MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI
[redacted] - UN BUT [redacted]

[redacted]

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO
FACULTÉ DE PHARMACIE (FAPH)

ANNEE UNIVERSITAIRE 2016-2017 N° 18 /

Etude microbiologique de l'eau de boisson à Dioro : Relation entre la malnutrition et le portage d'*Escherichia coli* à travers la consommation d'eau de boisson

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 29/06/2017 devant la Faculté de Pharmacie pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLOME D'ETAT)

Par

M. Karim KONE

****

JURY

Président du jury :	**Professeur Ababacar I MAIGA**
Membres :	**Professeur Ibrahim MAIGA**
	Professeur Akory Ag IKNANE
Co-directeur de thèse :	**Docteur Lassina DOUMBIA**
Directeur de thèse :	**Professeur Ousmane KOITA**

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2016-2017

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE - PROFESSEUR

VICE-DOYEN : M. Ababacar I. MAIGA- PROFESSEUR

SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY – ADMINISTRATEUR CIVIL

AGENT COMPTABLE : M. FAMALE DIONSAN – CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Boulkassoum	HAIDARA	Législation
M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique (décédé)
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Bréhima	KOUMARE	Bactériologie/virologie
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
M. Alou A	KEITA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. **Professeur/Directeur de recherche**

M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Alassane	DICKO	Santé publique
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie Chef de DER
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie
M. Mounirou	BABY	Hématologie

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique
M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubakary	MAIGA	Chimie Organique
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Boubacar	ZIBEIROU	Physique
M. Fana	TANGARA	Mathématique
M. Abdel Kader	TRAORE	Sémiologie-Pathologie-médicale
M. Seydou	DOUMBIA	Secourisme
M. Abdel Kader	MAIGA	Secourisme
M. Moussa I.	DIARRA	Biophysique
M. Massambou	SACKO	SCMP-SIM
Mme Fatoumata	SOKONA	Santé environnement
M. Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ALLAH LE TOUT PUISSANT, LE TOUT MISERICORDIEUX, LE TRES MISERICORDIEUX

De m'avoir accordé la santé, la force et le courage qui m'ont permis de réaliser ce travail et de surmonter les difficultés rencontrées tout au long de ma formation. Je te prie de me guider vers le droit chemin. Amen

A mon père et à ma mère pour leurs patiences, leurs bénédictions et encouragements.

A mon oncle Dramane COULIBALY et à ma tante Oumou MAIGA pour leurs nombreux conseils et leurs indéfectibles soutiens.

A mon cousin Harouna COULIBALY, pour ses aides morales.

A Fatoumata MAIGA, pour ses soutiens et encouragements.

A mes frères et sœurs qui ont toujours cru en moi.

A Elizabeth RYAN (Université de Colorado) pour avoir financé cette thèse à travers la réalisation du projet **Rice Bran (projet sous contrat N° 050263B).**

Remerciements

Mes remerciements s'adressent :

A Allah, le tout puissant, le très clément et très miséricordieux

De m'avoir accordé la chance et le courage de réaliser ce travail dans la santé, le bonheur, la paix et l'amour. [Le salut est pour Toi et Ton prophète Mohamed (paix et salut sur lui)].

A mon père Mamadou KONE

Merci pour tous les sacrifices que tu as toujours consentis pour notre bonheur et notre réussite. Homme courageux et vaillant, tu resteras toujours la source de mon inspiration. Ton amour et ton soutien ne m'ont jamais fait défaut.
Merci PAPA pour ta patience et tes bénédictions.

A ma mère Kaly COULIBALY

Je ne cesserai jamais de te remercier pour toutes les difficultés que tu as enduré pour ma cause. Malgré la distance tu n'as jamais limité ton amour et ton affection à mon égard, saches que c'est réciproque. Trouves à travers ce travail les récoltes de tes nombreuses années de semences. Sois rassurée de ma profonde affection et de mon sincère remerciement.

A mon grand frère feu Broulaye KONE

Merci pour tout, grand frère (dors en paix).

A mon oncle Dramane COULIBALY

Vous êtes plus qu'un oncle pour moi, cette réussite est le fruit de vos efforts sans failles et de votre aide constant et inconditionnel. Jamais je ne saurai vous remercier, c'est l'honneur pour moi de vous dire merci, encore merci pour vos bienfaits.

A ma tante Oumou MAIGA

Vous êtes plus qu'une tante pour moi, vous m'avez donné l'amour d'une mère. Vos conseils et encouragements m'ont ouvert la voie de la réussite. Merci ma tante.

A mon cousin Harouna COULIBALY

Ce travail est le fruit d'une synergie d'action, sans ton aide constant, perpétuel et inconditionnel, ce travail ne serait pas atteint à hauteur de souhait. Tes conseils et

encouragements m'ont permis de surmonter ce défi. A travers toi j'ai appris les caractères d'un homme loyal, ouvert, intègre et aimable. Grand merci

A Monsieur Issa FOMBA et famille

Grand merci à toi et à ta famille, retrouvez ici toutes mes reconnaissances.

A mon frère Bakary KONE

Merci pour ton aide et tes conseils.

A ma belle-sœur Fatoumata MAIGA

"Fati" tu es une femme battante, courageuse et ouverte. Les mots de remerciements à ton égard me manquent, je me contenterai juste de te dire merci, encore merci pour toutes tes bonnes actions.

A Elizabeth RYAN (Université de Colorado)

Merci pour votre aide.

A mon frère Ainé, Dr Youssouf DIARRA

Ce travail est le tien. Depuis ma première année jusqu'à ce moment tu n'as cessé, même une seconde, de m'apporter ton aide. Ta disponibilité, ta loyauté, tes sourires font de toi un homme exemplaire. Les mots de remerciements à ton égard me manquent, je me contenterai juste de te dire merci, encore merci pour tout.

A mon frère Ainé, Dr Lassina DOUMBIA

Ce travail est aussi le tien, ta disponibilité, ta loyauté et tes conseils font de toi un homme exceptionnel. J'ai beaucoup appris à tes côtés, merci beaucoup pour tes encouragements et les efforts fournis pour la réussite de ce travail.

A mon frère ainé Mr Ibrahim Keita

Merci beaucoup pour ta bonne collaboration. J'ai appris à travers toi les caractères d'un homme loyal et ouvert. Grand merci

A mes frères ainés Kotou Sangaré et Ibrahima TRAORE

Retrouvez ici toutes mes considérations les plus respectueuses.

A mes collègues Seydou DOUYON et Sékou TRAORE

Vous êtes plus que collègues pour moi, je ne saurai jamais vous remercier pour votre bonne collaboration. Merci

A mes jeunes frères et sœurs du LBMA

Merci.

A tous mes amis : Youssouf TRAORE, Chaka DEMBELE, Tiemoko KONE, Kassim Traore, Siaka KONATE, Djakaridia KONATE, Tiguèm TELLY, Moctar BOIRE, Amadou BOUARE, Salif Traoré, Mohamed S SANGARE

Vos conseils et encouragements m'ont été utiles. Merci

A tous mes frères et sœurs, cousins et cousines

Merci pour votre confiance et encouragements.

A tout le personnel de la Pharmacie Danaya de Kati

Très heureux de travailler à vos côtés, vos conseils et vos encouragements ont été pour moi une source de dévouement.

A tout le personnel de la Pharmacie Nadja de Kati

Merci pour vos conseils et encouragements.

A tout le personnel du CSCom de Dioro

Merci pour votre sens de collaboration, retrouve ici toutes mes considérations.

A tout le personnel du LBMA

Ce travail est le vôtre, car vos encouragements, conseils et votre bon sens de collaboration m'ont permis de relever ce défi. Partagez ici toutes mes considérations.

Aux membres de ma promotion (8e promotion du numérus clausus)

Depuis la première année jusqu'à ce moment, nous avons passé ensemble tous ces moments difficiles. La camaraderie ne se limite pas en classe, mais elle devrait continuer. Merci vraiment pour tout.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

❑ A notre Maître et Président du jury

Professeur Ababacar I MAIGA

- **Professeur titulaire des cours de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Vice-Doyen de la Faculté de Pharmacie ;**
- **Ancien Directeur Adjoint de la DPM.**

Cher maître, nous nous réjouissons de vous avoir comme président pour juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre dévouement pour l'amélioration de la qualité du travail bien fait, votre engagement dans la recherche scientifique, vos qualités humaines et pédagogiques ne nous ont pas échappés.

Veuillez trouver ici l'expression de notre sincère gratitude et de notre profond respect.

❑ A notre Maitre et Juge

Professeur Ibrahim MAÏGA

- **Médecin biologiste ;**
- **Chef de service du laboratoire du CHU du Point G ;**
- **Professeur en bactériologie-virologie à la Faculté de Médecine ;**
- **Professeur titulaire des cours de bactériologie-virologie à la Faculté de Médecine ;**
- **Ancien Vice-Doyen de la FMPOS.**

Cher maitre nous avons été touché de vous voir accepté de juger ce travail en dépit de vos multiples occupations et cela nous fait honneur.

Votre amour pour le travail bien fait, votre rigueur, votre compétence et votre souci permanent de rehausser le niveau de notre formation nous ont marqués.

Veuillez accepter, cher maitre notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements.

❑ A notre Maitre et Juge

Professeur Akory Ag IKNANE

- **Maitre de conférences en Santé Publique à la FMOS et FAPH;**
- **Président du Réseau Malien de Nutrition (REMANUT);**
- **Secrétaire général de la Société Malienne de Santé Publique (SOMASAP);**
- **Ancien Directeur Général de l'Agence Nationale d'Investissement des Collectivités Territoriales (ANICT) ;**
- **Ancien Directeur Général de l'Agence Nationale pour la Sécurité Sanitaire des Aliments (ANSSA) ;**
- **Ancien Chef de service de Nutrition à l'INRSP;**
- **Premier Médecin Directeur de l'ASACOBA.**

Cher maître vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury malgré votre calendrier chargé.

Nous avons été marqué par votre simplicité, votre entière disponibilité, votre détermination pour le travail bien fait, vos qualités humaines et professionnelles font de vous un maitre éminent.

Nous vous prions de bien vouloir accepter l'expression de notre profonde gratitude et de notre sincère admiration.

- **A notre Maître et co-directeur de thèse**

Docteur Lassina DOUMBIA

- **Docteur en pharmacie;**
- **Assistant de recherche au LBMA.**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de codiriger ce travail.

Nous reconnaissons en vous, les qualités d'enseignement juste et rigoureux.

Votre rigueur dans la démarche scientifique, votre esprit d'ouverture et d'amour du travail bien fait font de vous un exemple à envier et à suivre.

Recevez par ce travail, le témoignage de notre reconnaissance.

❑ A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Ousmane KOITA

- **Pharmacien Biologiste ;**
- **Maitre de conférences en parasitologie moléculaire ;**
- **Chargé des cours de biologie moléculaire appliquée à la FAST et de biologie animale à la faculté de Pharmacie ;**
- **Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire et Appliquée de la FAST ;**
- **Ancien Directeur-Adjoint du SEREFO.**

Vous nous avez marqué tout au long de notre formation par la qualité de votre enseignement et votre rigueur scientifique.

Votre simplicité, votre esprit d'organisation du travail bien fait, vos qualités humaines et la disponibilité dont vous nous avez accordé nous ont fascinés.

Soyez assuré cher maitre de notre reconnaissance la plus sincère et notre profond respect.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATION

Ag	Antigène
A/E	Attachement/Effacement
ASACO	Association de Santé Communautaire
BCIG	Acide-5-Bromo-4-Chloro-3-Indol β-D-Glucuronique
CBT	Compartment Bag Test
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CSCom	Centre de Santé Communautaire
DAEC	*Escherichia coli* entéro-adhérant à adhésion diffuse
E. coli	*Escherichia coli*
Eae	gène codant pour l'intimine
EAF	facteur d'adhérence des *Escherichia coli* entero-pathogènes
EAEC	*Escherichia coli* entéro-adhérant
EHEC	*Escherichia coli* enterohémorragiques
EIEC	*Escherichia coli* entéroinvasives
EPEC	*Escherichia coli* entéro-pathogènes
ETEC	*Escherichia coli* entérotoxinogènes
ExPEC	Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*
FAPH	Faculté de Pharmacie
FMOS	Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
LBMA	Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée
MICS	Enquête par Grappes à Indicateurs Multiples
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
SHU	Syndrome Hémolytique et Urémique
STEC	*Escherichia coli* producteurs de shigatoxines
Stx	Shiga-like toxine
UFC	Unité Formant Colonie
UNICEF	United Nations International Children's Emergency Fund

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Fiche de dépistage de la Malnutrition Aiguë à l'aide du Périmètre Brachial (40).. 25
Tableau II : Table Poids-pour-Taille (OMS_{2006}) (40) 27
Tableau III : Méthode d'interprétation et de classification des résultats du kit CBT (30)..... 34
Tableau IV : Liste des amorces utilisées pour la classification des souches d'*E. coli*..... 38
Tableau V : Répartition des enfants en fonction du sexe..... 41
Tableau VI : Répartition des enfants en fonction des tranches d'âge..... 41
Tableau VII : Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction des sources d'eau. 42
Tableau VIII : Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction des matériels de transport..... 42
Tableau IX : Répartition des enfants en fonction des quartiers..... 43
Tableau X : Répartition des enfants en fonction des groupes d'études. 44
Tableau XI : Récapitulatif des niveaux de contamination possibles des puits. 46
Tableau XII : Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction de la quantité d'*E. coli*..... 47
Tableau XIII: Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction des catégories de risques..... 47
Tableau XIV : Répartition des catégories de risques en fonction des quartiers 48
Tableau XV : Répartition des catégories de risque en fonction de la source d'eau..... 49
Tableau XVI : Répartition des catégories de risque en fonction des matériels de transport. . 49
Tableau XVII : Répartition des catégories de risques en fonction de l'état nutritionnel 50
Tableau XVIII: Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction des catégories de risque. 53
Tableau XIX : Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction des sources d'eau. 53
Tableau XX : Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction des matériels de transport. 54
Tableau XXI : Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction de l'état nutritionnel..... 54
Tableau XXII: Répartition des *E. coli* en fonction des quartiers..... 55

LISTE DES FIGURES

Figure I : Situation géographique de la commune rurale de Dioro au Mali. 21

Figure II : Exemple de résultat du kit Aquagenx CBT 33

Figure III : Répartition des cas de malnutrition dépistés en utilisant les Z-scores poids pour taille. 44

Figure IV : Image d'un gel de PCR en utilisant la paire d'amorces de l'ARN ribosomale 16S. 51

Figure V : Amplification des gènes de virulences par la PCR multiplex en utilisant les amorces spécifiques aux souches pathogènes d'*E. coli*. 52

TABLE DES MATIERES

1. Introduction 1
2. Objectifs 3
2.1. Objectif général 3
2.2. Objectifs spécifiques 3
3. Généralités 4
3.1. Malnutrition 4
3.1.1. Définition 4
3.1.2. Différentes formes de la malnutrition 4
3.1.3. Classification de la malnutrition 5
3.1.4. Mesures et indices anthropométriques 6
3.1.5. Les causes de la malnutrition 7
3.1.6. Complications de la malnutrition 9
3.1.7. Conséquences de la malnutrition 10
3.1.8. Diarrhées et malnutrition 11
3.2. *Escherichia coli* 12
3.2.1. Historique 12
3.2.2. Taxonomie et définition 12
3.2.3. Habitat et réservoirs 13
3.2.4. Antigènes et serotypage 14
3.2.5. Classification en pathotype des *E. coli* responsable de troubles intestinaux 15
3.2.6. Pouvoirs pathogènes et plasticité génomique des *E. coli* 16
4. Méthodologie 20
4.1. Cadre de l'étude 20
4.2. Type et période d'étude 22
4.3. Echantillonnage 22
4.3.1. Critères d'inclusion 23
4.3.2. Critères de non inclusion 23
4.4. Considérations éthiques et déontologiques 23
4.5. Plan de collecte des données 24
4.6. Dépistage des enfants présentant une malnutrition 24
4.7. Dépistage des enfants ne présentant pas une malnutrition (Témoins) 30
4.8. Méthode de collecte des eaux 31
4.9. Méthodes au laboratoire 31
4.9.1. Laboratoire de Dioro (unité du LBMA) 31
4.9.2. Laboratoire de biologie moléculaire appliquée a Bamako 35

5. Résultats 41
5.1. Données sociodémographiques 41
5.2. Résultats anthropométriques 44
5.3. Chaîne de contaminations possibles des eaux 45
5.4. Résultats microbiologiques 47
5.5. Résultats moléculaires 51
6. Commentaires et discussion 56
6.1. Données sociodémographiques 56
6.2. Identification des cas de malnutrition 56
6.3. Sources d'eau 56
6.4. Matériels de transport 56
6.5. Niveaux de contamination possibles des eaux 57
6.6. Résultat Aquagenx kit CBT 58
6.7. Détection des gènes et identification des souches 59
7. Conclusion et recommandation 61
7.1. Conclusion 61
7.2. Recommandation 61
8. Références bibliographiques 62

INTRODUCTION

1. Introduction

La malnutrition est une perturbation de la croissance et du développement normal de l'enfant due à des apports insuffisants en nutriments, soit en quantité soit en qualité dans son alimentation (y compris l'allaitement) **(1)**. Selon l'OMS/UNICEF/Groupe de la Banque mondiale, le nombre de décès d'enfants de moins de 5 ans est passé de 12,7 millions par an en 1990 à 5,9 millions en 2015 et près de la moitié des décès des enfants de moins de 5 ans sont liés à la sous-nutrition **(2)**. Le continent asiatique seul, regorge les deux tiers des 150 millions d'enfants malnutris dans le monde **(3)**. Plus de la moitié de la population mondiale est atteinte par une forme ou une autre de malnutrition. Elle met en jeu les capacités physiques et cognitives des individus, retarde entièrement le développement des sociétés et contribue à la persistance de la pauvreté **(4)**. Elle est une menace récurrente pour les femmes, les familles et les sociétés toutes entières car elle laisse, chez des millions de survivants, des séquelles durables sous forme d'infirmité, de handicap intellectuel, de vulnérabilité chronique aux maladies et constitue une violation insigne des droits de l'enfant **(5)**.

En Afrique de l'Ouest, le sahel est l'une des régions qui enregistrent les taux les plus élevés de la malnutrition dans le monde **(6)**. Elle est endémique et constitue une des préoccupations majeures de santé publique **(6)**.
Au Mali en 2013, la malnutrition est la cause majeure de mortalité infanto-juvénile extrêmement élevée avec 110 enfants de moins de 5 ans qui meurent chaque jour de causes liées à celle-ci, soit 5 enfants chaque heure **(7)**. Au Mali, l'enquête MICS 2010 a rapporté une prévalence nationale de 9% de Malnutrition Aigüe Globale (MAG) et 2% de Malnutrition Aigüe Sévère (MAS), le retard de croissance et l'insuffisance pondérale à 28% et 19% respectivement **(8)**.

La malnutrition est un problème mondial dans lequel d'autres facteurs que la pénurie alimentaire jouent un rôle, en particulier les infections. L'eau d'alimentation, et plus généralement l'eau dite « domestique » qui inclut en particulier l'eau nécessaire à l'hygiène et aux pratiques sanitaires, est souvent à l'origine des pathologies, en raison de sa mauvaise qualité (des bactéries, virus, parasites mais aussi des agents chimiques qu'elle véhicule) et de sa carence en éléments minéraux **(9)**. Les causes de la malnutrition sont multiples, parmi lesquelles la diarrhée, qui peut être considérée comme cause et conséquence de la malnutrition. Car elle empêche les enfants de rattraper un retard de croissance et la

malnutrition, elle, augmente la durée et la fréquence diarrhéiques, entretenant ainsi un cercle vicieux. L'infection a un effet négatif sur l'état nutritionnel en réduisant l'appétit (prise alimentaire) et l'absorption intestinale, en augmentant le catabolisme et la séquestration des micronutriments nécessaires à la synthèse des tissus et à la croissance. Par ailleurs, la malnutrition prédispose à l'infection du fait de ses effets négatifs sur les habituelles barrières de protection constituées par la peau et les muqueuses contre les agents pathogènes d'une part, et sur la diminution des défenses immunitaires d'autre part **(9)**. Selon une étude Canadienne, les types d'infection d'origines hydriques les plus fréquents sont : Botulisme, Trichinose, Brucellose, Escherichia coli, Hepatite A et autres **(10)**. C'est pour cette raison que nous nous intéressons à la contamination bactériologique de l'eau de boisson, plus particulièrement la contamination liée à *Escherichia coli* (colibacille) dont les souches pathogènes sont responsables de pathologies comme la diarrhée.

Dans l'intestin cette bactérie intervient en participant entre autres à la synthèse de vitamines. Cependant, certaines souches particulières d'*E. coli* possèdent un pouvoir pathogène important. Ainsi, la maladie de Hamburger est causée par une souche d'*E. coli*, le sérotype O157 :H7, qui a aussi été le principal microorganisme pathogène responsable de l'épidémie de Walkerton (Ontario) en 2000 **(11)**. L'espèce *E. coli* est une bactérie qui vit en commensalisme dans l'intestin des humains et des animaux à sang chaud. Par exemple, il est retrouvé environ 10^8 UFC par gramme de *E. coli* dans les matières fécales humaines **(11)**. La présence d'*Escherichia coli* dans l'eau de boisson pourrait être liée à la pratique hygiénique observée lors du transport et le conditionnement de ces eaux.

Les diarrhées étant l'une des causes principales de la malnutrition et qui peuvent être causées à travers la consommation d'eau de boisson contaminée par la présence des souches pathogènes d'*E. coli.* Dans notre travail, nous avons étudié la relation entre la malnutrition et les souches pathogènes d'*E. coli* isolées dans l'eau de boisson par des méthodes microbiologiques et moléculaires, réalisées à Dioro.

Beaucoup d'études ont été réalisées sur l'identification des souches pathogènes d'*E. coli* telles que dans les selles, dans les eaux de rivières, mais peu ont concerné l'eau de boisson.

La mise au point des techniques microbiologiques de culture des bactéries ciblant les souches d'*E. coli* rend leur dépistage facile sur le terrain en dehors de laboratoire équipé. En plus, des marqueurs moléculaires sont disponibles pour détecter les différentes souches pathogéniques dans les eaux aussi bien que dans les selles.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Evaluer le niveau de risque lié à la présence d'*Escherichia coli* thermo-tolérant dans l'eau de boisson dans un contexte de malnutrition à Dioro.

2.2. Objectifs spécifiques

- ✓ Détecter et quantifier *Escherichia coli* dans l'eau de boisson à Dioro de Novembre 2015 à Mai 2016.
- ✓ Déterminer le niveau de risque lié à la présence d'*Escherichia coli* dans l'eau de boisson à Dioro de Novembre 2015 à Mai 2016.
- ✓ Identifier les souches pathogènes d'*Escherichia coli* (intra-intestinales) responsables des diarrhées par la PCR de Novembre 2015 à Mai 2016.

GENERALITES

3. Généralités

3.1. Malnutrition

3.1.1. Définition

Selon l'OMS la malnutrition est un "état pathologique résultant de la carence ou de l'excès, relatif ou absolu, d'un ou plusieurs nutriments essentiels, que cet état se manifeste cliniquement ou ne soit décelable que par des analyses biochimiques, anthropométriques ou physiologiques" (OMS, 1982). Cette définition distingue donc plusieurs aspects de la malnutrition et plusieurs types de diagnostic **(12)**.

Selon l'UNICEF, le terme «malnutrition» englobe la malnutrition généralisée dont les manifestations sont un retard de croissance, un déficit pondéral et l'émaciation, et les carences en micronutriments (le fer, la vitamine A, l'iode, le zinc et l'acide folique) **(3)**. La malnutrition ne dépend pas seulement de la satisfaction de l'appétit car un enfant présentant la malnutrition peut suffisamment manger pour calmer sa faim tout en continuant de présenter la malnutrition, d'où la différence entre la malnutrition et la faim **(3)**. Chaque année, la malnutrition est associée au décès d'un enfant de moins de 5 ans sur 3 dans le monde **(13)**. Les enfants affaiblis par la faim ont beaucoup plus de mal que les autres à résister au paludisme, à la pneumonie, à la diarrhée, à la rougeole, et décèdent beaucoup plus facilement **(13)**.

3.1.2. Différentes formes de la malnutrition

La malnutrition revêt trois formes différentes (UNICEF), qui vont de la sous-alimentation en passant par les carences alimentaires et se terminent par la suralimentation **(3)**.

La sous-alimentation : c'est quand il y'a insuffisance des besoins de la ration alimentaire en permanence pour couvrir les besoins énergétiques alimentaires.

Les carences alimentaires : c'est la privation totale ou partielle des nutriments essentiels et/ou associée à la mauvaise assimilation de la nourriture consommée.

La suralimentation : c'est la consommation excessive de la ration alimentaire en permanence suffisante, et par suite d'un excès de calories pendant une période prolongée.

3.1.3. Classification de la malnutrition

- **Malnutrition aiguë ou émaciation**

La malnutrition aiguë ou émaciation (wasting) reflète la situation nutritionnelle d'un enfant à un moment donné et est due à un apport alimentaire insuffisant ou à des problèmes d'absorption. Il en résulte soit un indice poids pour taille inférieure à la moyenne, soit la présence d'œdèmes nutritionnels bilatéraux, soit les deux. Il existe deux différents degrés de malnutrition aiguë: la malnutrition aiguë modérée peut dégénérer en malnutrition aiguë sévère et la malnutrition aiguë sévère est liée à un risque de mortalité très élevé si elle n'est pas traitée immédiatement **(14)**.

Les aspects cliniques de la malnutrition aiguë

- **Marasme**

Le marasme est caractérisé par un état d'amaigrissement extrême, une fonte musculaire massive, un faciès de vieillard. L'enfant de vue a perdu du poids de façon évidente et a ses côtes et son zygomatique visible ainsi que ses articulations très apparentes. Il ne lui reste pratiquement plus de graisse sous-cutanée. La peau fine et atrophique, avec de nombreux plis, semble trop grande pour lui **(15)**. Il s'agit d'une forme de malnutrition sévère qui menace la vie de l'enfant à brève échéance et demande une attention médicale urgente **(3)**.

- **Kwashiorkor**

L'enfant présente des œdèmes, sa peau est sèche et squameuse, ses cheveux se décolorent et tombent **(3)**, perte de poids qui peut être masqué par l'œdème, manque d'appétit, enfant nerveux, qui pleure tout le temps, diarrhée **(1)**. L'hépatomégalie et les lésions cutanées telles que dermatoses sont également caractéristiques de ce syndrome clinique. Sur le plan psychologique, l'enfant est apathique quand il n'est pas stimulé mais devient vite irritable dès qu'on essaie de le manipuler. Cette forme est une maladie aiguë apparaissant de façon brutale, s'installant en quelques jours **(15)**.

- **Kwashiorkor-marasmique (forme mixte)**

L'enfant présente à la fois les caractéristiques cliniques du kwashiorkor et du marasme mais à des degrés variables. C'est une forme clinique qui est rarement rencontrée **(16)**.

- **Malnutrition chronique ou retard de croissance (17)**

La malnutrition chronique se détecte lorsque l'on évalue le rapport Taille / Age et se caractérise par des enfants rabougris (trop petits pour leurs âges). La prévalence est importante entre 24 et 36 mois. La malnutrition chronique se développe lentement, en lien avec une situation de pauvreté structurelle, notamment quand l'alimentation n'est pas équilibrée. Si un enfant est atteint de malnutrition chronique pendant une période prolongée, il souffrira rapidement d'un retard de croissance, en comparaison à un autre enfant de son âge. Ses défenses immunitaires seraient très affaiblies et, de ce fait, il serait davantage confronté aux risques de maladies telles que diarrhées, paludisme. Selon l'Unicef 55 millions d'enfants sont atteints par cette forme de malnutrition dans le monde.

- **Malnutrition globale ou insuffisance pondérale**

La malnutrition globale ou insuffisance pondérale est mesurée par l'indice poids/âge et se caractérise par un faible poids chez l'enfant par rapport à son âge. Cependant, cela peut aussi refléter une maladie récente (diarrhée) **(14)**. Selon l'Unicef France, un enfant de moins de cinq ans sur 4, soit 129 millions d'enfants dans le monde en développement, souffre d'insuffisance pondérale (poids très faible) **(13)**.

3.1.4. Mesures et indices anthropométriques (14)

- **Mesure**

Les mesures anthropométriques sont utilisées pour évaluer l'état nutritionnel des individus et des groupes de population mais aussi comme critères d'éligibilité pour les programmes d'aide alimentaire. Les mesures anthropométriques communes sont la taille, le poids et le périmètre brachial. Les données nécessaires sont :

- ✓ Poids en kilogrammes à l'aide d'une balance
- ✓ Taille à l'aide d'une toise

  Taille en centimètres (prise en position debout) si l'enfant a 24 mois ou plus

  Taille en centimètres (prise en position couchée) si l'enfant a moins de 24mois.
- ✓ Périmètre brachial :

Le périmètre brachial est utilisé pour évaluer l'état nutritionnel des enfants âgés de 6 à 59 mois et des adultes (femmes enceintes et allaitant), en mesurant le tour du bras (le bras gauche) à mi-hauteur entre l'épaule et le coude à l'aide d'un mètre ruban ou d'une bandelette colorée (bande de Shakir).

➢ **Indices anthropométriques**

- **Rapport poids/âge**

L'indice poids/âge exprime le poids d'un enfant en fonction de son âge. Cet indice indique un régime alimentaire inadapté (temporaire ou habituel). Il est utilisé pour la mise en évidence d'une malnutrition globale (insuffisance pondérale).

- **Rapport taille/âge**

L'indice taille/âge exprime la taille d'un enfant en fonction de son âge. Une petite taille par rapport à l'âge indique donc que le régime alimentaire habituel n'est pas adéquat. Il est utilisé pour la mise en évidence d'un retard de croissance ou malnutrition chronique.

- **Rapport poids/taille**

Il exprime le poids d'un enfant en fonction de sa taille. Cet indice évoque une baisse récente de l'apport alimentaire et met en évidence la maigreur ou malnutrition aiguë.

3.1.5. Les causes de la malnutrition

Comprendre les causes de la malnutrition permet non seulement de bien apprécier la profondeur et l'ampleur du problème mais aussi facilite la prise en charge et la lutte contre cette pathologie.

➢ **Causes immédiates**

Ces causes sont principalement l'inadéquation de la ration alimentaire et la maladie. Leur interaction tend à créer un cercle vicieux car l'enfant présentant la malnutrition résiste moins bien à la maladie, il tombe malade et de ce fait l'état de la malnutrition s'agrave **(5)**.

Les enfants fragilisés sur le plan nutritionnel sont les premiers affectés par exemple la malnutrition et le déficit en vitamine A sont des facteurs favorisants la survenue(s) d'une rougeole. La rougeole est une maladie extrêmement contagieuse et dont les complications peuvent être mortelles, qui à son tour va générer des cas de malnutrition chez les enfants atteints **(3)**.

✓ **Infections bactériennes**

Presque tous les enfants gravement atteints par la malnutrition présentent des infections bactériennes à leur arrivée à l'hôpital. Beaucoup de ces enfants présentent plusieurs infections dues à des microorganismes différents. Les infections des voies respiratoires inférieures sont particulièrement courantes. S'il faut rechercher attentivement les signes d'infection lors de l'évaluation de l'état de l'enfant, ces signes sont souvent difficiles à déceler. Contrairement aux enfants ne présentant pas la malnutrition réagissent aux infections par de la fièvre et des

inflammations, les enfants atteints de malnutrition peuvent présenter des infections graves et être simplement apathiques ou somnolents **(18)**.

✓ **Infections à VIH et SIDA**

Dans certains pays, jusqu'à la moitié des enfants gravement atteints de malnutrition ont le SIDA. Le traitement de la malnutrition chez les enfants infectés par le VIH ou vivant avec le SIDA est le même que chez les enfants qui sont séronégatifs **(18)**.

✓ **Infections parasitaires**

La diarrhée est également l'un des nombreux signes d'une infection intestinale parasitaire. Les parasites les plus fréquemment en cause sont : *Giardia lamblia, Entamoeba histolytica, Cryptosporidium.* Cependant l'expression clinique de ces parasitoses va dépendre essentiellement de l'état des défenses immunitaires de l'hôte. Lorsqu'elles sont diminuées, les diarrhées sont fréquentes et sévères. La malnutrition est une des premières causes des déficits immunitaires dans les pays en développement. Les diarrhées dues à des parasites sont donc fréquentes et graves chez les enfants mal nourris, alors que les enfants bien nourris restent des porteurs sains de parasites. La guérison de la diarrhée ne s'obtient qu'après traitement de la malnutrition et de la déficience immunitaire de l'enfant **(9)**.

Le binôme malnutrition-paludisme génère un cercle vicieux qui a un énorme impact sur la morbidité et la mortalité des groupes de population les plus vulnérables. Les enfants présentant la malnutrition ont des défenses immunitaires très affaiblies et leurs corps ont du mal à combattre des maladies comme le paludisme, la diarrhée et les infections respiratoires. Par ailleurs, les enfants qui souffrent de ces maladies sont aussi davantage susceptibles de présenter la malnutrition **(19)**.

➢ **Causes sous-jacentes**

Ces causes se classent en trois groupes aboutissant aux causes immédiates et sont principalement : l'insécurité alimentaire des ménages, l'insuffisance des services de santé et d'assainissement et la mauvaise qualité des soins apportés aux enfants et aux femmes **(5)**. La malnutrition peut être la conséquence d'anomalies congénitales non reconnues, de maladies enzymatiques, d'affections malignes, de réactions d'hypersensibilité immédiate ou d'autres atteintes des organes principaux. L'examen d'un enfant qui ne répond pas au traitement doit inclure la recherche d'une éventuelle maladie sous-jacente grave **(18)**.

- **Causes fondamentales**

Il s'agit des causes liées aux facteurs politiques, juridiques, culturelles, des conséquences de la pauvreté, du sous-développement et évidemment la manque de ressources naturelles.

3.1.6. Complications de la malnutrition

Les complications de la malnutrition constituent en effet les principales causes de mortalité dans les services de récupération nutritionnelle, car elles peuvent entrainer le décès de l'enfant **(20)**.

Ces complications sont :

- **La diarrhée**

Les maladies diarrhéiques constituent encore aujourd'hui un problème majeur de santé publique dans les pays en développement avec 400 millions de cas par jour dans le monde et 20 % de décès d'enfants de 0 à 4 ans sont liés à la diarrhée dans certains pays **(21)**. Mais la déshydratation et la dénutrition sont des complications redoutables et constituent souvent des motifs d'hospitalisation **(22)**.

- **Les infections**

L'absence de réponse au traitement est souvent imputable à des infections non reconnues, les plus fréquentes étant les suivantes: pneumonie, infection urinaire, otite moyenne et tuberculose, ou encore paludisme, dengue, hépatite virale B ou infection à VIH **(18)**. Chaque fois que les barrières immunitaires sont franchies, divers processus biochimiques, métaboliques et hormonaux produisent un effet délétère sur l'état nutritionnel en modifiant l'équilibre entre apports et besoins. L'anorexie provoque une diminution des ingesta et la malabsorption réduit encore la quantité de nutriments absorbés. Parallèlement, les besoins sont augmentés suite à la synthèse accrue de protéines spécifiques (inflammatoires, immunoglobulines etc.) et à l'hyperthermie qui augmente le métabolisme basal. Cette baisse des apports et l'augmentation des besoins entraînent une balance azotée négative suivie d'un déficit de la plupart des nutriments. Lorsque l'état nutritionnel initial est satisfaisant et les réserves corporelles suffisantes, l'organisme a la possibilité de réparer ses propres tissus et donne ainsi le temps au système immunitaire d'éliminer l'agent infectieux. Par contre, si l'organisme se trouve déjà dans un état de malnutrition avec des réserves corporelles insuffisantes doublé d'un état d'immunodéficience acquise secondaire à la malnutrition, l'agent infectieux surmonte plus facilement les différents mécanismes de défense de l'hôte et peut générer une infection grave et durable. C'est le danger représenté par la moindre infection opportuniste chez l'individu malnourri. L'organisme entre alors dans une série de

cercles vicieux, qui constitue une véritable spirale morbide et explique le taux élevé de mortalité liée au complexe "malnutrition-infection" **(23)**.

- **Autres complications (20)**

- Vomissement sévère ;
- Pneumonie ;
- L'hypoglycémie ;
- Lésions cutanées ouvertes ;
- Hypothermie < 35,5°C (rectal) ou < 35°C (axillaire) ;
- Fièvre > 39°C (rectal) ou >38,5°C (axillaire) ;
- Pâleur extrême (anémie sévère) ;
- Faible, apathique ou inconscient ;
- Convulsions ;
- Carence clinique en vitamine A.

3.1.7. Conséquences de la malnutrition

Hausse de la mortalité infantile et maternelle : chaque année la malnutrition contribue directement ou indirectement au décès d'environ 6 millions d'enfants, les enfants hypotrophiques et ceux qui présentent une insuffisance pondérale grave courent entre deux et huit fois plus de risque de mourir dans l'année suivante que les enfants de poids normal **(3)**.

L'anémie ferriprive est à l'origine de 20% des cas de mortalité maternelle en Asie et en Afrique, car elle abaisse la résistance à la maladie et accroît le risque d'hémorragie lors de l'accouchement **(3)**.

Chaque année dans le monde en développement, sur près de 12 millions de décès qui surviennent parmi les enfants de moins de cinq ans, la malnutrition est responsable directement ou indirectement de 55% de ces décès, principalement de causes évitables **(5)**. La carence en vitamine A, qui touche quelques 100 millions d'enfants dans le monde, est une cause de cécité. Mais on s'aperçoit de plus en plus aussi que, même modérée, cette carence a une action négative sur le système immunitaire, diminuant ainsi, la résistance à la diarrhée (qui emporte 2,2 millions d'enfants chaque année) et à la rougeole (qui emporte près d'un million par an) **(5)**.

Selon l'UNICEF, les carences en minéraux et vitamines coûtent à certains pays plus de 5% de leur produit national brut du fait des pertes de productivité mais aussi de capacités et de vies. Selon les estimations de l'UNICEF, 226 millions d'enfants présentent des retards de

croissance et selon les résultats d'une étude menée au Guatemala par rapport aux gens de taille normale, la durée de la scolarité était en moyenne inférieure de 1,8 année pour les hommes ayant une insuffisance staturale importante, et d'une année pour les femmes. Selon certains calculs, quatre types de malnutrition, qui d'ailleurs se recoupent (émaciation, retard de croissance, carence en iode, carence en fer et en vitamine A) ont fait perdre au monde près de 46 millions d'années de vie corrigées du facteur invalidité en 1990 **(5)**.

Les effets les plus dévastateurs de la malnutrition se produisent avant la naissance (lorsque le fœtus ne peut pas se développer correctement) et pendant les premières années de la vie d'un enfant, lorsque son développement physique et mental est freiné **(24)**. Les femmes en état de malnutrition, de poids insuffisant, ont un risque élevé d'avoir des bébés trop petits. Chez les femmes en âge de procréer, les taux d'insuffisance pondérale sont de 60% en Asie du Sud, de 45% en Asie du Sud-est et de 20% en Afrique subsaharienne **(5)**.

3.1.8. Diarrhées et malnutrition

La maladie est un des déterminants immédiats de l'état nutritionnel. Les mauvaises pratiques d'hygiène alimentaire augmentent le risque d'infections d'origine alimentaire comme la diarrhée qui à son tour détériore l'état nutritionnel entrainant un affaiblissement du système immunitaire. Les infections d'origine alimentaire se répandent plus rapidement avec des conséquences graves chez les personnes mal-nourris. Il se crée un cercle vicieux malnutrition-maladie avec un risque élevé de décès **(25)**. Dans les pays en voie de développement, les diarrhées bactériennes restent un grave problème de santé publique **(21)** et une cause importante de morbidité et de mortalité infantiles dans les pays du tiers monde **(22)**.

3.2. *Escherichia coli*

3.2.1. Historique

Escherichia coli (*E. coli*) a été découvert en 1885 par le pédiatre allemand Theodor Escherich dans des selles de nourrissons **(26)**. D'abord appelée *Bacterium coli commune* par Eschrich, elle a été rebaptisée *Escherichia coli* en 1919 sur proposition, et en 1958 officiellement, *Escherichia coli*, sur recommandation du sous-comité *Enterobacteriaceae* du comité de nomenclature de l'Association Internationale des Sociétés de Microbiologie **(27)**.

3.2.2. Taxonomie et définition

- **Caractères généraux**

La classification exhaustive d'*Escherichia coli* se décline selon :

Domaine *Bactéria*

Embranchement des protéobactéries

Classe des Gamma protéo bactéries

Ordre des *Entérobacteriales*

Famille des *Entérobactériaceae*

Genre *Escherichia*

Espèce *coli* **(28)**.

Pendant longtemps, le genre *Escherichia* n'a renfermé que l'espèce *Escherichia coli* (*E. coli*), à laquelle sont venues s'ajouter les espèces *E. blattae* (1973), *E. hermanii* (1982), *E. vulneris* (1982), *E. fergusonii* (1985) et certaines *Species Incertae Sedis*. De plus, selon les critères modernes de taxonomie bactérienne, les genres *Shigella* et *Escherichia* sont identiques **(27)**.

- ***Escherichia coli***

Escherichia coli appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à coloration de Gram négatif, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase **(29)**. Sa température de croissance varie entre 25°C et 44,5°C **(30)**. En raison de sa croissance à la température de 44,5°C, *E. coli* fait partie du groupe des coliformes thermotolérants aussi appelés « coliformes fécaux », qui est lui-même inclus dans le groupe des coliformes **(11)**. Il est le seul membre du groupe des coliformes totaux que l'on trouve exclusivement dans les intestins des mammifères. Sa présence dans l'eau indique une contamination récente par des matières fécales, et peut indiquer la présence possible de pathogènes responsables de maladies, comme des bactéries, des virus et des parasites **(31)**.

Dès 1947, les bases du schéma d'identification par sérotypie des souches pathogènes d'*E. coli* ont été définies par Kauffman. Ainsi trois antigènes de surface sont décrites et pris en compte. Ce sont : les antigènes somatiques « O », de nature lipopolysaccharidique (180 antigènes différents sont actuellement répertoriés), les antigènes capsulaire « K», de nature polysaccharidique (80 antigènes sont recensés), les antigènes flagellaires « H », de nature protéique (70 antigènes différents sont répertoriés) **(27)**.

- **Les différents pathovars d'*Escherichia coli* :**

La bactérie *E. coli* à partir de la notion de « pathotype » et selon le vétérinaire danois Carl Oluf Jensen (1864-1934), est en fait constitué de groupe hétérogène composée de souches provoquant des pathologies et de souches tout à fait inoffensives **(27)**. Les souches *Escherichia coli* sont retrouvées dans le tractus gastro-intestinal de nombreux animaux à sang chaud, dont l'homme où elles jouent communément le rôle de bactérie commensale. Cependant, l'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence chez les souches *E. coli* peuvent entraîner des modifications de leur comportement, pouvant occasionner, diverses infections telles que des infections intestinales ou extra-intestinales **(32)**.

Les souches d'*E. coli* à l'origine de maladies intestinales ont en commun de se multiplier dans l'intestin de leurs hôtes. Ce premier groupe de pathogènes est subdivisé en 6 pathotypes majeurs selon le type de maladie engendrée et les facteurs de virulence associés :

- les ETEC (*E. coli* Entérotoxinogènes),
- les EHEC (*E. coli* Entérohémorragiques),
- les EPEC (*E. coli* entéropathogènes),
- les DAEC (*E. coli* entéro-adhérant à adhésion diffuse),
- les EaggEC (*E. coli* entéroaggrégatives) et
- les EIEC (*E. coli* entéroinvasives).

Le deuxième groupe d'*E. coli* à l'origine de maladies extra- intestinales (ExPEC) a acquis la capacité de déjouer les défenses immunitaires de l'hôte, et à se propager dans l'organisme. Elles peuvent induire chez leurs hôtes des infections du tractus urinaire (ITU) : UPEC, « Urinary Pathogenic *E. coli* » ; des méningites néonatales : NMEC, « Neonatal Meningitis *E. coli* » ; ou des septicémies **(32)**.

3.2.3. Habitat et réservoirs

C'est une hôte commun de la microflore commensale intestinale de l'Homme et des animaux à sang chaud, *E. coli* s'établit dans le tractus digestif dès les premières heures après

la naissance et sa niche écologique est la surface liminale de l'intestin et plus précisément du côlon. *Escherichia coli* constitue alors tout au long de la vie l'espèce bactérienne dominante de la microflore anaérobie facultative de l'intestin **(26)**. Il représente 80 % de la flore intestinale aérobie. Nous le retrouvons en très grand nombre dans les matières fécales. De là, il se répand dans la nature : sol, eaux. Sa présence dans l'environnement signe toujours une contamination fécale **(33)**.

3.2.4. Antigènes et serotypage

Les bases du schéma d'identification par sérotypie ont été définies par Kaufmann, c'est-à-dire une combinaison de certains antigènes de surface que l'on peut mettre en évidence **(27)**.

- **Antigènes somatiques O**

L'antigène somatique O, définit le sérogroupe. Il en existe plus de 150. Les antigènes somatiques sont composés de lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne. Certaines molécules de LPS (ou antigène O) protègent la bactérie de l'action lytique du complément, de la fixation des anticorps ou encore de la phagocytose **(26)**.

- **Antigènes flagellaires H**

L'antigène flagellaire H est de nature protéique et entre en jeu dans la structure du flagelle permettant ainsi la mobilité de la bactérie. La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline et il en existe plus de 56 **(26)**.

- **Antigènes de surface K (32)**

Encore appelés antigènes capsulaires ou d'enveloppe ou encore antigèneVi chez *Salmonella*, sont des polyosides acides qui ont été initialement subdivisés en trois types à savoir: les antigènes A, B, et L. Ils masquent l'AgO, empêchant ainsi le sérotypage lorsqu'ils sont présents.

- **L'antigène L :** thermolabile, est le plus fréquent. Le chauffage à 100°C pendant une demi-heure le détruit et démasque l'antigène O le rendant accessible aux techniques de sérogroupage.
- **L'antigène A :** est plus rare et correspond véritablement à un antigène capsulaire. Le chauffage à 100°C ne suffit pas à le détruire. Seul un autoclavage à 121°C durant une heure permet de démasquer l'antigène somatique.

- **L'antigène B :** possède une thermolabilité intermédiaire entre les antigènes L et A. Un chauffage à 100°C permet le sérogroupage mais ne supprime pas totalement l'antigène B. Un chauffage plus prolongé peut permettre de le détruire totalement.

3.2.5. Classification en pathotype des *E. coli* responsable de troubles intestinaux

Les souches d'*E. coli* commensales sont non pathogènes (sauf en cas d'infection opportuniste). Toutefois, il existe des souches *d'E. coli* pathogènes qui possèdent de facteurs de virulence spécifiques qui sont reparti en 6 groupes ou « pathovars » selon le type d'infection **(34)** :

- ***Escherichia coli* entérotoxinogènes**

Les ETEC sont à l'origine d'épisodes de diarrhée aqueuse, modérée à sévère, peu fébriles, associés à des nausées et à des crampes abdominales. Dans les pays en voie de développement, les ETEC sont la cause majeure de cas de diarrhées aqueuses aiguës chez les enfants de moins de 5 ans et de « diarrhée du voyageur » ou « *turista* » **(29)**.

- ***Escherichia coli* entéroinvasives**

Les EIEC et les Shigelles sont souvent classés dans le même groupe de pathovar et possèdent une stratégie d'infection similaire. Les EIEC sont responsables de syndrome dysentérique caractérisé par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnées d'une diarrhée aqueuse évoluant rapidement vers une dysenterie (diarrhée contenant du sang et du mucus) **(29)**.

- ***Escherichia coli* entéroaggrégatives** :

Les EaggEC sont à l'origine d'une diarrhée aqueuse et mucoïde à la fois aiguë et persistante chez les jeunes enfants **(35)**. Elles sont considérées comme des pathogènes émergents, les EAEC sont la deuxième cause de diarrhée des voyageurs après ETEC dans les pays développés et en voie de développement **(29)**. Les EAggEC s'attachent aux cellules de culture tissulaire en s'y agrégeant de manière caractéristique. Des toxines thermostables entéroagrégatives codées par un plasmide (EAST1) peuvent contribuer aux symptômes diarrhéiques **(35)**.

- ***Escherichia coli* entéropathogènes**

Les EPEC provoquent une diarrhée aqueuse profuse et parfois hémorragique, en particulier chez les nourrissons dans les pays en développement **(35)**. Par contre, dans les pays

industrialisés, l'incidence des infections dues aux EPEC a fortement diminué. Mais des cas sporadiques sont encore recensés dans les communautés d'enfants **(29)**. Les EPEC adhèrent à l'épithélium intestinal en perturbant la fonction cellulaire. La pathologie est associée à la production de lésions effaçantes et attachantes similaires à celles des EHEC. Les EPEC ne produisent pas de Stx contrairement aux STEC **(35)**.

- ***Escherichia coli* enterohémorragiques**

Ce sont des bactéries pathogènes et zoonotiques qui se retrouvent dans l'eau et parfois dans les aliments **(29)**. Les EHEC constituent un sous-ensemble des STEC généralement associé à une diarrhée hémorragique et un SHU. Les EHEC et les EPEC provoquent des modifications dans les cellules épithéliales intestinales appelées lésions effaçantes et attachantes. Les STEC/EHEC sont véhiculés de façon asymptomatique par des animaux sains tels que les bovins, les moutons, les chèvres et les animaux sauvages **(35)**.

- ***Escherichia coli* entéro-adhérant à adhésion diffuse**

Ces souches avec les EPEC, forment maintenant un groupe à part du fait de leur phénotype d'adhésion particulier qui n'implique pas d'agrégats microbiens **(36)**. Les DAEC sont un groupe hétérogène qui produit une adhérence diffuse sur cellules Héla et Hep-2. Les isolats de DAEC en colonisant l'intestin grêle engendrent des cas de diarrhée chez les enfants entre 5 et 18 mois d'âge. Par ailleurs, ils peuvent coloniser le tractus urinaire et être à l'origine d'infections urinaires récurrentes chez l'adulte **(29)**.

3.2.6. Pouvoirs pathogènes et plasticité génomique des *E. coli*

- **Pouvoir pathogène**

Les facteurs de virulence

La définition des facteurs de virulence et la compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches d'*Escherichia coli* sont des préalables indispensables à l'évaluation du risque pour la santé publique lié à l'existence de ces pathogènes.

Ainsi, la combinaison des facteurs de virulence impliqués dans le pouvoir pathogène des souches restent encore à déterminer.

- **Les facteurs de virulence potentiels (28)**

- **Une capsule** qui s'oppose à la phagocytose.

- **Des protéines** de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément.

- **Des systèmes de captation du fer** : **Les** sidérophores notamment codé par l'îlot de pathogénicité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine.

- **Des toxines**

L'endotoxine qui est commune aux entérobactéries

Les **entérotoxines** ST (thermostables) et LT (thermolabiles) : ce sont des toxines cytotoxiques qui agissent sur le contrôle entérocytaire de la sécrétion hydro-électrolytique.

Les **cytotoxines** SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine). Ce sont des toxines qui altèrent l'intégrité des entérocytes. On les appelle encore des vero-toxine (VT) à cause de leur effet toxique sur les cellules vero en culture. (Vervet origine -vervet, un singe africain).

Satet Vat : Sat (secreted auto transporter toxin) et Vat (vacuolating auto transporter toxin) sont des toxines de type V, de la famille des auto-transporteurs. Elles vont produire une vacuolisation et un engorgement cellulaire.

- **Des protéases**, telles que la sérine protéase, la catalase peroxydase, la métallo-protéase.

- **Des systèmes de résistance à l'acidité gastrique et des uréases.**

- **Shigatoxine** (Stx) **d'*Escherichia coli***

Les shigatoxines (Stx1 et Stx2) sont des toxines particulières codés par les gènes *stx* et sécrétées par certaines souches d'*E.coli* : les STEC (« *Shiga-toxin-Producing Escherichia Coli* » ou *E. coli* produisant des shiga-toxines), anciennement connues sous le nom de VTEC (*Verotoxin-Producing Escherichia coli* ou *E. coli* produisant des vérotoxines). La shigatoxine tient son nom du fait de sa grande similitude avec une toxine produite par *Shigella dysenteriae*. Elle est également connue sous le nom de vérotoxine, en raison de sa toxicité pour les cellules Vero, des cellules de reins du singe vert d'Afrique utilisées en culture cellulaire **(32)**.

- **Les facteurs d'adhésion (37)**

✓ **Lésions d'attachement-effacement**

La colonisation du tube digestif par les EHEC est une étape majeure de la physiopathologie et s'accompagne du développement de lésions spécifiques des entérocytes dites d'attachement-effacement (A/E), qui se limitent au côlon et au caecum. Les lésions A/E,

d'abord décrites chez le pathovar d'EPEC, se caractérisent par un effacement des microvillosités des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de contact entre la bactérie et la cellule cible. Un piédestal constitué d'actine cellulaire sur lequel les bactéries peuvent s'enchâsser de façon très étroite est alors constitué.

✓ **Locus d'effacement des entérocytes (LEE)**

Les gènes responsables des lésions A/E sont portés par le locus chromosomique LEE, codant un système de sécrétion particulier, le système de type III et trois classes de protéines sécrétées par l'intermédiaire de celui-ci :

- le gène *eae* (*E. coli* attaching and effacing) code une protéine de membrane externe de 94 kDa appelée intimine. Plusieurs variants d'intimine ont été identifiés. Ces différents variants seraient impliqués dans le tropisme cellulaire, la spécificité d'hôte et donc dans le pouvoir pathogène des EHEC. Certains variants sont également retrouvés dans des souches EPEC ;
- le gène tir code le co-récepteur spécifique de l'intimine, Tir (Translocated intimin receptor), une protéine de 78 kDa injectée dans le cytoplasme de la cellule eucaryote grâce à un système de sécrétion de type III. Tir s'insère ensuite dans la membrane cytoplasmique de l'entérocyte ;
- les gènes *esp* (EPEC-secreted protein) codent pour une seringue moléculaire (*espA, espB, espD*) impliquée dans la translocation des effecteurs dans la cellule hôte (Tir, map, espF, espG, espH…);
- le système de sécrétion de type III : les protéines Esp ne comportant pas de séquence signal, leur sécrétion a été attribuée au système de type III dont les gènes sont également portés par le LEE. Le mécanisme d'activation du système de sécrétion de type III reste mal connu, de même que les transductions de signaux responsables du réarrangement du cytosquelette des cellules hôtes.

- **L'entérohémolysine d'*Escherichia coli* (38)**

L'entérohémolysine ou E-HlyA présente chez certaines souches STEC est codée par le gène *EhxA* présent sur le grand plasmide pO157. On la retrouve dans toutes les souches O157 :H7 mais aussi dans certaines souches de sérogroupe O26 ainsi que des sérotypes O113:H21, O91:H21, O103:H2 (données du laboratoire). Elle appartient à la famille des toxines RTX (repeats in toxin). Son mécanisme d'action est probablement comparable à celui de l'α-hémolysine. Son activité cytolytique est liée à sa capacité d'insertion dans la membrane et à sa capacité de former des pores engendrant ainsi la lyse osmotique des cellules. Le rôle de E-HlyA a été suspecté à la suite de la mise en évidence d'anticorps anti-E-hlyA chez des patients. Ce mécanisme d'action serait lié à la libération de fer engendrée par les hématies

lysés ce qui permettrait un meilleur développement des bactéries. De plus, il existerait un effet synergique de E-hlyA et des Shiga-toxines : E-hlyA induirait la production d'IL-1β qui active l'expression de Gb3 à la surface des cellules endothéliales. Cette toxine a été identifiée dans le génome de souches isolées de patients atteints de SHU de sérogroupe O26 ne possédant pas de gène *stx*. La délétion du gène codant pour l'hémolysine réduit considérablement la toxicité de ces souches envers des cellules endothéliales en culture.

Cette hémolysine apparaît donc comme pouvant à elle seule causer des dommages sur le tissu Endothélial.

- **Plasticité génotypique et clonalité de l'espèce *E. coli***

Escherichia coli est l'une des espèces bactériennes présentant une très forte plasticité génomique. Elle s'adapte entre son habitat primaire, l'intestin des vertébrés où elle vit comme commensale et son habitat secondaire, l'eau et les sédiments **(39)**. Cette espèce bactérienne peut également se comporter comme un microbe pathogène à localisation intestinale et extra-intestinale chez l'homme et beaucoup d'autres espèces animales. Cette diversité de style de vie est possible grâce à l'instabilité génomique, avec des échanges de gènes par transfert horizontal **(29)**.

Méthodologie

4. Méthodologie

4.1. Cadre de l'étude

Le Centre de Santé Communautaire (CSCom) de Dioro a constitué notre cadre d'étude.

- **Situation géographique de la commune de Dioro**

Elle est l'une des trente communes du cercle de Ségou. Elle est située dans l'arrondissement de Markala à 60 kilomètres du côté-Est de Ségou (quatrième région administrative du Mali) et à 240 kilomètres de Bamako (la capitale du Mali). Elle est composée de 30 villages et limitée à l'Est par les communes de Dièdougou et de Kamiandougou, à l'Ouest par les communes de Farakou-Massa, au Nord par le fleuve Niger et au Sud par les communes de Diouna et Cinzana. La commune de Dioro a une population estimée à 56, 343 habitants (en 2015) dont 28, 255 hommes soit 50,14% et 28088 femmes soit 49,86%. Nous retrouvons diverses ethnies, majoritairement : Bambara, Peuhls, Bozos, Dogon, Malinké, Sonrhaï, Somonos etc. La population de la commune est fortement concentrée aux abords du fleuve et dans les centres commerciaux comme Dioro, Tenenkou, Koïla. La quasi-totalité de la population est musulmane, toute fois on dénombre quelques chrétiens fonctionnaires, et autres professions secondaire et tertiaire et aussi quelques animistes. La principale activité de la commune est l'agriculture plus particulièrement la riziculture. A ce titre le riz est nettement la première spéculation de l'agglomération, ensuite vient le mil, le sorgho, le fonio, le gombo qui sont des cultures secondaires et se pratiquent pendant l'hivernage. Mais l'agriculture connait aujourd'hui un faible taux de rendement conduisant à la migration des jeunes vers les centres villes à la quête du travail bien rémunéré. La commune dispose de quatre (04) CSCom qui assurent la couverture sanitaire de l'ensemble des populations et de quatre (04) pharmacies qui sont toutes fonctionnelles. La ville de Dioro dispose : un CSCom, deux officines de pharmacie et trois dépôts de médicaments.

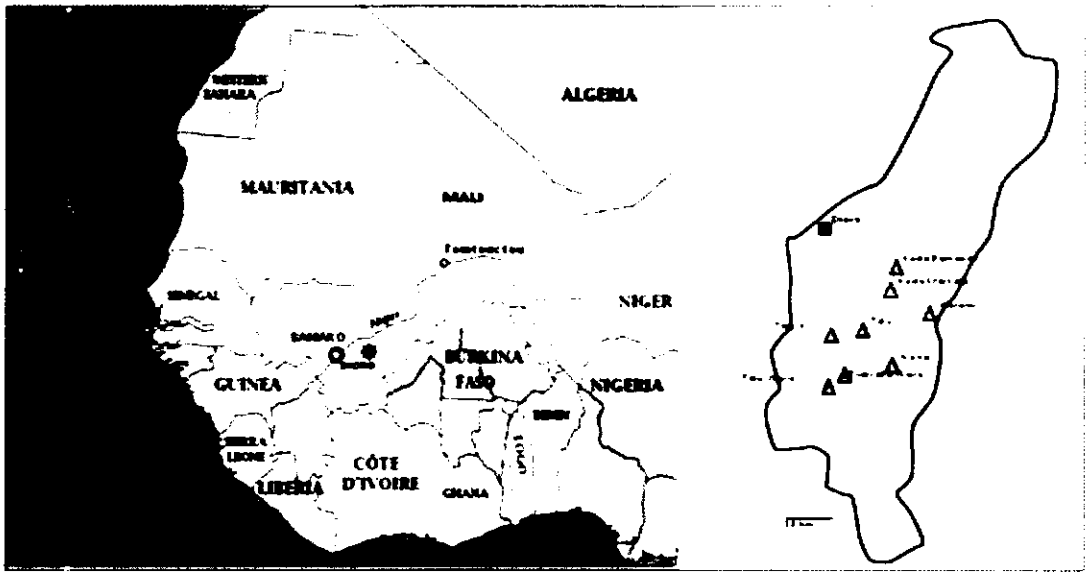


Figure I : Situation géographique de la commune rurale de Dioro au Mali.

- **Présentation du Centre de Santé Communautaire de Dioro**

Le centre de santé communautaire (CSCom) de Dioro est une structure sanitaire de niveau I de la pyramide sanitaire du Mali. Ce centre est situé sur la route principale Ségou-Dioro du côté-Est de la Mairie.

- **Organisation générale du CSCom de Dioro**

Il est dirigé par un Directeur Technique de Centre (DTC).

- **Les locaux et le personnel :**

Le centre dispose :

- Un dispensaire comprenant :

Une (01) salle d'attente, un (01) bureau du médecin (médecin généraliste), un (01) bureau du major (une infirmière d'état), une (01) salle d'injection, une (01) salle de pansement (03 aides-soignants), un premier dépôt de médicaments (un gérant), une (01) toilette pour le médecin, un (01) laboratoire d'analyse biomédicale (un laborantin biologiste), une (01) unité de laboratoire de biologie moléculaire appliquée, qui a pour objectif d'appliquer le programme d'ICEMR (International Center of Excellence for Malaria Research), et un (01) magasin.

- Une (01) maternité (nouvelle maternité) (01 infirmière obstétricienne et deux matrones),

- Un (01) bloc d'observation comprenant :

Deux (02) salles d'observation, le bureau du président de l'ASACO, le bureau du trésorier de l'ASACO et un (01) deuxième dépôt de médicaments pour la garde.

- Un bloc (01) (ancienne maternité) comprenant :

Une salle d'échographie (un médecin généraliste), le bureau de la mutuelle, une salle d'enregistrement de naissance et un dortoir pour l'ambulancier (un chauffeur).

- Un hangar pour la vaccination, un magasin pour la maternité et le dortoir pour le gardien.
- **Les activités du CSCom de Dioro**
- Les consultations sont effectuées du lundi au vendredi, de 08h à 13h.
- ✓ Les gardes sont assurées après les heures de services.
- ✓ Il existe au niveau du dispensaire un site de prise en charge globale du VIH.
- ✓ un centre de diagnostic de la tuberculose (CDT).
- ✓ une unité chargée du dépistage et de la prise en charge des enfants présentant la malnutrition.
- ✓ Au niveau de la maternité il existe un site de protection de la transmission maternelle du VIH de la mère à l'enfant.
- ✓ Le gérant du dépôt de médicaments est chargé de la dispensation de molécules antirétrovirales, la gestion des tickets de consultation et la vente des médicaments.

4.2. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude cas-témoins prospective de Novembre 2015 à Mai 2016.

4.3. Echantillonnage

C'était une étude Cas-Témoins qui a concerné les échantillons d'eau de boisson que buvaient 108 enfants réparti en deux groupes : 54 enfants présentant une malnutrition 54 enfants ne présentant pas une malnutrition. Un échantillon d'eau de boisson de 100ml a été collecté dans chacune des familles de ces enfants pour la détection et la quantification d'*E. coli* présente dans l'eau.

4.3.1. Critères d'inclusion

Ont été inclus dans notre étude :

- **Enfant présentant une malnutrition**

- Sévère ou modérée ;

- Vivant dans un rayon de cinq kilomètres ;

- Agé de 6 mois à 59 mois.

- **Enfant ne présentant pas de malnutrition**

- Avec un état nutritionnel adéquat ;

- Vivant dans un rayon de cinq kilomètres ;

- Agé de 6 mois à 59 mois.

4.3.2. Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus dans notre étude :

Enfants dont les parents n'ayant pas donnés leurs assentiments ;

Enfants gravement malades ne pouvant pas s'alimenter.

4.4. Considérations éthiques et déontologiques

Le protocole de recherche de cette étude a été soumis à l'accord du Comité d'éthique de l'INRSP, (Ministère de la Santé, Mali).

L'autorisation des responsables du CSCom de Dioro et les responsables du projet « Rice Bran » a été obtenue pour la réalisation de cette étude.

L'assentiment des parents de chaque enfant inclu dans l'étude a été obtenu.

L'anonymat et la confidentialité des familles et leurs enfants ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale et à la législation sur la recherche biomédicale et scientifique.

Il n'y a pas eu de conflit d'intérêt dans cette étude.

Les références bibliographiques n'ont fait l'objet d'aucune modification.

4.5. Plan de collecte des données

Tous les enfants ont été enregistrés dans un registre et dans Microsoft Office Excel 2007 avec les informations nécessaires.

Tous les échantillons ont été collectés avec les renseignements nécessaires et enregistrés dans un registre et dans Microsoft Office Excel 2007 ;

L'analyse des données a été faite avec Microsoft Office Excel 2007, SPSS Statistics 20 et Epi Info version 6.

4.6. Dépistage des enfants présentant une malnutrition

Les mesures ont été effectuées selon les variables suivantes : âge en mois, sexe, poids en kilogramme, taille en centimètre et Périmètre Brachial (PB) en mini mètre.

Méthodes de dépistage

- **Dans les familles**

Nous avons effectué des sorties dans les familles en compagnie des agents de santé communautaire pour dépister les enfants présentant la malnutrition.

Age : l'âge de l'enfant était déterminé à partir de la date de naissance relevée dans une pièce d'état civil, carnet de vaccination, carnet de santé ou donné par les parents.

Sexe : le sexe de l'enfant était demandé aux parents.

Périmètre Brachial (PB) : le Périmètre Brachial a été mesuré sur le bras à l'aide d'un ruban PB, à mi-hauteur entre l'épaule et le coude. Le bras devrait être allongé et décontracté au moment de la lecture de la mesure. Le PB a été mesuré en millimètres.

Les valeurs du PB ont été interprétées en fonction des valeurs de référence du Protocole de Prise en Charge Intégrée de la Malnutrition Aigüe au Mali.

Tableau I: Fiche de dépistage de la Malnutrition Aiguë à l'aide du Périmètre Brachial **(40).**

FICHE DE POINTAGE: Dépistage Malnutrition Aigue à l'aide du périmètre Brachial (PB) recherche des oedèmes bilatéraux																	
REGION:						**District:**						**Aire de santé:**					
Village/Quartier:						**Date:**				**Fonction:**							
Enfants 6 - 11 mois		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	
		46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	
		61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	
		76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	
		91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	
		106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	
		121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	
		136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	
		151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	
		166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	
		181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	
		196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	
		211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	
		226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	
	Bande jaune (PB ≥ 115 & < 125 mm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
SOUS TOTAL																	
Enfants 12 - 59 mois		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	
		46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	
		61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	
		76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	
		91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	
		106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	
		121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	
		136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	
	Bande jaune (PB ≥ 115 & < 125 mm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
FE/FA	***PB < 210 mm***	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	
SOUS TOTAL																	
TOTAL																	

NB : Chaque enfant présentant la malnutrition a été référé au CSCom de Dioro par l'agent de santé communautaire (en rapportant les valeurs des variables mesurées).

- **Au niveau du CSCom**

Le dépistage se faisait comme suit :

Apres avoir vérifié les valeurs des variables (PB, Age en mois et le sexe), la confirmation était faite par la mesure des variables suivantes :

Poids : le poids des enfants a été mesuré selon les procédures standardisées avec une balance. La balance a été posée sur une surface dure et plane et les enfants ont été pesés nus. Les enfants de moins de 24 mois ou ceux qui ne pouvaient pas se tenir debout tout seul ont été pesés grâce à la fonction «double pesée» de la balance.

Taille : la mesure a été effectuée selon les procédures standardisées à l'aide de toises. Les enfants de moins de 24 mois ont été mesurés en position couchée et ceux de 2 ans et plus ont été mesurés en position debout (en cm).
Les cas de malnutritions étaient confirmés par le calcul des Z- scores poids pour taille.

Les valeurs des Z- scores poids pour taille ont été interprétées en fonction des valeurs de référence de l'OMS $_{2006}$.

Tableau II : Table Poids-pour-Taille (OMS_{2006}) **(40)**

Taille (cm)	[redacted]	Malnutrition Aiguë Modérée (entre - 2 et - 3 z-scores)	
	[redacted]	< - 2 z-scores	≥ - 3 z-scores
	[redacted]	Poids - kg	
45,0	[redacted]	1,9	1,9
45,5	[redacted]	2,0	1,9
46,0	[redacted]	2,1	2,0
46,5	[redacted]	2,2	2,1
47,0	[redacted]	2,2	2,1
47,5	[redacted]	2,3	2,2
48,0	[redacted]	2,4	2,3
48,5	[redacted]	2,5	2,3
49,0	[redacted]	2,5	2,4
49,5	[redacted]	2,6	2,5
50,0	[redacted]	2,7	2,6
50,5	[redacted]	2,8	2,7
51,0	[redacted]	2,9	2,7
51,5	[redacted]	3,0	2,8
52,0	[redacted]	3,1	2,9
52,5	[redacted]	3,2	3,0
53,0	[redacted]	3,3	3,1
53,5	[redacted]	3,4	3,2
54,0	[redacted]	3,5	3,3
54,5	[redacted]	3,6	3,4
55,0	[redacted]	3,7	3,6
55,5	[redacted]	3,9	3,7
56,0	[redacted]	4,0	3,8
56,5	[redacted]	4,1	3,9
57,0	[redacted]	4,2	4,0
57,5	[redacted]	4,4	4,1
58,0	[redacted]	4,5	4,3
58,5	[redacted]	4,6	4,4
59,0	[redacted]	4,7	4,5
59,5	[redacted]	4,9	4,6
60,0	[redacted]	5,0	4,7
60,5	[redacted]	5,1	4,8
61,0	[redacted]	5,2	4,9
61,5	[redacted]	5,3	5,0
62,0	[redacted]	5,5	5,1
62,5	[redacted]	5,6	5,2
63,0	[redacted]	5,7	5,3
63,5	[redacted]	5,8	5,4

64,0		5,9	5,5	
64,5		6,0	5,6	
65,0		6,1	5,7	
65,5		6,2	5,8	
66,0		6,3	5,9	
66,5		6,4	6,0	
67,0		6,5	6,1	
67,5		6,6	6,2	
68,0		6,7	6,3	
68,5		6,8	6,4	
69,0		6,9	6,5	
69,5		7,0	6,6	
70,0		7,1	6,6	
70,5		7,2	6,7	
71,0		7,3	6,8	
71,5		7,4	6,9	
72,0		7,5	7,0	
72,5		7,5	7,1	
73,0		7,6	7,2	
73,5		7,7	7,2	
74,0		7,8	7,3	
74,5		7,9	7,4	
75,0		8,0	7,5	
75,5		8,1	7,6	
76,0		8,2	7,6	
76,5		8,2	7,7	
77,0		8,3	7,8	
77,5		8,4	7,9	
78,0		8,5	7,9	
78,5		8,6	8,0	
79,0		8,6	8,1	
79,5		8,7	8,2	
80,0		8,8	8,2	

Taille				Malnutrition Aiguë Modérée (entre - 2 et - 3 z-scores)	
				< - 2 z-scores	≥ - 3 z-scores
				Poids - kg	
80,5				8,9	8,3
81,0				9,0	8,4
81,5				9,0	8,5
82,0				9,1	8,5
82,5				9,2	8,6
83,0				9,3	8,7
83,5				9,4	8,8
84,0				9,5	8,9
84,5				9,6	9,0
85,0				9,7	9,1
85,5				9,8	9,2
86,0				9,9	9,3
86,5				10,0	9,4
87,0				10,1	9,5
87,5				10,4	9,7
88,0				10,5	9,8
88,5				10,6	9,9
89,0				10,7	10
89,5				10,8	10,1
90,0				10,9	10,2
90,5				11	10,3
91,0				11,1	10,4
91,5				11,2	10,5
92,0				11,3	10,6
92,5				11,4	10,7
93,0				11,5	10,8
93,5				11,6	10,9
94,0				11,7	11
94,5				11,8	11,1
95,0				11,9	11,1
95,5				12	11,2
96,0				12,1	11,3
96,5				12,2	11,4
97,0				12,3	11,5
97,5				12,4	11,6
98,0				12,5	11,7
98,5				12,7	11,8
99,0				12,8	11,9
99,5				12,9	12
100,0				13	12,1
100,5				13,1	12,2
101,0				13,2	12,3
101,5				13,3	12,4
102,0				13,5	12,5
102,5				13,6	12,6
103,0				13,7	12,8
103,5				13,8	12,9
104,0				13,9	13
104,5				14,1	13,1
105,0				14,2	13,2
105,5				14,3	13,3
106,0				14,4	13,4

106,5					14,6	13,5	
107,0					14,7	13,7	
107,5					14,8	13,8	
108,0					15	13,9	
108,5					15,1	14	
109,0					15,2	14,1	
109,5					15,4	14,3	
110,0					15,5	14,4	
110,5					15,7	14,5	
111,0					15,8	14,6	
111,5					15,9	14,8	
112,0					16,1	14,9	
112,5					16,2	15	
113,0					16,4	15,2	
113,5					16,5	15,3	
114,0					16,7	15,4	
114,5					16,8	15,6	
115,0					17	15,7	
115,5					17,1	15,8	
116,0					17,3	16	
116,5					17,4	16,1	
117,0					17,6	16,2	
117,5					17,8	16,4	
118,0					17,9	16,5	
118,5					18,1	16,7	
119,0					18,2	16,8	
119,5					18,4	16,9	
120,0					18,5	17,1	

NB : tous les enfants présentant une malnutrition ont été placés au compte du CSCom pour la prise en charge et le suivi selon le protocole du PECIMA (Protocole de Prise en Charge Intégrée de la Malnutrition Aiguë au Mali).

4.7.Dépistage des enfants ne présentant pas une malnutrition (Témoins)

Les témoins étaient des enfants inclus (à partir du 6^{emme} mois d'âge) dans l'étude Rice-Bran, qui était une étude cohorte de 50 enfants, répartis en deux groupes de 25 enfants par groupe. Ces enfants ont été choisis à partir du registre de la maternité du CSCom de Dioro et ont répondu aux critères d'inclusion fournis par le protocole du projet. Parmi ces critères, la mesure du PB et le calcul des Z-scores poids pour taille ont été faite. L'interprétation des valeurs du PB et les Z-scores ont été faite respectivement selon les valeurs de références du PECIMA (**Tableau I**) et les valeurs de références de l'OMS_{2006}. Le reste des enfants témoins ont été choisi de façon aléatoire dans la ville de Dioro par la mesure du PB et le calcul des Z-scores poids pour taille (**Tableau II**).

4.8. Méthode de collecte des eaux

Nous avons utilisé le kit CBT (technique Aquagenx) pour faire la collecte des échantillons d'eau.

Nous nous sommes rendus dans chacune des familles des enfants inclus dans notre étude pour collecter 100 ml d'échantillon d'eau de jarre avec le sachet contenant le thiosulfate de sodium (fourni par le kit). L'échantillon ainsi collecté a été acheminé au laboratoire dans une glacière pour être testé dans les six heures suivant la collecte.

4.9. Méthodes au laboratoire

4.9.1. Laboratoire de Dioro (unité du LBMA)

Les échantillons d'eau étaient traités sous la hotte de biosécurité pour éviter toute contamination au cours des manipulations.

Technique utilisée : Kit Aquagenx CBT

- **Domaine d'application**

Cette technique est utilisée pour détecter et de quantifier la bactérie *E. coli* dans 100ml d'eau.

- **Principe et théorie**

Cette technique consiste à ajouter à un échantillon d'eau de 100ml, le milieu BCIG pendant 15 mn puis incuber dans le sachet CBT pendant 24 heures à 48 heures selon la variation de la température ambiante, comprise entre 25° et 44,5°. Dans ces conditions la plupart des souches d'*E. coli* possédant une β-D-Glucuronidase agissent par clivage du BCIG, entraînant la coloration du milieu en bleu ou bleu-vert.

La sélectivité du milieu est assurée par la présence du thiosulfate de sodium qui inhibe les autres micro-organismes indésirables et favorise la récupération des *E. coli*.

- **Procédure pour réaliser la technique Aquagenx**

Réactifs et matériels

✓ **Réactifs**

- Thiosulfate de Sodium
- Glycérol
- Azote liquide
- le BCIG

✓ **Matériels**

- Sachet pour la collecte (Thio Bag)
- Sachet à compartiments pour le test (CBT)
- Clamp pour sceller le sachet à compartiments
- Thermomètre
- Chronomètre
- Papiers buvables
- Pipettes Pasteur
- Tubes de 15 ml et de 10 ml
- Cryotubes de 1.8 ml
- Centrifugeuse
- Portoirs des tubes
- Hotte
- Embout de 1 ml
- Eau de javel.
- Marqueurs

Mode opératoire de la technique Aquagenx kit CBT :

Etape 1 : Collecter 100ml d'échantillon d'eau avec le sachet contenant le thiosulfate de sodium et testé l'échantillon dans les 6 heures qui suivent la collecte.

Etape 2 : Ajouter le milieu de croissance d'Escherichia coli (substrat chromo-gène : acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-glucuronique) dans le sachet contenant l'échantillon d'eau (sachet Thio Bag).

- Faire dissoudre le milieu de croissance jusqu'à obtenir le plastique blanc (plastique apportant le milieu de croissance d'Escherichia coli) pendant 15 minutes ;
- L'échantillon avec le milieu dissous doit être versé dans le sachet à compartiments (sachet à compartiments pour le test) dans les 30 minutes qui suivent la dissolution.

Etape 3 : Verser lentement le mélange (l'échantillon avec le milieu dissous) dans les compartiments du sachet (sachet à compartiments pour le test), presser doucement le sachet par ses flancs d'un compartiment à l'autre pour repartir l'excédent d'échantillon d'eau par compartiment.

Etape 4 : Sceller le sachet avec le clamp, puis mettre à l'incubation

La période d'incubation varie entre 24H à 48H, elle est dépendante de la température ambiante.

NB : La température ambiante (pour l'incubation des échantillons) a été prélevée quatre fois par jour avec le thermomètre. De ce fait une chambre a été aménagée pour la culture des échantillons d'eau à la température ambiante.

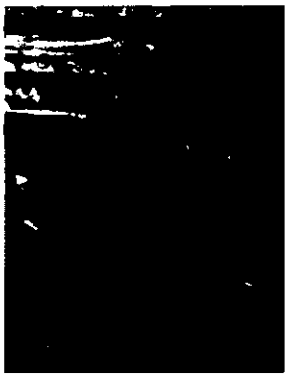
Etape 5 : Après la lecture, décontaminer les sachets avec son contenant pendant 45 mn en utilisant l'eau de javel dilué à 10%.

- **Résultats du kit**

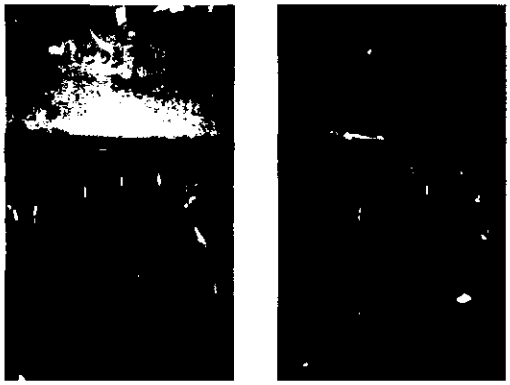
Ils sont fonction de la coloration et du nombre d'*Escherichia coli* par compartiments du sachet.

- **Couleur bleue ou bleu-vert : positif**
- **Couleur jaune : négatif**

NB : Après la lecture, les sachets étaient décontaminés avec son contenant pendant 45 mn en utilisant l'eau de javel dilué à 10%.



Négatif



Positif

Figure II : Exemple de résultat du kit Aquagenx CBT

- **Classification des résultats du test en fonction du risque**

Elle se fait en utilisant le nombre le plus probable d'*Escherichia coli* établi par le kit

Tableau III : Méthode d'interprétation et de classification des résultats du kit CBT **(30)**.

Compartment #					MPN/100mL	Upper 95% Confidence Interval/100mL	Health Risk Category Based on MPN and Confidence Interval
1 10mL	2 30mL	3 56mL	4 3mL	5 1mL			
					0.0	2.87	Low Risk/Safe
					1.0	5.14	Intermediate Risk/ Probably Safe
					1.0	4.74	
					1.1	5.16	
					1.2	5.64	
					1.5	7.81	
					2.0	6.32	
					2.1	6.85	
					2.1	6.64	
					2.4	7.81	
					2.4	8.12	
					2.6	8.51	
					3.2	8.38	
					3.7	9.70	
					3.1	11.36	Intermediate Risk/ Possibly Safe
					3.2	11.82	
					3.4	12.53	
					3.9	10.43	
					4.0	10.94	
					4.7	22.75	
					5.2	14.73	
					5.4	12.93	
					5.6	17.14	
					5.8	16.87	
					8.4	21.19	
					9.1	37.04	
					9.6	37.68	
					13.0	83.06	High Risk/Possibly Unsafe
					17.1	56.35	

Le tableau ci-dessus sur les directives de la qualité de l'eau de consommation selon l'OMS dans sa 4ème édition représente : le nombre le plus probable d'*E. coli* dans 100 ml d'eau, la classification se fait comme suit: 0/100 ml = Sûr; 1-10/100 ml = Risque Intermédiaire; 11-100/100 ml = Haut Risque; et >100/100 ml = Très Haut Risque. Le résultat du CBT correspond à un de ces 32 résultats possibles.

➢ **Conservation des échantillons**

Après la lecture les échantillons ont été centrifugés. Le culot bactérien de chaque échantillon a été aliquoté avec du glycérol à 20% dans deux cryotubes de 1.8 ml qui étaient ensuite conservés dans l'azote liquide sur le terrain. Sur chaque cryotube, figuraient les informations nécessaires à l'identification de l'échantillon (numéro identifiant, la date). Les échantillons étaient acheminés au laboratoire LBMA à Bamako et conservés dans un congélateur à -80° C.

4.9.2. Laboratoire de biologie moléculaire appliquée a Bamako

Les culots bactériens ont été utilisés pour l'étude moléculaire.

➢ **Méthode de séparation glycérol-culot bactérien**

Nous avons utilisé le gradient de concentration de NaCl à 12% et à 1,6%.

Procédure : Nous avons utilisé le protocole modifié de **Victoria C. Corey et coll. (41)**

- Décongeler les échantillons à 37° C pendant une à deux minutes ;
- Mesurer dans un autre tube le volume V de l'échantillon à l'aide d'une pipette stérile,
- Ajouter lentement 1/5 volume V de NaCl à 12%,
- Ajouter 5 volume V de NaCl à 1,6%,
- Centrifuger le tube à 800g à la température ambiante pendant 5 minutes ;
- Récupérer le culot et laver avec du PBS 1X en ajoutant 5 volume V du PBS 1X ;
- Centrifuger à 800g pendant 5 minutes à la température ambiante et enfin enlever le surnageant et récupérer le culot pour l'extraction d'ADN.

➢ **Extraction d'ADN**

Nous avons extrait l'ADN bactérien par choc thermique (100°C) au bain marie avec le PBS 1X selon la procédure suivante :

- Ajouter au culot bactérien non glycérolé 50 microlitres du PBS 1X ;
- Incuber au bain marie à 100°c pendant dix (10) minutes ;
- Centrifuger à 12000 rpm pendant dix (10) minutes, puis récupérer le surnageant pour la PCR. Si la PCR n'est pas réalisée tout de suite le conserver à -20°C.

- **Quantification de l'ADN**

Elle a été faite par spectrophotométrie.

Le maximum d'absorption des acides nucléiques se situe à 260 nm. Les protéines, principaux contaminants des préparations absorbent aussi à 260 nm, mais avec un maximum d'absorption qui se situe vers 280 nm à cause des acides aminés aromatiques. Le rapport R= A260 nm/A280 nm constitue alors un moyen pour apprécier une éventuelle contamination de la pureté d'ADN par les protéines ou par les RNA.

*R = A260 nm/A280 nm

* ADN pure: 1,8 < R < 2

* ADN contaminé par les protéines: R < 1,7

* ADN contaminé par les ARN: R > 2

Pour calculer la concentration d'ADN: 1 unité DO260 nm correspond à une concentration de 50 µg/ml d'ADN double brin/ml.

Donc la concentration de l'ADN en µg/ml = facteur de dilution × DO 260 ×50µg/ml.

L'ADN a été dosé avec le spectrophotomètre (**Eppendorf AG, made in Germany**).

4.9.2.1. Réalisation de la Polymérase Chain Reaction multiplexe (PCR)

Tous les échantillons positifs avec le kit Aquagenx CBT ont été analysés par la PCR multiplex suivant le protocole modifié de **Samuel Vilchez & coll. (42)**.

Nous avons utilisé des souches pathogènes provenant des selles isolées au Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée de Bamako (LBMA) comme contrôle positif. Il s'agissait de la souche EAEC dont le gène est *pCVD432*.

- **Amplification par PCR du gène de l'ARN ribosomique 16s pour l'identification bactérienne :**

Elles ont été utilisées dans un premier temps pour confirmer la présence de bactéries dans les culots.

La séquence des amorces utilisées pour l'amplification de l'ARNr 16S était :

Univ-0008-a-S-19F: GAGTTTGATCCTGGCTCAG et

Univ-1528-a-A-17R : AAGGAGGTGATCCAGCC

Mode opératoire

LA PCR pour la paire d'amorce de l'ARN 16S des bactéries a été conduite suivant le protocole modifié de **Lang et coll. (43)**. Un volume total de 25µl a été utilisé avec 2µl de la

suspension d'ADN, 1x Tampon (Mg^{2+} free), 3mM de $MgCl_2$, 0,8 mM de dinucleotide triphospahte (dNTPs), 0,4 µM de chaque amorce de l'ARN ribosomique 16S et 0,03U de Taq polymerase (PROMEGA , Madison, WI USA). Le programme d'amplification a été fait à l'aide du thermocycleur (PTC-200 de MJ Research, Inc., USA), comprenait une dénaturation initiale des brins d'ADN à 95°C pour 3 minutes suivie d'un cycle qui incluait une dénaturation (95,0 °C, 30 secondes), un appariement des amorces (60°C; 30 secondes) et une extension de la copie du brin d'ADN (72°C; 2min), ce cycle était répété 31 fois. Enfin, les amplicons pouvaient être conservé dans le thermocycleur à 4°C.

- **Amplification par la PCR multiplex des gènes de virulence**

Les amorces spécifiques utilisées correspondaient à l'identification de cinq souches d'*E. coli* pathogènes responsables des diarrhées, il s'agissait des souches EAEC, EHEC, EIEC, EPEC et ETEC.

L'ADN extrait du culot bactériens a été analysé par la PCR multiplex avec les amorces spécifiques (**Tableau IV**) pour la détection des marqueurs de virulence suivant : *eaeA* (gène structurale pour l'intimine d' EHEC et EPEC), *bfpA* (gène de structure de EPEC), *vt1* et/ou *vt2* (verotoxines 1 et 2 d'EHEC), *eltB* et/ou *estA* (enterotoxines LT et ST d'ETEC), *ial* (plasmide d'invasion trouvé chez EIEC et chez *Shigella*) et pCVD (séquence de nucléotide de *Eco*RI-*Pst*I, fragment d'ADN de pCVD432 de EAEC).

Les critères minimum pour déterminer les *E. coli* responsables des diarrhées (EAEC, EHEC, EIEC, EPEC et ETEC) ont été définis comme suit : la présence d'*eltB* et/ou *estA* pour ETEC; la présence de *vt1* et/ou *vt2* pour EHEC (en plus de la présence de *vt1* et/ou *vt2* s'il y a la présence de *eaeA* confirme la détection de la souche typique EHEC); la présence de *bfpA* et *eaeA* pour EPEC typique (mais la présence de *eaeA* seul pour EPEC atypique); la présence d'*ial* pour EIEC et *Shigella*; et la présence de *pCVD432* pour EAEC.

Dans un premier temps, nous avons optimisé la PCR pour les amorces spécifiques avec les réactifs MyFi™ de la compagnie Bioline (Meridian Life Science). Un volume total de 50 µl a été utilisé par réaction avec 20 µM de chaque amorce, 2X du Master Myfi Mix, 200 ng de l'ADN. Le programme d'amplification a été fait à l'aide du thermocycleur (PTC-200 de MJ Research, Inc., USA), comprenait une dénaturation initiale des brins d'ADN à 95°C pour 1 minute suivie d'un cycle qui incluait une dénaturation (95,0 °C, 15 secondes), un appariement des amorces (60° C; 15 secondes) et une extension de la copie du brin d'ADN (72°C; 15 secondes), ce cycle était répété 35fois . Enfin, les amplicons pouvaient être conservé dans le thermocycleur à 4°C.

Dans un second temps, la PCR pour les amorces spécifiques a été conduite suivant le protocole modifié de **Samuel Vilchez & coll. (42)** en utilisant les réactifs de la compagnie Invitrogen et PROMEGA (USA). Un volume total de 25 µl a été utilisé avec 2 µl de la suspension d'ADN, 1x Buffer (Mg^{2+} free) 3,5 Mm de $MgCl_2$, 0,8 mM de dinucleotide triphospahte (dNTPs) (Invitrogen), 0,4µM de chaque amorces (**tabbleau IV**) des gènes de virulence et 0,03 U de Taq polymerase (PROMEGA , Madison, WI USA). Le programme d'amplification a été fait à l'aide du thermocycleur (PTC-200 de MJ Research, Inc., USA), comprenait une dénaturation initiale des brins d'ADN à 94°C pour 5 minutes suivie d'un cycle qui incluait une dénaturation (94,0 °C, 30 secondes), un appariement des amorces (60°C; 1 minute) et une extension de la copie du brin d'ADN (72°C; 75 secondes), ce cycle était répété 40 fois.

Enfin, les amplicons pouvaient être conservés dans le thermocycleur à 4°C.

Tableau IV : Liste des amorces utilisées pour la classification des souches d'*E. coli*

Souches	Gènes cibles	Amorces	Sens 5'-3'/Séquences	Taille (pb)	Référence
ETEC	*eltB*	LT	**F** TCTCTATGTGCATACGGAGC	322	Prevalence of diarrhea genic Escherichia coli in children from Leon, Nicaragua **(42)**
			R CCATACTGATTGCCGCAAT		
	estA	ST	**F** GTCAAACCAGTA(G/A)GGTCTTCAAAA	147	
			R CCCGGTACA(G/A)GGAGGATTACAACA		
EHEC	*vt1*	VT1	**F** GAAGAGTCCGTGGGATTAC	130	
			R AGCGATGCAGCTATTAATAA		
	vt2	VT2	**F** ACCGTTTTTCAGATTTT(G/A)CACATA	298	
			R TACACAGGAGCAGTTTCAGACAGT		
EPEC	*Eae*	Eae	**F** CACACGAATAAACTGACTAAAATG	376	
			R AAAAACGCTGACCCGCACCTAAAT		
	bfpA	bfpA	**F** TTCTTGGTGCTTGCGTGTCTTTT	367	
			R TTTTGTTTGTTGTATCTTTGTAA		
EIEC	*Ial*	SHIG	**F** CTGGTAGGTATGGTGAGG	320	
			R CCAGGCCAACAATTATTTCC		
EAEC	*pCVD432*	EA	**F** CTGGCGAAAGACTGTATCAT	630	
			R AAATGTATAGAAATCCGCTGTT		

La séparation des produits de la PCR était réalisée sur un gel d'agarose (Bio- Rad Laboratory, Spain) à 2% contenant du bromure d'ethidium 0,5X avec les marqueurs de tailles moléculaires 154 paires de base (**Réf : 11 062 590 001, version 07**) et 100 paires de base

(Réf : 11 721 933 001, version 07). La migration s'est déroulée sous 100 volts pendant 75 minutes. Les bandes étaient visualisées et photographiées sous UV light transilluminator (Fisher). La taille des bandes était calculée à l'aide du logiciel Doc-ItLS Analysis Software (UVP, LLC 2066 W. 11th Street Upland, CA 91786)

- **Procédure de la technique d'électrophorèse et visualisation des bandes amplifiées**

✓ **Technique d'électrophorèse**

Matériel et réactif

-Générateur,

-Appareil à photographie d'image digitale UVP avec un programme d'analyse,

-Cuve de migration,

-Pipettes et embouts,

-Agarose (2%) ; TBE (0,5X) ; Bac et peigne pour gel, Bromure d'éthidium (0,3µg/ml)

- Dye, Markers VI et Markers 100 bp, Amplicons, le contrôle positif et négatif

Mode opératoire

- Préparer une solution d'agarose à 2% de TBE 0,5x au four micro-onde pendant environ 1,30mn ;
- Ajouter 30µl de bromure d'éthidium, mélanger puis mouler dans un bac monté d'un peigne sur une surface plane bien ajustée, laisser le gel se polymériser pendant environ 30mn à 1 heure ;

- Placer le gel dans le bac à électrophorèse submergé d'une solution de TBE 0,5x. Loger les échantillons à tester et les contrôles en mélangeant 13µl d'ADN et 2µl de Dye dans les puits du peigne en commençant par le marker VI (DNA Molecular Weight Marker VI, Roche, Allemagne) ou le marker 100 bp.
- Faire migrer du pôle moins (-) vers le pôle plus (+) pendant environ 90mn à 100 volts et à 2 ampères ;

- Révéler les bandes en scannant le gel à l'aide de l'appareil photo UVP relié à l'ordinateur, sauvegarder le fichier et analyser les paramètres moléculaires ;

✓ **Visualisation des bandes amplifiées :**

Les bandes rendues fluorescentes par le bromure d'éthidium étaient photographiées sous la lumière Ultra-violette du transilluminateur (Fisher) ensuite l'image du gel était téléchargée à l'aide de la camera du système UVP relié à l'ordinateur fujitsu. La présence d'une bande de taille spécifique sur le gel d'agarose traduit la présence de l'une des cinq souches pathogènes d'*E. coli*. Ensuite que l'on recherche, les bandes identifiées pour chaque paire d'amorces étaient ensuite enregistrées dans le tableur Excel sur Windows 2000. Le programme UVP nous permet d'estimer la taille de chacun des fragments amplifiés afin de confirmer avec précision la souche pathogène d'*E. coli* correspondante.

➢ **Détermination de la taille des bandes**

Elle se faisait par l'introduction d'un marqueur de taille (ou de poids moléculaire) comme standard qui migre en même temps que les échantillons à tester.

RESULTATS

5. Résultats

5.1. Données sociodémographiques

Tableau V : Répartition des enfants en fonction du sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Féminin	59	54,6
Masculin	49	45,4
Total	108	100,0

Le sexe féminin prédominait avec 54,6% (59/108). Le sexe ratio était de 1,2 en faveur du sexe féminin.

Tableau VI : Répartition des enfants en fonction des tranches d'âge.

Tranches d'âge	Malnutris		Témoins		Total (Pourcentage)
	Féminin	Masculin	Féminin	Masculin	
[6-12]	20	12	26	27	85(78,7)
[13-18]	6	1	1	0	8(7,4)
[19-24]	2	5	0	0	7(6,5)
[25-30]	3	3	0	0	6(5,6)
[30-59]	1	1	0	0	2(1,9)
Total	32	22	27	27	108(100)

La tranche 6 à 12 mois était la plus représentée avec 78,7%. L'âge variait entre 6 à 36 mois, la moyenne d'âge était de 12,34 ± 5,8 mois.

Tableau VII : Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction des sources d'eau.

Sources d'eau	Effectifs		Total (Pourcentage)
	Malnutris	Témoins	
Jarre /Puits	27	32	59(54,6)
Jarre/Forage	27	22	49(45,4)
Total	54	54	108(100)

L'eau de boisson provenant des puits était la plus représentée, soit 54,6% (59/108).

Il n'y avait pas de différences statiquement significative entre les eaux de boisson provenant des puits et celles provenant des forages ($Chi^2 = 0,93$; $P = 0,333$ et ddl = 1).

Tableau VIII : Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction des matériels de transport.

Matériels de transport	Effectifs		Total (Pourcentage)
	Malnutris	Témoins	
Bidons (20L)	18	16	31,5
Sceaux	31	31	57,4
Sceaux et Bidons (20L)	5	7	11,1
Total	54	54	100,0

Les seaux étaient les plus représentés, soit 57,4% (62/108).

Tableau IX : Répartition des enfants en fonction des quartiers.

Quariers	Effectif		Total (Pourcentage)
	Malnutris	Témoins	
Bamanan	1	6	7(6,5)
Bamanan/K	2	0	2(1,9)
Bozola	9	5	14(13,0)
Bozola/K	3	0	3(2,8)
Darsalam	4	5	9(8,3)
Dialladougou/K	3	0	3(2,8)
Djida	4	8	12(11,1)
Flawèrè/K	2	0	2(1,9)
Hamdallaye	15	14	29(26,9)
Medine	8	14	22(20,4)
Missira	1	2	3(2,8)
Somonoking/K	2	0	2(1,9)
Total	54	54	108(100)

D : Dioro **K** : Kominin

Le quartier Hamdallaye était le plus représenté avec 26,9% (29/108).

5.2. Résultats anthropométriques

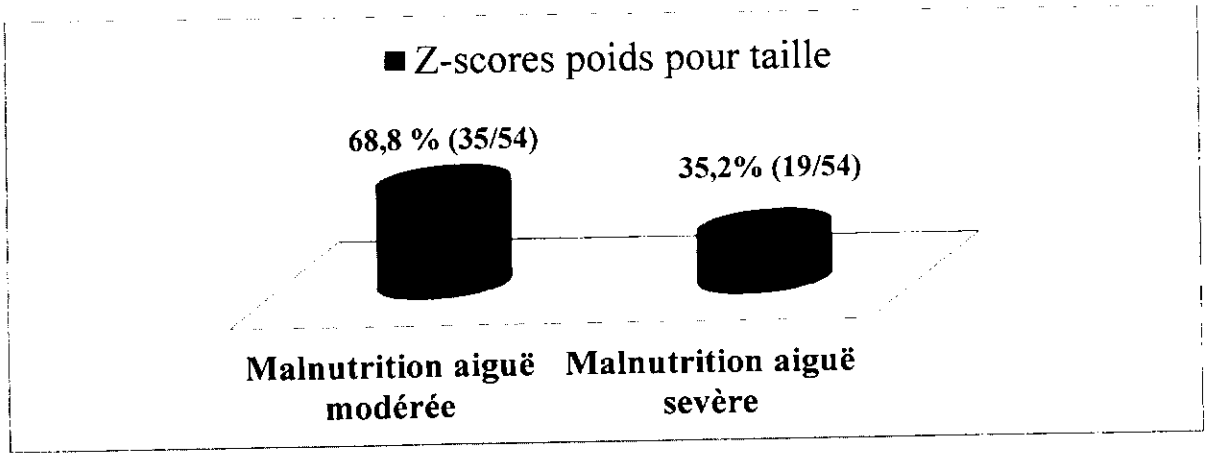


Figure III : Répartition des cas de malnutrition dépistés en utilisant les Z-scores poids pour taille.

La Malnutrition aiguë modérée était la plus représentée avec 32,4% (35/108).

En plus de ces 54 enfants malnutris, 54 autres enfants témoins avec un état nutritionnel adéquat (ces enfants témoins ne figurent pas ici) étaient inclus dans notre étude. Ils étaient des enfants inclus dans une étude cohorte (Rice Bran), parallèle à notre étude et parmi les critères d'inclusion, la mesure du PB et le calcul des Z-scores poids pour taille ont été effectués.

Tableau X : Répartition des enfants en fonction des groupes d'études.

Groupes	Effectifs	Pourcentage
Témoins	54	50
Malnutris	54	50
Total	108	100

Au total 108 enfants ont participé à cette étude : 54 enfants témoins et 54 enfants présentant une malnutrition.

Nous avons reparti les enfants en deux groupes afin qu'on puisse déterminer le niveau d'association des souches pathogènes d'*E. coli* à la malnutrition à travers la consommation d'eau de boisson.

5.3. Chaîne de contaminations possibles des eaux

Au cours de nos collectes, nous avons demandé des renseignements sur les conditions de transport et de stockage des eaux de boisson dans chacune des familles des enfants inclus dans notre étude. Nous avons, entre autres, les facteurs de contaminations possibles suivants :

- **Au cours du transport**

Forage/Jarre : (transport du forage à la jarre)

✓ Moyens de transport des eaux :

Seaux : non fermés, donc risques de contaminations possibles des eaux :

- au cours du transport,
- par l'air ambiant et
- avec les mains salles.

Bidons : fermés, mais quelques rares cas les bidons étaient régulièrement nettoyés.

Puits/Jarre : (transport du puits à la jarre)

✓ Etat des puits

- Fermé et loin des sources d'eaux souillées
- Non fermé et loin des sources d'eaux souillées
- Non fermé, pénétration des eaux pendant l'hivernage
- Fermé, pénétration des eaux pendant l'hivernage

NB : L'eau était puisée à l'aide de puisettes et de bidons accrochés à des cordes, qui peuvent aussi être sources de contamination des eaux.

✓ Moyens de transport des eaux :

Seaux : non fermés, donc risques de contaminations possibles des eaux :

- au cours du transport,
- par l'air ambiant et
- avec les mains salles.

- **Risques de contaminations liés aux conditions de stockage des eaux dans la jarre (jarre et son utilisation par la famille)**

✓ en générale fermée, mais dans un cas précis nous avons trouvé la jarre ouverte,

✓ dans certaines familles la jarre n'est pas fréquemment lavée,

✓ utilisation d'un seul gobelet par tous les membres de la famille,

✓ touché du gobelet avec les mains salles, plus particulièrement les enfants.

Tableau XI : Récapitulatif des niveaux de contamination possibles des puits.

Niveaux de contamination possibles des puits	Traitement des eaux avec eau de Javel					Total
	Non traité	Directement traité dans la jarre avec eau de javel	Traité (sans protocole de traitement)	Traité en raison d'un verre de thé d'eau de javel pour un mètre d'eau de puits en profondeur	Traité et filtrée dans la jarre	
Puits fermé et loin des sources d'eaux souillées	6	2	37	3	2	50
Puits fermé, mais pénétration des eaux pendant l'hivernage	0	0	1	0	0	1
Puits non fermé et loin des sources d'eaux souillées	3	0	4	0	0	7
Puits non fermé, pénétration des eaux pendant l'hivernage	1	0	0	0	0	1
Total	10	2	42	3	2	59

Les puits fermés, loin des sources d'eaux souillées et traités avec l'eau de Javel sans protocole de traitement étaient les plus représentés avec 62,7% (37/59).

5.4. Résultats microbiologiques

Tableau XII : Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction de la quantité d'*E. coli*.

E. coli (UFC/100ml)	Effectifs		Total (Pourcentage)
	Témoins	Malnutrition	
<1	14	6	20 (18,5)
[1-10]	11	18	29 (26,9)
] 10-100]	19	8	27 (25,0)
>100	10	22	**32 (29,6)**
Total	54	54	108 (100,0)

Les échantillons d'eau qui contenaient plus 100 CFU/100ml *E. coli* étaient les plus représentés, soit 29,6% (32/108).

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les quantités d'*E. coli* détectées selon la classification de la potabilité de l'eau ($Chi^2 = 0,49$; $P = 0,921$ et ddl = 3).

Tableau XIII: Répartition des échantillons d'eau de boisson en fonction des catégories de risques.

Catégories de risques	Effectifs	Pourcentage
Risque faible/Sûr	20	18.5
Risque intermédiaire /Probablement sûr	19	17.6
Risque intermédiaire/Possiblement sûr	10	9.3
Risque élevé/Possiblement dangereux	18	16.7
Risque élevé /Probablement dangereux	9	8.3
Dangereux	**32**	**29.6**
Total	108	100.0

Le risque dangereux était le plus représenté avec 29,6% (32/108).

Tableau XIV : Répartition des catégories de risques en fonction des quartiers

Quartiers	Catégories de risques					
	0	1	2	3	4	5
Bamanan	2	1	1	1	1	1
Bamanan/K	0	1	0	0	0	1
Bozola	3	5	2	3	0	1
Bozola/K	0	0	1	0	0	2
Darsalam	4	2	2	1	0	0
Dialladougou/K	0	0	0	0	1	2
Djida	3	3	2	1	2	1
Flawèrè/K	0	0	0	1	1	0
Hamdallaye	3	2	0	6	2	**16**
Medine	2	4	2	5	2	7
Missira	3	0	0	0	0	0
Somonoking/K	0	1	0	0	0	1
Total	20	19	10	18	9	32

0: Risque faible/Sûr
1: Risque intermédiaire /Probablement sûr
2: Risque intermédiaire/Possiblement sûr
3: Risque élevé/Possiblement dangereux
4; Risque élevé /Probablement dangereux
5: Dangereux

Le risque dangereux était le plus représenté dans les échantillons d'eau collectés à Hamdallaye soit 50% (16/32,).

Tableau XV : Répartition des catégories de risque en fonction de la source d'eau.

Catégories de risques	Source d'eau		Total
	Jarre /Puits	Jarre/Forage	
Risque faible/Sûr	6	14	20
Risque intermédiaire /Probablement sûr	6	13	19
Risque intermédiaire/Possiblement sûr	5	5	10
Risque élevé/Possiblement dangereux	10	8	18
Risque élevé /Probablement dangereux	7	2	9
Dangereux	**25**	7	**32**
Total	59	49	108

Le risque dangereux était le plus représenté parmi les eaux de boisson provenant des puits, soit 78,1% (25/32). Il n'y avait pas de différence statiquement significative entre les catégories de risques selon la provenance des échantillons d'eau de boisson ($Chi^2 = 2,76$; $P = 0,736$ et ddl = 5).

Tableau XVI : Répartition des catégories de risque en fonction des matériels de transport.

Catégories de risques	Matériels de transport			Total
	Bidons (20L)	Seaux	Seaux et Bidons (20L)	
Risque faible/Sûr	11	7	2	20
Risque intermédiaire /Probablement sûr	10	7	2	19
Risque intermédiaire/Possiblement sûr	2	6	2	10
Risque élevé/Possiblement dangereux	5	9	4	18
Risque élevé /Probablement dangereux	1	8	0	9
Dangereux	5	**25**	2	**32**
Total	34	62	12	108

Le risque dangereux était le plus représenté parmi les eaux de boisson transportées avec les seaux, soit 78,1% (25/32).

Tableau XVII : Répartition des catégories de risques en fonction de l'état nutritionnel

Catégories de risques	Etat nutritionnel		Total
	Témoins	malnutrition	
Risque faible/Sûr	14	6	20
Risque intermédiaire /Probablement sûr	7	12	19
Risque intermédiaire/Possiblement sûr	4	6	10
Risque élevé/Possiblement dangereux	13	5	18
Risque élevé /Probablement dangereux	6	3	9
Dangereux	10	**22**	**32**
Total	54	54	108

Le risque dangereux était le plus représenté parmi les échantillons d'eau de boisson collectés dans les familles où provenaient les enfants présentant une malnutrition, soit 68,7% (22/32). Aucune différence statiquement significative n'a été observée entre les catégories de risques selon les groupes d'études ($Chi^2 = 2,76$; $P = 0,736$ et ddl = 5).

5.5. Résultats moléculaires

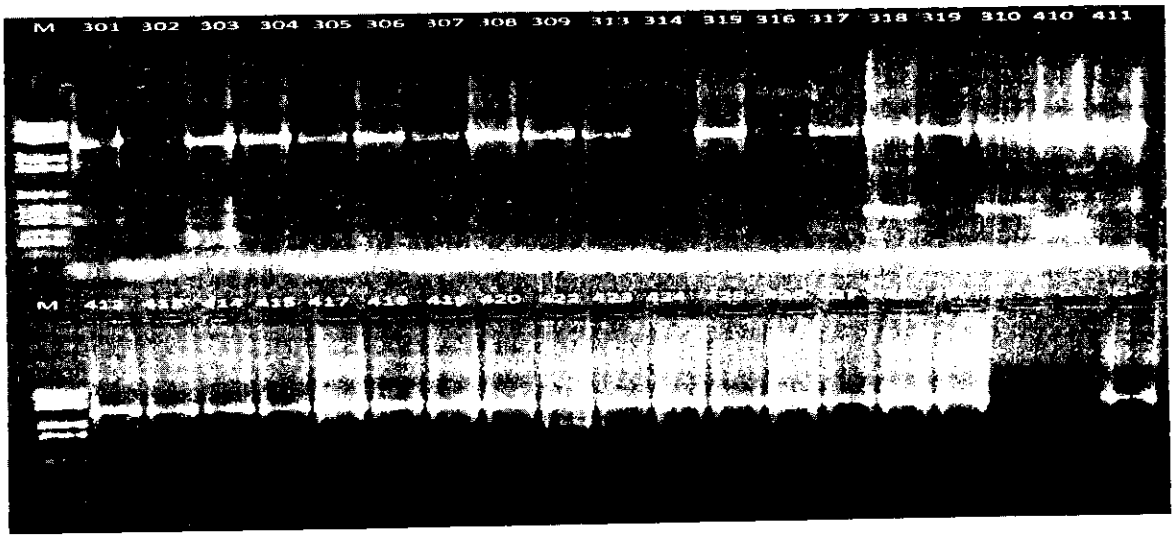


Figure IV : Image d'un gel de PCR en utilisant la paire d'amorces de l'ARN ribosomale 16S.

Tous les échantillons positifs avec le kit CBT ont été positifs à la PCR en utilisant la paire d'amorces de l'ARN ribosomique des bactéries 16S (Univ-0008-a-S-19F et Univ-1528-a-A-17r). M : marqueur VI

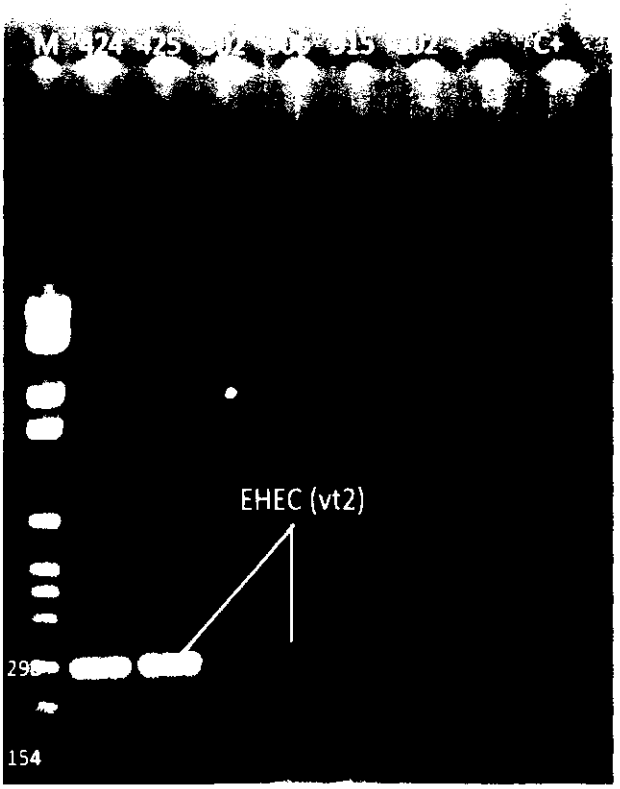


Photo 1 Photo 2

Figure V : Amplification des gènes de virulences par la PCR multiplex en utilisant les amorces spécifiques aux souches pathogènes d'*E. coli*.

Les souches détectées étaient respectivement : *Escherichia coli* entérohemoragique soit 9,3% (10/108), *Escherichia coli* enterotoxinogène soit 1,8% (2/108) et *Escherichia coli* enteropathogène soit 0,9% (1/108).

Tableau XVIII: Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction des catégories de risque.

Catégories de risque	***E. coli* pathogènes**				**Total**
	EHEC	**EPEC**	**ETEC**		
	vt2	***eaeA***	***estA***	***EltB***	
Risque faible/Sûr	0	0	0	0	0
Risque intermédiaire /Probablement sûr	0	0	1	0	1
Risque intermédiaire/Possiblement sûr	0	1	0	0	1
Risque élevé/Possiblement dangereux	1	0	0	1	2
Risque élevé /Probablement dangereux	2	0	0	0	2
Dangereux	7	0	0	0	7
Total	**10**	1	1	1	13

Le gène vt2 était le plus détecté 76, 9% (10/13) avec un risque dangereux 70% (7/10).

Tableau XIX : Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction des sources d'eau.

Source d'eau	*E. coli* pathogènes				Total
	EHEC	EPEC	ETEC		
	vt2	*EaeA*	*EstA*	*eltB*	
Jarre /Puits	9	0	0	1	**10**
Jarre/Forage	1	1	1	0	3
Total	10	1	1	1	13

Les *E. coli* pathogènes détectées étaient plus représentés dans les eaux de boisson provenant des puits, soit 76,9% (10/13). Le ratio des gènes détectés était de 3,3 en faveurs des échantillons d'eau provenant des puits.

Tableau XX : Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction des matériels de transport.

Matériels de transport	*E. coli* pathogènes				Total
	EHEC	EPEC	ETEC		
	vt2	*eaeA*	*EstA*	*eltB*	
Bidons (20L)	0	0	0	0	0
Seaux	9	1	0	1	**11**
Seaux et Bidons (20L)	1	0	1	0	2
Total	10	1	1	1	13

Les *E. coli* pathogènes détectés étaient plus représentés parmi les eaux de boisson transportées avec les seaux, soit 84,6% (11/13).

Tableau XXI : Répartition des *E. coli* pathogènes en fonction de l'état nutritionnel.

Groupes	*E. coli* pathogènes				Total
	EHEC	EPEC	ETEC		
	vt2	*EaeA*	*EstA*	*eltB*	
Témoins	1	0	0	1	2
Malnutrition	9	1	1	0	**11**
Total	10	1	1	1	**13**

La majorité des gènes de pathogénicité ont été détectés dans les échantillons d'eaux de boisson collectés dans les familles où provenaient les enfants présentant une malnutrition, soit 84,6% (11/13). Le ratio des gènes détectés était de 5,5 en faveur des gènes détectés dans les échantillons collectés chez les enfants malnutris. Cela signifie que la malnutrition et les souches pathogènes d'*E. coli* étaient associées.

Tableau XXII: Répartition des *E. coli* en fonction des quartiers

Quartiers	EHEC-vt2	EPEC-eaeA	ETEC-eltB	ETEC-estA
Bamanan	0	0	0	0
Bamanan/K	0	0	0	0
Bozola	1	1	0	0
Bozola/K	1	0	0	0
Darsalam	0	0	0	1
Dialladougou/K	**3**	0	0	0
Djida	0	0	0	0
Flawèrè/K	1	0	0	0
Hamdallaye	**3**	0	0	0
Medine	1	0	1	0
Missira	0	0	0	0
Somonoking/K	0	0	0	0
Total	10	1	1	1

Les quartiers Dialladougou / K et Hamdallaye ont enregistré plus de gênes détectés, soit le gène vt2 respectivement 3/10 par quartier.

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Les gènes détectés étaient plus représentés parmi les eaux de jarre transportées avec les seaux, soit 84,6% (11/13). Ce qui signifie que les gènes détectés pourraient être associés aux seaux.

6.5. Niveaux de contamination possibles des eaux

Les forages étaient des sources d'eau protégées contre la pollution extérieure. Au cours de notre étude nous avons constaté que les eaux de boisson provenant de ces forages n'étaient pas au préalable traitées avant la consommation.

La majorité des familles dont les enfants étaient inclus dans notre étude utilisaient des puits comme sources d'approvisionnement en eau de consommation. Parmi les 108 participants 38,9% (42/108) des familles avaient avoué qu'elles traitaient leurs puits avec de l'eau de javel sans protocole de traitement, 9, 3% des familles ne traitaient pas leurs puits, 2,8% des familles traitaient leurs puits en raison d'un verre de thé d'eau de javel pour un mètre d'eau de puits, 1,9% des familles traitaient leur eau directement dans la jarre avec l'eau de javel et 1,9% des familles traitaient leurs puits avec l'eau de javel (sans protocole de traitement) mais filtraient l'eau dans la jarre avant consommation à l'aide de nylon.

Les *E. coli* étaient détectés dans 83,8% (53/59) des eaux de boisson provenant des puits. Nos résultats sont similaires à plusieurs études : **M. MAKOUTODE et coll. (44)** au Benin en 1999, ont rapporté qu'au moment de leur enquête, dans 75% des cas, le délai de traitement des puits était dépassé et pour 25% des puits, le délai n'était pas dépassé. Malgré que la plupart de ces puits était traité à l'eau de javel, les eaux provenant de ces puits contenaient *E. coli*.

Selon une étude réalisée par **Kristen Heitzinger et coll. (45)** au Perou en 2015, 98% des participants traitaient leur eau, parmi ceux-ci 32% ont rapporté ne pas quelque fois traité leur eau.

Une étude menée en milieu rural au Benin en 2009 par **Euphrasie DJUIKOM et coll. (46)**, ont rapporté que malgré la plupart des puits était de temps à autre traité à l'eau de javel, leurs eaux restaient de mauvaises qualités. Cela pouvait être dû, du fait que la quantité d'eau de javel utilisée pour la désinfection n'était pas proportionnelle au volume d'eau dans le puits, du fait que la fréquence de traitement n'était pas appropriée.

D'autre part dans notre étude l'eau était puisée à l'aide de puisettes et de bidons accrochés à des cordes. La pollution atmosphérique, la contamination de l'eau avec les mains salles au cours du transport, l'usage d'un seul gobelet par la famille pouvaient aussi être sources de

contamination de l'eau de consommation. Nos informations sont confirmées par **Maoudombaye T. et coll. (47)** au Tchad en 2016, qui ont rapporté suite à leur étude, que dans les cas de puits traditionnels ou modernes, l'eau était puisée à l'aide de sceaux, de bidons ou de marmites accrochés à des cordes. L'eau puisée était transférée dans des bassines en plastique ou en fer et transportée par les femmes jusqu'au foyer. Elle était généralement conservée à domicile dans des jarres en terre cuite appelées «canaris». Les conditions de recueil, de transport, de stockage et de manipulation de l'eau de boisson pouvaient contribuer à la contamination.

6.6. Résultat Aquagenx kit CBT

Parmi les 108 échantillons analysés avec le kit CBT, 81,5% (88/108) étaient positifs à *E. coli.* Nos résultats sont confirmés par celui obtenu en 2013 par **CANDACE MILLER (48)** en Georgie dans le cadre de son master en santé publique. Il a trouvé que 84,79% (223/263) des échantillons d'eau testés avec un procédé identique étaient positifs à *E. coli.* Tans disque **Kristen Heitzinger et coll. (45)** au Perou en 2015, ont trouvé que 47% des sources d'eau et 43% des eaux stockage étaient contaminées par *E. coli.* Ce résultat est différent de notre résultat, cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les familles bouillaient l'eau avant le stockage. Nos résultats ont également été confirmés par **Obi CL et coll. (49)** en Afrique du Sud en 2004, qui ont trouvé que 87.7% des échantillons d'eau étaient positifs à *E. coli* malgré la différence des techniques.

Dans notre étude le risque dangereux était le plus représenté avec 29,6% (32/108). Des études similaires ont été réalisées par **CANDACE MILLER (48)** en 2013 en Georgie aux USA et **Kristen Heitzinger et coll. (45)** en 2015 au Pérou, qui ont trouvé que le risque dangereux étaient respectivement de 44,4% (116/261) et 21%.

Le risque dangereux était le plus représenté dans les eaux de boisson provenant des puits, soit 78,1% (25/32). Nos résultats ont été confirmés par une étude réalisée au Nicaragua par **Patricia Weiss et coll. (50)** en 2013 avec la technique Aquagenx sur les eaux de puits qui ont trouvé que le risque dangereux était le plus représenté avec 31,25%.

Au cours de notre étude le risque dangereux était le plus représenté dans les échantillons d'eau de boisson collectés chez les enfants présentant une malnutrition, soit 68,7% (22/32). Il n'y avait pas de différence statiquement significative entre les catégories de risques selon les groupes d'études ($Chi^2 = 2,76$; $P = 0,736$ et ddl = 5).

6.7. Détection des gènes et identification des souches

Nous avons utilisé la paire d'amorces ribosomale 16S pour confirmer la présence de bactéries dans nos échantillons. Tous les échantillons positifs avec le kit CBT ont été positifs à la PCR en utilisant l'amorce universelle des bactéries 16S rDNA (Univ-0008-a-S-19F et Univ-1528-a-A-17r). Notre démarche a été adoptée par **H.M. Galal et coll. (51)** en 2013 en Egypte, qui ont rapporté qu'au cours de leur étude, toutes les trente-deux souches isolées étaient positives à l'amorce ribosomale 16S.

La détection a été réalisée en utilisant la PCR multiplex sur 81,48 % (88/108) des échantillons d'eau de boisson. Elle a permis d'obtenir les résultats suivants: le gène *vt2* 11,36% (10/88), le gène *eaeA* 1,13% (1/88), le gène *estA* 1,13% (1/88), le gène *eltB* 1,13% (1/88). Les autres gènes (*vt1*, *pCVD432*, *bfpA* et *ial*) n'ont pas été détectés. Le risque était associé à la fréquence de détection des gènes, plus le risque augmentait plus les gènes étaient détectés. Les gènes étaient plus détectés dans les eaux de boisson provenant des puits, soit 76,9% (10/13). Le gène vt2 était le plus détecté.

Au Nicaragua, **Vilchez et coll.** ont trouvé en 2009 dans les selles diarrhéiques des enfants, le gène *eltB* (15,7%) ; le gène *estA* (1.0%); le gène *eaeA* (16.0%) et le gène *vt2* (1.6%). Tandis qu'ils avaient trouvé le gène *eltB* (8.3%) et le gène *eaeA* (20,7%) dans les selles non diarrhéiques des enfants **(42)**. Une étude réalisée par **Obi CL et coll. (49)** en Afrique du Sud en 2004, qui ont rapporté avoir trouvé les *E. coli* pathogènes dans 67.5% des échantillons soit 135/228.

Une étude réalisée en Afrique du Sud par **Omar et coll. (52)** en 2014, ont trouvé respectivement dans les eaux de l'environnement: le gène lt 25 (9%), st 8 (3%), *stx1* 10 (3%), *stx2* 26 (9%), *ial* 7 (2%), *eagg* 102 (35%), *bfp* 74 (25%), *eaeA* 115 (40%).

Nous avons détecté quatre types de gènes correspondant aux souches suivantes: le *vt2* pour la souche EHEC (11,36%), le *eaeA* pour la souche EPEC (1,13%), les gènes *eltB* et *estA* pour la souche ETEC (2,26%). La présence des souches pathogènes d'*E. coli* était associée à des eaux de boisson provenant des familles où se trouvaient les enfants présentant une malnutrition, soit 84,6% (11/13). Le ratio des gènes détectés était de 5,5 en faveur des gènes détectés dans les échantillons collectés chez les enfants malnutris. Ce qui signifie que la malnutrition et les souches pathogènes d'*E. coli* étaient associées.

En Afrique du Sud, **Obi CL et coll. (49)** ont trouvé en 2004, une prédominance du gène *bfpA*, gène codant pour *E. coli* enteropathogène (EPEC) (26%) parmi les *E. coli* isolées des

sources d'eau de rivières et leurs sédiments suivi par *cnf2* (19.3%), et *cnf1* (16.3%), tous deux codant pour *E. coli* necrotoxigène (NEC).

Plusieurs autres gènes ont été trouvé respectivement : *ST*, *LT*, et *stx1*, *stx2*, et *EAEC* codant pour *E. coli* enterotoxigène (ETEC), *E. coli* producteur de shigatoxine (STEC), et *E. coli* enteroaggregative (EAggEC) avec une prévalence de 4%, 4%, 2%,2% et 14.1%. D'autres gènes codant pour *E. coli* necrotoxigène (NEC) étaient plus fréquents (35,5%), suivi par les gènes codant pour *E. coli* enteropathogène (EPEC) (34,1%).

En Afrique du Sud par **Omar et coll. (52)** en 2014, ont trouvé respectivement dans les eaux de l'environnement: le gène *bfp* et *eaeA* codant pour la souche EPEC soit 65%, le gène *stx1* et *stx2* codant pour la souche EHEC soit 12%, le gène *lt* et *st* codant pour la souche ETEC soit 12%, le gène *eagg* codant pour la souche Eagg soit 35%, le gène *ial* codant pour la souche EIEC soit 2%.

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

7. Conclusion et recommandation

7.1. Conclusion

La technique microbiologique (Aquagenx kit CBT) de culture ciblant les souches d'*E. coli* est fiable pour la détection et la quantification d'*Escherichia. coli* présente dans l'eau de boisson. Dans notre étude *E. coli* était présente dans 88/108 des échantillons d'eaux de boisson testées.

Les souches pathogènes d'*E. coli* ont été plus détectées dans les échantillons d'eau de boisson qui présentaient un risque dangereux à la consommation selon la classification de la potabilité de l'eau.

Les souches pathogènes d'*E. coli* étaient plus représentés dans les échantillons d'eaux de boisson collectés chez les enfants malnutris, soit 84,6% (11/13).

La malnutrition était associée à la présence des souches d'*E. coli* de type enterohémorragique et enteropathogénique dans l'eau de boisson à Dioro.

7.2. Recommandation

Au terme de notre étude, nous recommandons :

- ✓ **A l'Agence Nationale pour la Sécurité Sanitaire des Aliments (ANSSA)**

Déployer le kit Aquagenx CBT dans les zones reculées pour détecter la présence d'*E. coli* dans l'eau de boisson chez les enfants présentant une malnutrition.

- ✓ **Au Laboratoire National des Eaux (LNE) :**

D'utiliser le kit Aquagenx CBT (simple et rapide) pour le contrôle de qualité microbiologique de l'eau de boisson.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

8. Références bibliographiques

1. Direction Nationale de la Santé du Mali, Division nutrition. Manuel sur la prise en charge de la malnutrition aiguë (niveau communautaire). [Consulté le 2 mai 2017]. Disponible sur: http://www.confedmali.net/dounkafa/sites/default/files/documents_joints/FormationRelais.pdf

2. OMS/UNICEF/Groupe de la Banque mondiale: Les taux de mortalité de l'enfant ont diminué de plus de moitié depuis 1990 mais la cible des OMD est loin d'être atteinte. Genève/New York/Washington: Septembre 2015. [Consulté le 27 juillet 2017]. Disponible sur: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/child-mortality-report/fr/

3. UNICEF. La malnutrition des enfants: Pour chaque enfant Santé, Education, Egalité, Protection, faisons avancer l'humanité. [Consulté le 4 juin 2016]. Disponible sur: http://itinerairesdecitoyennete.org/journees/dh/documents/alimentation/alimentation04.pdf

4. Ministère des Affaires Étrangères et Européennes, France: Direction générale de la mondialisation, du développement et des partenariats. Nutrition dans les pays en développement, Document d'orientation stratégique; 2011. [Consulté le 8 juin 2016]. Disponible sur: http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/IMG/pdf/doc_Nutrition_FR.pdf

5. UNICEF. La malnutrition: causes, conséquences et solutions; 1998. [Consulté le 9 mai 2017]. Disponible sur: http://www.unicef.org/french/sowc98/pdf/presume.pdf

6. FAO/Croix Rouge/ Gret/HKI/ Se-CNSA & DN/REACH. Renforcement des capacités des acteurs pour une meilleure intégration de la Nutrition dans les programmes de Sécurité Alimentaire. Atelier de Formation, 17 au 19 février 2015 – Dori, Région du Sahel, Burkina Faso. [Consulté le 27 Mai 2017]. Disponible sur: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/food-security-capacity-building/docs/Nutrition/BurkinaFaso/TDRS_atelier_F_.pdf

15. Roullaud S. Programme nutritionnel supplémentaire au Sénégal. Etude rétrospective et prospective à partir de 35 enfants malnutris. Université Henri Poncare, Nancy 1, Faculté de Médecine de Nancy, Thèse de Médecine, N° 148; 2001.

16. Savadogo AS. La malnutrition chez les enfants de 0-5 ans dans l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou. Universite de Bamako, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie, Thèse de Médecine, n° 01; 2007.

17. Unicef. Les différentes formes de malnutrition, Aout 2011. [Consulté le 23 juin 2016]. Disponible https://www.unicef.fr/sites/default/files/userfiles/Les_differentes_formes_de_malnutrition_Unicef_France_juillet_2011(1).pdf

18. Organisation mondiale de la santé. La prise en charge de la malnutrition sévère : Manuel à l'usage des médecins et autres personnels de santé à des postes d'encadrement. Genève: Organisation mondiale de la santé; 2000.

19. Médecin Sans Frontière. Lutter contre la combinaison fatale de malnutrition et paludisme, Niger 2013. [Consulté le 9 mai 2017]. Disponible sur: http://www.msf.fr/sites/www.msf.fr/files/niger_dossier-fr.pdf

20. Coulibaly COD. Connaissances, attitudes et pratiques des mères ou gardiennes d'enfants malnutris face à la malnutrition des enfants de 6 à 59 mois vus en consultation au CSRéf de Niono en 2013. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako: Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie, Thèse de Médecine, n° 129; 2014.

21. Dosso M, Coulibaly M, Kadio A. Place des diarrhées bactériennes dans les pays en développement. Bull Soc Path Ex. 1998; 5(91):402-5.

22. Diagne I, Camara B, Diouf S, Ba M, N'Diaye O, Cissé MF et al. Diarrhées infantiles en pratique hospitalière l'expérience du service de pédiatrie du CHU de Dakar. Méd Afriq Noire : 1993, 40 (5):350-353.

23. Chevalier PH, Delpeuch E, Maire B. Le complexe « malnutrition-infection » : premier problème de santé publique chez les populations défavorisées. Méd Mal Infect. 1996 ; 26 : 366-70.

24. Traore YS. Evaluation de l'état nutritionnel des enfants de 6 a 59 mois dans le cercle de Koutiala en 2013. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako: Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie, Thèse de Médecine, n° 131; 2014.

25. Organisation Mondiale de la Santé. Prévention de la malnutrition par la promotion de bonnes pratiques d'hygiène alimentaire, MODULE 7.

26. Payros D. Etude de l'effet de la colonisation des nouveau-nés par des souches de *Escherichia coli* génotoxiques sur le développement et la fonctionnalité de la barrière intestinale. Université Toulouse III- Paul Sabatier; Thèse de Physiologie Animale - Microbiologie, 2012. [Consulté le 28 Mars 2017]. Disponible sur: http://thesesups.ups-tlse.fr/2639/

27. Mainil J. Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'Escherichia coli: I) les adhésines et facteurs de colonisation. Ann Med Vet. 2003;147:105–126.

28. Hadjer AKM. Pathogénicité chez Escherichia coli. Université des Frères Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie Animale. Spécialité : Génétique Moléculaire, 2015.

29. Haladou GH. Recherche des gènes de virulence *stx1*, *stx2* et *eae* dans les souches de *Echerichia. coli* isolées de la viande de buffle congelée importée au Sénégal. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Mémoire de Master qualité des aliments de l'homme, N° : 12; 2014.

30. Aquagenx, Compartment Bag Test : Instructions for use. [Consulté le 17 juin 2016]. Disponible sur: https://www.aquagenx.com/wp-content/uploads/2013/12/Aquagenx-CBT-Instructions-v3.pdf

31. LES FAITS SUR L'EAU POTABLE, Bactéries coliformes – Coliformes Totaux et *E.coli*. [Consulté le 4 juin 2016]. Disponible sur: http://www2.gnb.ca/content/dam/gnb/Departments/h-s/pdf/fr/MilieuxSains/eau/Coliformf.pdf

32. Diallo AA. *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Université Toulouse III - Paul Sabatier; Thèse de Microbiologie; 2013. [Consulté le 24 juin 2016]. Disponible sur: http://thesesups.ups-tlse.fr/2112/1/2013TOU30162.pdf

33. Brisabois A, Lafarge V, Brouillaud A, de Buyser M.-L, et coll. Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. Sci Tech Int Epi. 1997;16(1):452–471.

34. Adingra A.A, Kouadio A.N, Kouassi A.M. Les *Escherichia coli* enterohemorragiques (ehec) 0157:h7 : un problème de santé publique. F Tech Doc Vulg 22-27 (2011).

35. Jean Michel Poirson (FAO), Patrick Otto (FAO), Peter Kenmore (FAO), Marisa Caipo (FAO), Arellano Susana (FAO). *Escherichia coli*, EMPRES Bulletin des maladies animales transfrontières 39. [Consulté le 18 juin 2017]. Disponible sur: http://cursa.ihmc.us/rid=1R8NBFSZC-1WNBTTN-2XNC/e.coli.pdf

36. Zampaligre I. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Escherichia coli* isolées de 2007 a 2011 au Centre Hospitalier Universitaire pédiatrique Charles de Gaulle (Ouagadougou, Burkina Faso). Université de Ouagadougou, Thèse de Pharmacie, n° 214; 2012.

37. Mariani-Kurkdjian P, Bingen E. Physiopathologie et virulence des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines. Réanimation. 2012;21(3):268-79.

38. de Sablet Thibaut S. Production de Shiga-toxine Stx2 par les Escherichia coli entérohémorragiques: influence du génotype stx2, régulation par le quorum sensing et le microbiote intestinal. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; Thèse de Microbiologie, 2007. [Consulté le 9 mai 2017]. Disponible sur: https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-00509224/

39. Savageau M. A. *Escherichia coli* habitats, cell41 types, and molecular mechanisms of gene-control. Am Nat 122:732–744; 1983.

40. Ministère de la Santé : Direction Nationale de la Santé, Division Nutrition. Protocole de Prise en Charge Intégrée de la Malnutrition Aiguë au Mali ; 2011. [consulté le 26 juin 2017]. Disponible sur: https://www.humanitarianresponse.info/system/files/documents/files/Protocole_PECIMA_Mali%2023_06-2012VF.pdf

41. Corey VC, Lukens AK, Istvan ES, Lee MCS, Franco V, Magistrado P, et al. A broad analysis of resistance development in the malaria parasite. Nat Commun. 15 juin 2016;7:11901.

42. Vilchez S, Reyes D, Paniagua M, Bucardo F, Möllby R, Weintraub A. Prevalence of diarrhoeagenic Escherichia coli in children from Leon, Nicaragua. Journal of Medical Microbiology (2009), 58, 630–637.

43. Lang JM, Hamilton JP, Diaz MGQ, Van Sluys MA, Burgos MRG, Vera Cruz CM, et al. Genomics-based diagnostic marker development for Xanthomonas oryzae pv. oryzae and X. oryzae pv. oryzicola. Plant Dis. 2010;94(3):311–319.

44. Makoutode M, Assani AK, Ouendo EM, Agueh VD, Diallo P. Qualité et mode de gestion de l'eau de puits en milieu rural au Bénin: cas de la sous-préfecture de Grand-Popo. Méd Afrique Noire. 1999;46(11):528–534.

45. Heitzinger K, Rocha CA, Quick RE, Montano SM, Tilley DH, Mock CN, et al. The challenge of improving boiling: lessons learned from a randomized controlled trial of water pasteurization and safe storage in Peru. Epidemiol Amp Infect. juill 2016;144(10):2230-40.

46. Djuikom E, Temgoua E, Jugnia L, Nola M, Baane M. Pollution bactériologique des puits d'eau utilisés par les populations dans la Communauté Urbaine de Douala-Cameroun. Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(5): 967-978, October 2009.

47. Maoudombaye, T, Ndoutamia, G, Ngakou, A. Evaluation de la qualité bactériologique des eaux de puits, de forages et de rivières consommées dans le bassin pétrolier de Doba au Tchad. Int J Recent Sci Res. Juin 2016; Vol. 7, Issue, 6, pp. 12236-12243.

48. MILLER CD. Evaluation of the compartment bag test for the detection of Escherichia coli in drinking water. Georgia State University; 2013. [Consulté le 4 mai 2017]. Disponible sur: http://scholarworks.gsu.edu/iph_theses/264/

49. Obi C, Green E, Bessong P, Villiers B de, Hoosen A, Igumbor E, et al. Gene encoding virulence markers among *Escherichia coli* isolates from diarrhoeic stool samples and river sources in rural Venda communities of South Africa. ISSN 0378-4738 = Water SA 2004;30(1): 37-42.

50. Weiss P, Aw TG, Urquhart GR, Galeano MR, Rose JB. Well water quality in rural Nicaragua using a low-cost bacterial test and microbial source tracking. J Water Health. 1 avr 2016;14(2):199-207.

51. Galal HM, Hakim AS, Dorgham SM. Phenotypic and virulence genes screening of *Escherichia coli* strains isolated from different sources in delta Egypt. Life Sci J. 2013;10(2):352–361.

52. Omar KB, Barnard TG. Detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli* in clinical and environmental water sources in South Africa using single-step 11-gene m-PCR, World J Microbiol Biotechnol, 2014;30(10):2663-71.

ANNEXES

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : KONE

Prénom : Karim

Adresse : kkarbest@gmail.com

Nationalité : Malienne

TITRE : Etude microbiologique de l'eau de boisson à Dioro : Relation entre la malnutrition et le portage d'*Escherichia coli.*

Année académique : 2016-2017

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de médecine et d'odonto-stomatologie et de la faculté de pharmacie, Bamako.

Secteur d'intérêt : Bactériologie, Santé publique.

RESUME

La présente étude portait sur la relation entre la malnutrition et les souches pathogènes d'*E. coli* isolées dans l'eau de boisson. Notre objectif était d'évaluer le niveau de risque lié à la présence d'*Escherichia coli* thermotolérant dans l'eau de boisson dans un contexte de malnutrition.

C'était une étude cas-témoins de Novembre 2015 à Mai 2016, qui s'est déroulée dans la commune rurale de Dioro-Mali. L'étude a concerné 108 enfants répartis en deux groupes : 54 enfants malnutris et 54 enfants témoins. Un échantillon d'eau de boisson a été collecté dans chacune des familles de ces enfants.

Deux techniques ont été utilisées : microbiologique (Aquagenx kit CBT) et le genotypage (PCR).

Parmi les 108 échantillons d'eau de boisson, 88 ont été positifs par analyse microbiologique au kit CBT et ont été confirmés positifs par l'utilisation de l'ARN ribosomique 16S par PCR. L'identification des souches pathogènes par la PCR multiplex a été réalisée sur les 88 échantillons positifs au kit CBT en recherchant simultanément les 5

pathotypes d'*E. coli*. . Elle a permis d'obtenir les résultats ci-après : 11,36% (10/88) du gène *vt2 (Pathotype enterohémorragique,* EHEC), 1,13% (1/88) du gène *eaeA (Pathotype enteropathogénique,* EPEC), 1,13% (1/88) du gène *estA (Pathotype enterotoxigenique,* ETEC), 1,13% (1/88) du gène *eltB (Pathotype enterotoxigenique,* ETEC). Les gènes d'*E. coli* étaient plus détectés dans les eaux de boisson provenant des puits, soit 76,9% (10/13). Les gènes détectés d'*E. coli* étaient plus représentés dans les échantillons d'eaux de boisson collectés chez les enfants malnutris, soit 84,6% (11/13).

E. coli était présente dans 88/108 des échantillons. Les souches d'*E. coli* ont été plus détectées dans les échantillons d'eau qui présentaient un risque dangereux selon la classification de la potabilité de l'eau. La malnutrition était associée à la présence des souches d'*E. coli* de type enterohémorragique et enteropathogénique dans l'eau de boisson à Dioro.

Mots clés : *E. coli*, gène de virulence, malnutrition, eau de boisson, Mali-Dioro, kit CBT.

Descriptive card

Name: KONE

First name: Karim

Address: kkarbest@gmail.com

Nationality: Malian

TITLE: Microbiological study of drinking water in Dioro: Relationship between malnutrition and the carriage of *Escherichia coli.*

Academic year: 2016-2017

City of defense: Bamako

Place of deposit: Library of the faculty of medicine and odonto-stomatology and the faculty of pharmacy, Bamako.

Sector of interest: Bacteriology, Public Health.

Abstract

The present study examined on the relation ship between malnutrition and bacterial strain pathologic *E. coli*, isolated in drinking water. Our goal was to assess the level of the risk linked to the presence of the thermo tolerant Escherichia coli in the drinking water, in a malnutrition context.

It was a case-control study from November 2015 to May 2016, which took place in the rural commune of Dioro-Mali. The study involved 108 children in two groups: 54 malnourished children and 54 control children. A sample of drinking water was collected in each of the families of these children

Two techniques were used: microbiological (Aquagenx kit CBT) and genotyping (PCR).

Of the 108 drinking water samples, 88 were positive by microbiological analysis at the CBT kit and were confirmed positive by the use of 16S ribosomal RNA by PCR. The identification of the pathogenic strains by the multiplex PCR was carried out on the 88 positive samples to the CBT kit while simultaneously looking for the 5 pathotypes of *E. coli*. It yielded the following results: 11.36% (10/88) of the gene *vt2* (*Enterohemorrhagic*

Pathotype, EHEC), 1.13% (1/88) of the *eaeA* gene (*Enteropathogenic Pathotype*, EPEC) 1.13% (1/88) of the gene *estA* (*Enterotoxigenic Pathotype*, ETEC), 1.13% (1/88) of the *eltB* gene (*Enterotoxigenic Pathotype*, ETEC). The genes of *E. coli* were more detected in drinking water from wells, or 76.9% (10/13). The detected genes of *E. coli* were more represented in drinking water samples collected in malnourished children, or 84.6% (11/13).

E. coli was present in 88/108 of the samples. The strains of *E. coli* were more detected in water samples that presented a hazardous hazard according to the water potability classification. Malnutrition was associated with the presence of *E. coli* strains. Enterohemorrhagic and enteropathogenic-type coli in drinking water in Dioro.

Keywords: *E. coli*, gene of virulence, malnutrition, drinking water, Mali-Dioro, kit CBT

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement,

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine,

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels,

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque!

Je le jure!