

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
••••• ••••• ••••• •••••  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
••••• —  
•••••  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE - EL HARRACH  
ALGER

Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme de Magistère en Sciences Vétérinaires  
Option : Hygiène et Sécurité Alimentaire

**PREVALENCE DES ENTEROBACTERIES PATHOGENES DU  
GENRE SALMONELLA et SHIGELLA ISOLEES LORS DE  
DIARRHEES CHEZ L'HOMME EN KABYLIE**

Par :

**Dr. KADDOUR Abdenour**

**Devant le Jury :**

Président	: <b>BENOUADAH. A</b>	Maître de Conférences	ENV. Alger
Promoteur	: <b>ASSAMI. MK</b>	Professeur	INA. Alger
Co-promotrice	: <b>CHAHED. A</b>	Maître Assistante/ Chargé de cours	ENV. Alger
Examineur	: <b>BOUKHORS. K</b>	Maître de Conférences	ENV. Alger
Examineur	: <b>BENDEDDOUCHE. B</b>	Maître de Conférences	ENV. Alger

**Année Universitaire : 2007/ 2008**

## SOMMAIRE

<b>I. LES ENTEROBACTERIE DE GENRE <i>SHIGELLA</i>:</b> .....	1
<b>1. Historique des Shigelles</b> .....	1
<b>2 HABITAT</b> .....	2
<b>3. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES :</b> .....	2
<b>3.1. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES :</b> .....	2
<b>3.2. CRACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES :</b> .....	2
<b>3.3 CLASSIFICATION DES SHIGELLES</b> .....	3
<b>3.3.1. <i>Shigella dysenteriae</i> :</b> .....	3
<b>3.3.2. <i>Shigella flexneri</i> :</b> .....	3
<b>3.3.3. <i>Shigella boydii</i> :</b> .....	3
<b>3.3.4. <i>Shigella sonnei</i> :</b> .....	3
<b>4. POUVOIR PATHOGENE :</b> .....	4
<b>4.1. Pouvoir pathogène naturel :</b> .....	4
<b>4.1.1. pouvoir invasif :</b> .....	4
<b>4.1.2. Production de toxine :</b> .....	4
<b>4.2. Pouvoir pathogène expérimental :</b> .....	4
<b>4.2.1. Méthode de Serny :</b> .....	4
<b>4.2.2. Méthode de l'infection d'une culture des cellules de Hela :</b> .....	6
<b>4.3. SYMPTOMATOLOGIE :</b> .....	8
<b>4.4. ASPECT PHYSIOPATHOLOGIQUE :</b> .....	8
<b>4.4.1. La rencontre des Shigelles (pouvoir invasif) :</b> .....	9
<b>4.4.2. Diffusion et multiplication (pouvoir cytotoxique) :</b> .....	10
<b>5. Rôle des déterminants plasmidiques et chromosomiques dans la virulence :</b> .....	12
<b>5.1 Rôle des déterminants chromosomiques dans la virulence :</b> .....	12
<b>5.2. Rôle des déterminants plasmidiques dans la virulence :</b> .....	12
<b>5.2.1L'adhésion des cellules hôtes :</b> .....	12
<b>5.2.2Invasion des cellules épithéliales :</b> .....	14
<b>5.2.3Entrée dans les cellules épithéliales :</b> .....	17
<b>5.2.4Libération de la bactérie dans le cytoplasme :</b> .....	19
<b>5.2.5La motilité intracellulaire :</b> .....	19
<b>6. MECANISME DE LA MORT CELLULAIRE PAR <i>SHIGELLA</i> :</b> .....	19
<b>7. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION :</b> .....	22
<b>7.1. isolement :</b> .....	22
<b>La coproculture :</b> .....	22
<b>Hémoculture :</b> .....	23
<b>7.2. Identification :</b> .....	23
<b>7.2.1. identification de genre :</b> .....	23
<b>7.2.2. identification d'espèce :</b> .....	25
<b>7.2.3. Le sérotypage :</b> .....	25
<b>7.2.4. Le marqueur épidémiologique :</b> .....	25
<b>7.2.5. A.recherche des facteurs de virulence :</b> .....	26
<b>7.2.5. B. La recherche du plasmide d'invasion :</b> .....	26
<b>7.2.5.. La recherche de la toxine dysentérique :</b> .....	26
<b>7.3. Le sérodiagnostic :</b> .....	26
<b>8. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE :</b> .....	26
<b>8.1. Le réservoir des <i>Shigella</i> :</b> .....	26
<b>8.2. La dose infectante :</b> .....	27

8.3. La transmission et dissémination :.....	27
9. TRAITEMENT :.....	27
10. PROPHYLAXIE :.....	28
<b>II. LES ENTEROBACTERIES DU GENRE SALMONELLA :.....</b>	<b>30</b>
<b>HISTORIQUE :.....</b>	<b>30</b>
<b>1. NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION :.....</b>	<b>32</b>
<b>1.1. DU POINT DE VUE BACTERIOLOGIQUE :.....</b>	<b>32</b>
<b>1.2. DU POINT DE VUE PAHOLOGIQUE :.....</b>	<b>32</b>
<b>2. HABITAT :.....</b>	<b>32</b>
<b>3. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES ET CULTUREUX :.....</b>	<b>33</b>
<b>4 CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES :.....</b>	<b>33</b>
<b>5. CARACTERISTIQUES ANTIGENIQUE :.....</b>	<b>33</b>
<b>5.1Antigène O :.....</b>	<b>33</b>
<b>5.2 Antigène H :.....</b>	<b>34</b>
<b>5.3 Antigène Vi :.....</b>	<b>35</b>
<b>5.4 Le tableau de Kaufmann-White :.....</b>	<b>35</b>
<b>6. FACTEURS DE CROISSANCE :.....</b>	<b>35</b>
<b>6.1. LE POUVOIRE PATHOGENE :.....</b>	<b>37</b>
<b>6.1.1 LE POUVOIRE PATHOGENE NATUREL :.....</b>	<b>37</b>
<b>6.1.2 LE POUVOIRE PATHOGENE EXPERIMENTAL :.....</b>	<b>37</b>
<b>7. LES FACTEURS DE VIRULENCE DES SALMONELLES .....</b>	<b>37</b>
<b>7.1. Les déterminants génétiques de la virulence :.....</b>	<b>38</b>
<b>7.1.1. Les îlots de pathogénicité :.....</b>	<b>38</b>
<b>7.1.2. Le plasmide de virulence :.....</b>	<b>39</b>
<b>7.1.3 Le système de captation de fer :.....</b>	<b>39</b>
<b>7.1.4. Les toxines :.....</b>	<b>39</b>
<b>7.1.4.1. L'endotoxine (lipide A du LPS) :.....</b>	<b>40</b>
<b>7.1.4.2- Les entérotoxines :.....</b>	<b>40</b>
<b>7.1.4.3- Autres toxines :.....</b>	<b>40</b>
<b>8. LES ETAPES DE L'INFECTION PAR S.Typhimurium ET LES FACTEURS DE PATHOGENICITE IMPLIQUES :.....</b>	<b>40</b>
<b>8.1. La phase intestinale de l'infection :.....</b>	<b>40</b>
<b>8.1.1. Les conditions de stress rencontrées dans la lumière du tractus digestif :.....</b>	<b>40</b>
<b>8.1.1.1. Le tropisme tissulaire dans l'intestin :.....</b>	<b>41</b>
<b>8.1.1.2. L'invasion des cellules M :.....</b>	<b>41</b>
<b>8.1.1.3. L'adhésion :.....</b>	<b>42</b>
<b>8.1.1.4. Destruction des cellules M :.....</b>	<b>42</b>
<b>8.1.1.5. L'entrée dans les plaques de Peyer :.....</b>	<b>42</b>
<b>8.1.1.6. Rôle de la mobilité dans l'invasion :.....</b>	<b>42</b>
<b>8.1.2. Rôle de l'îlot de pathogénicité SPII :.....</b>	<b>43</b>
<b>a- Le système de sécrétion de type III :.....</b>	<b>43</b>
<b>b- Les effecteurs codés par l'îlot de pathogénicité SPII :.....</b>	<b>43</b>
<b>8.1.3. Rôle du gène <i>sopE</i> (<i>Salmonella</i> outer protéine) :.....</b>	<b>44</b>
<b>8.1.4. Rôle de l'opéron <i>Ipt</i> :.....</b>	<b>45</b>
<b>8.2. Invasion des macrophages :.....</b>	<b>45</b>
<b>8.2.1. Survie dans les macrophages :.....</b>	<b>45</b>
<b>a- Rôle de SPI2 :.....</b>	<b>46</b>
<b>b- Rôle de l'îlot de pathogénicité SPI3 :.....</b>	<b>47</b>

c- Rôle de l'îlot de pathogénicité <i>SPI4</i> :.....	47
8.2.2 La mort apoptique des macrophages :.....	47
a- Rôle de SipB :.....	47
b- L'îlot de pathogénicité <i>SPI4</i> :.....	48
8.3. La phase systémique de l'infection :.....	48
8. 3.1 Rôle du plasmide de virulence :.....	48
8.3.2- Rôle du l'îlot de pathogénéité SPI 2 :.....	49
9. RESISTANCE AUX COMPOSANTS DE LA DEFENSE.....	49
9.1 RESISTANCE AUX COMPOSANTS DE LA DEFENSE IMMUNITAIRE NON SPECIFIQUE :.....	49
9.1.1 Survie dans le sérum :.....	49
9.1.2 Résistance à la phagocytose :.....	49
9.1.3 Diarrhée et inflammation :.....	49
9.1.3.1 Diarrhée :.....	49
9.1.3.2. Echappement de <i>Salmonella</i> à l'inflammation :.....	50
9.2. RESISTANCE AUX COMPOSANTS DE LA DEFENSE IMMUNITAIRE DE LIMMUNITE SPECIFIQUE.....	50
9.3. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES :.....	51
10. SYMPTOMATOLOGIE :.....	51
11. DIAGNOSTIC :.....	54
11.1. DIAGNOSTIC DIRECT :.....	54
11.1.1 Hémoculture :.....	54
11.1.2. La coproculture :.....	56
a. Indication :.....	56
b. Technique :.....	56
11.1.3. Autres prélèvements :.....	58
12. DIAGNOSTIC INDIRECT :( le sérodiagnostic de Widal et Félix) :.....	58
13. PRONOSTIC :.....	58
14. TRAITEMENT :.....	58
15. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES :.....	59
16. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE :.....	60
16. 1 Facteurs prédisposant des salmonelloses :.....	60
16.1.1 Facteurs intrinsèques aux malades :.....	60
16.1.1.1 L'âge :.....	60
16.1.1.2 Le statut immunitaire :.....	60
16.1.2 L'antibiothérapie :.....	61
16.2. Facteurs extrinsèques aux malades :.....	61
16.2.1 La virulence de germe :.....	61
16.2.2. Le type d'aliment :.....	61
16.2.3. Raisons sociales :.....	62
16.2.3 La saison :.....	62
<b><u>III LA PARTIE PRATIQUE</u></b>	
INTRODUCTION :.....	64
A. Matériels et méthodes :.....	65
METHODOLOGIE DE RECHERCHE DES SALMONELLES ET DES SHIGELLES LORS DE DIARRHEE :.....	65
1. Identification des prélèvements et anamnèse:.....	65
2. Période et méthode de prélèvement:.....	65
3. Collecte des prélèvements en fonction de l'âge des patients :.....	65

4. Techniques de prélèvement :.....	66
5. Isolement et identification :.....	66
5.1. Méthodes d'isolement des <i>Shigella</i> :.....	67
5.1.1. La coproculture (isolement): .....	67
5.1.2. Examens biochimiques (identification): .....	67
5.1.3. Confirmation sérologique : .....	68
5.1.4. Conclusion :.....	68
5. 2. Méthodes d'isolement des Salmonelles :.....	69
5.2.1. La coproculture (isolement):.....	69
5.2.2. Examens biochimiques (identification):.....	69
5.2.3. Confirmation sérologique : .....	70
5.2.4. Conclusion :.....	70
<b>B. ANALYSE DES RESULTATS DE LA RECHERCHE DES SHIGELLES ET SALMONELLES</b> :.....	77
1. Le nombre des malades diarrhéiques selon l'âge :.....	77
2. La fréquence des malades diarrhéiques selon l'âge :.....	78
3. Le nombre de malade dont la diarrhée est d'origine bactérienne :.....	79
4. Le nombre de cas diarrhéiques d'origines bactériennes selon l'âge :.....	79
5. La fréquence de cas diarrhéiques d'origines bactériennes selon l'âge :.....	80
6. Représentation des Salmonelloses selon l'âge :.....	81
7. Représentation des Shigelloses selon l'âge :.....	82
8. La fréquence des diarrhées d'origine bactériennes selon les saisons :.....	83
9. La fréquence des salmonelloses selon les saisons :.....	84
10. La fréquence des Shigelloses selon les saisons :.....	85
11. La fréquence des sous espèces des shigelloses :.....	86
12. Importance et fréquences des germes responsables des diarrhées :.....	87
<b>C. ANALYSE DES RESULTATS DES ENQUETES</b> :.....	88
1. L'expérience des médecins:.....	88
2. La région :.....	88
3. Réponses concernant la fréquence des diarrhées :.....	88
4. Réponses concernant la fréquence des diarrhées selon les zones :.....	89
5. Les Réponses concernant la fréquence des diarrhées par saison :.....	90
6. Réponses sur l'origine de la diarrhée et type de repas impliqués :.....	91
7. Nature des produits alimentaires à risques selon les réponses des médecins :.....	92
8. Réponses sur l'âge des malades souffrant de diarrhées :.....	93
9. Réponses sur l'influence du sexe sur la maladie la fréquence :.....	94
10. Réponses sur les symptômes observés :.....	94
11. Réponses liées au diagnostic :.....	94
12. Réponses liées au traitement :.....	94
13. Recommandations préconisées par les médecins :.....	94
<b>D. DISCUSSION DES RESULTATS</b> :.....	95
<b>E. RECOMMANDATIONS</b> :.....	103
<b>IV. PERSPECTIVES</b> :.....	105
<b>V. CONCLUSION GENERALE</b> :.....	106
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> :.....	107

## **RESUME**

Les Entérobactéries suscitent un intérêt médical et économique très important dans le monde, parmi elles les salmonelles et les shigelles qui constituent un problème de santé publique en Europe et dans les pays en voie de développement, En Algérie le manque de données épidémiologiques sur les shigelloses et les salmonelloses, nous a poussé à réaliser cette étude intitulée ; prévalence des entérobactéries pathogènes du genre *Salmonella* et *Shigella* isolée lors de diarrhées chez l'homme en Kabylie. L'objectif étant de mettre en évidence l'importance de ces agents bactériens et de caractériser les souches qui sont responsables.

Neuf cent cinquante sept prélèvements (n=957) de selles récoltées de malades souffrant de diarrhées ont été analysés au laboratoire Centrale du CHU de Tizi Ouzou sur une durée d'une année dans la région de Kabylie. Parallèlement un questionnaire a été distribué auprès des médecins traitants et pédiatres, au CHU de Tizi Ouzou et à l'hôpital de Bordj Menaiel et sur quelques communes de la wilaya de Tizi Ouzou. (Makouda, Tadmait, Draa Benkhedda, Tizi-Ouzou, Tizert)

A partir des ces 957 prélèvements, l'origine bactérienne a été mise en évidence dans 20 % des cas avec prédominance des *Escherichia coli*, de *Salmonella* et de *Shigella*. La majorité des patients était représentée par des enfants et nourrissons considérés comme la tranche de la population la plus sensible. Les produits carnés et les produits laitiers sont les plus impliqués dans ces cas notamment en été et en automne surtout dans des zones urbaines et sub-urbaines. La coproculture est la méthode indiquée pour la mise en évidence des entérobactéries (*Salmonella* et *Shigella*) au moment de la phase aiguë de la maladie. Ainsi, les résultats ont permis de mettre en évidence **25** cas de salmonelloses et **22** cas de shigelloses. L'identification des souches par agglutination sur lame nous a permis d'identifier *Salmonella* Enteridis dans 8 cas sur 25 cas, et trois souches de *Shigella* dont *Shigella sonnei* (plus 68 %), *Shigella flexneri* (plus 13 %) et *Shigella boydii* (plus 4%).

Le traitement est essentiellement symptomatique, réhydratation, antibiothérapie reste à discuter selon les formes, les localisations et selon le statut immunitaire.

Le respect des règles d'hygiène, et les contrôles alimentaires sont très importants pour diminuer la fréquence des salmonelloses et de shigelloses.

Les salmonelloses et les shigelloses restent toujours un problème de santé public en Algérie.

**Mots clés** : salmonellose, shigellose, Fièvre typhoïde, Dysenterie bacillaire, Diarrhée, Toxi-infection Alimentaire Collectives.



## Abstract

The Enterobacteria have a very important medical and economic interest in the world, among them *Salmonella* and *Shigella*, which constitute a public health problem in Europe and in the developing countries, in Algeria the lack of epidemiological data on shigellosis and salmonellas has pushed us to realize this survey; prevalence of pathogenic Enterobacteria of *Salmonella* and *Shigella* isolated from patients suffering from diarrhoea. The objective is to highlight these agents importance and to characterize the bacterial strains.

Nine hundred and fifty-seven samples (n = 957) of feces collected from patients suffering from diarrhoea were analysed at the laboratory of Central Hospital of Tizi Ouzou over a period of one year in the region of Kabylia. Meanwhile a questionnaire was distributed among physicians and paediatricians, CHU Tizi Ouzou and at the hospital in Bordj Menaiel and a few municipalities of wilaya of Tizi Ouzou. (Makouda, Tadmaït, Draa Benkhedda, Tizi-Ouzou, Tizert).

Bacteria were identified in 20% of cases with predominance of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Shigella*. The majority of these patients was represented by children and infants considered to be the section of the population most susceptible. The meat products and dairy products are the most involved in these cases especially in summer and fall mostly in urban and sub-urban areas.

The coproculture is the specified method for the identification of Enterobacteriaceae (*Salmonella* and *Shigella*) during the acute phase of illness.

Results have been allowed to identify 25 cases of salmonellas and 22 cases of shigellosis. Strains Identification by agglutination identified *Salmonella* Enteritidis in 8 cases out of 25 cases, and three (03) strains of *Shigella* with *Shigella sonnei* (over 68%), *Shigella flexneri* (over 13%) and *Shigella boydii* (more 4%).

Treatment is primarily symptomatic; rehydration, antibiotics remains to be discussed according to the forms, depending on the location and immune status. Respect of hygiene rules and food control are very important to reduce the incidence of salmonella and shigellosis.

*Salmonella* and shigellosis remain a public health problem in Algeria.

Keywords: salmonellas, shigellosis, typhoid fever, bacillary dysentery, Diarrhoea, collective Food poisoning infection.

## **INTRODUCTION**

Le groupe des Entérobactéries est l'un des mieux connu et des plus étudiés. Les raisons de l'intérêt suscité par ces bactéries sont multiples, notamment : leur importance particulière sur le plan médicale, économique, leur répartition mondiale et leurs habitat diversifié (flore intestinale de l'homme, eau aliments..). Le pouvoir pathogène des Entérobactéries pour l'homme, reste une de leurs caractéristiques les plus importantes, il a évolué en particulier chez l'homme. Les infections par des Entérobactéries étaient jadis majoritairement bien définies et spécifiques à l'homme, parmi elles les shigeloses et salmonelloses qui constituent la cause majeure des Toxi-infection Alimentaires Collectives en Europe, et dans les pays en voie de développement (BOUVET et al, 1992. BOUVET et al, 1999).

Chaque année plus 20 millions de shigellose sont enregistrées dans le monde avec 10% de mortalité infantile. Les salmonelloses sont de plus en plus en augmentation en Europe et aux Etats-Unis, 17 à 20 millions de cas sont enregistrés dans le monde avec 600000 de décès chaque année (KOPECKO, 2003, F. AILAL et al, 2004. M LALANDE et al 2005).

L'importance sanitaire, hygiénique et économique des Entérobactéries pathogènes, et le manque des données épidémiologiques en Algérie sur les shigeloses et salmonelloses, nous ont poussé à réaliser cette étude.

**Les objectifs** de cette étude sont :

Recensement des cas de diarrhées au CHU de Tizi-Ouzou

Effectuer des prélèvements de selles sur des malades qui présentent des diarrhées.

Isolement des salmonelles et des shigelles au laboratoire de CHU de Tizi-Ouzou

Identification biochimique des salmonelles et des shigelles.

Recherche des facteurs intervenant dans la prévalence de ces infections par des enquêtes effectuées aux prés des médecins traitants.

L'analyse de profil épidémiologique des salmonelloses et des shigelloses.

Comparée cette étude avec d'autres études, tout en relevant les différences.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

# **I. LES ENTEROBACTERIES DU GENRE SHIGELLA**

## **1. HISTORIQUE DES SHIGELLES**

Les shigelles ont été mises en évidence par un biologiste japonais Kiyoshi Shiga (qui a donné son nom au germe) (MEDOFF et al, 1999) suite à une grave épidémie de dysenterie au Japon. Elle a été décrite pour la première fois en 1888 par Chantemess et Widal (L. LE MINORD et al 1989). Cependant la dysenterie bacillaire liée à *Shigella dysenterae* était très répandue en Europe occidentale jusqu'à la fin du siècle dernier. Elle apparaît dans les collectivités dès que les conditions d'hygiène sont déficientes ; armées en campagne, asiles psychiatriques, camps des prisonniers (L. LE MINORD et al 1982). Après la seconde guerre mondiale les épidémies sont devenues plus rares, et l'espèce a pratiquement disparu, à sa place est apparue *Shigella flexneri* comme le pathogène dominant à l'échelle internationale.

*Shigella flexneri* a été ensuite remplacée par *Shigella sonnei* dans les pays développés, et la fréquence des dysenteries et des diarrhées sanglantes a nettement diminué. Cependant *Shigella flexneri* reste la souche la plus représentée dans les pays en voie de développement, et le problème de diarrhée grave a persisté. La mortalité liée aux dysenteries a augmenté considérablement au Guatemala, avec la réapparition des souches épidémiques de *Shigella dysenterie* type 1 (B JOLLY et al, 2003). Après l'épidémie d'Amérique Latine, cette espèce est apparue quelques années plus tard en Afrique où elle existait à l'état endémique (MEDOFF et al, 1999).

Récemment il y a un resurgissement d'infection lié à *Shigella flexneri* aux USA. Cependant *Shigella boydii* est largement confirmée dans le sous-continent Indien, malheureusement les raisons de changement important survenu dans la prévalence de ce germe reste méconnues (KEUSCHE et al, 1999).

## **2. HABITAT**

Selon, (B JOLY et al, 2003) les shigelles sont retrouvées exclusivement dans l'organisme humain au niveau de la partie distale de tube digestif. Ainsi, l'homme est le seul réservoir du germe au niveau de tube digestif (E.PILLY, 1997). Par ailleurs, les shigelles ne font pas partie de la flore normale du tube digestif (J L AVRIL, 1988).

Ce sont des bactéries très adaptées à l'hôte qui provoquent une infection naturelle chez l'homme, et occasionnelle chez les autres primates (MEDOFF et al 1999). Toutefois, cette adaptation s'est fait sur perte de fonction des Shigelles (la mobilité) (L. LE MINORD et al 1982).

## **3. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES ET BIOCHIMIQUES**

### **3.1. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES :**

Les shigelles appartiennent à la famille des Entérobactéries et sont caractérisées par leurs faibles activités métaboliques, ce sont des bacilles à Gram négatif toujours immobiles (E.Pilly.1997).

Selon, leur spécificité antigénique somatique (Antigène O) et les caractères biochimiques les shigelles sont divisées en quatre espèces ou sous groupes

(B. JOLLY et al, 2003) :

§ Sous groupe A ou *Shigella dysenteriae*.

§ Sous groupe B ou *Shigella flexneri*.

§ Sous groupe C ou *Shigella boydii*.

§ Sous groupe D ou *Shigella sonnei*.

Cette classification correspond à leurs virulences (MEDOFF et al.1999).

### **I.3.2. CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES :**(B. JOLY et al 2003. L Le MINORD et al 1982)

Les shigelles ont beaucoup de caractères biochimiques négatifs. Ne se cultivent jamais sur un milieu synthétique au Citrate de Simmon, ne possèdent pas des désaminases (la phénylalanine et la tryptophane d'uréase, la lysine décarboxylase), ne produisent jamais d'H<sub>2</sub>S. Elles fermentent le glucose mais ne produisent pas de gaz.

Le milieu lactosé n'est pas acidifié par les souches appartenant aux espèces *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* ; mais il peut être acidifié lentement après

plusieurs jours par des souches de *Shigella sonnei*. Aussi le saccharose est habituellement fermenté mais tardivement par *Shigella sonnei*.

Toutes les espèces produisent La • galactosidase, le manitol est un sucre-clé dans la classification des Shigelles à des rares exceptions près n'est pas fermenté par *Shigella dysenteriae*.

### **3.3. CLASSIFICATION DES SHIGELLES :**

Les espèces ou sous groupes sont subdivisées en sérotypes sur base d'un facteur O caractéristique (L LE MINORD et all. 1982)

#### **3.3.1. *Shigella dysenteriae* :**

Il existe 10 sérotypes elles ne fermentent pas le mannitol.

-*Shigella dysenteriae* type 1 correspond au bacille de shiga elle possède une • galactosidase très active (teste ONPG rapidement + en 1 heure).

-*Shigella dysenteriae* type 6 possède une • galactosidase faiblement active (teste ONPG + en 24heure).

-*Shigella dysenteriae* type 2, 7, 8 produisent de l'indole n'a pas de rapport antigénique significatif avec les Shigelles.

#### **3.3.2. *Shigella flexneri* :**

On connaît 06 sérotypes qui ont en commun un antigène commun déterminé par un locus proche de l'histidine et un antigène caractéristique du sérotype déterminé par un locus proche de la proline.

Les *Shigella flexneri* 1, 2, 3, 4, 5 peuvent être indologènes.

#### **3.3.3. *Shigella boydii* :**

Il existe 15 sérotypes, les souches 5, 7, 9, 11, 13,15 sont indologènes.

Certaines souches de sérotype 14 peuvent produire des gaz lors de la fermentation du glucose.

#### **3.3.4. *Shigella sonnei* :**

Contrairement aux autres espèces elle possède une Ornithine décarboxylase, et ne produise pas de l'indole.

On peut les subdivisés en biotypes ; les caractères les plus recherchés sont ONPG, le xylose, ramnose. Ainsi les biotypes les plus fréquents sont

ONPG+, xylose-, ramnose +

ONPG-, xylose-, ramnose +

ONPG-, xylose+, ramnose+

## **4. POUVOIR PATHOGENE :**

### **4.1. POUVOIR PATHOGENE NATUREL :**

Les shigelles en particulier *Shigella dysenterae* sont pathogènes pour l'homme par leur caractère entéro invasif, lié à l'existence d'un plasmide, et par la sécrétion d'une shiga toxine (E. PILLY, 1997).

**4.1.1. Pouvoir invasif :** le pouvoir invasif des Shigelles est porté sur un plasmide, de 213 kilo base (kb) nommé invasion plasmide, comme son nom indique, il est essentiel pour l'invasion des cellules non phagocytaires (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005). Selon (Grenier, 1985) le pouvoir invasif est important au niveau de l'épithélium colique, et rectal, il se manifeste par une rétro colite inflammatoire aiguë, et s'accompagne d'une fièvre, et qui peut évoluer jusqu'à un syndrome dysentérique aiguë.

**4.1.2. Production de toxine :** le pouvoir pathogène des Shigelles est renforcé par une production d'une cytotoxine par *Shigella dysenterae*, dont l'activité est de type N-glycosidase et cible l'ARN ribosomal. Cette activité a comme conséquence l'arrêt de la synthèse protéique (O'BRIEN et al, 1987 ; FONTAINE et al, 1988). Ainsi l'action a lieu au niveau du système capillaire intestinal, des lésions provoquées ont pour conséquence des manifestations ischémiques et hémorragiques.

Cependant les Shigelles sont plus fréquentes chez les nourrissons et les personnes âgées, vivants dans des collectivités (L Le MINORD et al, 1982). Et elles provoquent des colites infectieuses chez l'adulte et des gastro-entérites chez les enfants (Jean Loup AVRIL, 1988).

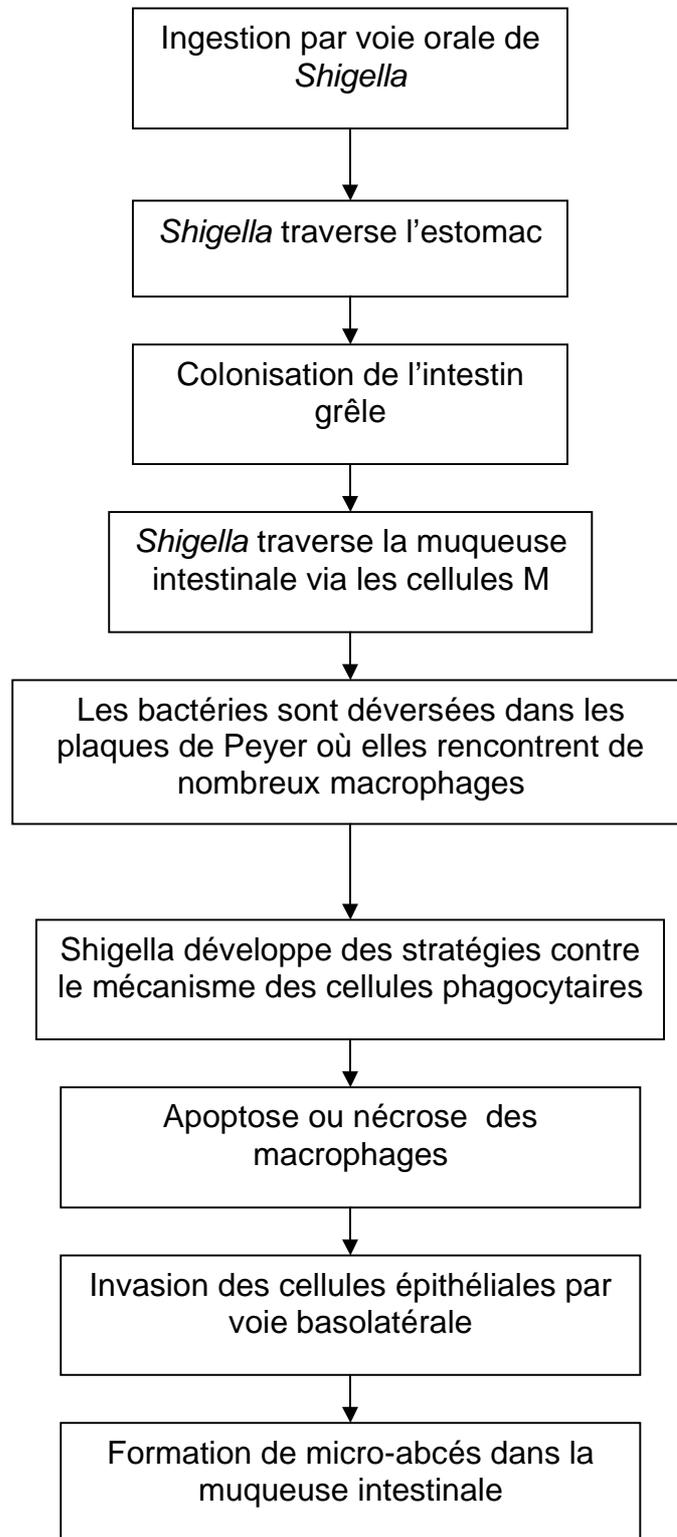
### **4.2. POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL :**

D'après (L LE MINORD et al, 1982 ; B. JOLLY et al, 2003) deux méthodes sont utilisées pour étudier le pouvoir invasif des shigelles :

#### **4.2.1. Méthode de Serny :**

C'est l'utilisation sur la conjonctive de cobaye de quelques gouttes de la culture :  
Si la souche est invasive ; on a l'apparition en 1 à 2 jours d'une conjonctivite purulente suivie d'une kératite qui guérit spontanément après 1 à 2 semaines.

La méthode est simple et donne d'excellents résultats.



**Figure (1) :** schéma récapitulatif des différentes étapes de l'infection à *Shigella*

**4.2.1. Méthode de l'infection d'une culture des cellules de Hela :** (L LE MINORD et al, 1982)

Elle consiste à étudier au microscope, l'envahissement du cytoplasme des cellules, suivies de leurs morts.

D'après (KEUCH G et al 1972) le mécanisme de la diarrhée fait vraisemblablement intervenir une toxine, on sait depuis que *Shigella dysenterae* type1 produit une exotoxine qui cause des effets divers, suivant le modèle expérimental: neurotoxique chez la souris, entérotoxique quand on l'injecte dans l'intestin ligaturé du lapin. Ainsi elle provoque des altérations des desquamations, des villosités des cellules épithéliales de l'intestin ligaturé, elles sont cytotoxiques pour les cellules de Hela. (KETYI et al 1978) rapportent qu'une toxine ayant les mêmes effets physiologiques, et antigéniquement apparentée, a été retrouvée chez les *Shigella flexneri* 2, cette dernière produit une entérotoxine ST que l'on peut mettre en évidence comme celle de *Escherichia coli*, par injection intragastrique aux souriceaux nouveaux nés.

**Tableau (1) :** bacille Gram négatif responsables de diarrhées et dysenteries (B. JOLLY 2003) :

Enterobacteriaceae	diarrhées	Dysenterie	
		Iléite	colite
E. coli ETEC	+		
E. coli EIEC			+
E. coli EHEC			+
E. coli EPEC		+	
Shigella			+
Salmonella non typhi	+		
Salmonella typhi		+	
Yersinia enterocolytica			+

### **4.3. SYMPTOMATOLOGIE**

Description d'un cas clinique typique rapporté par MEDOFF et collaborateurs (1999) :

Une petite fille de 22 mois vivant dans un quartier défavorisé est présentée dans un état fébrile, avec perte de l'appétit, diarrhée aqueuse, le lendemain la diarrhée a diminué, mais ses parents remarquent du mucus et un peu de sang dans ses selles. La présence de sang et la fréquence d'émission des selles ainsi que les vomissements du bébé inquiètent les parents qui conduisent leur enfant aux urgences de l'hôpital où on lui prend sa température ; elle est de 40C°, peu après elle fait un syncope l'examen clinique montre un enfant en mauvais état général, somnolente légèrement déshydratée et présentant une hyper activité intestinale. Elle a perdu environ 1kg.

Selon, la souche, l'âge et le statut immunitaire des malades, on peut observer un syndrome dysentérique, une rétro-colite, une gastro-entérite (J AVRIL et al, 1988). après une incubation de 2 à 5 jours, le tableau clinique est dominé par un syndrome dysentérique typique ; des selles glairosanglantes voir purulentes, associées à une fièvre de 39-40C°, des douleurs abdominales intense, du ténesme et des épreintes (E.PILLY, 1997).

Le syndrome dysentérique survient 2 jours plus tard, et une diarrhée apparaît au terme de 48heures (S. KERRNBAUM, 1996). Par ailleurs, le plus souvent la diarrhée cède en 2 à 3 jours, et peut être suivie d'une constipation sévère (B JOLLY et al 2003). Cependant, les complications ne sont pas rares ; digestives, neurologiques, rénales et sont chroniques surtout chez l'enfant (GRENIER, 1985. STRUELENS et al, 1985. ALKAN et al 1987 ; MUSSHER et al, 1990 ; SANSONETTI et al, 1997a).

### **4.4. ASPECT PHYSIOPATHOLOGIQUE :**

D'après, (BERNARD JOLY et al 2003) le pouvoir pathogène des Shigelles est dû essentiellement à leur capacité d'envahir les cellules, le mécanisme d'invasion est bien connu. L'essentiel des recherches a été mené sur des cellules en culture (L Le MINORD et al, 1989). Les résultats de l'infection (*Shigella*) ont été examinés pour la première fois en utilisant la ligne murine J744 (cellules dérivées de macrophage) (P.J. SANSONETTI et J. MOUNIER, 1987).

Cependant, la physiopathologie des Shigelles a été étudiée sur des phagocytes, et sur des biopsies de muqueuses intestinales humaines (PENDORO et al, 1994 ;

PARSOT et SANSONETTI, 1997). Ainsi le pouvoir pathogène des Shigelles est dû essentiellement à leurs capacités d'envahir des cellules et la production de toxines et des protéines (MEDDOF et al. 1999).

#### **4.4.1. La rencontre des Shigelles (pouvoir invasif) :**

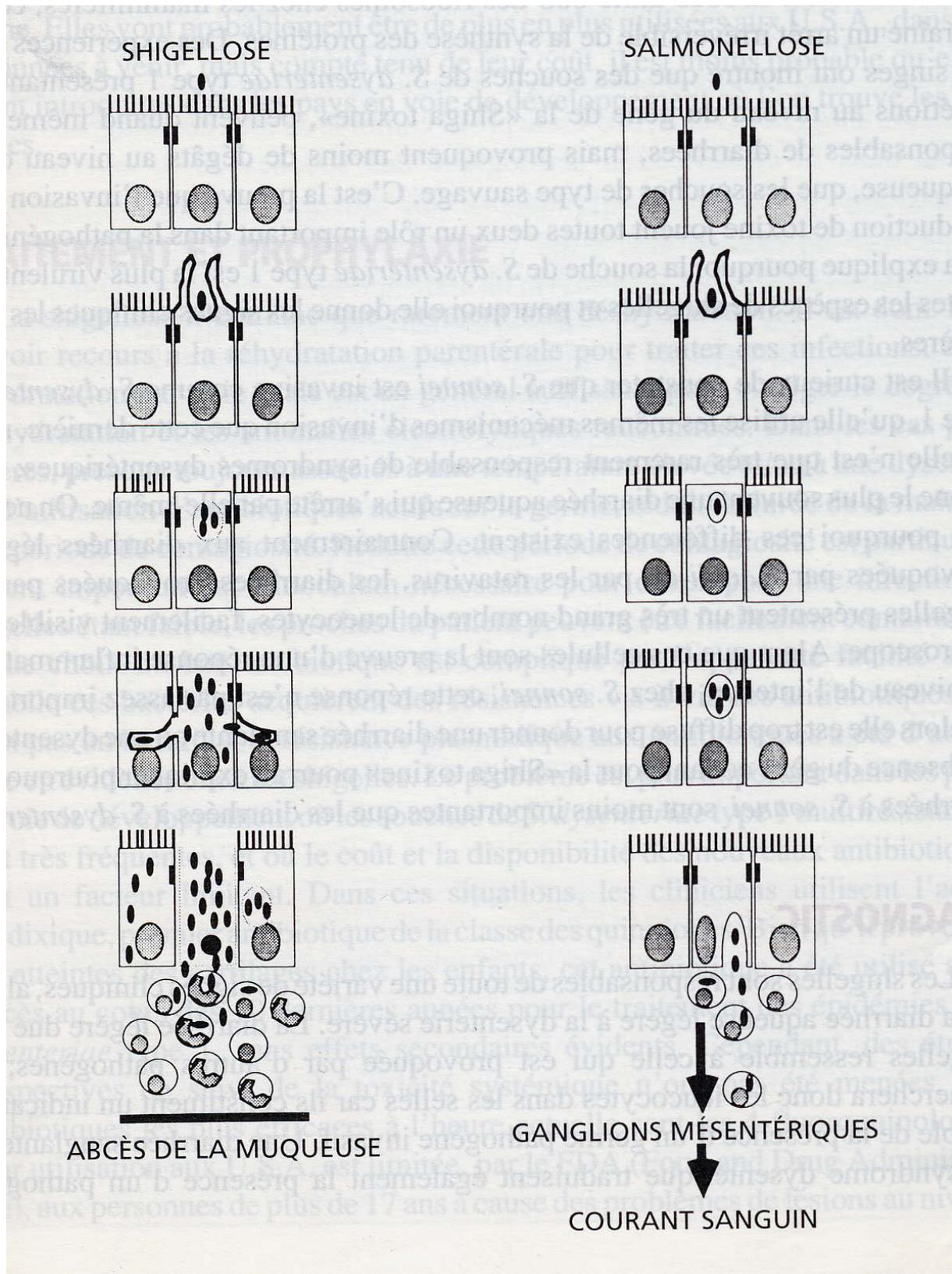
Lorsque les Shigelles quittent l'estomac, elles se retrouvent dans l'intestin grêle dont le pH est légèrement alcalin. On sait que les Shigelles envahissent les cellules épithéliales du colon chez l'homme (KEUSH et al, 1999), cependant, le coté apical de la barrière épithéliale est bien protégée à ce niveau qui doit demeurer imperméable à la flore intestinale très dense qui le colonise (SANSONETTI, 2000b). Or il existe au niveau de la muqueuse intestinale, des cellules épithéliales spécialisées appelées cellules M, constituent un pourcentage variable des cellules épithéliales de FAE (follicule associated épithéliale), en d'autre termes la couche épithéliale qui couvre les noeuds lymphatiques, associés avec la muqueuse intestinale, rassemblés dans des agrégats à l'extrémité de l'iléon (plaques de Peyer), ou des noeuds solitaires dans le colon et le rectum (NEUTRA, 1998).

Les membranes des cellules forment des microplis (ce qui explique l'origine de l'initiale M) ces invagination en forme de long doigts sont exposés ; d'un coté à la lumière de l'organe, et de l'autre coté basolatéral aux tissus de l'organisme. Les invaginations du coté basolatéral forment des poches où se nichent les cellules immunitaires. La distance entre le coté externe (apical) et le coté interne (basolatéral) de la cellule M est courte et les antigènes les traversent assez facilement par un mécanisme de trans-cytose (AUBEL et al 2000). Les antigènes sont enveloppés par des prolongements membranaires des cellules M, arrivés sur l'autre paroi ils sont déversés du coté basolatéral (MASCART et LOCHT 2000). Bien que l'ensemble des ces cellules M ne correspond qu'à environ 1/1000 de la surface totale de l'épithélium colique, son rôle fonctionnel est immense, puisqu'il représente le point de passage obligatoire des antigènes, de la lumière intestinale vers les cellules du système immunitaire muqueux, ce qui les qualifie d'être <<le cheval de Troie>> (JEPSON et al, 1998; PNGAUTLT, 1999). Ainsi la bactérie n'a pas besoin de dissolver le mucus, de résister au péristaltisme intestinal, et d'envahir les cellules épithéliales par coté apical, qui est caractérisé par la présence de la bordure en brosse, ou de pénétrer dans des cellules par l'ouverture de leur tight-jonction (SANSONETTI, 2001).

#### **4.4.2. Diffusion et multiplication (pouvoir cytotoxique):**

D'après (M.A. JEPSON et al, 2001) dès que les Shigelles traversent la muqueuse intestinale par l'intermédiaire des cellules M, elles résident dans les plaques de Payer, elles s'exposent à un environnement caractérisé par la présence de nombreux macrophages qui résident particulièrement dans la région du dôme folliculaire (c'est-à-dire l'espace entre le FAE et les noeuds lymphatiques). Dans cette situation les Shigelles doivent développer des stratégies contre les mécanismes des cellules phagocytaires (SANSONETTI, 2001),

Les bactéries sont captées dans des vésicules par des cellules épithéliales de la muqueuse normalement non phagocytaires, d'une façon proche de la phagocytose, pour provoquer la maladie le germe doit rapidement échapper de la vésicule. Ainsi une apoptose massive est observée au niveau du dôme des follicules, correspondant essentiellement à des macrophages infectés (O.J. PERDOMM et al, 1994). La libération d'interleukine 1• (cytokine pro - inflammatoire) par les macrophages infectés, les polynucléaires recrutées par ce processus jouent alors un double rôle : diffusion des bactéries dans les entérocytes, et leur activation contribue à l'installation de la réaction inflammatoire locale (SANSONETTI, 1997b. 2000a).



**Figure (2) :** mécanisme d'invasion des cellules épithéliales par *Shigella* et *Salmonella* (MEDOFF et al, 1999)

## **5. LES FACTEURS DE VIRULENCE :**

### **5.1 ROLE DES DETERMINANTS CHROMOSOMIQUES DANS LA VIRULENCE :**

Les shigelles sont l'exemple le plus typique de co-évolution, et d'adaptation réciproque entre les gènes chromosomiques et plasmidiques. Les gènes chromosomiques peuvent être classés en deux catégories :

1. Les gènes qui régulent l'expression des gènes plasmidiques exemple ; le gène *VirR* qui contrôle la température de l'expression des protéines Ipa et Mxi-Spa (MAURELLI et al, 1988).
2. les gènes importants pour la survie bactérienne dans le tractus digestif, et dans le tissu infecté, tel que ceux codants pour la LPS (lipopolysaccharide) et le sidérophore (SANSONETTI, 2001).

### **5.2. ROLE DES DETERMINANTS PLASMIDIQUES DANS LA VIRULENCE :**

Des analyses génétiques ont montré que le plasmide de *Shigella* code pour deux locus, qui représentent un bloc d'environ 30 kilo base (kb) (MAURELLI et al 1985). D'après (SANSONETTI et al, 2001) *Ipa* (invasion plasmidic antigène) et *mix-spa* peuvent être considéré comme l'îlot de pathogénicité centrale de *Shigella flexneri*.

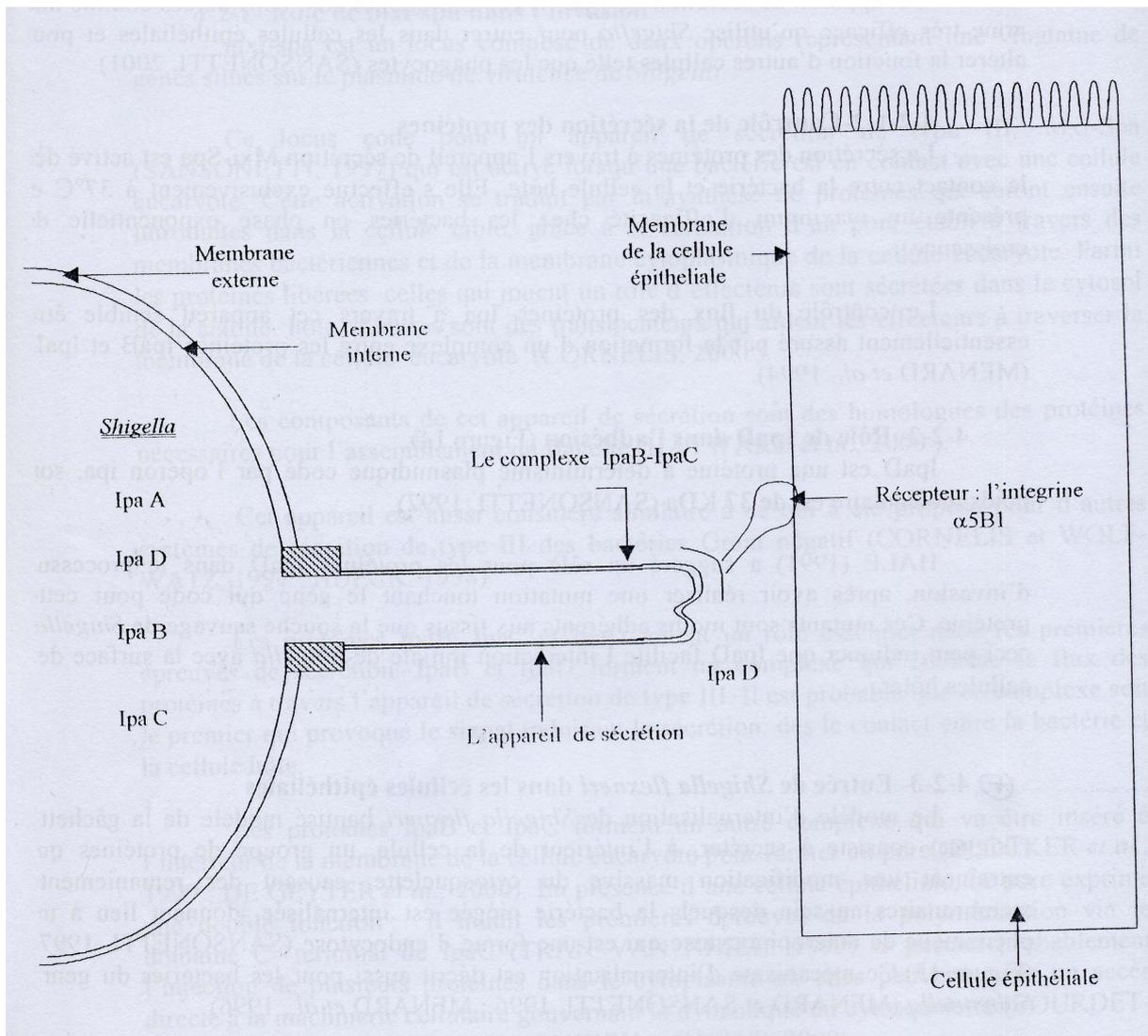
-Le premier locus composé essentiellement d'un opéron *Ipa* code pour les protéines Ipa A. B. C. D (MENARD et al, 1993).

-Le deuxième locus *Mix-Spa* code pour un appareil de sécrétion de type III Mix-Spa (SANSONETTI, 1997b). Ce dernier secrète plusieurs catégories de protéine telle que les protéines Ipa A, B, C, D et les membres de la famille Ipa H, Sop B et Vir A (SANSONETTI, 2001).

A coté de l'appareil de sécrétion de type III et les protéines qu'il secrète, d'autres protéines. Parmi elle Sep A qui est une protéase à serine dont la fonction n'est pas encore connue (BENJELLOUN TOUMIMI et al, 1998). Ce pendant, la protéine la plus importante, c'est Ics A (Vir G) qui a un rôle dans la mobilité des shigelles intra-cellulaire et qui permet son passage d'une cellule à une autre (BERNARDINI et al 1989).

#### **5.2.1 L'adhésion des cellules hôtes :**

**Rôle de *IpaD* dans l'adhésion ;** IpaD est une protéine à déterminisme plasmidique codé par l'opéron *Ipa*, son poids moléculaire est de 37kb (SANSONETTI. 1997b).



**Figure (3) :** Représentation schématique de l'adhésion de *Shigella flexneri* à la cellule épithéliale (SANSONETTI, 2001)

HALE, 1991 a montré un rôle pour les protéines Ipa D dans le processus d'invasion, après avoir réalisé, une mutation touchant le gène qui code pour cette protéine, ces mutants sont moins adhérents aux tissus que la souche sauvage de Shigelle. Ce-ci peut indiquer que Ipa D facilite l'interaction initiale des Shigelles avec la surface des cellules hôtes.

### **5.2.2. Invasion des cellules épithéliales :**

Selon (SANSONETTI.1997b) trois propriétés principales sont couvertes par le terme d'invasion cellulaire :

1. la capacité pour la bactérie d'induire son entrée dans une cellule épithéliale qui n'est pas naturellement phagocytaire.
2. sa capacité à lyser la vacuole d'endocytose et de s'échapper dans le cytoplasme cellulaire où elle se multiplier activement.
3. en fin sa capacité à se propulser au sein de la cellule et passer dans les cellules adjacentes sans étapes extracellulaires.

### **Rôle des *Mix-Spa* dans l'invasion :**

*Mix-Spa* est un locus composé de deux opérons représentant une trentaine de gènes.

-Ce locus code pour un appareil de sécrétion de type III *Mix-Spa* (SANSONETTI, 1997b) qui est activé dès qu'une bactérie entre en contact avec une cellule eucaryote. Cette activation se traduit par la synthèse de protéines, qui seront ensuite introduites dans la cellule cible, grâce à la formation d'un pont établi à travers des protéines libérées. Celles qui jouent un rôle de translocateurs qui aident les protéines effectrices à traverser la membrane de la cellule eucaryote (CORNELIS.2000).

Les composants de cet appareil de sécrétion sont des homologues des protéines nécessaires pour l'assemblage du flagelle (HAYWARD et al.2000).

**Les protéines sécrétées par l'appareil sécrétoire de type III :** il y a environ 20 protéines sécrétées à travers l'appareil sécrétoire de type III, dès qu'il y a contact entre la bactérie et la surface de la cellule épithéliale, elles sont divisées en deux catégories (SANSONETTI, 2001):

- Ø La première catégorie correspond aux protéines Ipa A, B, C, D qui expriment un rôle très important, dans l'entrée des Shigelles dans les cellules épithéliales, et la mort apoptotique du macrophage.

- ∅ La deuxième catégorie contient des protéines dont les fonctions restent indéfinies, telles que les membres de la famille IpaH, SopB et VirA.

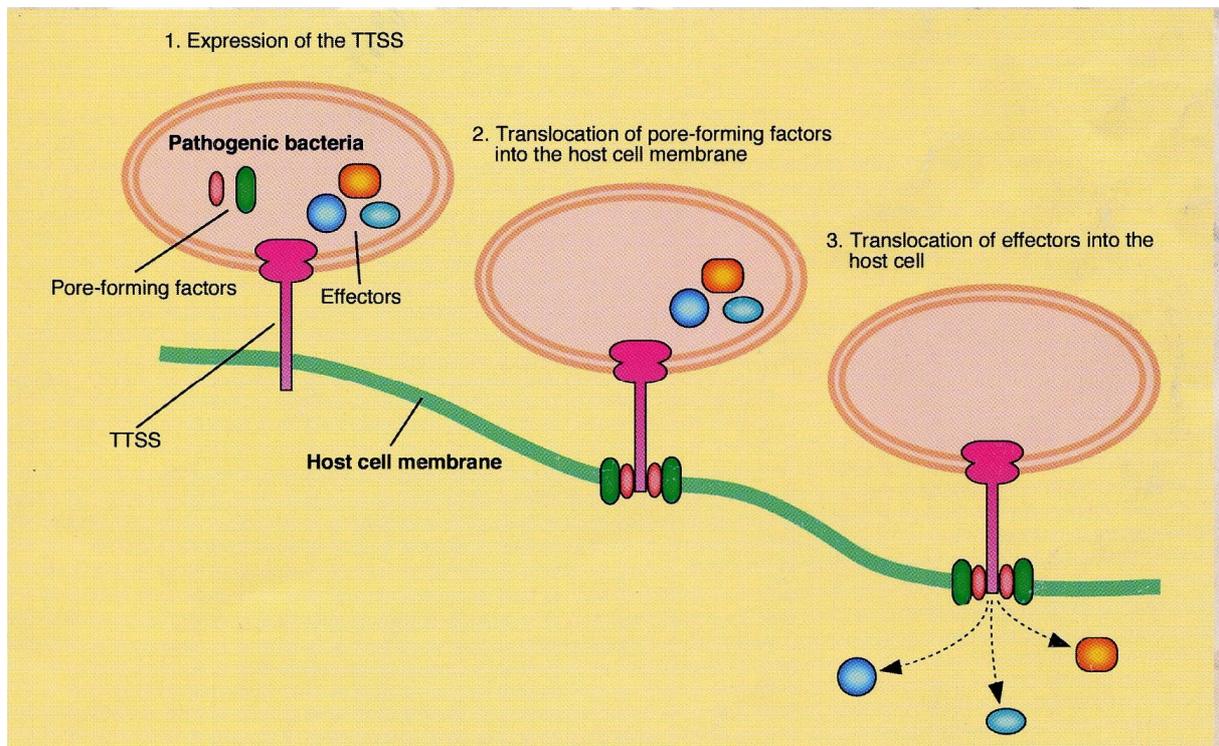
Les protéines Ipa B, C, D jouent un rôle essentiel dans les premières épreuves de la sécrétion Ipa B et Ipa D, elles forment un complexe qui contrôle le flux des protéines à travers l'appareil sécrétoire de type III. Il est probable que ce complexe soit le premier qui provoque le signal qui induise la sécrétion dès le contact entre la bactérie et la cellule hôte (SANSONETTI, 2001).

Les protéines IpaB IpaC forment un autre pore (BLAKER et al, 1999. DE GEYTER et al 2000). En présence d'une cellule épithéliale ce pore exprime une double fonction, il induit les premières épreuves de la polymérisation via le domaine C-terminal de IpaC (TRAN VAN NHIEU, 1999), et permet probablement l'éjection de plusieurs protéines dans le cytoplasme, où elle peuvent avoir un accès direct à la machinerie cellulaire gouvernant de la dynamique du cytosquelette (BOURDET SICARD et al. 2000, TRAN VAN NHIEU et OJCIUS. 2000). Cet appareil de sécrétion de type III, et ses protéines sont considérées comme une arme très efficace, qu'utilise *Shigella* pour entrer dans les cellules épithéliales et altérer la fonction d'autres cellules telles que les phagocytes (SANSONETTI, 2001)

#### **Contrôle de la sécrétion des protéines :**

Dès le contact entre la bactérie et la cellule hôte, la sécrétion des protéines à travers l'appareil de sécrétion de type III Mix-Spa est activée. Elle s'effectue exclusivement à 37C° et présente un maximum d'efficacité chez les bactéries en phase exponentielle de la croissance (SANSONETTI, 2000a)

Le contrôle du flux des protéines Ipa à travers appareil semble être essentiellement assuré par la formation d'un complexe entre les protéines IpaB et IpaD (MINARD et al, 1994).



**Figure (4) : Mécanisme de sécrétion des protéines effectrices via l'appareil sécrétoire de type III (A. ABE et al, 2005)**

### 5.2.3. Entrée dans les cellules épithéliales :

Le modèle d'internalisation de *Shigella flexneri* baptisé modèle de la gâchette, consiste à sécréter à l'intérieur de la cellule un groupe de protéine, qui entraîne une modification massive du cytosquelette, causant des remaniements membranaires au sein des quels la bactérie piégée est internalisée (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005). Donnant lieu à un phénomène de macropinocytose qui est une forme d'endocytose (SANSONETTI, 1997). Ce mécanisme d'internalisation est décrit aussi pour les bactéries du genre *Salmonella* (MINARD et SANSONETTI. 1996).

Selon (SANSONETTI, 1997b) les protéines Ipa A, B, C, D synthétisées par la bactérie sont nécessaires à l'invasion et surtout à l'internalisation. L'inactivation des gènes IpaB, IpaC, IpaD conduit à une totale inactivation du phénotype d'entrée (MENARD et SANSONETTI, 1993). Celle d'IpaA conduit à une diminution d'environ 90% de l'efficacité d'entrée (TRAN VAN HIEU et al, 1997).

**-Rôle de Ipa A :** est une protéine à déterminisme plasmidique codé par l'opéron *Ipa* son poids moléculaire est de 70 kd (SANSONETTI, 1999). La protéine Ipa A est injectée par les bactéries dans la cellule hôte, une fois à l'intérieure de la cellule Ipa A se fixe sur la vinculine, assure probablement son dépliement et son association à plusieurs composant (lactine en particulier), donnant ainsi lieu à une formation organisée proche << d'une plaque d'adhésion >>, qui semble très efficace pour assurer l'internalisation du corps bactérien (TRAN VAN HIEU et al, 1997).

**-Rôle de la protéine Ipa C** comme effecteur important de la polymérisation de l'actine durant l'entrée de *Shigella*. Pour identifier les protéines de *Shigella* susceptibles d'induire la polymérisation de l'actine, toutes les protéines qui sont sécrétées par l'appareil Mix-Spa ont été isolées à partir du surnageant des cultures de souche mutante de *Shigella*, qui manifeste une sécrétion constitutive, puis sont additionnées à des cellules semi-perméables (MENARD et al 1996).

Ce travail a montré que la protéine Ipa C est nécessaire et suffisante à induire les polymérisation de l'actine durant l'entrée, par son domaine C-terminal exposé à l'intérieure du cytoplasme, en induisant l'activation de Cdc42 et Rac qui sont des GTPases Rho (TRAN VAN HIEU et al, 1999. SANSONETTI, 2001).

**-Rôle des GTPase Rho durant la rentrée de la bactérie :**

Les GTPases (Cdc42, Rac, Rho) sont des régulateurs essentiels qui interviennent dans la réorganisation du cytosquelette (HALL, 1998).

Ces trois GTPases Rho sont impliquées dans la formation des structures cellulaires qui soutiennent la formation du foyer d'entrée de *Shigella* (MOUNIER et al, 1999).

L'analyse du foyer d'actine induit par *Shigella* indique que, Cdc42 et Rac sont nécessaires pour la polymérisation de l'actine au niveau du site d'entrée, alors que Rho permet les transformations des extensions cellulaires en structure qui permet l'entrée des bactéries (DUMENIL et al, 2000).

**-Rôle des protéines cytosquelettiques durant l'entrée de *Shigella* :**

Durant la phase initiale de processus d'entrée, *Shigella* induit la polymérisation de l'actine au niveau du contacte entre la bactérie et la membrane de la cellule hôte. Ce qui permet la formation de filopodes qui vont se transformer en feuillettes entourant la bactérie (SANSONETTI, 2001). L'organisation de ces extensions exige la plastine (fibrine) une protéine qui contient l'actine et probablement l'actinine• ou la contactine, qui sont attachées massivement au niveau de ces extensions (ADAM et al 1995).

L'ezrine un membre de la famille ERM (Ezrine Radixin Meosom) (TSUKITA et al, 1994), est aussi impliqué dans la formation de foyer d'entrée des Shigelles (SKOUDY et al, 1999).

**-Rôle du proto-oncogène C Src :** dans la réorganisation du cytosquelette induit par Shigelle.

La proto-oncogène C-Src d'origine cellulaire est impliquée dans la formation des extensions de la surface cellulaire (DEHIO et al, 1995)

- C-Src exprime deux fonctions majeures (DUMINIL et al, 1998) :

1. elle joue un rôle dans la phosphorylation de la créatine (une protéine liée à l'actine qui est recrutée largement au site de projection), et semble impliquée dans la régulation de la polymérisation de l'actine.
2. elle est aussi impliquée dans la régulation négative de la GTPase Rho (DUMENIL et al 2000).

**-Rôle de Ipa A dans dépolymérisation de l'actine :** dès que la bactérie entre dans la cellule l'actine se dépolymérise (BOURDET SICARD et al 2000).

Il est formellement observé que le mutant Ipa A de *Shigella* induit la polymérisation de l'actine, avec la même efficacité que la souche sauvage, bien que les extensions cellulaires ne soient pas organisées en une structure qui permet l'entrée de la bactérie, et que l'actine n'est pas rapidement dépolymérisée comme pour la souche sauvage (TRAN VAN HIEU et al, 1997)

Ipa A peut donc dépolymériser les filaments d'actine en un processus de deux étapes :

1. la liaison de Ipa A à la vinculine favorise la fixation de l'actine F à ce dernier.
2. le complexe Ipa A vinculine s'associe avec les filaments d'actine et induit sa dépolymérisation ainsi Ipa A à deux types d'activités qui doivent être régulées potentiellement durant l'entrée de *Shigella* (BOURDET SCARD et al 2000).

#### **5.2.4. Libération de la bactérie dans le cytoplasme :**

Une fois intracellulaire *Shigella flexneri* lyse rapidement la membrane de la vacuole d'endocytose (SANSONNETTI et al, 1997b), la bactérie s'échappe alors dans le cytoplasme où elle se multiplie rapidement (grâce au sidrophore de type hydroxamat), avec un taux de croissance qui est égale à une génération chaque 30 minutes (FRENEY et al, 2000).

Ipa B une protéine à déterminisme plasmidique avec un poids moléculaire de 62 kd est suggérée être la protéine responsable de cette étape lytique, bien que le mécanisme par lequel Ipa B induit la lyse de la vésicule n'est pas encore claire (SANSONNETTI, 1997).

#### **5.2.5. La motilité intracellulaire :**

Après la lyse de la vacuole phagocytaire *Shigella* induit la nucléation et l'assemblage de l'actine F dans un pôle cellulaire, ce processus est considéré comme un moteur qui permet à la bactérie de se mouvoir à l'intérieure de la cellule, et passer d'une cellule à une autre (BERNARDINI et al 1989).

- La motilité basée sur l'actine de *Shigella* qui est un germe immobile est médiée par une protéine de la membrane externe Ics A/Vir G (MAKINO et al, 1986).

## **6. MECANISME DE LA MORT CELLULAIRE PAR SHIGELLA**

Selon, (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005) le mécanisme de la mise à mort des cellules hôtes par *Shigella*, et notre compréhension des voies de la mort cellulaire est loin d'être complet, malgré les progrès substantiels.

Les définitions principales décrivant le processus par le quel les cellules meurent y compris les significations <la mort programmée des cellules> et de <<la nécrose>> sont devenus des sujets de la délibération car ils remodelés notre compréhension de ce processus (R.S. SLOVITER, 2002; A.L. EDINGER et al, 2004).

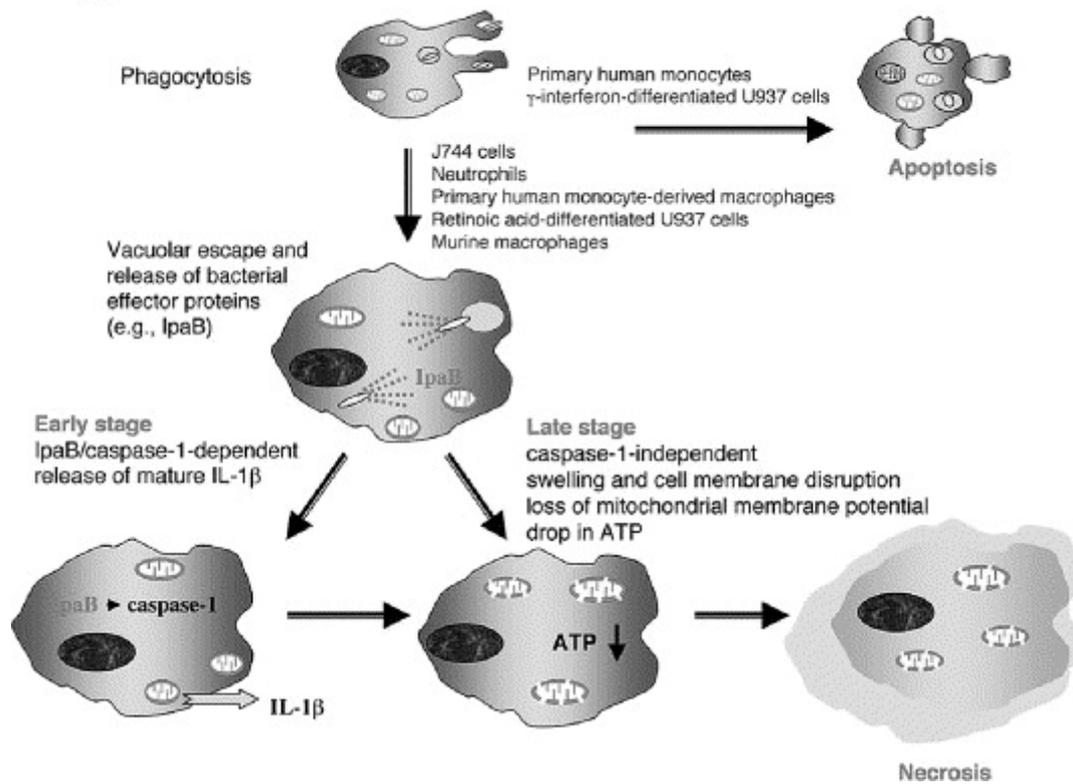
L'apoptose est décrite comme un phénomène actif contrôlé et régulé, génétiquement commandé. C'est un processus qui a comme conséquence le déplacement des cellules morte et leurs dérivés (membranes organites...) par des phagocytes professionnelles (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005). Selon (J.F.R. KERR, 1972 ; N.N. DANIA et al, 2004) l'apoptose est un processus qui règle la morphogenèse et élimine le vieillissement et les cellules endommagées. Bien qu'une dissolution de membranes soit observée dans l'apoptose dans certaines conditions, en général, on accepte que les cellules apoptiques soient phagocytées in vivo mais la membrane reste intacte (A.L. EDINGER et al, 2004). Cependant la nécrose est associée au gonflement de la cellule, et une perte rapide de la perméabilité de la membrane cellulaire, qui cause le dégagement de centre de la cellule au milieu extracellulaire (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005). Ces dommages étendus mènent à une réponse inflammatoire aigue qui peut servir à éliminer et/ou réparer le tissu endommagé (A.L. EDINGER et al, 2004 ; DA. NELSON et al, 2004).

Il est maintenant clair que la nécrose est une forme passive et accidentelle de la mort cellulaire mais elle peut être le résultat de fin d'un processus régulé impliquant des points de contrôle qui déterminent si la cellule meure par apoptose ou par la nécrose. Conséquence la nécrose peut être (HC. HA et al, 1999 ; N. HOLLER et al, 2000 ; W.X. ZONG et al, 2004):

- Une forme passive lors de la congélation ou dénaturation par la chaleur.
- Une forme active qui implique des enzymes liées à la voie apoptique.

Les travaux récents suggèrent qu' Ipa B est impliqué dans les deux types de mort de la cellule (T. SUZUKI et al, 2005). Les résultats de l'infection par *Shigella* des phagocytes ont été examinés pour la première fois en utilisant la lignée murine J744 (dérivées de macrophage) (PJ. SANSONETTI et al, 1987), moins d'une heure après l'infection 65• des cellules sont infectées, 95• des cellules sont positives à la coloration avec bleu trypan 6 heures après

## Shigella



**Figure (5) : MECANISME DE LA MORT CELLULAIRE PAR SHIGELLA Selon (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005)**

L'infection (PL. CLERC et al, 1987), un traitement des cellules infectées par un inhibiteur de polymérisation d'actine <<la cytochalasine>>, qui perturbe la phagocytose empêche le changement de la perméabilité. En conséquence à ces études, les Shigelles virulentes induisent rapidement un changement de la perméabilité des membranes des macrophages, des lignes, et des neutrophiles mais pas des monocytes, ce changement n'est observé dans des cellules traitées avec de cytochalasine.

Selon, (J. SAVILL et al, 2000) le changement rapide de la perméabilité des membranes cellulaires, déclenchée par les shigelles virulentes, est clairement contradictoire avec la définition de l'apoptose. En outre les cellules apoptiques suppriment activement des réponses inflammatoires, alors que les cellules nécrotiques déclanchent la réponse inflammatoire. Puisque les Shigelles sont caractérisées par une réponse inflammatoire forte de la muqueuse intestinale ce qui explique les symptômes de la shigellose (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005).

### **Mécanisme de la nécrose**

Une baisse de l'ATP (Adénosine Triphosphate) cellulaire est une cause commune de l'apoptose et de la nécrose (J.S. KIM et al, 2003).

(J.F. KOTERSKI et al, 2005) notent que la diminution brusque de ATP en cellules J744 en 30 minute, est suivie d'un changement rapide de la perméabilité membranaire. En outre (O.J. PERDOMO et al, 1994) ont observé les mitochondries des macrophages infectées des shigelles avirulentes, et ont notés que le potentiel mitochondrial et le niveau d'ATP ont été maintenus (A. GUICHON et al, 2001 ; PJ. HUME et al, 2003) le mécanisme par le quel *Shigella* affecte la perméabilité membranaire des cellules est une question principale qui reste sans réponse.

## **7. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION :**

### **7.1. ISOLEMENT :**

Isolement des shigelles est la seule façon de faire le diagnostic de certitude de shigellose (J. AVRIL, 1988).

- a. La coproculture :** doit être effectuée durant la phase aigue de la diarrhée lorsque les selles sont glaireuses et sanglantes, dans certains cas l'écouvillonnage rectale est

nécessaire ; les enfants, enquêtes épidémiologiques, contrôle réglementaire (B. JOLY et al, 2003).

Le transport des shigelles au laboratoire et leur prise en charge doivent être rapides (destruction possible des bactéries par l'acidité). Cependant l'échantillon peut être conservé quelques heures à 4C°.

Les selles sontensemencées directement sur milieu sélectif (n'est pas nécessaire d'utiliser au préalable un milieu d'enrichissement), les milieux généralement utilisés sont des milieux solides contenant du lactose et des inhibiteurs exemples ; Hecktoèn, SS (Salmonella-shigella), DCL (Desoxycholate-Citrale-Lactose), XLD (Xylose-Lactose-Desoxycholate). Ces milieux sont très sélectifs et peuvent inhiber certaines souches *Shigella*, il est préconisé d'utiliser également un milieu peu sélectif (DRIGALSKI ...) voir même non sélectif (milieu au Bromocrésol ...) les milieux contenant du Vert Brillant sont trop inhibiteurs (JUNOD, 1981).

Après 24 heures (ou 48heurs) d'incubation, les colonies suspectées sont identifiées. Elles peuvent être repiquées sur milieu ordinaire sur les quels les Shigelles se multiplient facilement.

**b. Hémoculture :** elles sont rarement pratiques, mais peuvent être positives dans un faible pourcentage de cas (J. AVRIL, 1988).

## **7.2. IDENTIFICATION :**

**7.2.1. Identification du genre :** L'identification est réalisée à partir de colonie isolée.

La galerie (rapidec Z << bio Merieux>>) permet en deux heures d'établir un diagnostic présomptif (ROGENIE, 1984). L'identification biochimique précise doit être réalisée à l'aide d'une galerie classique en tube ou d'une micro – galerie de type Api 20 E ou ID 32 E (bio Merieux), ou bien d'autre système pour diagnostiquer des entérobactéries (FERNEY et al, 1991).

La principale difficulté réside dans la confusion avec les espèces du genre *Escherichia coli* et notamment avec ses variants immobiles et gazogènes. Selon (L Le MINORD, 1982). les caractères qui permettent ces diagnostic différentiel sont l'alcalinisation du milieu complexe au citrate de sodium de Christensen avec la majorité des A.D (75• suivant Edwards et Ewing) alors que le teste est toujours négatif avec les shigelles.

La plupart des *Escherichia coli* typique, possèdent une lysine décarboxylase, alors que les shigelles n'en ont jamais.

**Tableau (2) : (Aspect des colonies de Shigella sur les milieux d'isolement)  
(Anonyme, 1987).**

Milieu d'isolement	Aspects des colonies après 24h à 37C°
DCL (désoxycholate-citrate-lactose)	Diamètre : 2 à 3 mm Régulières, incolores ou roses blanchâtres
Hektoon	Diamètre : 2 à 3 mm Verdâtres, transparentes
XLD (xylose-lactose-désoxycholate)	Diamètre : 1 à 2 mm Laises, rouges
SS (Salmonella-Shigella)	Diamètre : 1 à 2 mm Translucides, incolore
drigalski	Diamètre : 2 à 3 mm Bleu-vert

**Tableau (3) : principaux caractères biochimiques différentiel des Shigella (Le MINORD, 1989)**

caractères	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Mannitol	-*	+/-	+	+
ODC	-	-	-/+	+
Indole	d	d	d	-
ONPG	-/+	-	-/+	d
Fermentation du				
Dulcitol	-/+	-/+	-/+	-
Xylose	d	-/+	d	-
Rhamnose	d	d	-/+	+

La culture sur milieu synthétique à l'acétate de Trabulsi et Ewing (qui a la même formule que le milieu au citrate de Simmon mais où l'acétate est substitué au citrate) est positif plus de 80• des AD,n'est jamais positif ave les shigelles.

**7.2.2. Identification d'espèce :** (B.JOLY et al, 2003)

L'identification des espèces peut être réalisé par des méthodes biochimique et immunologiques, on réalise généralement l'identification des antigènes par méthode d'agglutination directe sur lame ; une fraction de colonie de *Shigella* (colonie en phase S, c'est-à-dire lisse bombée dont les contours sont régulier), prélever de préférence sur milieu non lactosé est mise en suspension dans différents sérums agglutinants spécifiques d'espèce. Cependant, la présence d'antigène de surface peut inhiber l'agglutination des shigelles, il suffit alors de préparer une suspension très épaisse de bactérie en eau physiologique et de la porter au bain marie bouillant pendant 30 minutes, de refroidir et de refaire les agglutinations prélevant à l'anse la suspension épaisse (Le MINORD, et al 1982).

**7.2.3. Le sérotypage :** (Le MINORD et RICHARD, 1993)

La détermination du sérotype est réalisée par les laboratoires étatiques et privés :

1. *Shigella dysenterae* : compte 13 sérotypes, les sérotypes 2 et 3 sont les plus fréquents, le sérotype 1 (bacille de shiga) est le plus pathogène il n'a pas de catalase ce qui est exceptionnel pour une Entérobactérie, et possède une • galactosidase très active (caractère ONPG positif en quelques heures).
2. *Shigella flexneri* : compte 6 sérotypes le sérotype 2 est le plus fréquent en France, puis (par ordre décroissant) 6.1.3.4.5
3. *Shigella boydii* : 18 sérotypes les sérotypes 1 et 2 sont les plus fréquent.
4. *Shigella sonnei* : compte un seul sérotype.

**7.2.4. Le marqueur épidémiologique :**

Le typage épidémiologique d'une souche repose sur la subdivision des sérotypes (Le MINORD et RICHARD, 1993). L'utilisation des marqueurs plasmidiques pour chaque espèce (LITWIN et al, 1991)

**7.2.5. Recherche des facteurs de virulence**

D'après (B. Joly, et al 2003) la recherche des facteurs est issues de la recherche fondamentale entamer pour élucider les mécanismes d pouvoir pathogène des Shigelles.

-les plus accessibles sont la recherche du plasmide d'invasion et celle de la toxine dysentérique. Cependant la distinction entre le pathovare entéro-invasif de *E. coli* (ECEI) et les *Shigella* ne peut être faite sur ces deux seuls critères.

**A. La recherche du plasmide d'invasion :** utilisation de sonde nucléique reconnaissant spécifiquement le locus *ial* (PANDA et al, 1990), ou amplification du locus *ial* et la séquence chromosomique *ipaH* (SETHABUTR et al, 1990)

**B. La recherche de la toxine dysentérique :** technique immunoenzymatique de type <<sandwich>> ou utilisant des plaques sensibilisées avec leur récepteur (ACHESON et al, 1990). Recherche des gènes en utilisant des sondes nucléiques spécifiques ou par amplification grâce à des amorces spécifiques (POLLARD et al, 1990).

### **7.3. LE SERODIAGNOSTIC :** (Le MINORD et al, 1989)

Il a peu d'intérêt car, d'une part la montée des anticorps est tardive, et d'autre part il existe de nombreuses réactions croisées entre les antigènes somatiques O des *Shigella* et ceux des autres *Enterobacteriaceae*. Toutefois, la recherche d'agglutination dans deux sérums prélevés à 15 jours d'intervalle est parfois intéressante lors de certains troubles rhumatismaux pouvant être rattachés à une Shigellose.

## **8. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE :**

### **8.1. LE RESERVOIR DES *Shigella*:**

Les shigelles sont des bactéries strictement humaines (B. JOLY et al, 2003). Selon (S. KERNBAUM, 1996) le réservoir principal du germe est le tube digestif humain. Ces bactéries ne font pas partie de la flore normale du tube digestif elles sont présentes dans la matière fécale des malades ou des porteurs sains (convalescents, entourage des malades), la Shigellose est la plus transmissible des maladies bactériennes intestinales (J. AVRIL et al, 1988).

## **8.2. La dose infectante :**

La dose minimale est très faible elle est 10-100 bactérie (B. JOLY et al, 2003). Dix germes vivants peuvent provoquer la maladie chez un adulte sain (J. AVRIL et al, 1988).

## **8.3. La transmission et dissémination:**

La transmission oro-fécale se fait essentiellement à partir des eaux et des aliments contaminés, ou directement par patients ou porteurs sains (B. JOLY et al, 2003).

Cependant, (S. KERNBAUM, 1996) rapporte que des épidémies d'origine hydrique ou alimentaire sont rares, voir des transmissions par mouches, la surpopulation et des conditions sanitaires défectueuses (camps) favorisent la maladie mais elles ne résument pas l'épidémiologie puisque on observe un nombre croissant de cas récent en Grand Bretagne.

-les enfants sont particulièrement sensibles, les cas graves de Shigellose sont surtout observés en pédiatrie et sont dues à *Shigella dysenterae* et *Shigella flexneri*, l'infection par *Shigella sonnei* est généralement moins sévère (STUELENS et al, 1985). Ainsi (S. KERNBAUM, 1996) la maladie affecte surtout les enfants de 1 à 4 ans, il y aurait plusieurs millions de cas annuels entraînent un mortalité infantile de plus de 10• (GROUPE DE TRAVAIL de OMS, 1980. BLACK, 1986). Elle reste endémo-épidémique partout dans le monde, ainsi parmi les infections intestinales elle représente 1• des cas en Europe et près de 25• en Asie (TAYLOR et al, 1988). *Shigella flexneri* et *Shigella sonnei* se manifestent sous une forme endémique et sont responsables d'épidémies brutales et graves dans les pays en voie de développement elles sont rares en Europe (Le MINORD et RICHARD, 1993).

Si dans certains pays comme le Mexique, *Shigella dysenterae* de type 1 est la plus importante, et le plus pathogène, elle provoque des vastes épidémies, ce sérotype est toutefois inexistant en Europe occidentale, *Shigella sonnei* et *Shigella flexneri* sont responsable de la forme endémique mondiale et constitue dans les pays industrialisés un bon indicateur de l'état d'hygiène (B JOLLY et al, 2003)

## **9. TRAITEMENT :**

Comme toute diarrhées le traitement devra tout d'abord pallier les pertes hydrominérales par voie orale ou si nécessaire par perfusion, ensuite détruire l'agent pathogène (L. Le MINORD et al, 1982).

Les shigelles sont irrégulièrement sensibles aux antibiotiques l'Ampicilline, les Tétracycline la Colistine, les Sulfamides et le Trimethoprime sont généralement actifs. Cependant c'est au cours d'une épidémie de Shigellose que les plasmides de résistance multi-transférables ont été découverts au Japon (J. L AVRIL, 1998).

Les résistances aux sulfamides et à la Streptomycine sont les plus fréquentes (B. JOLLY et A REANAUD, 2003). D'après un groupe de travail scientifique de l'OMS (1980) la fréquence des résistances varie beaucoup selon les localisations géographiques. Ainsi 10 à 90% des souches seraient résistantes à l'Ampicilline et aux cyclines selon les régions.

Certains auteurs ne jugent pas toujours utile d'associer un traitement antibiotique à l'indispensable rééquilibration hydroélectrique en raison de l'habituelle guérison et de l'émergence aisée des souches résistantes (S. KERNBAUM, 1996). Toutefois elle est indispensable lors des atteintes des enfants, des dénutris ou immunodéprimés ou un cas déclaré au sein d'une collectivité (GRENIER, 1985). Après l'antibiogramme des souches résistantes, une antibiothérapie par voie systémique de 3 à 5 jours est suffisante pour des diarrhées non compliquées (E. PILLY, 1997), ainsi les antibiotiques les mieux adaptés sont les Bétalactamines, l'association des Trimetoprimes-sulfaméthoxazole ou une Fluoroquinolone ils permettent la réduction de la durée de la maladie et la diminution rapide de l'excrétion des bactéries.

## **10. PROPHYLAXIE :**

-La prophylaxie se résume à des mesures d'hygiène et lutte contre le péril fécale et le danger potentiel des excréta des malades et des porteurs sains (B. JOLY et al, 2003).

-Elle repose sur l'hygiène générale (contrôle de qualité de l'eau de boisson, pasteurisation, lavage des fruits et légumes crus, bien cuire les aliments carnés).

-Les méthodes bactériologiques (isolements diagnostic précis, détermination des marqueurs épidémiologique biotype ou sérotype) (L. Le MINORD et al, 1982).

Elle est prévenue que les vaccins parentéraux contre les shigelles par corps bactériens tué ou les vaccins par voie orale par des bactéries vivantes atténuées sont sans efficacité.

Des recherches sont faites pour permettre par génie génétique de produire un vaccin buccal vivant, ces recherches se font dans les directions suivantes (S. KERNBAUM, 1996) :

-Production <<d'hybrides mutants >> de *Shigella* atténuée par incorporation de segments de gène d'*Escherichia coli*. Utilisation des *Salmonella* Typhi atténuées contenant des gènes codant pour la synthèse d'antigène de *Shigella*.



***Figure (6):*** Un jeune enfant atteint de KWASHIORKOR (un syndrome secondaire à un déficit protéique sévère) après une dysenterie à *Shigella* (MEDOFF, 1999)

## **II. LES ENTEROBACTERIES DU GENRE SALMONELLA :**

### **HISTORIQUE**

La fièvre typhoïde fut individualisée avant l'ère bactériologique sur la base des signes cliniques, et des lésions ulcéreuses de l'intestin par PETIT et SENES (1813).

En 1820, BERTONNEAU montra la contagiosité de la fièvre typhoïde qu'il appelait alors dothien entérite (J. L AVRIL, 1988).

Louis (1829) lui donna son nom de fièvre typhoïde. PETTENKOFFER (1868) mis en évidence le rôle de l'eau de boisson dans sa dissémination, et ce n'est qu'en 1880 qu'EBERTH observa le premier bacille de la typhoïde dans des coupes de la rate et des ganglions lymphatiques d'un malade mort de fièvre typhoïde.

En 1884, GAFFKY a réussi la culture des bactéries. PFEIFFER et KOLLE d'une part et GRUBER, et DURHAM d'autre part (1896) ont montré que le sérum d'un animal immunisé par une culture de bacille typhique acquérait des propriétés agglutinantes pour celle-ci. La même année WIDAL et PARIS et GRUNBAUM à Londres ont chacun mis en évidence, que le sérum de malade atteint de fièvre typhoïde agglutine les cultures de bacille typhique.

ACHARD et BENSAUD (1896) appelèrent <<bacille paratyphique >> toutes les cultures isolées de malades présentant un syndrome typhoïdique mais dont le sérum n'agglutinait pas les cultures de bacille typhique, une observation similaire fut faite par GWGNN (1898). SCHOTTMILLER (1901) appela les premiers paratyphus A et les seconds paratyphus B.

La méthode d'absorption des agglutinines de CSTEILLANIL (1902) fut appliquée à l'analyse antigénique des *salmonella* en particulier à l'étude des antigènes somatiques et flagellaires appelés en 1918 O et H par VIEL et FELIX.

ANDERVRES (1922) montra que les antigènes flagellaires pouvaient exister dans une même culture sous deux spécificités différentes en 1924 FELIX et PITT découvraient un antigène particulier appelé Vi dont la présence pouvait masquer l'agglutination de l'antigène O. WHITI (1925) jeta les bases d'une classification basée sur l'identification des facteurs antigéniques qui fut poursuivi par KAUFFMANN en 1930 qui la développa considérablement.

En 1935 REILLY montra le rôle du système nerveux neurovégétatif dans le déterminisme des lésions intestinales de la fièvre typhoïde.

La vaccination contre la fièvre typhoïde au moyen des cultures tuées est mis en application en 1888 en France par CHANTEMESSE et VIDAL, en Grand Bretagne en 1896 par WRIGHT.

Le nom *Salmonella* a été donné à ce groupe bactérien par LIGNIERES (1900), ce nom fut choisi en l'honneur de SALMON dont la contribution à l'étude de ces bactéries fut mineure. Avec SMITH (1885) il isola du porc atteint de <<*Hog cholera*>> la bactérie qui porte le nom de *salmonella cholera suis*, à qui il attribua à tort le rôle étiologique de cette maladie virale.

## **1. NOMENCLATURE ET CLASSIFICATION:**

### **1.1. DU POINT DE VUE BACTERIOLOGIQUE:**

Les salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. La nomenclature a changé avec le temps et demeure encore instable. Selon (GRIMONT et al, 2000) le genre *Salmonella* comprend deux espèces : *Salmonella enterica*, *Salmonella bongori*

La première espèce est subdivisée en 6 sous espèces : *Salmonella enterica* sous espèce *arizonae*, *Salmonella enterica* sous espèce *diarizonae*, *Salmonella enterica* sous espèce *enterica*, *Salmonella enterica* sous espèce *houtenae*, *Salmonella enterica* sous espèce *indica*, *Salmonella enterica* sous espèce *salamae*.

Cependant il existe 2541 sérotypes (KORSAK et al, 2004).

### **1.2. DU POINT DE VUE PAHOLOGIQUE :**

Les salmonelloses sont divisées en :

- a) salmonelloses majeures : se sont les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes A et B à *Salmonella typhi* et *paratyphi* A et B ces infections sont propre à l'homme.
- b) salmonelloses mineures : provoquées par *Salmonella* ubiquiste responsables des gastro-entérites.

## **2. HABITAT :**

Les salmonelles sont essentiellement des parasites intestinaux des animaux vertébrés. Dans la plupart des cas les cultures isolées sont fréquemment pathogènes. Cependant, elles sont moins pathogènes ou fait partie de la flore digestive des animaux à sang froid (L. Le MINORD et al, 1982). Les *Salmonella* Typhi et Paratyphi A sont strictement adaptées à l'homme. Par contre les autres *Salmonella* sont avant tout des parasites du tube digestif de l'homme et des animaux, ces sérotypes qui n'ont pas de spécificité de l'hôte sont appelés ubiquitaires (J. L. AVRIL et al, 1988).

Toutefois (E. PILLY, 1997) confirme que le réservoir est surtout animale (volaille, oiseaux, rongeurs, ruminants ...), le réservoir humain est essentiellement représenté par des porteurs sains. Cependant les salmonelloses peuvent être disséminées dans l'environnement par les excréta ; si elles ne peuvent pas s'y multiplier de manière significative elles peuvent survivre

en particulier dans le sol pendant plusieurs semaines, ou même plusieurs mois si les conditions de température et de pH et d'humidité sont favorables (KORSAK et al, 2004).

### **3. CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES ET CULTUREUX :**

(Le MINORD et al, 1984. HANES et al, 2003)

Les *salmonella* sont des Entérobactéries mobiles à l'exception de celles appartenant à un sérotype aviaire *Salmonella Galinarum-Pullorum* et des rares mutants sans flagelles de sérotype normalement mobiles.

Bacille Gram négatif non sporulant.

Aéro-anaérobies réduisent les nitrates en nitrites

Certes prototrophes, les souches auxotrophe appartiennent essentiellement aux sérotypes dont le pouvoir pathogène est restreint à un hôte particulier par exemple *Salmonella Typhi*, *Paratyphi A* chez l'homme (Le MINORD et al, 1982).

### **4. CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES :**(J. L. AVRIL et al, 1988. KORSAK

et al, 2004)

Le profil de la majorité des souches de *Salmonella* isolées de l'homme et des animaux à sang chaud :

- Ø Lactose -, ONPG-, H<sub>2</sub>S+, glucose+ gazogène
- Ø LDC+, ODC+, ADH-, Uréase-, TDA-, gélatinase-, indole-, DNase-.
- Ø Citrate de Simmons +, absence de production d'acétoïne (teste de Voges-Proskauer), RM+, glycérol-,

### **5. CARACTERISTIQUES ANTIGENIQUES :** (L. Le MINORD et al, 1982. J. L. AVRIL et al, 1988. GRIMONT et al 2000)

Basés sur la détermination par agglutination sur lame, des antigènes O, H Vi.

Il existe plus de 2541 sérotypes. Mais avec un nombre limite de sérum agglutinant tous les laboratoires peuvent sérotyper la majorité des souches de *Salmonella*. Tandis le typage des sérotypes rares nécessite l'intervention d'un laboratoire de référence.

#### **5.1. Antigène O :**

La spécificité de chacun des 67 antigènes O répertorié est déterminée par leur composition c'est-à-dire la structure des polysaccharides de la paroi bactérienne.

**Les formes R** sont des mutants qui ont perdu par élection une grande partie de leur chaîne polysaccharidique responsable de la spécificité O. Ces souches ne sont plus sérotypables et sont auto-agglutinables dans de l'eau physiologique.

**Les formes T** sont rares. Elles donnent des colonies ayant l'aspect S, mais ont perdu leur spécificité O comme les formes R.

Les bactériophages dits convertisseurs peuvent par lysogénie produire des modifications de la structure antigénique O de *Salmonella*. Les facteurs antigéniques O qui sont liés à une conversion phagique peuvent être présents ou absents ils sont soulignés dans le tableau de Kauffmann-White (L. Le MINORD et al, 1982). Ainsi les antigènes O peuvent être classés en

**-Facteur O majeur :** se sont des souches qui ont en commun un facteur O majeur et classique dans un même groupe ; exemples le facteur O4 est caractéristique de groupe B, O9 pour le groupe D, O2 du groupe A, O3 groupe E.

**-Facteur O mineur :**

- résultant de la modification du polysaccharide liée à la spécificité du facteur O majeur : soit par une enzyme soit par une information codée par une bactérie (conversion lysogénique).

- intérêt de diagnostic mineur quand ils sont toujours liés à un facteur O caractéristique de groupe par exemple le facteur O12 existe chez le groupe A.B.D. où il est lié respectivement O2, O4, O9.

### **5.2. Antigène H :**

Les flagelles sont constitués d'une molécule protéique la flagelline dont la composition en acides aminés détermine le type antigénique H. Cette composition est codée par un gène de structure *H1* pour la phase 1 et *H2* pour la phase 2. La plupart des sérotypes sont diphasiques ils peuvent synthétiser des antigènes H soit de phase 1 soit phase 2

Certains sérotypes sont monophasique ils ne peuvent synthétiser de la flagelline que d'une seule spécificité.

Les antigènes de la phase 1 sont désignés par des lettres (a. b. c. d) les plus récemment reconnus sont désignés par des chiffres.

**Inversions de phase :** lorsque dans une culture la majorité des bactéries est en phase 1 et la quantité des antigènes de la phase 2 est trop faible pour être détectée, l'inversion de phase consiste à ensemencer les souches de la phase 1 dans une gélose molle, et sont récupérées à distance du point d'ensemencement. Cette population entièrement constituée des bactéries en phase 2 est utilisée pour la détermination de la deuxième phase. Cette technique est connue sous le nom Sven-Gard.

### **5.3 Antigène Vi :**

C'est un antigène capsulaire sans rapport avec la virulence comme cela avait été envisagé initialement, il n'est trouvé que de façon non constatée dans trois sérotypes *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi c* *Salmonella dublin*.

Les souches Vi + qui produisent une quantité importante d'antigène Vi ne sont pas O-agglutinables, elles deviennent habituellement O-agglutinables après un chauffage à 100 C° ce qui fait passer l'antigène Vi dans le surnageant.

### **5.4. Le tableau de Kauffmann-White :**

Ce tableau indique pour chaque antigène O. Vi. H dont la détermination est utile pour le typage sérologique. A chaque sérotype correspond une formule antigénique par exemple, *Salmonella virchow* : 6,7 : r : 1,2.

Dans ce tableau des antigènes O commun caractéristique sont rassemblés pour former un groupe O désigné par une lettre A. B. C. D. E, etc, exemple le groupe B ont tous l'antigène O4 et ceux du groupe D l'antigène O9 etc... .

A l'intérieur de chaque groupe O, les sérotypes apparaissent d'après l'ordre alphabétique de la phase 1 de leur antigène H.

## **6. FACTEURS DE CROISSANCE :**

Les salmonelles sont des bactéries mésophiles, leur optimum de croissance est compris entre (37 et 43C°). La limite de la croissance inférieure est de 5C° mais la majorité des sérotypes ne croissent qu'à partir de 7C° (HANES, 2003).

La congélation ou la surgélation a peu d'effet sur la population des Salmonelles dans un aliment. Elles ne garantissent en aucune manière la destruction d'un nombre suffisant de bactéries viables (INTERNATIONAL COMMISSION, 1996).

Les gammes de température comprises entre 0 et 10C° paraissent plus délétères envers *Salmonella* que les intervalles -17 et -20C° (SCIENTIFIC COMMITTEE, 2003). En définitive ; les processus de congélation et surgélation entraînent l'émergence des bactéries stressées qui devront pour croître à nouveau, se réadapter aux nouvelles conditions (KORSAK et al, 2004).

N	sérotyp	Antigène O	Antigène H	
			PhaseI	PhaseII
10 14 1 15 13 11	S. paratyphi A	Groupe A 1, 2, 12	a	
	S. paratyphi B	Groupe B 1, 4, (5), 12	b	1,2
	S. wein	1, 4, 12, 27	b	1, w
	S. schwarzengrund	1, 4, 12, 27	d	1, 7
	S. duisburg	1, 4, 12, 27	d	e, n, z15
	S. saint-paul	1, 4, 12	e, h	1, 2
	S. derby	1, 4, (5), 12	f, g	-
	S. agona	1, 4, 12	f, g, s	-
	S. typhimurium	1, 4, (5), 12	i	1, 2
	S. bredeney	1, 4, 4,12, 27	l, v	1, 7
	S. brandenburg	1, 4, 12	l, v	e, n, z15
	S. heildeberg	1, 4, (5), 12	r	1, 2
	S. coein	4, 5, 12	y	1, 2
	7 6	S. ohio	Groupe C1 6,7	b
S. isangi		6,7	d	1, 5
S. livingstone		6,7	d	1, w
S. braenderup		6,7	e, h	1, 2
S. montevideo		6,7	g	m, s
S. thompson		6,7	k	1, 5
S. infantis		6,7	r	1, 5
S. virchow		6,7	r	1, 2
9 2	S. manhattan	Groupe C2 6,8	d	1, 5
	S. newport	6, 8	e, h	1, 2
	S. litchfield	6, 8	i, v	1, 2
	S. bovis morbificans	6, 8	r	1, 5
	S. hadar	6, 8	z10	e, n, x
5 4 3 8	S. panama	Groupe D 1, 9, 12	1, v	
	S. typhi	9, 12 (Vi)	d	
	S. enteritidis	1, 9, 12	g, m	
	S. dublin	1, 9, 12 (Vi)	g, p	
	S. galinarum-pullorum	1, 9, 12	-	
12	S. anatum	Groupe E 3, 10	e, h	1, 6
	S. meleagridis	3, 10	e, h	1, w
	S. senftenberg	1, 3, 19	g, s, t	-
	S. london	3, 10	l, v	1, 6
	S. give	3, 10	l, v	1, 7
	S. tel-el-kebir	Groupe G2 13, 23	d	e, n, z15
	S. kedougou	1, 13, 23	i	1, w
	S. worthington	1, 13, 23	z	1, w

**Tableau (4) Formules antigéniques des sérotypes de salmonella les plus fréquemment rencontrés (Extrait du tableau de Kauffmann-White)**

Les salmonelles sont thermosensibles, car elles sont tuées rapidement lorsque la température dépasse 70C°. Le pH optimum pour la croissance est de 7,2 la croissance est stoppée à un pH de <3,8 ou >9,5 et une aw (activité de l'eau) est comprise entre (>0,94 à 0,99) (INTERNATIONAL COMMISSION, 1996).

## **6.1. POUVOIR PATHOGENE :**

### **6.1.1. LE POUVOIR PATHOGENE NATUREL :**

Selon (K.H. DARWIN et al, 1999) les salmonelles sont des bactéries Gram négatif qui causent des maladies chez l'homme et les animaux, à partir de la nourriture souillée.

L'ingestion orale de *Salmonella* Typhimurium chez l'homme à habituellement comme conséquence une gastro-entérite caractérisée par des douleurs abdominales, des nausées et vomissements avec leucocytes fécaux, cependant chez les immunodéprimés l'infection peut devenir systémique. Par ailleurs *salmonella* Typhi et Paratyphi ont comme conséquence la fièvre typhoïde, où les bactéries se multiplient dans le petit intestin puis pénètrent l'épithélium intestinal et sont portées aux nœuds lymphatiques régionaux, d'où elles sèment dans le foie et la rate conséquence bactériémie, les cas non traités peuvent être mortels (J.C. PATEL et J.E. GALAN, 2005).

### **6.1.2. LE POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL :**

Il varie selon la souche en question et la voie d'introduction (L. Le MINORD et al, 1982).

Tandis que *salmonella* typhi et paratyphi provoque le Typhus qui est spécifique pour l'homme, l'infection des souris par *Salmonella* Typhimurium ne cause pas la diarrhée mais mène plutôt une maladie systémique, analogue à la fièvre typhoïde humaine par conséquent la pathogénie du *Salmonella* Typhimurium à été intensivement étudié pour comprendre la gastro-entérite et la forme systémique de la maladie.

## **7. LES FACTEURS DE VIRULENCE DES SALMONELLES :**

*Salmonella* Typhimurium produit des infections systémiques chez la souris, mais aussi des infections intestinales localisées chez l'homme, bien que certaines souches de *Salmonella* Typhimurium peuvent causer des infections extra intestinales (MARCUS et al, 2000)

Les infections à *Salmonella* sont généralement à point de départ intestinal :

- Après une phase de colonisation, les salmonelles se multiplient dans le tube digestif.
- La majorité des bactéries s'associent préférentiellement dans l'intestin aux cellules M des plaques de Peyer, formant des appendices appelés invasomes et la bactérie est alors internalisée par macropinocytose
- Les Salmonelles sont alors observées dans les cellules M à l'intérieur d'une vacuole. L'internalisation est rapidement suivie de la destruction des cellules M puis les bactéries sont retrouvées à l'intérieur des phagocytes de la lamina propria dans des vacuoles. Les phagocytes recrutés dans la réaction inflammatoire intestinale sont principalement des polynucléaires neutrophiles, et éosinophiles ainsi que des monocytes. Les bactéries phagocytées ne sont pas détruites par les macrophages (MILLEMANN Y.1998).
- Après une bactériémie transitoire. Les bactéries sont retrouvées dans les nodules lymphatiques régionaux et dans les macrophages du foie et de la rate organes pour lesquels les Salmonelles ont un tropisme particulier. Les Salmonelles peuvent se multiplier dans ces organes avant d'être disséminées par voie sanguine.
- Lors de la gastro-entérite, les symptômes sont liés en partie à la sécrétion d'une entérotoxine mais surtout à la destruction des villosités avec perturbation de la fonction de l'absorption et à une inflammation importante augmentant les sécrétions lors de la maladie septicémique (DANNER et NATANSON. 1995).

### **7.1. LES DETERMINANTS GENETIQUES DE LA VIRULENCE :**

La virulence des Salmonelles exige des facteurs multiples (GROISMAN et al, 1997).

IL a été estimé qu'approximativement 4% du génome à travers la traduction de 200 gènes de virulence de *Salmonella* Typhimurium sont nécessaires pour l'infection des souris (BOWE et al.1998). Le besoin de plusieurs déterminants de virulence reflète les interactions complexes de *Salmonella* avec l'hôte infecté (JONES et FALLKOW, 1996).

La survie des bactéries dans l'hôte apparaît être le résultat d'un équilibre entre plusieurs produits génétiques qui agissent de concert (BOWE et al, 1998). Les gènes de virulence sont localisés sur le plasmide ou à l'intérieur du chromosome comme une unité d'un ou d'un petit

nombre de gènes de virulence, ou une large cassette composée d'une série de gènes et opérons (les îlots de pathogénicité) (MARCUS et al.2000).

### **7.1.1. Les îlots de pathogénicité :**

Il existe cinq îlots de pathogénicité de *Salmonella* (5 *SPIS*) :

**-L'îlot de pathogénicité *SPII*** code pour la pénétration bactérienne dans les cellules épithéliales de l'intestin (invasion). Par contre, les îlots de pathogénicité *SPI2*, 3 et 4 sont nécessaires pour la croissance et la survie des bactéries dans le macrophage et se manifestent dans la phase systémique de la maladie (HUECK, 1998).

**-De plus, *SPII* et *SPI2*** codent pour les systèmes de sécrétion de type III qui jouent un rôle très important dans la virulence par la translocation de protéines bactériennes dans le cytosol de la cellule hôte (CHINA et al, 1999).

-Enfin, l'îlot de pathogénicité *SPI5* dont les facteurs de virulence sont codés, ils semblent être des médiateurs de l'inflammation et de la sécrétion de chlorure qui caractérise la phase entérique de la maladie (MARCUS et al, 2000).

### **7.1.2. Le plasmide de virulence**

Les Salmonelles (*Salmonella* Typhimurium) renferment un grand plasmide essentiel pour la virulence. Ce plasmide n'est pas nécessaire pour les premières interactions avec la muqueuse intestinale ni pour l'invasion et l'entrée dans les tissus profonds, sachant que des souches sans plasmide peuvent atteindre la rate, le foie et les ganglions lymphatiques (BAUMLER et al, 2000). Cependant, ce plasmide rend les micro-organismes capables de persister dans les cellules réticulo-endothéliales, alors que les souches sans plasmide sont rapidement éliminées (FINLAY et FALKOW, 1988). Toutefois les gènes du plasmide de virulence seraient nécessaires pour la croissance des bactéries dans les macrophages (MARCUS et al, 2000).

### **7.1.3 Le système de captation de fer :**

Certaines salmonelles sont capables de synthétiser l'entérochéline ou l'entérobactine, un sidérophore de la famille des phénolates sécrété dans des conditions limitées en fer telles que celles rencontrées dans l'organisme hôte (BAUMLER et al 2000). La corrélation entre la capacité à produire l'entérochéline et la pathogénicité des salmonelles a été peu étudiée. Un mutant de *Salmonella* Typhimurium déficient pour la synthèse de l'entérochéline a présenté

une virulence diminuée chez la souris après une injection intra-péritonéale (MILLEMANN, 1998).

#### **7.1.4. Les toxines :**

Les toxines sont des produits bactériens responsables des lésions ou symptômes observés chez l'hôte.

##### **7.1.4.1. L'endotoxine (lipide A du LPS)**

La toxicité du LPS est portée par le lipide A ancré dans la membrane externe. Ses effets sont liés à l'activation de phénomènes inflammatoires importants. L'endotoxine est ainsi responsable du choc septicémique (DANNER et al, 1995).

##### **7.1.4.2- Les entérotoxines**

Une entérotoxine de 29 KDa est codée par le gène *Stm* localisé sur le chromosome de *Salmonella*. Cette entérotoxine est reliée sur le plan immunologique et génétique à la toxine cholérique (CT-like) thermolabile qui est active sur des anses iléales ligaturées de lapin (BAUMLER et al, 2000). Une autre entérotoxine de *Salmonella* Typhimurium de 100 KDa thermolabile, active sur cellules CHO (chinese hamster ovary) en culture et sur des anses iléales ligaturées de lapin a été décrite. Cette entérotoxine ne ressemble pas à la toxine cholérique (MILLEMANN, 1998).

##### **7.1.4.3- Autres toxines**

Deux types de cytotoxines ont été isolés chez *Salmonella* Typhimurium

-La première de 26 KDa est codée par le gène *cyx*, elle s'est révélée toxique pour de nombreuses lignées cellulaires (LIBBY et al, 1990).

-La deuxième de 32 KDa est active sur des macrophages (KITA et al, 1993).

Une cytolysine de *Salmonella* Typhimurium codée par le gène *slyA* favorise la survie dans les macrophages péritonéaux de souris. Cette toxine appartient à la famille RTX. cytolysines des bactéries Gram négatives provoquant la formation d'un pore dans la membrane plasmique (BAUMLER et al, 2000). Son rôle dans la destruction des cellules M et la survie intracellulaire a été démontré (MILLEMANN, 1998).

## **8. Les étapes de l'infection par *Salmonella* Typhimurium et les facteurs de pathogénicité impliqués :**

### **8.1. LA PHASE INTESTINALE DE L'INFECTION :**

#### **8.1.1. Les conditions de stress rencontrées dans la lumière du tractus digestif :**

Les premiers mécanismes de défense utilisés par l'hôte sont constitués par le degré d'acidité de l'estomac et les sels biliaires de l'intestin grêle qui exerce un rôle bactéricide (KORSAK N et al, 2003). L'acteur majeur qui perturbe la colonisation de l'intestin par les salmonelles est la flore intestinale, ce phénomène est connu sous le nom d'interférence bactérienne caractérisée par la production de substances inhibitrices, la compétition pour les sites d'adhésion et la limitation des nutriments.

La principale stratégie utilisée par les sérovars de *Salmonella* pour échapper à l'interférence bactérienne est d'éviter l'environnement de compétition de l'intestin par la pénétration dans la muqueuse intestinale (BAUMLER et al, 2000).

#### **8.1.1.1. Le tropisme tissulaire dans l'intestin :**

Chez les mammifères, les plaques de Peyer servent de porte d'entrée principale pour les *Salmonella*, et leur colonisation contribue au développement des infections localisées et systémiques (DIBB-FULLER et al, 1999).

Malgré l'importance de cette étape durant l'infection, les facteurs impliqués dans le tropisme des *Salmonella* aux plaques de Peyer, ainsi que les mécanismes utilisés par *Salmonella* Typhimurium pour distinguer entre les plaques de Peyer, et les autres régions du tractus digestif sont mal connus (BAUMLER et al, 2000). (GIANNASCA et al, 1994) expliquent cette adhérence préférentielle, par des différences entre l'épithélium renfermant les follicules lymphoïdes dans les plaques de Peyer et l'épithélium des villosités iléales.

Une fois dans l'intestin grêle, les Salmonelles doivent le plus rapidement possible adhérer la muqueuse intestinale, elles vont la traverser au niveau des follicules lymphoïdes de iléon

(plaque de Peyer), A cet endroit de l'intestin, l'épithélium est caractérisé par la présence de cellules M et par l'absence de cellules sécrétrices du mucus (VIMAL et al, 2000). Par exemple, les récepteurs d'immunoglobulines polymériques sont absents dans le FAE (PAPPO et OWEN. 1988). Chacune de ces structures (qui distinguent le FAE des villosités épithéliales) peuvent jouer un rôle dans l'attachement des *Salmonella* aux plaques de Peyer (MARCUS et al, 2000).

#### **8.1.1.2. L'invasion des cellules M :**

La pénétration dans l'épithélium de l'hôte est essentielle pour la virulence de *Salmonella* (BAUMLER et al, 2000). Pour *Salmonella* Typhimurium, l'invasion des cellules épithéliales est un phénomène complexe sous la dépendance d'un nombre important de gènes, dont beaucoup sont spécifiques de cette phase de la pathogénie (CORNELIS, 2000). La majorité de ces gènes est localisée sur l'îlot de pathogénicité SPI1 (HUECK, 1998), les autres sont des gènes chromosomiques indépendants de SPI1 comme le gène *SopE* et l'opéron *Ipf*. *Salmonella* Typhimurium envahit les cellules M de l'épithélium intestinal par macropinocytose qui se fait par la réorganisation des filaments d'actine (MILLEMANN Y, 1998).

#### **8.1.1.3. L'adhésion :**

La reconnaissance et l'adhésion aux structures de surface de plaque de Peyer sont des étapes essentielles pour la colonisation de ces organes. Pour ce faire, les adhésives jouent un rôle important dans ce processus, il a été montré qu'un fimbriae Lpf (Long Polar Fimbriae) est nécessaire pour l'adhésion de *Salmonella* Typhimurium aux plaques de Peyer de rat, dans un modèle d'organe intestinal en culture, ce fimbriae est codé par cinq gènes organisés dans un opéron *lpf* (VIMAL et al, 2000).

En accord avec cette idée, une mutation dans un opéron de Fimbriae de *Salmonella* Typhimurium appelé bof (un facteur de colonisation chez le bovin) a provoqué la réduction de la capacité de cette dernière à coloniser les plaques de Peyer du bovin mais pas celles de la souris (BAUMLER et al, 2000).

#### **8.1.1.4. Destruction des cellules M :**

Après l'invasion, les cellules M sont détruites par *Salmonella* Typhimurium. Le gène *slyA* (salmolysine) semble ainsi avoir ce rôle. Des résultats indiquent que *Salmonella* Typhimurium tue les cellules M en utilisant un mécanisme indépendant de SPI1 (KORSAK N et al, 2004).

#### **8.1.1.5. L'entrée dans les plaques de Peyer :**

L'entrée de *Salmonella* dans les plaques de Peyer est un phénomène complexe qui se fait par plusieurs étapes sous la dépendance d'un certain nombre de gènes (MILLEMANN, 1998). Cette entrée requiert la présence de systèmes de sécrétion de type III (KORSAK N et al, 2004).

#### **8.1.1.6. Rôle de la mobilité dans l'invasion :**

Le flagelle de *Salmonella* Typhimurium a un rôle indubitable puisque le chimiotactisme et la motilité peuvent jouer un rôle dans la pathogénie, en favorisant l'entrée des salmonelles dans les cellules eucaryotes (BAUMLER et al 2000).

La présence du flagelle fonctionnel ou non chez *Salmonella* Typhimurium conditionne la virulence chez la souris, et participe à la survie dans les macrophages (MILLEMANN, 1998).

#### **8.1.2. Rôle de l'îlot de pathogénicité SPI1**

L'îlot de pathogénicité *SPI1* est un facteur majeur de la pénétration intestinale, localisé à 63 centisomes sur le chromosome de *Salmonella* Typhimurium, il a une taille approximative de 40Kb. Il contient au moins 29 gènes codant pour des composants variés du système de sécrétion de type III : ses régulateurs et ses effecteurs sécrétés (COLLAZO et GAI, AN, 1997). Ces derniers permettent à *Salmonella* d'entrer dans les cellules M de l'épithélium intestinal (JONES et al, 1994 et TAKAYA et al, 2002).

Des études avec des lignées de cellules épithéliales en culture ont révélé que les gènes de virulence codés par *SPI1* permettent aux sérovars de *Salmonella* de réaliser la macropinocytose (HUECK, 1998).

#### **a- Le système de sécrétion de type III**

L'étude au microscope électronique du système de sécrétion codé par l'îlot de pathogénicité *SPI1* révèle une structure moléculaire qui franchi les deux membranes interne et externe de la bactérie (KUBORI et al, 1998). Il a été montré après que ces structures contiennent plusieurs composants du système de sécrétion de type III codé par l'îlot de pathogénicité *SPI1*, incluant *invG*, *prgH* et *prgK*. Il semble que ces structures sont directement impliquées dans le processus de translocation pour injecter les effecteurs de virulence dans le cytosol de la cellule hôte (BAUMLER et al, 2000). Le phénotype de virulence associé avec l'îlot de

pathogénicité *SPII* dépend de la capacité du système de sécrétion à sécréter les protéines effectrices à l'intérieur du cytosol de la cellule hôte en réponse au contact bactérien avec la cellule épithéliale (cellule M) (KORSAK N, 2004). Ce système permet la translocation ainsi que la sécrétion des protéines SopE et SopB localisée sur l'îlot de pathogénicité *SPI5* (BAUMLER et al, 2000).

### **b- Les effecteurs codés par l'îlot de pathogénicité *SPII* :**

Parmi les protéines nécessaires à l'invasion

#### **\* La protéine SptP (*Salmonella* protein tyrosine phosphatase)**

SptP est une protéine avec une activité phosphatase dont l'extrémité est carboxyle et amino-terminale qui ressemble à YopF de *Yersinia* (KANIGA et al, 1996). Ces deux domaines de la protéine SptP détruisent la structure de l'actine cytosquelettique quand ils sont micro injectés dans la cellule épithéliale (W.D HARDT et al, 1998) ; ce qui suggère que ces deux domaines de SptP activent en synergie pour exercer des fonctions liées à la dépolymérisation de l'actine dès sa translocation dans les cellules hôtes (FU Y et GALAN. 1998).

#### **\*Les protéines Sip (*Salmonella* invasion protein)**

Les protéines Sip (A, B, C, D) sont les premières protéines sécrétées. Elles participent à l'invasion des cellules épithéliales (KANIGA et al, 1995).

**-Sip A :** cette protéine est liée directement à l'actine dans la cellule hôte, elle joue un rôle dans la polymérisation et la stabilisation des filaments d'actine par l'inhibition de sa dépolymérisation (A.ABE et al, 2005). Sip A, contribue ainsi au réarrangement de l'actine cytosquelettal de la cellule hôte au niveau du site de contact de la bactérie (ZHOU et al, 1999).

**-Sip B et Sip C :** sont toutes deux directement impliquées dans le processus de translocation, et sont libérées dans le cytosol de la cellule hôte. (MARCUS et al, 2000) ainsi Sip B et Sip C semblent avoir une double fonction d'une part comme des protéines effectrices, et d'autre part comme des translocateurs pour d'autres protéines effectrices codées par *SPII* telle que la protéine Spt P (LD HERNANDEZ et al, 2003)

#### **\* Autres gènes localisés sur l'îlot de pathogénicité *SPII* intervenant dans l'invasion**

D'autres gènes localisés sur l'îlot de pathogénicité *SPII* semblent avoir un rôle dans l'invasion. Parmi eux : *inv/spa*, *hila*, *prgHIJK*, *orgA*. (MILLEMANN, 1998). Ainsi le gène

*hilA* (hyper invasion locus) est nécessaire à la transcription optimale de plusieurs gènes d'invasion. SPI1 est sous le contrôle de facteurs environnants et d'autres facteurs régulateurs.

Le gène *orgA* (Oxygen regulated gène) est exprimé dans des conditions limitantes en oxygène (JONES et FALKAW, 1994).

### **8.1.3. Rôle du gène *sopE* (*Salmonella* outer protéine)**

Le gène *sopE* est localisé sur le chromosome de *Salmonella* Typhimurium à l'extérieur des îlots de pathogénicité (MARCUS et al, 2000).

La protéine *sopE* est d'abord transloquée à travers la membrane interne et externe de la bactérie puis traverse la membrane des cellules épithéliales en culture. Une fois dans le cytosol, la protéine *SopE* comme les protéines codées par les gènes localisés sur l'îlot de pathogénicité *SPII*, induit la macropinocytose par l'induction d'un signal à travers l'interaction directe avec les petites protéines GTPase liées : Cdc-42 et Rac1 (A. FERIEBL et al 2001). Les sérovars de *Salmonella* sont donc capable d'utiliser l'induction de la macropinocytose comme un mécanisme pour l'invasion des cellules épithéliales (BAUMLER et al, 2000).

### **8.1.4. Rôle de l'opéron *Ipf***

Un second paquet de gènes impliqués dans la colonisation des plaques de Peyer est l'opéron *Ipf*. Des études ont montré que l'îlot de pathogénicité *SPII* et l'opéron *Ipf* déterminent des voies de pénétration intestinale indépendantes et que ces facteurs activent en synergie (BAUMLER et al, 2000).

## **8.2. INVASION DES MACROPHAGES**

### **8.2.1. Survie dans les macrophages :**

Quatre heures après l'invasion, *Salmonella* Typhimurium commence normalement à se répliquer dans les macrophages de la souris où elle réside à

l'intérieur d'une vacuole (MARCUS et al, 2000). *Salmonella* Typhimurium, qui survit dans les phagocytes professionnels (macrophages), produit des molécules qui inactivent les métabolites intermédiaires de l'oxygène potentiellement toxiques, tel que l'eau oxygénée, en synthétisant une superoxyde dismutase ou une catalase (DEBY C, 1991). Ainsi les Salmonelles, pour la plupart, se comportent comme des parasites intracellulaires et sont véhiculées dans l'organisme par les macrophages circulants, puis sont retrouvées dans les macrophages spléniques et hépatiques (MILLEMANN, 1998). Cependant selon (OH et al. 1996), les Salmonelles n'inhibent pas la fusion phagosome-lysosome.

*Salmonella* Typhimurium est capable de se multiplier dans l'environnement hostile des phagolysosomes, car elle est capable de résister aux enzymes lysosomiales, notamment les défensines, cette résistance est conférée par, une protéine de la membrane externe de la bactérie (PagC) (MEYER et al, 1994 ; BUCHMEIER et LIBBY, 1997). Toutefois les phagolysosomes dans lesquels survivent les salmonelles diffèrent des lysosomes classiques et contiennent de grandes quantités de glycoprotéines de membrane lysosomiale qui forment des structures filamenteuses, sous le contrôle d'un gène de *Salmonella* (*sfiA*). Celles-ci protègent efficacement la bactérie de l'action des enzymes lysosomiales (STEIN et al, 1996 ; RATHMAN et al, 1997).

### **Rôle de SPI2**

L'îlot de pathogénicité *SPI2* est localisé à 30 centisomes, dans la carte chromosomique de *Salmonella* Typhimurium. Il contient plus de 40 gènes, incluant deux composants : le système régulateur et le système de sécrétion de type III (OCHMAN et al, 1996 ; HENSEL et al, 1999 ; BEUZON et al, 2001).

Selon, (MARCUS et al, 2000) quatre types de gènes ont été décrit dans la région 25,5 kb de *SPI2*, groupés dans au moins 4 opérons :

Ces gènes sont désignés par : *ssa* (pour gène encoding the type III sécrétion system apparatus), *ssc* (pour secretion system chaperones) *ssr* (pour secretion system regulators), *sse* (pour secretion system effectors) (HENSEL et al, 1997).

Dans l'infection orale de souris, les mutants *SPI2* colonisent les plaques de Peyer mais sont incapables de se propager dans les nodules lymphatiques mésentériques, le foie et la rate (CIRILLO et al, 1998).

**\* Le système de sécrétion de type III**

Le système de sécrétion de type III de *SPI2* est structurellement et fonctionnellement indépendant de celui de *SPI1*. Il y a au moins deux opérons codant pour les composants structurels de l'appareil de sécrétion (CIRILLO et al, 1998 ; HENSEL et al, 1998).

L'expression de ces gènes structurels est absolument dépendant des deux composants du système de régulation codé par *ssrAB* in vitro (DEIWICK et al, 1999) et in vivo (VALDIVIA et FALKAW, 1997 ; CIRILLO et al, 1998).

**\* Les protéines effectrices**

Les gènes effecteurs *sse* et *ssc* sont transcrits comme un grand opéron de 9 gènes. Ce groupe de gènes code pour des protéines effectrices, nécessaires pour la multiplication de la bactérie dans les macrophages : leurs fonctions moléculaires exactes sont inconnues (BAUMLER et al, 2000).

Les protéines SseB, SseC et SseD sont nécessaires pour l'activation d'une cascade de signaux épithéliaux qui conduisent au réarrangement du cytosquelette de la cellule hôte et, la formation de structures plaquettaires dans la surface de l'épithélium intestinale sur laquelle les bactéries s'adhèrent (MARCUS et al, 2000).

Les protéines SseC et EspD sont toutes deux similaires à YopB de *Yersinia enterocolitica* qui est une protéine formant un pore nécessaire pour la transformation des protéines effectrices par le système de sécrétion de type III de *Yersinia* (HAKANSSON et al, 1996). *Salmonella* Typhimurium secrète des protéines dans le SCV (*Salmonella* containing vacuole) ou à travers la membrane vacuolaire dans le cytosol de l'hôte, qui contribuent à la survie et la multiplication de *Salmonella* Typhimurium dans le macrophage (MARCUS et al, 2000).

*sipC*, est un gène structurel qui code pour une protéine effectrice qui peut avoir un rôle dans l'inhibition de la fusion SCV (*Salmonella* Containing Vacuole) avec les lysosomes (UCHIYA et al., 1999)

**Rôle de l'îlot de pathogénicité *SPI3***

L'îlot de pathogénicité *SPI3* est une insertion de 17 kb, localisée à 82 centisomes sur le chromosome de *Salmonella* Typhimurium. Les gènes de cet îlot forment un opéron sous un contrôle sévère de *phoP/Q*. Les protéines codées par ces gènes permettent chez *Salmonella* Typhimurium de transporter du  $Mg^{24}$  dans des conditions restrictives (BLANC-POTARD et GROISMAN, 1997).

Parmi ces gènes, les gènes *mgtC/B* sont nécessaires pour la survie dans les macrophages de la virulence chez la souris (BLANC-POTARD et al, 1997 et 1999).

### **Rôle de l'îlot de pathogénicité SPI4**

L'îlot de pathogénicité *SPI4* est une insertion de 2.5 kb, elle est localisée à 92 centisomes sur le chromosome de *Salmonella* Typhimurium. Selon (BAUMLER et al, 1994) un locus à l'intérieur de l'îlot de pathogénicité *SPI4* est nécessaire pour la survie de *Salmonella* Typhimurium à l'intérieur du macrophage ; cependant la fonction principale de *SPI4* reste à déterminer (MARCUS et al, 2000).

### **8.2.2. La mort apoptique des macrophages :**

In vitro, après l'infection des macrophages, les salmonelles survivent et se multiplient, mais après plusieurs heures, les macrophages meurent (BAUMLER et al, 2000). La mort de ces macrophages peut avoir lieu par deux processus différents :

#### **• Un processus qui induit rapidement la mort des macrophages :**

Salmonelles tuent les macrophages en utilisant le gène *sipB* localisé sur l'îlot de pathogénicité *SPII*, et *SPI4* avec le même mécanisme utilisé par *Shigella* (D. HERSH et al, 1999).

### **Rôle de SipB**

In vitro, après l'infection des macrophages, la protéine SipB se lie à la protéase proapoptique : caspase-1 et induit rapidement l'apoptose du macrophage (D. HERSH et al, 1999). Des résultats suggèrent que l'îlot de pathogénicité *SPII*, est nécessaire non seulement pour l'invasion des cellules non phagocytaires de l'épithélium intestinal mais également dans l'apoptose des macrophages (MARCUS et al, 2000 ; MONACK et al, 1996).

### **L'îlot de pathogénicité SPI4**

Il a été signalé que l'îlot de pathogénicité *SPI4* est impliqué dans la sécrétion de cytotoxines, dès que *Salmonella* a induit l'apoptose des macrophages infectés (WONG et al, 1998). En accord avec cette hypothèse, plusieurs groupes de chercheurs ont rapporté la cytotoxicité de plusieurs espèces de *Salmonella* induites sur les macrophages à (CHEN et al, 1996 ; GUILLOTEAU et al, 1996 ; MONACK et al, 1996).

Ce mécanisme dépendant de l'îlot de pathogénicité *SPI4* dans l'induction de l'apoptose pourrait s'effectuer avec *SipB* liant caspase-1 (MARCUS et al, 2000).

#### • **Un processus qui induit tardivement la mort de ces macrophages**

Ce processus qui est indépendant de *SipB*, permet probablement à *Salmonella* de rester à l'intérieur des macrophages, et d'utiliser les composants de ces cellules pour ses besoins nutritionnels. Ce mécanisme est responsable de l'apoptose des macrophages localisés dans la rate chez la souris infectée par *Salmonella* Typhimurium (RICHTER-DAHLFORS et al, 1997).

### **8.3. LA PHASE SYSTEMIQUE DE L'INFECTION**

A la fin de la troisième phase, les bactéries réapparaissent dans le sang et se multiplient rapidement jusqu'à ce que la souris meure (BAUMLER et al, 2000). Plusieurs facteurs de virulence interviennent dans cette étape de pathogénie incluant le plasmide de virulence et l'îlot de pathogénicité *SPI2* (HUECK, 1998).

#### **8.3.1 Rôle du plasmide de virulence :**

Plusieurs sérovars de *Salmonella* hébergent des plasmides de virulence importante pour l'infection systémique (GULIG, 1990 ; WALLIS et al. 1995). Le plasmide de virulence de *Salmonella* varie en taille en fonction du sérovar : le plasmide SSP (Plasmide serotype spécifique) de *Salmonella* Typhimurium est de 95 Kb (CHU et al, 1999).

Un opéron *spv* (*Salmonella* plasmid virulence) de 8 kb est présent dans les plasmides de tous les sérotypes de *Salmonella* examinés. Il est essentiel pour l'infection systémique chez la souris (GULIG et al, 1993).

#### **8.3.2- Rôle du l'îlot de pathogénicité SPI 2 :**

En plus de l'opéron *spv* localisé sur le plasmide de virulence de *Salmonella*, l'îlot de pathogénicité *SPI2* est aussi essentiel pour la croissance extra-intestinale.

Les mutations dans l'îlot de pathogénicité *SPI2* rend *Salmonella* Typhimurium incapable de causer la maladie systémique chez la souris et réduisent sa croissance in vitro dans les macrophages chez la souris (OCHMANN et al, 1996 ; HENSEL et al, 1997, CIRILLO et al, 1998).

### **9. RESISTANCE AUX COMPOSANTS DE LA DEFENSE :**

#### **9.1. RESISTANCE AUX COMPOSANTS DE LA DEFENSE IMMUNITAIRE NON SPECIFIQUE :**

**9.1.1- Survie dans le sérum :**

Le gène *rck* (résistance to complément killing), localisé sur le plasmide, code pour une protéine membranaire avec trois boucles transmembranaires qui peuvent prévenir l'insertion du complexe d'attaque du complément à la membrane : de ce fait, elle confère à *Salmonella* une résistance au complément (BAUMLER et al, 2000).

### **9.1.2. Résistance à la phagocytose :**

Les cellules phagocytaires sont la niche préférée pour *Salmonella* durant la croissance dans le foie et la rate. Après la phagocytose par les macrophages, *Salmonella* est capable de survivre dans cet environnement hostile puis provoquer la mort de ces cellules (MARCUS et al., 2000)

### **9.1.3. Diarrhée et inflammation :**

#### **9.1.3.1. Diarrhée :**

La plupart des scientifiques qui ont étudié les infections à *Salmonella* Typhimurium chez la souris (le modèle de la fièvre typhoïde) de ce fait l'étiologie de la maladie diarrhéique reste encore mal connue. L'implication des toxines dans la formation de la diarrhée durant l'infection localisée n'a jamais été bien démontrée, bien que plusieurs activités toxiques ont été décrites chez *Salmonella* (STEPHEN et al, 1985).

(FINLAY et FALKOW, 1988) signalent que la diarrhée provoquée par *Salmonella* Typhimurium lors des gastro-entérites ressemble à celle provoquée par le choléra, et que les entérotoxines de *Salmonella* Typhimurium ressemblent génétiquement et immunologiquement aux toxines cholériques. Ils ont alors déduit que la diarrhée provoquée par les Salmonelles entériques peut être causée par ses entérotoxines. Cependant, (WATSON et al, 1998) ont montré que l'entérotoxine STm de *Salmonella* ne provoque pas la diarrhée chez le veau.

Pour étudier les processus liés à la diarrhée, un modèle de cellules en culture a été réalisé, Ce modèle consiste en une monocouche de cellules épithéliales polarisée (T84) avec des polynucléaires et mononucléaires (PMN) humains placés dans le compartiment basolatéral. Dans ce modèle, *Salmonella* Typhimurium adhère à la surface apicale et envahit les cellules épithéliales. Ceci provoque la sécrétion d'interleukine 8 (IL-8) par le côté basolatéral des cellules épithéliales permettant ainsi la migration transépithéliales des PMN vers le côté apical (lumière intestinale) ; ceux-ci se retrouvent alors dans les selles des personnes infectées (KORSAK et al, 2004).

L'induction de la libération de IL-8 dépend du système de sécrétion de type III de *Salmonella* Typhimurium, ce dernier secrète une ou plusieurs protéines avec une activité entérotoxique (BAUMLER et al, 2000).

### **9.1.3.2. Echappement de *Salmonella* à l'inflammation :**

Ces changements structuraux au niveau du LPS de la membrane externe conduisent à la résistance aux BPI (Bactéricidal permeability increasing protein) libérées par les PMN durant l'inflammation (les protéines antibactériennes) (MARCUS et al, 2000).

De plus PhoP/Q active une seconde voie indépendante de pmrA/B permettant l'augmentation de la résistance aux défensines et cryptidines synthétisées par les PMN recrutés au niveau des cryptes intestinales, lors de la réponse inflammatoire (BAUMLER et al, 2000).

## **9.2. RESISTANCE AUX COMPOSANTS DE LA DEFENSE IMMUNITAIRE DE L'IMMUNITE SPECIFIQUE :**

L'infection aux salmonelles induit l'expression de l'immunité humorale et cellulaire, et codent pour un mécanisme intervenant dans ce retard ce qui pourrait expliquer l'effet létal de l'infection chez la souris (BAUMLER et al, 1998).

Expérimentalement, la production de monoxyde d'azote (NO) par les macrophages infectés par *Salmonella* inhibe cette réponse immunitaire du fait qu'à une concentration élevée, le monoxyde d'azote (NO) bloque la prolifération des lymphocytes T (AL-RAMADI et al, 1992). En effet, l'élimination de la production de NO par un inhibiteur spécifique, permet l'expression de la réponse immunitaire au cours de l'infection (BAUMLER et al, 1998). Chez la souris, la résistance aux lymphocytes T cytotoxiques et aux cellules B, dépend de la sensibilité de la souris à *Salmonella* Typhimurium ; les souris résistantes sont protégées de l'action des anticorps à la différence des souris sensibles (BAUMLER et al, 2000).

## **9.3. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES :**

La résistance est sous la dépendance de gène de localisation chromosomique (RIDLEY A et al, 1998), réaménagé au sein de plusieurs intégrons (POIREL L et al, 1999), ces derniers peuvent héberger des gènes de résistances insérés sous forme d'éléments mobiles appelés cassette, qui sont intégrés ou excisés par un système de recombinaison spécifique faisant intervenir une intégrase (PIOY M.C., DENIS E, 2000), le locus de résistance de *Salmonella* Typhimurium est constitué de deux intégrons de classe I :

-Le premier initialement décrit sur un plasmide de résistance porté par *Pseudomonas aeruginosa* (KAZAM A H et al, 1995) contient le gène *aadA2* codant pour une enzyme adényl-transférase responsable de la résistance à la Streptomycine.

-Le second porte la cassette du gène de la • lactamase.

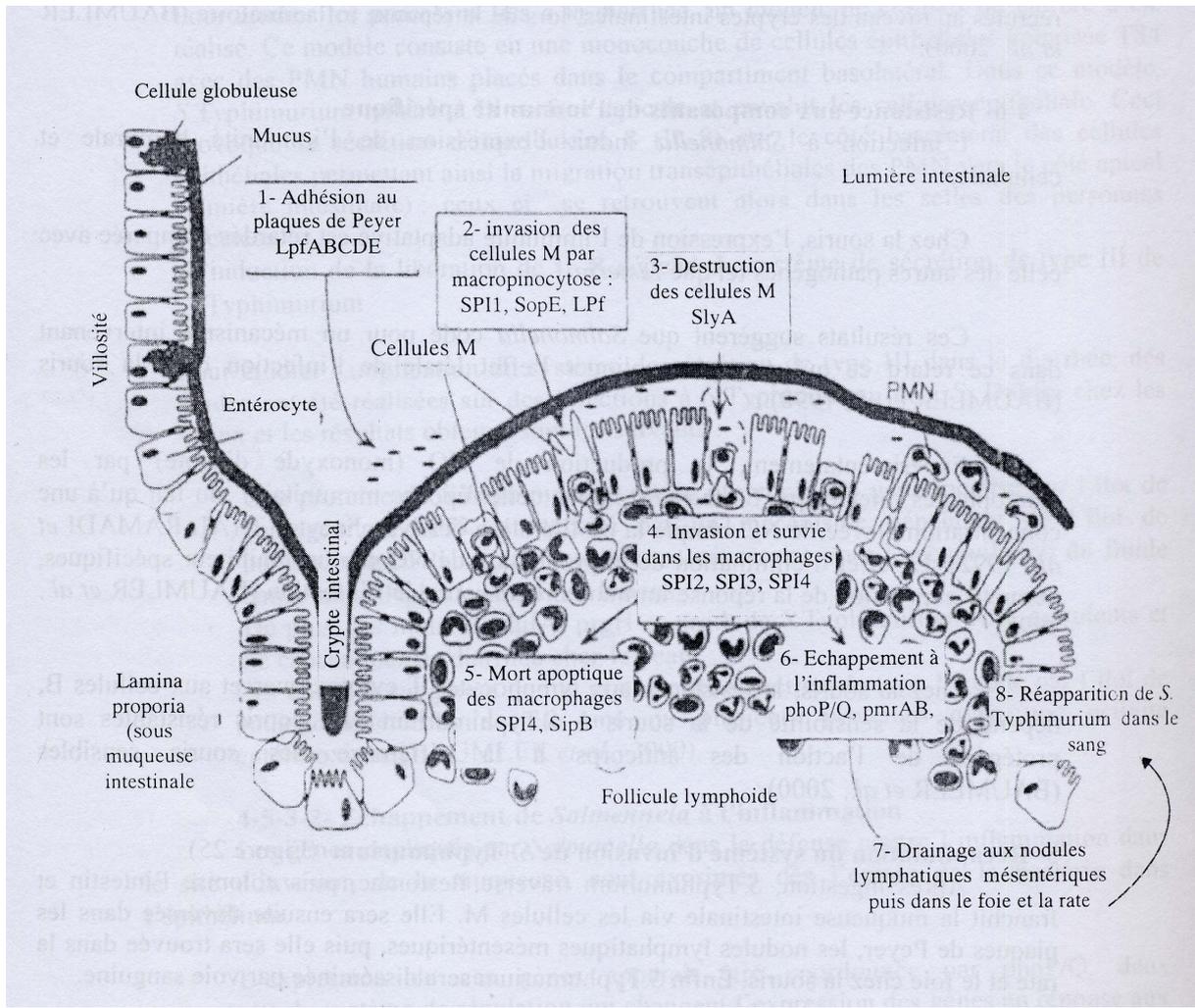
Entre ces deux intégrons se trouve un gène *floR* qui confère la résistance au Chloramphénicol, ainsi aux Tétracyclines (ARCANGIOLI M.A et al, 1999).

## **10. SYMPTOMATOLOGIE:**

La symptomatologie de salmonellose varie selon la virulence de la souche en question, et à la sensibilité de l'hôte (CUZIN FERRAND L, 1992). L'association des cas de complication extra-intestinales (articulaire et nerveux) restent inexplicables pour les autres formes représente le tableau toxinique des salmonelles (M. LALANDE et al, 2005).

Selon la forme de la pathologie on peut avoir une forme digestive localisée et/ou une forme systémique extra digestive. Selon (M. LALANDE et al, 2005) la diarrhée est présente dans 96% des cas, la triade classique de syndrome dysentérique associe diarrhée glairo-sanglante, fièvre et douleurs abdominales n'est pas constamment retrouvée, même si l'évaluation rétrospective de l'intensité des douleurs abdominales est difficile ce paramètre clinique semble être un bon élément d'orientation par opposition à la fièvre et la diarrhée qui sont

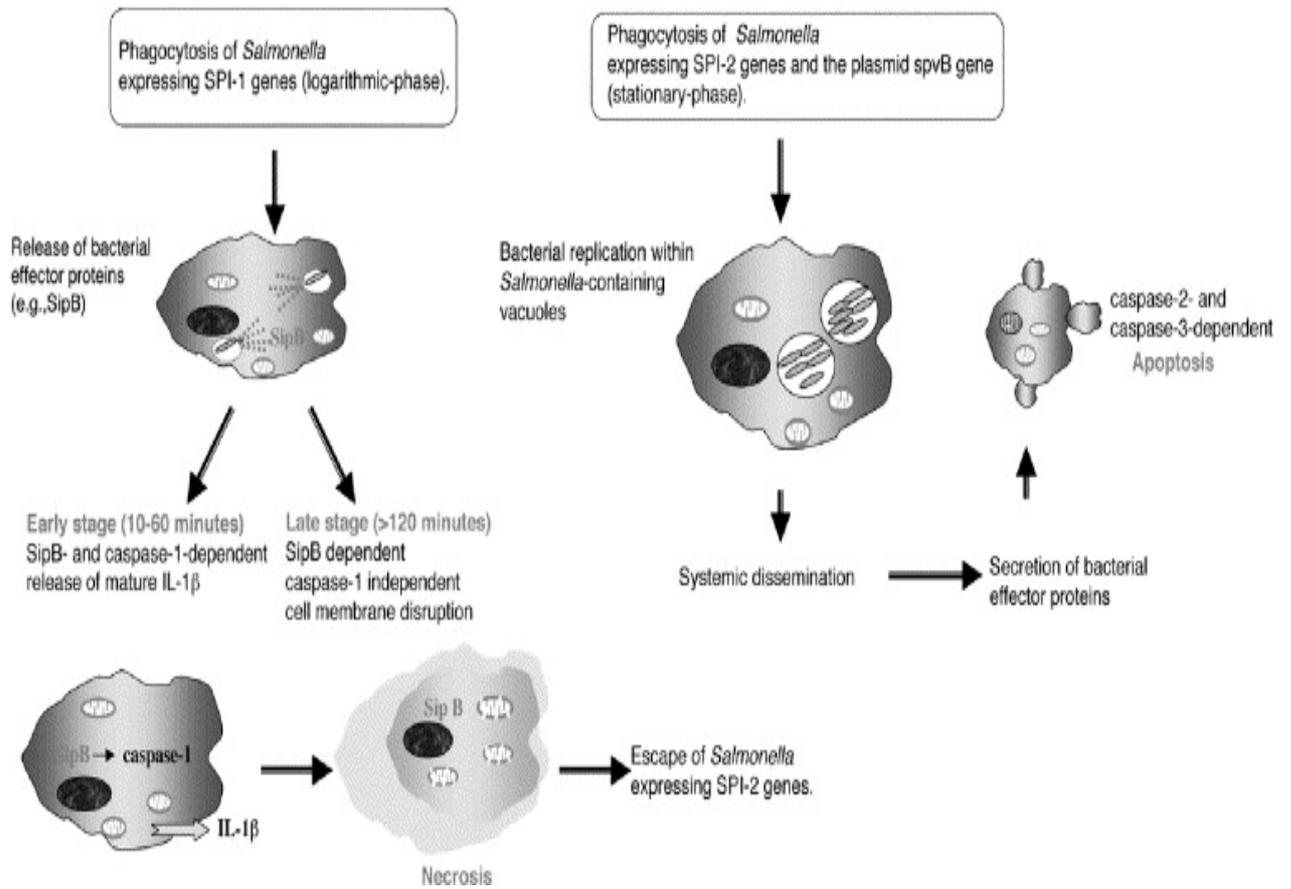




**Figure (7):** Système d'invasion de *Salmonella Typhimurium*  
(BAUMLRE et al, 2000)



# Salmonella



**Figure (8) : MECANISME DE LA MORT CELLULAIRE PAR *SALMONELLA*** Selon (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005)

moins spécifiques. Les salmonelloses non typhiques provoquent des gastro-entérites aiguës (BEATRICE HAIMOVICH et al, 2005). Toutefois la forme systémique est constatée chez moins de 5% des immunocompétents, en revanche elle est de 20% chez les immunodéprimés (BORDERON JC et al, 1991. CUZIN FERRAND L, 1992. LEE WS, 2000).

la forme systémique est caractérisée par une septicémie et ces complications extra digestives ; qui sont représentées par méningites (W. FIERS, R. BEYAERT et al, 1999) et des arthrites septiques (J.C. PATEL et J.E. GALAN, 2005).

## **11. DIAGNOSTIC :**

### **11.1. DIAGNOSTIC DIRECT :**

Le diagnostic repose essentiellement sur la culture de germe ; en générale la coproculture et/ou l'hémoculture.

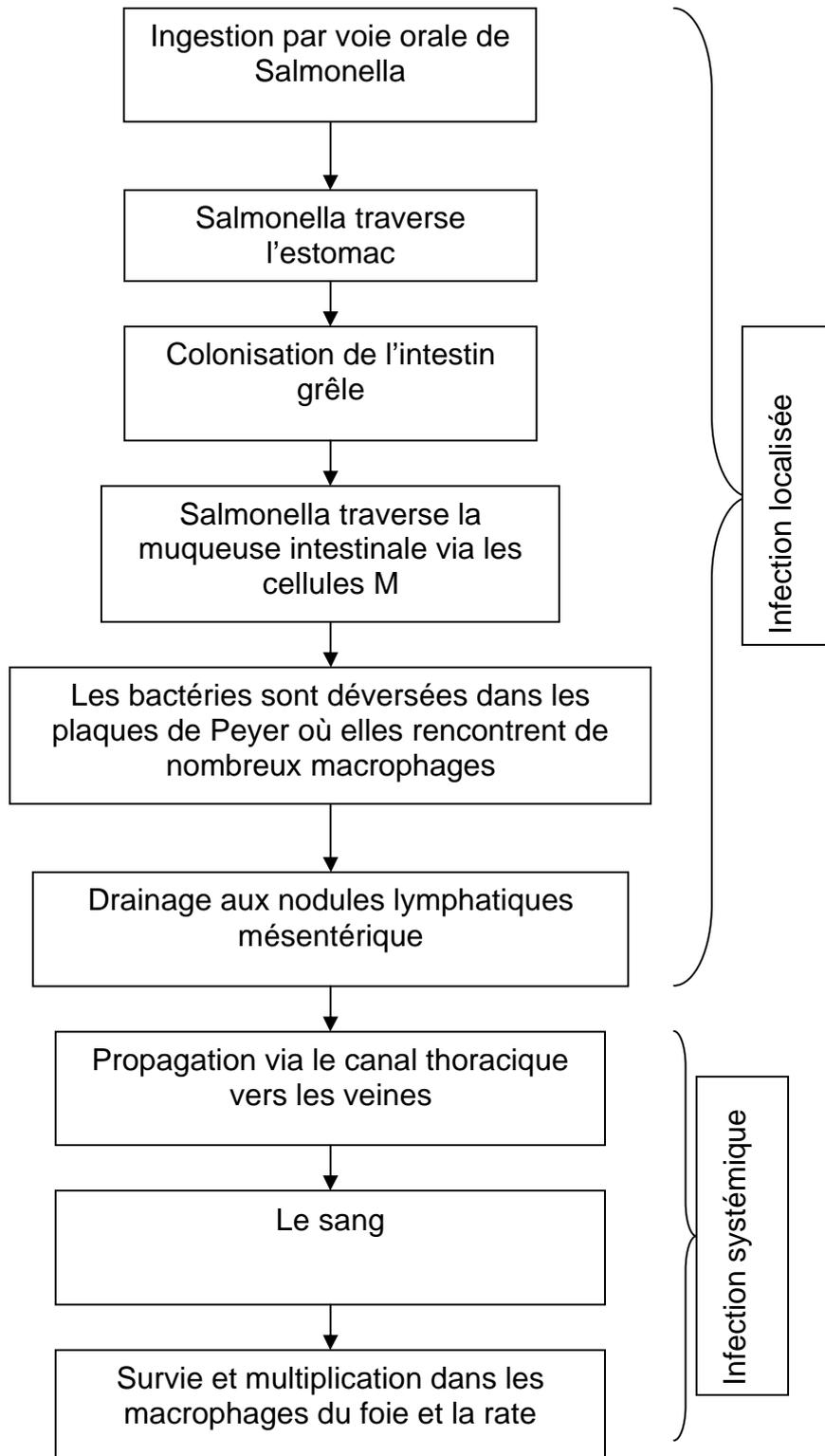
D'après (ADJIDE CC et al, 1998) le diagnostic des salmonelles non typhiques repose essentiellement sur la coproculture. Cependant, les formes systémiques sont diagnostiquées par la coproculture et/ou l'hémoculture et l'analyse bactériologique de liquide céphalo-rachidien (LCR) (F.AILAL et al, 2004).

#### **11.1.2. Hémoculture :**

Elles sont faites de préférence lors des ascensions thermiques. Il est souhaitable que chaque prélèvement recueille environ 10 ml de sang car le nombre de corps bactériens par ml de sang est souvent faible au cours des fièvres typhoïdes, les prélèvements peuvent être répétés plusieurs fois au même jour (L Le MINORD et al 1982).

La réalisation ne pose pas de problèmes techniques : les *Salmonella* poussent sur milieux nutritifs liquides (bouillon) ou des tubes semisolides (gélose molle), on ensemence 2ml de sang dans un tube, il faut ensemencer plusieurs. Une fois le bacille mobile est soupçonné, on procède aux examens biochimiques essentiels pour confirmer le diagnostic des *Salmonella* puis analyse antigénique pour identifier le sérotype (J AVRIL, 1988).

L'hémoculture surtout utile lors des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Pendant le premier septénaire, elle est positive dans 90% des cas, le taux de positivité tombe à 40% pendant le troisième septénaire (F. AILAL et al 2004).



**Figure (9) :** Les étapes de l'infection à *Salmonella* Typhimurium chez la souris (BAUMLER et al, 2000).

L'hémoculture peut être positive lors d'entérites du jeune enfant. Sa positivité est exceptionnelle dans les entérites de l'adulte et toxi-infection alimentaires.

### **11.1.2. La coproculture : (L Le MINORD et al 1982. J AVRIL et al, 1988)**

#### **b. Indication :**

- Une coproculture doit être pratiquée dès que l'on suspecte une infection à *Salmonella*.
- Au cours de fièvre typho-paratyphoïde, elle reste plus longtemps positive que l'hémoculture.
- Au cours des entérites et des toxi-infections alimentaires, la coproculture est positive alors que les hémocultures restent négatives.
- Après un traitement, la coproculture permet de vérifier que le malade ne reste pas porteur sain. L'élimination des *Salmonella* pouvant être intermittente, il y a donc lieu de faire deux coprocultures à une semaine d'intervalle.
- Une coproculture systématique annuelle est préconisée pour les personnes employées dans des cuisines ou dans une industrie alimentaire.

#### **b. Technique :** (J AVRIL et al, 1988)

Au cours des salmonelloses l'excrétion des germes dans les selles peut être faible. De plus les *Salmonella* sont en nombre inférieur à des espèces commensales : *Escherichia coli* et *proteus*. Pour les isolées, il faut donc, utiliser à la fois des milieux d'enrichissement et des milieux sélectifs.

**L'arrivée du prélèvement :** un milieu d'enrichissement et un milieu sélectif sont ensemencés. Un très grand nombre de milieux ont été proposés, notamment pour la bactériologie alimentaire. Les plus utilisés :

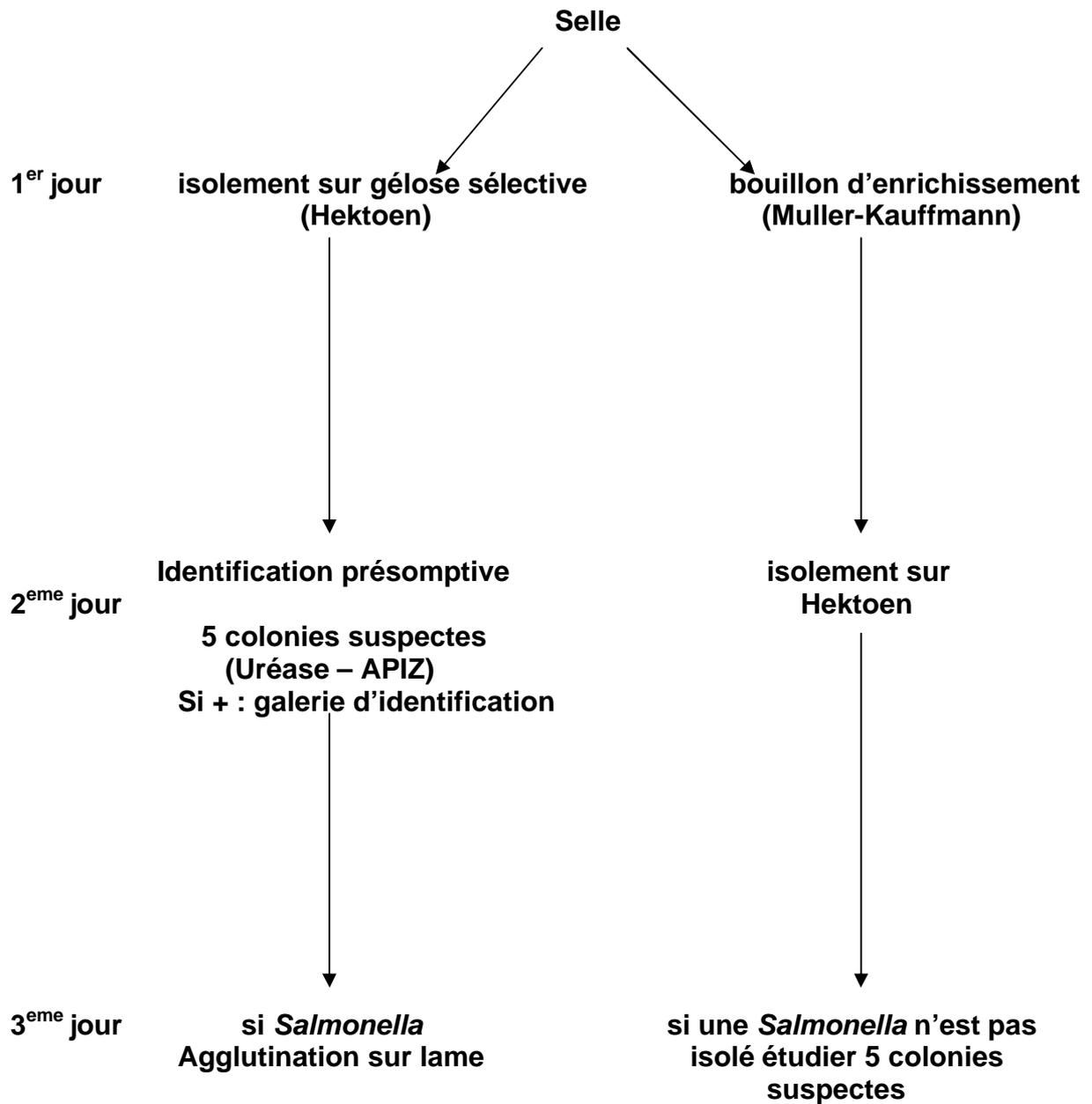
#### **-Milieux d'enrichissements :**

Ils permettent à l'aide d'antiseptique sélectif inhibant les autres bactéries d'accroître la proportion de *Salmonella*. Un bouillon de MÜLLER-KAUFFMANN au tétrathionate ou bouillon au sélénite de sodium sont ensemencés et repiqués après une incubation de 18 heures à 37C°.

#### **-Milieux sélectifs :**

Ces milieux gélosés contiennent des antiseptiques, des sels biliaires qui empêchent la croissance de certaines espèces bactériennes et inhibent l'envahissement par les *proteus*. Ils permettent de repérer les colonies suspectes par fermentation de certains sucres (lactose) et la production d'H<sub>2</sub>S. La gélose Hektoen est généralement préférée au milieu SS (*Salmonella-Shigella*)





**Figure (10) : ISOLEMENT DES Salmonella PAR LA COPROCULTURE**  
(J AVRIL et al, 1988)

**Le deuxième jour :** après incubation de ces milieux à 37C°

-le milieu d'enrichissement est repiqué sur un milieu sélectif qui sera examiné le lendemain.

-cinq colonies suspectes (lactose – et H<sub>2</sub>S +), repérées sur le milieu sélectif ensemencé la veille, sont l'objet d'une caractérisation biochimique puis, si les caractères sont ceux d'une *Salmonella* d'une identification précise on procède au sérotypage.

### **11.3. Autres prélèvements :**

- dans la bile la recherche des *Salmonella* se fait de façon analogue à la coproculture. Dans les autres produits pathologiques, urine, pus divers, la présence d'une *Salmonella* est généralement une découverte fortuite du laboratoire (L Le MINORD et al 1982)

## **12. DIAGNOSTIC INDIRECT :( le sérodiagnostic de Widal et Félix) :**

Il n'est utile que pour le diagnostic des fièvres Typhoïdes et paratyphoïdes A. B. C et est sans intérêt pour les autres salmonelloses (M LALANDE et al, 2005).

Il est indiqué lorsque le malade est vu tardivement ou s'il a bénéficié d'une antibiothérapie. Il permet de rechercher les anti-O et anti-H dans le sérum, mais à cause des nombreuses erreurs et de l'interprétation délicate, il se fait toujours en association avec la coproculture (L Le MINORD et al, 1989. J AVRIL et al, 1988)

## **13. PRONOSTIC :**

En général le pronostic est bon chez les enfants (T.L. HALE, 1991). D'après (F.AILAL et al, 2004) l'évolution est favorable avec guérison sans séquelles dans 80% des cas malgré la présence des complications des méningites. Par ailleurs la mortalité peut être de 15% surtout chez les nourrissons de moins de six mois, et des formes graves (W. FIERS et al, 1999).

## **14. TRAITEMENT :**

Dans la plupart des cas *salmonella enterica* provoque chez l'homme une gastro-entérite qui ne nécessite pas une thérapie spécifique, cependant la survenue de cette maladie chez les immunodéprimés et les petits enfants ainsi les manifestations extra-digestives nécessite un traitement adapté (GENDREL D et al, 2003).

Ainsi parmi les 1726 cas décomptés de TIAC en France (2001) 15,80% ont nécessité une hospitalisation (HAEGHEBAERT S et al, 2002)

Le traitement est d'abord symptomatique avec rétablissement de l'état hémodynamique en cas de collapsus et réhydratation intraveineuse en cas de déshydratation (F.AILAL et al, 2004).

Selon (P.L. CLERC et al, 1987) le traitement antibiotique est réservé ou systématique aux nourrissons moins de 6 mois (SANSONETTI et J. MOUNIER, 1987) suggèrent que l'antibiothérapie est préconisée pour les immunodéprimés et lors de septicémie ; enfants atteints de localisation extra-digestive et aux fièvres typhoïdes. Par ailleurs M. LALANDE et collaborateurs (2005) proposent que le traitement doive être discuté dans certaines formes cliniques (diarrhée sanglante de plus 24 heures, fièvre élevée prolongée, douleur abdominales sévères...).

D'après (F.AILAL et al, 2004) l'antibiotique idéal doit présenter une bonne diffusion tissulaire, une bonne pénétration des macrophages, se trouve en concentration importante et prolongée au site de l'infection, antibiotique doit être efficace sur les bactéries en phase de

croissance et surtout en phase de quiescence. Ainsi les Céphalosporines de troisième génération et les Fluoroquinolones malgré leur bonne diffusion tissulaire et excellente activité bactéricide doivent rester des traitements réservés aux salmonelloses multirésistantes ou de gravité particulière (SANSONETTI et J. MOUNIER, 1987). Selon, (CARBON C, 1990. GUILLEMOT D et al, 1992) les Céphalosporines de troisième génération et les Fluoroquinolones répondent à la plupart de ces exigences, mais ils sont malheureusement limités par leurs toxicités articulaires en pédiatrie, par ailleurs OMS (organisation mondiale de la santé) recommande de réserver l'utilisation des Fluoroquinolones en médecine humaine (BRUNO SOULLIE et al 2003).

### **15. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES :**

Actuellement les études internationales mettent l'accent sur l'augmentation rapide des salmonelles multirésistantes aux antibiotiques (P.J. SANSONETTI et al, 1981) notamment par dissémination du phage TD 104 en France. Selon OLIVIER (2001) l'augmentation récente de la proportion des *salmonella* Typhimurium résistantes aux antibiotique est plus inquiétante, (WE KEENE, JAMA, 1999) rapportent que l'utilisation des antibiotiques dans des fermes d'élevage est à l'origine ou facteur de croissance des résistances une pratique condamnée par OMS, ainsi la pression de sélection des antibiotiques exercée au niveau du tub digestif favorise l'émergence des souches résistantes (F.AILAL et al, 2004).

D'après (THRELFALL E.J et al, 1997) *Salmonella Typhimurium* possède une <<pentarésistance>> caractéristique (Ampicilline, Chloramphénicol, Streptomycine, Sulfamides Tétracycline). Toutefois le taux de résistance de *Salmonella Enteridis* et *Salmonella Typhimurium* est respectivement de 7 et 62% pour Chloramphénicol, 7 et 64% pour Ampicilline, 3 et 12% pour le Triméthoprime-sulfaméthoxazole contre 2 et 10% pour Céphalosporines de troisième génération et seulement de 0 et 1% pour la Fluoroquinolone (O.J. PERDOMO et al, 1994).

Cependant, (M. LALANDE et al, 2005) confirment la disparition nette des taux de *Salmonella Enteridis* et *Salmonella Typhimurium* résistantes pour la Pénicilline A.

### **16. ASPECT EPIDEMIOLOGIQUE**

Les salmonelles non typhoïdes représentent un problème de santé publique aussi bien dans les pays développés que dans le pays en voie de développement (BOUVET E et HUBERT B

1992). Depuis quelques années le nombre de cas de salmonelloses en France ne cesse d'augmenter (BOUVET PJM, GRIMONT, 1999).

Selon l'OMS il existe 2213 souches ou sérotypes de *salmonella* 17 millions de cas salmonellose dans le monde avec 600000 de décès chaque année (OMS, 1997), 15• des salmonelloses sont mortelles (LEE WS, PUTHUCHEARY, 2000).

Selon (THABET L, KAABACHI O et al, 2001. ADJIDE CC et al, 1998) elles sévissent à l'état endémique avec des épidémies essentiellement dans des périodes estival.

## **16. 1 FACTEURS PREDISPOSENT DES SALMONELLOSES**

### **16.1.1 Facteurs intrinsèques aux malades :**

#### **16.1.1.1. L'âge :**

Selon (BENNESON AS, CHIN J, 2001) les salmonelloses sont en recrudescence aux Etats-Unis, les infections touchant toutes les tranches d'âge notamment les enfants. La moyenne d'âge chez ces derniers est inférieure à cinq ans (HUANG TC, LEU HH, 1993).

#### **16.1.1.2. Le statut immunitaire :**

L'immunodéprimé congénital ou acquise essentiellement cellulaire est un facteur prédisposant à la bactériémie (ASTRUC J, RODIERE M, 1992). Le sida multiplie les fréquences des méningites à *salmonella* non typhi par sept (7) au Malawi (MOLYNEUX EM, 2000. ALIAGA L, 1997) chez ces malades il y a pauvreté des manifestations digestives (immunitaires) et une fréquence élevée de récides (COLOQUE PHARMUKA, 1992).

Cependant, (LEE SC, YANG PH, 1994. RUIZ M, RODRIGUEZ JC, 2000) confirment que le terrain immunodéprimé ou une pathologie sous-jacente est un facteur de risque habituellement admis surtout chez l'adulte, et les enfants (LEE WS, PUTHUCHEARY, 2000)

#### **16.1.1.3 L'antibiothérapie :**

Selon, (F. AILAL et al 2004) la prise d'antibiotique serait un facteur prédisposant à la bactériémie, cela rapporté d'une étude aux Etats-Unis (ZAIDI E et al, 1999) sur 144 cas de bactériémie *salmonella* non typhi, et qu'avait permis de montrer la persistance de la bactériémie est essentiellement lieu à la prise d'antibiotique soit avant l'hospitalisation (34•) ou (52•) dès l'admission à l'hôpital, contre (31•) pour les malades qui ont pas subi une attribution lors de l'admission.

Toutefois, la prise d'antibiotique un mois avant l'infection à *salmonella* semble être un facteur de risque à développer la maladie par altération de tube digestif (MILLER CP, BOHNHOFF M, 1963. PAVIA AT, SHIPMAN LD al, 1990). Par ailleurs, la prise d'antibiotiques n'est pas un facteur de risque retenu par toutes les études (DELAROCQUE-ASTAGNEAU E et al, 1998)

### **16.1.2 FACTEURS EXTRINSEQUES AUX MALADES :**

#### **16.1.2.1 La virulence de germe :**

Les *Salmonella* typhoïde et paratyphoïde induisent des formes systémiques et graves (M LALANDE et al, 2005), par contre les salmonelles non typhoïdes la majorité provoquent des formes digestives plus ou moins graves la dose infectante dépend de la souche de *Salmonella* en question (F AILAL et al, 2004)

#### **16.1.2.2. Le type d'aliment :**

Selon (DELAROCQUE-ASTAGNEAU E et al, 2000) les sources de contamination est la viande hachées, le fromage (DE VALK H et al, 2000), poulet (CHAUD P et al, 1995), les œufs (HEDBERG CW, 1993), ces aliments sont largement consommés.

Selon une étude Française (1999) les œufs et les ovo produits étaient incriminés dans 67• des cas, suivi des viandes et volaille 18• , puis poisson et fruits de mer 6• .

#### **16.1.2.3. Raisons sociales :**

Selon, (L Le MINORD et al, 1982. F. ALIAL et al, 2004) la majorité des salmonelles sont rencontrées dans des collectivités (crèches, camps de réfugié, asile psychiatrique, maison de retraite, cantines scolaires).

Cependant les cas familiaux (au moins deux personnes présentant des troubles digestifs) ne sont pas rares et surviennent le plus souvent après partage d'un repas contaminé, la notion de contamination trans familiale ou toxi-infection alimentaire n'est pas toujours aisé à préciser et n'a pas pu être recueilli malgré le rôle clé des salmonelles (HAEGHEBAERT S et al, 2001). Toutefois les cas familiaux qui se succèdent dans le temps, orientent plutôt vers une transmission manu portée de personne à personne (DUPONT HL. 1991), c'est également la

voie de contamination incriminée dans les cas d'infections chez le nourrisson alimentés exclusivement par un lait artificiel (M. LALANDE et al, 2005).

**16.1.2.4 La saison :**

Selon, (F.AILAL et al, 2004) et (M. LALANDE et al, 2005) la majorité des infections à *salmonella* sont observées durant la saison chaude (juin – octobre). Les salmonelles sévissent en état endémique et épidémique essentiellement en période estivale (THABET L et al, 2001) (MAINARDI L, GOLDSTEIN. W, 2002).



# PARTIE EXPERIMENTALE

## LE PLAN

### **INTRODUCTION :**

### **A. MATERIEL ET METHODES**

### **METHODOLOGIE DE RECHERCHE DES SALMONELLES ET DES SHIGELLES LORS DE DIARRHEE**

- 1. Identification des prélèvements et anamnèse:**
- 2. Période et méthode de prélèvement:**
- 3. Collecte des prélèvements en fonction de l'âge des patients :**
- 4. Techniques de prélèvement**
- 5. Isolement et identification :**

#### **5.1. Méthodes d'isolement des *Shigella* :**

- 5.1.1. La coproculture (isolement):**
- 5.1.2. Examens biochimiques (identification):**
- 5.1.3. Confirmation sérologique :**
- 5.1.4. Conclusion :**

#### **5. 2. Méthodes d'isolement des Salmonelles :**

- 5.2.1. La coproculture (isolement):**
- 5.2.2. Examens biochimiques (identification):**
- 5.2.3. Confirmation sérologique :**
- 5.2.4. Conclusion :**

## **INTRODUCTION :**

Notre étude pratique comporte une partie expérimentale, et une partie d'investigation auprès des médecins des hôpitaux, et des structures sanitaires étatiques.

**La partie expérimentale** a consisté :

- recenser les malades diarrhéiques, selon leur âge, interne ou externe,
- prélever des échantillons de selles.
- isolement et identification des shigelles et salmonelles.

**La partie de l'investigation** elle se repose sur l'étude d'un questionnaire (un spécimen est présenté à l'annexe) distribué aux prés des médecins traitants, des hôpitaux (CHU de Tizi-Ouzou, hôpital de Bordj-Menaïel), secteurs sanitaires de quelques communes de Tizi-ouzou.

L'investigation contribue à l'étude des facteurs prédisposant des Salmonelloses et Shigelloses ; l'âge, sexe, saisons, les zones les plus touchées, les moyens de diagnostic, la conduite à tenir, recommandation.

### **Objectifs**

Recensement des cas de diarrhées au CHU de Tizi-Ouzou

Effectuer des prélèvements de selles sur des malades qui présentent des diarrhées.

Isolement des salmonelles et des shigelles au laboratoire de CHU de Tiz-Ouzou

Identification biochimique des salmonelles et des shigelles.

Recherche des facteurs intervenant dans la prévalence de ces infections par des

enquêtes effectuées aux prés des médecins traitants.

L'analyse de profil épidémiologique des salmonelloses et des shigelloses.

Comparée cette étude avec d'autres études, tout en relevant les différences.



## A. Matériels et méthodes :

### METHODOLOGIE DE RECHERCHE DES SALMONELLES ET DES SHIGELLES LORS DE DIARRHEE

L'étude expérimentale a été réalisée au C H U de Tizi Ouzou, elle a consisté à effectuer des prélèvements de selles de malades présentant une diarrhée, et d'isoler (coproculture) et identifier des bactéries responsables.

#### 1. Identification des prélèvements et anamnèse:

- La liste des patients regroupe des malades en majorité hospitalisés (internes) et des malades externes.

**Les renseignements collectés au cours de l'anamnèse sont transcrits sur le registre. Ils identifient :**

- Nom et Prénom.
- Age.
- Service demandeurs de l'analyse.
- Date.
- Sexe.

#### 2. Période et méthode de prélèvement:

Les prélèvements ont été effectués de **21 Octobre 2006** au **27 Octobre 2007** chez tous les patients souffrants de diarrhée

**1209** prélèvements de selles de 1209 patients ont été réalisés. Seuls **957** prélèvements ont été analysés, les autres étaient écartés pour cause des anomalies ; des contaminations, échantillons mal conservés, qui dépassent 6 à 8 heures, échantillons non identifié ou effectués par une personne non qualifiée...etc.

#### 3. Collecte des prélèvements en fonction de l'âge des patients :

La collecte des prélèvements a été effectuée chez cinq tranches de la population et orientée en fonction des différents services de l'hôpital : néonatal, pédiatrie1, pédiatrie2, infectieux.

- **3 ans.**

**De 3 à 15 ans.**

**De 15 à 40 ans.**

**De 40 à 60 ans.**

**> 60 ans.**

Cette répartition est en fonction des différents services de l'hôpital ; néonatal, Pédiatrie1, Pédiatrie2, Infectieux.

#### **4. Techniques de prélèvement**

-Pour les patients internes : les prélèvements ont été réalisés par le personnel de l'hôpital de chaque service (Pédiatrie, Infectieux...)

- Pour les patients externes : les prélèvements ont été réalisés au niveau de laboratoire, dans la salle des prélèvements.

Les selles fraîchement prélevées ont été récoltées dans des flacons en plastiques, stériles, à usage unique, fournis par l'Institut Pasteur d'Alger

#### **-Identification :**

Le Nom et Prénom, le numéro d'échantillon, la date de prélèvement sont reportés sur le flacon.

#### **5. Isolement et identification :**

L'analyse bactériologique a consisté en un isolement par la coproculture et une identification par des examens biochimiques et par confirmation sérologique. Les méthodes d'analyses ont consisté en un isolement par la coproculture. L'identification a été réalisée à l'aide des tests biochimiques ; le TSI ou Kligler, réaction de l'uréase sur milieu à l'urée de Christensen, utilisation de LDC (lysine-décarboxylase). La Confirmation : elle se fait par analyse antigénique, agglutination sérologique sur lame : (réalisée par le personnel de laboratoire de CHU de Tizi-Ouzou).

**5.1. Méthodes d'isolement des *Shigella* :**

**5.1.1. La coproculture (isolement):**

L'ensemencement d'une noisette de selles se fait directement sur un milieu de culture sélectif : la gélose HEKTOEN utilisant un bec benzène, une anse de platine, des boîtes de pétri.

Les boîtes de pétriensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h et/ou 48 heures

Après incubation, il y'a suspicion de *Shigella* lors de développement de colonies vertes tandis que l'apparition de colonies vertes ou bleues avec un centre noir permettent de suspecter des salmonelles. Une confirmation de l'appartenance à ces pathogènes est réalisée à partir de tests biochimiques.

**5.1.2. Examens biochimiques (identification):**

Cinq colonies suspectes sont prélevées et soumises à confirmation après plusieurs étapes décrites ci-dessous.

**Sur le TSI (Triple Sugar Iron) ou le milieu de KIA (Kligler Hadjana).**

Ensemencer sur la gélose et en profondeur et sur la pente à l'aide de l'anse de platine. Dévisser les bouchons des tubes et incuber 18 à 24 heures à 37 C°.

La lecture des tubes est réalisée comme suit ::

Si :

-Glucose + (coloration jaune de culot)	} Présence de shigelles
-Lactose – (coloration rouge de la pente)	
-H <sub>2</sub> S – (absence de coloration noire)	

**Réaction de l'Uréase sur milieu à l'Urée de Christensen :**

L'ensemencement est réalisé sur toute la surface de la pente du milieu suivi d'une incubation à 37°C pendant 18 heures. Le milieu ne change pas de couleur (jaune-rose) ; les *Shigella* sont Uréase –

**Réaction de la lysine-décarboxylase (LDC) :**

L'ensemencement est réalisé sur le fond et sur toute et sur toute la surface de la pente. Après incubation 18 – 24 heures à 37 C°. L'apparition d'une pente violette et d'un culot jaune sans gaz ni H<sub>2</sub>S (les shigelles sont LDC-) sauf *sonnei*

**5.1.3. Confirmation sérologique :**

La sérologie fait appel à une agglutination sur lame : (réalisée par le personnel de laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou).et utilisation des anti-sérums polyvalents de *Shigella*; anti-sérum A, anti-sérums B, anti-sérums C, anti-sérums D, qui traduisent respectivement la présence de *Shigella dysenterae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei* (identification des souches).

Pour identifier le sérotype responsable il faut utiliser les anti-sérums monovalents ; malheureusement on l'a pas fait dans cette étude (faut des antisérums)

**Technique :**

Préparation d'une lame propre, de l'antisérum polyvalent, une anse de platine, une aiguille d'inoculation, une suspension salée d'eau physiologique.

- Déposer deux gouttes de la suspension sur la lame.
- Une petite partie d'une colonie est prélevée à partir du TSI.
- Emulsionner les deux gouttes avec la culture et ajouter une goutte de l'antisérum A sur l'émulsion.
- Une agglutination apparaît au bout de 30 secondes à une minute si positive
- Si négatif ; le test est renouvelé avec chacun des sérums : anti-sérum B, puis C, puis D .

**5.1.4. Conclusion :**

L'interprétation des résultats biochimiques et ceux de l'agglutination permettent de confirmer la présence de *Shigella*. Lors d'une agglutination négative et de tests biochimiques présomptifs. Il est recommandé d'envoyer les souches au laboratoire de l'Institut Pasteur d'Alger.

## 5. 2. Méthodes d'isolement des Salmonelles :

### 5.2.1. La coproculture (isolement):

L'ensemencement d'une noisette de selles se fait directement sur un milieu de culture sélectif : la gélose HEKTOEN utilisant un bec benzène, une anse de platine, des boites de pétri.

Les boites de pétri ensemencées sont incubés à 37°C pendant 24h et/ou 48 heures

Après incubation, il y'a suspicion des *Salmonella* lors de développement de colonies vertes ou bleues avec un centre noir. Une confirmation de l'appartenance à ces pathogènes est réalisée à partir de tests biochimiques.

#### a. Enrichissement :

Il se fait en parallèle avec la coproculture.

Une étape d'enrichissement du prélèvement (une noisette de selles) est réalisée dans du bouillon sélénite-cystine incubé à 37°C pendant 24 heures.

### 5.2.2. Examens biochimiques (identification):

#### Sur le TSI (Triple Sugar Iron) ou le milieu de KIA (Kligler Hadjana).

Cinq (5) colonies présomptives sont prélevées et ensemencées sur une gélose **TSI** ou sur le **milieu de Kligler** en profondeur et sur la pente à laide de l'anse de platine et incubé (18 à 24 heures à 37 C°).

Si :

-lactose – (coloration rouge de la pente).

-H<sub>2</sub>S + (de coloration noire).

-fermentation de glucose avec production de gaz

} Il y'a présence de *Salmonella*

**Réaction de l'Uréase sur milieu à l'Urée de Christensen :**

La colonie est ensemencée sur toute la surface de la pente et incubée pendant 18 heures à 37 C°. Le milieu ne change pas de couleur (jaune-rose) lors de présence de *Salmonella* (les *Salmonella* sont Uréase –)

**Utilisation de la lysine-décarboxylase (LDC) :**

La technique consiste à ensemencer sur le fond, et sur toute la surface de la pente la gélose et à l'incuber pendant 18 – 24 heures à 37 C°. Le milieu prend une couleur rouge sur la pente, ou violette pour tout le tube avec production du gaz et de H<sub>2</sub>S qui se traduit par noircissement de milieu (les salmonelles sont LDC+)

**5.2.3. Confirmation sérologique :**

Comme pour *Shigella*, une agglutination sur lame réalisée par le personnel de laboratoire de CHU de Tizi Ouzou est effectuée en utilisant des anti-sérums polyvalents O de *Salmonella*, appelés OMA, OMB. Après l'agglutination dans l'un des ces sérums, on teste les sérums monovalents pour déterminer le groupe sur le Tableau de Kauffmann-White.

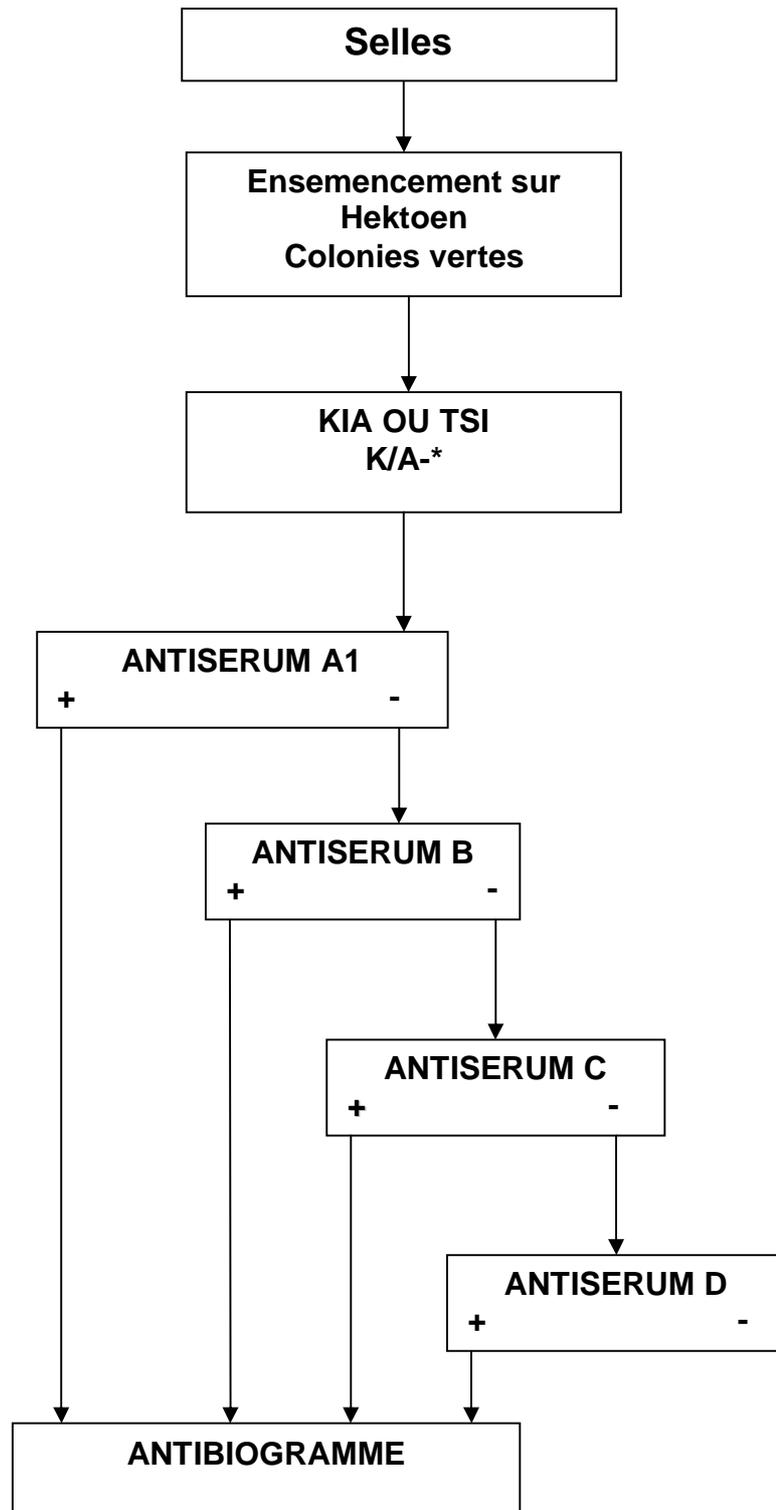
**Technique :**

La technique consiste à préparer une lame propre, de l'anti-sérum polyvalent, une anse de platine et une suspension salée d'eau physiologique.

- déposer deux gouttes de la suspension sur la lame.
- on prend une petite partie d'une colonie sur le TSI ou Kligler.
- ajouter les deux gouttes avec la culture et ajouter une goutte de l'antisérum OMA et mélanger en inclinant la lame d'un coté puis de l'autre pour observer l'agglutination en 30 secondes à une minute.
- Lors d'agglutinations négatives, recommencer avec l'antisérum OMB.
- Confirmer l'identification à partir du tableau de Kauffmann-White

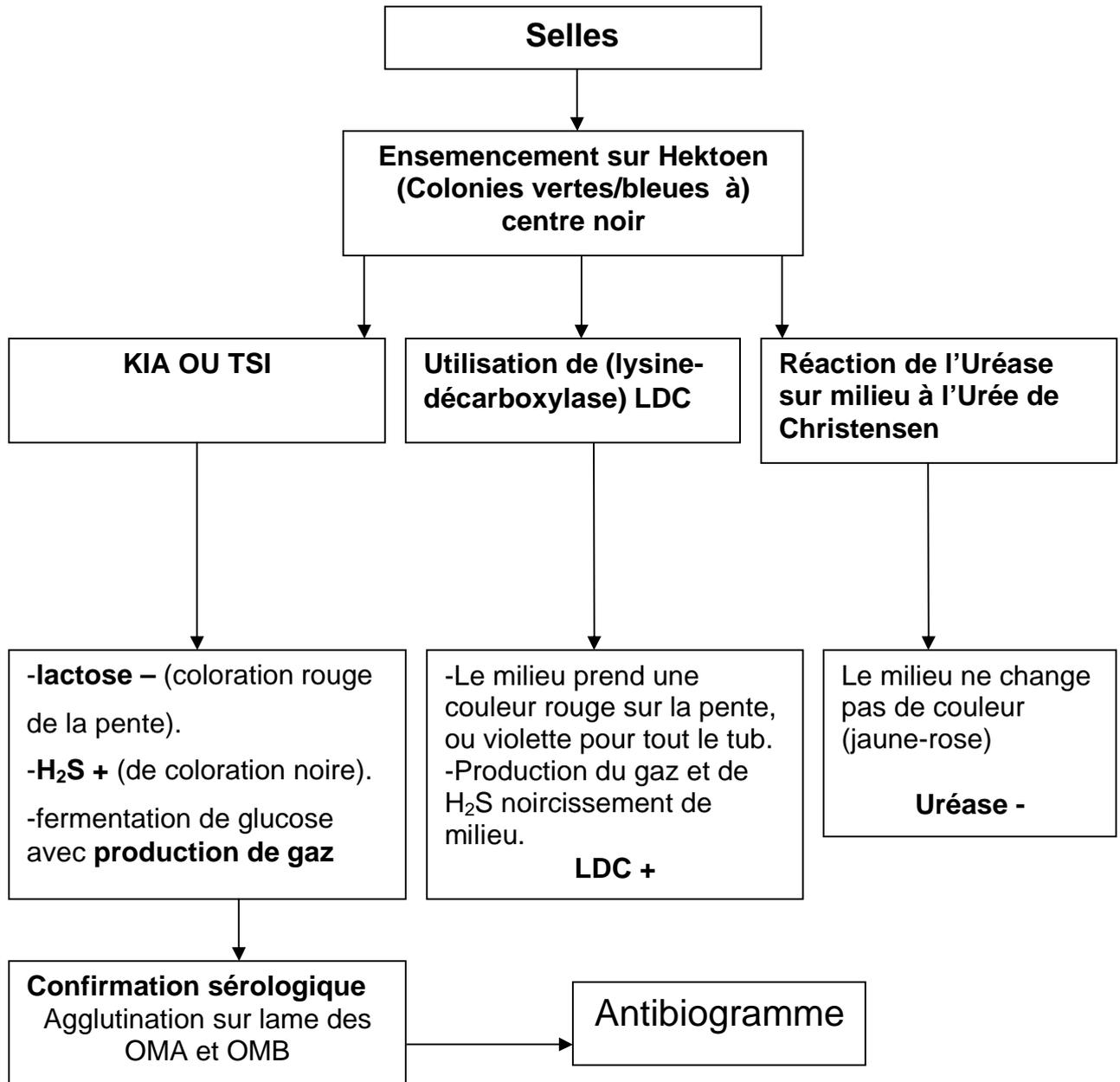
**5.2.4. Conclusion :**

Si l'agglutination est en accord avec les résultats biochimiques, il y'a confirmation de *Salmonella*. Si les résultats d'agglutination sont négatifs, il est recommandé d'envoyer les souches au laboratoire de l'Institut Pasteur d'Alger.

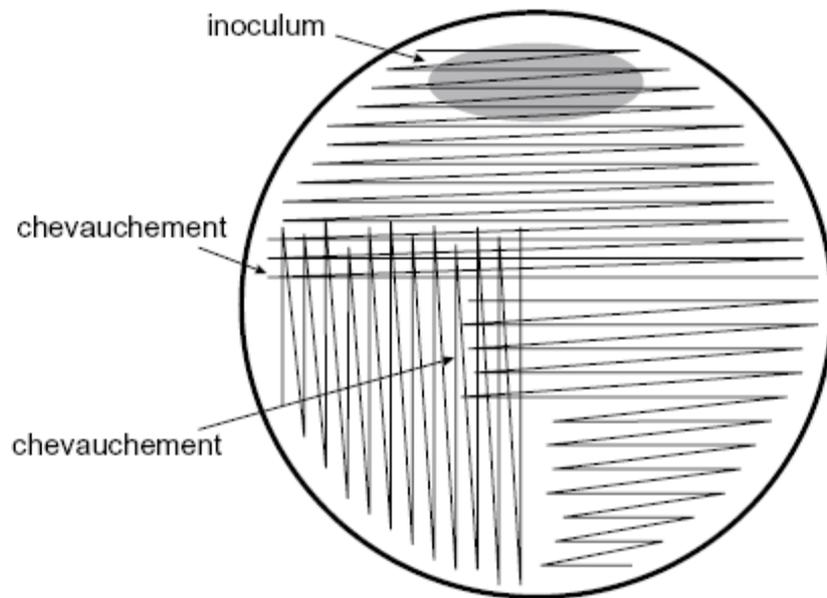


K : alcalin (rouge) ; A : Acide (jaune) ; - : pas de production de H<sub>2</sub>S

**Figure (11) :** Procédure d'isolement de *Shigella* à partir des selles (personnelle).



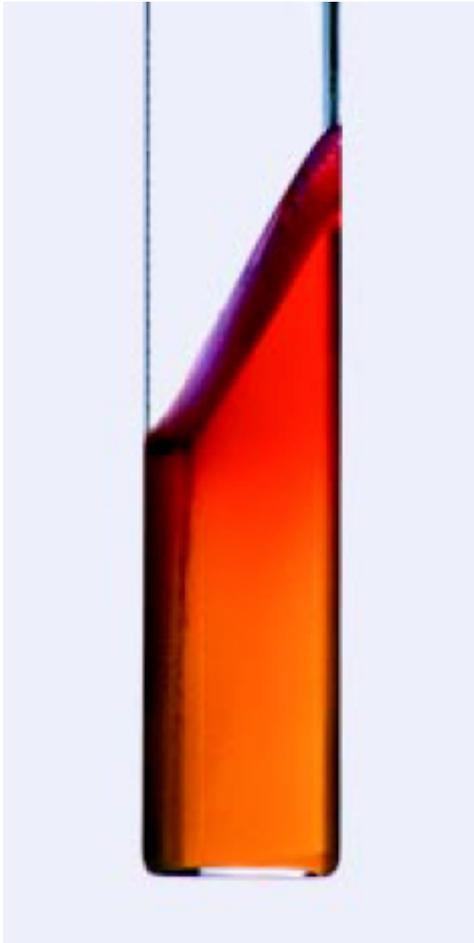
**Figure (12) :** Procédure d'isolement de *Salmonella* à partir des selles (personnelle).



**Figure (13)** Méthode d'ensemencement d'une boîte pour l'isolement de *Shigella* (personnelle).

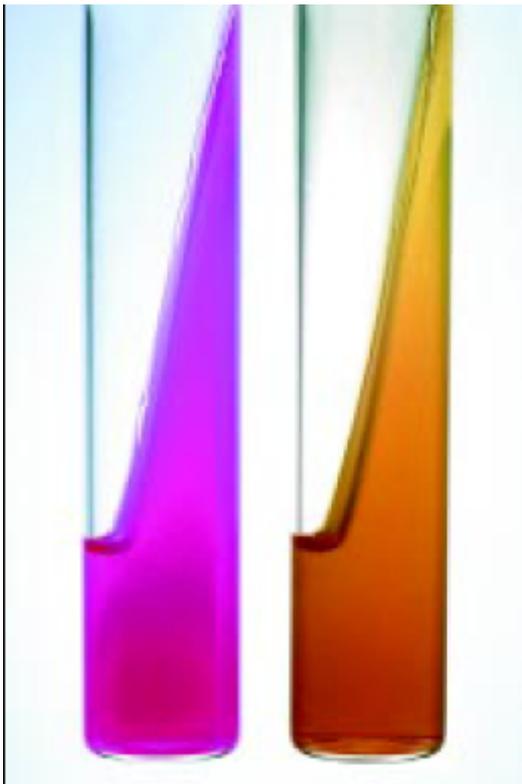


**Figure (14)** Colonies de *Salmonella* sur Hektoen



***Figure (15)*** Réaction typique de souches de *Shigella* sur KIA (pente alcaline et culot acide)

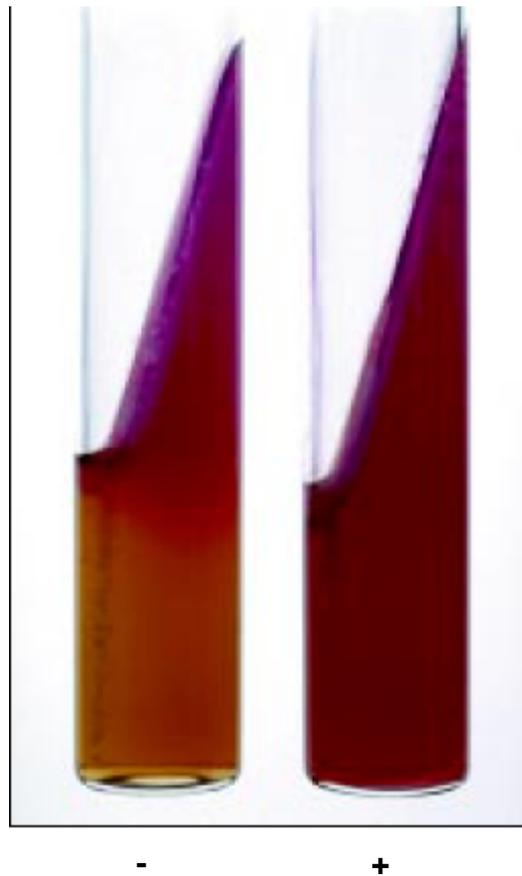
-



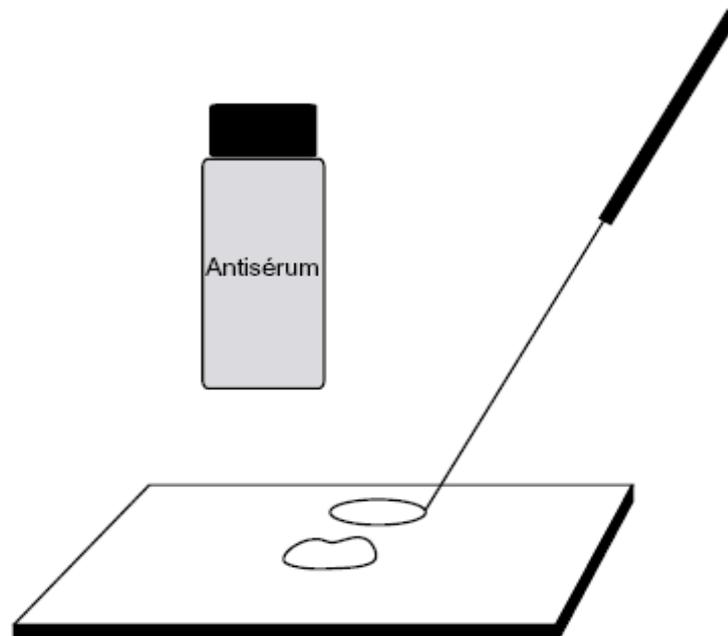
***Figure (16)*** Une couleur rose apparaît dans la réaction positive de l'Uréase (tube de gauche)

+

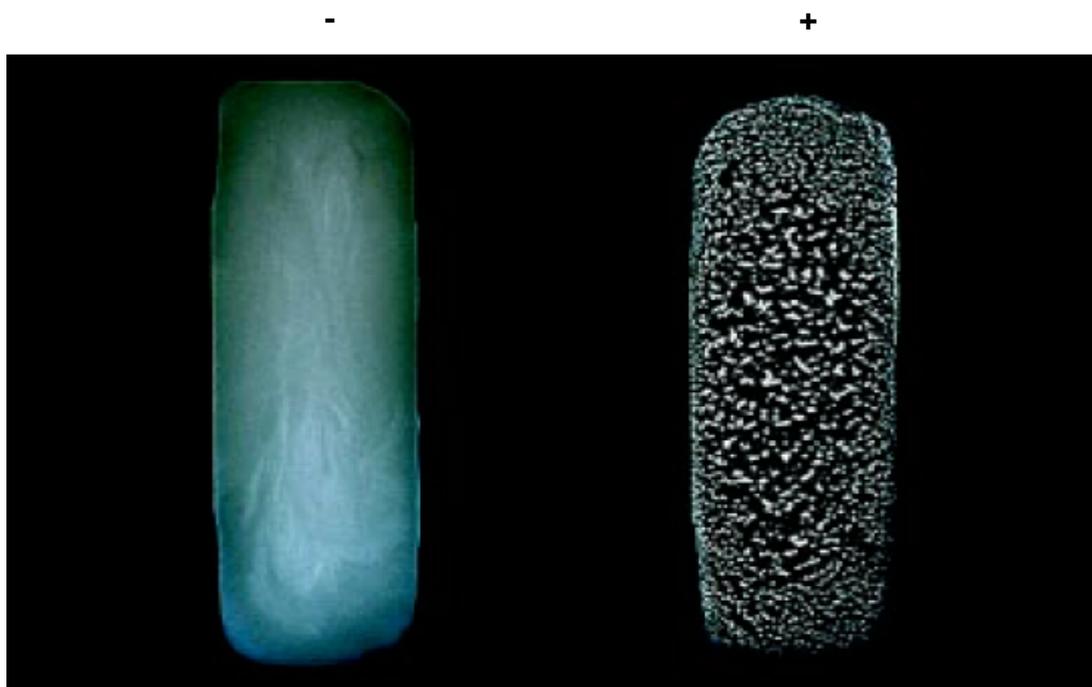
-



***Figure (17)*** Les organismes positifs pour la Lysine Décarboxylase produisent une couleur violette sur l'ensemble de la culture LIA (tube de droite). Les organismes négatifs pour la lysine produisent une couleur jaune (acide) dans le culot du tube (tube de gauche).



***Figure (18)*** Une anse sert à déposer de petites quantités d'antisérum pour des tests d'agglutination sur lame.



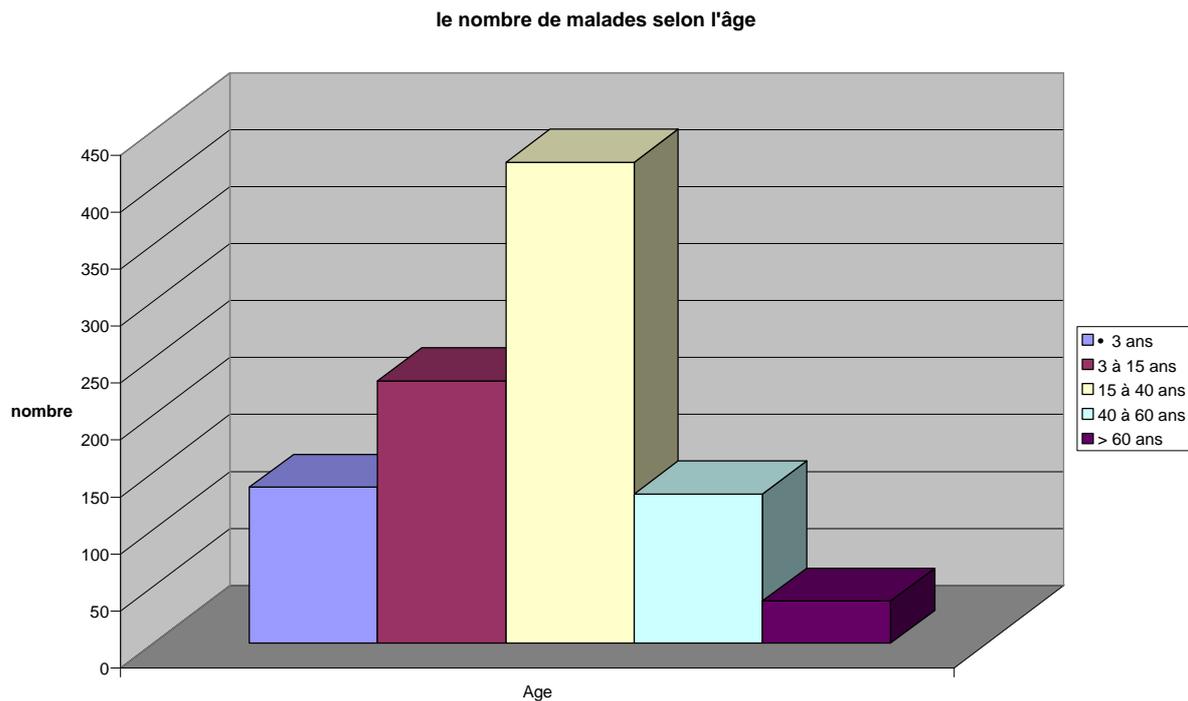
***Figure (19)*** Les sérums anti- Shigella vont agglutiner les souches du même Sérogroupe/sérotype (Droite). La solution salée n'agglutine pas les Shigella (Gauche).

## B. ANALYSE DES RESULTATS DE LA RECHERCHE DES SHIGELLES ET SALMONELLES

### 1. Le nombre des malades diarrhéiques selon l'âge Tableau (5):

Les classes d'âge	Le nombre des malades
• 3 ans	137
3 à 15 ans	230
15 à 40 ans	422
40 à 60 ans	131
> 60 ans	37

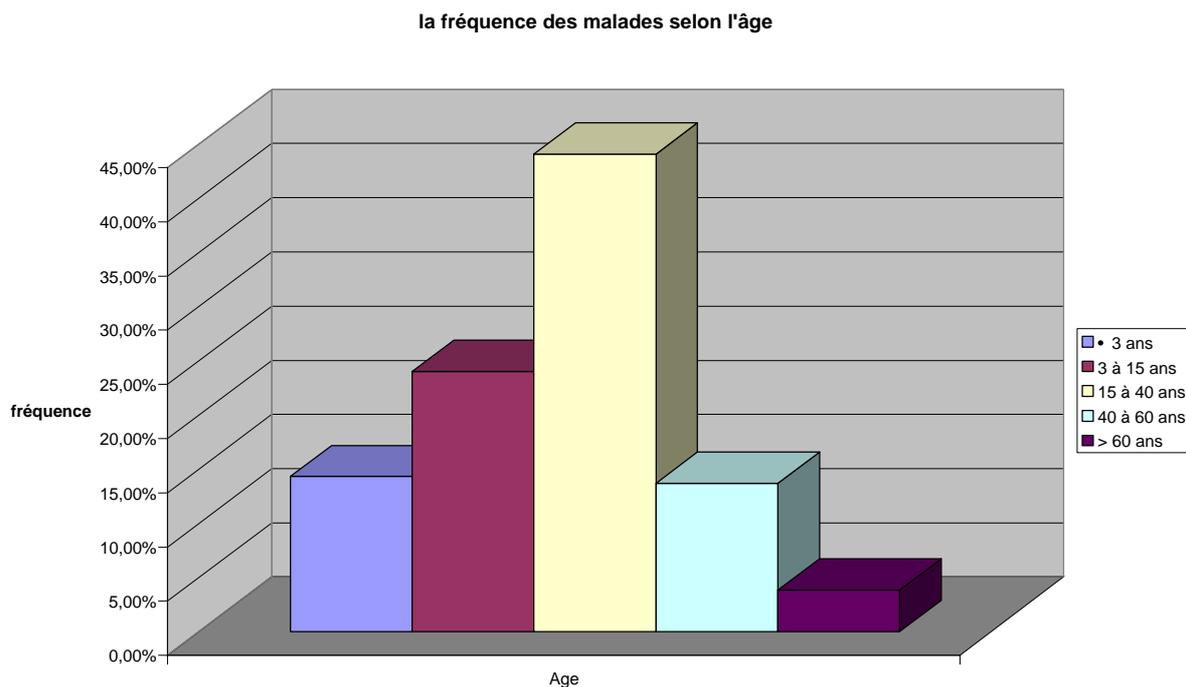
Selon notre travail le nombre de malades est important chez les adultes 15-40 ans (422), puis chez les enfants de 3-15 ans (230), le nombre des malades de • 3 ans (137) presque égale a ce lui des 40-60 ans (131), et celui des > 60 ans est de (37).



## 2. La fréquence des malades diarrhéiques selon l'âge Tableau (6)

Les classes d'âge	La Fréquence des malades
• 3 ans	14,31 •
3 à 15 ans	24,03 •
15 à 40 ans	44,10 •
40 à 60 ans	13,69 •
> 60 ans	3,87 •

La fréquence des malades selon l'âge est plus importante chez les 15-40ans (**44,10%**), les malades de 3-15 ans est de (**24,03%**), celle de • 3 ans est de (**14,31%**), celle de 40-60ans est (**13,69%**), les plus de 60 ans est de (**3,87%**).



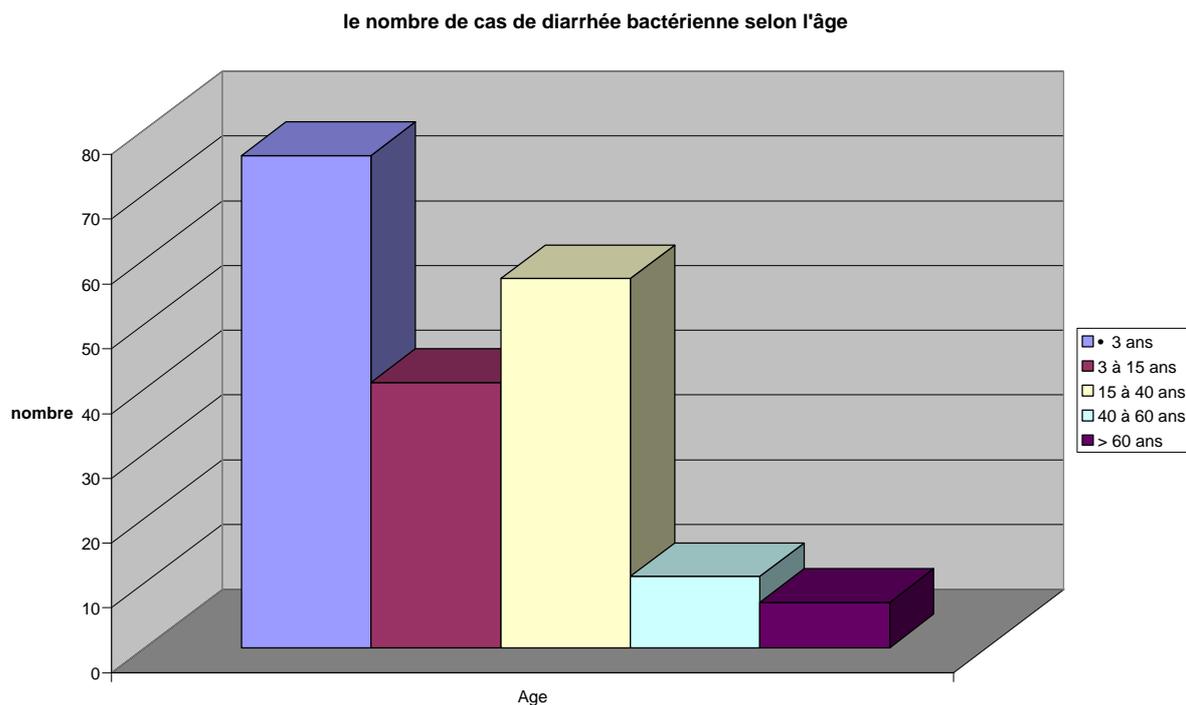
### 3. Le nombre de malade dont la diarrhée est d'origine bactérienne :

Le nombre de malades qui présente une diarrhée bactérienne est de **192 cas** il représente **plus de 20 %** des diarrhées étudiées.

### 4. Le nombre de cas diarrhéiques d'origines bactériennes selon l'âge Tableau (7):

Les classes d'âge	Nombre de cas de diarrhée
• 3 ans	76
3 à 15 ans	41
15 à 40 ans	57
40 à 60 ans	11
> 60 ans	7

Le nombre de cas de diarrhée d'origine bactérienne est : **(76) cas** chez les • 3 ans, **(41) cas** chez les 3-15 ans, et **(57) cas** chez les 15-40 ans, **(11) cas** chez les 40-60 ans, **(7) cas** chez les plus 60 ans.

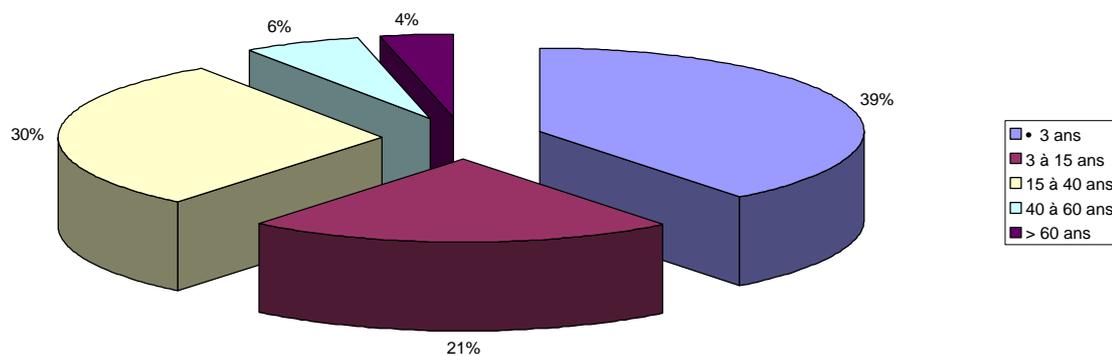


**5. La fréquence de cas diarrhéiques d'origines bactériennes selon l'âge Tableau (8):**

Les classes d'âge	Fréquence des cas diarrhéiques
• 3 ans	39,58 •
3 à 15 ans	21,35 •
15 à 40 ans	29,69 •
40 à 60 ans	5,73 •
> 60 ans	3,65 •

Les fréquences des diarrhées chez les malades répartis comme suit : **39,58%** (• 3 ans), **29,69%** (15 à 40 ans), **21,35%** (3 à 15 ans), **5,73%** (40 à 60 ans), **3,65%** (> 60 ans),

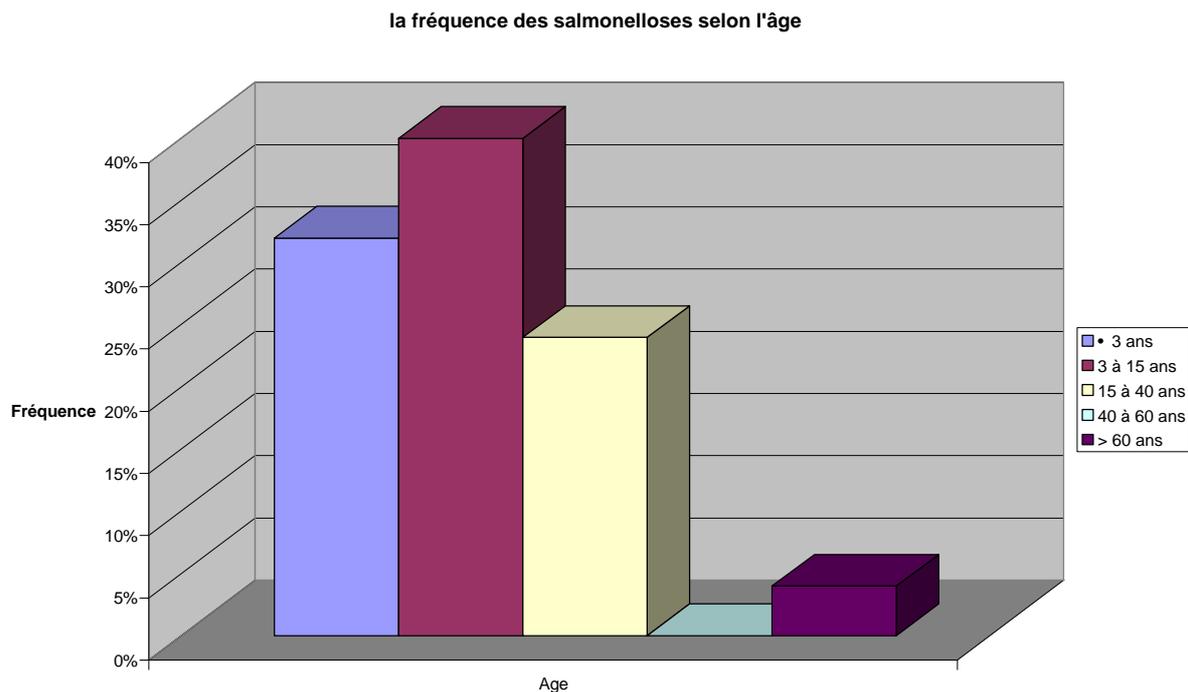
Fréquence des cas de diarrhée selon l'âge



**6. Représentation des Salmonelloses selon l'âge Tableau (09):**

Les classes d'âge	Nombre des malades	Fréquence des salmonelloses
• 3 ans	08	32 •
3 à 15 ans	10	40 •
15 à 40 ans	06	24 •
40 à 60 ans	00	00
> 60 ans	1	4•

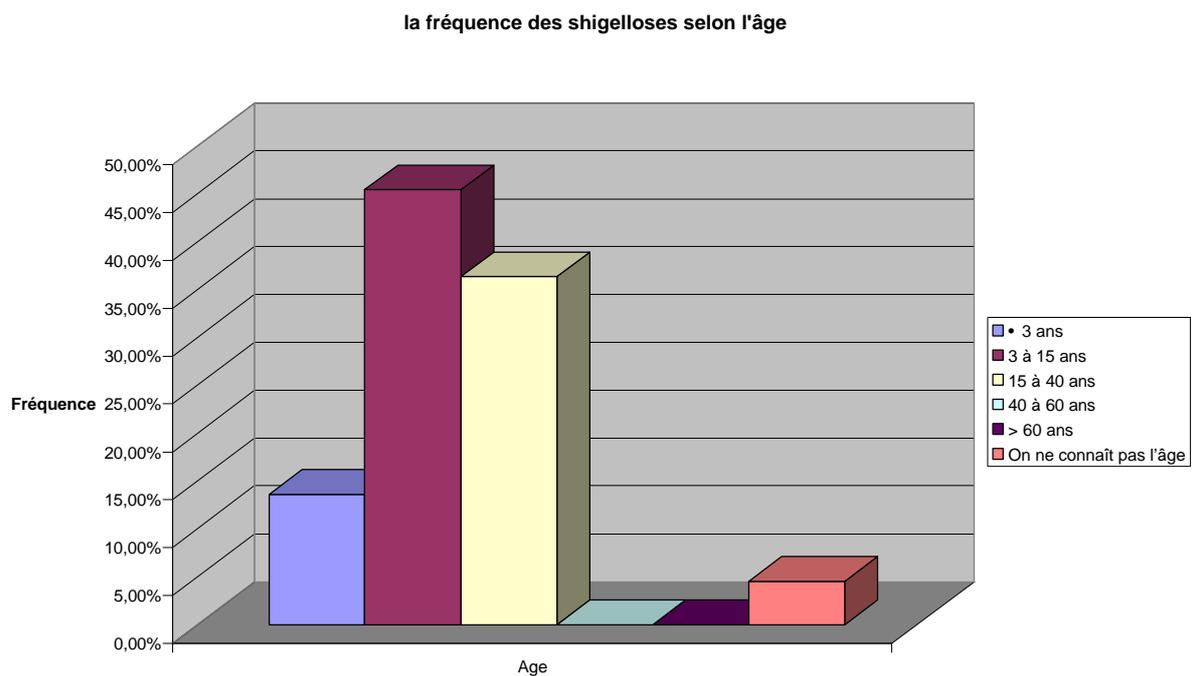
Les salmonelloses sont présentes surtout chez les 3 à 15 ans (40 %), (32 %) • 3 ans, (24 %) 15 à 40 ans, (4%)> 60 ans, aucun cas chez les (40 à 60 ans).



**7. Représentation des Shigelloses selon l'âge Tableau (10):**

Les classes d'âge	Nombre des malades	Fréquence des shigelloses
• 3 ans	03	13,64•
3 à 15 ans	10	45,45 •
15 à 40 ans	08	36,37 •
40 à 60 ans	00	00
> 60 ans	00	00
On ne connaît pas l'âge	01	4,54•

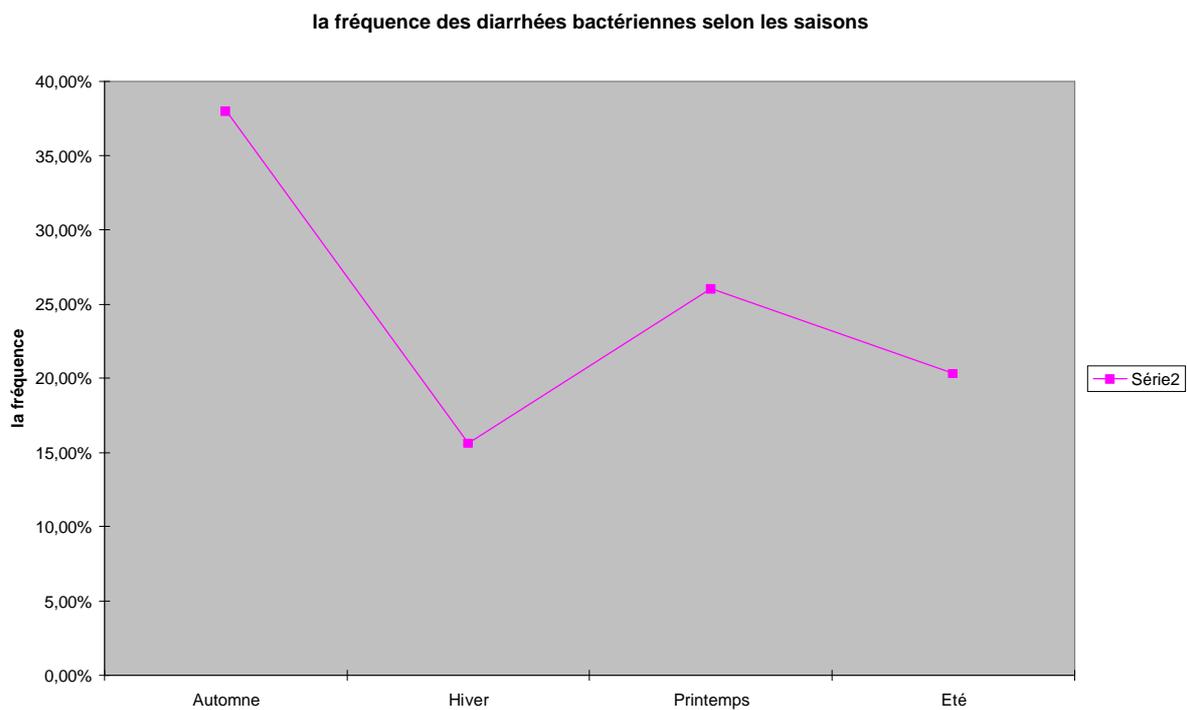
Les shigelloses sont fréquentent chez les 3 à 15 ans (**45 %**) et 15 à 40 ans (**36,37%**), on a **13,37 %** chez les • 3 ans, **aucun cas** chez les plus de 40 ans, et **4,54 %** des cas de Shigellose dont l'âge des malades n'est pas connu.



**8. La fréquence des diarrhées d'origine bactériennes selon les saisons Tableau (11) :**

La saison	Le nombre des cas	La fréquence des cas
Automne	73	38,02•
Hiver	30	15,63•
Printemps	50	26,04•
Eté	39	20,31•

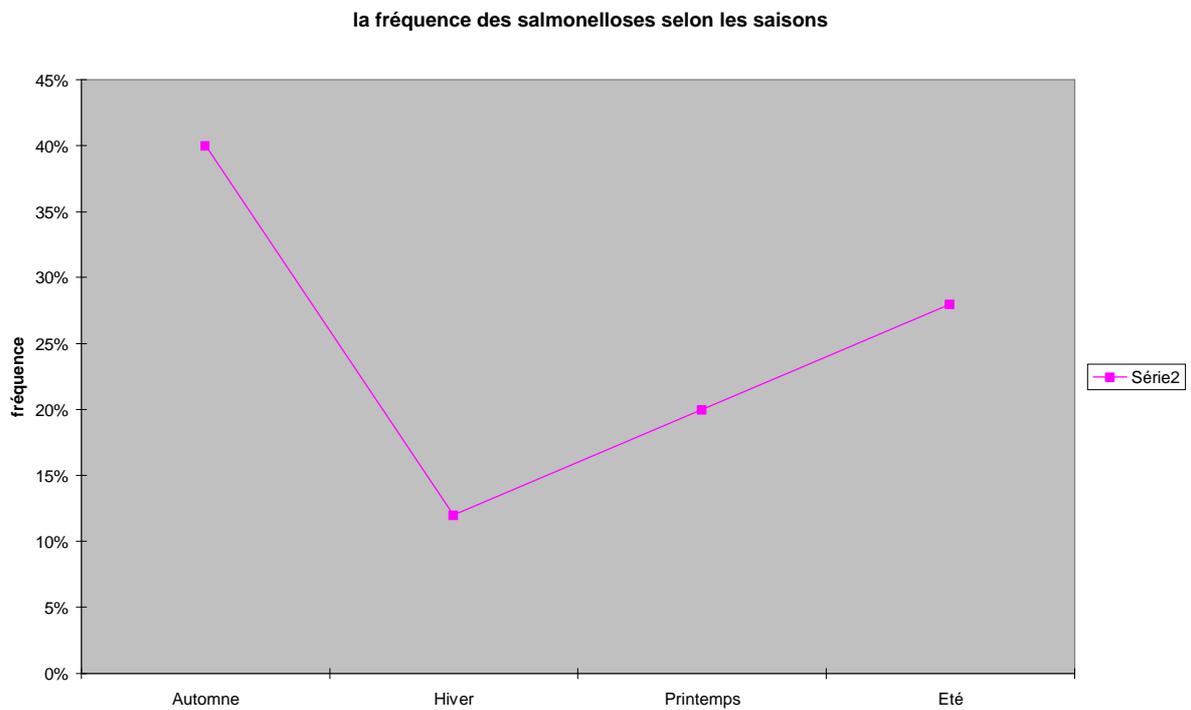
Les diarrhées d'origine bactériennes sont fréquentes en Automne **38,02 %**, Printemps **26,04 %**, Eté **20,31 %**, Hiver **15,63 %**.



**9. La fréquence des salmonelloses selon les saisons Tableau (12):**

La saison	Le nombre des cas	La fréquence des salmonelloses
Automne	10	40•
Hiver	03	12•
Printemps	05	20•
Eté	07	28•

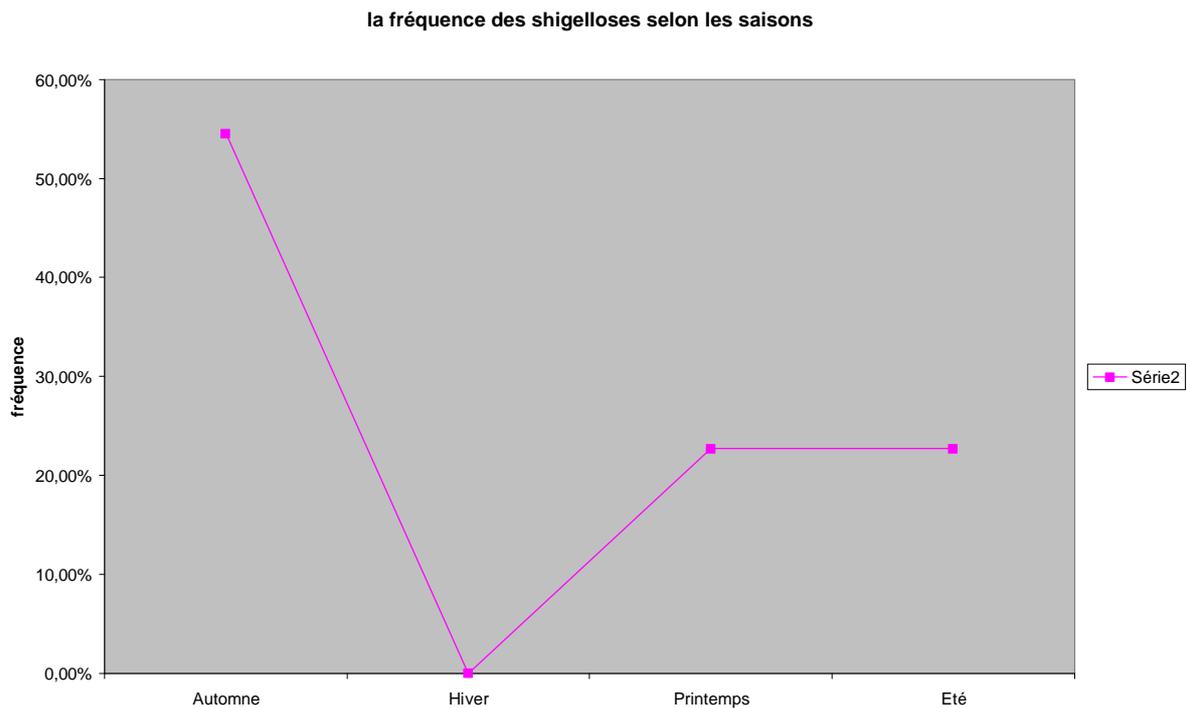
La fréquence des salmonelloses selon notre étude est de **40 %** en Automne, et **28 %** en Eté, **20 %** en Printemps, **12 %** en Hiver.



**10. La fréquence des Shigelloses selon les saisons Tableau (13)**

La saison	Le nombre des cas	La fréquence des shigelloses
Automne	12	54,54•
Hiver	00	00
Printemps	05	22,73•
Eté	05	22,73•

Les shigelloses sont fréquentes très fréquentes en Automne avec **54,54 %**, et on a enregistré la même fréquence en Printemps et Eté **22,73 %**, et **aucun cas** n'est détecté en **Hiver**.



**11. La fréquence des sous espèces des shigelloses Tableau (14) :**

les sous espèces	La fréquence shigelloses
<i>Shigella sonnei</i>	68,18%
<i>Shigella flexneri</i>	13,64%
<i>Shigella boydii</i>	4,54%
<i>Shigella dysenterae</i>	00
<i>Shigella non spécifique</i>	13,64%

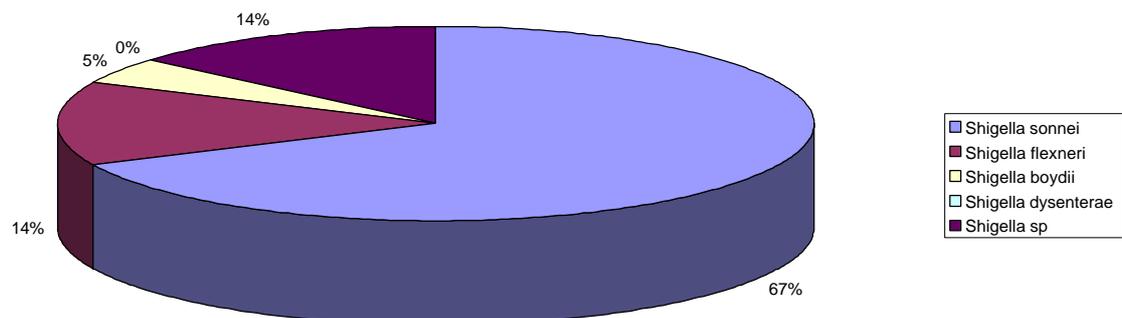
La fréquence des sous espèces de *Shigella* isolées est :

**68,18 %** de *Shigella sonnei*, **13,64 %** de *Shigella flexneri*, **4,54 %** de *Shigella boydii*,

On n'a trouvé **aucun sérotype** de *Shigella dysenterae*,

**NB :** les sérotypes des *Salmonella* isolées dans cette étude est *Salmonella* Enteritidis 8/25 cas avec **(32%)** pour les autre cas malheureusement on n'a pas pus les identifiés.

La fréquence des sous espèces de *Shigella*



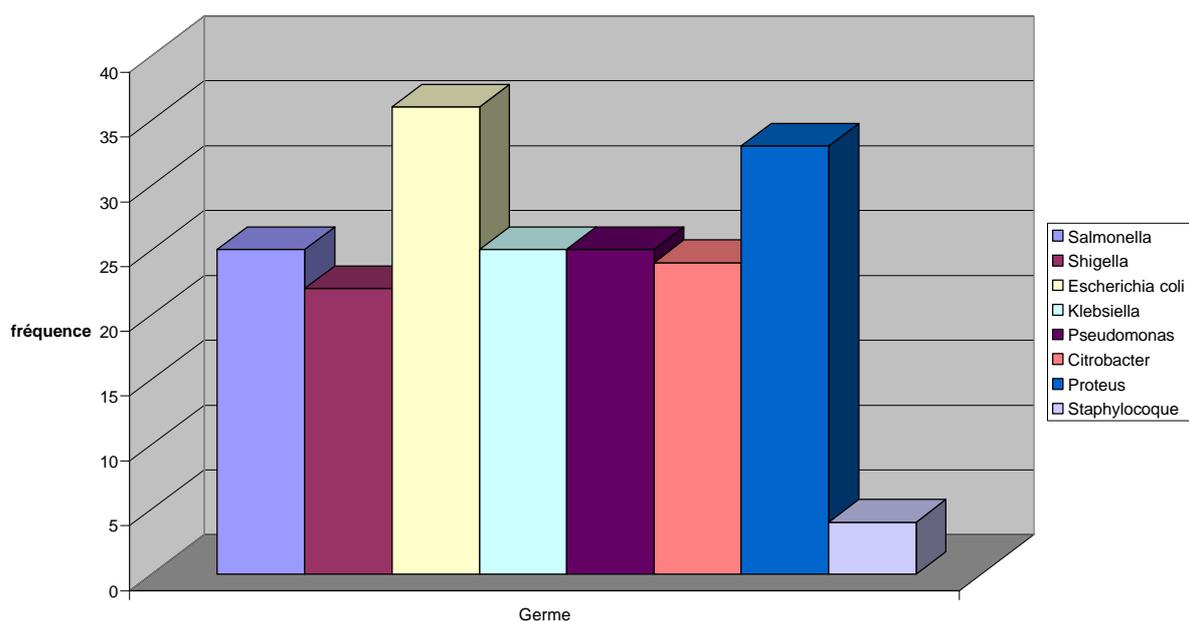
**12. Importance et fréquences des germes responsables des diarrhées Tableau (15) :**

Les germes	Le nombre des cas	La fréquence des germes
<i>Salmonella</i>	25	12,89 •
<i>Shigella</i>	22	11,34 •
<i>Escherichia coli</i>	36	18,55 •
<i>Klebsiella</i>	25	12,89 •
<i>Pseudomonas</i>	25	12,89 •
<i>Citrobacter</i>	24	12,37 •
<i>Proteus</i>	33	17,01 •
<i>Staphylocoque</i>	04	2,06 •

-NB. On a trouvé deux malades, où l'agent causal était deux germes différents.

Selon notre étude la fréquence des germes responsables des diarrhées sont : **12,89% Salmonella, 11,34 % Shigella, 18,55 % Escherichia col.**

la fréquence des germes responsables des diarrhées

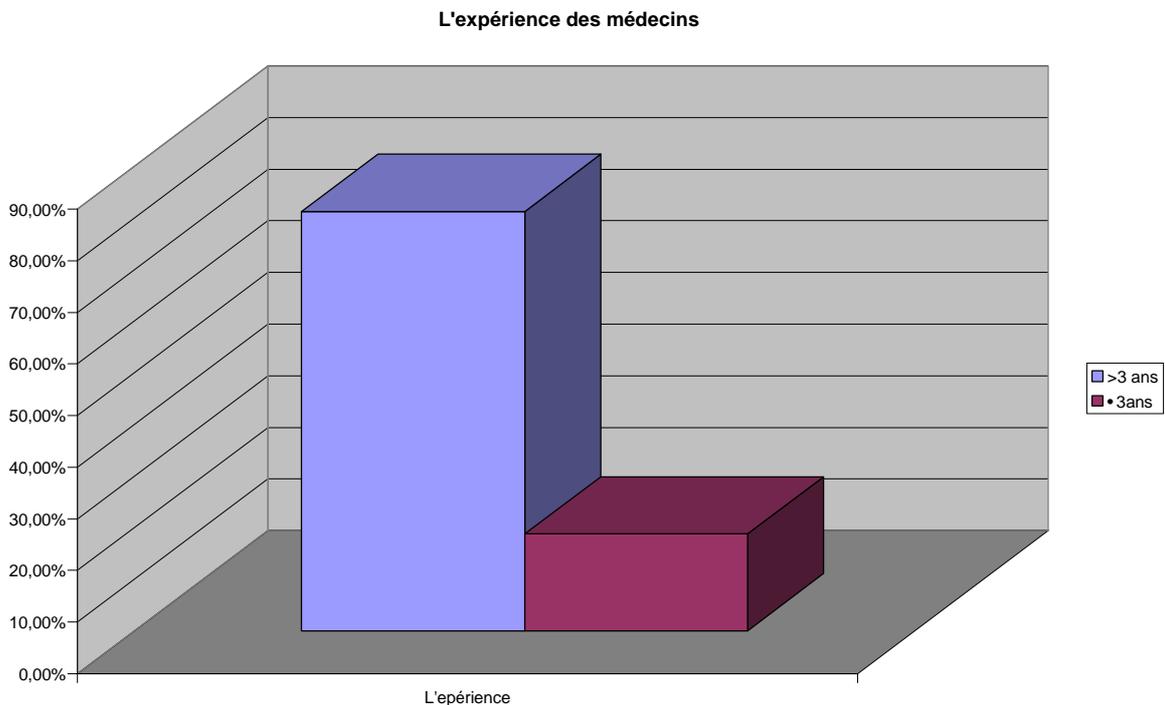


# PARTIE INVESTIGATION

## C. ANALYSE DES RESULTATS DES ENQUETES

### 1-L'expérience des médecins:

Les médecins (**81,25 %**) qui ont répondu au questionnaire ont une expérience professionnelle de plus de trois ans, et **18,75%** ont une expérience inférieure à trois ans



**2- La région :** Les enquêtes ont été menées sur tout le territoire de la wilaya de Tizi –Ouzou et de la Daira de Bordj Menaiel.

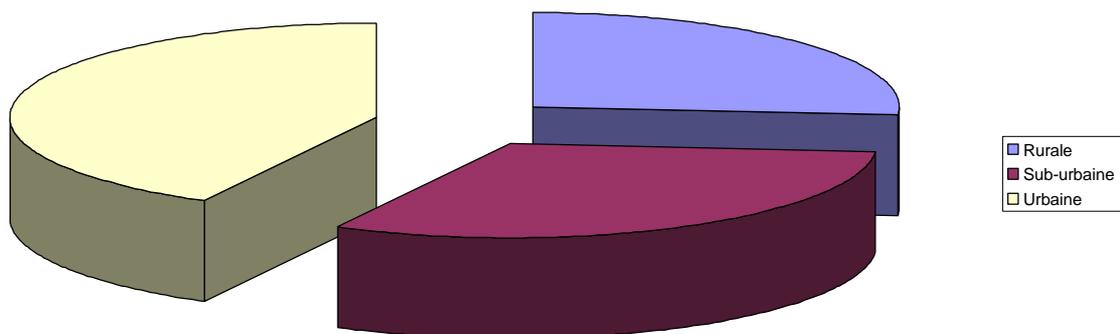
**3. Réponses concernant la fréquence des diarrhées :** **93,75 %** des médecins ont eu à traiter des cas de diarrhées d'origine bactérienne causés par *Shigella* et *Salmonella*,

**4. Réponses concernant la fréquence des diarrhées selon les zones Tableau (16):**

La zone	Nombre	La fréquence des réponses
Rurale	5	26,32 %
Sub-urbaine	6	31,58 %
Urbaine	8	42,10 %

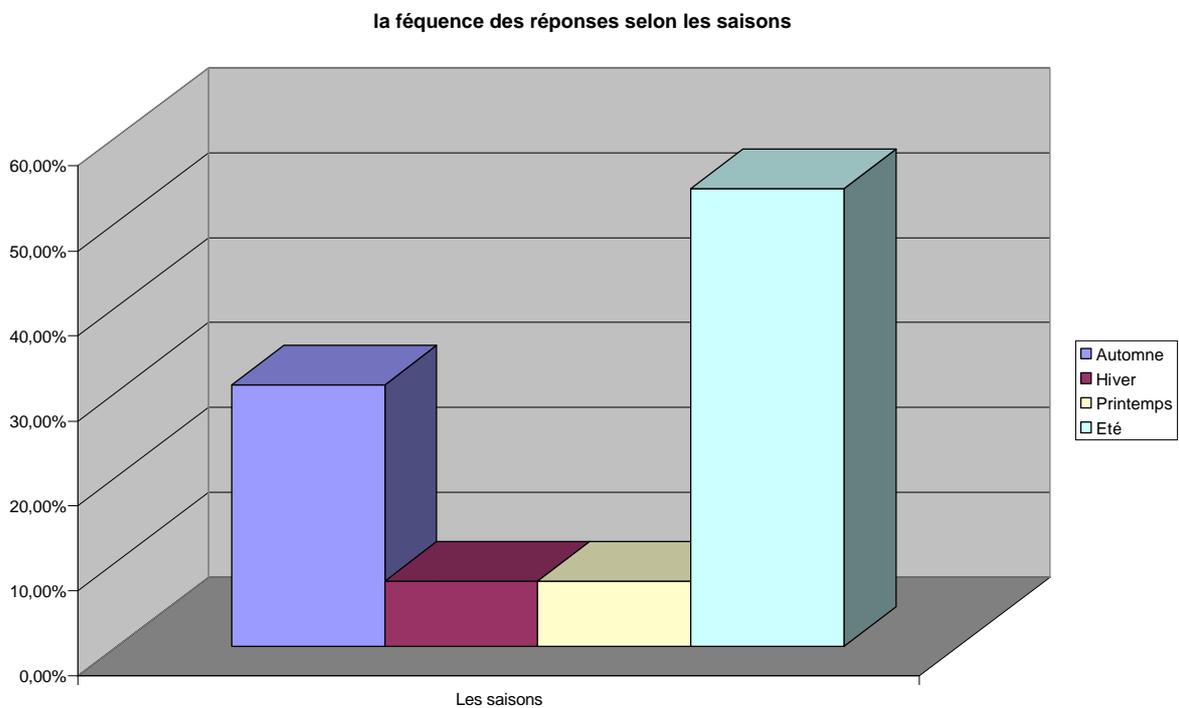
-Selon notre enquête les médecins (50 %) pensent que les zones urbaines sont les plus touchées, et (37,58 %) pour les zones sub-urbaines, et (31,25 %) pour les zones rurales.

La fréquence des réponses pour les zones

**5. Les Réponses concernant la fréquence des diarrhées par saison Tableau (17):**

La saison	Le nombre	La fréquence
Automne	04	30,77 %
Hiver	01	7,69 %
Printemps	01	7,69 %
Eté	07	53,85 %

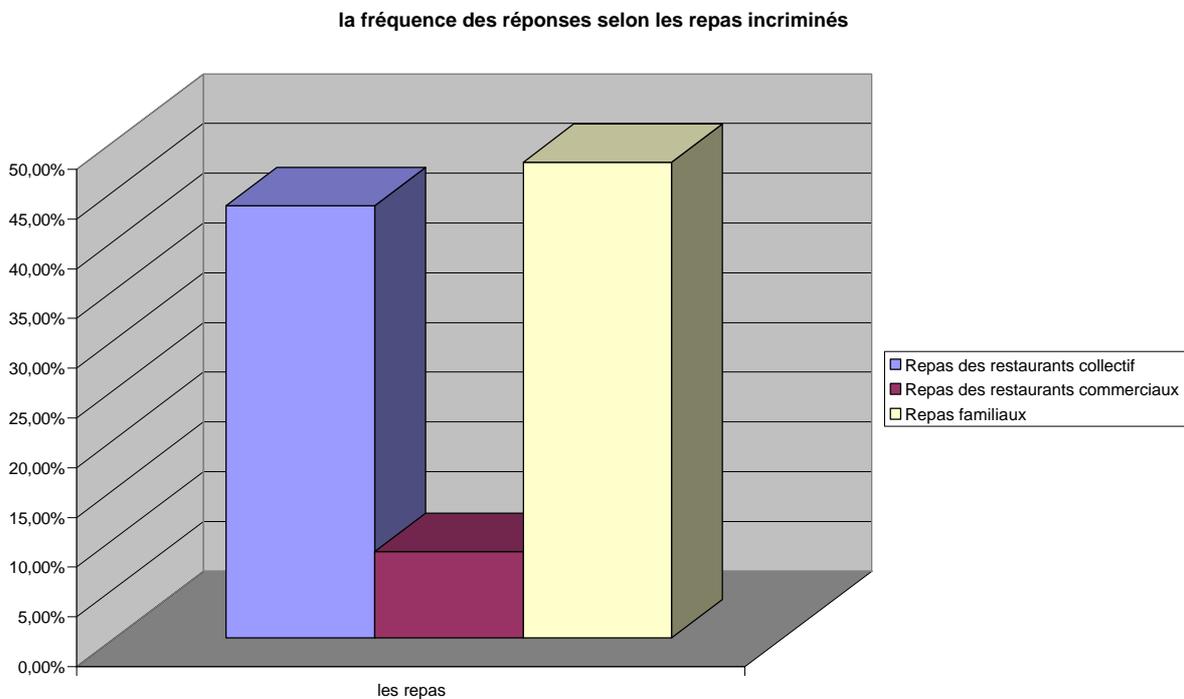
D'après notre enquête plus de 43,75 % des médecins pensent que les diarrhées (Salmonellose, Shigellose) sont fréquentes en été, et 25 % pour le printemps.



**6. Réponses sur l'origine de la diarrhée et type de repas impliqués Tableau (18):**

Les repas	nombre	fréquence
Repas des restaurants collectif	10	43,48 %
Repas des restaurants commerciaux	11	47,83 %
Repas familiaux	02	8,69%

**68,75 %** des médecins affirment que les repas des restaurants commerciaux sont les plus incriminés, et (**62,50 %**) affirment aussi que les repas des restaurants collectifs sont à l'origine, et que (**12,50 %**) incriminent les repas familiaux.

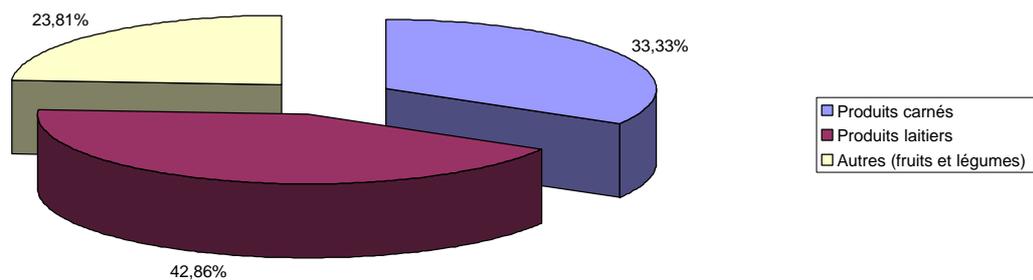
**7. Nature des produits alimentaires à risques selon les réponses des médecins**

**(Tableau (19):**

Les produits alimentaires	nombre	La fréquence
Produits carnés	09	42,86 %
Produits laitiers	07	33,33 %
Autre (fruits et légumes)	05	23,81 %

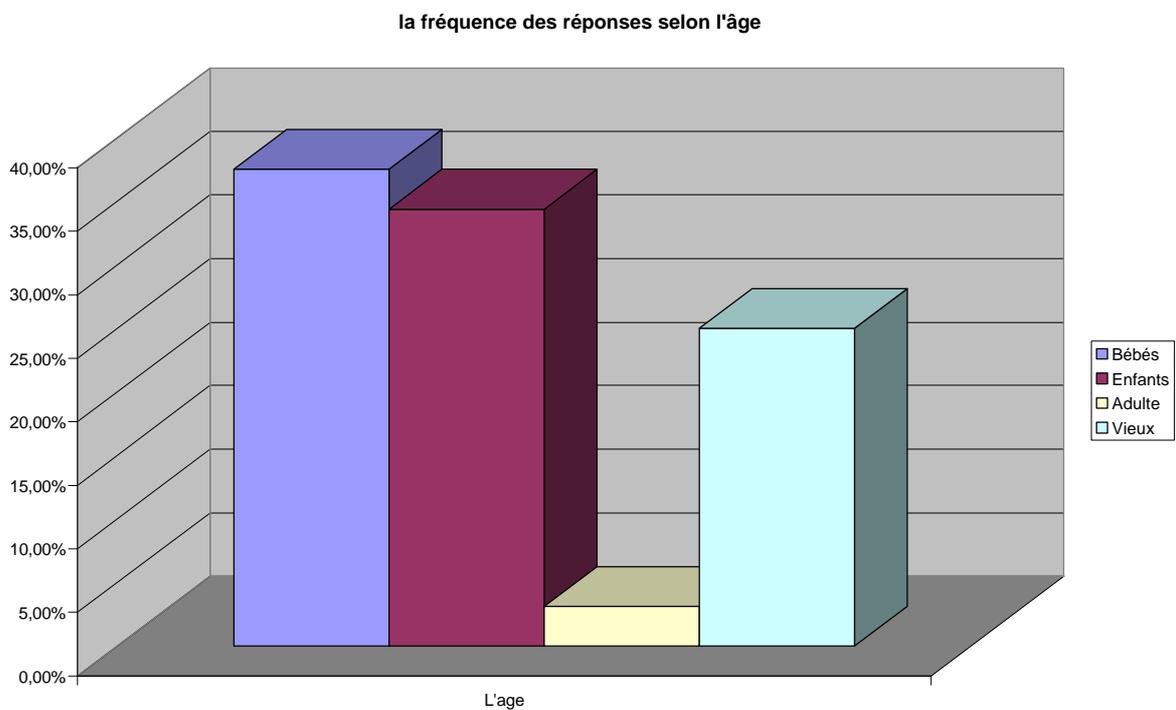
Les produit les plus incriminés dans les Salmonellose et les shigelloses sont les produits **carnés (56,25%)**, et **(43,75)** pour les produit **laitiers**, et que **(31,25 %)** pour les autres produits.

la fréquence des réponses selon les produits alimentaires

**8. Réponses sur l'âge des malades souffrant de diarrhées Tableau (20):**

L'âge des malades	Le nombre	La fréquence
Bébés	12	37,50 %
Enfants	11	34,38 %
Adulte	1	3,12 %
Vieux	8	25 %

La majorité des médecins (**75 %**) considèrent que **les bébés** sont les plus sensibles, et (**68,75 %**) pensent aussi que **les enfants** sont les plus sensibles, et (**50 %**) pense aussi que **les vieux** sont sensibles, et que (**6,25 %**) pensent que **les adultes** sont les plus sensibles autrement dit (**93,75 %**) ne pensent pas que les adultes sont les plus sensibles.



**9. Réponses sur l'influence du sexe sur la maladie la fréquence :**

La majorité des médecins (**87,50 %**) ne trouvent pas une différence de la fréquence des diarrhées par rapport au sexe, et (**12,50%**) des médecins trouvent que le sexe féminin est plus sensible.

**10. Réponses sur les symptômes observés :**

Les médecins décrivent une **diarrhée glairo-sanglante, des vomissements, une hyperthermie**, de la **déshydratation**, douleurs abdominales, hypothermie et état de choc lors des formes systémiques.

**11. Réponses liées au diagnostic :**

Selon les médecins (62,50%), le diagnostic repose essentiellement sur **les signes cliniques**, et l'isolement **bactériologique par coproculture (62,50 %)**

**12. Réponses liées au traitement :**

La majorité des médecins (**93,75 %**) adopte, pour les cas diarrhéiques de *Salmonella* et *Shigella*, **un traitement symptomatique** voire une réhydratation, un spasmolytique, un anti-vomitif, anti-pyrétique ...

**Concernant L'antibiothérapie** ; la majorité des médecins (**93,75 %**) utilise les antibiotiques systématiquement pour traiter les cas d'infections à *Salmonella* et *Shigella*.

**13. Recommandations préconisées par les médecins :**

La majorité des médecins recommandent une bonne hygiène de vie, une hygiène alimentaire, la nécessité de contrôles bactériologiques des aliments et de l'eau, et contrôle des restaurants collectifs et commerciaux, d'aller en consultation lors des diarrhées même mineures, de sensibiliser la population (éducation sanitaire au niveau des collectivités),

## **D. DISCUSSION DES RESULTATS**

-Depuis quelques années, les salmonelloses et les shigelloses sont en augmentation importante aux Etats-Unis et en Europe, elles sont les premières causes des toxi-infections alimentaires collectives en France (BOUVET et al, 1992. BOUVET et al, 1999).

Chaque année 17 – 20 millions de cas de salmonelloses sont enregistrés dans le monde avec 15 % de mortalité, et plus de 600000 de décès.

Les shigelloses causent plusieurs millions de cas chaque année, avec 10 % de mortalité infantile dans le monde (KOPECKO, 2003, F. AILAL et al, 2004. M LALANDE et al 2005), d'après notre étude plus de **20%** des diarrhées sont d'origines bactériennes, avec plus de **12 %** causées par *Salmonella*, et **11%** par des *Shigella*, ce qui confirme leur importance.

**La fréquences des salmonelles et shigelles selon les saisons est:** En automne (**40 %**) et (**54,54 %**), en été (**28 %**) et (**22,73 %**), au printemps (**20 %**) et (**22,73 %**), et seulement (**12 %**) et aucun cas de Shigellose en Hiver. Ceci a été également rapporté par plusieurs auteurs (MAINARDI L, GOLDSTEIN W, 2000. THABET L et al, 2001. F. AILAL et al, 2004. M LALANDE et al, 2005) à savoir que, les Shigelloses et les Salmonelloses sont fréquentes en périodes **estivales et chaudes** (Eté et Automne), cependant, selon notre enquête les Shigelles et les Salmonelles sont plus fréquentes en Eté et en Automne.

Dans la présente étude l'isolement des *Shigella* et *Salmonella*, repose sur **la coproculture**, avec l'utilisation comme milieu sélectif **l'Hektoen** ce qui est rapporté par plusieurs auteurs (L Le MINORD et al 1982 et B. JOLY et al, 2003).

La coproculture doit être durant la phase aigue lorsque les selles sont glaireuses et sanglantes. Pour l'isolement des shigelles, les selles ont étéensemencées directement sur milieu sélectif sans utilisation au préalable un milieu d'enrichissement comme conseillé par (L Le MINORD et al 1982 et CENTRES for Disease Control Atlanta, Georgia 2002 et B. JOLY et al, 2003), les milieux généralement utilisés sont des milieux solides contenant du lactose et des

inhibiteurs exemples ; Hecktoèn, SS (*Salmonella-shigella*), DCL (Desoxycholate-Citrale-Lactose), XLD (Xylose-Lactose-Desoxycholate).

D'après Le MINORD et collaborateurs (1982) et ADJIDE CC et collaborateurs, (1998) et M. LALANDE collaborateurs, (2005) le diagnostic des salmonelles non typhiques repose essentiellement sur **la coproculture**, tandis que, les formes systémiques sont diagnostiquées par la coproculture et/ou l'hémoculture et l'analyse bactériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR) (F.AILAL et al, 2004). Les milieux les plus utilisés sont Hecktoèn, XLD (Xylose-Lactose-Desoxycholate). Dans la présente étude on a utilisé la sélénite-cystine comme milieu d'enrichissement et la gélose Hecktoèn comme milieu sélectif, ce qui a également été rapporté par (L Le MINORD et al 1989 et KORSAK et al, 2004).

Les enfants (tranche d'âge la plus sensible) payent un lourd tribut en ce qui concerne les salmonelloses et shigelloses

**Les résultats de cette étude ont montré que les Salmonelloses** ont été isolées chez **32 %** des enfants âgés de moins de **3 ans** et **40 %** pour les enfants âgés de **3 à 15 ans**, soit **72 %** des cas de salmonellose sont enregistrés chez les enfants, et **24 %** chez les **15 à 40 ans** et **aucun cas** chez les adultes âgés de **40 à 60 ans** et **un cas** chez les **plus 60 ans**. BENNESON AS, et collaborateurs (2001) rapportent que les Salmonelloses touchent toutes les tranches d'âge, surtout les enfants, la moyenne d'âge est de 5 ans (HUANG TC et LEU HH, 1993). Toutefois, MEDOFF et collaborateurs (1999) suggèrent que les enfants et les personnes âgées son les plus sensibles. Cette étude a montré un seul cas de salmonellose chez les plus de 60 ans, Or selon, un rapport Européen 2004 les salmonelloses et les shigelloses sont fréquentes chez les personnes âgées, ce qui est peut être dus aux régimes et aux types des repas alimentaires, car on suppose, que les personnes âgées en pays développés sont regroupées dans des maisons de retraites, et dans des collectivités ce qui les expose à ces infections. Or que chez nous les personnes âgées vivent avec leurs familles en majorité où les conditions d'hygiènes sont acceptables.

**Les shigelles** touchent surtout les enfants âgés de **3 à 15 ans** avec **45,45%**, et **13,64 %** chez les moins de **3 ans** soit **59,09 %** sont des enfants. Ceci a été rapporté par (STUELENS et al, 1985 et S. KERNBAUM, 1996). Cependant, on a enregistré **36,37 %** des cas chez des personnes âgées de **15 à 40 ans** et **4,54 %** cas **plus 60 ans**, contrairement à ce qui a été rapporté par (L Le MINORD et al 1982) ; les shigelloses sont décrites souvent chez les personnes âgées. Toutefois notre **enquête** a montré que les plus sensibles sont les enfants plus de (**68%**) et les personnes âgées (**50 %**).

**Le sexe** ne semble pas être un facteur de risque aux salmonelloses et shigelloses, **87,50 %** des médecins n'ont pas signalé une sensibilité à ces infections liée au sexe, Seuls **12,50 %** d'entre eux trouvent que le sexe féminin est plus sensible. Par ailleurs F AILAL et collaborateurs (2004) rapportent que, le sexe masculin est 1,3 fois plus sensible que le sexe féminin.

**Les repas les plus incriminés** dans les salmonelloses et les shigelloses sont les repas des restaurants commerciaux (**47,83 %**) et des restaurants collectifs (**43,48%**) et que (**8,69 %**) sont dues aux repas familiaux, selon, B JOLLY et collaborateurs (2003) les repas des restaurants collectifs sont responsables de la majorité des infections aux shigelles. Selon, un rapport d'activité du Centre National de référence des salmonelles et shigelles, de l'institut Pasteur de Paris, confirme en 1999 que les repas les plus incriminés dans ces infections sont surtout les repas pris en restauration collective et ceux des restaurants commerciaux. Cependant, la contamination par des repas familiaux est vivement débattue par (Dupont HL et al, 1991) et (DELAROCQUE ASTAGNEAU E et al, 1998) ils suggèrent que ces infections sont dues à une transmission manuportée de personne à personne, car selon les mêmes auteurs il demeure toujours très difficile de confirmer une contamination d'origine alimentaire dans une famille, mais il faut chercher s'il existe des porteurs sains, surtout si les cas se succèdent dans le temps. Toutefois c'est également la voie de contamination la plus incriminée, dans les infections chez les nourrissons, alimentés par un lait artificiel (M LALANDE et al, 2005).

**Les produits alimentaires les plus incriminés** sont : les produits laitiers (**42,86 %**) sont les plus incriminé pour (56,25%) des médecins, puis les produits carnés (**33,33 %**) pour (43,75) des médecins, et (**23,81 %**) pour les autres produits pour (**31,25 %**) des médecins. Selon DELAROCQUE ASTAGNEAU E et collaborateurs (2000) les sources de contamination est la viande hachées, le fromage (DE VALK H et al, 2000), poulet (CHAUD P, GUYONNET JP, DABOUINEAU L, 1995), les œufs (HEDBERG CW, 1993), ces aliments sont largement consommés, ce qui présente un grand problème pour les hygiénistes. Ainsi les ovo-produits sont les plus incriminés dans les salmonelloses, malheureusement notre demande d'enquête aux prés des laboratoires d'analyses des produits alimentaires (INMV et LRV de Draa Benkhedda) a été refusée.

Toutes les zones sont touchées par les infections aux Salmonelles et Shigelles. Ainsi, les **zones urbaines** sont les plus touchées (**42,10 %**), (**31,58 %**) pour les **zones sub-urbaines**, et

(26,32 %) pour les **zones rurales**. Cependant, L Le MINORD et collaborateurs (1982) considèrent que les salmonelloses et shigelloses sont fréquentes dans les collectivités, et dans les populations denses, ce qui nous renseigne sur l'état de l'hygiène. Par ailleurs (J. L. AVRIL et al, 1988) pensent que les salmonelles et les shigelles sont ubiquistes, et elles se trouvent par tous, d'où on peut attraper ces infections dans n'importe quelle zone. Ainsi, (E. PILLY, 1997) pense que les réservoirs des Salmonelles sont les animaux, d'où leur présence constitue un danger potentiel, surtout si les conditions d'hygiène sont défavorables.

**Les conditions sociales** sont sans doute un facteur de variation pour ces infections. Ainsi selon, L Le MINORD et al, 1982. B JOLLY et al, (2003). F. ALIAL et al, (2004) trouvent que la vie en collectivité (les crèches, les prisons, les maisons de retraites ...) est un facteur prédisposant pour les salmonelloses et les shigelloses ; sachant que ces collectivités ont un mode de vie qui repose sur une restauration collective, ce qui les expose à ces infections, autrement dit les personnes qui vivent et mangent en famille ont moins de problèmes de salmonelloses et de shigelloses, cette étude rapporte que moins de **6 %** de diarrhées bactériennes rencontrées chez les personnes âgées de **40 à 60 ans**, et moins de **3%** chez les plus de **60 ans**, ainsi on a enregistré un cas de salmonellose chez les plus de 60 ans, et **aucun cas** (ni salmonelles ni shigelles) chez les personnes âgées de **40 à 60 ans** et aucun cas de shigellose chez les plus de **60 ans**. Ces résultats nous conduisent à penser que le mode et le comportement alimentaire sont des facteurs importants dans ces infections, on pense qu'en Algérie et dans la région de Tizi Ouzou les personnes qui ont plus de 60 ans vivent en famille et mangent en famille, et les personnes âgées de 40 à 60 ans, la majorité vivent et préfèrent manger en famille. Ce qu'il nous ramène à dire que ces personnes sont moins exposées aux risques de la restauration collective et des restaurants commerciaux. Par ailleurs, on a trouvé que les personnes âgées de **15 à 40 ans** sont les plus touchées par les diarrhées avec **44%** des malades diarrhéiques, on peut penser qu'elles sont dues à l'intervalle de la classe d'âge qui est importante. Il s'agit de la tranche d'âge la plus importante car elle représente plus de 70 % de la population algérienne, considérée comme la plus active et celle qui a une hygiène de vie la plus complexe (stress), avec un mode et un comportement alimentaire qui reposent essentiellement sur des restaurations hors foyer et collectives (cantine scolaire, restaurants universitaire, cantines dans les lieux travail ...) et les restaurants commerciaux.

**Les symptômes observés** sont en général ; une diarrhée glairosanglante, vomissements, fièvre, douleurs abdominales, déshydratation, convulsions, état de choc (forme systémique)

avec hyperthermie. Cependant, plusieurs auteurs rapportent que les symptômes varient avec la virulence de la souche et/ou statut immunitaire de la personne, ainsi M LALANDE et collaborateurs (2005) rapportent que les souches virulentes comme *Salmonella typhi* et *paratyphi A* provoquent des formes graves et systémiques chez la majorité des personnes. De même pour les souches *Shigella dysenterae*, qui provoquent le syndrome dysentérique bacillaire (B JOLY et al, 2003). Cependant, les moins virulentes des salmonelles non *typhi* provoquent des formes digestives localisées (gastro-entérite) sans complications (F AILAL et al, 2004), les *Shigella sonnei*, *boydii*, plus au mois *flexneri*, provoquent en général des rétro colites aiguë avec fièvre (GRENIER, 1985), des colites infectieuses chez l'adulte et des gastro-entérites chez les enfants (J L AVRIL, 1988).

Malheureusement on n'a pas fait le suivi des malades atteints par *Shigella sonnei* et *flexneri*, pour déterminer le pouvoir pathogène et estimer son impacte sur l'état de la santé, mais on fait référence à d'autres études étrangères, en attendant des études algériennes.

**La forme systémique** est dans moins de 5% des immunocompétents, en revanche elle est de 20% chez les immunodéprimés (BORDERON JC et al, 1991. CUZIN FERRAND L, 1992. LEE WS, 2000). La forme systémique est caractérisée par une septicémie et des complications extradigestives ; qui sont représentées par méningites (W. FIERS, R. BEYAERT et al, 1999) et arthrites septiques (J.C. PATEL et J.E. GALAN, 2005).

**Au niveau diagnostique** selon, nos médecins il est essentiellement clinique, cependant, plus de **62 %** d'entre eux diagnostiquent ces infections en utilisant les techniques bactériologiques, cependant dans notre étude le diagnostic des salmonelloses et des shigelloses est réalisé par la coproculture ; la coproculture est la seule façon de faire un diagnostic de certitude de shigellose (L Le MINORD et al, 1989. J AVRIL et al, 1988, B JOLY et al, 2003)

Toutefois (F AILAL et al, 2004. M LALANDE et al, 2005) estiment que la coproculture est l'examen de choix pour l'isolement des *Salmonella*, cependant, ils recommandent l'hémoculture lors des formes systémiques, et surtout lors des premiers stades septicémiques, et on peut le faire plusieurs fois par jours au moment de la fièvre.

Dans la présente étude le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou a pu identifier les germes responsables de ces diarrhées ; avec une fréquence croissante : *Staphylocoque*, *Shigella*, *Citrobacter*, *pseudomonas*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *proteus*, *Escherichia coli*.

Cependant, les souches responsables des diarrhées dans cette étude sont les *Salmonella* non Typhi : on a pu identifier la souche Enteritidis, dans huit cas de salmonellose et

malheureusement on n'a pas pu identifier les autres faute d'antisérums. Ainsi selon un rapport Européen (2004) les sérotypes les plus isolés en Europe sont *Enteritidis* plus de (60 %), Typhimurium plus de (25 %), *Hadar* moins de (3 %). Cependant, en France le sérotype Typhimurium est le plus isolé selon un rapport datant de (1999) de Centre National de Référence *Salmonella-Shigella* de l'institut Pasteur Paris (L LALANDE et al, 2005), de même au Maroc Typhimurium reste le plus isolé (F AILAL et al, 2004). Dans notre étude on n'a identifier aucune *salmonella* typhi ou paratyphi. Cependant, ces dernières sont importantes dans les pays en voie de développement (S.KERNBAUM, 1980. L Le MINORD et al, 1982).

**Les souches de *Shigella*** on a identifié trois souches de *Shigella* à Tizi Ouzou, les plus isolées sont *Shigella sonnei* avec plus **68 %** des cas, et *Shigella flexneri* avec plus de **13 %**, et moins de **5 %** pour *Shigella boydii*, Treize pour cent (13 %) n'ont pas été identifiés. Aucune souche de *Shigella dysenterae* n'a été isolée. Ainsi *Shigella flexneri* et *Shigella sonnei* se manifestent sous une forme endémique et sont responsables des épidémies brutales et graves dans les pays en voie de développement elles sont rares en Europe (Le MINORD et RICHARD, 1993).

Dans certains pays comme le Mexique, le sérotype *Shigella dysenterae* de type1 est le plus important, et le plus pathogène, il provoque des vastes épidémies, le sérotype est inexistante en Europe occidentale.

*Shigella sonnei* et *Shigella flexneri* sont responsable de la forme endémique mondiale et constitue dans les pays industrialisés un bon indicateur de l'état des conditions d'hygiène (B JOLY et al, 2003).

Cependant, notre étude de la prévalence des diarrhées causées par *Shigella*, reste une première à Tizi Ouzou, Ceci nécessite d'avantage d'élargir l'étude dans l'espace (sur tout le territoire national) et dans le temps au moins trois ans, pour dire que le sérotype sonnei est le plus important et d'estimer sont danger pour la santé public.

Les cas de salmonelloses, et les shigelloses sont endémiques, on n'a pas enregistré d'épidémie. Il a été montré **22 cas** de shigellose et **25 cas** de salmonellose. Il a été rapporté que les salmonelloses et les shigelloses sévissent à l'état endémique, avec des épidémies en périodes estivales et elles sont partout dans le monde (TAYLOR et al, 1988. L Le MINORD et RICHARD, 1993).

**Le traitement** est surtout symptomatique faisant appel à la réhydratation, à un antipyrétique, à un antivomitif. Les résultats de notre enquête ont montré que la majorité des médecins utilisent systématiquement les antibiotiques, contre les diarrhées causées par *Salmonella* et *Shigella*. Cependant (L Le MINORD, 1982, J AVRIL 1988) estiment que le traitement d'urgence est de rétablir l'équilibre hydro électrolytique, puis si nécessaire un traitement étiologique ; qui repose sur les antibiotiques. Par ailleurs certains auteurs ne jugent pas toujours utile d'associer un traitement antibiotique à l'indispensable rééquilibration hydroélectrique en raison de l'habituelle guérison et de l'émergence aisée des souches résistantes (S. KERNBAUM, 1985. HAEGHEBAERT S et al, 2002. BRUNO SOULLIE et al, 2003. F.AILAL et al, 2004). Selon, (P.L. CLERC et al, 1987) le traitement antibiotique est réservé ou systématique aux nourrissons de moins de 6 mois. SANSONETTI et J. MOUNIER (1987) suggèrent que l'antibiothérapie est préconisée pour les immunodéprimés, en cas de bactériémie et enfants atteints de forme extra-digestive et aux fièvres typhoïdes. Par ailleurs M. LALANDE et al (2005) proposent que le traitement doit être discuté dans certaines formes cliniques (diarrhée sanglante de plus 24 heures, fièvre élevée prolongée, douleur abdominales sévères...). La majorité des auteurs préconisent ainsi les Céphalosporines de troisième génération et les Fluoroquinolones contre les salmonelles. Cependant l'Ampicilline, les Tétracycline la Colistine, les Sulfamides et le Triméthoprime sont généralement actifs contre les Shigelles. Dans notre étude on a remarqué que lors de Salmonelloses et Shigelloses l'antibiogramme est effectué systématiquement par le laboratoire de Tizi Ouzou.

**les résistances aux antibiotiques** demeurent un déficit à relever, pour les shigelles ; la résistance aux sulfamides et à la Streptomycine sont les plus fréquentes (B. JOLLY et, 2003). Par ailleurs les résistances des *Salmonella* sont rapportées par plusieurs auteurs (O.J. PERDOMO et al, 1994. F AILAL et al, 2004. M LAMANDE et al, 2005). Les taux des résistances de *Salmonella* Enteridis et *Salmonella* Typhimurium sont respectivement de 7 et 62% pour Chloramphénicol, 7 et 64% Ampicilline, 3 et 12% pour le Triméthoprime-sulfaméthoxazole contre 2 et 10% pour Céphalosporines de troisième génération et seulement 0 et 1% pour la Fluoroquinolone. Cependant (WE KEENE, JAMA, 1999) rapportent que l'utilisation des antibiotiques dans des fermes (traitement des animaux d'élevage) est à l'origine ou facteur de croissance des résistances une pratique condamnée par OMS, ainsi la pression de sélection des antibiotiques exercée au niveau du tub digestif favorise l'émergence des souches résistantes (F.AILAL et al, 2004).

**-Recommandations ;** Selon les résultats des enquêtes la majorité des médecins recommandent ; une bonne hygiène de vie, hygiène alimentaire, la nécessité de contrôle bactériologique des aliments et de l'eau, la prise en charge lors de consultation pour motif de diarrhée même mineures, la nécessité de la sensibilisation de la population (éducation sanitaire au niveau des collectivités), contrôle des restaurants collectifs et commerciaux. Ce qui est recommandé par plusieurs auteurs (L Le MINORD et al, 1982. B JOLLY et al, 2003. F. ALIAL et al, 2004).

**-En conclusion**

Les diarrhées d'origine infectieuse causées par les salmonelles et les shigelles, demeurent toujours un problème de santé public, dans la région de Tizi Ouzou, de fait que le nombre important des cas de diarrhée. 20 % des diarrhées étaient bactériennes ; les salmonelles et les shigelles sont importantes avec 47 cas enregistrés. La majorité des salmonelloses et shigelloses sont retrouvées chez les petits enfants, les nourrissons, et les personnes âgées, surtout en périodes estivales et chaudes (Eté et Automne)

Les zones urbaines et sub-urbaines sont les plus touchées, ce qui met en évidence les repas incriminés, dont les repas pris dans des restaurants collectifs, et ceux des restaurants commerciaux qui sont les plus incriminés. Ainsi les produits carnés, et les produits laitiers semblent être la source principale des infections aux salmonelles et Shigelles.

Le diagnostic repose essentiellement sur la coproculture, qu'est est considérée comme la technique de choix pour l'identification et l'isolement des *Salmonella* et *Shigella*. Ainsi les sérotypes les plus isolés sont *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*. En ce qui concerne les *Salmonella* seule *Salmonella* Enteridis a pu être identifiée.

Le traitement repose essentiellement sur un traitement symptomatique ; réhydratation, l'antibiothérapie reste réservé à certaines conditions ; dans les formes graves systémiques, chez les nourrissons moins de 6 mois et chez les immunodéprimés, dans certaines formes extra-digestives.

L'hygiène alimentaire reste sans aucun doute, le moyen le plus important, pour prévenir des salmonelloses et des shigelloses, Ainsi notre comportement alimentaire et notre hygiène de vie doivent être revue constamment, afin d'apporter une amélioration

Il est important de veiller au contrôle bactériologique alimentaire en amont, et au niveau des unités de production avicole, bovine, à l'utilisation des procédés hygiénique (pasteurisation, stérilisation, la chaîne de froid) afin de limiter le nombre des bactéries dans les denrées

alimentaires. En outre l'éducation sanitaire est un bon moyen pour lutter contre ces infections grâce à la sensibilisation de la population sur les dangers et les risques liés aux aliments.

## **E. RECOMMANDATIONS :**

Le moyen le plus efficace pour lutter contre les Salmonelles et les Shigelles est le respect des règles d'hygiène et des inspections régulières des restaurants à caractère social et commercial ainsi que le contrôle alimentaire au niveau des unités de production, sur l'étalage et chez les consommateurs.

Cependant les défis de lutte contre les Salmonelles et les Shigelles sont

1. la large distribution des aliments d'où il faut exiger un contrôle rigoureux, et de proposer des normes pour les produits locaux et de l'importation.
2. la traçabilité ; la complexité des chaînes de la distribution et/ou l'absence de marqueur identifiant peuvent rendre extrêmement difficile la détermination de l'origine des aliments d'où il faut exiger la traçabilité et de la généralisée.
3. La résistance aux antibiotiques car les souches sont plus en plus résistantes d'où il faut une utilisation rationnelle et conditionnelle pour tout les traitements.
4. développer une masse critique de compétence et créer un Centre épidémiologique spécialisé, afin de faire un sérotypage systématiques de toutes les épidémies, et des suivies (sérotipe épidémiologique).

### **La prévention aux niveaux des restaurants collectifs et commerciaux :**

- Le respect des bonnes pratiques de transport, de stockage et de préparation des repas.
- Le stockage des oeufs en chambre froide; la coquille des oeufs doit être propre et intacte.
- Le lavage des oeufs avant stockage est une mesure nuisible à leur bonne conservation.
- Les mayonnaises industrielles, les écoulements d'oeufs pasteurisées et les poudres d'oeufs doivent être utilisés préférentiellement.
- Les préparations à base d'oeufs sans cuisson (mayonnaises, crèmes,...) doivent être fabriquées le plus près possible du moment de la consommation et maintenues au froid.

- Les préparations qui supportent mal l'ébullition doivent être pasteuriser à une température d'au moins 70°C.

### **Prévention en restauration familiale**

- § - Conserver les oeufs au réfrigérateur (+4°C)
- § - Pour les personnes les plus vulnérables (les personnes âgées, malades, les bébés et les femmes enceintes), il est recommandé de ne pas consommer d'oeufs crus ou peu cuits (une cuisson complète doit rendre fermes le blanc et le jaune).
- § - Cuire soigneusement les volailles : une cuisson au four à 200°C pendant une heure suffit à éliminer les salmonelles. Les escalopes de volaille doivent être cuites soigneusement ainsi que les préparations à base de volaille cuites au barbecue.
- § - Respecter la chaîne du froid.
- § - Prévenir la contamination croisée en conservant les aliments crus séparément des aliments cuits ou prêts à être consommés.
- § - Se laver les mains après la manipulation de volailles non cuites et nettoyer les ustensiles de cuisine qui ont été en contact avec ces aliments.
- § - Nettoyer régulièrement le réfrigérateur avec de l'eau javellisée.

L'éducation sanitaire reste un bon moyen pour lutter contre ces infections, par la sensibilisation sur les dangers, les moyens de lutte et les conduites à tenir.

Consultation de médecins lors des problèmes de diarrhées, et éviter l'automédication.



#### **IV. PERSPECTIVES**

C'est vrais durent cette étude on est arrivé à trouver quelque réponses pour l'épidémiologie des salmonelles et shigelles mais hélas, se n'est qu'une petite ébauche de l'épidémiologie, nos perspective sont les suivantes :

- Elargir cette étude dans l'espace et dans le temps ; sur tout le territoire de l'Algérie, et pour une duré d'au moins 3 ans.
- Travailler en équipe pluridisciplinaires pour étudier tous les facteurs au même temps.
- Etudier le pouvoir pathogène, sur le plan génétique et sur le **plan biochimique**.
- Travailler sur l'écologie bactérienne des salmonelles et des shigelles.
- Travailler sur le conflit entre la bactérie et la cellule hôte (la pathogénie), pour estimer le danger, et de contrôler son pouvoir pathogène en amont.
- Développer des procédés biologiques qui vont limiter ou supprimer le pouvoir pathogène des *Salmonella* et *Shigella*.



## V. CONCLUSION GENERALE

Les Salmonelles et les Shigelles demeurent toujours un problème d'actualité ; il ne s'agit, en aucune manière, d'un combat d'arrière-garde. Elles sont parmi les premières causes connues des toxi-infections alimentaires collectives, et constituent un réel problème de santé publique.

Au niveau sanitaire et économique, elles ont une importance cruciale, étant données les pertes humaines qu'elles engendrent, un des faits marquants à noter est la constante adaptation de ces bactéries vis-à-vis des conditions de milieu environnant. A priori, ces bactéries auront tendance à survivent dans toute une variété d'aliments.

La population vieillissant de plus en plus, suite à l'amélioration des conditions d'hygiène et des pratiques médicales, les humains peuvent devenir plus sensibles vis-à-vis de ces germes pathogènes (*Salmonella Shigella*) présent dans notre alimentation.

Le challenge de 21<sup>em</sup> siècle sera donc d'offrir à ses habitants une alimentation variée, équilibrée et la plus saine possible. Il faudra promouvoir des démarches intégrées d'analyse de risque, pour le caractériser et assurer la communication auprès des consommateurs, afin que ce dernier soit conscient du niveau de risque lié à ce qu'il mange. Ces démarches doivent reposer sur un partenariat entre les institutions privées et publiques et les organisations de consommateurs.

Les systèmes officiels de surveillance des zoonoses devront être renforcés, pour permettre le recueil de données épidémiologiques essentielles, en vue de mieux axer la prévention et l'information. Les efforts doivent être prioritairement concentrés, dans les secteurs les plus en amont, par apport au stade de la distribution et de la consommation.

En fin une meilleure connaissance de l'écologie des *Salmonella* et *Shigella* s'avère une étape importante pour atteindre ces objectifs.

# ANNEXES

Annexe des tableaux

<b>Numéro de tableau</b>	<b>Le titre</b>	<b>La page</b>
Tableau (1)	<b>bacille Gram négatif responsables de diarrhées et dysenteries</b>	<b>9</b>
Tableau (2)	<b>Aspect des colonies de <i>Shigella</i> sur les milieux d'isolement</b>	<b>26</b>
Tableau (3)	<b>principaux caractères biochimiques différentiel des <i>Shigella</i></b>	<b>26</b>
Tableau (4)	<b>Le tableau de Kauffmann-White</b>	<b>38</b>
Tableau (5)	<b>Le nombre des malades diarrhéiques selon l'âge</b>	<b>77</b>
Tableau (6)	<b>La fréquence des malades diarrhéiques selon l'âge</b>	<b>78</b>
Tableau (7)	<b>Le nombre de cas diarrhéiques d'origines bactériennes selon l'âge</b>	<b>79</b>
Tableau (8)	<b>La fréquence de cas diarrhéiques d'origines bactériennes selon l'âge</b>	<b>80</b>
Tableau (9)	<b>Représentation des <i>Salmonella</i></b>	<b>81</b>
Tableau (10)	<b>Représentation des <i>Shigella</i></b>	<b>82</b>
Tableau (11)	<b>La fréquence des diarrhées d'origine bactériennes selon les saisons</b>	<b>83</b>
Tableau (12)	<b>La fréquence des <i>Salmonella</i> selon les saisons</b>	<b>84</b>
Tableau (13)	<b>La fréquence des <i>Shigella</i> selon les saisons</b>	<b>85</b>
Tableau (14)	<b>La fréquence des sous espèces des <i>Shigella</i></b>	<b>86</b>
Tableau (15)	<b>Les fréquences des germes bactériens responsables des diarrhées</b>	<b>87</b>
Tableau (16)	<b>la fréquence des réponses sur les diarrhées</b>	<b>89</b>

	<b>selon les zones</b>	
<b>Numéro de tableau</b>	<b>Le titre</b>	<b>La page</b>
<b>Tableau (17)</b>	<b>La fréquence des réponses sur les diarrhées selon les saisons</b>	<b>90</b>
<b>Tableau (18)</b>	<b>Les repas les plus incriminés dans des diarrhées selon les réponses des médecins</b>	<b>91</b>
<b>Tableau (19)</b>	<b>les produits alimentaires les plus incriminés selon les réponses des médecins</b>	<b>92</b>
<b>Tableau (20)</b>	<b>la fréquence des réponses sur l'âge des malades diarrhéiques</b>	<b>93</b>

Liste des abréviations

**Ail : Adhésion-invasion-locus**

• : Alpha

**ARN : Acide Ribonucléique**

**ATP : Adenosine-Tri-Phosphate**

**ATPase: Phosphotyrosine Phosphatase**

• : Bêta

**FAE : Follicle Associated Epithelium**

**IL : Interleukine**

**INF : Interféron**

**Ipa : Invasion plasmid antigen**

**Irp : Iron repressible protein**

**Kb : Kilo base**

**KDa : Kilo Dalton**

**Lfp : Long polar fimbriae**

**Lps : Lipopolysaccharide**

**MDa : Méga Dalton**

**Mxi-Spa : Appareil de sécrétion des protéines**

**ON: Oxyde d'Azote**

**SCV: *Salmonella* Containing Vacuol**

**Sip: *Salmonella* invasion protein**

**Sop: *Salmonella* outer protein**

**SPI: *Salmonella* Pathogénicité Island**

**SPV: *Salmonella* Plasmid Virulence**

**SSP: *Salmonella* Serotype Specific**

**Syc: *Salmonella* yop chaperon**

**TSI : Triple Sugar Iron**

**Yop: *Yersinia* outer membrane protein**

Annexe des Figures

N° de Figure	Le Titre	La page
Figure (1)	schéma récapitulatif des différentes étapes de l'infection à <i>Shigella</i>	5
Figure (2)	mécanisme d'invasion des cellules épithéliales par <i>Shigella</i> et <i>Salmonella</i>	11
Figure (3)	Représentation schématique de l'adhésion de <i>Shigella flexneri</i> à la cellule épithéliale	13
Figure (4)	mécanisme de sécrétion des protéines effectrices via l'appareil sécrétoire de type III	16
Figure (5)	Mécanisme de la mort cellulaire par <i>Shigella</i>	21
Figure (6)	Un jeune enfant atteint de KWASHIORKOR (un syndrome secondaire à un déficit protéique sévère) après une dysenterie à <i>Shigella</i>	29
Figure (7)	Système d'invasion de <i>Salmonella Typhimurium</i>	52
Figure (8)	Mécanisme de la mort cellulaire par <i>Salmonella</i>	53
Figure (9)	Les étapes de l'infection à <i>Salmonella Typhimurium</i> chez la souris	55
Figure (10)	Isolement des <i>Salmonella</i> par la coproculture	57
Figure (11)	Procédure d'isolement de <i>Shigella</i> à partir des selles	71
Figure (12)	Procédure d'isolement de <i>Salmonella</i> à partir des selles	72
Figure (13)	Méthode d'ensemencement d'une boîte pour l'isolement de <i>Shigella</i>	73
Figure (14)	Colonies de <i>Salmonella</i> sur Hektoen	73
Figure (15)	Réaction typique de souches de <i>Shigella</i> sur KIA (pente alcaline et culot acide)	74
Figure (16)	Une couleur rose apparaît dans la réaction positive de l'uréase (tube de gauche)	74
Figure (17)	Les organismes positifs pour la Lysine Décarboxylase	75
Figure (18)	Une anse sert à déposer de petites quantités d'antisérum pour des tests d'agglutination sur lame	76
Figure (19)	Les sérums anti- <i>Shigella</i> vont agglutiner les souches du même Séro groupe/sérotipe	76

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

**ECOLE NATIONALE VETERINAIRE – ALGER**  
**Direction de la poste graduation**

**Etude de la prévalence des diarrhées d'origine alimentaire causées par les salmonelles et Shigelles.**

**Questionnaire**

Question 1 Depuis quand exercez vous la médecine ?.....  
.....

Question 2 Dans quelle région exercez vous ?.....  
.....

Question 3 Avez-vous rencontré des cas de diarrhée d'origine alimentaire causée par salmonelles et/ou Shigelles ?

Oui

Non

Si oui : à quelles fréquence ?

Forte

Moyenne

Faible

Question 4 Dans quelles zones sont fréquentes ?

Rurale

Sub-urbaine

Urbaine

Question 5 Dans quelles saisons sont fréquentes ?

Hiver

Printemps

Été

Automne

Question 6 Quels sont les repas les plus incriminés ?

Question 7	<b>Repas des restaurants collectifs</b>	<b>Repas familiaux</b>	<b>Repas des restaurants particuliers</b>
	Quels sont les produits alimentaires les plus impliqués ?		

<b>Laitiers</b>	<b>Carnés</b>	<b>Autres</b>
-----------------	---------------	---------------

Question 8 **Quelles sont les personnes les plus sensibles?**

<b>Bébés</b>	<b>Enfants</b>	<b>Adultes</b>	<b>Vieux</b>
--------------	----------------	----------------	--------------

Question 9 **A ce qu'il y a une différence de sensibilité entre le sexe féminin et masculin**

<b>Oui</b>	<b>Non</b>
------------	------------

Si oui : quel est le plus sensible ? .....

Question 10 **Quels sont les symptômes observés ?**.....  
.....  
.....  
.....

Question 11 **Quel est votre moyen de diagnostique ?**

<b>Clinique</b>	<b>Bactériologique</b>	<b>Autres</b>
-----------------	------------------------	---------------

.....

Question 12 **Traitement et conduite à tenir ?**.....  
.....  
.....  
.....  
.....  
.....

Question 13 **Quelles sont vos recommandations ?**.....  
.....  
.....  
.....  
.....





# Références Bibliographiques

**A. Abe , Takeshi Matsuzawa, Asami Kuwae.** Type-III effectors: Sophisticated bacterial virulence factors. In C.R. Biologies 328 (2005) 413-428.

**A. Friebel, H Ilchmann, M Aepfelbacher, K. Ehrbar, W. Machleidt, W.D. Hardt,** SopE2 from *Salmonella typhimurium* activate different sets of RhoGTPases of the host cell, *J. Biol. Chem.* 276 (2001). 34035-34040.

**A. GUICHON, D. Hersh, M.R. Smith and A. Zychlinsky,** Structure–function analysis of the *Shigella* virulence factor IpaB, *J. Bacteriol.* **183** (2001), pp. 1269–1276.

**ADMA T, ARPIN M, PROVOST MC, GOUNON P. and SANSONETTI P, J. (1995).** Cytoskeletal rearrangements and the functional role of T-plastin during entry of *Shigella flexneri* into hela cells. *J. Cell. Biol.*, 129: 367-381.

**ADJIDE CC, Perez JM, Nicolas M, Renac R, Juminer B.** Épidémiologie descriptive des salmonella isolées au CHU de Pointe-à-Pitre 1992–1995. *Méd Mal Infect* 1998;28:418–22.

**A.L. EDINGER and C.B. Thompson,** Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy, *Curr. Opin. Cell Biol.* **16** (2004), pp. 663–669.

**ACHESON D W K KEUSCH GT et al, (1990).** Enzyme-linked immuno-sorbent assay for Shigatoxine and Shigalik toxin II using PI glycoprotein from hydatid cysts. *J, Infect, Dis* 161: 143-147

**ADMA T, ARPIN M, PROVOST MC, GOUNON P. and SANSONETTI P, J. (1995).** Cytoskeletal rearrangements and the functional role of T-plastin during entry of *Shigella flexneri* into hela cells. *J. Cell. Biol.*, 129: 367-381

**ALIAGA L, Mediavilla JD, Lopez A.** Nontyphoidal salmonella intracranial infections in HIV infected patients. *Clinical infectious disease* 1997; 25(5):1118–20.

**ARCANGIOLI M.A., Leroy-Setrin S., Martel J.L., Chaslus-Dancla E.,** A new chloramphenicol and tetracycline resistance gene flanked by two integron structures in *Salmonella* Typhimurium DT104, *FEMS Microbiol Lett.* 174 (2) (1999) 327-332.

**ASTRUC J, Rodiere M.** Les salmonelloses en pédiatrie. *Méd Mal Infect* 1992; 22 :299–309.

**AUBEL D, FUSSENEGER M, (2000).** Les stratégies des bactéries pathogènes pour survivre dans l'organisme humain. In : Freney J, Renauld F, Hansen W, Bollet C, *précis de bactériologie clinique* Eska, Paris, 297-337

**BAUMLER A.J, KUSTERS J.G, STOJILJKOVIC I. and HEFFRONE F, (1994).** *Salmonella Typhimurium* loci involved in survival within macrophages infect. *Immun,* 62: 1623-1630.

**BAUMLER A.J, TSOLIS RM, FICHT T.A, and ADAMS L.G.** Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. Infect. Immun, (1998). 66:4579-4587.

**BAUMLER A.J, TSOLIS R. M, and HEFFRON F;** virulence mechanisms of *Salmonella* and their genetic basis. In: *Salmonella in domestic animals*. WRAY C and WRAY A CAB international publishing, 2000, pp : 57-72

**BEATRICE HAIMOVICH and MALABI M. VENKATESAN** *Shigella* and *Salmonella*: death as a means of survival: <sup>a</sup>Department of Surgery and the Cancer Institute of New Jersey, RWJMS-UMDNJ, New Brunswick, NJ 08903, USA. <sup>b</sup>Department of Enteric Infections, Walter Reed Army Institute of Research, Silver Spring, MD 20910, USA. Available online 7 October 2005

**BENJELLOUN TOUIMI Z, SI TAHAR M, MONTECUCCO SANSONETTI P.J, and PARSOT C ;** SepA, the 110 kDa protein secreted by *Shigella flexneri* : Two-domain structure and proteolytic activity. Microbiol, 1998, 14 1815-1822.

**BENNESON AS, Chin J.** In: Control of communicable diseases in man. Washington, DC: Breuil J, Casin I, Hanau-Bercot B, Dublanchet A, Collatz E. Troisième enquête nationale sur la sensibilité aux antibiotiques des salmonelles et shigelles: résultats de l'étude 2000 du collège de bactériologie, virologie et hygiène des hôpitaux. BEH 43. 2001.

**BERNARD JOLY et Alain Reynaud ;** Entérobactéries systématique et méthodes de diagnostic, Lavoisier, 2003.

**BERNARDINI ML, MOUNIER J, D'HAUTEVILLE H, COQUIS-RONDO M, and SANSONETTI PJ,** identification of *IcsA*, a plasmid locus *Shigella flexneri* which governs bacterial intra and intercellular spread through interaction with F-actin. Proc. Natl. sci. USA, 1989, 86 : 3867-3871.

**BEUZON C.R. UNSWORTHK ;** in vivo genetic analysis indicates that *phoP/phoQ* and the *Salmonella* pathogenicity Island 2 type III secretion system contribute independently to *Salmonella enterica* serovars *Typhimurium* virulence, Infect. Immun, 2001, 69 (12) : 7254.

**BLANC-POTARD AB and GROISMAN EA,** The *Salmonella* sp locus contains a pathogenicity island mediating intramacrophage survival. EMBO, (1997) : 16. 5376-5385.

**BLANC-POTARD AB, SOLMON F, KAYSER J. and GROISMAN E ;** The SPI3 pathogenicity island of *Salmonella enterica*, J Bacteriol, (1999), 18 : 998-1004.

**BLAK R E (1986)** pathogens that cause travel's diarrhea in Latin America and Africa. Rev infect, Dis, 8(sup2): 131-135.

**BORDERON JC, Astruc J, Begue P, et al.** Enquête prospective multicentrique sur les salmonelloses digestives en pédiatrie. Méd Mal Infect 1991;21:578-84.

**BOURDET-SICARD R, EGILE C, SANSONETTI PJ and TRAN VAN NHIEU G;** Diversion of cytoskeletal processus by *Shigella* during invasion of epithelial cells , microbesand infection, 2000, 2 : 813-819.

**BOUVET E, Hubert B.** Épidémiologie des salmonelloses mineures. RevPrat 1992;42(18).

**BOUVET PJM, Grimont PAD.** Données de surveillance du Centre National de Référence des Salmonella et Shigella, France 1997. In: Rapport épidémiologique annuel: épidémiologie des maladies infec-tieuses en France en 1997. Saint Maurice, France: Réseau National de Santé Publique; 1999. p. 87–90

**BOWE F, LIPPS CJ, TSOLIS RM, GROISMAN EA, KUSTERS JG and HEFFRON F,** At Least four percent of *Salmonella Typhimurium* genome is required for fatal infection of nice. Immun, (1998), 66 : 3372-3377.

**BRUNO SOULLIE a,\***, Laurence Bigois a, Jean-Michel Puyhardy a, Alexandra Kerleguer brole du laboratoire dans le di pistagede la resistance aux antibiotiquesi ides salmonelles non typhoidiques in dossier scientifique.2003. 33-38

**CARBON C.** Le traitement des salmonelloses. Revue du praticien 1990;4

**CASANOVA JL, Abel L.** Genetic dissection of immunity to Mycobacteria: the human model. Annu Rev Immunolo 2002;20:581–1562.

**CENTRES for Disease Control and Prevention Atlanta, Georgia 2002** In Méthodes de laboratoire pour le diagnostic de la dysenterie épidémique et du choléra

**CHAUD P, Guyonnet JP, Dabouineau L.** Les poulets achetés rôtis chez un traiteur, un mode de transmission des salmonelloses? Etude d'une toxi-infection alimentaire à *Salmonella typhimurium* survenue dans une commune de l'Hérault. BEH 1995;24:109–10.

**CNEN LM, KANIGA K, and GALAN JE;** *Salmonella* spp. Are cytotoxic for cultured macrophages, mol, microbiol, (1996), 21 : 1101-1115.

**CHU C, TSAI C, LIN WS, LIU TP, and OUJ T,** comparative physical and genetic maps of virulence plasmids of *Salmonella enterica* sérovars *Typhimurium*, *Enteridis*, *Chlerasuis* and *Dublin*. Infec, immun, (1999), 67 : 2611-2614.

**CHINA B., GOFFAUX F.** Secretion of virulence by *Escherichia coli*. Vet. Res., 1999, 30, 181-202.

**CORNELIS G.** Type III secretion: a bacterial device for close combat with cells of their eukaryotic host. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 2000, **355**, 681-693.

**CIRILLO DM, VALDIVIA RH, MONACK DM and FLAKOW S;** Macrophages dependent induction of *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion system and its role in intracellular survival, Mol, Microbiol, (1998), 30 :175-188.

**CNEN LM, KANIGA K, and GALAN JE;** *Salmonella* spp. Are cytotoxic for cultured macrophages, *mol, microbiol*, (1996), 21 : 1101-1115.

**COLLAZO CM, and GALAN JE,** The invasion associated type III protein secretion system and its role in intracellular survival. *Mol, Microbiol*, (1997), 192 : 51-59.

**COLLOQUE Pharmuka.** Les salmonelloses et leur pathologie. La lettre de l'infectiologie 1992;7(19).

**CURTISS R,** Bacterial conjugation *Ann.Rev.Microbiol*, 1969,23,69-136.

**CUZIN Ferrand L, Auvergnat JK.** Aspects cliniques des salmonelloses. *Rev Prat* 1992;42:2279–81.

**D.A. Nelson and E. White,** Exploiting different ways to die, *Genes Dev.* **18** (2004), pp. 1223–1226

**D. Hersh, DM. Monak, MR. Smith, N. Ghori, S. Falkow, A. Zychlinsky,** The *Salmonella* invasion SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 96 (1999) 2396-2401.

**DANNER RL. AND NATANSON C.(1995).** Endotoxin: a mediator of and potential therapeutic target for septic shock. In bacterial toxins and virulence factors in disease, Moss J, IGLESKI B, VAUGHAN M. and TU A. T MARCEL DEKKER. New York PP 589-614.

**DE GEYTER C , WATTIEZ R, SANONETTI PJ, FALMGNE P, RYSSCHAERT JM, PAROT C. and CABIAUX V.(2000).** Characterization of the interaction IpaD proteins required for entry of *Shigella flexneri* into epithelial cells, with a lipid membrane, *Eur. J. Biochem*, 267: 5769-5776

**DE VALK H, Delarocque-Astagneau E, Colomb G, Ple S, Godard E, Vaillant V, et al.** A community-wide outbreak of *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium* infection associated with eating a raw milk soft cheese in France. *Epidemiol Infect* 2000;124:1–7.

**DEBY C. (1991).** La biochimie de l'oxygène. *La Recherche*, 228 :56

**DEHIO C, PREVOST MC. AND SANSONETTI PJ .(1995).** Invasion of epithelial cells by *Shigella flexneri* induces tyrosine phosphorylation of cortactin by a pp60C. Src mediated signalling pathway. *EMBO*, 14: 2471-2482.

**DEIWICK J, NIKOLAUS T, ERDOGAN S. and HENSEL M.(1999).** Environmental regulation of *Salmonella* pathogenicity island 2 gene expression. *Mol. Microbiol*, 31:1759-1773.

**DELAROCQUE-Astagneau E, Desenclos JC, Bouvet P, Grimont PA.** Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* infections in children in France : a national case-control study. *Epidemiol Infect* 1998;121:561–7.

**DELAROCQUE-Astagneau E, Bouillant C, Vaillant V, Bouvet P, Gri-mont PA, Desenclos JC.** Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium* infections in children in France : a national case-control study. *Clin Infect Dis* 2000; 31:488.

**DIBB-FULLER M., ALLEN-VERCOE E., THORNS C., WOODWARD M.** Fimbriae- and flagella-mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *Salmonella enteritidis*. *Microbiology*, 1999, **145**, 1023-1031.

**DOUBLET B., BOYD D., MULVAYM., CLOECKAERTA.** The *Salmonella* genomic island is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*, 2005, in press.

**DUMENIL G, OLIVO JC, PELLEGRINI S, FELLOUS M, SANSONETTI PJ and TRAN VAN NHIEU G. (1998).** Interferon-alpha inhibits src-mediated pathway necessary for *Shigella* induced cytoskeletal rearrangements during entry into epithelial cells. *J. Cell*, 143 : 1003-1012.

**DUMENIL G, SANONETTI PJ and TRAN VAN NHIEU G. (2000).** Src tyrosine kinase activity downregulates Rho-dependent responses during *Shigella* entry into epithelial cells and stress fibres formation. *J. Cell. Science*, 113 : 71-80.

**DUPONT HL.** Nosocomial salmonellosis and shigellosis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1991;12:707-9.

**E. PILLY ;** maladies infectieuses, édition octobre 1997

**F. Ailal, A.A. Bousfiha, Z. Jouhadi, F. Adnane, A. Abid ;** les salmonelloses non typhoïdique chez l'enfant à propos de 41 cas, in *Médecine et maladies infectieuses* 34, p206-209, (2004).

**FRENEY J heri C, et al (1991).** Description and evaluation of the semi-automated 4-hour ATB 32 E method for identification of members of the family Enterobacteriaceae *J clin, Microbiol* 29 : 138-141

**FINLAY BB, FALKAW S. (1988).** Virulence factors associated with *Salmonella* species. *Microbiol. Sei*, 5(11) : 324-328

**FRENEY J, RENAUD F, HANSEN W and BOLLET C. (2000).** *Precis de bacteriologie clinique*. Ed .EsKA.PP : 1199-1135.

**FU Y and GALAN JE. (1998).** The *Salmonella Typhimurium* tyrosine phosphatase SptP is translocated into host cells and disrupts the actin cytoskeleton, *Mol. Microbiol*, 27 : 359-368.

**GENDREL D, Chalumeau M, Moulin F, Raymond J.** Fluoroquinolones in paediatrics : a risk for the patient or for the community ? *Lancet Infect Dis* 2003;3:537-46.

**GIANNASCA PJ, GIANNASCA KT, FALK P, GORDON JI and NEUTRA M,** regional differences in glycoconjugates and intestinal cells in nice : potential targets for mucosal vaccines, *American J. physiol*; 1994, 267: 1108-1121.

**GRENIER B. (1985).** Diarrhées aiguës infectieuses, p.289-310. In Pechère JC .(éd). les infections (2<sup>e</sup> éd). Edisem Inc. St Hyacinthe, Québec, Maloine SA, Paris.

**GRIMONT P., GRIMONT F., BOUVET P.** Taxonomy of the genus *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing :Oxon, 2000, 1-17.

**GROISEMAN E.A and OCHMAN H;** How *Salmonella* became a pathogen. Trends Microbiol ; 1997, 5 : 343-349.

**GROUPE** de travail scientifique de l'OMS. (1980). Infections intestinales dues à *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* et *Shigella*. Bull. de l' OMS 58 : 691-711.

**GUILLOTEAU LA, WALLIS TS, GAUTIER AV, MACINTYRE S, PLATT D and LAX A,** The *Salmonella* virulence plasmid enhances *Salmonella*-induced lysis of macrophages and influences inflammatory responses, *J Infect Immun*. 1996, 64 : 3385-3393.

**GUILG PA,** Virulence plasmids of *Salmonella* Typhimurium and other *Salmonella*, *Microb. Pathog*, 1990; 8 : 3-11.

**GUILLEMOT D, CARBON C.** Les salmonelloses : aspects thérapeutiques. *Rev Prat* 1992;42(18).

**GULIG PA, DANBARA H. GUINEY DG, LAX AJ, NOREL F and RHEN M,** Molecular analysis of the *Salmonella* virulence plasmids. *Mol Microbiol*, 1993, 7 : 825-830

**H.C. HA and S.H. Snyder,** Poly(ADP-ribose) polymerase is a mediator of necrotic cell death by ATP depletion, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96** (1999), pp. 13978–13982

**HAEGHEBERT S,** Le Querrec F, Delarocque-Astagneau E, Bouvet P. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1998. *BEH* 15. 2001.

**HAEGHEBERT S.,** Le Querrec E, Bouvet R, Gallay A, Espie E., Vaillant V., Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001, *Bull Epidemiol. Hebdo*. 50 (2002) 249-253.

**HAKANSSON S, GALYOV EF, ROSQVIST R and WOLF WATZ H,** the *Yersinia* YpkA Ser/ Thr kinase is translocated and subsequently targeted to the inner surface of the host cell plasma membrane. *Mol Microbiol*; 1996, 20 : 593-603.

**HALE EL** Genetic basis of virulence in *Shigella* *Spesises*. *Microbiol, Rev*, 1991, 55 : 206-224.

**HALL A,** Rho Gtpase and actin cytoskeleton, *Science*; 1998, 279 : 509-514.

**HAYWARD MC, CHIE E, and KORONAKIS V**, Membrane fusion activity of purified SipB, a *Salmonella* surface protein essential for mammalian cell invasion. *Mol, Microbiol*; 2000, 37: 227-739.

**HEDBERG CW, David MJ, White KE, MacDonald KL, Osterholm MT**. Role of egg consumption in sporadic *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* infections in Minnesota. *J Infect Dis* 1993; 167:107–11.

**HANSEN C., KNUDSEN K., JENSEN B., KJARSGAARD H**. Effect of meal feed and coarser grinding of elleted feed on productivity, microbiology, and physico-chemical properties in the gastro-intestinal tract of finishers. In: van der Wolf (Ed.), *Proceedings of the 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella and other Food Borne Pathogens in Pork*, Leipzig (Germany), September 2-5 2001. Addix : Leipzig, 2003, 106-108.

**HENSEL M, SHEA JE, RAUPACH B, MONACK D, FLAKOW S, GLESSON C, KUBO T and HOLDEN DW**, Functional analysis of operon genes encoding component of the type III secretion apparatus of *Salmonella* pathogenicity island 2. *Mol, Microbiol*, 1997; 24: 155-167.

**HENSEL M, SHEA JE, WATERMAN SR, MUNDY R, NI KOLAUS T, BANKS G, VAZQUEZ TORRES A, GLEFSON C, FANG FC and HOLDEN DW**, Genes encoding putative effector proteins of the type III secretion system of *Salmonella* pathogenicity island2 are required for bacterial virulence and proliferation in macrophages. *Mol, Microbiol*, 1998, 30: 163-174.

**HENSEL M, NIKOLAUS T and EGELSERRR C**; Molecular and functional analysis indicates a mosaic structure of *Salmonella* pathogenicity island2. *microbiol*, 1999, 31 : 489-498.

**HERSH D, MONACK DM, SMITH MR, GHORI N, FLAKOW S and ZYCHLINSKY A**, The *Salmonella* invasion SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 1999, 96 : 2326-2401.

**HUANG TC, Leu HH**. Clinical study of 78 cases of nontyphoid *Salmonella* bacteremia. *Changgeng Yi Xue Za Zhi* 1993;16:251–6.

**HUECK CJ (1998)**. Type III secretion systems in bacterial pathogens of animals plants. *Microbial, mol, bio, rev*, 62: 379-433.

**INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS *Salmonellae***. In: ICMSF (Ed.), *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional: London, 1996, 217-264.

**J.C. PATEL and J.E. Galan**, Manipulation of the host actin cytoskeleton by *Salmonella*—all in the name of entry, *Curr. Opin. Microbiol.* **8** (2005), pp. 10–15

**J.F.R. Kerr, A.H. Wyllie and A.R. Currie**, Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, *British Journal of Cancer* **26** (1972), pp. 239–257.

**J.F. KOTERSKI, M. Nahvi, M.M. Venkatesan and B. Haimovich**, Virulent *Shigella flexneri* causes damage to mitochondria and triggers necrosis in infected human monocyte-derived macrophages, *Infect. Immun.* **73** (2005), pp. 504–513.

**J. L. AVRIL, H. DABERNAT, F. DENIS, H. MONTEIL**; bactériologie clinique, édition marketing, ledele, ellipses, 1988.

**J.S. Kim, L. He and J.J. Lemasters**, Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **304** (2003), pp. 463–470.

**J. SAVILL and V. Fadok**, Corpse clearance defines the meaning of cell death, *Nature* **407** (2000), pp. 784–788

**JEPSON MA and CLARK MA**, Studying M cells and their role in infection. Trends in Microbiol, 1998, 6 : 359-365.

**JONES B D, GHORI. And FALKOW S.(1994)**. Salmonella Typhimurium initiates murine infection by penetrating and destroying the specialized epithelial M cells of the Peyer's patches. *J. Exp.Med* , 180 :15-23.

**JONES M., WIGLEY P., PAGE K., HULME S., BARROW P.** The role of Type-III secretion in the virulence of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum and *Salmonella enterica* serovar Pullorum. In: Colin P., Clement G. (Eds.), Proceedings of International *Salmonella* and Salmonellosis, 29-31 may 2002, Ploufragan, France. Zoopole développement: Ploufragan, 2002. Ispaia : Ploufragan, 2002, 145-149. pre-harvest and harvest control options based on epidemiologic, diagnostic and economic research. Final report to European Commission of Project FAIR1 CT95- 0400, 2000, 251 p.

**JONES B D. and FALKOW S (1996)**. Salmonellosis : host immune responses and bacterial virulence determinants .*Annu.Rev.Immunol*, 14 : 533-561.

**JUNOD c, (1981)** recherché des salmonella et Shigella par coproculture. Problème techniques et difficultés conjoncturelles. Méthodologie et résultats, feuillet de biologie 22 : 29-39.

**K.H. Darwin and V.L. Miller**, Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa, *Clin. Microbiol. Rev.* **12** (1999), pp. 405–428

**KAZAM a H., Kizu K., Iwasaki M., Hamashima H, Saeatsu M., Arai 1".**, Isolation and structure of a new integron that includes a streptomycin resistance from the R plasmid of *P.seudomonas aeruginosa*, *FEMS Microbiol. Lett.* 134 (1995) 137-41.

**KETYI I, Malovies I, Vertenyi A. et coll,** Heat stable enterotoxin produced by shigella flexner Acte microbial. Aead. Sei.hung, 1978,25,165-171.

**KEUSCH G T, Grady GF Takachi AT.et coll,** the pathogenesis of Shigella diarrhea. J. infect. Dis ,1972,126,92-95.

**KANIGA K, TROLLINGER D.and GALAN J E.(1995).** Identification of two targets of the type III protein secretion system encoded by the inv and spa loci of Salmonella Typhimurium that have homology to the Shigella IpaD and IpaA proteins . J.Bacteriol, 177: 7078-7085.

**KANIGA K,URALIL J.BLISKA J.B. and GALAN J E.(1996).**A secreted protein tyrosin phosphatase with modular effector domains in the bacterial pathogen Salmonella Typhimurium .J.Bacteriol, 21 : 633-641.

**KEUSCH G T et THEA D M (1999).** Les bacteries enteriques pathogènes invasives et responsables de lésions tissulaires : diarrhées sanglantes et dysenterie. In :Microbiologie et pathologie infectieuse. SCHECHTER M, MEDOFF G. et EISENSTEIN BI.Ed.De Boeck.PP : 268-269.

**KITA E,KAMIKAIDOU N, NAKANO A.and KASHIBA S.(1993).** Isolation of a cytotoxin from L- form Salmonella Typhimurium.FEMS Microbiol. Lett, 109 : 179-184.

**KOPECKO D. Typhoid Salmonella.** In: Miliotis N.,Bier J. (Eds.), International Handbook of Foodborne pathogens. Marcel Dekker: New York, 2003, 151-165.

**KORSAK N., JACOB B., GROVEN B., ETIENNE G.,CHINA B., GHAFIR Y., DAUBE G.** Salmonella contamination of pigs and pork in an integrated pig production system. J. Food Prot., 2003, 66, 1126-1133. Microbiol., 1999, 37, 1661-1669.

**KORSAK N, CLINIQUART, DAUBE G. (2004)** Salmonella spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique. Ann méd vét, 2004, 148. 174-193.

**KUBORI T, MATSUSHIMA NAKAMURA D, URALIL J, LARA-TAJERO M,SUKHAN A,GALAN J E. and AIZAWA S.I (1998)** Supramolecular structure of the Salmonella Typhimurium type III protein secretion system.Science. 280 : 602-605.

**L.D Hernandez, M. Pypaert, R.A Flavell. J.E Galan,** A Salmonella protein causes macrophage cell death by inducing autophagy. J. Cell Biol. 163 (2003) 1123-1131.

**L.J. Hathaway, G.E. Griffin, P.J. Sansonetti and J.D. Edgeworth,** Human monocytes kill *Shigella flexneri* but then die by apoptosis associated with suppression of proinflammatory ---cytokine production, *Infect. Immun.* **70** (2002), pp. 3833–3842.

**L.Le Minor, Sansonetti Ph, Richard C, Grimont F,Mollaret H.H, Bercovier H. and Alonso JM.(1989).**Entérobactéries, p. 389-472. In Le Minor L.Véron M.(éds.) Bactériologie médicale,Flammarion , Paris.

**L. Le Minor and Richard C. (1993).** Shigella. In Méthodes de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries, Institut Pasteur, Paris, 72-78.

**LEE SC, Yang PH, Shieh WB, Lasserre R.** Bacteremia due to non-typhi *Salmonella* : analysis of 64 cases and review. Clin Infect Dis 1994;19:693-6.

**LEE WS, Puthucheary SD, Boey CC.** Non-typhoid *Salmonella* gastro-enteritis. J Paediatr Child Health 1998;34:387-90.

**LEE WS, Puthucheary SD, Parasakthi N.** Extra-intestinal non-typhoidal *Salmonella* infections in children. Ann Trop Paediatr 2000; 20:125-9.

**LE MINOR L.** Genus III. *Salmonella*, In: Krieg N., Holt, J. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 1), Williams and Wilkins: Baltimore, 1984, 427-458.

**Léon Le MINORD, Michel VERON,** bactériologie médicale, FLAMMARION MEDECINE-SCIENCES, 1982.

**LIBBY S J, GOEBEL W , MUIRS, SONGER G. and HEFFRON F.(1990).** Macrophage killing is an essential virulence of *Salmonella* Typhimurium. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93 : 4197-4201.

**M.A. Jepson and M.A. Clark,** The role of M cells in *Salmonella* infection, *Microbes Infect.* 3 (2001), pp. 1183-1190.

**M. Lanlande, G. Guyon, C. Morin, M. Rodière, J. Astruc;** les infections à salmonelles chez l'enfant : étude rétrospective sur quatre ans, in *Archive de pédiatrie* 12 (2005), p23-27.

**MAKINO S, SAKAWA C, KAMATA K, KURATA T. and YOCHIKAWA M. (1986).** Avirulence determinant required for continuous reinfection of adjacent cells on large plasmid in *Shigella flexneri* 2a. Cell, 46 : 551-555.

**MARCUS S L. BRUMELL J H, (2000)** big virulence in small packages. *Microbes and Infection*, 2 : 145-156.

**MASCART F. and LOCHT C.(2000).** Les muqueuses, sources d'immunité Pour la science, 273 : 52-59.

**MAURELLI A T, BAURY B, D'HAUTEVILLE H T L. and SANSONETTI P G (1985).** Cloning of plasmid DNA sequences involved in invasion of HeLa cells by *Shigella flexneri*. Infect. Immun, 49 164-171.

**MAURELLI A T. and SANSONETTI P J. (1988).** Identification of chromosome gene controlling temperature regulated expression of *Shigella* virulence Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85 : 2820-2824.

**MEDOFF, SCHACHTER, EISENSTEIN** ; microbiologie et pathologie infectieuse, De boeck, Larcier s.a., 1999, université De boeck Paris, Bruxelles.

**MENARD R, SANSNETTI P J. PARSOT C.(1993).**Nom polar mutagenesi of the Ipa genes IpaB,IpaC and IpaD as effectors of *Shigella flexneri* entry into epithelial cells.J.Bacteriol, 175 : 5899-5906.

**MENARD R, SANONETTI PJ. And PARSOT C. (1994).** The secretion of the *Shigella flexneri* iPAinvasion is induced by the epithelial cell and controlled by IpaD.EMBO J,13 : 5293-5302.

**MENARD R .and SANSNETTI P J,(1996).** Signaux moléculaires induisant l'entrée des bactéries enteropathogènes dans les cellules épithéliales :convergence et paradoxes.Médecine/Sciences ,12 : 465-473.

**MEYER A,DEJANA J.and LECLERC H.(1994).**Cours de microbiologie générale : nouveau programme.Ed.Doin.PP : 64,284-310.

**MILLEMANN Y.(1998).** Le pouvoir pathogène des salmonelles :facteurs de virulence et modèles d' étude. Veterinary research,29 385-407

**MILLER CP, Bohnhoff M.** Changes in the mouse's enteric microflora associated with enhanced susceptibility to salmonella infection following streptomycin treatment. J Infect Dis 1963;113:59-66.

**MOLYNEUX EM, Walsh AL, Malenga G, Rogerson S.** Salmonella meningitis in children in Blantyre, Malawi, 1996-1999. Ann Trop Paediatr 2000 Mars;20(1):41-4.

**MONACK D M,RAUPACH B, HROMOCKYJ A E, and FALKOW S.(1996).**Salmonella typhimurim invasion induces apoptosis in infected macrophages. Proc.Nath.Sei.USA, 85: 2820-2824.

**MOUNIER J, LAURENT V, HALL A, FORT P, CARLIER M F, SANSONETTI PJ and EGILE C. (1999).** Rho family GTPases control entry of *Shigella flexneri* into epithelial cells but not intracellular motility, J, C ell. Sci, 112

**MUSHER DM ,Hamill RJ, Ladinsky MR, Winsor DK. And Baughn E. (1990).**Acute glomerulonephritis due to *Shigella flexneri* dysentery With demonstration of a virulence protein of *Shigella* in circulating immune complexes.J. Infect. Dis. 161 : 366-367.

**N. Holler, R. Zaru, O. Micheau, M. Thome, A. Attinger, S. Valitutti, J.L. Bodmer, P. Schneider, B. Seed and J. Tschopp,** Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule, *Nat. Immunol.* 1 (2000), pp. 489-495.

**N.N. Danial and S.J. Korsmeyer,** Cell death: critical control points, *Cell* 116 (2004), pp. 205-219.

**NEUTRA M R. (1998).** M cells in antigen sampling in mucosal tissues, In : Deffense of mucosal surfaces : Pathogenesis, immunity and vaccins. K R. UHL J. and NEUTRA M R. Curent topies in Microbiologie and Immunologie and Immunologie springer verlag, Bberlin. PP : 17-32.

**O.J. Perdomo, J.M. Cavaillon, M. Huerre, H. Ohayon, P. Gounon and P.J. Sansonetti,** Acute inflammation causes epithelial invasion and mucosal destruction in experimental shigellosis, *J. Exp. Med.* **180** (1994), pp. 1307–1319.

**OCHMAN H, SONCCINI F. and GROISMAN EA.(1996).** Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93** : 7800-7801.

**OH Y K, ALPUCHE-ARANDA C, BERTHIAUME E, MILLER S I and SMANSON J A.(1996).** Rapid and complete fusion of macrophage lysosomes with phagosomes containing *Salmonella* Typhimurium. *Infect. Immun.* **64**: 3877-3883.

**Olivier Blon;** une salmonellose peut en remplacer une autre, in la recherche **339**, p38-39, 2001.

**P.J. Sansonetti, D.J. Kopecko and S.B. Formal,** *Shigella sonnei* plasmids: evidence that a large plasmid is necessary for virulence, *Infect. Immun.* **34** (1981), pp. 75–83.

**P.J. Sansonetti and J. Mounier,** Metabolic events mediating early killing of host cells infected by *Shigella flexneri*, *Microb. Pathog.* **3** (1987), pp. 53–61.

**P.J. Hume, E.J. McGhie, R.D. Hayward and V. Koronakis,** The purified *Shigella* IpaB and *Salmonella* SipB translocators share biochemical properties and membrane topology, *Mol. Microbiol.* **49** (2003), pp. 425–439

**P.L. Clerc, A. Ryter, J. Mounier and P.J. Sansonetti,** Plasmid-mediated early killing of eucaryotic cells by *Shigella flexneri* as studied by infection of J774 macrophages, *Infect. Immun.* **55** (1987), pp. 521–527

**PANDA C S, Rileley et al,** (1990). Composition of alkaline phosphatase-conjugated oligonucleotide DNA probe with the sereny test for identification of *Shigella* strains. *J. clin. Microbiol* **28**, 2122-2124

**PAPPO J. and OWEN P L.(1988).** Absence of secretory component expressions by epithelial cells overlying rabbit gut-associated Lymphoid tissues. *Gastroenterology*, **95** :1173-1177.

**PAVIA AT, Shipman LD, Wells JG, Puhr ND, Smith JD, McKinley TW, et al.** Epidemiologic evidence that prior antimicrobial exposure decreases resistance to infection by antimicrobial-sensitive *Salmonella*. *J Infect Dis* **1990**;161:255–60.

**PIOY M.C., Denis E,** Les integrons : un système original de capture de gènes chez les bactéries, *Médecine. Sci.* **16** (2000) 256-259.

**PNNGAULT E M (1999).** Cell development and Function in physiology and disease. GUEST Editor Seminars in Immunology, 11: 155-224.

**POILARD D R, Johnson WM ET AL, (1990).** Differentiation of Shigatoxine and Verocytotoxine type 1 genes by polymerase chain reaction. The J, of infect, Dis 162: 1195-1198.

**POIREL L, GUIBERT M., Bellai,s S, Naas T., ordmann P.,** Integron- and carbenicillinase-media- ted reduced susceptibility to amoxicillin-clavulanic acid in isotetes of multidrug-resistant *Salmonella enterica* ,serotype Typhimurium DT104 from French

**R.S. Sloviter,** Apoptosis: a guide for the perplexed, *Trends Pharmacol. Sci.* **23** (2002), pp. 19–24

**RAPPORT EUROPEE** sur les maladies transmissibles. (2004) ; in euro surveillance ; Salmonella : un vieux pathogène qui gêne encore.

**RAPPORT D'ACTIVITE (1999)** PRINCIPAUX FAIT MARQUANTS ; centre national de référence *salmonella* et *shigella* de l'Institut Pasteur de Paris.

**RATHMAN M, BARKER L P. and FALKOW S. (1997).**The unique trafficking pattern of Salmonella Typhmurim containing phagosomes in murine macrophages in dependent of the mechanism of bacterial entry.Infect.Immun, 65 : 1475-1485.

**RICHTER-DAHLFORS A,BUCHAN A M J. and FINLAY B B.(1997).** Murine Salmonellosis studied by confocal microscopy :Salmonella Typhimurim resides intracellularly in side macrophages and exerts acytotxie phagocytes in vivo. J. Exp. Med. 186 : 569-580.

**RIDLEY, A., and E. J. Threlfall. 1998.** Molecular epidemiology of antibiotic esistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella typhimurium DT104*.Microbial Drug esist. **4**:113–118.

**ROGERIE f (1984).** Identification rapide des shigella isolées par coproculture. Le Technicien Biologiste 10 : 1195-1198.

**RUIZ M, Rodriguez JC, Elia M, Royo G.** Extra-intestinal infections caused by non-typhi *Salmonella*serotypes. 9 yrs' experience. Enferm Infec Microbiol Clin 2000;18:219–22.

**S. Kernbaum ;** éléments de pathologie infectieuse 6<sup>eme</sup> édition, RHONE-POULENC RORER, SIMEP/MASSON, Paris, 1996.

**SANSONETTI PJ. (1997a).**Shgellose,p. 542-545.In Dabernat H, Petitjean O, Schlemmer B,Stahl JP, Weimbreck P.(EDS.) Infectiologie de A à Z, Arnette, Paris.

**SANSONETTI P J.(1997b).** Bases moléculaires et cellulaires de l'invasion des cellules épithéliales intestinales par Shigella flexneri .comptes rendus de l'Academie des Seviences de Paris, Sciences de la vie, 320 :729-734

**SANSONNETTI P J.(2000 a).**Bactéries et apoptose : Pourquoi des bacteries programment –elles la mort de leur cellule hôte ?.Annal de l' institut Pasteur.

**SANSONNETTI P I. (2000 b).**Shigella : de la rupture à l'invasion et à la destruction de l'épithélium colique. Presse médicale,29 : 2040-2041.

**SANSONNETTI P J. (2001).**Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal barrier by Shigella, making sense of prokaryote-eukaryote cross-talks.FEMS Microbiology reviews let, 25 : 3-14.

**SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH** Opinion of the SCVMPH on *Salmonellae* in Foodstuffs (adopted on 14-15 April 2003) [en ligne] Adresse URL : [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out66\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out66_en.pdf) Consulté le 07/06/04.

**SKUDY A,TRAN VAN NHIEU G,MANTIS N, ARPIN M,MOUNIER J, GOUNON P. and SANSONNETTI P J (1999).**A functional role for ezrin during Shigella entry into epithelial cells. J.Cell. Sci , 112 : 2059-2068.

**STHABUTR O, VENKATESAN M, et al (1993).** Detection of Shigella and Enteroinvasive E coli by amplification of the invasive plasmid antigen DNA sequence in patients with dysentery. J, infect, Dis, 167: 458-461

**SOUSSY CJ. and Duval J.(1985).** Les nouvelles quinolones :activité compare in vitro, p 25-43.  
In Pocard JJ, Vachon F, Régnier B.(eds.) Les nouvelles quinolones,Arnette, Paris.

**STRUELENS MJ,Patte D,Kabir I, Salam A, Nath SK and Butler T.(1985).**Shigella septicaemia : prevalence, presentation,risk factors, and outcome.J.Infect.Dis. 152 : 784-790.

**STEIN M A ,LEUNG K.Y, ZWICK M ,GARCIADDEL PORTILLO F. and FINLAY B B. (1996).**Identification of salmonella virulence gene required for formation of filamentous structures containing lysosomal membrane glycoproteins within epithelial cells. Mol. Microbiol,20 : 151-164.

**T.L. HALE,** Genetic basis of virulence in *Shigella* species, *Microbiol. Rev.* **55** (1991), pp. 206–224.

**T. SUZUKI, K. Nakanishi, H. Tsutsui, H. Iwai, S. Akira, N. Inohara, M. Hamillard, G. Nunez and C. Sasakawa,** A novel caspase-1/toll-like receptor 4 independent pathway of cell death induced by cytosolic *Shigella* in infected macrophages, *J. Biol. Chem.* **280** (2005), pp. 14042–14050

**TAKAYA,TOMOYASU T O ,TOKUMITSU A ,MORIOKA M . and YAMAMATO T.(2002).**The ATP dependent ion protease of Salmonella Typhimurium regulates invasion and expression of genes carried on Salmonella pathogenicity island . J. bacterio, 184(1) : 224-232.

**TAYLOR DN Echeverria p et al, (1988).** Clinical and microbiologie features of Shigella and enterovasive Escherichia coli infections detected by DNA hybridization. J, Clin Microbiol 26: 1362-1366.

**THABET L, Kaabachi O, Kechrid A.** Les salmonelles non typhoïdiques isolées à l'hôpital d'enfant de Tunis : sérologies et sensibilité aux antibiotiques. Rev Maghr Pédiatr 2001;7(2):71–6.

**THRELFALL E.J., Ward LR, Rowe B.,** Increasing incidence of resistance to trimethoprim and ciprofloxacin in epidemic *Salmonella* Typhimurium DT104, Eurosurveillance 2 (1997) 81-83.

**TRAN VAN NHIEU G, BAN ZE'EV A. and SANSONETTI P J.(1997).** Modulation of bacterial entry into epithelial cells by interaction between vinculin and the Shigella IpaA invasion. EMBOJ, 16 : 2717-2729.

**TRAN VAN NHIEU G. CARON E, HALL A. and SANSONETTI P J, (1999)** IpaC induces actin polymerization and filopodia formation during Shigella entry into epithelial cell. EMBOJ, 18 : 3249-3262.

**TRAN VAN NHIEU G. and OCIUS D M (2000).** Dialogue with invaders from extracellular space. Microbes and Infection, 2 : 791-792.

**TSUKITA S, OISHI K, SATO N, SAGARA J, KAWAI A, TSUKUITA S.(1994).** ERM family members as molecular linkers between the cell surface glycoprotein CD44 and actin-based cytoskeletons. J. Cell. Biol. 126 : 391-401.

**UCHIYA K, BARBIERI M A, FUNATO K, SHAH A H, STAHL P D and GROISMAN E A (1999).** A Salmonella virulence protein that inhibits cellular trafficking. EMBO, 18 : 3924-3933.

**VALDIVIA R H .and FAKOW S. (1997).** Fluorescence-based isolation of bacterial genes expressed within host cells. Science, 277 : 2007-2011.

**VIALLAT D. (1997).** Maladies des volailles, ed France agricole. Pp 243.

**W.D Hardt, LM Chen, KE. Schuebel, XR. Bustelo, JE. Galan, S** Typhimurium encodes an activator of rho GTPases that induces membrane ruffling and nuclear responses in host cells, Cell 93 (1998) 815-826.

**W.X. Zong, D. Ditsworth, D.E. Bauer, Z.Q. Wang and C.B. Thompson,** Alkylating DNA damage stimulates a regulated form of necrotic cell death, *Genes Dev.* **18** (2004), pp. 1272–1282.

**W. FIERS, R. Beyaert, W. Declercq and P. Vandenabeele,** More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage, *Oncogene* **18** (1999), pp. 7719–7730.

**WALLIS T S, PAULIN S M, PLESTED J S, WATSON P R .and JONES P W. (1995).**The Salmouella Dublin virulence plasmid mediates systemic but not enteric phases of salmonellosis in cattle.Infect.Immuni, 63 : 2755-2761.

**WATSON P R,GALYOV E E,PAULIN S M JONES P W .and WALLIS T S. (1998).**Mutation of inv H, but stn reduces Salmonella.Induced enterctis in cattle.Infect Immuni,66 : 1432-1438.

**WE.KEENE.** JAMMA, 281, 1845, 1999.

**ZAIDI E, Bachur R, Harper M.** Non-typhi Salmonella bacteremia in children. Pediatr Infect Dis J 1999 Dec;18(12):1073–7.

**ZHOU D, MOOSEKER M S and GALAN J E. (1999).** Role of the S. Typhimurium action-binding protein SipA in bacteria internalizatin. Science,283 : 2092-2095.