et les sinusites. (Denis *et al*, 2007).

**4.6. Haemophilus influenzae :**

Le genre *Haemophilus* est placé dans la famille des *Pasteurellaceae* avec les genres *Pasteurella* et *Actinobacillus*. (Delarras, 1998).

✓ **Caractères bactériologiques**

Ce sont de petits bacilles et coccobacilles à Gram négatif avec une forme allongée, immobiles, non sporulées, parfois capsulées, aérobies et anaérobies facultatifs, Exigeant en facteurs présents dans le sang, ils poussent sur la gélose au

sang cuit à la température de 35 - 37°C. Ils fermentent ou oxydent beaucoup de substrats organiques.

Les caractères biochimiques différentiels sont : ONPG+, oxydase+, nitrate réductase+, uréase et indole variables. (Pilet *et al*, 1987).

Produced with ScanTOPDF

## 1. Prélèvement

### 1.1. Mode de prélèvement :

Lors de ce prélèvement, il faudra différencier entre une otite interne, moyenne et externe.

Dans les deux premiers cas il s'effectuera par des médecins spécialistes en « ORL » ou il introduira un spéculum stérile après nettoyage du conduit et aspirera le pus à l'aide d'aspirateur de mucosité. (Delarras, 2007).

Dans le 3<sup>ème</sup> cas le prélèvement est fait par un écouvillon dans la partie incluse de l'oreille. (Kubak *et al*, 2006).

### 1.2. Condition de prélèvement :

L'échantillon est prélevé dans des conditions d'asepsie rigoureuses, elle doit être analysé dans un temps qui ne dépasse pas les 2 heures qui suivent le prélèvement. (Dubreuil, 2002).

### 1.3. Nature et période de prélèvement :

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie de département de biologie de l'université de Guelma, nous avons essayé de déterminer durant la période qui s'étend de mois d'Avril jusqu'à le mois de Mai 2011 (Tab.1) les germes responsables des otites.

Tab. 1. Nature et période des prélèvements réalisés.

Prélèvements	Sexe	Age	Date
Prélèvement 1	Femme	24	13/04/2011
Prélèvement 2	Femme	22	15/04/2011
Prélèvement 3	Homme	20	23/04/2001
Prélèvement 4	Femme	32	23/04/2011
Prélèvement 5	Enfant	06	23/04/2011
Prélèvement 6	Homme	45	25/04/2011
Prélèvement 7	Femme	61	30/04/2011
Prélèvement 8	Homme	42	02/05/2011
Prélèvement 9	Femme	24	05/05/2011

## 2. Analyse bactériologique

### 2.1. Enrichissement :

Après l'échantillonnage, les écouvillons doivent être émergés dans des tubes qui contiennent un bouillon nutritif d'enrichissement qui sont à leurs tours incubés à 37°C pendant 24h.

### 2.2. Isolement :

L'isolement se fait à partir du bouillon nutritif sur des milieux de cultures ordinaires, sélectifs ou enrichis tels que :

- Gélose nutritive qui convient à la culture des germes ne présentant pas des exigences particulières à des milieux sélectifs.
- Gélose Mac-Conkey est un milieu pour la recherche des entérobactéries, il contient le cristal violet qui inhibe la croissance des bactéries à Gram positive.
- Gélose Chapman est un milieu sélectif de Staphylocoques il contient une teneur élevée en NaCl qui inhibe la croissance de la plupart des germes sauf les bactéries halophiles et halotolérantes.
- Gélose au sang frais ou cuit pour les germes exigeants (Pierre *et al*, 2003).

### 2.3. Technique d'isolement :

#### ❖ Préparation de la gélose :

- Liquefier le contenu d'un flacon de milieu gélosé dans un autoclave à 120°C.
- Verser le contenu du flacon dans des boîtes de Pétri vides et stériles.
- Laisser les boîtes de Pétri à plat, sur la paillasse jusqu'à solidification du milieu de culture. (Avril *et al*, 1992).

#### ❖ Ensemencement :

- Prendre à l'aide d'une anse de platine stérile boutonnée deux gouttes de l'échantillon.
- Ensemencer la gélose en surface par la méthode des stries.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures à 48 heures. (Avril *et al*, 1992).

## 3. La recherche bactériologique

### 3.1. Examen macroscopique :

L'examen macroscopique permet d'observer des bactéries vivantes et donne des renseignements sur les caractères cultureux développés sur les milieux gélosés soit :

- **La taille** : petites colonies  $\leq 1\text{mm}$ , colonies moyennes (1.5 à 3 mm) ou grosses colonies  $\geq 3\text{mm}$ .
- **La forme générale** : bords circulaires, irréguliers, déchiquetés ou nappe.
- **Elévation** : colonies convexes, colonies légèrement convexes, colonies plates, bombés.
- **La surface** : colonies lisses, colonies rugueuses, colonies muqueuses.
- **La couleur** : colonies blanches, colonies jaunes, colonies roses, transparentes.

### 3.2. Examen microscopique

#### • Coloration de Gram

Cette technique permet de différencier entre les bactéries Gram négatif et Gram positif elle peut aussi déterminer les formes des bactéries et leurs arrangements cellulaires. (Delarras, 2007)

### Technique

- Prendre une lame propre et dégraissée ;
- Prélever une colonie sur gélose à l'aide d'une anse de platine stérile et déposer sur la lame ;
- Ajouter une goutte d'eau distillée stérile ;
- Effectuer un étalement par un mouvement circulaire et régulier à l'aide de l'anse de platine ;
- Sécher et fixer la suspension bactérienne par la chaleur ;
- Coloration par violet de Gentiane: couvrir tout le frottis avec ce colorant et laisser agir pendant 1 minute;
- Mordançage : fixer le violet de Gentiane en l'entraînant avec la solution de lugol et laisser agir pendant 1 min et 30 secondes ;
- Décoloration : décolorer à l'alcool pendant quelque secondes pour éliminer l'excès de colorant, puis rincer à l'eau ;
- Recoloration : recouvrir le frottis avec un deuxième colorant basique « fuchsine » et laisser agir pendant 30 secondes puis rincer à l'eau ;
- Séchage : faire sécher le frottis entre deux feuilles de papier absorbantes ; avant l'observation au microscope, déposer sur le frottis une goutte d'huile de cèdre et observer à l'objectif à immersion ( $\times 100$ ). (Balcells, 1993 ; Kubak *et al*, 2006 ; Denis *et al*, 2007).

### Lecture

- Les bactéries Gram positif gardent leur coloration violette après la décoloration par l'alcool.
- Les bactéries Gram négatif apparaissent roses après la décoloration par l'alcool.

### 3.3. Identification biochimique

#### ✓ Identification des entérobactéries

##### • Galerie API 20 E :

L'API 20 E est un système d'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles Gram (-), en utilisant 20 tests biochimiques standardisés et miniaturisés, ainsi qu'une base donnée. (Rouessac *et al*, 2004)

#### Principe :

La galerie API 20 E comporte 20 micro-tubes de substrats sous forme déshydratée. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification (Annexe) est obtenue à l'aide du tableau d'identification. (Balcells, 1993 ; Merzoug, 2009)

#### Technique:

##### a) Préparation de la galerie :

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- ✓ Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- ✓ Retirer la galerie de son emballage individuel et la déposer dans la boîte d'incubation. (Delarras, 2007)

##### b) Préparation de l'inoculum:

- ✓ Utiliser un tube contenant 5 ml d'eau distillée stérile, sans additifs ;
- ✓ Prélever à l'aide d'anse de platine, une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- ✓ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant les bactéries dans le milieu.

##### c) Inoculation de la galerie :

- ✓ Remplir tubes et cupules des tests
- ✓ Remplir uniquement les tubes des autres tests : CIT, GEL, VP
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H<sub>2</sub>S, en remplissant leurs cupules par l'huile de paraffine. (Fig.9)

**d) Lecture de la galerie :**

- ✓ Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture ;
- ✓ Noter sur la fiche de résultat, toutes les réactions spontanées. (Fig.10)

**Remarque :** Si le glucose est négatif et le nombre de tests positifs inférieur ou égal à 2 : ne pas ajouter les réactifs.

- Test VP : ajouter des gouttes des réactifs VP I et VP II, attendre au minimum 10 minutes.
- Test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA, lecture immédiate.
- Test IND : ajouter une goutte de réactif Kowacks, lecture immédiate

**e) Identification:**

- ✓ Avec le catalogue analytique, ou la disquette APILAB, il faut coder l'ensemble des réactions obtenues en un profil numérique. Sur la fiche de résultat, les tests sont séparés par groupe de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun.
- ✓ L'addition des chiffres à l'intérieur de chaque groupe correspond à un nombre bien déterminé et le classement des sept groupes donne un nombre à sept chiffres appelé Profil.
- ✓ Le catalogue analytique, et la disquette APILAB permettent d'identifier les profils des informations suivantes :
  - Nom de l'espèce à laquelle est identifiée la bactérie.
  - Valeur du pourcentage d'identification. (Kubak *et al*, 2006)



**Fig.9. La galerie API 20 E. (11)**

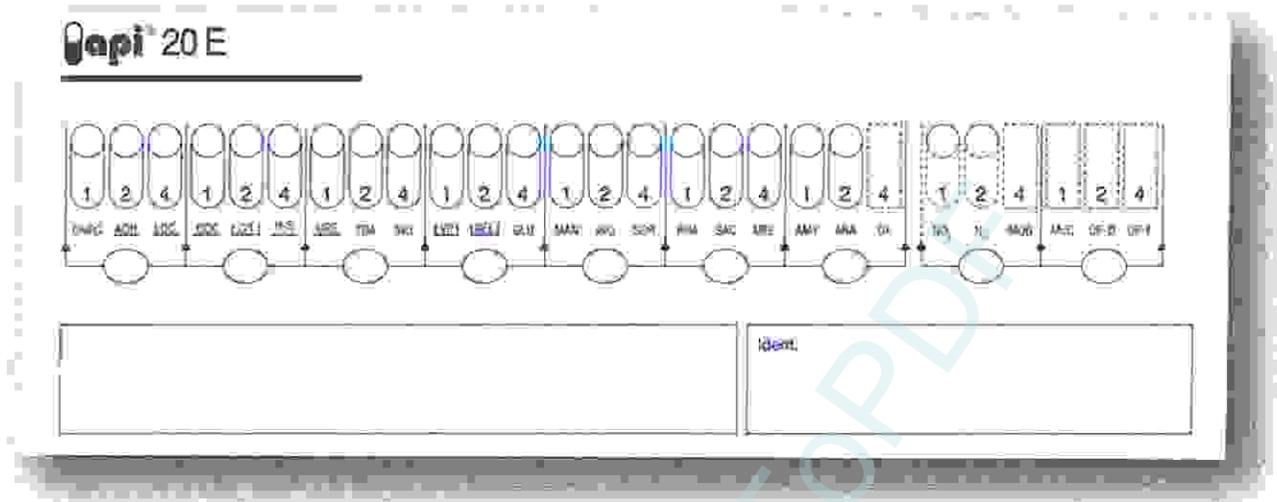


Fig.10. La fiche de la lecture. (11)

• **Galerie biochimique classique :**

Ce système est une technique réalisée pour l'identification biochimique des bactéries Gram négatif (les entérobactéries), elle comprend six milieux (trois solides et trois liquides). (Hart *et al*, 1997)

➤ **Milieu citrate de Simmons**

**But**

Le milieu de citrate de Simmons permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate de Simmons comme unique source de carbone. (Antoine, 2001)

**Technique**

- Ensemencer la pente du milieu en tube par des stries d'une culture prélevée sur milieu gélosé;
- Incuber à 37°C pendant 24 heures. (Delarras, 2007)

**Lecture**

- \* culture avec bleuissement du milieu → Citrate +
- \* Ni culture ni bleuissement du milieu → Citrate - (Fig.11)

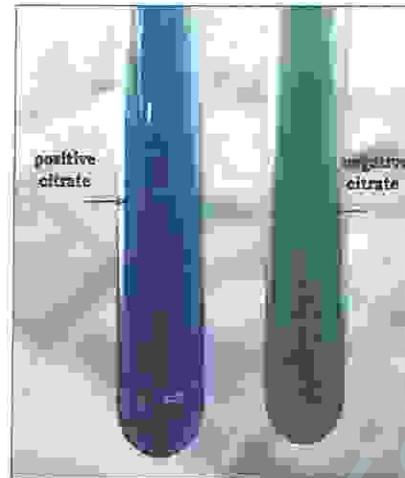


Fig.11. Milieu citrate de Simmons. (9)

➤ **Milieu Triple Sugar Iron Agar (TSI)**

**But**

C'est un milieu complexe qui permet de mettre en évidence la fermentation du glucose avec ou sans dégagement gazeux, du lactose, du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré. (Antoine, 2001).

**Technique**

- Ensemencer à partir d'une culture sur milieu gélosé la pente du tube par des stries, puis réaliser une piqure centrale au fond du tube ;
- Revisser la capsule sans la bloquer ;
- Incuber à 37°C pendant 24 heures. (Delarras, 2007).

**Lecture**

- |                               |   |                    |
|-------------------------------|---|--------------------|
| • Culot jaune                 | → | Glucose +          |
| • Culot inchangé (rouge)      | → | Glucose -          |
| • Milieu jaune                | → | Saccharose +       |
| • Milieu inchangé (rouge)     | → | Saccharose -       |
| • Pente jaune                 | → | Lactose +          |
| • Pente inchangé (rouge)      | → | Lactose -          |
| • Noircissement du milieu     | → | H <sub>2</sub> S + |
| • Bulles d'air ou décollement | → | Gaz + (Fig.12)     |

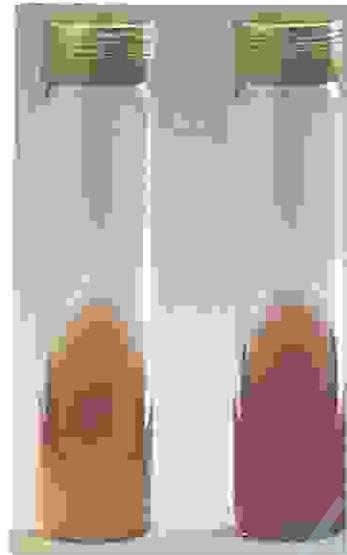


Fig.12. Milieu TSI. (9)

➤ **Milieu Mannitol- Mobilité :**

**But**

Il permet de manifester simultanément la mobilité et l'utilisation d'un sucre mannitol. (Avril *et al*, 1992).

**Technique**

- Ensemencer le tube de gélose Mannitol- Mobilité par piqûre centrale avec la souche à tester ;
- Incuber à l'étuve à 37°C pendant 18-24 heures. (Delarras, 2007).

**Lecture**

- Mannitol : Milieu de couleur rouge —————→ Mannitol -  
Virage au jaune —————→ Mannitol +
- Mobilité : Développement le long de la piqûre —————→ Mobilité -  
Trouble du milieu —————→ Mobilité + (Fig.14)

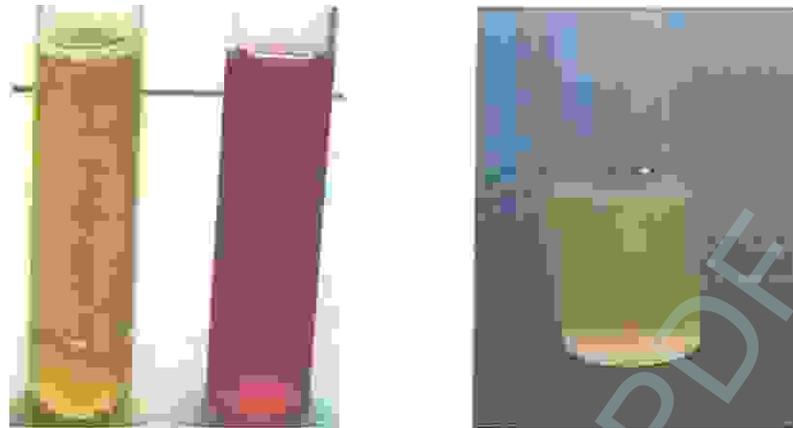


Fig.13. Milieu Mannitol-mobilité. (10)

➤ **Milieu Eau peptonée exempte d'indole :**

**But**

C'est un milieu à usage multiple qui permet la recherche de la production d'Indole et de Tryptophane Désaminase (TDA) (Rouessac *et al*, 2004).

**Technique**

- Ensemencer le tube à partir d'une culture du milieu gélosé par la souche étudiée ;
- Incuber à 37°C pendant 18-24 heures ;
- Après l'incubation, partager le contenu de tube à deux tubes à essai vides et stériles.

**Lecture**

Tab.2. Lecture du test d'indole et de TDA.

Lecture après l'addition des réactifs		
Test d'indole	Sur le 1 <sup>er</sup> tube : addition de réactif de Kowacks	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formation d'anneau rouge</li> <li>• Milieu inchangé (Fig.14)</li> </ul>	Idole + Idole -
Test de TDA	Sur le 2 <sup>ème</sup> tube : addition de réactif de TDA	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Coloration brune rouge</li> <li>• Coloration jaune orangé (Fig.15)</li> </ul>	TDA + TDA -

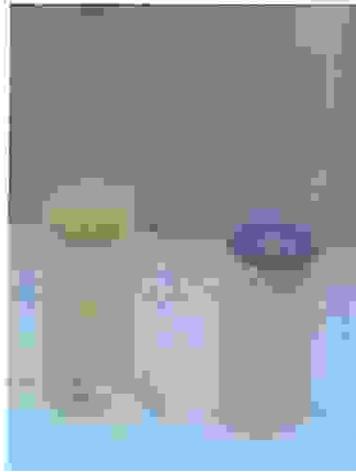


Fig.14. Test d'indole. (15)



Fig.15. Test de TDA. (15)

➤ **Milieu de bouillon Nitraté :**

**But**

Ce milieu permet de mettre en évidence, que certains bactéries aérobies ont une particularité de vie anaérobie par la synthèse d'une enzyme nitrate réductase. (Rouessac *et al*, 2004).

**Technique**

- Inoculer le bouillon avec une colonie de la bactérie à étudier ;
- Incuber à 37°C pendant 18-24 heures ;
- Ajouter respectivement 2 gouttes de deux réactifs nitrate réductase I et II, (Delarras, 2007).

**Lecture**

- Réactif positif                      → Rougissement immédiate du milieu.
- Réactif négatif                      → Absence de coloration.

### ➤ Milieu Clark et Lubs :

#### Rut \*

Ce milieu permet la mise en évidence du type fermentaire de la bactérie. Il différencie entre la fermentation butane diolique et les fermentations des acides mixtes.

Deux réactions permettent de préciser la voie de fermentation du glucose utilisé, qui sont :

- La réaction de Voges-Proskawer : mise en évidence la l'acétyl-méthyl-carbinol (AMC).
- La réaction au rouge de méthyle : mise en évidence la fermentation des acides mixtes. (Rouessac *et al*, 2004).

#### Technique :

- Inoculer un tube de ce milieu avec une colonie prise sur gélose de la souche à tester ;
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures. (Delarras, 2007).

- **Réaction de Voges –Proskawer (VP) :**

Après 24 heures de culture, rechercher l'AMC suivant la technique de Barrit :

- Prélever 1 ml de milieu de Clark et Lubs ;
- Ajouter 0,5 ml de VPI et 0,5 ml de VPII;
- Agiter et attendre 15 minutes. (Delarras, 2007).

#### Lecture :

- Coloration rouge → VP + → AMC + (Acétoine +)
- Milieu incolore → VP - (Fig. 16)

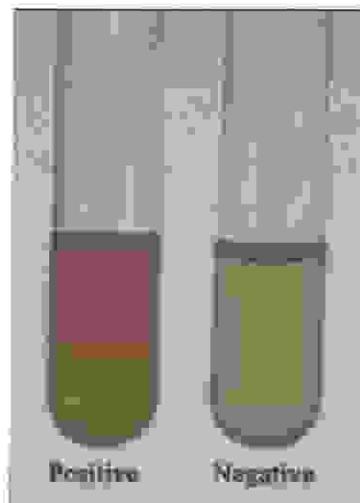


Fig.16. La réaction de Voges-Proskawer (VP). (13)

• Réaction au rouge de méthyle (RM) :

- Ajouter une ou deux gouttes d'une solution de rouge de méthyle à 0,5% dans l'alcool à 60 %. (Hart *et al*, 1997).

Lecture :

- Coloration rouge du milieu → réaction RM+ soit un  $\text{pH} \leq 5$
- Coloration jaune du milieu → réaction RM- soit un  $\text{pH} \geq 5,8$  (Fig. 17)

**NB :** Forcément, une souche qui est RM (+) habituellement VP(-) et vice vers ça.

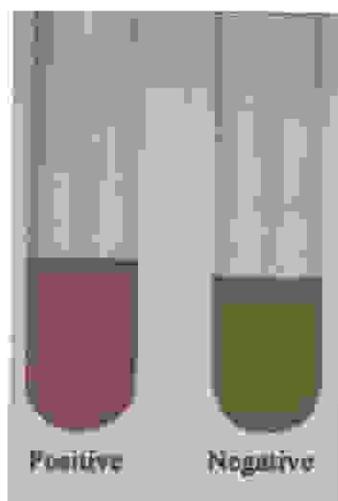


Fig.17. La réaction au rouge de méthyle (RM). (13)

### Recherche de la catalase

Elle a pour but la classification des bactéries aérobies, et plus spécialement la différenciation entre les cocci-formes (les staphylocoques, les streptocoques).

#### Principe

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et aussi, anaérobies facultatives. Cette enzyme permet la décomposition de l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène moléculaire.

Cette réaction est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d' $H_2O_2$  : une goutte d' $H_2O_2$  est placée sur une lame propre en présence d'un échantillon de culture solide (colonie).

Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduisant la décomposition d' $H_2O_2$  sous l'action de la catalase. (Fig.18) (Balcells, 1993).

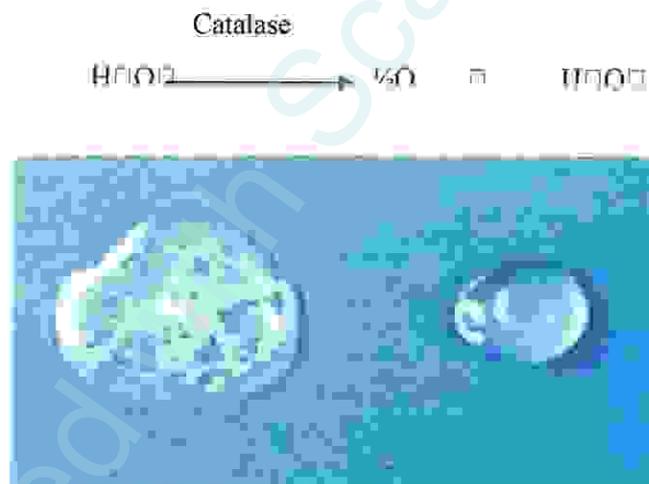


Fig.18. La catalase. (9)

#### ✓ Identification des staphylocoques :

Pour l'identification et la différenciation entre les staphylocoques, il faut réaliser les trois tests suivants : Catalase ; Mannitol et Coagulase (Tab.3) (Pierre *et al*, 2003).

Tab.3. Les principaux staphylocoques isolés en microbiologie. (Sayad, 2008 ; Merzoug, 2009).

Staphylocoque	<i>aureus</i>	<i>Intermedius</i>	<i>saprophyticus</i>	<i>epidermidis</i>
Catalase	+	+	+	+
Coagulase	+	+	-	-
Mannitol en anaérobie	+	-	-	-
Résistance à la Novobiocine (5 Micro-gr)	S	S	R	S

• Test de staphylocoagulase :

**But :**

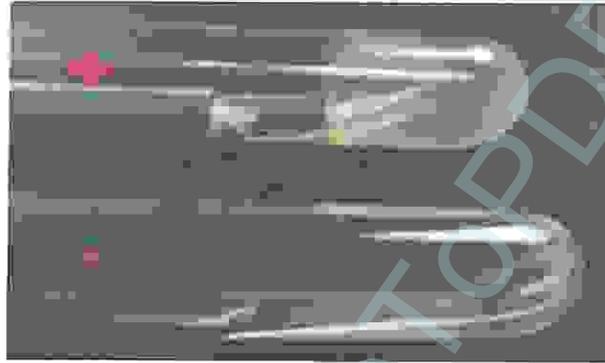
Il a pour but de déterminer la pathogénicité d'un staphylocoque. Les espèces de ce genre sécrètent une enzyme ; la staphylocoagulase qui a la propriété de coaguler le plasma. (Delarras, 2007).

**Technique :**

- A partir d'un milieu de Chapman, prendre une colonie à tester et la mettre dans un bouillon nutritif ;
- Placer le bouillon nutritif à l'étuve à 37°C pendant 18 - 24 heures ;
- Mélanger dans un tube à hémolyse stérile 0,5ml de plasma oxalaté de lapin réhydraté(ou plasma humain) et 0,5ml de bouillon de culture ; (Fig.19)
- Agiter et porter à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures. (Avril *et al* ,1992).

**Lecture:**

- ✓ Coagulation du plasma → Coagulase +
- ✓ Absence de coagulation → Coagulase -



**Fig.19. La staphylocoagulase. (12)**

**Identification des Streptocoques :**

- **Test d'hémolyse :**

Ce test est effectué sur une gélose au sang cuit qui permet la mise en évidence le type d'hémolyse  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  (Tab.4) (Kubak *et al*, 2006).

**Technique :**

- Ensemencer la boîte de gélose de sang cuit par des stries à partir de bouillon nutritif.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures, couvercle vers le bas dans une jarre microbiologique.

## Lecture:

Tab.4 : Les types d'hémolyse.

Colonies	Type d'hémolyse	Présentation de l'espèce
-Large auréole claire hémolyse complète bord net	Streptocoque $\beta$ - hémolyse : =hémolyse $\beta$	<i>Streptocoque pyogènes.</i>
-Halo étroit hémolyse incomplète verdissement (méthémoglobine)	Streptocoque dit «viridans» : =hémolyse $\alpha$	<i>Streptocoque pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecium.</i>
-Sans hémolyse	Streptocoque non Hémolytique : = hémolyse $\gamma$	Plusieurs espèces.

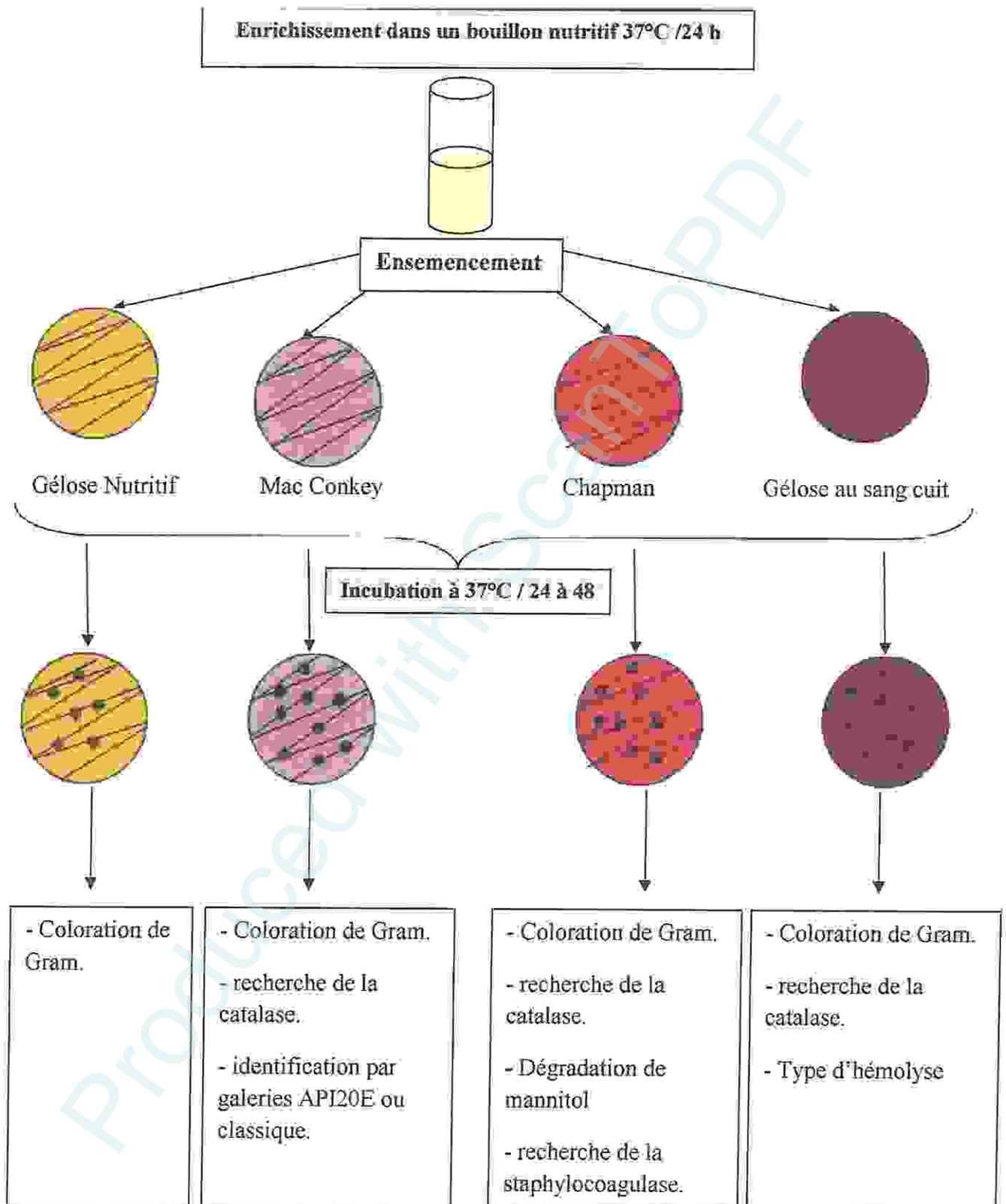


Fig.20. Schéma de la méthodologie suivie dans notre étude.

# Chapitre III

Produced by ScantOPDF

Durant la période d'étude, on a réalisés 09 prélèvements, les résultats obtenus sont représentés sous forme des figures tableaux.

**1. Aspect macroscopique : (après isolement)**

Plusieurs critères sont mis en évidence par l'étude de l'aspect macroscopique des colonies telles que la forme, couleur, leurs diamètres ....etc.

Après l'isolement, l'observation macroscopique des boîtes cultivées a révélée des colonies de plusieurs formes. (Figs.17, 18, 19 et 20).

Les résultats sont démontrés dans le tableau ci-dessous.

**Tab.5 : Résultats de l'étude macroscopique des colonies isolées.**

Malade	Gélose	Opacité	couleur	Diamètre	Contour	Forme
1	Gélose nutritive (GN)	Opaque	Jaune	2mm	Dentelée	Plate
	Mac-Conkey (M-C)	Translucide	Blanche	1 mm	Lisse	Bombée
	Gélose au sang cuit(GSC)	Opaque	Blanche	≥ 1 mm	Irrégulier	Plate
	Chapman (Chap)	Opaque	Blanche	2 mm	Dentelée	Bombée
2	Gélose nutritive (GN)	Transparente	Blanche	1 mm	Lisse	Plate
	Mac-Conkey (MC)	Acide	Rose	3 mm	Lisse	Elevée
	Gélose au sang cuit	Opaque	Blanche	1 mm	Régulier	Plate
	Chapman (CH)	Opaque	Blanche	3 mm	Lisse	Bombée
3	Gélose nutritive (GN)	Opaque	Blanche	1 mm	Lisse	Plate
	Mac-Conkey (MC)	Opaque	Marron	1 mm	Rigoureux	Bombée
	Gélose au sang cuit	Opaque	Gris	≥ 1 mm	Irrégulier	Plate
	Chapman (CH)	Opaque	Jaune	3 mm	Lisse	Bombée
4	Gélose nutritive (GN)	Transparente	Jaune	2mm	Lisse	Plate
	Mac-Conkey (MC)	Opaque	Rose	1 mm	Lisse	Semi-bombée
	Gélose au sang cuit			-		
	Chapman (CH)			-		
5	Gélose nutritive (GN)	Opaque	Jaune	≥ 1 mm	Dentelée	Plate
	Mac-Conkey (MC)	Opaque	Blanche	1 mm	Dentelé	Plate
	Gélose au sang cuit	Opaque	Marron	2 mm	Irrégulier	Nappe

	Chapman (CH)	Opaque	Rose	$\geq 1$ mm	Lisse	Plate
6	Gélose nutritive (GN)	Opaque	Jaune	1 mm	Lisse	Plate
	Mac-Conkey (MC)	Translucide	Rose	$\geq 1$ mm	Lisse	Bombée
	Gélose au sang cuit	Opaque	Gris	1 mm	Lisse	Plate
	Chapman (CH)	Opaque	Jaune	1 mm	Lisse	Plate
7	Gélose nutritive (GN)	Opaque	Incolore	$\geq 1$ mm	Lisse	Plate
	Mac-Conkey (MC)	Translucide	Rose	1 mm	Rigoureux	Bombée
	Gélose au sang cuit					
	Chapman (CH)					
8	Gélose nutritive (GN)	transparente	Jaune	2mm	Lisse	plate
	Mac-Conkey (MC)					
	Gélose au sang cuit	opaque	Blanche	1 mm	Irrégulier	plate
	Chapman (CH)		Blanche	$\geq 1$ mm	Lisse	Bombée
9	Gélose nutritive (GN)	blanche légèrement opaque	Jaune	1 mm	Lisse	plate
	Mac-Conkey (MC)	Translucide	Rose	1 mm	Lisse	élevée
	Gélose au sang cuit			Aucun résultat		
	Chapman (CH)			Aucun résultat		



Fig.21. Aspect des colonies sur le milieu Mac-Conkey.



Fig.22. Aspect des colonies sur le milieu Chapman.

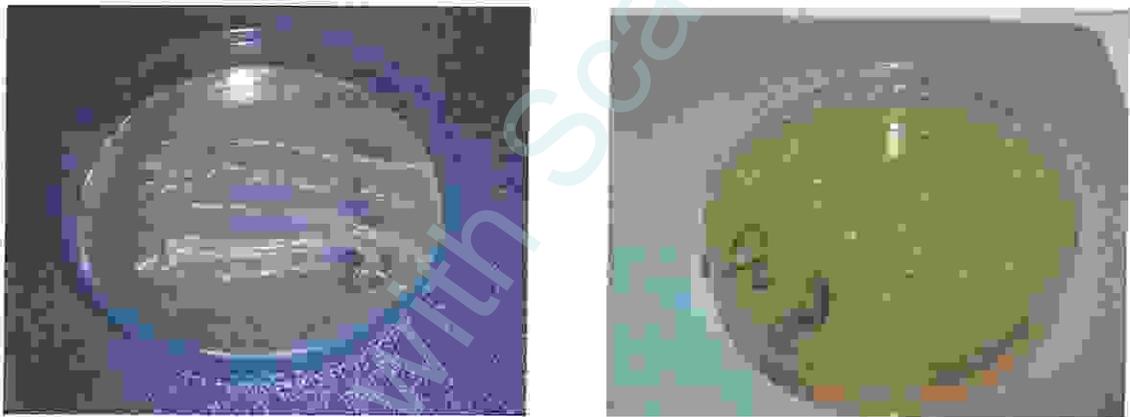


Fig.23. Aspect des colonies sur le milieu GN.

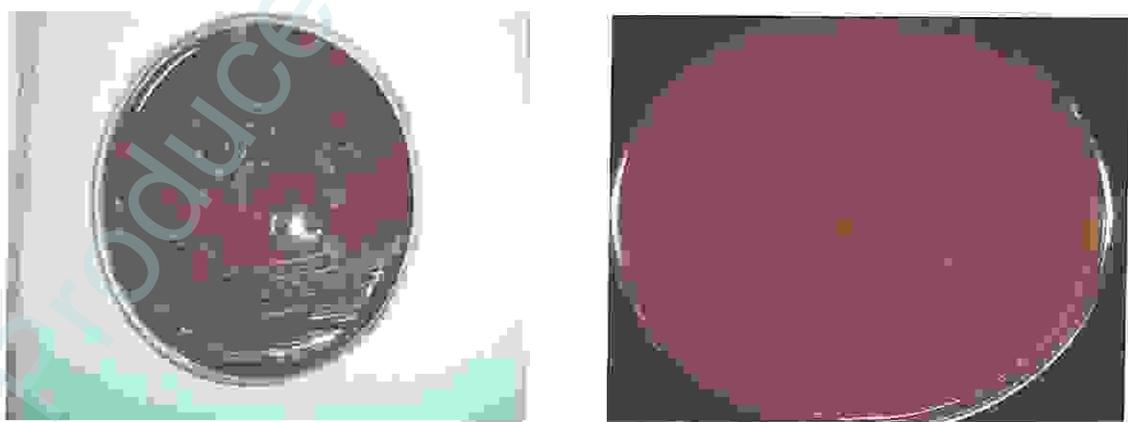


Fig. 24. Aspect des colonies sur la gélose au sang cuit.

## 2. Aspect microscopique (Coloration de Gram):

D'après la coloration de Gram des colonies prélevées des différents milieux (GN, GSC, M-C, Chap)

L'observation microscopique a permis d'observer des bacilles à Gram négatif colorées en rose et des Cocci (monocoque, diplocoque, en chaînette ou en Grappe de raisin) à Gram positif colorées en violet. (Figs.21 et 22).

Le tableau suivant (Tab.6) résume les résultats obtenus après la coloration.

Tab.6 : Résultats de l'étude microscopique.

Caractère Milieux	Gram Négatif (-)	Gram Positif (+)
<b>Malade 1 :</b>		
- Gélose nutritive	- Bacille	-Cocci (Diplocoque)
-Gélose au sang cuit	- Bacille	- Chaînette de Cocci
- Mac-Conkey	- Bacille	/
- Chapman	/	-Monocoques et Diplocoques
<b>Malade 2 :</b>		
Gélose nutritive	- Bacille	- Cocci
- Gélose au sang cuit	- Bacille	- Cocci
- Mac-Conkey	- Bacille	/
- Chapman	/	- Cocci (Grappe de raisin)

<b>Malade 3 :</b>		
Gélose nutritive	- Bacille	- Cocci
- Gélose au sang cuit	/	/
- Mac-Conkey	- Bacille	/
- Chapman	/	- Cocci
<b>Malade 4 :</b>		
Gélose nutritive	- Cocci	/
- Gélose au sang cuit	- Cocci	/
- Mac-Conkey	/	/
- Chapman	/	/
<b>Malade 5 :</b>		
Gélose nutritive	- Bacille	- Cocci (Monocoque et Diplocoque)
- Gélose au sang cuit	- Bacille	- Cocci
- Mac-Conkey	- Bacille	- Cocci (Monocoque et Diplocoque)
- Chapman	/	/
<b>Malade 6 :</b>		
Gélose nutritive	- Bacille	- Cocci (Diplocoque)
- Gélose au sang cuit	- Bacille	- Cocci
- Mac-Conkey	- Bacille	/
- Chapman	/	-- Cocci (Diplocoque)

<b>Malade 7 :</b>		
Gélose nutritive	- Coccobacille	/
- Gélose au sang cuit	/	- Cœci (Chainette)
- Mac-Conkey	- Coccobacille	/
- Chapman	/	/
<b>Malade 8 :</b>		
Gélose nutritive	/	- Cœci (Monocoque et Diplocoque)
- Gélose au sang cuit	/	/
- Mac-Conkey	/	/
- Chapman	/	- Cœci (Monocoque et Diplocoque)
<b>Malade 9 :</b>		
- Gélose nutritive	- Bacille	/
- Gélose au sang cuit	/	/
- Mac-Conkey	- Bacille	/
- Chapman	/	/

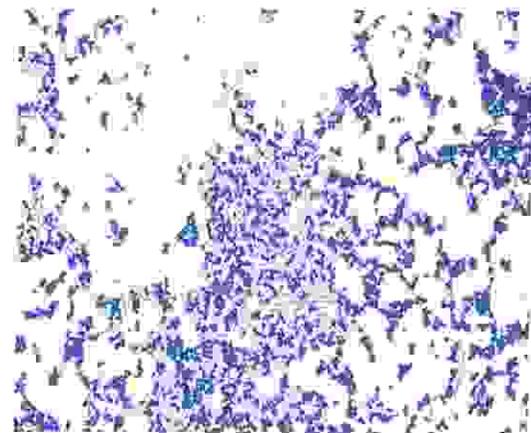
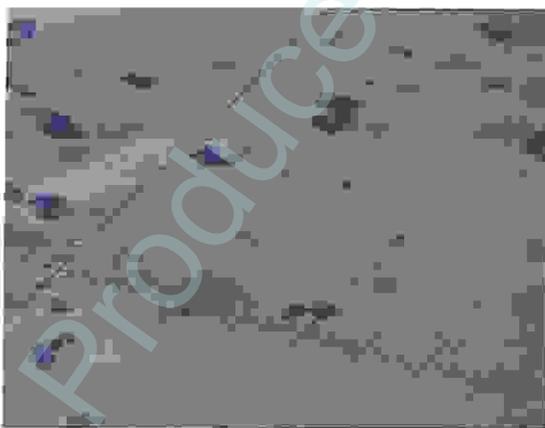


Fig.25. Aspect des bactéries cocci Gram(+)

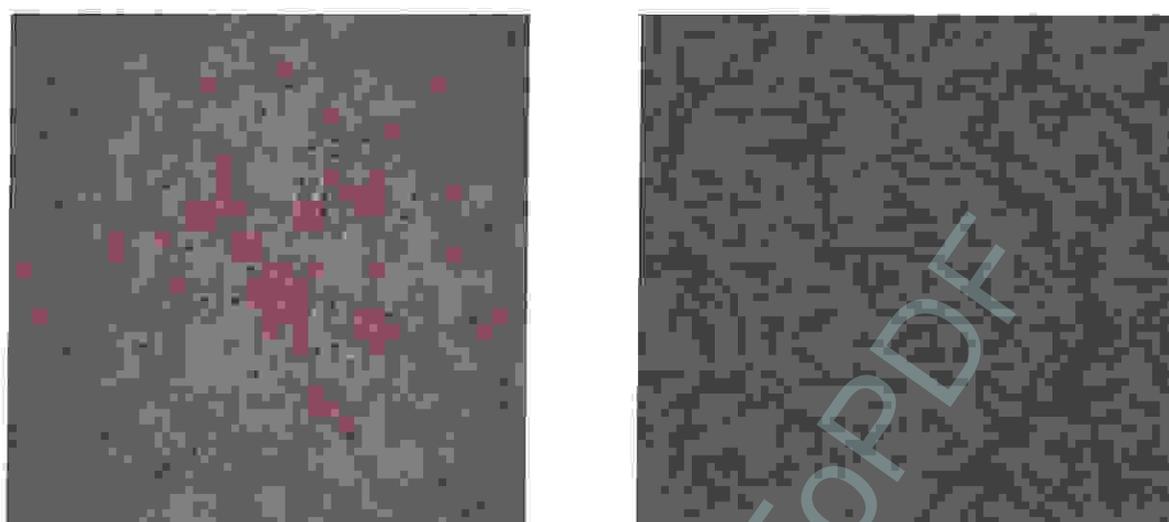


Fig.26. Aspect des bactéries Bacilles Gram (-)

### 3. Résultats d'identification par API 20 E :

Après l'identification biochimique des colonies isolées du milieu Mac-Conkey par API 20 E, on a obtenu deux codes différents représentant deux espèces bactériennes différentes. *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas oryshatans*. (Fig,23)

Tab.7 : Résultats de la galerie API 20 E

Code de galerie	Bactéries
3.367.513	<i>Enterobacter cloacae</i>
0.200.000	<i>Pseudomonas oryshatans</i>

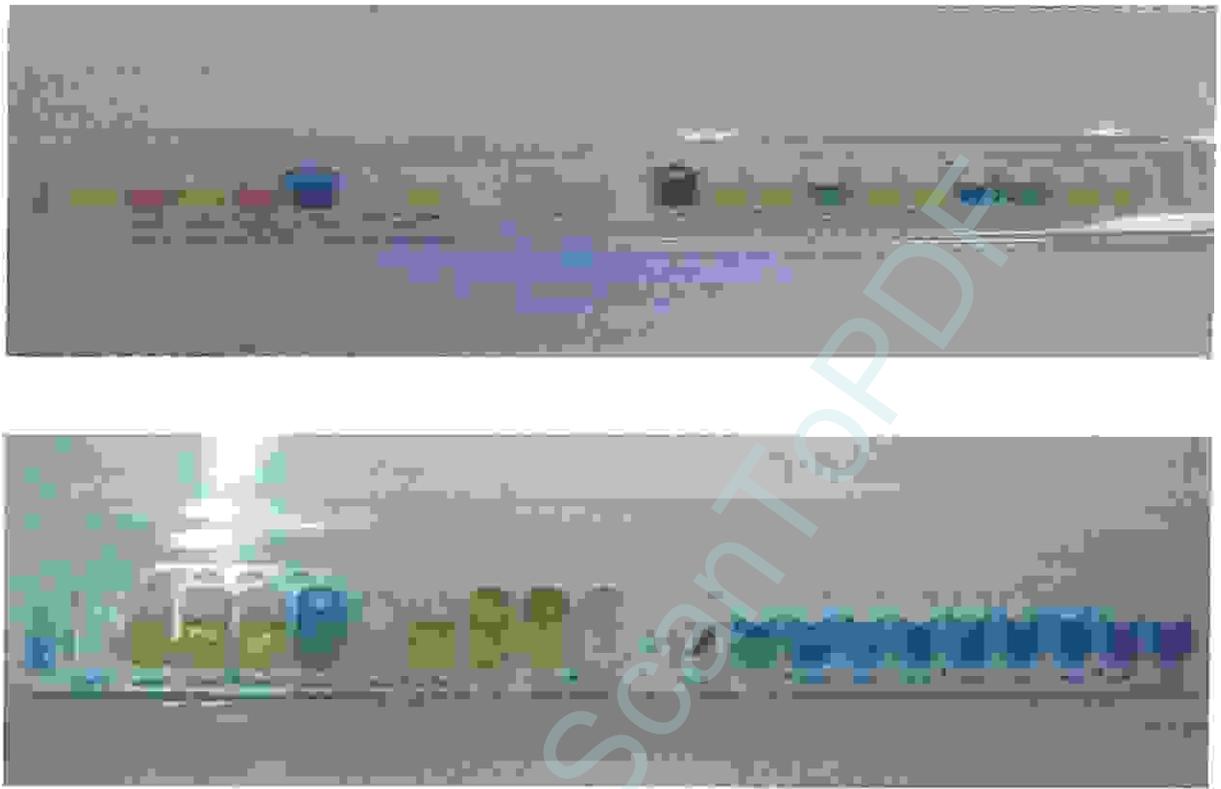


Fig.27. Résultats des API 20 E.

4. Identification par galerie biochimique classique :

D'après la lecture des galeries classique (Fig.24) effectuées pour les colonies prélevées du milieu de Mac-Conkey de 06 prélèvements positif, on a pu isolé 05 espèces différentes qui sont : *Enterobacter aërogènes* ; *Serratia* ; *E-coli* ; *Bordetella pertussis* ; *Pseudomonas aeruginosa*.

Tab.8 : Résultats de la galerie biochimique classique.

Milieu	TSI					Citrates de Simmons	Mannitol-mobilité		Bouillon nitraté	Clark et lubs		Eau peptonée Exempte d'indole		Caractères / Espèces
	Glu	Sacc	Lac	H <sub>2</sub> S	Gaz		Citrate	Mannitol		Mobilité	Nitrate	VP	RM	
MC1	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	<i>Serratia</i>
MC2	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	<i>E-coli</i>
MC3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	<i>Bordetella pertussis</i>
MC4	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MC5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MC6	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	<i>Enterobacter aërogènes</i>

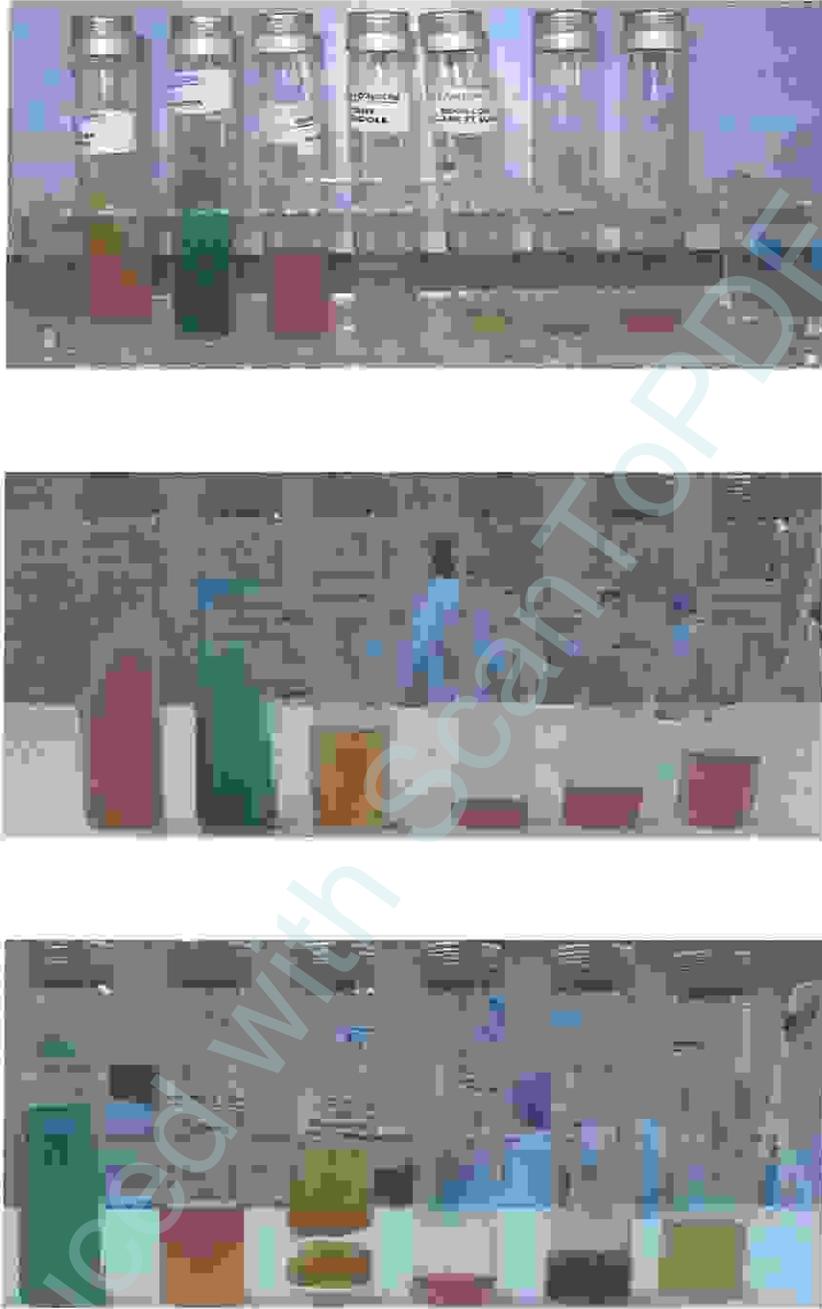


Fig.28. Résultats des galeries classiques.

### 5. L'identification des staphylocoques :

Après l'identification des colonies prélevées du milieu Chapman par les tests de catalase, Coagulase et le mannitol (Tab.9), on a identifié deux espèces des staphylocoques responsables de l'infection dans 06 prélèvements dont :

- ✓ *Staphylococcus epidermidis*
- ✓ *Staphylococcus intermedius*

Tab.9 : Résultats d'identification des staphylocoques.

Tests prélèvements	Mannitol	Coagulase	catalase	espèces
Pré 1	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Pré 2	+	-	+	<i>Staphylococcus intermedius</i>
Pré 3	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Pré 5	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Pré 6	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Pré 8	-	-	+	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

## 6. Résultats d'identification des Streptocoques

Dans le sixième prélèvement on a obtenues des colonies sur gélose au sang cuit à catalase négatif avec absence d'hémolyse se sont des *Streptocoques* non hémolytique



Fig.29. Aspect des streptocoques non hémolytique ().

# Conclusion

Produced by  
ScantOPDF



# Références bibliographiques

## Références

- Ait Abed ouahab. (2007).** Microbiologie alimentaire .*OFFICE DE PUBLICATION UNIVERSITAIRE*. 147p.
- Pierson Antoine. (2001).** Biologie clinique. *FLAMMARION*. 230p.
- Asbl. (2000).** Otite moyenne aigue. *SSMG-IRE*. 31p.
- Ayache et al. (2001).** ORL. *ESTEN*. 250p.
- Avril J et Dabernar H et Denis F. (1992).** Bactériologie clinique. *ELLIPSES*. 505p
- Badara. (1998).** Etude bactériologique des prélèvements de la sphère ORL. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Davar. 77p.
- Balcells A. (1993).** Examen de laboratoire pour le praticien. *MASSON*. 112p.
- Bensoussan L. (2008).** ORL. Ophtalmologie. *ELLIPSES*. 158p.
- Berche P et Grenier B. (2003).** Bactériologie systématique. *DUNOD*. 94p.
- Bobin S. (2007).** Pathologie chirurgicale du meatus acoustique externe. *UFR PARIS*. 327p.
- Bonsignor et al. (2008).** Les maladies de l'oreille .*POINT VETERINAIRE* .236p.
- Bourrée. (2008).** Les maladies infectieuses .*BOOCK SECUNDAIR* .384p.
- Brahimi L. (2007).** Contribution à l'étude bactériologique de la conjonctivite. Mémoire d'ingénieur. Université 8 mai 1945, Guelma. 53p.
- Broca B. (2010).** Anatomie chirurgicale et médecine opératoire de l'oreille moyenne. *DUNOD*. 68p.
- Cour de Bactériologie. DCEMI (2002-2003).** Hopital. Fac. Université Paris. 122p.
- Cycler B., (2009).** Nez, Gorge, Oreille en médecine. *SPINGER*. 124p.
- Delarras Camille. (1998).** Microbiologie (90 heures de travaux pratiques). *GAETAN MORIN*. 276p.
- Delarras Camille. (2007).** Microbiologie pratique pour laboratoire. *LA VOISIER*. 476p.
- Denis A et Quentin R et Bingen E. (2001).** ORL. *ELSEVIER MASSON*. 112p.
- Denis F. (2007).** Bactériologie médical. *ELSEVIER MASSON*. 573p.
- Devulder S. (2002).** Médecine interne. *ELLIPSES*. 441p.
- Diop A., (2001).** Etude bactériologique des otites moyennes chroniques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Davar. 71p.
- Dubreuil J., (2002).** ORL pour les praticiens. *ELSEVIER MASSON*. 333p.

## Conclusion

L'homme dispose de cinq sens qui transmettent au cerveau les renseignements sur le milieu qui l'entoure, sans eux, il ne ressentirait rien.

Chaque sens fonctionne grâce à une partie du corps : on voit avec les yeux, on touche avec la peau, on sent les odeurs avec le nez, on goûte avec la langue et on entend avec les oreilles.

L'oreille est l'organe de l'ouïe, donc c'est la porte d'entrée des bruits et sons qui nous entourent ; Elle a deux fonctions majeures qui sont : l'audition et l'équilibre; elle se compose de trois parties : l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne.

L'oreille peut être atteinte par plusieurs types d'otites, qui sont à l'origine de graves accidents auriculaires dans plusieurs cas.

Les otites sont des inflammations infectieuses de l'oreille liée le plus souvent à une anomalie de drainage de la trompe d'Eustache consécutive à une infection du naso-pharynx qui s'étend à l'oreille. Elle est caractérisée par la présence locale d'un exsudat ou de pus.

L'otite n'est pratiquement jamais primitive, elle est issu généralement d'une infection virale du naso-pharynx ou plus rarement une stimulation antigénique chez les personnes allergiques.

L'étude sur la bactériologie des otites, nous a permis de démontrer que les bactéries les plus responsables de cette maladie inflammatoire et les plus répandues, sont :

- Les Entérobactéries (*Entérobacter aérogène*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Bordetella pertussis*, *Serratia*), qui sont une famille hétérogène pour leur pathogénicité.
- Les Staphylocoques (*Staphylococcus épéidermidis*, *Staphylococcus intermidius*).
- Les streptocoques (*Streptocoque non hémolytique γ*).
- *Pseudomonas aerogenosa* et *Pseudomonas oryisihatans*.

Devant la grande diversité des bactéries causant des otites, il est impératif d'effectuer à chaque fois un test antibiogramme.

Une fois diagnostiquée avec certitude, l'otite appelle un traitement antibiotique bien ciblé qui diminue la durée de la période symptomatique et annihile les complications.

Produced with ScanTOPDF

## Perspective

Il faut éviter la succession d'infections naso-pharyngées chez le jeune enfant parce qu'elle entraîne un gonflement de la muqueuse et des végétations adénoïdes, qui obstruent bientôt la trompe.

Il faut éviter la déglutition en position couchée, parce qu'elle est une autre circonstance favorisante dénoncée chez les nourrissons qu'on laisse boire dans cette position.

Le choix des ATB repose sur le genre des bactéries, sa localisation dans l'oreille, le type d'otite, l'âge du malade et son état sanitaire (l'allergie).

Il est important de continuer à développer les activités d'hygiène pour que les sites qui hébergent la plus grande variété de germes pathogènes, ne contribuent pas à leur dissémination.

Produced with Scantopdf

## Résumé

L'oreille est un organe du Corps humain, elle représente le sens de l'ouïe, et peut être exposée aux otites, qui diffèrent d'une partie à une autre.

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire bactériologique de l'université de Guelma 8 Mai 45 durant tout le moi d'avril et la première moitié du moi de mai 2011, neuf échantillons ont été étudié pour isoler et diagnostiquer les bactéries responsables.

Cette étude nous a permis de déterminer que l'otite touche les différents âges et les deux sexes. Les principales bactéries déterminées sont :

- Les entérobactéries (*Entérobacter aérogène*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Bordetella pertussis*, *Serratia*)
- Les staphylocoques (*Staphylococcus épédermidis*, *Staphylococcus intermidius*)
- Les streptocoques (*Streptocoque non hémolytique  $\gamma$* )
- Les *Pseudomonas* (*Pseudomonas aerogenosa* et *Pseudomonas orysihatans*).

Il est nécessaire de procéder au test d'antibiogramme pour connaître l'antibiotique le plus efficace.

**Mots clés :** Oreille, otite, bactéries responsables.

## المخلص

الأذن هي عضو من أعضاء الإنسان الخاصة بحاسة السمع، والتي يمكن أن تصاب بمرض بكتيري يدعى الصمم الأذني الذي ينقسم إلى أنواع حسب المنطقة المصابة في الأذن .

تمت دراستنا التجريبية في مخبر الأحياء الدقيقة بجامعة قلمة 8 ماي 1945 على طوال شهر أفريل و النصف الأول من شهر ماي 2011 حيث قمنا بأخذ 9 عينات لمرضى مصابين بهذا المرض وذلك من أجل عزل و تشخيص أنواع البكتيريا المسؤولة.

هذه الدراسة بينت أن الصمم الأذني يصيب مختلف الأعمار و الجنسين. و من أهم الأنواع البكتيريا المعزولة:

البكتيريا العنقودية، البكتيريا السابحة، البكتيريا الداخلية و *Pseudomonas*

و من الضروري متابعة هذه الدراسة باختبارات المضادات الحيوية لاختيار المضاد الحيوي الأكثر فعالية.

الكلمات المفتاح: الأذن، الصمم الأذني، تشخيص أنواع البكتيريا المسؤولة.

Produced with Scantopdf

- Ganong W. (2005).** Physiologie médicale. *LAMARRE*. 849p.
- Hart Tony et Shears Paul. (1997).** Atlas de poche de Microbiologie *Flammarion*. 320p.
- Institut Pasteur. (1978).** Les milieux et réactifs de laboratoire Pasteur. *PUBLIFAB*. 575p.
- Institut Pasteur. (2003).** Bactériologie. Faculté de médecine. 122p.
- Kubak M. (2006).** Guide d'examen biologique. *LAMARRE*. 543p
- Legent. (2003).** ORL, Pathologie cervico-faciale. *MASSON*. 361p.
- Merzoug SE. (2009).** Etude de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau de Garaet Hadj-Taher (Benazzouz, W.de Skikda). Mémoire de Magister. Université 8 mai 1945, Guelma. 113p.
- Mouneret. (1977).** Les otites Séro-Muqueuses. *IMPRIN SERVICE*. 178p.
- Pebret F. (2003).** Les maladies infectieuses tout les pathologies des études médicales ou paramédicales. *HEURE DE FRANCE*. 590p.
- Perchère J.C et Nihoul E. (1982).** Traité des maladies de l'oreille et de l'audition. *MASSON*. 154p.
- Perino L. (2009).** L'otite externe. *ACB*. 420p.
- Pierson Antoine. (2001).** Biologie clinique. *FLAMMARION*. 230p.
- Pilet C. (1987).** Bactériologie médical et vétérinaire (systématique bactérienne). *DOIN*. 371p.
- Rouessac F. (2004).** Analyse chimique. *DUNOD*. 462p.
- Sayad L. (2008).** Qualité physico-chimique et bactériologie des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (W de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 125p.
- Yannick G. (2001).** L'otite du nageur. *LE CLINICIEN*. 89p.

### Webographie

- (1) Anatomie de l'oreille humaine — Akustika  
<http://www.akustika.ch/fr/.../anatomie-des-menschlichen-ohrs-1>. (6/2009).
- (2) fonctionnement oreille et audition  
[http://www.anso.pagesperso-orange.fr/page\\_le\\_fonctionnement](http://www.anso.pagesperso-orange.fr/page_le_fonctionnement). (3/2010).
- (3) Oreille - Sciences  
<http://www.resume.liberation.fr/sciences/oreille>. (5/1998).

(4) **L'OTITE**

[http://www.manounoudamour.e-monsite.com/rubrique\\_l-otite\\_1255183](http://www.manounoudamour.e-monsite.com/rubrique_l-otite_1255183). (12/2004).

(5) **Otitis Récidivantes - Lecture d'un article**

<http://www.otites-recidivantes.infos.st/lecture>. (11/2011).

(6) **Xavier G (2006).**L'otite moyenne et externe.

<http://www.creapharma.ch/index.html>. (3/2008)

(7) **Deggouj N, Gilain C, Minet A, (1998) .**L'otite moyenne aiguë. Etiopathogénie et traitement. Wikipedia.

<http://www.md.vcl.ac.be/loumed/CD/DATA/117/S410-417.PDF>. (5/2010)

(8) <http://www.mesucc.edu/~Johnson/labtools/dbiochem/vp.ipg>.

(9) <http://www.ROMAIN.FERKI.PAGES.PERSO-ORANGE.FR/MICRO/MATMICRO/>.

(10) <http://www.INFECTOLOGIA.ORG.BR/PUBLICOLEIGO/DEFAULT>.

(11) <http://www.e-santé-futura-sciences.COM/actualites/bacte>. (6/2011)

(12) L'otite moyenne, faculté de médecine de l'université de *Toronto*

<http://www.icarus.med.utoronto.ca/carr/atlas/atlasoutline.htm>. (7/2010)

(13)

Produced with Scantopdf