République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
École Nationale Supérieure Vétérinaire

ENSV
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE
ALGER

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Mémoire

En vue de l'obtention du
Diplôme de Master complémentaire en sciences vétérinaires

LES SALMONELLOSES AVIAIRES : ASPECT LESIONNEL ET ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES ISOLEES DANS LES ELEVAGES DE L'EST DE L'ALGERIE

Présenté par : SAYAH Asmaa

TAARKOUBT Khaoula

ZOUAMBI Halima

Soutenu le : 16 décembre 2017

Devant le jury composé de:

- Président : Mr KHALEF D.	Professeur .
- Promoteur : Mr MESSAI C R.	Maitre de conférences B.
- Examinateur 1: Mme AIT OUDHIA K.	Professeur.
- Examinateur 2 : Mr YEHYAOUI W I.	Maitre Assistante A.

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Au bout de 5 années de travail, voici enfin venu le temps des remerciements pour tous ceux sans qui cette thèse n'aurait pas pu être ce qu'elle est.

La louange et la gloire appartiennent au tout puissant miséricordieux ALLAH, c'est grâce à sa clémence que ce projet a pu être réalisé dans les meilleurs délais.

Nous remercions vivement notre encadreur Dr C. Messai pour sa patience, son esprit critique et constructif qu'il a partagé avec nous durant la réalisation de notre projet de fin d'étude. Nous vous remercions pour nous avoir guidés afin de ressortir le meilleur de nous-même dans le but d'atteindre des objectifs que nous n'imaginions pas en être capables ce jour.

Pr Khelef.D l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider le jury, mérite tous nos remerciements et notre profond respect.
Nous tenons à exprimer au Pr Ait Oudia.K toute notre gratitude pour avoir bien voulu juger ce présent travail.
Nous remercions également Mme. Yehyaoui W I. pour avoir accepté d'examiner notre modeste travail.
Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à tous les enseignants ayant joué de près ou de loin un rôle aussi petit soit-il. C'est grâce à vous que nous sommes passés en action, grâce à vous que nous avons eu cette expérience enrichissante et grâce à vous que nous avons pu gouter de la pratique, et nous vous assurons que ça a meilleur goût que celui de la pure théorie !
Un grand merci aux techniciens et travailleurs de l'ENSV d'Alger qui ont participé, durant les années passé dans cet établissement, au bon déroulement de nos activités pédagogiques.
A l'ensemble des étudiants de ENSV et en particulier à tous nos camarades de promotion que dieu vous garde et vous protège.

Dédicace:

Je commence par rendre grâce à dieu et à sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.

Avec tout mon cœur éternel et avec l'intensité de mes émotions.

Je dédie ce modeste travail à :

Mon cher père, Ma chère maman qui ont veillé à ce que je suis arrivé maintenant.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

*Mes frères et sœurs surtout mon grand frère **Abdelkader**.*

A mes neveux et nièces.

Que dieu vous protège et vous offre une vie pleine de joie bonheur et de réussite.

Toute ma famille oncles et tantes.

Mes cousins et cousines.

*Mes chers amis (**Sabinette, Souha, Imene Hanouchka, Farah, Nourhane, Bibia, Mouhamed, Anis, Nimo, Halla, Nawel, Hana**).*

Mes enseignants et mes collègues de l'ENSV.

*Mes chers binômes **Halima** et **Asmaa**. Que l'amour et la solidarité qui nous lient demeurent à jamais.*

*Une dédicace particulière à **Houssam**. Je te serais toujours reconnaissante car tu es spécial, merci pour ton soutient et tes conseils, que le dieu le tout puissant te bénisse sur tous les plans.*

Khaoula.

Dédicace :

Dieu tout puissant qui nous a donné la santé et le courage de mener à bien cette formation.

Je dédie ce modeste travail à :

***Mon père** ; considère ce travail le résultat de tes immenses sacrifices.je ne saurais comment te remercier pour mon éducation et ce courage que tu à m'inculquer afin que je sois celui que tu as toujours voulu que je sois. Merci Abi pour ta patience, ta douceur, tes conseils et tes encouragements lorsque j'étais en pleine difficulté.*

***Mama** ; la douceur de ton langage et la justesse de tes propos m'ont bercé depuis ma tendre enfance. Chaque jour, comme la rose s'épanouit au soleil, tes pensées guident mes pas. Mille mercis maman.*

***Mon frère Mohammed** et **ma sœur Djihad** ; que dieu vous protège et vous offre une vie pleine de joie, bonheur et de réussite.*

***Mes cousins et cousines** ; vous m'avez toujours traité avec considération tous mes respects.*

Toute ma famille.

*Toutes mes amies (**Imene, Rofaida, Nourhane, Haná, Farah et Ryma**) ; merci pour toutes ces années de complicité.*

*Mes chères binômes **Khaoula** et **Asma.** La richesse de notre parcours est inhoubliable.Que dieu bénisse notre amitié.*

Halima.

Dédicaces

Avec un très grand amour et beaucoup de respect, je dédie ce modeste travail, à la femme qui a tellement sacrifié pour moi, et qui mérite toute ma reconnaissance à ma très chère mère "FATIHA" que dieu la protège.

A celui qui m'a donné tout sans recule, à mon cher père, que dieu m'aide à lui rendre qui son dû et que dieu le protège

A mon frère MOHAMED,

A mes soeurs FATIMA , HAKIMA , ZAHIRA et MERIEM,

Et leurs maris SALAH, ALI , KARIM et HAMOUD,

A mes nièces et neveux,

A ma tante ZOULIKHA ,

A ma grand-mère FATMA , que Dieu l'accueille dans son paradis.

A toute ma famille SAYAH et SAHI,

A mon meilleur ami SOUHIL qui m'a énormément soutenu,

A ma meilleure amie et sœur MARWA,

A mes chers HALIMA et KHOULA,

A mes collègues étudiants de la promotion 2017,

A tous les enseignants de l'ENSV

A tout mes amis et à toutes les personnes qui m'aiment.

Asmaà.

SOMMAIRE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION……... 1

CHAPITRE I : Les salmonelles……..…….…….. 2

1. Historique……. 2

2. Définition…….. 2

3. Taxonomie…...……. 3

4. Caractères bactériologiques ……...... 3

4.1. Souches typiques de Salmonella ……... 3

4.1.1. Caractères culturaux ……..……... 3

4.1.2. Caractères morphologique…… 4

4.1.3. Caractères biochimiques ……..... 4

5. Propriétés antigéniques...……...…….. 5

5.1. Les antigènes somatiques O…… …….. 6

5.2. Les antigènes flagellaires H…….……. 6

5.3. Les antigènes capsulaires K ou Vi…….. 6

5.4. Les antigènes de surface F……..... 7

6. Habitat…….…… 7

7. Pouvoir pathogène et facteur de pathogénicité …….. 7

7.1. Pouvoir pathogéne…… 7

7.2. Facteur de pathogénicité…… 8

CHAPITRE II : **LES INFECTIONS A *Salmonella*……..** 10

1. Introduction……... 10

2. Historique …… 10

3. Définition……... 10

4. Importance économique et sanitaire…….. 10

5. Les infections à *Salmonella*…… 11

5.1. Pullorose…… 11

5.1.1. Définition…… 11

5.1.2. Etiologie……. 11

5.1.3. Epizoologie…… 11

5.1.4. Pouvoir pathogène……. 12

5.1.5. Sur le plan clinique ……... 12

5.16. Sur le plan lésionnel…… 13

5.1.7. Sur le plan microscopique…….. 13

5.1.8. Diagnostic …….. 13

5.1.9. Traitement…… 13

5.1.10. Prophylaxie…… 14

6.2. Typhose……. 14

6.2.1. Définition…… 14

6.2.2. Etiologie……. 14

6.2.3. Epizoologie…… 14

6.2.4. Pouvoir pathogène……. 15

6.2.5. Sur le plan clinique ……... 15

6.2.6. Sur le plan lésionnel…… 16

6.2.8. Diagnostic …….. 16

6.1.9. Traitement…… 16

6.1.10. Prophylaxie……. 16

7.3. Arizonae …… 17

7.3.1. Définition …… 17
7.3.2. Etiologie ……..17
7.3.3. Epizoologie……... 18
7.3.4. Pouvoir pathogène …… 18
7.3.5. Sur le plan clinique …… 18
7.3.6. Sur le plan lésionnel …….. 19
7.3.7. Diagnostic …….. 19
7.3.8. Traitement …….. 19
7.3.9. Prophylaxie…… 20

CHAPITRE III : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORESISTANCES…….. 21

1. Les antibiotiques…… 21

1.1 Introduction……..……..... 21

1.2. Historique…… …… 21

1.3. Définition……...…... 21

1.4. Caractéristiques…… 22

1.4.1. Toxicité sélective……..... 22

1.4.2. Spectre d'activité……. 22

1.5 Activité antibactérienne…….. ……. 22

1.5.1. La bactériostase (effet bactériostatique)…… 23

1.5.2. La bactéricide (effet bactéricide)…… …. …… 23

1.6. Classification……..... 23

1.7. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques…….. 23

1.7.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane (paroi)… …… 24

1.7.1.1. β-lactamines……... ... 24

1.7.1.2. Glycopeptides…… 24

1.7.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique……. 25

1.7.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome…… 25

1.7.2.1.1. Aminosides……. 25

1.7.2.1.2. Tétracyclines …… 26

1.7.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome…… 26

1.7.2.2.1. Chloramphénicol……. 26

1.7.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS)…….. 26

1.7.2.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G……. 26

1.7.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques…… 26

1.7.3.1. Sulfamides et triméthoprime……... 27

1.7.3.2. Quinolones…… 27

1.7.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles……..... 27

1.7.4. Antibiotiques agissant sur les membranes…… 27

1.7.4.1 Les Polymyxines…….. 27

2. L'ANTIBIORESISTANCE…… 28

2.1. Introduction……... 28

2.2. Historique…… 28

2.3. Définition……... 28

2.4. Les différents types de résistance…….. 28

2.4.1. La résistance naturelle……...….. 28

2.4.2. La résistance acquise……... 28

2.5. Biochimie de la résistance……... 29

2.5.1. Résistance croisée……. 29

2.5.2. Co-résistance……. 29

2.6. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques…… 29

2.6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique…… 29

2.6.2. Modification de la cible……. 30

2.6.3. Diminution de la perméabilité…….. ……. 30

2.6.4. Excrétion de l'antibiotique par efflux……. 31

2.7. Mécanisme génétique de la résistance..... 31

2.8. Conséquence de la résistance aux antibiotiques……. 31

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

1. Objectifs……. 32

2. Lieu et période de l'étude…… 32

3. Matériel et méthodes…….. 32

3.1. Matériel…….... 32

3.1.1. Echantillonnage et prélèvement……... 32

3.1.2. Milieux de culture…….. 33

3.1.3. Produits de laboratoire…….. 33

3.2. Méthodes…….. 34

3.2.1. Conduite expérimentale……... 35

3.2.2. Autopsie…… 36

3.2.3. Bactériologie……. 36

3.2.3.1. Isolement des *salmonelles*…… 36

3.2.3.1.1. Enrichissement……. 37

3.2.3.1.2. Ensemencement……... 37

3.2.3.2. Identification des *Salmonelles*…….. 37

3.2.3.2.1. Identification morphologique…… 37

a) Sur le plan macroscopique……. 37

3.2.3.2.2. Identification biochimique……. 38

3.2.3.2.2.1. Test des 3 sucres (TSI)……. 38

3.2.3.2.2.2 Identification biochimique par API 20^{E} …… 39

a) Principe……... 39

1) Test de la β-galactosidase (ONPG)……... 39

2) Test de lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH)……. 40

3) Test du citrate (CIT)…….. 40

4) Test de la production d'hydrogène sulfuré (H_2S)…….. 41

5) Test de l'urée (URE)…….. 41

6) Test de la Tryptophane désaminase (TDA)……... 41

7) Test de l'indole (IND)…… 41

8) Test de Voges-Proskauer (VP)…….. 42

9) Test de diffusion du pigment noir (GEL)…….. 42

b. Mode opératoire…… 43

b-1. Préparation de la galerie……. 43

b-2. Préparation de l'inoculum…….. 43

b-3. Inoculation de la galerie……. 43

c. Lecture de la galerie……... 44

d. Interprétation de la galerie……. 44

3.2.3.3 Antibiogramme……... . 44

3.2.3.3.1. Principe……... 45

3.2.3.3.2. Technique…… 45

A- Inoculum…… 46

B- Ensemencement……. 46

C- Application des disques d'antibiotiques……... 46

D- Incubation…….. 47

3.2.3.3.3. Lecture …… 47

III.2.3.4. Analyse statistique…….. 47

Résultat et discussion:…….. 48

1. lésions ……... 48

1.1. lésions hépatiques …… 48

1.2. lésions des organes génitaux …….. 49

2. Bactériologie…… 49

2.1.Isolement et identification des *Salmonella*..... 49

2.1.1. Résultats sur milieu **Hektoen** …… 49

2.1.2. Résultats sur milieu **TSI** …… 50

2.1.3. Résultats Api 20^{E} …… 50

3. Antibiogramme…….. 51

3.1. Résistance individuelle par antibiotique ……. 51

3.2. Résistance individuelle par familles d'antibiotiques…… 54

3.2.1. Les béta lactamine…… 54

3.2.2. Les cyclines …… 54

3.2.3. Les quinolones……. 54

3.2.4. Les sulfamides ……55

3.2.5. Les aminosides ……56

3.2.6. Les polypeptides……..56

3.2.7. Les phénicolés……56

3.2.8. Les furanes……..56

3.3. Multirésistance ……..56
3.4. profils de résistances ……57

Conclusion …….. ..60

Recommandations ……61

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification des espèces et des sous espèces du genre *Salmonella*, l'habitat de la majorité des sérovars isolés et leur nombre selon la 9^{e} édition des formules antigéniques, 2007(HUMBERT, 1998 ; GRIMONT, 2007) ……page3

Tableau 2 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella* (GRIMONT 2000)……page 5

Tableau 3: Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI …….page36

Tableau 4: Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme …….page42

Tableau 5 : Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri……page43

Tableau 6 : Résultats des caractères biochimiques des isolats identifiés par le test TSI……page46

Tableau 7 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *S.arizona* … ……...page48

Tableau 8 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *S.gallinarum*…….. page 49

Tableau 9: Fréquence des antibiorésistances dans notre étude en Algérie et pour d'autres études en Iran et Sénégal……. page 50

Tableau 10 : Pourcentages de multirésistances des souches *S.gallinarum* aux antibiotiques……..page54

Tableau 11 : Pourcentage des profils de résistance…… …… ……..page 55

Liste des figures :

Figure 1 : Différents modes d'action des antibiotiques (Lavigne, 2007)……page21

Figure 2 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique (Lavigne, 2007)……..…page22

Figure 3 : Modification de la cible (Archambaud, 2009)……page27

Figure 4 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (Archambaud, 2009)……...page28

Figure 5 : Prélèvements d'organes dans les pots stériles (Originale ENSV 2017)…….page30

Figure 6 : Les réactifs (Originale ENSV 2017)……...page31

Figure 7 : Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme ……page31

Figure 8 : Schéma montrant le protocole expérimental suivi……..…page32

Figure 9 : Flambage et découpage des organes (Originale ENSV 2017)…… page33

Figure 10 :enrichissement des organes (Originale ENSV 2017)…… page34

Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies (Originale ENSV 2017)……page35

Figure 12 : Tube de milieu TSI (Originale ENSV 2017)…… page36

Figure 13: Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et après ajout des réactifs (Originale ENSV 2017)…….page41

Figure 14 : Application des disques d'antibiotiques (Originale ENSV 2017)……...……page44

Figure 15 : Aspect des colonies suspectes de Salmonella sur milieu Hektoen (Originale ENSV 2017)……...…page45

Figure 16 : Résultats de l'identification par le test TSI.……Page46

Figure 17 : Résultats de l'identification par la galerie Api 20^{E} (originale ENSV 2017)……..……page46

Figure 18 : Pourcentages de résistance et sensibilité des souches *S.gallinarum*…….page48

Figure 19: Pourcentages des multi résistances des souches *S.gallinarum* isolées…… page53

La liste des abréviations:

Ac : Acide ;

ADH : Arginine dihydrolase ;

ADN: Acide désoxyribonucléique;

AM: Ampicilline;

AMX: Amoxicilline;

AMY: Amygdaline;

ARA: Arabinose;

ARN: Acide ribonucléique

ATB: Antibiotique ;

Aw: Activity of water;

C : Cholaramphenicol ;

C°: Degré celsius;

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ;

CIT : Citrate ;

CL : Colistine ;

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ;

CN: Gentamicine ;

COT: Trimethoprim/sulfamide;

CTX: Cefotoxime ;

DHPS : Dihydroptéroate synthétase ;

ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay;*

ENR : Enrofluxacine ;

ENSV : Ecole National Supérieure Vétérinaire

GEL : Gelatine de kohn ;

Glu:Glucose ;

Gr : Gramme ;

H.I.D.A.O.A : Hygiène industrielle des denrées alimentaire d’origine animale ;

H_2S: Sulfate d'hydrogène ;

I: Intermediaire;

ID: Degré identification;

IND : Indole ;

INO: Inositol;

K: Neomycine ;

KCN : Cyanure de potassium ;

LDC : Lysine décarboxylase ;

LE : Enrofloxacine ;

LPS: Lipopolysaccharide;

MAN:Mannitol ;

MEL: Mélibiose;

MH : Muller Hinton ;

ml : millilitre ;

mm : millimètre ;

N : Nombre ;

NA: Acide nalidixic;

NCCLS: National Comittee For Clinical Laboratory Standards;

NIT: Nitrofurane ;

O.N.P.G: Ortho-nitrophenyl-beta-galactoside ;

ODC : Ornithine décarboxylase ;

OMS : Organisation Mondiale de la Santé ;

PCR: polymerase chain reaction;

PG: Peptidoglycan;

PLP: protéines liant la pénicilline;

R: Resistante ;

RHA:Rhamnose;

S: Salmonella;

S: Sensible;

SAC: Saccharose;

SFB: Selinite F Broth;

SOR:Sorbitol;

Subsp : Sous-espèce ;

TDA : Tryptophane Désaminase ;

TDA : Tryptophane désaminase ;

TE : Tetracycline ;

TIAC : Toxi-infection alimentaire collective ;

TSI : Tri Sugar Iron

URE : Urée ;

VP : Voges-Proskauer ;

β : Béta ;

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Salmonella est un groupe de micro-organisme connu depuis le 19ème siècle. Ce sont des entérobactéries qui donnent lieu à des entérites : la maladie de la fièvre typhoïde constitue un important pathogène zoonotique. Le monde animal est généralement reconnu comme le principal réservoir des salmonelles (MARTEL et SAVEY, 1992 ; MARTEL et PRAVE, 1994).

L'observation précoce de la maladie a été faite par Eberth en 1880. Ce dernier a décrit le bacille de la typhoïde dans le tissu d'un patient mort, et les micro-organismes sont été isolés par Salmon en 1885 et qui porte son nom.

L'association entre la volaille et la salmonella a une longue histoire. Il y a plus de 50 ans, la pullorose et la typhose des oiseaux étaient des causes fréquentes de mortalités aussi bien dans les élevages de poulet que ceux de dinde. Ceci a eu un impact directement sur le retard du développement de la filière avicole. Malgré l'importance de cette dernière en Algérie, les statistiques et les données sur la prévalence de salmonelle dans les élevages de manière générale reste très limitées.

Ce n'est qu'avec l'avènement et la maitrise des traitements que l'industrie agroalimentaire et l'élevage, ont pu avoir un nouvel essor. Malheureusement, d'autres problèmes ont vu le jour à la suite de l'isolement croissant des salmonelles non spécifiques de l'espèce. Ils ont été recensés dans des produits à base de volailles et dans des cas de salmonelloses humaines. Le lien étroit entre ces deux dernières ainsi que le caractère intensif de la production et de la transformation de la volaille, ont contribué amplement à la transmission des agents pathogènes. Depuis, des efforts mondiaux de lutte contre la salmonelle dans l'industrie de la volaille se sont intensifiés ; essentiellement à la fin des années 1980 lors de la propagation de la pandémie de *Salmonella Enteritidis*.

La problématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditions d'élevage en général, et plus particulièrement de l'hygiène des bâtiments.

Des études menées dans plusieurs pays, montrent que ces bactéries développent une résistance à certains antibiotiques, et face à cette situation, ces pays ont élaboré des réseaux de surveillance sur la résistance aux antibiotiques. C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à l'étude de la résistance et les multi résistances aux antibiotiques des souches de *Salmonella spp* d'origine aviaire en Algérie et plus précisément dans la région Est.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail qui a pour objectifs :

- L'isolement et l'identification des salmonelles chez des poules pondeuses et chez la dinde de chair dans la région Est ;
- L'évaluation de l'antibioresistance et les multi résistances des salmonelles isolées vis-à-vis de douze molécules d'antibiotiques.

CHAPITRE I : LES SALMONELLES

Chapitre I
Les Salmonelles

1. Historique

L'histoire des salmonelles, depuis l'isolement de la première souche jusqu'à la compréhension du groupe et des interrelations entre ses membres, est longue et compliquée et s'étale sur une période de plus de 50 ans (DEDET, 2007). Elle peut se résumer comme suit :

En 1880 : Eberth a mis en évidence le premier bacille typhique à partir des coupes de rate et de ganglions lymphatiques mésentériques d'un patient mort de fièvre typhoïde (FROBISHER et FERSTER, 1976).

En 1884 : mise au point de la culture In vitro de cette bactérie par Gaffky (LE MINOR, 1989)

En 1886 : Salmon et Smith ont isolé l'actuelle *Salmonella Enterica subsp. Enterica.*

En 1888 : Gaertner a isolé *Salmonella enteritidis* à partir d'une carcasse de vache abattue en urgence et du corps d'un homme décédé après la consommation de sa viande (HARDY, 2004)

En 1892 : Loefiler a isolé *Salmonella typhimurium* à partir du rat (DEDET, 2007)

1925-1930 : White et Kauffman, base de la classification antigénique : diversité antigénique (2400 sérotypes) (LE MINOR et VERON, 1989).

Le terme de Salmonella n'a été créé qu'en 1900 par Lignières, en l'honneur de Salmon, directeur des services vétérinaires des Etats-Unis à cette époque (LE MINOR et VERON, 1989).

2. Définition

Les salmonelles forment un genre de protéobacteries appartenant à la famille des Entérobactériaceae. Cette famille regroupe des genres de bactéries qui sont des hôtes habituels du tube digestif (PRESCOTT et TORTORA, 2003).

Selon le même auteur, ce genre est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et *Citrobacter* et phénotypiquement proche des genres *Citrobacter* et *Hafnia*. Les hybridations ADN-ADN ont montré qu'il n'existait que deux espèces dans le genre Salmonella : *Salmonella cholerasuis*, également appelée *enterica* et *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* est l'espèce majoritaire qui a une répartition géographique mondiale et possède un spectre d'hôtes très large alors que *Salmonella bongori* est rare mais sa classification complexe reste un sujet largement controversé.

3. Taxonomie et nomenclature

La classification des salmonella selon la seconde édition du Bergey's manual of systematic bacteriology est la suivante (PRESCOTT et TORTORA, 2003) :

Domaine : Bacteria

Embranchement : preteobacteria

Classe : Gammaproteobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Genre : Salmonella

Deux espèces font parties du genre Salmonella : *Salmonella Enterica* et *Salmonella bongori.*

Le tableau suivant résume la classification du genre Salmonella

Tableau 1: Classification du genre salmonella

Espèce	***Salmonella enterica***						***Salmonella bongori***
Sous-genre de kauffmann	I	II	IIIa	IIIb	IV	VI	V
Sous-espèce	*enterica*	*salamae*	*arizonae*	*diarizonae*	*houtenae*	*indica*	-
Nombre de serovars	1531 (~60%)	505	99	336	73	13	22
	2557(~99%)						
	2579						

Sources : HUMBERT (1998) ; GRIMONT (2007)

4. Caractères bactériologiques

4.1. Souches typiques de *Salmonella*

4.1.1. Caractères culturaux

Les salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobies facultatifs et hygrophiles qui se présentent sous forme de bâtonnets de deux à trois microns de long et de 0.6 à 0.8 microns de large. La plupart d'entre elles ne sporulent pas et ne possèdent pas de capsule (GRIMONT 2000).

En effet les salmonelles cultivent sur des milieux ordinaires à base d'extraits de viande. A une température optimale de croissance de 37°C, elles parviennent aussi à se développer, mais plus lentement, dans des conditions moins favorables de température (de 5 à 47°C) avec une croissance nettement ralentie pour les températures inférieures à 10 °C et à un pH optimum proche de la neutralité (entre 6.5 et 7.5), supportent une gamme de pH allant de 4.5 à 9. Elles se développent bien pour des valeurs d'activité d'eau (Aw) entre 0.945 et 0.999 mais elles peuvent survivre longtemps dans les produits déshydratés (GRIMONT 2000)

Généralement, le chlorure de sodium (Na Cl) possède des propriétés inhibitrices sur les bacilles à Gram négatif. Les salmonelles ne tolèrent pas des concentrations élevées et leur croissance est inhibée à 3 %. Les colonies obtenues sont rondes, lisses (ou Smooth : S) à bords réguliers et ont un diamètre de 2 à 3 mm. Il arrive exceptionnellement que des cultures de Salmonelles soient isolées sous forme rugueuse (ou Rough : R) qui sont rarement pathogènes (GRIMONT 2000).

A partir d'un échantillon mono microbien tel que le sang, une gélose ordinaire suffit à leur croissance alors que dans les cas de prélèvements poly microbien comme les selles, les milieux sélectifs sont indispensables (PRESCOTT et TORTORA, 2003).

4.1.2. Caractères morphologiques

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatif intracellulaire facultatifs, ne présentent ni spores ni capsule, de dimensions moyennes (0.5 à 1.5 µm de largeur sur 2 à 5 µm de longueur), généralement mobiles grâce à une ciliature peritriche. Quelques sérotypes sont cependant immobiles comme *S. Gallinarum* et *S. Pollorum* ainsi que certains mutants (GRIMONT 2000).

4.1.3. Caractères biochimiques

Les Salmonelles possèdent les caractères généraux de la famille des Entérobacteriaceaes : bacilles à Gram négatif, mobiles grâce à une ciliature péritriche, ou immobiles, non sporulés, donnant une réponse négative au test oxydase, et possédant une nitrate-réductase. Elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et poussent sur les milieux ordinaires (GRIMONT 2000).

Au sein de la famille des Entérobactéries, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont : l'absence d'uréase et de tryptophane désaminase, l'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif), l'absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol, de l'amygdaline, de l'adonitol et du 2-cétogluconate, la production d'H2S à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase), la décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine, la capacité fréquente de croître sur le milieu au citrate de Simmons en l'alcalinisant (caractère citrate positif) (GRIMONT 2000).

Les deux espèces du genre *Salmonella* peuvent être différenciées par leur caractères biochimiques : *Salmonella* bongori ne fermente pas le sorbitol, contrairement à *Salmonella*

cholerasuis, et elle cultive sur un milieu contenant du KCN alors que la plupart des souches de *Salmonella cholerasuis* ne cultive pas sur ce milieu.

Les six sous-espèces de l'espèce *Salmonella cholerasuis* peuvent également être identifiées par leurs caractères biochimiques (tableau 2).

Tableau 2 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre Salmonella

	Salmonella cholerasuis						Salmonella bongori
Caractères biochimiques	Subsp. enterica	Subsp. salamae	Subsp. arizonae	Subsp. diarizonae	Subsp. houtenae	Subsp. indica	
O.N.P.G	-	-	+	+	-	V	+
Gélatinase (36°C)	-	+	+	+	+	+	-
Culture sur milieu KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol fermentation	+	+	-	-	-	V	+
Malonate (utilisation)	-	+	+	+	-	-	-
Sorbitol fermentation	+	+	-	+	-	+	-
Bêta - glucuronidase	V	V	-	+	-	V	-
Alphaglutamyltransferase	V	+	-	+	-	+	+

V : variable ou plus tardivement /+ : plus de 90 %des souches positives / - : moins de 10% des souches positives.

Source : GRIMONT (2000).

5. Propriétés antigéniques

Les caractères antigéniques des salmonelles permettent d'établir une classification en fonction de la formule antigénique de chacun des sérotypes connus. A l'heure actuelle, les

salmonelles peuvent posséder les antigènes somatiques O, flagellaires H, capsulaires K ou VI et de surface F.

5.1. Les antigènes somatiques O

Du mot allemand OhneHanch qui signifie sans film (JAY, 2005 ; LECLERC, 1995), les antigènes O sont portés par les chaines lipopolysaccharidiques (LPS) composants majoritaires de la paroi bactérienne (HUMBERT, 1998). Ils représentent l'endotoxine des salmonella, il en existe 67, ils sont constitués de plusieurs éléments :

- le lipide A identique chez toutes les entérobactéries, responsable du pouvoir pathogène (GLEDEL, 1996) ;
- le core ou partie basale dont la structure est semblable chez toutes les salmonelles (HUMBERT, 1998) ;
- des chaines spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2-6 monosaccharides (SUTRA et *al.*, 1998)

5.2. Les antigènes flagellaires H

Du mot allemand Hauch qui signifie film (LECLERC, 1995). Ce sont des polymères de flageline : protéine de structure des flagelles, qui présente une séquence constante en acides aminés détermine un type antigénique donné (JAY et *al.,* 2005). La majorité des Salmonelles sont diphasiques : elles peuvent posséder leur facteur H sous deux formes différentes dans un même sérotype. Cependant, un certain nombre se révèle monophasique : la bactérie ne peut synthétiser des flagelles que d'une seule spécificité car elle ne possède pas l'information génétique pour l'autre spécificité (GLEDEL et CORBION, 1991 ; YAN et *al.*, 2003).

L'antigène H représente la forme mobile de la salmonella. Il est thermolabile (détruit par un chauffage à 100° C), détruit par l'alcool à 50%, insensible à l'action du formol 5%.

Les anticorps anti-H agglutinent les bactéries par leurs flagelles et ont la propriété d'entraver la mobilité des bactéries (EUZEBY, 1982).

5.3. Les antigènes capsulaires K ou Vi

Ce sont des polysaccharides capsulaires. Ils entourent la paroi bactérienne et peuvent masquer les antigènes somatiques O et les rendre inagglutinables. Ces derniers sont démasqués par un chauffage de 100° C pendant 10 min (destruction des antigènes K).

Le seul antigène d'enveloppe reconnu chez les salmonelles est l'antigène Vi (de virulence), qui n'a été identifié que chez trois sérovars : *S.thyphi, S.paratyphi C* et *Dublin* (EUZEBY, 1982 ; RYCROFT, 2000).

5.4. Les antigènes de surface F

Les pili ou fimbriae, disposés autour de la bactérie permettent à cette dernière :

- d'adhérer aux cellules épithéliales : l'antigène F est une adhésine.
- De se fixer à la surface des hématies et de les agglutiner : l'antigène F est une hémagglutinine

6. Habitat

Les salmonelles sont des parasites intestinaux des animaux vertébrés. Elles peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau usée, à condition que la température et l'humidité et le pH soient favorables (KORSAK et *al*., 2004).

Toutefois, Pilly (1997), confirme que le réservoir est surtout animal (volaille, oiseaux, rongeurs, ruminants …, etc.). Le réservoir humain est essentiellement représenté par des porteurs sains.

Les salmonella typhi et paratyphi A sont strictement adaptées à l'homme. Par contre, les autres sérotypes n'ont pas de spécificité de l'hôte et sont appelés ubiquitaires (AVRIL et *al.*,1988).

On les retrouve également dans les aliments notamment les viandes, le lait ou les œufs (si la coquille est fêlée et contaminée) et dans les farines ou poudres d'os utilisés dans l'alimentation des animaux (FAUCHER et AVRIL, 2002)

Après la maladie, certains sujets restent porteurs sains et éliminent pendant plusieurs mois des salmonelles dans leurs selles.

La grande majorité des souches de salmonelles possèdent deux caractères qui expliquent leur très large distribution :

- La possibilité d'être hébergées par un grand nombre d'hôtes différents (mammifères, oiseaux, reptiles, homme…, etc.), autrement dit les salmonelles se retrouvent « de la puce à l'éléphant » ;
- La faculté de survivre pendant de longues périodes en dehors de l'hôte (CRSS, 2000).

7. Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité

7.1. Pouvoir pathogène

Toutes les salmonelles sont des bactéries potentiellement pathogènes mais la gravité de l'affection provoquée est en fonction de la souche et de la quantité des bactéries ingérées. La dose infectante nécessaire pour déclencher une salmonellose est en général comprise entre 10^6-10^7 cellules/gr. En revanche, des toxi-infections avec de très faibles doses (moins de 10^2 cellules/gr) ont été décrites (GLEDEL, 1992 ; MEZALI, 2009).

En général, les salmonelles peuvent entrainer soit (HUMBERT, 1998) :

- Un portage sain, strictement limité au tube digestif**,** avec une excrétion des salmonelles allant de 10 à 10^7 germes/gr de fèces. L'excrétion fécale peut être intermittente : on parle de porteur inapparent ;
- Un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents. Les salmonelles sont hébergées dans les monocytes et les macrophages où elles sont capables de survivre sans se multiplier.

Une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie, lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient, soit dépassé par le nombre de salmonelles envahissant l'organisme. Cette pathologie peut s'exprimer.

7.2. Facteurs de pathogénicité

7.2.1Les toxines

Les salmonelles produisent au moins trois types de toxines (BAIOD ; 1997) :

- L'endotoxine : (lipide A de LPS)

Le LPS est constitué par le lipide A, le core oligosaccharidique et des chaines latérales O. La toxicité du LPS est portée par le lipide A, ancré dans la membrane externe. Ses effets sont liés à l'activation des phénomènes inflammatoires importants. L'endotoxine est ainsi responsable de la plupart des symptômes de la fièvre typhoïde et du choc septicémique consécutive à une bactériémie (BILLE, 1996).

- L'enterotoxine :

55% des souches de salmonelles produisent une entérotoxine thermolabile similaire sur le plan antigénique et immunologique à la toxine cholérique (GANDOULY et *al*., 1999). Par contre, les autres salmonelles produisent une entérotoxine thermostable (BAIOD, 1997). Elles jouent un rôle dans les diarrhées des formes gastro-entéritiques.

- La cytotoxine :

Se traduit in vitro par une inhibition de la synthèse des protéines et la mort cellulaire.

7.2.2. Les adhésines :

Responsables de l'adhésion des salmonella aux cellules épithéliales de l'hôte grâce aux fimbriae également appelés pili qui sont des appendices flexibles ou rigides exprimés à la surface de nombreuses espèces bactériennes, généralement composés par polymérisation d'une sous unité protéique majeure (fimbrilline ou piline). Elles jouent un rôle essentiel dans la pathologie et la spécificité de certains sérotypes (KORSAK, 2004 ; NAUCIEL et VILDE, 2005).

7.2.3. Le plasmide de virulence :

La plupart des sérovars de salmonella hébergent des plasmides de virulence qui codent les gènes nécessaires à la capacité de provoquer la maladie systémique. Ils sont responsables de l'essaimage des salmonelles de l'intestin grêle vers le foie, rate et nodules lymphatiques.

7.2.4. La survie et la capacité de multiplication intracellulaire :

Les salmonelles possèdent la capacité de survivre et se multiplier dans les cellules de l'hôte et même dans les macrophages ; grâce à la présence de certaines protéines au niveau de la membrane externe qui lui confère une résistance aux défensines secrétées par les cellules intestinales pour perméabiliser la membrane bactérienne (LECLERC et *al.*, 1995) ainsi que leur résistance aux formes réactives de l'oxygène par la production de complexes enzymatiques qui inhibent la réduction d'oxygène en super oxyde (antibactérien).

7.2.5. Le système de captation de fer :

Le fer, élément indispensable à la multiplication des salmonelles, n'est pas disponible dans l'organisme. Il est lié à la transferrine (dans le sérum), à la lactoferrine (dans les sécrétions) ou à l'ovatransferrine dans les œufs. Les salmonelles synthétisent des entérochélines ou entérobactine qui sont des sidérophores secrétées dans des conditions limitantes en fer et leur permet d'entrer en compétition avec la transferrine, la lactoferrine ou l'ovatransferrine.

7.2.6. La survie dans le sérum :

Le sérum joue un rôle déterminant dans la défense contre l'infection bactérienne par l'activation du complément entrainant la lyse bactérienne. La chaine polysaccharidique portant l'antigène O et la chaine lipoplysaccharidique portant Vi sont impliquées en tant que barrière physique au complexe d'attaque formé par le complément. (BAIOD, 1997 ; FLANDROIS, 1997).

CHAPITRE II : LES INFECTIONS A SALMONELLA

Chapitre II

Les infections à salmonelles

1. Introduction

Les infections à salmonella sont responsables d'une grande variété de maladies aigues et chroniques chez la volaille. Les troupeaux de volailles infectés sont impliqués comme réservoirs de salmonelle et pouvant être transmis à travers la chaine alimentaire aux humains (GAST, 2015).

2. Historique

En 1888 : la typhoïde aviaire a été reconnue comme *Bacillus gallinarum* plus tard comme *Bacillus sanguinarium* ensuite comme *Salmonella gallinarum.*

En 1899 : l'agent étiologique de la pullorose a été décrit par Rettger et la maladie a été appelée septicémie mortelle des jeunes poussins. Plus tard, la maladie a été désignée comme diarrhée blanche bacillaire pour la distinguer des autres maladies des poussins.

En 1902 : le nom de la typhoïde aviaire a été appliqué aux Etats-Unis et a été bientôt utilisé dans d'autres pays du monde comme l'Allemagne et la Hollande

Entre 1900-1910 : la pullorose a été révélée comme étant une infection transmise par les œufs.

En 1928 : la pullorose a été reconnue chez la dinde.

En 1936 : L'Arizonose aviaire a été décrite pour la première fois par Lewis et Hitchner.

En 1940 : la maladie a été répondue chez la dinde et responsable de pertes économiques.

En 1954 : le contrôle de la typhoïde aviaire a été inclus. Il a été considéré comme une des principales raisons de l'éradication de la maladie chez la volaille commerciale. (SHIVAPRASAD, 2000)

3. Définition

Les salmonelloses sont des maladies infectieuses, contagieuses, virulentes, inoculables. Transmissibles à l'homme. Elles sont dues à la multiplication dans l'organisme d'un germe du genre *Salmonella* (GANIERE, 2008).

4. Importance économique et sanitaire

4.1. Importance économique

Les infections salmonelliques des volailles sont souvent inapparentes. Leur importance est essentiellement liée à leur impact hygiénique, justifiant l'élimination en Europe des troupeaux reconnus infectés par les sérovars les plus dangereux et aux limitations commerciales (GANIERE, 2008).

4.2. Importance sanitaire

La filière avicole par le biais de la consommation d'œufs et d'ovoproduits contaminés notamment par *S. Enteridis* ou *Typhimirium,* ou celui de la consommation de viande de volaille est une source importante de toxi-infection alimentaire collective (TIAC). Les sérovars les plus fréquemment incriminés sont : *Thyphimirium, Enteridis, Hadar, Virchaw* et *Infatis*. La prévention des TIAC chez le consommateur est devenue une préoccupation nationale et européenne. Elle implique une maitrise de l'infection dès la production primaire et la transmission aux abattoirs des informations sanitaires d'élevages (GANIERE, 2008).

5. Les infections à salmonelles

5.1. La pullorose

5.1.1. Définition

La pullorose (de « pullus : poulet ») est une maladie bactérienne septicémique connue depuis 1899, assez fréquente dans de nombreux pays dans le monde; observée principalement chez la poule et la dinde, mais d'autres espèces aviaires sont sensibles comme la caille, le faisan, le canard, le paon et la pintade. Affectant particulièrement les poussins et les jeunes dindonneaux et faisandeaux, elle est responsable d'une mortalité en coquille ou après l'éclosion, d'une atteinte générale grave associée à une diarrhée blanchâtre. La maladie est moins grave chez les oiseaux plus âgés, mais il peut avoir une réduction de la production d'œufs, des troubles de l'éclosion et un certain accroissement de la mortalité. Elle est rare chez les mammifères, l'Homme en particulier, espèces chez lesquelles ces biovars sont peu (ou pas) pathogènes. (DAVIES, 2008)

5.1.2. Etiologie

La pullorose du poulet est due à *salmonella enterica subsp.enterica* serovar Gallinarum biovar Pullorum. A l'heure actuelle, dans certains pays Gallinarum est considéré comme le sérovar, mais dans d'autres il s'agit de Pullorum. L'agent responsable est une bactérie Gram négatif, non mobile et sous forme de bâtonnets. Contrairement aux autres salmonelles, les biovar pullorum et gallinarum sont étroitement adaptés à leurs hôtes. Les poulets sont les hôtes naturels. Cependant, des foyers de pullorose ont été décrits chez la dinde, la pintade, la caille, le faisan, le perroquet et d'autres oiseaux. La mortalité est généralement limitée aux deux à trois premières semaines d'âge.(GAST, 1997)

5.1.3. Epizoologie

Le principal réservoir est constitué par les volailles infectées, et notamment les reproducteurs (filières chair ou ponte d'œufs de consommation) porteurs chroniques et malades, chez lesquels la

bactérie est éliminée par les œufs (colonisation de l'ovaire et l'oviducte) et les fientes (présence dans le tractus digestif). L'excrétion fécale peut être relativement faible chez les reproducteurs porteurs (non malades).

La transmission ovarienne (verticale) due directement à la contamination des ovules dans le tractus génital suivant l'ovulation ou indirectement par contact de poussin à poussin dans l'éclosoir, représente le principale mode de transmission de la maladie.

La transmission horizontale directe ou indirecte semble épidémiologiquement moins importante. Elle concerne les oiseaux plus âgés et les adultes. Elle est liée à la contamination fécale (par les oiseaux malades) des litières, de l'eau et des aliments, des locaux et matériel (incubateurs…), des chaussures et vêtements contaminés. Les oiseaux sauvages peuvent être vecteurs de l'agent infectieux. (SHIVAPRASAD, 2000)

5.1.4. Pouvoir pathogène

Le sérovar gallinarum est une exception parmi le groupe des salmonelles par l'absence de flagelles (bactérie immobile) et d'antigène H. Ses antigènes O sont 1, 9 et 12. Il regroupe deux biovars, Pullorum et Gallinarum qui possèdent un pouvoir pathogène très élevé : seulement 1 à 5 cellules du biovar Pullorum sont suffisantes pour infecter un poussin de quelques jours (il en faut 10000 ou plus chez un adulte). Leur survie dans les macrophages est importante pour expliquer l'état de portage persistant. Le portage est associé notamment à la persistance de la bactérie dans les macrophages spléniques et le tractus génital des pondeuses (contamination des œufs). (SHIVAPRASAD, 2000)

5.1.5. Sur le plan clinique

Incubation : 6 à 72 heures.

Symptômes :

-Les premiers symptômes sont souvent une diminution de la fertilité, une réduction du taux d'éclosion et mortalité en coquille ou la mortalité de poussins peu après l'éclosion (conséquence de l'infection des poules ou la persistance de l'infection chez les poussins et poulettes infectées).

-Forme aigue : les jeunes oiseaux (de moins de 3 semaines) présentent une diarrhée gris-blanchâtre, d'aspect crayeux, qui agglutine les plumes autour du cloaque (« maladie de la crotte »), et des signes d'anorexie, de déshydratation, et de faiblesse parfois des signes respiratoires et nerveux. La mort survient en 10-12 jours. Le nombre de mortalités atteint habituellement son maximum (elle est variable, mais peut atteindre 100%) durant la deuxième semaine suivant l'éclosion.

-Forme subaiguë et chronique : les oiseaux présentent des signes d'anorexie, de faiblesse, surtout une tuméfaction des articulations (synovite), notamment du jarret. Les oiseaux s'amaigrissent. Le taux de croissance dans l'effectif est réduit et la mortalité augmente. Une apathie chez des oiseaux

plus âgés et une légère diminution de la production d'œufs chez les adultes peuvent être les seuls signes en cas d'infection plus tardive. (SHIVAPRASAD)

5.1.6. Sur le plan lésionnel

-Forme aigue :

Les jeunes oiseaux morts rapidement après éclosion présentent des lésions de septicémie hémorragique, de péritonite, un sac vitellin non résorbé, un foie hypertrophié avec des lésions hémorragiques. Les oiseaux morts au bout de quelques jours présentent des lésions de septicémie hémorragique, une typhlite (caeca distendus au contenu nécrotique blanchâtre de consistance plâtreuse), des foyers nécrotiques sur le foie et la rate, nodulaires grisâtres sur le duodénum, les poumons, le myocarde et le gésier.

-Forme subaiguës et chronique :

Oiseaux en croissance : arthrite et synovite (aspect gélatineux autour des articulations).

Adultes : lésions d'oophorite (grappe ovarienne anormale, avec follicules irréguliers, déformés, décolorés et parfois arthrites, péritonite et péricardite. (SHIVAPRASAD)

5.1.7. Sur le plan microscopique

A l'examen, histologique des cas aigus chez les poussins et les dindonneaux, on note une nécrose des hépatocytes avec une infiltration des hétérophiles mélangées à de la fibrine, une inflammation fibrino-suppurative du sac vitellin, du péricarde, du péritoine, des poumons, et des boudins caséeux dans les caecums. Les nodules cardiaques sont habituellement composés de macrophages histiocytaires. Les nodules de la grappe ovarienne chez les adultes correspondent généralement à une inflammation Pyo granulomateuse comprenant de nombreuses bactéries. (SHIVAPRASAD)

5.1.8. Diagnostic

Le diagnostic de suspicion repose sur les données épidémiologiques, cliniques et nécrosiques. Divers tests sérologiques peuvent être utilisés : tests d'agglutination sur tube ou test rapide sur lame avec un antigène coloré a partie du sang ou du sérum, test de micro agglutination. Le test ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) est aussi utilisé pour l'examen d'un grand nombre d'échantillons sanguins. Néanmoins, le diagnostic doit être confirmé expérimentalement avec l'isolement et l'identification de *S. Pullorum*. Les organes de choix pour la mise en culture sont le foie, la rate, le sac vitellin et les caecums. Chez les oiseaux reproducteurs et l'oviducte, la grappe ovarienne et les testicules peuvent être prélevés en vue d'un examen bactériologique. Ces organes et d'autres organes des poussins sont mis en culture sur des milieux gélosés au vert brillant, au bouillon d'infusion de veau et incubés pendant 48 heures à 37° C. (SHIVAPRASAD, 2000)

5.1.9. Traitement

Possible, mais non envisageable si on veut obtenir une éradication de l'infection. Le traitement des porteurs est un pis-aller, ne garantissant pas la suppression de la transmission verticale.

5.1.10. Prophylaxie

Offensive : elle repose sur l'application des mesures de maitrise sanitaire des élevages, associée à un contrôle sérologique systématique et régulier des reproducteurs, de façon à pouvoir garantir un élevage indemne de pullorose. Attention au risque de contamination à partir d'élevages familiaux non contrôlés de poules, dindons et autres espèces susceptible d'héberger la bactérie en absence de symptômes.

Défensive : la détection de la pullorose en élevage (reproducteur en particulier) implique l'élimination du lot atteint (volailles et œufs) associé à une destruction des litières et une désinfection des locaux et matériel contaminé

L'absence de réservoir animal autre que les oiseaux (volailles en particulier) et la facilité du dépistage (sérologique) rendent plus aisées les mesures visant l'éradication.(PENNYCOTT, 1999)

5 .2. La Typhose

5.2.1. Définition

La typhose aviaire (de « typhus= fièvre avec torpeur ») est une affection bactérienne septicémique aiguë à subaigüe. D'abord reconnu en 1888, plus tard appelait la typhose aviaire (1902). Elle se manifeste à l'état aigue principalement chez les oiseaux adultes notamment la poule et la dinde, mais peut aussi frapper les jeunes en croissance. Elle présente de nombreuses similitudes avec la pullorose en termes d'histoire, signes cliniques, épizootiologie, lésions et contrôle et procédures d'éradication. (DAVIES, 2008)

5.2.2. Etiologie

La typhose aviaire résulte d'une infection par *Salmonella enterica subsp. Enterica* serovar *gallinarum* biovar *gallinarum* (*Salmonella gallinarum*), une bactérie à Gram négatif, immobile, sous forme de bâtonnets de la famille des Enterobacteriaceae (sérogroupe D 1,9,12). Etroitement apparentés à *Salmonella pullorum*, ces deux biovars, différentiés notamment par le test de décarboxylation de l'ornithine (positif chez *pullorum* et négatif chez *gallinarum*) sont également génétiquement différentiables (PCR). (SHIVAPRASAD, 2000)

5.2.3. Epizoologie

La typhose est fréquente dans certains pays d'Amérique centrale et du Sud, en Afrique et en Asie. Elle a été éradiquée dans de nombreux pays développés. Les poulets sont les hôtes naturels de *Salmonella gallinarum*, mais d'autres oiseaux peuvent être infectés comme la dinde, la caille, la pintade, les faisans, les perroquets, et les autruches. Bien que cette affection soit considérée comme hautement adaptée aux oiseaux, quelques infections ont été signalées chez les mammifères après inoculation expérimentale ou exposition naturelle. Les pertes sont trop élevées chez les adultes, cependant, un taux de mortalité de 26% et des lésions indiscernables de ceux liés à la pullorose ont été signalés chez les poussins au cours du premier mois de leur vie.

La transmission horizontale se fait par voie respiratoire et orale. Les oiseaux peuvent ingérer l'agent causal présent dans l'environnement ou par le cannibalisme des oiseaux infectés. Les infections des plaies sont également possibles. Les aliments contaminés, l'eau et la litière peuvent jouer un rôle dans la transmission en raison de la résistance de la bactérie dans un environnement favorable pendant de nombreux mois et jusqu'à plusieurs années. Les oiseaux sauvages, les mammifères et les insectes peuvent être des vecteurs mécaniques ou biologiques. Les acariens rouges, en particulier, participent à la propagation de la typhose aviaire. Les oiseaux peuvent ne pas infecter exclusivement leur génération, mais aussi à travers la transmission verticale qui peut résulter de la contamination de l'ovule Suite à l'ovulation. (SHIVAPRASAD, 2000)

5.2.4. Pouvoir pathogène

Tout comme *S. pullorum, S. gallinarum* possède les antigènes O 1, 9 et 12. Elle contient également une toxine létale pour les lapins et des endotoxines qui peuvent provoquer des signes cliniques dans quelques heures après injection intraveineuse chez les poussins. (DAVIES, 2008)

5.2.5. Sur le plan clinique

Incubation : de 4 à 6 jours

Symptômes :

La forme aiguë se caractérise par l'association d'un tuphos et d'une diarrhée jaune verdâtre (présence de bile), aboutissant souvent à la mort en une huitaine de jours.

Les signes cliniques peuvent inclure la dépression, la perte d'appétit, la somnolence, les ailes tombantes, l'amollissement, la déshydratation, la soif, les plumes ondulées et la faiblesse. Il peut y avoir une cécité ou un gonflement des articulations. Les oiseaux qui survivent peuvent être sous-pondérés et mal emplumés, et ne pas devenir des futurs producteurs. Des formes chroniques entraînent un amaigrissement et une anémie intense s'accompagne d'une pâleur de la crête et des barbillons, une chute de ponte associée à des anomalies des œufs et une diminution de la fertilité.

Cependant chez certains sujets adultes, la maladie peut être inapparente. L'incidence et la mortalité chez les volailles adultes atteintes de typhose sont généralement élevées et varient selon l'espèce, l'âge, la race, la nutrition et la gestion et les infections concurrentes. (SHIVAPRASAD)

5.2.6. Sur le plan lésionnel :

Lors de typhose, du fait d'une septicémie généralisée, le foie est généralement hypertrophié, sombre et friable avec une couleur vert-bronze caractéristique (cholestase intra-hépatique avec des foyers de nécrose miliaires) qui peut n'apparaître qu'après exposition à l'air. Une splénomégalie parfois avec des nodules gris-blanchâtre proéminents, les poumons présentent une couleur caractéristique brune et des foyers de nécrose formant des nodules d'aspect tumoral, une entérite (marquée au niveau duodénal), une moelle osseuse brunâtre, important exsudat fibrineux jaune diffus dans le péritoine et sur la capsule du foie gauche et une néphrite.

Dans sa forme chronique, les lésions sont essentiellement localisées au niveau de l'appareil reproducteur, notamment les ovaires avec de nombreux follicules difformes, nodulaires et atrésiques. Les follicules ovariens sont dégénératifs et rattachés par un pédoncule à l'ovaire présentant un aspect «cuit». (SHIVAPRASAD)

5.2.7. Diagnostic

Bien que les aspects cliniques, lésionnels et épizoologiques de la typhose soient très évocateurs, ils ne sont pas suffisamment pathognomoniques pour la différencier des autres causes de septicémie. C'est pourquoi, il est nécessaire de confirmer la maladie par la mise en évidence de *S.gallinarum* par les épreuves sérologiques. Les résultats positifs de ces dernières doivent être interprétés avec prudence en raison des réactions croisées avec d'autres salmonelles du sérogroupe D telles que S. *enteritidis.* (SHIVAPRASAD, 2000)

5.2.8. Traitement

Tous les efforts doivent être déployés pour éradiquer cette maladie. Dans ce cas, le traitement n'est pas faisable ni souhaité. Divers sulfamides, nitrofuranes, chloramphénicols, tétracyclines et aminoglycosides ont été révélés efficaces pour réduire la mortalité, cependant, aucun traitement n'a été trouvé capable d'éliminer l'infection d'un troupeau traité et des générations à venir. (SHIVAPRASAD, 2000)

5.2.9. Prophylaxie

Offensive :

L'obtention de troupeaux de reproducteurs indemnes puis la protection de leur progéniture contre toute contamination ultérieure est une exigence fondamentale dans la prévention de la

typhose. Des examens sérologiques effectués régulièrement, et l'élimination des vecteurs, la mise en place des jeunes oiseaux dans un environnement ayant été nettoyé et désinfecté, un aliment indemne de salmonelles et des mesures strictes de biosécurité contribuent beaucoup à la prévention de la typhose.

Divers vaccins tels que la souche 9R, les protéines de la membrane externe, l'utilisation de souches mutantes de *S. gallinarum*, et les dérivés plasmidiques de virulence atténuée de *S. gallinarum* ont été utilisés pour protéger les oiseaux de la typhose dans des pays où il n'y a pas de programme d'éradication. (DAVIES, 2008)

Défensive :

Les mêmes mesures prises lors de la pullorose, la confirmation de l'existence de la maladie implique l'élimination totale du lot atteint l associé à une destruction des litières et une désinfection des locaux et du matériel contaminé.(GANIERE, 2008)

5 .3. L'Arizonose:

5.3.1. Définition :

L'arizonose est une maladie septicémique retrouvée dans le monde entier. Elle a toujours été la maladie des jeunes dindons, mais elle peut également infecter d'autres oiseaux domestiques et sauvages y compris les poulets et une grande variété d'espèces animales différentes. Cette affection se présente sous forme aiguë ou chronique et se caractérise par une septicémie, des signes neurologiques, une cécité et une augmentation de la mortalité.

5.3.2. Etiologie:

L'arizonose est une affection due à *Salmonella enterica* subsp. *Arizonae*, classée dans la famille *Enterobacteriacae*. Il y a de nombreux sérotypes de *S. arizonae* parmi lesquels 18:Z4, Z23 et18:Z4, Z32 sont les plus courants. C'est une bactérie à Gram-négatif, non sporulée, mobile, qui fermente lentement le lactose, nécessitant généralement quelques jours. La fermentation lente de *S. arizonae* peut être prise à tort pour d'autres espèces de *Salmonella* à moins que les tubes de fermentation ne soient maintenus pendant une période suffisante.

Historiquement, l'agent étiologique de l'arizonose était considéré comme appartenant au genre *Arizona*. Depuis 1984, il a été caractérisé comme une sous-espèce du genre Salmonella sur la base de la parenté de l'ADN avec ce genre.

5.3.3. Epizoologie:

L'épizoologie de l'arizonose peut être semblable aux autres salmonelloses, notamment les paratyphoses. Distribuée dans le monde entier et éradiquée dans quelque pays comme le Royaume-Uni. La plupart des épizooties se produisent chez les dindons. Bien que tous les âges soient sensibles, la maladie est plus fréquente chez les dindonneaux moins de 3 semaines. Des poussins, des canetons, des canaris, des psittacidés et d'autres oiseaux ont parfois été trouvés infectés. Elle se produit fréquemment chez les reptiles, qui peuvent servir de réservoirs. Elle peut affecter les humains mais elle n'est pas commune.

La transmission est à la fois horizontale et verticale et constitue un cercle vicieux, Les oiseaux adultes infectés sont fréquemment des porteurs intestinaux et des excréteurs intermittents. La contamination de la surface des coquilles d'œufs par des fèces entraîne la pénétration de l'agent pathogène et l'infection de la progéniture. Les descendants infectés qui éclosent des œufs infectés transmettent l'organisme latéralement aux oiseaux non infectés dans l'écoutille et peuvent ensuite devenir des porteurs et des excréteurs de l'organisme. L'exposition à l'agent peut également se produire par l'intermédiaire de reptiles, de rats, de souris et de nombreux autres mammifères.
Les bactéries en cause survivent dans l'environnement de la même manière que les autres salmonelles (Williams, 1972). Elle sont largement distribuées dans la nature et peuvent être isolées à partir de préparations des aliments des volailles (Erwin, 1955), terre (Sato, 1967), litière (Snoeyenbos et Smyser, 1969) et la coquille d'œuf (Sato et Adler, 1968; al, 1971). Rosenwald (1965) et Kowalski et Stephens (1968) ont cité des informations qui ont indiqué que organismes pourraient survivre dans les élevages au moins 6 mois.

Cela fait de l'arizonose une maladie importante économiquement en raison de la morbidité et de la mortalité rencontrées chez les dindonneaux mais aussi en raison de la localisation génitale de la bactérie dans l'ovaire et l'oviducte des dindes reproductrices perpétuant la contamination des dindonneaux.

5.3.4. Pouvoir pathogène :

S. arizonae a la capacité d'élaborer des endotoxines, entraînant une inflammation de plusieurs organes, notamment dans le sac vitellin, le cerveau, les yeux et les cecas.

5.3.5. Sur le plan clinique:

Chez les jeunes dindonneaux, il peut y avoir de l'apathie, de la diarrhée, de l'ataxie, des tremblements, des torticolis, une turbidité. Un élargissement de l'œil causant la cécité peuvent survenir chez les dindonneaux infectés, les yeux affectés subissent une atrophie et sont utiles pour

identifier les troupeaux précédemment infectés. Les signes du système nerveux central se produisent chez les oiseaux présentant des lésions cérébrales. Une croissance médiocre et inégale dans le troupeau est observée même après la fin de la maladie clinique. Une mortalité excessive (3-5% est la plus fréquente, bien que des pertes allant jusqu'à 50% aient été rapportées). Les porteurs adultes ne montrent généralement aucun signe.

5.3.6. Sur le plan lésionnel :

Typiquement, des lésions de septicémie sont observées, y compris un foie jaune marbré hypertrophié. Parfois, il y a des boudins fibrinonécrotiques observés dans la lumière de l'intestin ou le caecum sont caractéristiques d'une salmonellose, dont *S. arizonae* chez le dindonneau. Les sacs vitellins infectés se développent en abcès chez les dindonneaux qui survivent à la septicémie initiale. Un nombre réduit mais significatif de dindonneaux ont une opacité ou une turbidité de l'œil ou des yeux (ophtalmite). Cette lésion utile n'est pas pathognomonique car elle survient également lors de la paratyphoïde, l'aspergillose ou la colibacillose, cependant, elle survient plus fréquemment lors de l'arizonose. Exsudat purulent dans les méninges, les ventricules latéraux du cerveau, ou dans l'oreille moyenne et interne est observé chez les oiseaux avec des signes du système nerveux central.

5.3.7. Diagnostic :

Les signes cliniques, les lésions et le taux de mortalité sont insuffisants pour différencier l'arizonose des autres salmonelloses. Cependant, ils peuvent servir à établir un diagnostic préliminaire. L'agent étiologique doit être isolé et identifié, S. arizonae peut généralement être récupérée du foie, la rate, le sang du cœur, le jaune non absorbé, l'intestin ou d'autres organes. Elle est facilement récupérable des yeux, des oreilles et du cerveau infectés. Cette bactérie persiste plusieurs semaines dans les yeux atrophiés, à partir desquels elle peut être facilement récupérée. En outre, elle peut être cultivée à partir d'embryons, de coquilles d'œufs ou d'organes ne provenant pas d'éclosions d'oiseaux reproducteurs infectés et d'échantillons environnementaux. Les procédures d'enrichissement utilisées pour isoler d'autres salmonelles sont également efficaces pour détecter S. arizonae.

5.3.8. Traitement :

Des antibiotiques tels que la gentamicine, les tétracyclines et les sulfonamides peuvent être efficaces dans la prévention de la surmortalité. Le traitement n'empêche pas les oiseaux de devenir porteurs et excréteurs de l'organisme. Expérimentalement, l'utilisation d'une bactérine chez les

dindes reproductrices s'est avérée utile pour réduire l'excrétion et associée à de bonnes procédures de gestion, éliminant finalement la maladie des élevages de reproducteurs.

5.3.9. Prophylaxie :

- Offensive :

Malheureusement, il n'existe pas de test sérologique facilement disponible pour l'identification des troupeaux infectés ou des oiseaux individuels. De tels troupeaux sont souvent identifiés en cultivant l'agent à partir de leurs œufs ou de leur progéniture.

Les dindonneaux d'un jour sont habituellement inoculés au couvoir avec des antibiotiques pour contrôler la mortalité due à l'arizonose, La gentamicin est le plus couramment utilisé. Des souches résistantes à la gentamicine ont été trouvées et ont causé des pertes très élevées, dans ces cas, l'utilisation de tétracyclines injectables ou de ceftiofur peut être utile.

- Défensive :

La mise en place de tests de détection de *S. arizonae* pour les reproductrices avant la mise en reproduction et l'élimination des oiseaux positifs est la meilleure méthode de prévention.

La mise en œuvre des mesures de biosécurité, l'isolement total des oiseaux, de lutter contre la pénétration dans les bâtiments d'oiseaux et les rongeurs venant de l'extérieur, le nettoyage, la désinfection et la surveillance des oiseaux, des œufs et des plateaux d'œufs et de l'environnement sont essentiels pour réussir la prévention et l'élimination de *S. arizonae* tant chez les dindes reproductrices que dans les couvoirs.

CHAPITRE III : LES ANTIBIOTIQUES ET LES ANTIBIORESISTANCES

Chapitre III
Les antibiotiques et les antibiorésistances

1. Les antibiotiques

1.1. Introduction

Les maladies infectieuses, notamment bactériennes restent au premier rang des causes de décès les plus fréquentes dans le monde. Parmi l'ensemble des médicaments utilisés dans le but de lutter contre ces maladies, les antibiotiques sont sans aucun doute les plus utilisés, ont fait progresser l'espérance de vie de plus de 10 ans (MCDERMOTT et *al.*, 1982).

1.2. Historique

En 1877, Pasteur et Joubert ont expérimenté la concurrence vitale entre micro-organismes (aussi appelée antibiose), en l'occurrence entre bactéries en décrivant le principe actif de cet organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie.

En 1929, Fleming a découvert un *Penicillium* sur une boîte de Pétri. Il a mis en évidence l'inhibition du staphylocoque doré par cette culture de *Penicillium*. En 1940, Chain a obtenu une forme stable et utilisable *in vivo* (essais sur des souris) de la pénicilline, qui permet l'élaboration du premier antibiotique. En 1942, production à l'échelle industrielle de la pénicilline qui a été utilisée et bénéfique pendant la 2ème guerre mondiale.

1.3. Définition

Un antibiotique est une substance chimique d'origine naturelle ou synthétique ayant une action sélective et ciblée sur les micro-organismes : bactéries ou protozoaires, à l'exception notable des virus, sur lesquels ils sont sans effet.

Un grand nombre d'antibiotiques sont fabriqués par des micro-organismes : des champignons ou d'autres bactéries, ces dernières les produisent dans le but d'éliminer les bactéries concurrentes avec lesquelles ils sont en compétition dans leur biotope (EUZEBY, 2005 ; LAVIGNE, 2007).

1.4. Caractéristiques

1.4.1. Toxicité sélective

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions antibiotique-bactéries d'une part et antibiotique-organisme d'autre part. Cependant, un antibiotique peut tuer ou inhiber le germe pathogène en le ciblant spécifiquement sans pour autant être nocif pour l'organisme; c'est-à-dire en portant le moins préjudice pour l'hôte. Par exemple : la pénicilline qui inhibe les enzymes responsables de la synthèse du peptidoglycane bactérien n'a que peu d'effets sur les cellules hôtes car elles ne possèdent pas de peptidoglycane (ALAMI et *al.*, 2005)

1.4.2. Spectre d'activité

Également appelé champ d'efficacité d'un antibiotique, il définit la liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs. Le spectre est propre à chaque antibiotique, et peut varier dans le temps à la suite de l'apparition de nouvelles résistances chez les différentes espèces bactériennes. L'antibiotique peut être :

- À spectre étroit : quand son activité se limite à une variété de microorganismes;
- À large spectre : quand il agit contre différents types d'agents pathogènes (LAVIGNE, 2007; NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.5. Activité antibactérienne

C'est l'effet qu'exerce un antibiotique sur une bactérie; allant de l'inhibition du développement et de la croissance bactérienne (bactériostase) jusqu'à la destruction totale de la bactérie (bactéricide) (NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

Cette activité antibactérienne est caractérisée en pratique par :

- Posséder une cible bactérienne spécifique;
- Accéder et pénétrer jusqu' à sa cible bactérienne;
- Être capable de se lier à sa cible;
- Demeurer sous forme active;

- Interagir efficacement avec sa cible, en l'inactivant.

Si une de ces conditions est absente la souche sera résistante à l'antibiotique (ALAMI et *al.,* 2005; CHOMARAT, 2012).

1.5.1. Effet bactériostatique

C'est l'effet qui entraine l'inhibition temporaire et réversible de la croissance et de la prolifération bactérienne par l'antibiotique (HELALI, 2002; NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.5.2. Effet bactéricide

C'est l'effet qui entraine la mort des bactéries en réduisant leur nombre initial (YENI, 2003; NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.6 . Classification

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères, parmi eux : l'origine, le mode d'action, le spectre d'activité, la nature ou la structure chimique (AUCKENTHALER, 1995).

Toutefois, pour un praticien, les critères les plus importants sont le mode d'action, bactéricide ou bactériostatique et le spectre s'activité (ALAMI et *al.,* 2005 ; ABDENNEBI, 2006).

1.7. Mode d'action des principales familles d'antibiotiques

Le principe d'action des antibiotiques consiste à inhiber ou à bloquer sélectivement une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la survie ou à la multiplication des micro-organismes. Le mécanisme ciblé par l'antibiotique est le plus souvent spécifique des bactéries. Chaque famille d'antibiotique est dotée d'actions qui lui sont propres (PAGE *et al*; 1999, NAUCIEL et VILDÉ; 2008).

On distingue quatre grands modes d'action d'antibiotiques (figure 1) :

- Action sur la synthèse de la paroi bactérienne;
- Action sur la synthèse protéique;
- Action sur la synthèse des acides nucléiques ;
- Action inhibitrice sur la membrane cytoplasmique (ALAMI et *al.*, 2005)

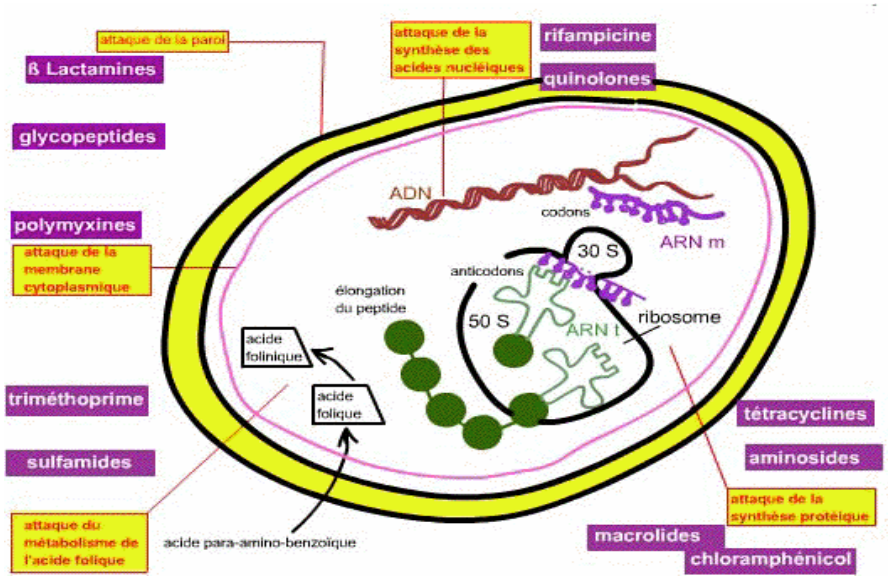

Figure 1 : Différents modes d'action des antibiotiques (LAVIGNE, 2007)

1.7.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Certaines bactéries sont protégées de l'environnement extérieur par une paroi qui contient en particulier une couche de peptidoglycane plus ou moins épaisse; un polymère spécifique comportant des acides aminés et des sucres. C'est ce peptidoglycane présent dans la paroi qui contribue à la solidité mécanique de la bactérie. Les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane bloquent les différentes étapes de cette synthèse, ayant ainsi un effet létal pour la bactérie (bactéricide) (NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.7.1.1. β-Lactamines

Elles ont en commun un noyau β-Lactame. Leur action sur la synthèse du peptidoglycane consiste en leur fixation suivie par l'inhibition des protéines liant la pénicilline (PLP); ce sont des protéines membranaires appartenant à la bactérie (une bactérie contient plusieurs variétés de PLP). L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec les β-Lactamines. On obtient ainsi des formes bizarroïdes (rondes ou filamenteuses) qui aboutissent à la lyse bactérienne (NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.7.1.2. Glycopeptides

Ces molécules se lient au dipeptide terminal D-ala-D-ala (précurseur du peptidoglycane) qui normalement est intégré dans le PG. Le glycopeptide empêche cette intégration par blocage de la

polymérisation du PG entrainent secondairement l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et ainsi la mort de la bactérie (ALAM et *al.*, 2005; NAUCIEL et VILDÉ, 2008 ; CHOMARAT, 2012).

1.7.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

La synthèse des protéines est un processus essentiel des cellules vivantes. L'élément central de ce processus dans lequel l'ARN messager est traduit en protéine est le ribosome, l'organite cellulaire qui est responsable de cette étape. Il existe un grand nombre de molécules antibiotiques qui sont capables de bloquer sélectivement la traduction des protéines chez les bactéries. De ce fait, approximativement la moitié des antibiotiques utilisés en thérapeutique ont pour cible le ribosome bactérien.

La grande majorité de ces antibiotiques est bactériostatique, à l'exception des aminosides qui sont bactéricides (PAGE *et al.*, 1999; NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

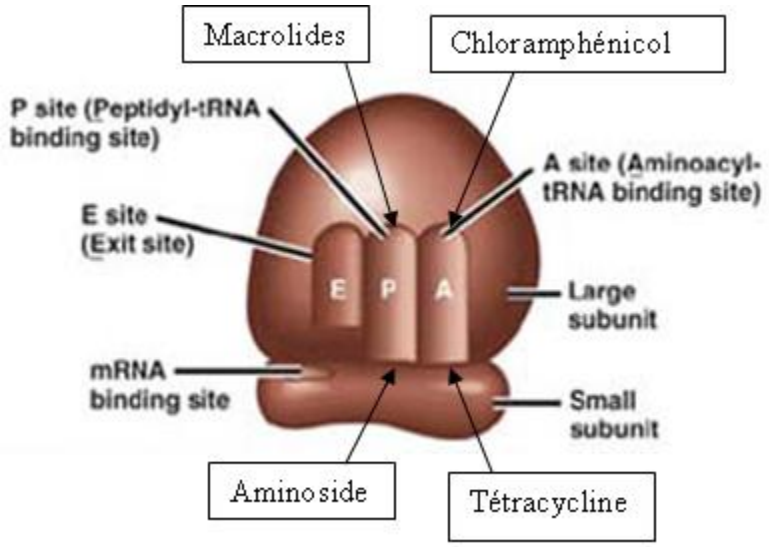

Figure 2 : Action des antibiotiques sur la synthèse protéique (LAVIGNE, 2007).

1.7.2.1. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

1.7.2.1.1. Aminosides

Ce sont des antibiotiques ayant une activité bactéricide puissante, une structure commune, un spectre d'activité large, mais une diffusion tissulaire limitée, une toxicité importante et se distinguent

par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant les inactiver (MOULIN et COQUEREL, 2002; CHOMARAT, 2012).

Leur mode d'action consiste en leur fixation sur la sous-unité 30S; à concentration subthérapeutique : ils provoquent des erreurs de lecture du code génétique lors de la traduction des protéines, et à concentration thérapeutique : ils inhibent l'élongation de la chaine peptidique en bloquant le complexe d'initiation (LAVIGNE, 2007).

1.**7.2.1.2. Tétracyclines**

Inhibent la synthèse protéique en se Fixant de façon réversible à la sous-unité 30S des ribosomes et en empêchant l'attachement des Aminoacyl-ARNt au site A du ribosome, et en inhibant la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique (LAVIGNE, 2007).

1.7.2.2. Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

1.7.2.2.1. Chloramphénicol

Agissent en se fixant à la sous-unité 50S du ribosome (au site A) empêchant ainsi l'attachement des Amino-acylARNt au site A du ribosome, Ils inhibent également la polymérase (LAVIGNE 2007 ; NEAL, 2007).

1.7.2.2.2. Macrolides, lincosamides et streptogramines

Les MLS sont des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la sous-unité 50S du ribosome. Ils inhibent la croissance de la chaine polypeptidique en formation par leur liaison de façon réversible à la sous-unité 50S des ribosomes (site P) et en inhibant la translocation et la transpeptidation de la chaine peptidique en croissance (LAVIGNE, 2007 ; NEAL, 2007).

1.7.2.3. Antibiotique inhibant le facteur d'élongation G

La synthèse protéique serait inhibée par la formation d'un complexe stable avec le facteur d'élongation diphosphate et le ribosome. La phase d'élongation est ainsi bloquée et par voie de conséquence la translocation est arrêtée (LANKOVIC et DUVAL, 1997).

1.7.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN est absolument vitale pour les cellules bactériennes, sans elle, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible. Un certain nombre de composés d'antibiotiques peuvent bloquer de manière directe ou indirecte ces voies de biosynthèse des acides nucléiques.

1.7.3.1. Sulfamides et triméthoprime

Ils inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS) et par conséquent provoquer son inhibition. Le triméthoprime est beaucoup plus utilisé en association avec un sulfamide, en agissant à deux niveaux différents de la synthèse des folates, ce qui leur assure un effet synergique (NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.7.3.2. Quinolones

Ce sont des bactéricides, leur mode d'action consiste en l'inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux enzymes impliqués dans cette synthèse: l'ADN gyrase et l'ADN topo- isomérase IV. Les quinolones altèrent ainsi rapidement la réplication de l'ADN, induisant la mort de la bactérie (TANKOVIC et DUVAL, 1997 ; NEAL, 2007).

1.7.3.3. Nitrofuranes et Nitro-imidazoles

Ils ont le même mode d'action, agissent directement sur l'ADN provoquant diverses lésions (coupures et substitution de bases), ceci en libérant des radicaux libres toxiques capables d'oxyder l'ADN bactérien et de le couper (ALAMI *et al.*, 2005 ; NEAL, 2007 ; NAUCIEL et VILDÉ, 2008).

1.7.4. Antibiotiques agissant sur les membranes

1.7.4.1. Les Polymyxines

L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle agit sur la membrane cellulaire des bactéries Gram négative en se fixant sur les phospholipides provoquant ainsi une perméabilité membranaire d'où rupture de la barrière osmotique. La bactérie se vide ainsi de ses composants cytoplasmiques vitaux et meurt (MONTERO et *al.*, 2003 ; ALAMI et *al.*, 2005).

2. L'antibiorésistance

2.1. Introduction

Après plus de 50 ans d'utilisation massive des antibiotiques, nous arrivons maintenant à une période plus délicate, où les bactéries reprennent l'avantage en développant des stratégies de résistance à leurs vis-à-vis, et certains parlent déjà de possible ère post-antibiotique (ALAMI *et al.*, 2005).

8.2. Historique

En 1940, avant même que la pénicilline n'ait été largement utilisée en thérapeutique, Abraham et Chain attirent l'attention sur le fait que *Bacterieum coli* inactive la pénicilline G en produisant une enzyme dénommée la pénicillinase (ABRAHAM ET CHAIN, 1940). Dès 1945 Fleming s'inquiétait du mauvais. Ensuite, chaque fois qu'a été mise au point une nouvelle substance, les bactéries s'y sont adaptées plus ou moins vite.

8.3. Définition

Selon Schwarz et Chaslus-Dancla (2001), une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de ce dernier au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou pour la tuer. Cette définition n'attribue pas la résistance seulement au problème microbiologique, mais aussi aux aspects pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et cliniques (ABDENNEBI, 2006).

8.4. Les différents types de résistance

La résistance aux ATB peut être naturelle ou acquise :

8.4.1. La résistance naturelle

Elle représente une propriété intrinsèque, c'est une insensibilité aux ATB, existant naturellement chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien, et fait partie de son patrimoine génétique (YALLA et *al.*, 2001 ; COURVALIN, 2008). Exemple : *Pseudomonas aeruginosa* n'est jamais sensible à l'ampicilline.

8.4.2. La résistance acquise

Résistance qui apparaît chez des bactéries jusqu'alors sensibles aux ATB, échappant ainsi à son effet thérapeutique. Elle résulte d'une modification du patrimoine génétique chromosomique ou plasmidique. Elle ne concerne que quelques souches au sein de l'espèce considérée mais peut s'étendre (ALAMI et *al.*, 2005 ; LAVIGNE, 2007 ; COURVALIN, 2008).

8.5. Biochimie de la résistance

8.5.1. Résistance croisée

La résistance croisée correspond à la résistance à tous les membres d'une classe d'antibiotiques, due à un seul mécanisme de résistance (COURVALIN, 2008).

8.5.2. Co-résistance

Dans la co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun confère (par résistance croisée) la résistance à une classe d'antibiotiques, ce qui entraîne *in fine* un large phénotype résistant de la bactérie hôte (COURVALIN, 2008).

8.6. Mécanismes biochimique de la résistance aux antibiotiques

Pour échapper à l'action létale des antibiotiques, les bactéries sollicitent de très nombreux mécanismes biochimiques de résistance (naturelle ou acquise), associés à une grande ingéniosité génétique pour les acquérir et les diffuser. On peut classer les mécanismes de résistance aux antibiotiques en 4 groupes :

8.6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Pour être actif, l'antibiotique doit arriver intact à sa cible. Lorsqu'il y'a modification de l'antibiotique par des enzymes soit par ajout de groupement acétyle, adéninyle ou phosphorique ceci aboutit a son inactivation ou a sa destruction (Abdennebi, 2006 ; Doucet, 2006). Les plus connues sont les β- lactamases, sont des enzymes capables de couper la liaison beta lactame, liaison essentielle à l'activité des pénicillines et des céphalosporines (KEZZAL, 1993).

Il existe d'autres enzymes inactivant les aminosides, le chloramphénicol et les macrolides**,** comme les acétyltransférases, les nucléotidyltransférases, et les phosphotransférases. Le chloramphénicol peut être inactivé par une chloramphénicol-acétyltransférase. Les gènes codant ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (POYART, 2003).

8.6.2. Modification de la cible

La liaison de l'antibiotique à sa cible est inhibée par une reprogrammation ou camouflage de cette dernière. La molécule ne la reconnaît plus et devient inactive. Ce phénomène est dû à des bactéries qui ont la capacité de mutation d'un gène responsable de la biosynthèse de la protéine sur laquelle agit l'antibactérien (ABDENNEBI, 2006 ; PAQUET-BOUCHARD, 2006).

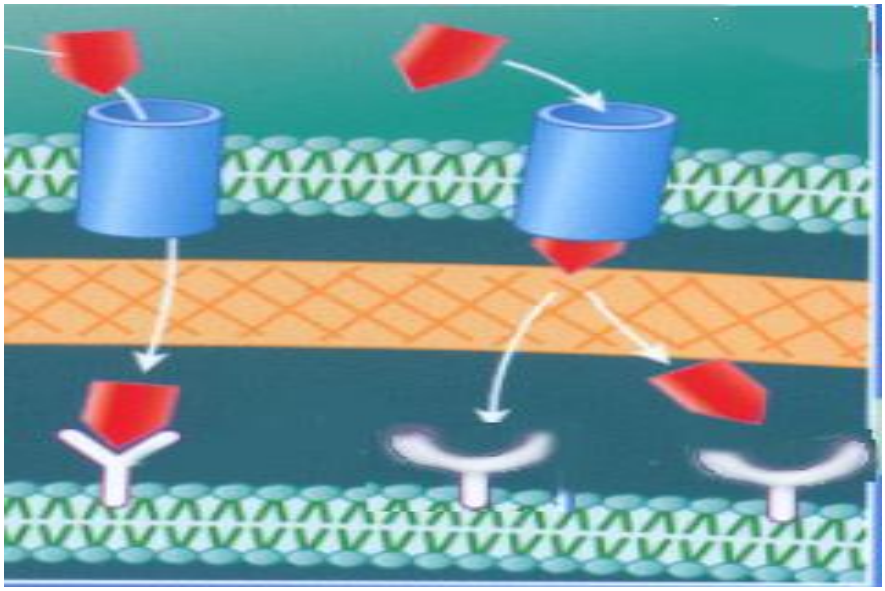

Figure 3 : Modification de la cible (ARCHAMBAUD, 2009)

8.6.3. Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles (Nauciel et Vildé, 2008). Des mutations peuvent entraîner la perte de certaines porines ou les altérer et de ce fait entraver la pénétration de l'ATB et peuvent entraîner la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément : β-lactamines, aminosides, et quinolones (Pages, 2004 ; Denyer et Maillard, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2008).

8.6.4. Excrétion par efflux

Autre l'imperméabilité il existe un autre mécanisme qui explique la non accumulation à l'intérieur de la bactérie qui est l'efflux actif. L'antibiotique rentre dans la bactérie mais avant qu'il puisse se fixer sur sa cible, il est pris en charge par les protéines membranaires et excrété vers l'extérieur de la bactérie, ce système fonctionne avec une protéine de la membrane externe qui forme le canal d'excrétion et une protéine périplasmique chargée d'assurer la liaison entre les précédentes (GAUDY et BUXERAUD, 2005).

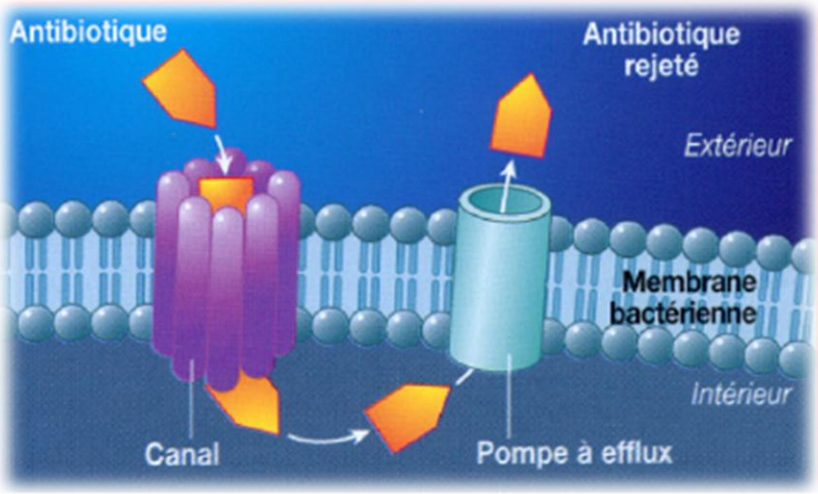

Figure 4 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (ARCHAMBAUD, 2009)

8.7. Mécanisme génétique de la résistance

La résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes (COURVALIN, 2008) :

1) Mutations dans le génome. On parlera alors de transmission verticale à la descendance ;

2) Acquisition d'information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries, par transfert horizontal.

8.8. Conséquence de la résistance aux antibiotiques

Cette résistance a des conséquences médiates et immédiates : L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure, diffusion de la résistance, l'apparition de souches multi-résistantes et de bactéries transmises par les aliments et résistantes aux antimicrobiens qui peuvent causer des infections au sein de groupes de populations sensibles (ABDENNEBI, 2006).

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Chapitre I
Matériel et Méthodes

1. Objectifs

Devant l'absence de données épidémiologiques qui autorisent une étude de la résistance microbienne à plusieurs antibiotiques, le choix de l'antibiotique est tout à fait arbitraire. Cela mène à un usage intensif et anarchique des antibiotiques, qui se traduit par l'inefficacité des traitements et l'apparition de souches multi-résistantes.

Le but de notre étude est d'isoler le germe *Salmonella* à partir de sujets présentant des lésions de salmonellose et d'étudier la sensibilité de ces souches vis-à-vis de douze molécules d'antibiotiques appartenant à différentes familles.

2. Lieu et période de l'étude

L'étude s'étend sur une période d'un mois, du 16 avril au 11 mai 2017. Elle est menée dans la région Est de l'Algérie, dans les wilayas de Sétif, Mila et Bordj Bou Arreridj. Les sujets sont prélevés à partir des élevages de poules pondeuses et de la dinde de chair.

Les autopsies sont effectuées au laboratoire, puis les organes (foies) sont prélevés sur place avant d'être acheminés, dans une glacière à + 4°C, au laboratoire d'H.I.D.A.O.A pour les examens bactériologiques.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Echantillonnage et prélèvement

Les échantillons sont prélevés au hasard (5 à 10 sujets par bâtiment) sur des élevages, à partir des poules pondeuses (essentiellement) et de la dinde de chairs malades.

Les organes sont prélevés stérilement et mis dans des pots stériles (figure 5). L'autopsie de 25 sujets permet de recueillir un total de 25 isolats de *Salmonella.*

Figure 5 : Prélèvements d'organes dans les pots stériles (Originale, 2017)

3.1.2. Matériel nécessaire à l'autopsie :

Le materiel utilisé pour l'autopsie est composé d'instruments métalliques facile à désinfecter : couteaux, ciseaux fins et forts, costotomes, bistouris, sonde cannelée et une table en inox.

3.1.3. Milieux de culture :

Les milieux de culture utilisés lors de notre expérimentation sont les suivants:

- Bouillon nutritif : c'est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes, peu exigeants. Il est recommandé dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, de l'eau et d'autres produits (EATON et *al.*, 1995) ;
- Gélose nutritive, milieu convenant à la culture des bacté
- (ries ne présentant pas d'exigences particulières (Idéal Labo, Algérie) ;
- La gélose Hektoen est un milieu sélectif de choix pour l'isolement des salmonelles ; bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif (bioScan) ;
- Milieu TSI (Triple Sugar Iron), milieu d'identification biochimique (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20^{E}, (Bio-Mérieux, France).

3.1.4. Produits de laboratoire :

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont:

- Eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Les réactifs (figure 2) :

- Réactif Kovac's, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif VP1, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif VP2, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Réactif TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie ;

Figure 6 : Réactifs utilisés (Originale, 2017)

- Ecouvillons ;
- Disques d'antibiotiques présentés dans la figure 7.

Figure 7 : Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme (Originale, 2017)

3.2. Méthodes

3.2.1. Conduite expérimentale :

Les différentes étapes de l'expérimentation sont regroupées dans le schéma suivant :

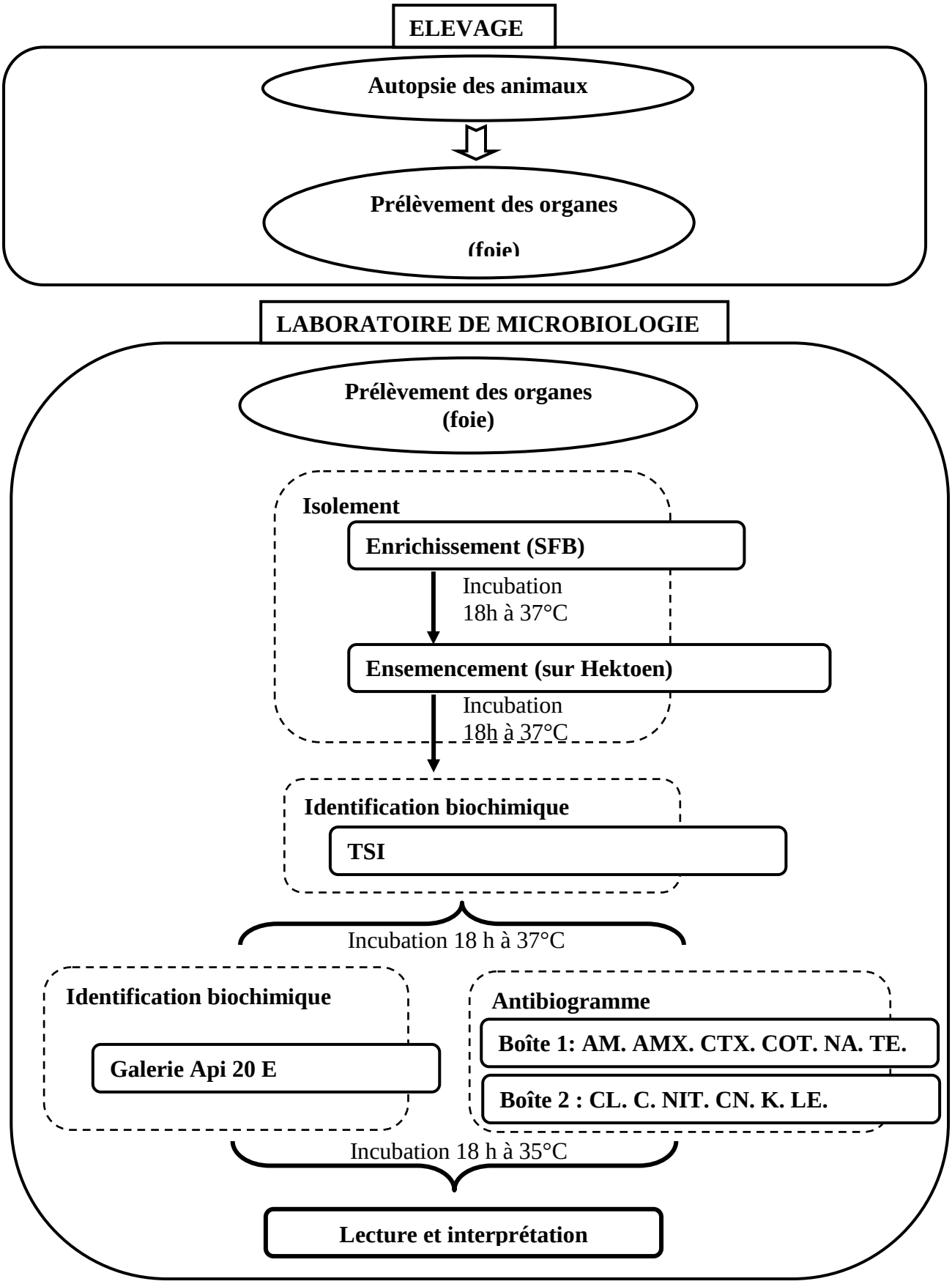

Figure 8 : Schéma montrant le protocole expérimental suivi

3.2.2. Autopsie :

L'autopsie est un temps essentiel du diagnostic en pathologie aviaire. Elle nécessite à la fois une connaissance des techniques d'autopsie, de la topographie normale des organes, mais aussi des principales images lésionnelles que l'on peut rencontrer dans la pratique courante.

Le protocole d'autopsie que nous avons suivi au cours de notre travail est résumé dans les étapes suivantes (Madjo et Dolz, 2012) :

a. Examen externe et préparation de l'animal ;
b. Exploration de la cavité oropharyngée et de la trachée ;
c. Dépouillement du cadavre ;
d. Ouverture du cadavre et éviscération, observation de la cavité thoraco-abdominale ;
e. Examen du tube digestif et de ses glandes annexes ;
f. Examen du cœur et de l'appareil respiratoire ;
g. Examen des appareils génital et urinaire ;
h. Examen des organes hémato-lymphopoiétiques ;
i. Examen du système nerveux ;
j. Examen de l'appareil locomoteur.

3.2.3. Bactériologie :

L'isolement et l'identification de salmonelle :

3.2.3.1. Isolement des *salmonelles:*

Au laboratoire d'HIDAOA, la surface de l'organe est flambée puis l'organe est coupé stérilement en petits dés à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles (figure 9).

Figure 9 : Flambage et découpage des organes (Originale, 2017)

3.2.3.1.1. Enrichissement :

Le milieu d'enrichissement, tube de bouillon nutritif, est ensemencé par l'introduction des petits dés d'organes à l'intérieur du tube puis incubé 18 à 24 h à 37°C.

3.2.3.1.2. Ensemencement :

On procède à l'ensemencement par la technique d'épuisement, à partir du tube bouillon nutritif, contenant les organes et incubé la veille. Une goutte de ce bouillon est ensemencée sur la gélose Hektoen, puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18 à 24 h à 37°C (figure 10).

Figure 10: Enrichissement des organes (Originale, 2017)

3.2.3.2. Identification des *salmonelles:*

L'étape suivante concerne l'identification microbiologique. Elle permet d'orienter l'opérateur vers une classe bien définie de bactéries. Elle met en œuvre les réactions suivantes :

3.2.3.2.1. Identification morphologique :

Sur le plan macroscopique :

Les *Salmonella* dans la gélose Hektoen donnent des colonies incolores à vertes (il n y a pas fermentation des trois glucides présents dans le milieu : lactose, saccharose, salicine) avec un centre noir (H2S +) (figure 11).

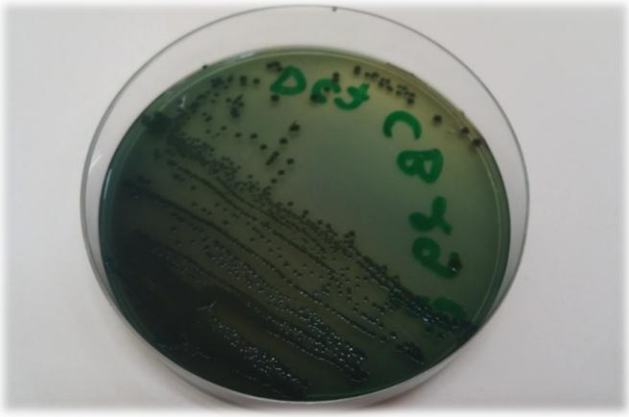

Figure 11 : Aspect macroscopique des colonies (Originale, 2017)

3.2.3.2.2. Identification biochimique :

3.2.3.2.2.1. Test des 3 sucres (TSI) :

Certaines espèces peuvent être identifiées grâce à ce test.

Un tube de milieu TSI (Triple Sugar Iron) (figure 13) est ensemencé avec la souche à étudier (en stries centrales sur la pente puis en piqûre profonde dans le culot) et est ensuite mis à incubé durant 18 heures à 37°C.

Ce test permet la mise en évidence de la fermentation du glucose (virage au jaune au niveau du culot), du lactose (coloration jaunâtre au niveau de la pente) et du saccharose (coloration jaunâtre au niveau de la zone intermédiaire), avec ou sans dégagement de gaz.

La production d'H_2S, qui colore le milieu en noir, est due à la formation de sulfure de fer :

Pente
- Virage au jaune → lactose +
- Couleur reste rouge → lactose –

Intermédiaire
- Virage au jaune → saccharose +
- Couleur reste rouge → saccharose –

Culot
- Virage au jaune → glucose +
- Couleur reste rouge → glucose –

Noircissement du milieu → production d'H_2S

Formation de bulles → production de gaz

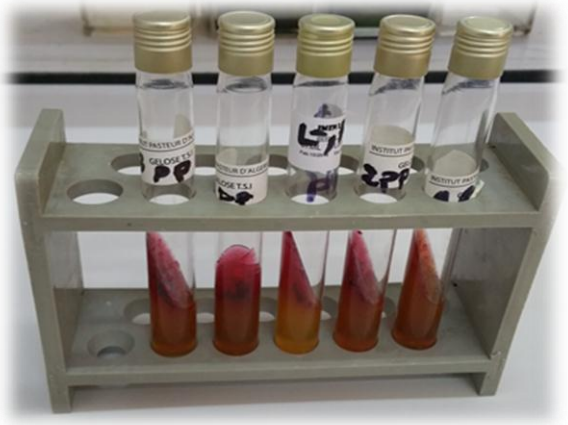

Figure 12 : Tube de milieu TSI (Originale, 2017)

Les colonies qui présentent les caractères enumérés dans le tableau 3 seront identifiées à l'aide d'une galerie API 20E, galerie biochimique qui comprend 20 caractères différents.

Tableau 3: Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI :

Milieu	**TSI**				
Test	Glucose	Saccharose	Lactose	H_2S	Gaz
Résultat	+	-	-	+	+

3.2.3.2.2.2 Identification biochimique par API 20 E :

a) Principe :

La galerie API 20E est un système pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces substrats sont inoculés avec des suspensions bactériennes des salmonelles présumées obtenues à partir de la mini-galerie. Après incubation, les réactions sont traduites par des changements spontanés de coloration révélés par l'addition ou non des réactifs. L'interprétation des résultats se fait à l'aide d'un logiciel d'identification ApiWeb. Elle peut également se faire en s'aidant du catalogue fourni avec les galeries (Figure 9).

La galerie 20 E permet d'identifier les caractères suivants :

1) Test de la β-galactosidase (ONPG) :

Pour que le lactose soit utilisé par les bactéries, il doit être scindé par des enzymes intracellulaires, les bêta-galactosidases. Ces enzymes sont spécifiques de la liaison bêta-1,4-osidique et elles hydrolysent le lactose en glucose et galactose.

Pour qu'une bactérie utilise le lactose, il faut que le lactose puisse pénétrer dans la cellule. Cette pénétration nécessite une autre enzyme, la bêta-galactoside perméase. Si cette enzyme est déficiente ou absente, une bactérie potentiellement capable d'utiliser le lactose (possédant une bêta-galactosidase) ne pourra exprimer ce caractère et paraîtra lactose négatif.

Le but de ce test est d'étudier l'existence d'une galactosidase chez le germe, donc la possibilité de la fermentation effective du lactose, indépendamment de la perméase bactérienne, à l'intérieur de la cellule, l'ONPG (Ortho-Nitro-Phényl Galactoside) est scindé par la galactosidase en galactose et en orthonitrophénol de coloration jaune.

Sur la plaque API 20 E, le microtube contient un substrat d'ONPG, donc on inocule seulement la suspension bactérienne.

Toutes les bactéries possédant une bêta-galactosidase présentent un test ONPG positif. Cependant, certaines bactéries dépourvues de bêta-galactosidase peuvent hydrolyser l'ONPG grâce à une autre enzyme appelée ONPGase. La dénomination de "test ONPG" est donc plus correcte que la dénomination de "recherche de la bêta-galactosidase".

2) Test de lysine décarboxylase (LDC), ornithine décarboxylase (ODC) et de l'arginine dihydrolase (ADH) :

La décarboxylation de la lysine produit de la cadavérine. La L-ornithine est décarboxylée en putrescine et l'arginine est décarboxylée en agmatine puis hydrolysée en putrescine.

La recherche de ces enzymes, dont l'action est favorisée en milieu acide, et qui forment des substances alcalines à partir des acides aminés, n'est effectuée que pour des bactéries à métabolisme fermentatif. Cette activité décarboxylasique peut servir à distinguer divers sérotypes de *Salmonella* et à identifier d'autres membres de la famille des *Enterobacteriaceae*.

Dans un premier temps, l'acidification du milieu, due à l'utilisation du glucose, entraîne une coloration jaune, puis, si l'un des acides aminés est utilisé, l'ammoniac ainsi formé alcalinise le milieu, d'où apparition d'une coloration rouge (rouge de phénol).

Remarque : Dans la galerie API 20 E, un tampon acide remplace l'acidification due à la fermentation du glucose, d'où une sensibilité plus grande.

3) Test du citrate (CIT) :

Certaines bactéries sont capables d'assimiler le citrate, c'est-à-dire capables d'utiliser le citrate comme unique source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent un citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate.

De telles bactéries sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu au citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également

des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Initialement, le pH du milieu est de 7,0 et, à un tel pH, le bleu de bromothymol a une teinte verte.

L'utilisation de citrate se traduit par la libération des ions OH^- (négatifs) qui alcalinisent le milieu, en faisant virer la couleur verte du bromothymol au bleu.

4) Test de la production d'hydrogène sulfuré (H_2S) :

L'hydrogène sulfuré peut être formé par le métabolisme des acides aminés soufrés (méthionine, cystéine, cystine) ou par la réduction de composés oxydés du soufre comme le thiosulfate. Seule la réduction du thiosulfate est envisagée ci-dessous.

La réduction du thiosulfate par un thiosulfate réductase conduit à la formation de sulfate et d'hydrogène sulfuré. En présence de sulfate de fer, l'hydrogène sulfuré donne un précipité noir de sulfure de fer.

5) Test de l'urée (URE) :

L'uréase est une enzyme responsable de la réaction suivante :

$$NH_2 + COOH^- \longrightarrow CO_2 + NH_3$$

Cette activité enzymatique peut être mise en évidence en cultivant la souche à tester sur un milieu d'urée-indole contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge phénol, qui est de couleur jaune à pH 6,8 et devient rouge à pH 8,4. Lorsqu'un organisme uréase positif croît sur un tel milieu, il libère de l'ammoniac qui alcalinise le milieu et entraîne un virage au rouge.

Sur la plaque API 20 E, on inocule seulement la suspension bactérienne dans le microtube (URE).

6) Test de la Tryptophane désaminase (TDA) :

La tryptophane désaminase désamine le tryptophane pour donner de l'acide indole-pyruvique dans le milieu urée-indole. En présence de perchlorure de fer (réactif TDA) et en milieu acide, l'acide indole-pyruvique donne un composé de couleur brun foncé, presque noire.

Remarque : Dans une galerie API 20 E, le milieu urée-indole est remplacé par de l'eau peptonée enrichie en tryptophane.

7) Test de l'indole (IND) :

Il permet de savoir si un organisme peut produire de l'indole à partir de tryptophane grâce à une tryptophanase. Sur la plaque API 20 E, on inocule seulement le microtube (IND) par la suspension bactérienne.

Remarque : Dans une galerie API 20 E, le milieu urée-indole est remplacé par de l'eau peptonée enrichie en tryptophane.

8) Test de Voges-Proskauer (VP) :

Les réactions de Voges-Proskauer (VP) permettent l'étude des dérivés de l'acide pyruvique.

Le glucose, utilisé par les bactéries, est dégradé en acide pyruvique qui est un intermédiaire clef du métabolisme des glucides. Selon les bactéries, l'acide pyruvique peut être complètement oxydé ou être le point de départ de diverses voies fermentaires conduisant à une très grande variété de composants finaux dont la nature est caractéristique du type fermentaire :

La fermentation acide mixte conduit à la production d'acide formique, d'acide acétique, d'acide lactique, d'acide propionique, d'acide succinique, de dioxyde de carbone, d'hydrogène, d'éthanol, etc. La fermentation acide mixte provoque une acidification importante d'un milieu glucosé.

Le test VP permet de caractériser l'acétoïne sur le milieu Clark et Lubs. En présence d'oxygène et d'une base forte (soude 4M ou potasse 4M), l'acétoïne est oxydée en diacétyle qui forme un complexe coloré en rose en réagissant avec une fonction amine d'un groupement guanidyle des protéines. La réaction est plus sensible et plus rapide en présence d'alpha-naphtol.

Remarque : Le milieu utilisé dans une galerie API 20E est un milieu de Clark et Lubs modifié dans lequel le glucose est remplacé par de l'acide pyruvique, ce qui permet de lire le test après 24 heures d'incubation.

9) Test de diffusion du pigment noir (GEL) :

La technique rapide gélatinase de Kohn-Lautrop consiste à faire attaquer par la bactérie à étudier un fragment de gélatine dans lequel on a préalablement inclus du charbon de bois finement pulvérisé (gélatine dénaturée au charbon). La gélatinase, éventuellement produite par le germe, désagrège la gélatine et libère le charbon de bois qui diffuse dans tout le milieu.

L'hydrolyse de la gélatine se traduit par la libération de particules de charbon de bois qui colorent le milieu en noir.

Pour les neuf tests restants de la galerie, ils concernent l'étude de l'acidification des glucides et dérivés. Ces tests recherchent la capacité d'un germe à utiliser, par voie oxydative ou fermentative, un substrat carboné, avec production de métabolites acides (production faible pour les bactéries à métabolisme oxydatif, production importante pour les bactéries à métabolisme fermentatif).

Oses : arabinose (ARA), glucose (GLU).

Dérivés des oses : amygdaline (AMY), mannitol (MAN), rhamnose (RHA), sorbitol (SOR).

Diholosides : mélibiose (MEL), saccharose (SAC).

Molécule organique cyclique : inositol (INO).

L'utilisation du substrat carboné conduit à une acidification du milieu, révélée par un indicateur de pH, le bleu de bromothymol.

La fermentation commence dans la partie inférieure du tube, l'oxydation débute dans la partie supérieure.

b) Mode opératoire :

b-1. Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide ;
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte ;
- Sortir la galerie de son emballage ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

b-2. Préparation de l'inoculum :

- Ouvrir une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ;
- Prélever une seule colonie bien isolée sur le milieu gélosé, en utilisant des cultures jeunes de 18-24 h à l'aide d'une anse de platine ;
- Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

b-3. Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une seringue stérile. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la seringue sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;

- Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.

- Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules).

- Pour les tests ADH, LDC, ODC, H_2S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine.

- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

c. Lecture de la galerie :

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture après addition des réactifs suivants :

- Une goutte de réactif TDA au test TDA ;
- Une goutte de réactif Kovac's au test IND ;
- Une goutte de réactif VP1 et VP2, et attendre au minimum 10 mn, au test VP.

Figure 13 : Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et ajout des réactifs (Originale, 2017)

d. Interprétation de la galerie :

L'identification est obtenue à partir du profil numérique qui est déterminé sur la fiche de résultats. Les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. La galerie API 20 E comportant 20 tests, en additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres.

La réaction d'oxydase, qui constitue le 21^{éme} test, est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive. Alors l'identification est faite à l'aide de :

- ✓ Catalogue analytique, en recherchant le profil numérique dans la liste des profils ;
- ✓ Logiciel d'identification Apiweb™, en entrant manuellement le profil à 7 chiffre.

3.2.3.3 Antibiogramme :

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard ou la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton, Institut Pasteur d'Algérie),

selon les normes NCCLS (National Comittee For Clinical Laboratory Standards) qui est recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

Le tableau 4 représente les disques d'antibiotiques utilisés et leurs charges :

Tableau 4 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

Famille	Antibiotiques testés	Charge du disque	Sigle	Origine
Bétalactamines	Amoxicilline	25 µg	AMX 25	bioMérieux, France
	Ampicilline	10 µg	AM 10	
	Cefotaxime	30 µg	CTX 30	
Phénicolés	Chloramphénicol	30 µg	C 30	
Polypeptides	Colistine sulfate	50 µg	CL 50	
Aminosides	Néomycine	30 µg	N 30	
	Gentamicine	10 µg	CN 10	Himedia, Inde
Sulfamides	Triméthoprime-sulfaméthoxazole	(1,25/23,75) µg	COT 25	
Furanes	Nitrofurantoïne	300 µg	FT 300	
Cyclines	Tétracyclines	30 µg	TE 30	Oxoid, Angleterre
Quinolones	Acide nalidixique	30 µg	NA 30	
	Enrofloxacine	5 µg	ENR 5	

3.2.3.3.1. Principe :

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme, si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture.

Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

3.2.3.3.2. Technique :

La gélose (Mueller Hinton) est coulée la veille en boîtes de Pétri stériles, sur une épaisseur de 4 mm ; les géloses sons séchées avant l'emploi.

A- Inoculum :

❖ A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;

❖ Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;

❖ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ;

❖ L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;

❖ L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

B- Ensemencement :

❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;

❖ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;

❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;

❖ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

N.B : Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

C- Application des disques d'antibiotiques :

❖ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre comme indiqué dans le tableau 5 et illustré dans la figure 14 :

Tableau 5 : Application des disques d'antibiotique par boîte de pétri

Boites	**Les disques d'antibiotiques**					
1	AM 10	AMX 30	CTX 30	COT^{25}	NA 30	TE 30
2	CL 10	C 30	CN 10	NIT 300	K30	LE 5

❖ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;

❖ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

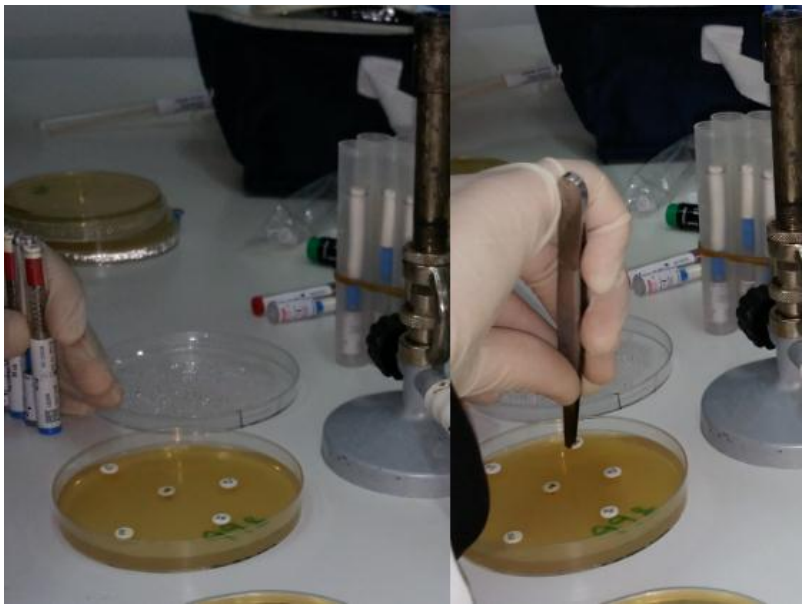

Figure 14 : Application des disques d'antibiotiques (Originale, 2017)

D- Incubation :

❖ 18 heures à 35°C ;

❖ La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

3.2.3.3.3. Lecture :

❖ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;

❖ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de CA-SMF 2010;

❖ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

3.2.3.4. Analyse statistique :

Le traitement statistique des données et les présentations graphiques sont réalisés à l'aide d'un logiciel Microsoft Office Excel 2007. Pour la comparaison des résultats nous appliquons les tests non paramétriques, le test Chi deux (χ^2), la correction de Yates et le test exact de Fisher (le seuil de signification est d'au moins 5%).

Remarque : Nous comparons nos résultats à chacune des autres études et non pas les études entre elles.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre II

Résultats & Discussion

1. Lésions :

L'examen nécropsique de 26 sujets (Poulets de chair et dindes) autopsiés à la clinique de pathologie aviaire révèle les lésions suivantes :

1.1 Lésions hépatiques :

Les sujets atteints présentent les lésions suivantes : un foie hypertrophié et congestionné, avec une coloration foncée (figures 15 et 16). Certain sujets présentent des foyers de nécrose blanchâtres sous forme de petites taches (figure 15) ou des plages (figure 16). On peut aussi observer un foie verdâtre (foie vert bronzé) caractéristique de la typhose (figure 17), cette coloration est due à la rétention biliaire notre observation rejoint ce qui a été décrit par Shivaprasad (2008).

Figure 15 : Foie hypertrophié et congestionné Présentant des taches de nécrose blanchâtres. (Originale, 2017)

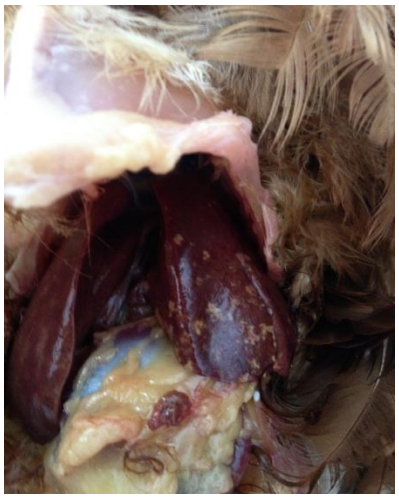

Figure 16 : Foie hypertrophié et congestionné présentant des plages de nécrose blanchâtres. (Originale, 2017)

Figure 17 : Foie présentant une teinte verte bronzée caractéristique de la typhose (Originale, 2017).

1.2. Lésions des organes génitaux :

Lésion d'oophorite (figure 18) (grappe ovarienne anormale, avec follicules irréguliers et déformés).Cette observation concorde avec ce qui est rapporté par Shivaprasad (2008).

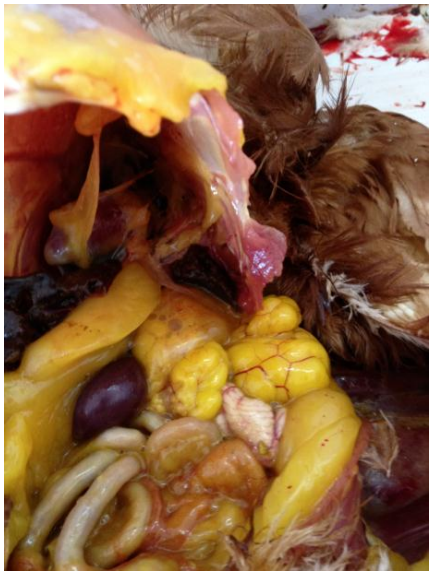

Figure 18 : Ovaire avec de nombreux follicules difformés (Originale, 2017).

2. Bactériologie

2.1. Isolement et identification des *Salmonella*

Sur les 21 sujets autopsiés, 20 isolats de *Salmonella gallinarum* sont récoltés, soit 95,24% de nos sujets étaient positifs. Pour le sujet restant (soit 4,76%), la culture était négative, ce qui témoigne la présence d'autres entérobactéries (*Proteus mirabilis).*

2.1.1. Résultats sur Milieu Hektoen

Les colonies des salmonelles sur milieu Hektoen apparaissent vertes à centre noire, indiquant qu'elles ne fermentent pas les sucres inclus dans ce milieu et produisent l'H_2S (figure 19).

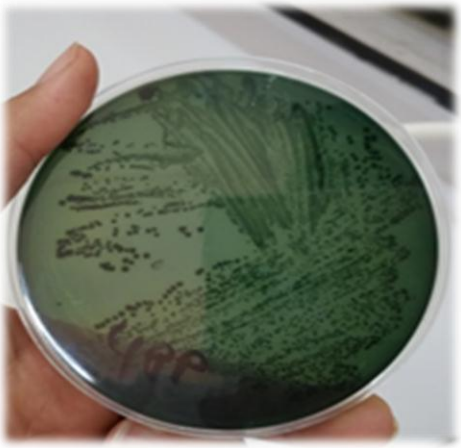

Figure 19 : Aspect de colonies suspectes *de Salmonella* sur milieu Hektoen (Originale, 2017)

2.1.2. Résultats sur milieu TSI

La confirmation de l'existance des salmonelles nécessite l'utilisation du test « TSI » (Triple Sugar Iron). Rappelons qu' il s'agit d'une série de tests biochimiques discriminatifs, pour le genre *Salmonella* .Les colonies suspectes, sur les milieux selectifs, ont été mise en présence de sucres (glucose , lactose et saccharose), afin de déseler une éventuelle fermentation et la production d'H_2S.
Les resultats de ces tests sont representés dans le tableau 6 et la figure20.

Tableau 6 :Résultats des caractères biochimiques des isolats identifiés par le test **TSI** .

Tests	Resultats	
TSI	Glucose +	La culture de *Salmonella* correspond à une pente alcaline (rouge), avec formation de gaz, et un culot acide (jaune) et noircissement de la gélose par H_2S (TSI en moustache)
	Lactose−	
	Saccharose−	
	H_2S +	

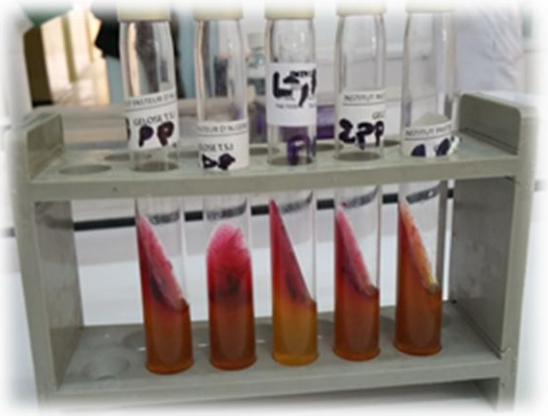

Figure 20:Resultats de l'identification par le test **TSI**

2.1.3. Résultats de la galerie API 20E

Les résultats de l'Api 20E, sont présentés sur figure21.

, **Figure 21**: Résultat de l'identification par la galerie Api 20^{E}.

3. Antibiogramme :

3.1. Résistances individuelles par antibiotique

Douze antibiotiques sont testés sur chacune des **20** souches de *S.gallinarum* et les 5 souches *de S.arizonae* isolées.

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des entérobactéries selon les recommandations du standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (medecine humaine et vétérinaire) 6 ème édition (2011).

Les résultats de l'antibiogramme des souches isolées des organes (foies) des animaux malades sont présentés dans les tableaux des résultats.

Le tableau 7 montre les pourcentages de resistances des souches S.arizonae isolées :

Tableau 7 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *S.arizonae.*

Nombre de souches S.arizonae isolées et testées N=5				
Famille	**Antibiotiques testés**	**Nombre de souches (%)**		
		R	**I**	**S**
Bétalactamines	**Amoxicilline /Acclavulinique**	**0%**	**0%**	**100%**
	Ampicilline	**0%**	**0%**	**100%**
	Cefotaxime	**0%**	**100%**	**0%**
Cyclines	**Tétracycline**	**0%**	**0%**	**100%**
Quinolones	**Acide Nalidixique**	**100%**	**0%**	**0%**
	Enrofloxacine	**0%**	**0%**	**100%**
Sulfamides	**Trimétoprime-sulfaméthoxazole**	**0%**	**0%**	**100%**
Aminosides	**Gentamicine**	**0%**	**0%**	**100%**
	Néomycine	**0%**	**0%**	**100%**
Polypeptides	**Colistines sulfate**	**0%**	**0%**	**100%**
Furanes	**Nitrofurantoine**	**100%**	**0%**	**0%**
Phénicolés	**Chloramphénicol**	**0%**	**0%**	**100%**

Le tableau 8 et la figure 22 montrent les pourcentages de résistances des souches *S.gallinarum* isolées lors de notre étude:

Tableau 8 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *S.gallinarum.*

Nombre de souches Salmonella isolées et testées N=20				
Famille	**Antibiotiques testés**	**Nombre de souches (%)**		
		R	**I**	**S**
Bétalactamines	**Amoxicilline /Acclavulinique**	**20%**	**5%**	**75%**
	Ampicilline	**30%**	**5%**	**65%**
	Cefotaxime	**0%**	**0%**	**100%**
Cyclines	**Tétracycline**	**65%**	**15%**	**20%**
Quinolones	**Acide Nalidixique**	**100%**	**0%**	**0%**
	Enrofloxacine	**15%**	**50%**	**35%**
Sulfamides	**Trimétoprime-sulfaméthoxazole**	**0%**	**5%**	**95%**
Aminosides	**Gentamicine**	**25%**	**0%**	**75%**
	Néomycine	**25%**	**0%**	**75%**
Polypeptides	**Colistines sulfate**	**0%**	**0%**	**100%**
Furanes	**Nitrofurantoine**	**0%**	**0%**	**100%**
Phénicolés	**Chloramphénicol**	**0%**	**0%**	**100%**

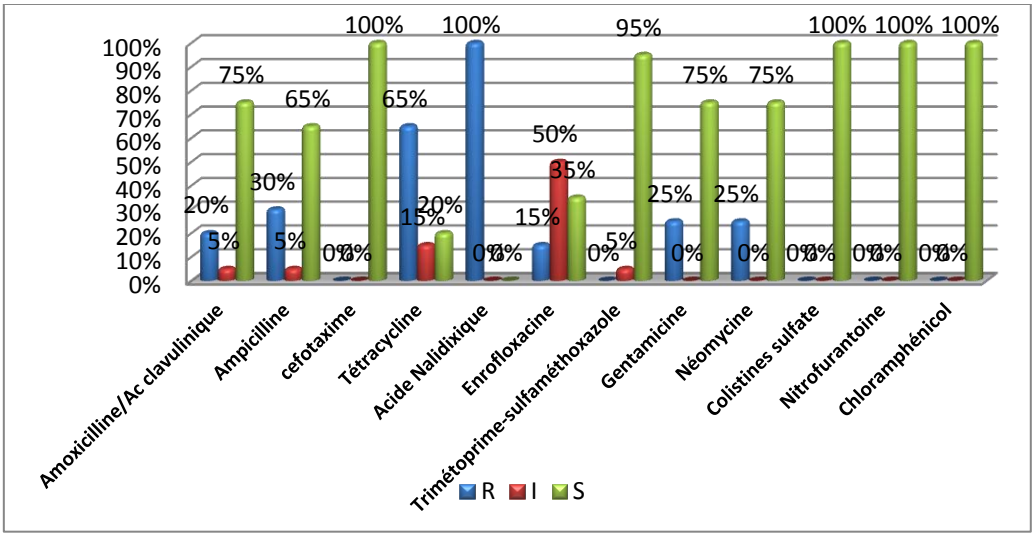

Figure 22 : Pourcentages de résistance et sensibilité des souches *S.gallinarum.*

Vue la diversité des pourcentages, les résultats sont classées en trois groupes. Comme préconisé par Saberfar et *al.* (2008).

- L'antibiotique pour lequel un très haut niveau de résistance (de 70 à 100) est compris dans le Groupe I et est représenté par l'Acide nalidixique (100%).

-Le Groupe II comprend des antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 30 à 70%) sont obtenus. Ce sont : Tétracyclines (65%), Ampicilline (30%).

-Le Groupe III comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 30%) sont notés. Ce sont par ordre décroissant : Gentamicine et Néomycine (25%), Amoxicilline /Ac clavulinique (20%), Enrofloxacine (15%) et (0%) pour les Cefotaxime, Chloramphénicol,Triméthoprime/ Sulfamethoxazole, Nitrofurantoineet Colistine.

- Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contre les salmonelloses sont celles qui sont classées dans le Groupe III, avec des taux de sensibilité et de sensibilité intermédiaire plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Le taux de sensibilité est de 100% pour les Cefotaxime, Nitrofurantoine, Chloramphénicol et la Colistine, de 75% pour l'Amoxicilline /Acclavulinique, Gentamicine et Néomycine, de 95% pour la Triméthoprime/ Sulfamethoxazole et de 35% pour l'Enrofloxacine, pour laquelle, le taux de la sensibilité intermediaire le plus élevé est observé soit 50%.

- A titre de comparaison, il semble que nos valeurs de résistance enregistrées à l'encontre de l'acide nalidixique, la tétracycline, la gentamycine et la néomycine sont nettement supérieures à celles communiquées au Sénégal et en Iran, sur la base du test Chi^2(tableau 8) (AISSATOU, 2004 ; AKBARMEHR, 2011)

Tableau 9: Fréquence des antibiorésistances dans notre étude en Algérie et pour d'autres études en Iran et Sénégal

ATB	Nos résultats (%)	Aissatou(2004) : Sénégal (%)	Akbarmehr (2011) : IRAN 2011 (%)
Amoxicilline /Acclavulinique	**20%**	**/**	**18.91%**
Ampicilline	**30%**	**35.48%**	**13.51%**
Cefotaxime	**0%**	**/**	**/**
Tétracycline	**65%**	**46.24%***	**29.72%***
Acide Nalidixique	**100%**	**10%#**	**18.91%#**
Enrofloxacine	**15%**	**/**	**0%**
Trimétoprime-sulfaméthoxazole	**0%**	**36.56%#**	**13.51%***
Gentamicine	**25%**	**1%***	**0%***
Néomycine	**25%**	**5%***	**10.81%***
Colistines sulfate	**0%**	**2%**	**/**
Nitrofurantoine	**0%**	**30%#**	**/**
Chloramphénicol	**0%**	**0%**	**0%**

Test : Chi^2

* : Taux significativement élevé ($p \leq 0.05$) sur une même ligne.

: Pas de conditions pour faire un test exact Fisher (effectif théorique inférieur à 5).

3.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

3.2.1. Les β-lactamines

Les résultats mettent en évidence une moyenne à faible résistance des *S.gallinarum* à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de 30% pour l'Ampicilline, de 20% pour Amoxicilline/ Ac clavulinique et de 0% pour la céfotaxime.

Ces taux de résistance vis-à-vis de l'Amoxicilline / Ac clavulanique et de l'Ampicilline sont probablement liés à l'utilisation anarchique des β-lactamines dans les élevages avicoles sans avis de vétérinaire. Fort heureusement, aucune résistance au céfotaxime (0%) n'a été mise en évidence dans notre étude. Pourtant, de récentes observations de souches résistantes à ces molécules dans le service de Néonatologie à Constantine ont été rapportées. Elles ont probablement été sélectionnées par l'usage de ces molécules (NAAS et al., 2004).

3.2.2. Les Cyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de **65%** est obtenu vis-à-vis de la tétracycline.

Les tétracyclines représentent les plus anciennes molécules utilisées, autant en thérapie que préventivement, ces molécules ont une activité bactériostatique et ils ont une bonne diffusion tissulaire et intracellulaire comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005). Ils ont aussi été utilisés en tant que "facteurs de croissance", engendrant des résistances très élevées en aviculture. La persistance et l'augmentation croissante de cette résistante sont attribuées, en partie, à l'usage intempestif de cette famille d'antibiotiques à large spectre, mais également à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage destinés à la consommation humaine, et à des doses souvent sub-thérapeutiques, en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement. Cette dernière possibilité est évoqué ya plus de 50 ans, comme cause probable de l'apparition des souches résistantes comme rapporté par Abdennebi (2006).

3.2.3. Les Quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, « quinolone de première génération » et de l'enrofloxacine « quinolone de troisième génération ». Les taux de résistance sont de **100%** pour l'acide nalidixique soit le taux de résistance le plus élevé dans notre étude, et de **15%** vis-à-vis de l'enrofloxacine.

La résistance aux quinolones est exclusivement liée à des mutations chromosomiques :

- Mutations sur les gènes codant pour les topo-isomérases, entrainant une perte d'affinité de l'enzyme pour les quinolones ;
- Augmentation du transport actif de l'antibiotique hors de la bactérie comme signalé par Gaudy et Buxéraud (2005) et Nauciel et Vildé (2008).

Ces taux très élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques et essentiellement à l'Acide nalidixique peuvent être expliqués, d'une part, par la forte utilisation de ces molécules en raison de leur grande disponibilité sur le marché algérien, et surtout par la présence de génériques à prix très abordables, alors qu'il ya quelques années, il n'existait que la molécule mère, très onéreuse ; d'autre part au fait que les quinolones partagent un seul et même mécanisme d'action.

Une attention particulière doit être portée sur les souches de salmonelles résistantes à l'acide nalidixique, compte tenu d'échecs thérapeutiques avec les fluoroquinolones ou d'allongement de la durée de traitement rapporté schez des patients souffrant de salmonellose extra-intestinale liée à dessouches de *Salmonella* résistantes à l'acide nalidixique (CLSI, 2008),tout en présentant une sensibilité *in vitro* aux fluoroquinolones. Cette observation a conduit le comité européen EUCAST à interpréter toute souche de salmonelle résistante à l'acide nalidixique comme résistante à toutes les fluoroquinolones (règle 13.7, Eucast, 2008).

3.2.4. Les Sulfamides:

Dans notre étude nous avons signalé une sensibilité totale de nos souches à cette famille d'antibiotiques. En thérapeutique, les sulfamides se retrouvent dans trois classes médicamenteuses : les anti- infectieux, les antidiabétiques oraux et les diurétiques. Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole. Leur spectre d'action, théoriquement large, englobe la majorité des espèces bactériennes à Gram + et à Gram - .

3.2.5 Les Aminosides :

La sensibilité des souches isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de deux molécules de cette famille d'antibiotiques : la néomycine, et la gentamicine.

Pour la gentamicine, nos résultats révèlent un taux de résistance de 25%. La forte sensibilité des souches *S.gallinarum* vis-à-vis de la néomycine et la gentamicine est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles d'où un taux de résistance très faible. En pratique, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme intéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet.

3.2.6. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine. Les résultats indiquent une résistance nulle avec un taux de **0%.**

Ce taux nul de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée, car elle ne franchit pas la barrière intestinale et est donc inactive *per os* sur les salmonelles systémiques. Elle est cependant utilisée en association avec les β-lactamines car cette association procure un effet synergique**,** et peut aider à la maîtrise des salmonelles pathogènes encore en situation intestinale.

2.2.7. Les Phénicolés

La sensibilité des souches de *Salmonelles* isolées dans cette étudeest testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance nul (**0 %).** Ce médicament n'est plus sur le marché officiel.

3.2.8. Les Furanes

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane. taux nul **(0%)** de résistance a été enregistré. Il est à signaler que cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire.

3.3. Les multirésistances

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 10 et illustrés dans la figure 23:

Parmi les 26 souches isolées, il n'existe qu'une seule souche qui n'est résistante à aucun antibiotique. Les 25 souches restantes sont toutes résistantes à au moins un antibiotique avec un taux de 95%. 70% sont résistantes à au moins deux antibiotiques.

Alors que 35% sont résistantes au moins trois antibiotiques, 25% à au moins 6 antibiotiques.

Mais il n'existe pas de souches résistantes à 12 antibiotiques car toutes nos souches sont sensibles au céfotaxime, Nitrofurantoine**,** Chloramphénicol et à la colistine sulfate sur les 12 molécules utilisées.

Tableau 10 : Pourcentages de multirésistances des souches *S.gallinarum n=20*

Nombre des antibiotiques	Nombre des souches	Le pourcentage %
0	1	5
1	5	25
2	7	35
3	2	10
4	0	0
5	0	0
6	5	25
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
Total	20	100

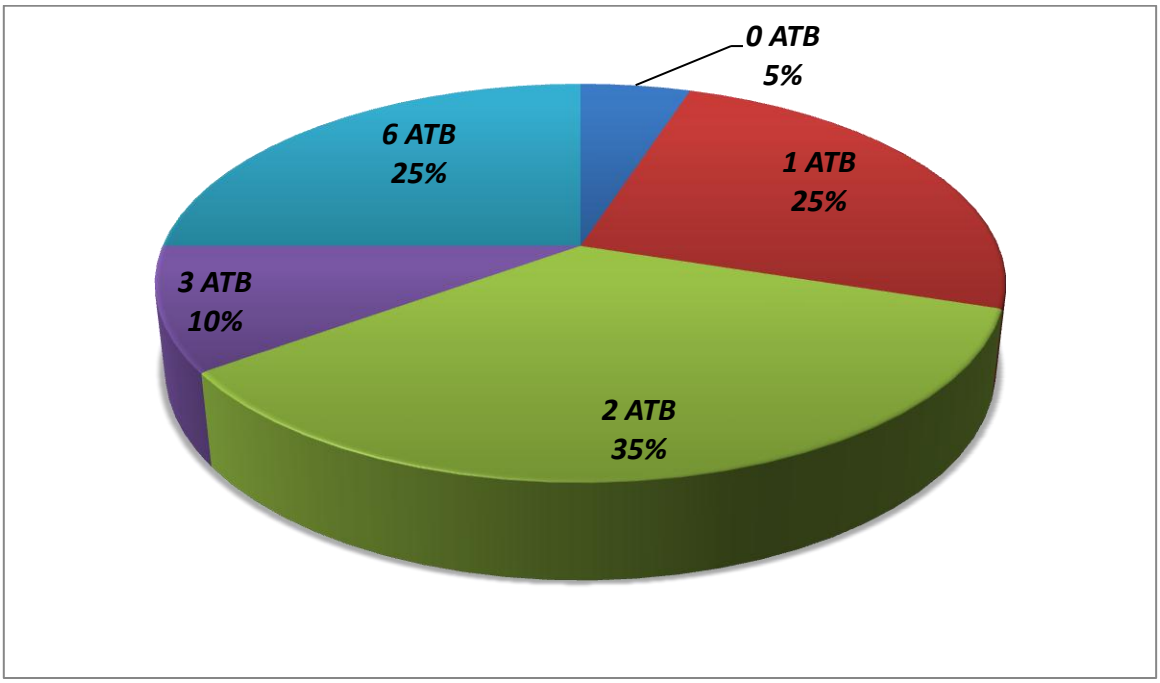

Figure 23: Pourcentages des multirésistances des souches de *S.gallinarum* isolées

Cependant, les forts pourcentages de multirésistance sont enregistrés vis-à-visde 1,2 et 6 antibiotiques avec des pourcentages de 25, 35, et 25% respectivement.

Cette forte multirésistance peut être due à l'utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur avicole, sans recours à l'antibiogramme.

Cette forte multirésistance est inquiétante car elle présente un énorme risque pour l'élevage avicole lors de transmissions plasmidiques des résistances d'une bactérie à une autres, d'où des échecs aux traitements, et par conséquent diminution de la production à cause des taux de morbidité et de mortalité élevés.

3.4. Les profils de résistances :

Dans notre étude, 6 profils de résistance différents ont été isolés et sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : les profils de résistances

Antibiotypes	Désignation	Nombre de souches	pourcentage
AUG-AMP-CN-N-TE-NA	A	4	20%
AMP-CN-N-TE-NA-ENR	B	1	5%
AMP-NA	C	1	5%
NA	D	6	30%
TE-NA	E	6	30%
TE-NA-ENR	F	2	10%

Dans notre étude on a obtenue 6 profils de résistances désignés de A à F ; dont les plus importants sont : D et E avec un pourcentage de 30% et A avec un taux égale à 20%.

Ces résultats reflètent l'utilisation abusive et anarchique de ces produits en raison de leur large disponibilité sur le marché algérien, en l'absence de législation réglementant leur utilisation à titre thérapeutique et préventif. Ainsi, plusieurs antibiotiques sont utilisés couramment à titre préventif et curatif, sans recours à l'antibiogramme pour choisir la molécule la plus efficace contre le germe en cause.

Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibiorésistance par transmission verticale à leur descendance et par transmission horizontale à des espèces différentes de bactéries via l'échange de matériel génétique, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance, d'une part. D'autre part, la contamination de l'homme par ces bactéries multirésitantes (par exemple lors d'opération d'abattage) constituera l'une des causes majeures des difficultés de traitement chez l'homme.

De plus en co-résistance est mis en évidence vis-à-vis de la tétracycline et acide nalidixique TE-NA.

Cette co-résistance est présente chez les bactéries qui expriment les profils ABEF et présente avec un pourcentage de 55%.

CONCLUSION

Conclusion :

L'étude que nous avons menée sur les salmonelles aviaires isolées dans les wilaya de Sétif, Mila et Bordj Bou Arreridj à partir des poules pondeuses et de la dinde de chair a atteint les objectifs assignés. Elle nous a permis d'isoler, d'identifier et de sérotyper ces bactéries. Elle porte également, à notre connaissance des données sur l'antibioresistance la multirésistance des isolats vis-à-vis 12 molécules d'antibiotiques.

Globalement, les isolats de salmonelles plus précisément *S.gallinarum* étaient souvent résistants à au moins un antibiotique, mais essentiellement à des molécules anciennes, telles que les quinolones et les tétracyclines. On retrouve une situation proche de celle de l'Europe dans les années 1980 à 1985, quand les salmonelles multi-résistantes y étaient bien plus fréquentes, posant de sérieux problèmes en santé publique.

L'utilisation incontrôlée des antibiotiques au sein des différents élevages avicoles, ainsi que l'absence de réglementation et de contrôle strict de la distribution d'antibiotiques dans les établissements vétérinaires ont peut-être contribué à l'apparition et au développement des différents profils de résistance et de multirésistance observés. Par conséquent, la vigilance contre l'augmentation de la résistance des *Salmonella* aux antibiotiques est essentielle.

Finalement, afin de clore notre travail, nous soulignons la nécessité d'une protection adéquate des animaux et des consommateurs contre les salmonelles. A cet effet il faut mettre en œuvre la surveillance bactériologique des troupeaux de poulets, la restriction de l'utilisation anarchique des antibiotiques ainsi que l'introduction de bonnes pratiques de contrôle de l'hygiène.

Recommandation

La salmonellose aviaire est l'une des maladies bactériennes les plus fréquentes au monde, dont le potentiel zoonotique est important.

L'éradication des salmonelles chez la volaille est probablement une utopie. Cependant l'objectif à long terme des programmes de lutte est sans aucun doute l'élimination de toute infection à Salmonella dans les œufs et, si possible, aussi dans la viande de volaille. Ceci devrait fortement réduire les cas humains de salmonellose. Néanmoins nous recommandons :

- Initier des programmes de vaccinations contre *Salmonella Enteritidis* au niveau des reproducteurs ponte.
- Appliquer les normes de biosécurités pour les fermes avicoles.
- Assurer une bonne gestion de l'exploitation avicole accès, oiseaux, aliment, eau, bâtiments, détritus…
- Contrôler les nuisibles : rongeurs, reptiles, oiseaux sauvages, insectes volant et rampants.
- Appliquer des mesures de prophylaxie sanitaire et de désinfection pour diminuer les risques de contagion des élevages avicoles limitrophes et d'éviter la consommation de leurs produits par l'homme.
- Au niveau des abattoirs effectuer des traitements des carcasses au moment de l'échaudage, l'éviscération et la réfrigération ;
- Pour les couvoirs : Le programme de lutte doit reposer sur l'application de la méthodologie HACCP aux différents maillons de la chaine de production avicole ;
- Appliquer aux œufs, incriminés dans la contamination humaine *par S.Entéritidis*, des programmes de contrôles d'assurance qualité.
- Limiter l'accès aux poulaillers, et éviter les visites inutiles ;
- Procéder à une recherche sérologique, si la sérologie est positive procéder au contrôle bactériologique si cela est confirmé, application systématique des règles de police sanitaire (l'abattage systématique de tout le cheptel suivi d'un vide sanitaire) ;
- La formation et la sensibilisation des éleveurs sur l'utilisation rationnelle des antibiotiques ;
- La mise en place de réseaux de surveillance épidémiologique de l'antibioresistance associée à la surveillance des modalités d'utilisation des antibiotiques chez l'homme et chez l'animal.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **ABDELHAOUI ISMAIL., GHAFFOUR MOUAD., 2013**:Contribution à l'étude de la contamination du milieu d'abattage au niveau de l'abattoir d'El-Harrach par les Salmonella Spp.
- **ABDENNEBI EH., 2006:** Antibactériens en médicine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages.
- **ABRAHAM EP., CHAIN E., 1940:** An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Letters to the Editors, Lancet, Dec. 5th.
- **ALAMI M., BARRET R., BRION JD., ENGUEHARD-GUEIFFIA C., FOLIOT P., GAUDY C., GERONDEAU N., GUEFFIER A., 2005:**Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Collection pharma Elsevier. Page 269.
- **ANDERSON LA., MILLER DA., TRAMPEL DW 2006:** Epidemiological investigation, cleanup, and eradication of pullorum disease in adult chickens and ducks in two small-farm flocks. Avian Dis.; 50(1):142-7.
- **AVRIL JL., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H., 1988 :** Bactériologie clinique, Edition marketing, ledele, ellipses.
- **BAIOD NAJOUA., 1997 :** Prévalence, résistance aux antibiotiques et virulence des salmonelles mineures isolées dans les hôpitaux de la région d'Alger : étude sur 106 souches. Thèse de Magister. 16-18 ; 20-27 ; 38-41 ; 79-83.
- **BERCHIERI A JR., MURPHY CK., MARSTON K., BARROW PA., 2001:** Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. Avian Pathol; 30(3):221-31.
- **BONHOMME B.R ., 2003 :**Étude de la contamination des milieux internes de l'oeuf par Salmonella sérotype enteritidis. ENVA.
- **BRYAN MAYEDA, RICHARD H. MCCAPES AND WILLIAM F. SCOTT 1978**: Protection of Day-Old Poults against Arizona hinshawii Challenge by Preincubation Streptomycin Egg Treatment. Avian Diseases. American Association of Avian PathologistsStable Vol. 22, No. 1 .pp. 61-70.
- **B.S. JORTNER., C.LARSEN.,1984:** Granulomatous Ventriculitis of the Brain in Arizonosis of Turkeys, Vetpathol. Vol. 21.pp 114-115.
- **COBB SP, MCVICAR CM, DAVIES RH, AINSWORTH H., 2005:** Fowl typhoid in caged layer birds. Vet Rec; 157(9):268.

- **CORINNE D.,2011 :** Surveillance active de la résistance aux antibiotiques des Salmonella isolées de la filière « poulet de chair » à différentes étapes de la chaine alimentaire.Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation, p : 13-17.
- **COURVALIN P., 2008:** La résistance des bactéries aux antibiotiques: Combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Acad Vét. France. Tome 161 - N°1.
- **DAHILI RABEA., CHABANNE ZAIA., BELKALEM DJOUHER. 2016 :** Caractérisation et évaluation du pouvoir pathogène des espèces de *Salmonella* chez le poulet de chair.
- **DAVIES. R.** Typhose et pullorose, p: 587–598.Manuel terrestre de l'OIE 2008.
- **DEDET J-P., 2007 :** La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. Éditions Dunod, Paris. P : 262
- **DENYER SP., MAILLARD JY., 2002:** Cellular impermeability and uptake of biocide and antibiotics in Gram-negative bacteria. J. Appl. Microbiol. Symposium (Suppl.) 92,35S-45S.
- **ELGROUD . R., ZERDOUMI. F., BENAZZOUZ. M., BOUZITOUNA. C., GRANIER. S., BRISABOIS. A., DUFOUR. B., MILLEMANN. Y.**Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques dans les élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine. Juin 2008.
- **EUZEBY J., 1982 :** Diagnostic expérimental des helminthoses animales, Tome 2, Edition informations techniques des services vétérinaires.
- **FAUCHER JL., AVRIL JL., 2002 :** Bactériologie générale et médicale. Editions Ellipses. P : 365.
- **FLANDROIS J.P., 1997 :** Bactériologie Médicale. Presse universitaire de Lyon. P : 181-187.
- **FLONDROIS J.P., 1997 :** Bactériologie Médicale. Presse universitaire de Lyon, p:181-187.
- **FOFANA. A.B., RIANATOU.S., MALANG. A., AYAYI. J.** Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from poultry carcasses in Dakar (Senegal), 2006. P510-515.
- **FRICKER C.R.** The isolation of salmonellas and campylobacters, 1987. P: 63, 99,116.
- **FROBISHER M., FUERST R., 1976:** Microbiology Clinique. Editions HRW LTEE, Canada. P: 507.

- **GANDOULY Y.N.K., MEHTA A et SINGH., 1999:** Effect of Salmonella typhimurium enteroxin on lipide peroxidation and cell viability levels of isolated rat enterocytes. Molecular Cell Biochimistry. Pages: 196:175-181
- **GARNACHO-MONTERO J., ORTIZ-LEYBA C., JIMENEZ-JIMENEZ FJ., BARRERO-ALMODOVAR AE, GARCIA-GARMENDIA JL., BERNABEU-WINTTELL M., GALLEGO-LARA SL., MADRAZO-OSUNA J., 2003:** Treatment of multdrug-resistant Acinetobacter baumanii ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin : a comparison with imipenem-susceptible VAP. Clin. Infect Dis. 36 (9), 1111-1118.
- **GAST R.K. 1997:** Detecting infections of chickens with recent Salmonella Pullorum isolates using standard serological methods. Poult. Sci1. P: 76, 17-23.
- **GAST, R. K., BEARD.C. W., 1990:** Isolation of Salmonella enteritidis from internal organs of experimentally infected hens. Avian Dis. P: 991.
- **GLEDEL J., 1996 :** Le genre *Salmonella*. Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments ; Edition Lavoisier- Tec et Doc, Paris ($2^{éme}$ édition). p 672.
- **GLEDEL J., 1996 :** Le genre *Salmonella*. Microbiologie alimentaire. Tome1 : Aspect microbiologique de la securité et de la qualité des aliments ; Edition Lavoisier Tec et Doc : p 62-88.
- **GLEDEL J., CORBION B., 1991** : le genre salmonella. In : Bourgeois C.M., Leveau J.Y : Technique d'analyses et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires : Le contrôle microbiologique, Edition Lavoisier Tec et Doc. P : 454, 260-273.
- **GRIMONT P. A. D., 2007:** Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. 9^{th} Edition WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur, Paris.
- **GRIMONT P., BOUVET P., 2000:** Taxonomy of the genus Salmonella.
- **HARDY A., 2004:** *Salmonella*: a continuing problem. Journal of postgraduate Medicine. Pages: 80, 541-545.
- **HARVEY R.W.S., PRICE T.H. 1975**: Isolation of Salmonellas. Public Health Laboratory Service, London, UK.
- **HELALI A., 2002 :** Pharmacologie fondamentale et clinique à l'usage des étudiants en Médecine, Edition ENAG, Alger, pages 135-171.

- **HUMBERT F, - Les salmonelles. In: SUTRA L., FEDERICHI M., JOUVE J-L., 1998:** Les Salmonelles. Manuel de bactériologie alimentaire ; 1ere Édition Polytechnica, Paris. Pages : 308,27-52.
- **JAY J.M., LOESSNER M.J., GOLDEN D.A., 2005:** Modern Food Microbiology; Seventh Edition, Food Science Text Series, Springer Edition, USA, P: 790.
- **J-P GANIERE 2008 :** Maladies réputées contagieuses ou à déclaration obligatoire. ENVN.
- **KAHN CM, LINE S,** the Merck veterinary manual.
- **KORSAK. N., CLINQUART A., DAUBE G., 2004 :** *Salmonella* spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique .Revue de Médecine Vétérinaire. Pages : 148, 174-193.
- **LE MINOR L., VERON M., 1989 :** *Salmonella*. Bactériologie médicale ; 2eme Édition Flammarion Médecine-Sciences, Paris. Pages : 1107 ; 411-427.
- **LECLERC H., GAILLARD J., SIMONET M., 1995 :** Microbiologie générale ; Éditions Doin, Paris. Page 535.
- **LISTER SA., BARROWP., 2008:**Fowl typhoid (*Salmonella* Gallinarum infection). In: Pattison M, McMullin PF, Bradbury JM, Alexander DJ, editors. Poultry diseases. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; p. 130-3.
- **MALLINSON E.T., SNOEYENBOS G.H., 1989.**Salmonellosis. In: Isolation and Identification of Avian Pathogens, Third Edition, Purchase H.G. et al., eds. American Association of Avian Pathologists, Kendall Hunt Publishing, Iowa, USA.
- **MEZALI L., 2009:** Prevalence etantibioresistance des souches de Salmonella Spp. Isolées à partir de differentes matrices alimentaires dans la wilaya d'Alger, Mémoire de magistére en science vétérinaires, ENV, Alger, P : 145.
- **MOULIN M., COQUEREL A., 2002 :** Pharmacologie Connaissance et Pratiques. 2éme édition. Edition Masson. Paris, pages 845.
- **NAUCIEL C., VILDE JL., 2008 :** Bactériologie médicale. 2éme éditions. Editions Masson. Page 257.
- **NEAL M., 2007 :** Pharmacologie médicale. 3éme éditions. De Boeck. Paris, pages 80-85.
- **PAQUET- BOUCHARD C., 2006:** Caractérisation moléculaire de la protéine antibiotique P1 du phage AP205, maitrise en microbiologie-immunologie, Université Laval.
- **PENNYCOTT T, DUNCAN G**. *Salmonella pullorum* in the common pheasant (*Phasianus colchicus*). Vet Rec. 1999; 144(11):283-7.

- **PENNYCOTT. T.** Diseases of game birds: Salmonellosis. In: Pattison M, McMullin PF, Bradbury JM, Alexander DJ, editors. Poultry diseases. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2008. p. 562-3.
- **POYART C., 2003 :** Résistances des bactéries aux Antibiotiques, In : Bactériologie générale. P.C.E.M.2. Faculté de médecine Necker-Enfants malades, p : 1-89.
- **PRESCOTT L.M ., HARLEY J.P., KLEIN D.A., 2003:** Microbiologie 3^{éme} Edition francaise traduction de la 5^{éme} Edition americaine, P :1137.
- **R. CRESPO et al., 2004:** Phenotypic and Genotypic Characterization of *Salmonella* arizonae from an Integrated Turkey Operation Avian Diseases. American Association of Avian Pathologists Stable. Vol. 48, No. 2, pp. 344-350.
- **RYCROFT AN., GARSIDE LH., 2000:** Actinobacillus species and their role in animal disease.
- **SHIVAPRASAD .H.L, BARROW .P.A**. Pullorum disease and fowl typhoid. In: Saif YM, Fadley AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE, editors. Diseases of poultry. 12th ed. Ames, IA: Blackwell Publishing; 2008. p. 620-34.
- **SHIVAPRASAD H.L., 2000.** Fowl typhoid and pullorum disease. Rev. sci. tech, p: 568-577.
- **SOOMRO. A. H., KHASKHELI, BHUTTO. M., SHAH.M. B., MEMON. G., DEWANI. A.** Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella serovars isolated from poultry meat in Hyderabad, Pakistan. , 2010. p: 455-460. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.
- **TANKOVIC J., DUVAL J., 2007:** Mécanismes d'action des antibiotiques in Médecine thérapeutique, Vol 3, hors-série, p : 37-69.
- **TORTORA G.J., 2003 :** Introduction à la microbiologie ; Édition du renouveau pédagogiques Inc. Page 945.
- **YALLA D., MERAD AS., MOHAMDI D., OUARKORICH MN., 2001 :** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine du Maghreb. **91**, 1-11.
- **YAN S. S., PENDARK M.L., ABELA-RIDER B., PUNDERSON J.W., FEDEREKO D.P., FOLEY S.L.,2003:** An overview of *salmonella* typing. Public health perspectives. Clinical and Applied Immunology Reviews. Pages: 4, 189-204.
- **YENI P., 2003 :** Pathologie Infectieuse. Médecine Science, 3^{éme} édition, Flammarion. Paris, p : 237-246.

ANNEXES

Annexe I :

Tableau de lecture API 20

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0.223	B-galactosidase (Ortho NitroPhenil-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	Jaune (1)
ADH	L-arginine	1.9	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé (2)
LDC	L-lysine	1.9	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
ODC	L-ornithine	1.9	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé (2)
CIT	Trisodium citrate	0.756	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu-vert/Bleu (3)
H_2S	Sodium thiosulfate	0.075	Production d'H2S	Vert pâle/jaune	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	0.76	Uréase	Incolore/grisâtre	Rouge/orangé (2)
TDA	Tryptophane	0.38	Tryptophane désaminase	TDA/ immédiat	
				jaune	Marron-rougeâtre
IND	Tryptophane	0.19	Production d'indole	James/ immédiat	
				Incolore vert pâle/ jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	1.9	Production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP1+VP2/ 10 min	
				Incolore/rose pâle	Rose / rouge (5)
GEL	Gélatine (origine bovine)	0.6	Gélatinase (gélatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1.9	Fermentation/oxydation (Glucose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	D- mannitol	1.9	Fermentation/oxydation (Mannitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	1.9	Fermentation/oxydation (Inositol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	D-sorbitol	1.9	Fermentation/oxydation (Sorbitol) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	L-rhamnose	1.9	Fermentation/oxydation (Rhamnose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	D-saccharose	1.9	Fermentation/oxydation (Saccharose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	D-melibiose	1.9	Fermentation/oxydation (Melibiose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	0.57	Fermentation/oxydation (Amygdaline) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	L-arabinose	1.9	Fermentation/oxydation (Arabinose) (4)	Bleu/bleu-vert	Jaune
OX	Sur papier filtre		Cytochrome-oxydase	Ox/ 5-10 mn	
				Incolore	Anneau violet

(1) Une très légère couleur jaune est également positive.
(2) Une très légère couleur jaune est également positive.
(3) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
(4) Lecture dans la cupule (zone aérobie).

(5) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
(6) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Suite table de lecture 21 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries* (En médecine vétérinaire)

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	<10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines .Les organismes sensibles à la tétracycline sont aussi considérés comme sensibles à la doxycycline mais certains organismes classés comme intermédiaires ou résistants à la tétracycline peuvent être sensibles à la doxycycline ou à la minocycline ou aux deux.
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16	La réponse pour l'acide nalidixique est valable pour la fluméquine
Enrofloxacine	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25	
Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25	
Espèce féline et canine	5 µg	≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Marbofloxacine (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1	
Colistine	10 µg	≤10	-	≥11	-	-	-	
Nitrofurantoïne**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	32≥	16	≤8	

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3 .Vol.28 N° 8.Replaces M31-A2 .Vol.22 N°6.February 2008.
Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals;Approved Standard-Second Edition, NCCLS document M31-A2 .Vol.22 N°06 May 2002.
*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases
** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiosurveillance

Annexe II :

Compositions des Milieux utilisés :

1) Milieu d'enrichissement :

SFB (Selenite F Broth) :

Est un milieu d'enrichissement utilisé pour l'isolement de la Salmonella dans les fèces, l'urine, l'eau, les aliments et d'autres matières dont la qualité sanitaire est importante.

Composition :

- Digestion pancréatique de caséine 5g
- Lactose 4g
- Sélénite de sodium 4g
- Phosphate de sodium 10g

2) Milieux d'isolement :

i) Gélose Hektoen :

Milieu sélectif permettent l'isolement et la différenciation des enterobacteriaceae pathogènes à partir des prélèvements biologiques.

Composition :

- Peptone pepsique de viande 12g
- Extrait de levure (facteur de croissance) 3g
- Lactose 12g
- Saccharose 12g
- Salicine 2g
- Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H2S 1.5g
- Sels biliaires (inhibiteur) 9g
- Fuchsine acide : 1g
- Bleu de brmothymol (indicateur de PH) 0.065g
- Chlorure de sodium 5g
- Thiosulfate de sodium (précurseur d'H2S) 5g
- Agar 14g
- pH =7.6

ii) Gélose nutritive:

Ce milieu convient à la culture des bactéries ne présentant pas d'exigences particulières, on l'utilise pour l'isolement d'un germe afin d'assurer sa pureté.

Composition :

- Peptone 15g
- Extrait de viande 1g
- NaCl 5g
- Agar 15g
- Eau distillée 1L
- pH = 7

2) Milieu pour l'antibiogramme :

Mueller Hinton :

Utilisé pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes.

Composition :

- Extrait de viande 3g
- Hydrolysat acide de caséine 17,5g
- Amidon 1,5g
- Agar 16g
- Eau distillée1L
- pH = 7,3

Annexe III :
Arrêté interministériel n°006 du 20/01/03 définissant les mesures de prévention et de lutte spécifique aux salmonelloses aviaires.

Le Ministre de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière,
Le Ministre du Commerce,
Le Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural,
Vu le décret présidentiel n°02-208 du 6 Rabie Ethanie 1423 correspondant au 17 juin 2002, portant nomination des membres du gouvernement ;
Vu le décret exécutif n°90-12 du 4 Joumada Ethanie 1410 correspondant au 1er janvier 1990, modifié et complété, fixant les attributions du Ministre de l'Agriculture ;
Vu le décret exécutif n°94-207 du 07 Safar 1415 correspondant au 16 juillet 1994 fixant les attributions du Ministre du Commerce ;
Vu le décret exécutif n°95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables ;
Vu le décret exécutif n°996-166 du 07 Ramadan 1416 correspondant au 27 janvier 1996, fixant les attributions du Ministre de la Santé et de la Population ;
Vu l'arrêté interministériel du 1er septembre 1984 portant institution d'un comité national et des comités de wilaya de lutte contre les zoonoses ;
Vu l'arrêté interministériel du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ;
Vu l'arrêté ministériel du 25 Chaoual 1415 correspondant au 27 mars 1995 définissant les mesures générales de prévention en élevage avicole.
Arrêtent
Art. 1er : En application des dispositions de l'article 3 du décret exécutif n°95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété susvisé, le présent arrêté a pour objet de fixer les mesures de prévention et de lutte spécifiques aux salmonelloses à salmonella Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Arizona, Dublin, Paratyphi et Pullorum Gallinarum.
Art. 2 : Sont reconnus atteints de salmonelloses à Salmonella Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Arizona, Paratyphi et Pullorum Gallinarum :
a. Les sujets, poussins ou adultes, sur lesquels a été isolé l'un de ces germes, quel que soit le type de production.
b. Les sujets adultes ayant une sérologie positive avec une bactériologie positive de :
- La litière (prélèvement effectué autour des abreuvoirs) ;
- L'eau de boisson (continue dans les abreuvoirs) ;
- Les fientes (prélèvement effectué sur fond de cage).
- Le duvet des poussins à l'éclosion.
c. Les oeufs sur lesquels le germe a été isolé.

Résumé :

Les salmonelloses aviaires essentiellement la pullorose et la typhose sont des maladies septicémiques, contagieuses, dues à des bactéries Gram négatif du genre *Salmonella*.

Ce travail a pour objectif l'isolement puis l'identification de l'espèce de *Salmonella* à partir de 26 prélèvements du foie de poules et de dinde; 25 souches ont été isolées sur gélose Hektoen après enrichissement sur milieu SFB. L'identification biochimique a été réalisée grâce aux galeries Api 20E.

Le sérotypage de nos souches a révélé que 80% sont *Salmonella gallinarum* et 20% sont *S.arizonae.*

L'antibiogramme a été déterminé par la méthode de diffusion de disques sur la gélose MH (Muller Hinton) selon les normes NCCLS recommandées par l'OMS.

Les résultats montrent des taux de résistance élevé vis-à-vis de : l'acide nalidixique (100%) ainsi que pour les tétracyclines (65%).Des pourcentages moins important ont été répertorié : pour l'Ampicilline30%; la Gentamycine et Néomycine 25% ; l'Amoxicilline/Ac clavulinique (20%) et Enrofluxacine (15%).Aucune résistance pour Cefotaxime ; Trimétoprime-sulfamethoxazole ; colistines sulfate ; Nitrofurantoine et Chloramphénicol n'a été observé. Sur les 20 souches, 35% sont résistantes au moins à 2 antibiotiques, 25% sont résistantes au moins à 1 ou 6 antibiotiques ; contre 10% au moins à 3 antibiotiques. Et 5% ne présente aucune résistance.

En conclusion, il est nécessaire d'effectuer des tests de sensibilité aux antibiotiques avant le traitement afin de prescrire la molécule de choix, sans avoir à recourt aux antibiotiques à large spectre. Ces derniers n'entrainent en général que vers une voie certaine celle de la résistance à ces médicaments.

Mots clés : *Salmonella*, Antibiogramme, sensibilité, résistance, Antibiotique.

Abstract:

Avian Salmonellosis mainly pullorose and typhoid are septicemic, contagious diseases due to Gram-negative bacteria of the genus *Salmonella*.

This work aims at the isolation and then the identification of the species of Salmonella from the 26 livers from chickens and turkey; 25 strains were isolated on Hektoen agar after enrichment on SFB medium. The biochemical identification was performed using the Api 20E galleries.

The serotyping of our strains reveald that 80% are *Salmonella gallinarum* and 20% are *S.arizonae*.

The antibiogram was determined by the disk diffusion method on MH agar (Muller Hinton) according to the NCCLS standards recommended by the WHO.

The results show a high resistance to nalidixic acid (100%) and tetracyclines (65%).Lower percentages were reported: for Ampicillin30%; Gentamycin and Neomycin 25%; Amoxicillin Ac/ Clavulinic Ac (20%) and Enrofluxacin (15%).No resistance to Cefotaxime; Trimetoprim-sulfamethoxazole; Sulfate colistins; Nitrofurantoin and Chloramphenicol were observed.Of the 20 strains, 35% are resistant to at least 2 antibiotics, 25% are resistant to at least 1 or 6 antibiotics; Compared with at least 10% to 3 antibiotics. And 5% has no resistance.

In conclusion,antibiotic susceptipility testing prior to treatment is necessary to prescribe the molecule of choice without having recourse to broad-spectrum antibioyics .The latter usually only lead to a certain route of resistance to these drugs.

Key words: *Salmonella*, Antibiogram,susceptibility, resistance, Antibiotic.

ملخص

سالمونيلا الطيور خاصة حمى التيفوئيد والبولوغوز هي أمراض تسمم الدم ، معدية، والتي تسببها بكتيريا سالبة الجرام السالمونيلا.

ويهدف هذا العمل إلى عزل وتحديد أنواع السالمونيلا التي تم أخذها من 26 عينة كبدالدجاج و الديك الرومي ؛تم عزل 25 سلالة بعد التخصيب على هكتوان أغار و الذي تم بعد التخصيب على SFB. وقد تحقق تحديد الكيمياء الحيوية بفضل برمجة التطبيقات ipA 0E 2.

كشف المصلي من السلالات أن لدينا 80٪ من سالمونيلا غاليناغوم و 20٪ من سالمونيلا اريزوناي.

تم تحديد قابلية مضادات الميكروبات عن طريق أسلوب نشر القرص على أغار (مولر هينتون) وفقا لمعايير NCCLS أوصت به منظمة الصحة العالمية.

أظهرت النتائج نسبة عالية للمقاومة وجها لوجه: حمض الناليديكسيك (100٪) والتتراسيكلين (65٪) تم إدراج نسب أقل أهمية ل: أمبيسيلين30٪، النيوميسين والجنتاميسين 25٪،أموكسيسيلين/حمض الكلافولينيك 20٪، أونروفلوكزاسين 15٪.

لم تلاحظ أي مقاومة ضد: ميثوبريم-السلفاميثوكسازول،كبريتات الكوليستين، نتروفورانتوين والكلورامفينيكول.من 20 سلالة، 35٪منها كانت مقاومة لاثنين على الأقل من المضادات الحيوية، 25٪ مقاومة لمضاد حيوي واحد على الأقل أو 6؛ مقابل 10٪ مقاومة على الأقل إلى 3 مضادات حيوية. و 5٪ لا تظهر أي مقاومة.

وأخيرا، لابد من اجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية قبل دون اللجوء إلى المضادات الحيوية واسعة الطيف. هذه الأخيرة لا تؤدي بشكل عام الا الى مسار معين من المقاومة لهذه الأدوية.

كلمات البحث: السالمونيلا، حساسية، المقاومة،الحساسية ،مضاد حيوي.