

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de

Magistère en Sciences Vétérinaires

Option : Elevage, pathologie et industrie des animaux de basse-cour

Recherche des Salmonelles et d'Escherichia coli dans les carcasses de poulet au niveau des détaillants et évaluation de l'antibiorésistance

Présenté par :

Dr. ABDELLI Mouni Kahina

Soutenu le : 20 Octobre 2011

Le jury :

Pr. Soraya TEMIM	Professeur	ENSV, Alger	Président
Pr. Hacina AIN BAZIZ	Professeur	ENSV, Alger	Promoteur
Dr. Karima T. BOUKHORS	Maître de Conférences A	ENSV, Alger	Examineur
Dr. Amina CHAHED	Maître Assistante A	ENSV, Alger	Examineur
Dr. Nawel AZZAG	Maître Assistante A	ENSV, Alger	Examineur

Année universitaire : 2010/2011

Ces dernières années, j'ai souvent baissé les bras, j'ai parfois désespéré et tant de fois douter de moi, pourtant, certaines personnes étaient là pour me redonner le sourire, me dire ces mots qui apaisent et m'aider à avancer, s'il devait y avoir une seule citation pour décrire ce que je ressens en rédigeant ces « dédicaces » ce serait certainement que ...

...« *La reconnaissance est la mémoire du cœur* »

A mes parents, sans qui je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui. Merci pour votre soutien et pour m'avoir transmis l'amour des études, car il est vrai, qu'aujourd'hui je ressens ce bonheur d'en être arrivée là. J'espère que vous êtes et serez encore fiers de moi.

A mes sœurs et mon frère, pour ces codes que personne d'autre ne comprend, pour ces blagues qui ne font rire que nous et pour ce lien si fort entre nous, merci de m'avoir encouragé mais sachez que vous allez devoir encore me supporter car vous m'avez donné envie de continuer !

A tous ceux que je n'ai pas cités mais que je n'oublie pas...

... Merci !

Mes sincères remerciements vont avant tout à ma promotrice, le Pr. Hacina AINBAZIZ, pour avoir accepté de m'encadrer dans une ambiance si amicale ainsi que l'aide précieuse qu'elle m'a prodigué et l'immense patience dont elle a fait preuve avec moi.

Je remercie le Pr. Soraya TEMIM d'avoir accepté de présider le jury de ce modeste travail mais aussi pour son soutien malgré toutes les péripéties encourues.

Je tiens à remercier tout particulièrement Dr. Amina CHAHED, que j'ai harcelé par mail, que j'ai contredis plusieurs fois et qui a subis mes phrases interminables ponctuées que de virgules, je ne saurai vous remercier assez pour votre aide, vos encouragements et votre générosité. Je vous remercie également d'avoir accepté d'examiner cet ouvrage.

Je remercie Dr. Nawel AZZAG et Dr. Karima Tamina BOUKHORSE, qui m'ont fait l'honneur de constituer le jury. Je les remercie très sincèrement, et apprécie l'attention et le temps qu'elles ont consacré à l'évaluation de ce travail.

Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements à Mme Linda SAHRAOUI pour ses conseils pertinents mais également à Farid et Farida du service de bactériologie alimentaire de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA) pour leur aide et leur précieuse contribution. Ainsi qu'à Louiza du laboratoire de microbiologie et d'hygiène alimentaire de l'ENSV pour son aide et pour tous ces fous rires qu'on a eu toutes les deux.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire et dont j'ai omis involontairement de citer le nom, je vous dis Merci !

Les sérovars de Salmonella font partie des principaux pathogènes bactériens pouvant provoquer des pathologies d'origine alimentaire et Escherichia coli est un excellent indicateur de contamination fécale.

Le but de cette étude était de détecter et identifier ces microorganismes afin d'évaluer la qualité bactérienne du poulet. Les échantillons de volailles ont été recueillis au hasard à partir de différents points de vente de six communes du centre ville d'Alger et analysés pour déterminer la prévalence des souches de Salmonella spp, le dénombrement d'Escherichia coli ainsi que d'évaluer la sensibilité de ces deux bactéries aux antibiotiques.

Au total 57 carcasses de poulet on fait l'objet d'une recherche de salmonelles selon la norme ISO-6579/ NfV08-052, le dénombrement d'Escherichia coli a été réalisé selon la norme

ISO-16649-2 ainsi qu'une évaluation de la sensibilité à dix antibiotiques par méthode microbiologique classique de diffusion sur gélose.

Les échantillons prélevés au niveau d'El Biar, du 1^{er} Mai et de Draria ont permis d'isoler cinq souches de salmonelle, la prévalence globale de Salmonella spp. a été évaluée à 8,8% avec identification de deux sérovars S.Kentucky et S.Virchow. Les résistances les plus élevées ont concerné l'Erythromycine (résistance de 100%) puis l'Amoxicilline, l' Amoxicilline+Acide clavulanique et les Tétracyclines avec une résistance moyenne de 60%. S.Kentucky a révélé une proportion inquiétante de résistance à différentes molécules testées en particulier à la Ciprofloxacine.

Nous avons obtenu une prévalence de 100% pour Escherichia coli avec un dénombrement moyen de $2,6 \pm 1,8$ UFC/g . Ces résultats ont permis d'évaluer à 86% le taux d'échantillons présentant des valeurs dépassant le seuil d'acceptabilité fixé par les normes Algériennes (arrêté interministériel du 24 janvier 1998) et Françaises (FIA 2009 -Règlement (CE) n° 2073/2005). Deux antibiotiques ont présenté un taux de résistance maximal de 100% pour l'Erythromycine et les Tétracyclines, suivis par l'Ampicilline, l' Amoxicilline et l'Acide nalidixique avec respectivement 63,2% ,70,2% et 38,6% de résistance.

Mots-clés : Poulet, carcasse, bactéries, Salmonella, Escherichia coli, prévalence, antibiotiques, antibiorésistance, Kentucky, Virchow.

Salmonella serovars are among the major bacterial pathogens that can cause foodborne disease and Escherichia coli is an excellent indicator of fecal contamination.

The purpose of this study was to detect and identify these organisms to assess the bacterial quality of chicken. Samples from poultry were collected randomly from different outlets six communes of the city center of Algiers and analyzed to determine the prevalence of strains of Salmonella spp, Escherichia coli count and to evaluate the sensitivity of these bacteria to antibiotics.

A total of 57 chicken carcasses on the subject of a search for Salmonella according to ISO-6579 / NFV08-052, the enumeration of Escherichia coli was performed according to standard ISO 16649-2 and an assessment of the sensitivity to ten antibiotics by microbiological method conventional agar diffusion.

Samples taken at El Biar, 1er Mai and Draria have isolated five strains of salmonella, the overall prevalence of Salmonella spp. was estimated at 8.8% with identification of two serovars S. Kentucky and S. Virchow. The highest resistances are concerned Erytromycin (resistance of 100%) then the Amoxicillin, l' Amoxicillin+Acide clavulanic and Tetracyclin with an average resistance of 60%. S. Kentucky revealed an alarming proportion of resistance to different molecules tested in particular Ciprofloxacin.

We obtained a prevalence of 100% for Escherichia coli with an average count of 2.6 ± 1.8 CFU / g. These results were used to assess the rate of 86% of samples with values exceeding the acceptability standards set by the Algerian (interministerial decree of 24 January 1998) and French (FIA-2009 Regulation (EC) No. 2073 / 2005). Two antibiotics showed a resistance rate of up to 100% for Erytromycin and Tetracyclin, followed by the Ampicilin, the Amoxicillin and Acid Nalidixic respectively 63.2%, 70.2% and 38.6% resistance.

Keywords: chicken, carcass, bacteria, Salmonella, Escherichia coli, prevalence, antibiotics, antimicrobial resistance, Kentucky, Virchow.

أنواع السالمونيلا هي من بين مسببات الأمراض البكتيرية الرئيسية التي يمكن أن تسبب الأمراض التي تنقلها الأغذية و كولاى مؤشرا ممتازا للتلوث برازي .

وكان الغرض من هذه الدراسة لكشف وتحديد هذه الكائنات لتقييم نوعية البكتيريا من الدجاج . تم جمع عينات من الدواجن عشوائيا من منافذ مختلفة six البلديات من وسط مدينة الجزائر العاصمة وتحليلها لتحديد مدى انتشار سلالات السالمونيلا spp ، القولونية العد القولونية وتقييم حساسية هذه البكتيريا للمضادات الحيوية .

وكان ما مجموعه 57 جثث الدجاج في موضوع بحث عن السالمونيلا وفقا ل ISO - 6579 NFV08 / 052 - ، أجرى تعداد القولونية وفقا لمعيار ISO 16649-2 ، وتقيما للحساسية المضادات الحيوية إلى عشرة حسب الطريقة التقليدية الميكروبيولوجية نشر آغار .

عزلت عينات أخذت في البيار 1 مايو والدرارية five سلالات السالمونيلا ، ومعدل انتشار spp السالمونيلا . وقدرت بنسبة 8.8 ٪ مع تحديد اثنين من ولاية كنتاكي و S. فيرخوف س . أعلى المقاومة ERY (مقاومة 100 ٪) ثم ، AMC ET AMX مع المقاومة في المتوسط 60 ٪ . كشفت S. كنتاكي نسبة مقلقة لمقاومة جزيئات مختلفة اختبارها في سيبروفلوكساسين صالخصو وجه على .

حصلنا على نسبة انتشار قدرها 100 ٪ عن القولونية مع عدد متوسط قدره 2.6 ± 1.8 CFU / جرام . وقد استخدمت هذه النتائج لتقييم نسبة 86 ٪ من العينات مع القيم التي تتجاوز معايير القبول التي حددتها الجزائرية (المرسوم الوزارات من 24 يناير 1998 (والفرنسية 2009 - FIA) اللائحة (EC) رقم 2073 . (2005) / وأظهرت اثنين المضادات الحيوية معدل المقاومة لمدة تصل إلى 100 ٪ ل ERY ، ET ، يليه صباحا ، و AMX NA 63.2 ٪ على التوالي ، 70.2 ٪ و 38.6 ٪ المقاومة

الكلمات الرئيسية : الدجاج ، والذبيحة ، والبكتيريا ، السالمونيلا ، كولاى ، وانتشار والمضادات الحيوية ومضادات الميكروبات المقاومة ، كنتاكي ، فيرخوف .

Introduction Générale	1
Partie Bibliographique	3
 CHAPITRE I : LES SALMONELLES	 3
 I-1: TAXONOMIE ET NOMENCLATURE DES SALMONELLES	 3
 I-2: CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES	 5
I-2-1 : Caractères morphologiques	5
I-2-2 : Structure bactérienne	6
I-2-3 : Caractères biochimiques	8
I-2-4 : Caractères antigéniques	9
I-2-5: Sérotypage et schéma de Kauffmann-White:	11
I-2-6 : Caractères culturels	13
 I-3: DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES :	 13
I-3-1: Habitat	13
I-3-2: Hôtes	14
I-3-3 : Sources	14
I-3-4 : Résistance des salmonelles dans le milieu extérieur	16
I-3-5: Modes de transmission	17
I-3-6: Pathogénie et virulence des salmonelles	19
Principales étapes de la pathogénie des infections à <i>Salmonella</i>	20
Facteurs de virulence mis en jeu	23
 I-4: ASPECT CLINIQUE	 26
I-4-1: Salmonelloses aviaires	26
I-4-2: Gastro-entérite à salmonelles chez l'homme	30
I-4-3: Prophylaxie	31
 I-5: METHODES DE DETECTION DANS LES DENREES ALIMENTAIRES	 32
I-5-1: Techniques classiques de microbiologie	32
I-5-2: Nouvelles techniques de détection de <i>Salmonella spp.</i>	40
 CHAPITRE II : LES ESCHERICHIA COLI	 42
 II-1 NOMENCLATURE	 42
 II-2 : CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES	 42
II-2-1 : Caractères morphologiques	42
II-2-3 : Caractères biochimiques	43

II-2-4 : Caractères antigéniques	43
II-2-4 : Caractères culturels	45
.II-3 : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES	45
II-3-1: Habitat	45
II-3-2: Sources de l'agent pathogène	46
II-3-3 : Resistance aux différents facteurs	46
II-3-4: Pouvoir pathogène et virulence	47
Les E.Coli enterpathogènes ou EPEC	48
Les E. Coli enterhémorragiques ou EHEC	49
Les E. Coli enterotoxinogènes ou ETEC	49
Les E. Coli enterinvasifs ou EIEC	50
Les E. Coli enteroaggrégatifs ou EAEC	50
Les E. Coli à adhésion diffuse ou DAEC	50
II-3-5 : Facteurs de virulence mis en jeu	52
II-4 : ASPECT CLINIQUE	53
II-4-1 : Colibacillose aviaire	53
II-4-4 : Prophylaxie	56
II-5: METHODES DE DETECTION DANS LES DENREES ALIMENTAIRES	56
I-5-1: Techniques classiques	56
I-5-2: Nouvelles techniques de détection d' <i>Escherichia coli</i>	59
Partie Expérimentale	60
MATERIEL ET METHODES	60
OBJECTIF DE L'ETUDE	60
ECHANTILLONNAGE	60
II.1. Nature des échantillons et lieux de prélèvements	60
II.2. Méthode d'échantillonnage	61
ANALYSES MICROBIOLOGIQUES	61
III.1. Milieux de culture	61
III.2. Protocoles de recherche des salmonelles et E coli	61
III.2.1. Prélèvements	61
III.2.2. Recherche et isolement des salmonelles	62
III.2.3. Recherche, isolement et dénombrement des <i>Escherichia coli</i>	62
III.3. Test de sensibilité aux antibiotiques – antibiogramme-	62

Résultats	66
RECHERCHE DES SALMONELLES	66
I.1. Isolement et identification	66
I.2. Antibiogramme	70
RECHERCHE D'ESCHERICHIA COLI	72
II.1. Isolement et dénombrement	72
II.2. Antibiogramme	73
Discussion Générale	76
Conclusion	88
Références Bibliographiques	90
Annexe	104

Figure°1 : Structure schématique de salmonella typhi	6
Figure °2 : Représentation simplifiée de l'enveloppe de salmonella	6
Figure °3 : Représentation schématique de la structure de la chaîne lipopolysaccharidique des antigènes somatiques.....	8
Figure°4 : Structure antigénique des salmonelles.	9
Figure°5 : Conduite du sérotypage des salmonella	12
Figure°6 : Cycle de diffusion des salmonelles dans l'environnement.....	19
Figure°7 : Pathogénie du genre salmonella.....	23
Figure°8 : Facteurs de virulence potentiels de salmonella typhimurium	23
Figure°9: Protocole de recherche et d'isolement des salmonelles	34
Figure°10 : Aspect des colonies typiques de Salmonella typhimurium sur gélose Hektoen.....	34
Figure°11: Aspect des colonies typiques de Salmonella enteritidis sur gélose xylose lysine desoxycholate (XLD)	35
Figure°12 : Morphologie microscopique du genre Salmonella après coloration de Gram	35
Figure°13: Aspect typique d'une gélose TSI lors de suspicion du genre Salmonella	36
Figure°14: Galerie Api20e avant inoculation de la suspension bactérienne.	37
Figure °15: Tableau de lecture de la galerie API20E	38
Figure °16: Exemple d'interprétation numérique des réactions lues sur galerie API20E	38
Figure°17 : Principe de la réaction de l'ONPG sur galerie API20E	39
Figure°18 : Principe de la réaction de l'indole sur galerie API20E	40
Figure °19 : Structure microscopique d' <i>Escherichia coli</i>	42
Figure°20: Modes d'actions des grands pathovars de la bactérie <i>Escherichia coli</i> induisant des diarrhées	47

Figure°21: La lésion d'attachement et d'effacement.....	48
Figure °22: Phénotypes d'adhésion aux cellules épithéliales hep-2 en culture des E. coli responsables de diarrhées chez l'homme	51
Figure°23: Principe réactionnel de la méthode d'isolement sur gélose TBX.....	57
Figure °24: Protocole d'isolement et de dénombrement d'Escherichia coli	58
Figure°25 : Aspect des colonies caractéristiques d'Escherichia coli sur gélose TBX	59
Figure °26: Schématisation de la zone de prélèvement des échantillons de peau et de muscle au niveau du bréchet.	61
Figure °27: Protocole de réalisation d'un antibiogramme.....	64
Figure °28: Répartition des échantillons positifs et négatifs selon les communes prélevées.....	67
Figure° 29 : Résultat de l'isolement de Salmonella sur gélose Hektoen pour l'échantillon prélevé au niveau de la zone du 1 ^{er} Mai.....	67
Figure ° 30: Résultat de l'isolement de Salmonella sur gélose Hektoen pour l'échantillon prélevé au niveau de la zone de DRARIA	68
Figure° 31: Résultats lors de la confirmation des échantillons prélevés au niveau de la zone du 1 ^{er} Mai sur tubes TSI.....	68
Figure °32 : Interprétation des résultats obtenus sur galerie API20E pour l'échantillon prélevé à EL BIAR	69
Figure ° 33: Pourcentage des souches isolées de salmonelles résistantes et sensibles aux antibiotiques	71
Figure°34 : Classes d'interprétation des dénombrements d' <i>Escherichia coli</i>	72
Figure° 35 : Taux de résistance des souches d' <i>E.coli</i> testées.....	75
Figure°36 : Les mécanisme de résistance des bactéries selon la nature des antibiotiques	86

Tableau°1 : Les principaux caractères biochimiques utilisés pour l'identification des Salmonella.....	8
Tableau °2 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre Salmonella.....	9
Tableau °3 : Extrait du tableau de Kauffmann-White des formules antigéniques de quelques salmonelles	13
Tableau °4: Agents identifiés ou suspectés et aliments responsables ou suspectés lors de TIAC déclarées entre 2001-2003 en France	15
Tableau°5 : Résistance des salmonelles en fonction de la nature du support.....	17
Tableau°6: Quelques critères biochimiques permettent de différencier les espèces du genre Escherichia	43
Tableau° 7: Répartition des échantillons effectués selon les lieux de prélèvements.....	60
Tableau °8: Types d'antibiotiques et charge des disques utilisés pour l'antibiogramme.....	65
Tableau °9 : Résultats de la recherche de salmonelles	66
Tableau° 11 : Résultats des sérotypages réalisés sur les cinq souches isolées	70
Tableau° 12 : Résultats de l'antibiogramme réalisé sur les cinq souches de <i>Salmonella</i> isolées.....	70
Tableau° 13 : Résultats des dénombrements d' <i>Escherichia coli</i>	72
Tableau N° 16: Proportions de souches sensibles, intermédiaires et résistantes aux antibiotiques testés	74

Verso :

Tableau °10 : Résultats de la recherche de <i>Salmonella</i>	
Tableau °14 : Résultats obtenus lors du dénombrement d' <i>Escherichia coli</i>	
Tableau °15 : Résultats de l'antibiogramme effectué sur les souches d' <i>Escherichia coli</i>	

La production avicole représente une source non négligeable d'apport protéique dans les pays en voie de développement. Malgré l'essor notable de la filière avicole en Algérie ces trente dernières années, les pratiques d'élevage et d'abattage accusent un retard technologique considérable par rapport aux pays industrialisés, ce qui retentit non seulement sur la productivité mais aussi et surtout sur la qualité hygiénique du produit.

En effet, la problématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditions d'élevage en général mais aussi du respect des normes sanitaires imposées au cours de l'abattage et de la conservation des denrées (Kaci et al. 2001).

En raison de la fréquence relativement élevée de contamination de la volaille par des germes pathogènes, ces produits sont responsables d'un nombre important de cas d'intoxication alimentaire humaine et doivent donc faire l'objet d'une importante surveillance. (Cohen et al, 2007).

Dans des mauvaises conditions d'hygiène, le poulet est exposé à une contamination par différents types bactériens tels que *Salmonella*, *Escherichia coli* ou *Campylobacter*.

La viande de volaille constitue d'ailleurs le réservoir principal du genre *Salmonella* (*Enteritidis*, *Typhimurium*, *Hadar*, *Virchow*) (Ganière, 2008) pathogène pour l'homme dont la maîtrise est devenue un pré-requis indispensable pour le consommateur et un argument économique pour les industriels (Carlier et Lagrange, 2001).

Par ailleurs la fréquence de plus en plus importante d'antibiorésistances des bactéries zoonotiques impose une réelle vigilance. L'émergence de souches multi résistantes est inquiétante. Au début du mois d'août 2011, la société Cargill procédait à un rappel de plus de 16 000 tonnes de viandes de dindes hachées aux Etats-Unis contaminées par *Salmonella Heidelberg* multi-résistante aux antibiotiques (Anonyme, 2011). Quelques jours plus tard, le Centre national de référence des salmonelles (Institut Pasteur, Paris) lançait une alerte concernant une autre souche de salmonelle : *Salmonella Kentucky* multirésistante notamment aux fluoroquinolones (Devos, 2011).

Le danger potentiel des salmonelles ne doit aucunement induire une sous-estimation du risque que peuvent représenter certaines entérobactéries telles qu'*Escherichia coli*, dont certaines souches ont acquis des facteurs de virulence capable d'induire différentes pathologies humaines. Par ailleurs, des produits à base de viande de volaille ont déjà été suspectés dans des épidémies à *E. coli* O157:H7 et la présence de STEC non O157 et d'*E. coli* O157:H7 a été mise en évidence dans des viandes crues de poulet et de dinde démontrant que le risque de transmission de souches d'*E.coli* pathogènes par la viande de volaille ne doit pas être pris à la légère.(Espié et Vaillant, 2002).

Dans cette étude, la recherche de ces deux bactéries chez le poulet a permis à la fois une évaluation hygiénique puisque les *Escherichia coli* sont d'excellents indicateurs de contaminations fécales mais aussi sanitaires par la recherche de la présence de Salmonelles potentiellement dangereuses pour le consommateur. L'évaluation de la sensibilité aux molécules antibiotiques renseigne sur l'importance des souches antibiorésistantes qui constituent un véritable souci sur le plan thérapeutique tant en médecine humaine qu'animale.

Dans cette perspective, l'étude décrira dans un premier temps la problématique des salmonelles et des *Escherichia coli*. Puis nous aborderons, dans un second temps les étapes de l'étude proprement dite.

CHAPITRE I : SALMONELLA**I-1: TAXONOMIE ET NOMENCLATURE DES SALMONELLES**

Le genre *Salmonella*, de la famille des Enterobacteriaceae, a été nommé ainsi en l'honneur du médecin vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon même si nous devons la découverte de ce genre au bactériologiste Theobald Smith, qui travailla sous la direction de Salmon au *Bureau of Animal Industry* (BAI) dès 1884. Ses travaux sur l'efficacité d'un vaccin bactérien chez le porc lui permirent de découvrir ce qu'il pense être l'agent causal du choléra porcin. Il s'agissait en fait d'une nouvelle espèce bactérienne, *Salmonella enterica*. (Brown, 1935).

Ce genre est divisé en deux espèces : *S. enterica*, espèce majoritaire et *S. bongori*, espèce rare mais sa classification complexe reste un sujet largement controversé. Il est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et *Hafnia* et phénotypiquement proche des genres *Citrobacter* et *Hafnia* (Tindall et al. 2005).

Antérieurement Kauffmann établit un système de classification basé sur l'identification biochimique, ainsi le genre *Salmonella* est divisé en quatre sous genres désignés par des chiffres romains (I à IV) : *Salmonella Kauffmanii* (sous genre I), *Salmonella salamae* (sous genre II), *Salmonella arizonae* (sous genre III) et *Salmonella houtenae* (sous genre IV) (Gledel, 1996). Cependant, la « Judicial Commission» qui est une commission spécialisée du Comité International de Systématique des Procaryotes, considère que 5 espèces ont un statut dans la nomenclature : *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. (Euzéby, 2005).

Grace aux techniques de biologie moléculaire, il a été démontré que toutes les souches de salmonelles appartenaient à une seule espèce génomique appelée *Salmonella choleraesuis*. Ce nom d'espèce a été retenu parce que c'est celui de l'espèce type du genre *Salmonella*. Les cinq espèces citées par la Judicial Commission appartiennent donc à cette unique espèce génomique (Le Minor et al. 1982).

L'unique espèce *Salmonella choleraesuis* est divisée en 7 sous espèces :
Salmonella choleraesuis subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*,
Salmonella choleraesuis subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *diarizonae*,
Salmonella choleraesuis subsp. *houtenae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *indica* et
Salmonella choleraesuis subsp. *salamae* (Le Minor et Veron , 1990).

La nomenclature de *Salmonella choleraesuis* est également le nom d'un sérovar, pour éviter toute confusion, Le Minor et Popoff (1986) ont proposé de remplacer l'épithète *Cholerasuis* par *Enterica* afin de bien distinguer espèce et sérovar. L'espèce *Enterica* comportant 7 sous-espèces, se retrouve ensuite amputée de l'une d'elles lorsqu'en 1989 Reeves *et al.* élèvent la sous-espèce *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori* au rang d'espèce *Salmonella bongori* (Grimont *et al.*, 2000 ; Su *et Chiu*, 2007), ceci a été ensuite confirmé par l'évaluation de la parenté génomique entre les souches (Korzak *et al.*, 2004).

En 2004, Shelobolina *et al.* ont proposé la nomenclature de *Salmonella subterranea* pour une souche bactérienne isolée d'un sédiment acide et contaminé par des nitrates et de l'uranium. L'analyse de son ADN montre que cette souche présente 96,4 % d'homologie avec *Salmonella bongori* et 96,3 % d'homologie avec *Enterobacter cloacae*. Cependant, certains auteurs refusent encore cette nomenclature et ne considèrent pas cette souche comme étant une salmonelle (Grimont *et Weill*, 2007).

On distingue dans chaque sous espèce, des sérovars ou sérotypes caractérisés par leur antigène O, H et éventuellement Vi. Il en existe plus de 2800 décrits (Bonneffoy *et al.*, 2002, Korsak *et al.* 2004). Ces sérotypes sont eux-mêmes divisés en lysotypes, antibiotypes et colicinotypes (Hasley *et Leclerc*, 1993).

En bactériologie, les sérovars d'une espèce ou d'une sous-espèce bactérienne sont habituellement désignés par leurs formules antigéniques. Les sérovars de la sous-espèce *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (*Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*) font exception à cette règle et portent un nom. (Pouget, 2006).

Les noms des sérovars reflètent soit un syndrome ou une maladie (*typhi*, *abortus-equi*, *abortus-ovis*, *bovis-mortificans*...) soit un hôte de prédilection (*gallinarum-pullorum*...) soit l'origine géographique de la première souche isolée (*panama*, *london*, *paris*, *tel-el-kebir*...).

Actuellement, la désignation des nouveaux sérovars est effectuée exclusivement en fonction de l'origine géographique. (Grimont, 1992).

Au Neuvième Congrès International de Microbiologie, il a été décidé de condenser les noms composés : on doit actuellement écrire *abortusovis*, *abortusequi*, *teitelkebir*. (Bergey et Holt, 1968). En ce qui concerne le sérovar *GallinarumPullorum*, on peut noter que l'édition 1997 de l'ouvrage "Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella*" le désigne simplement par l'appellation *Gallinarum*.

Dans la pratique courante, afin de simplifier la nomenclature, Le Minor et Popoff proposent également de désigner les sérovars sous une forme abrégée sans mentionner la sous espèce, pour exemple le nom complet de *Salmonella abortusovis* est *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar *Abortusovis*. L'absence de mention de la sous-espèce ne peut pas être une source de confusion car seuls les sérovars de la sous-espèce *Salmonella enterica* subsp. *enterica* portent un nom.

Un auteur n'est pas obligé de suivre les recommandations de Le Minor et Popoff, toutefois, la très grande majorité des scientifiques suit ces règles.

I-2: CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES

I-2-1 : Caractères morphologiques

Le genre *Salmonella* fait partie des 32 genres de la famille des entérobacteriaceae , ce sont des bacilles droits Gram négatif, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche mais quelques sérotypes sont néanmoins immobiles tel que le sérotype *Gallinarum-Pullorum* ainsi que certaines mutants pouvant être observés.

De dimension moyenne (0,5 à 1,5 µm de largeur sur 2,0 à 5,0 µm de longueur), ce genre ne présente ni spores ni capsules (Bergey, 1984). Les différents composants structuraux sont présentés sur la figure °1.

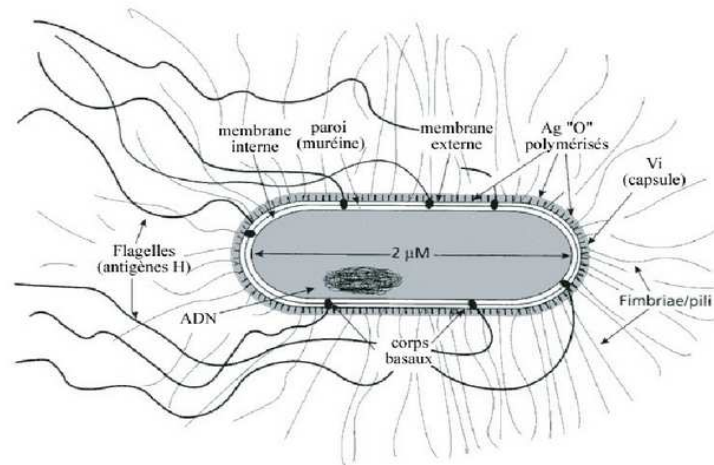
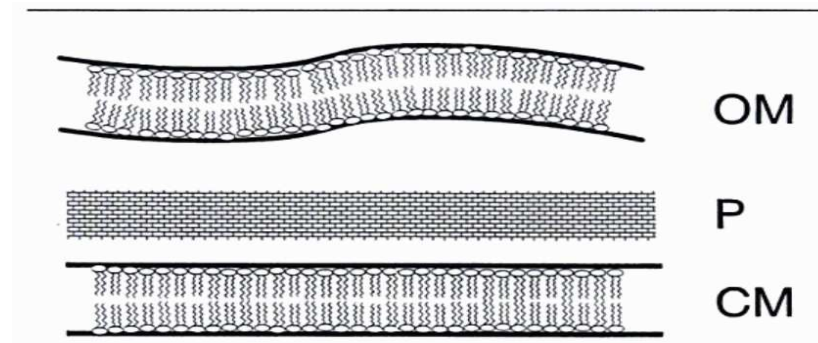


Figure °1 : Structure schématique de *Salmonella Typhi* (Hu et Kopecko, 2002)

I-2-2 : Structure bactérienne

La membrane cytoplasmique est séparée de la membrane externe par l'espace périplasmique constitué de peptidoglycanes. Cette structure de la paroi des salmonelles leur confère leur forme ainsi que leur rigidité (Figure °2) et leur permettrait de résister à une pression osmotique relativement élevée dans l'environnement (Rycroft, 2000).



OM (outer membrane) : membrane externe, P (periplasmic space) : espace périplasmique, CM (cytoplasmic membrane) : membrane cytoplasmique.

Figure °2 : Représentation simplifiée de l'enveloppe de *Salmonella* (Rycroft, 2000).

Le génome bactérien est composé d'un ADN chromosomique et d'un ou plusieurs plasmides protégés par une membrane cytoplasmique, elle-même entourée par le peptidoglycane ainsi qu'une paroi externe portant des flagelles, pili, glycocalix et lipopolysaccharide. Ces derniers jouent un rôle important pour la survie de la bactérie et comme facteurs de virulence (Camart-Périé, 2006).

- Le **glycocalyx**, constitué de polysaccharides, recouvre la membrane externe. Il n'a pas de rôle vital pour la bactérie mais lui confère certaines propriétés. Il intervient lorsque les bactéries se développent dans le sol ou dans l'eau : elles sont alors présentes sous forme de microcolonies adhérentes entourées de glycocalix. Il participe aussi à l'adhérence de la bactérie sur la cellule hôte.
- Les **flagelles**, constitués principalement d'une protéine -la flagelline- permettent à la bactérie de se déplacer par chimiotactisme. Celui-ci s'effectue par l'intermédiaire de récepteurs protéiques membranaires. Les flagelles sont également porteurs des antigènes H.
- Les **fimbriae** (ou pili), constitués essentiellement d'une protéine (la piline) sont observables au microscope électronique sous forme d'appendices raides. Ils sont de deux types : les pili communs et les pili sexuels. Les pili communs sont très nombreux : cent à deux cents par cellule. Ils confèrent notamment des propriétés hémagglutinantes aux bactéries qui les portent. Les pili sexuels sont l'expression de certains plasmides. Toutes les salmonelles n'en possèdent pas et lorsqu'ils sont présents, ils sont peu nombreux : un à quatre par bactérie (Desprez, 1992). Ces pili sont impliqués dans les phénomènes de fixation de bactériophages et de transfert de matériel génétique entre bactéries au cours de la conjugaison.
- La **membrane externe** porte différents récepteurs à des phages et à des bactériocines.
- Le **lipopolysaccharide (LPS)** est composé de trois parties (Figure°3) : le lipide A fixé à la membrane externe (c'est l'endotoxine des entérobactéries), le core ou partie basale (oligosaccharide constant chez les *Salmonella* cultivant sous forme de colonies lisses S alors que chez les mutants R, il est incomplet ou n'est pas lié aux chainons suivants) et les chaînes polysaccharidiques latérales appelées antigènes O et possédant un fort pouvoir immunogène. Les mutants R ont perdu ces chaînes latérales et sont moins pathogènes. Du fait de sa forte charge électronégative, le LPS est thermostable et confère à la bactérie les propriétés suivantes : résistance aux sels biliaires, aux détergents, aux protéases, aux lipases, au lysozyme, à de nombreux antibiotiques (Rycroft, 2000).

Au moins trente gènes sont requis pour la synthèse du LPS, leur position sur le chromosome de *S. Typhimurium* est connue avec précision (Popoff et Norel, 1992).

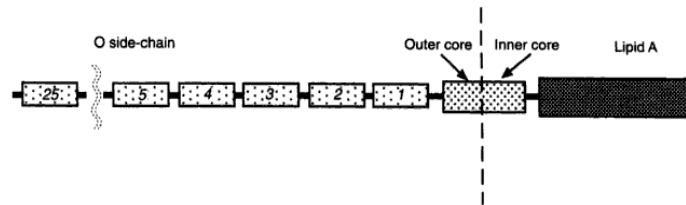


Figure °3 : Représentation schématique de la structure de la chaîne lipopolysaccharidique des antigènes somatiques (Rycroft, 2000).

I-2-3 : Caractères biochimiques

Les salmonelles présentent des caractéristiques biochimiques communes utilisées pour leur identification afin de les différencier des autres entérobactéries. Le tableau °1 regroupe les principaux caractères utilisés pour leur identification.

Les méthodes utilisées en microbiologie visent à identifier l'expression du phénotype au niveau du métabolisme de la cellule ; par exemple la présence d'une nitrate réductase leur permet de réduire les nitrates en nitrites, elles fermentent le glucose avec ou sans production de gaz et sont oxydase négatif.

Tableau°1 : Les principaux caractères biochimiques utilisés pour l'identification des *Salmonella* (Pilet et al. 1987).

Caractères biochimiques	<i>Salmonella</i>
Gazs en présence de glucose	+
Lactose	-
ONPG	-
H ₂ S	+
Uréase	-
TDA	-
Indole	-
LDC	+
TTR	+
Citrate Simmons	+
Gélatine	-
D-tartrate (en plusieurs jours)	+

Sauf, *Salmonella Typhimurium*: agazogène, H₂S + faible et Citrate de Simmons –

Salmonella Paratyphi : L.D.C. -, Citrate de Simmons – et H₂S –le plus souvent.

Salmonella Abortus equi: H₂S –

Salmonella Abortus ovis: H₂S –

Salmonella Senftenberg: Lactose +.

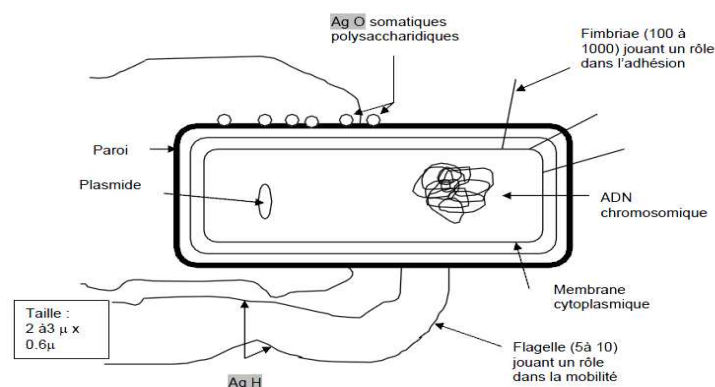
Certains caractères biochimiques permettent aussi de différencier les salmonelles entre elles. La classification de Kauffmann-White anciennement basée sur les caractéristiques biochimiques de *Salmonella* permettait de différencier les sous espèces entre elles (Grimont, 2000). Ainsi, *Salmonella enterica* est subdivisée en six sous espèces qui correspondent aux anciens sous genres de cette classification (Tableau°2).

Tableau °2 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella* (Grimont, 2000).

	<i>Salmonella Enterica</i>						<i>Salmonella Bongori</i>
Caractères biochimiques	<i>Subsp. enterica</i>	<i>Subsp. salamae</i>	<i>Subsp. arizonae.</i>	<i>Subsp. diarizonae</i>	<i>Subsp. houtenae</i>	<i>Subsp. indica</i>	
O.N.P.G.	-	-	+	+	-	v	+
Gélatinase (36 °C)	-	+	+	+	+	+	-
culture sur milieu KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol fermentation	+	+	-	-	-	v	+
Malonate (utilisation)	-	+	+	+	-	-	-
Sorbitol fermentation	+	+	+	+	+	+	-
Bêta-glucuronidase	v	v	-	+	-	v	-
Alphaglutamyl transférase	v	+	-	+	-	+	+
Lyse par le phage 01.	+	+	-	+	-	+	+

I-2-4 : Caractères antigéniques

Comme toutes les entérobactéries, les salmonelles peuvent posséder différents types d'antigènes importants pour le sérotypage (Millemann, 1998). La Figure° 4 montre la structure antigénique des salmonelles.



Figure°4 : Structure antigénique des salmonelles (Feuillet, 2007).

La détermination du sérotype est d'un intérêt diagnostique capital ; elle est définie par l'association caractéristique de chacun des trois antigènes suivants :

a) Les antigènes de la paroi ou somatiques ou antigènes O :

Les antigènes somatiques sont constitutifs de la membrane externe de la paroi bactérienne et sont de nature lipopolysaccharidique (L.P.S). Ils ont un rôle très important du point de vue diagnostique et représentent la toxine entérotope ou endotoxine de la bactérie. Il est thermostable 2h30 à 100°C, résiste au phénol et à l'alcool.

White et Kauffmann ont établi, dès 1925, une classification des salmonelles basée sur leur identification antigénique, les différents sérovars sont ainsi répartis en groupes au sein desquels ils ont tous au moins un facteur O en commun et 97 antigènes O sont considérés, on en distingue deux types :

- Les antigènes O majeurs : permettent la classification des sérotypes en groupe O, les souches qui le possèdent en commun font partie du même groupe, par exemple dans le groupe B toutes les souches possèdent l'antigène O : 4 dont *S. Typhimurium*.
- Les antigènes O accessoires : toujours liés à un antigène majeur, leur intérêt est mineur et leur présence est liée à la modification de la structure du LPS par une enzyme, un bactériophage ou par un plasmide.

Chez les souches R, l'antigène O n'existe pas ; le core ou ce qu'il en reste est responsable de spécificités sérologiques R, qui sont sans intérêt pour le typage antigénique.

b) Les antigènes flagellaires ou H

Les flagelles sont des structures permettant à la bactérie de se mouvoir, composées de polymères de flagelline, protéine ayant une composition constante en acides aminés pour un type antigénique donné. Elles sont thermolabiles, détruites par l'alcool mais résistent au formol.

Chez *Salmonella*, l'antigène H peut s'exprimer sous deux formes différentes chez un même sérotype :

- un état unique où la bactérie ne produit qu'un type de flagelle. Ce cas, le moins fréquent chez *Salmonella*, est retrouvé chez *S. Typhi* ou encore chez *S. Enteritidis*.

➤ un état diphasique où la bactérie telle que *S. Typhimurium* peut exprimer alternativement deux types de flagelles, présentant des spécificités antigéniques différentes.

Ces phases sont codées par deux gènes de structure qui déterminent la séquence primaire de la flagelline (Berche et al. 1988). Bien que certains sérotypes soient monophasiques, la plupart des souches possèdent ces deux gènes mais un seul s'exprimera lors de la mise en culture.

c) Les antigènes d'enveloppe, capsulaire ou Vi

L'antigène Vi a été découvert par Felix et Pitt chez *S. Typhi*, et n'a été identifié que chez trois sérovars : *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi* et *Salmonella Dublin* avec une fréquence décroissante. Toutefois, toutes les souches des ces sérovars ne possèdent pas cet antigène (Rycroft, 2000).

Sa spécificité réside en sa capacité à masquer l'antigène O, mais un chauffage à 100°C pendant une dizaine de minutes, permet de le solubiliser et démasquer ainsi l'antigène O qui devient alors agglutinable par les sérums anti-O.

I-2-5: Sérotypage et schéma de Kauffmann-White:

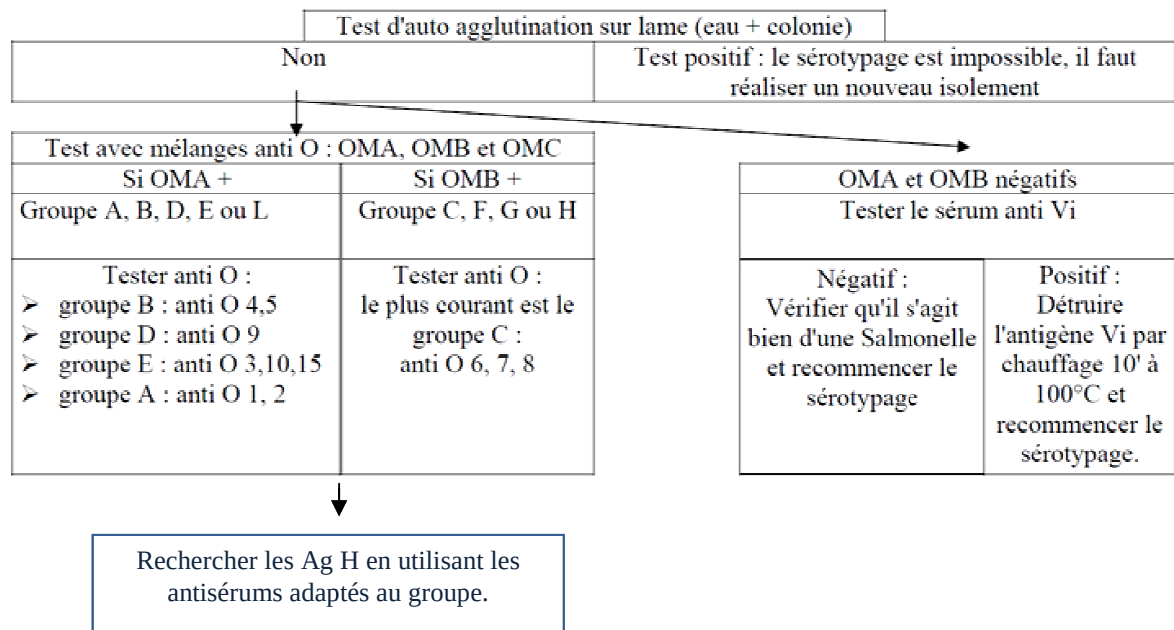
Le sérotypage permet d'obtenir la formule antigénique qui désigne un sérovar par une technique d'agglutination directe sur lame mettant en jeu différents antisérums avec la bactérie à tester, sa méthodologie est illustrée dans la Figure n°5.

Il est impératif de vérifier que la souche n'est pas auto-agglutinable en la testant en eau physiologique, le sérotypage ne pourra se poursuivre qu'en cas de réaction négative. Une réaction positive signifierait le caractère auto-agglutinant de la souche, qui de ce fait, réagirait avec tous les sérums. (Bonney et al. 2002).

Le test se poursuit en utilisant les sérums mélangés anti-O : d'abord le sérum OMA ensuite le sérum OMB afin de déterminer les groupes correspondants, pour exemple, une agglutination positive avec le sérum OMA signifie que la souche appartient à un des groupes A, B, D, E ou L, on recherchera alors l'agglutination dans les sérums anti-O caractéristiques de ces groupes. (Bonney et al. 2002).

Dans le cas d'une réaction négative avec les sérums OMA et OMB, il est nécessaire de vérifier la présence de l'antigène Vi en testant le sérum anti-Vi, s'il est présent, il sera détruit afin de permettre le sérotypage. Dans le cas contraire, il sera nécessaire de vérifier qu'il s'agit bien d'une *Salmonelle* avant de recommencer le sérotypage.

Le sérotypage est ensuite complété par le test des sérums anti H correspondants au groupe. On détermine ainsi le nom du sérovar en se reportant au tableau de Kauffmann-White.



Figure°5 : Conduite du sérotypage des *Salmonella* (Anonyme, 2011)

Le schéma de Kauffmann-White est le tableau des formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* où sont indiqués, dans l'ordre, les facteurs O, l'antigène Vi éventuellement, les antigènes H phase 1 et 2. Le tableau n°3 présente un extrait du tableau de Kauffmann-White.

Par exemple, la formule antigénique du sérovar *Abortusovis* s'écrit 4, 12, c, 1,6 , ce qui signifie qu'il possède les facteurs O : 4 - majeur - et 12 - accessoire -, qu'il ne possède pas l'antigène Vi, que l'antigène H1 a la spécificité c et H2 la spécificité 1,6.

Tableau °3 : Extrait du tableau de Kauffmann-White des formules antigéniques de quelques salmonelles (Grimont et Weill,2007)

Mélange O	Groupe	Nom usuel	Antigènes O	Antigènes H	
				Phase 1	Phase 2
OMA	B	<i>Typhimurium</i>	<u>1</u> ,4, 12	f, g, s	-
		<i>Brandenburg</i>	<u>1</u> ,4, [5], 12	i	1, 2
		<i>Heidelberg</i>	<u>1</u> ,4, [5], 12	i, v	e, n, z15
		<i>Coeln</i>	1,4, 12	r	1, 2
		<i>Essen</i>	4, [5], 12	y	1, 2
		<i>Abortusovis</i>	4, 12	c	1, 6

Facteurs entre crochets : peuvent être absents sans que le sérotype soit changé.

Facteurs O soulignés : liés à la conversion phagique (lysogénique).

I-2-6 : Caractères cultureux

Les salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobies facultatives, après 24h d'incubation à 37°C sur milieu ordinaire. Les colonies obtenues sont circulaires à bord régulier et ont un diamètre de 3-4mm. Généralement lisses (S : smooth), rarement rugueuses (R : rough), les salmonelles R sont rarement pathogènes.

A partir d'un échantillon monomicrobien tel que le sang, une gélose ordinaire suffit à leur croissance alors que dans les cas de prélèvements polymicrobiens comme les selles, les milieux sélectifs sont indispensables. (Blondelet-Cadot, 2001).

I-3: DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES :

I-3-1: Habitat

Le réservoir des salmonelles est très large et de nombreuses espèces animales (animaux à sang froid ou chaud) et l'homme, sont susceptibles d'héberger des salmonelles pathogènes ou non (Pilet et al. 1983) mais le principal réservoir est constitué par l'intestin des vertébrés.

Les salmonelles possèdent deux caractéristiques qui expliquent probablement leur très large distribution : d'une part la diversité des animaux susceptibles de les héberger et d'autre part leur capacité de survie dans leur environnement (Bouvet, 1995).

La dissémination par les matières fécales facilite leur propagation dans l'environnement (sol, boue, eaux, pâturages...etc.) où elles peuvent survivre plusieurs mois si les conditions sont favorables.

On rencontre aussi des salmonelles hautement pathogènes chez des porteurs de germes apparemment bien portants ce qui contribue à disséminer l'infection, ces porteurs sont généralement des sujets convalescents mais il existe des porteurs permanents de *S.typhi* (très abondante dans la vésicule biliaire), ainsi certains oiseaux peuvent excréter des salmonelles de façon continue ou intermittente pendant de longues périodes (plusieurs mois).

I-3-2: Hôtes

En fonction de leur hôte de prédilection, les salmonelles ont pu être classées en trois groupes :

➤ Sérovars spécifiques à l'homme :

Ce groupe comprends les salmonelles étroitement adaptées à l'homme ; *Salmonella Typhi*; *S.Paratyphi A, B, C* et *S. Sendai* et qui sont responsables respectivement de la fièvre typhoïde et paratyphoïde, ces sérotypes ne sont pathogènes que pour l'homme.

➤ Sérovars à prédilection pour certaines espèces animales :

Ce groupe comprend les salmonelles étroitement adaptées à des espèces particulières tel que le sérotype *Pullorum-Gallinarum* chez la volaille ou *Abortusovis* chez les ovins alors que certains sérotypes tels que *Dublin* chez les bovins ou *Cholerasuis* chez le porc peuvent toucher aussi l'homme.

➤ Sérovars ubiquistes:

Ce groupe comprend les sérovars les plus courants et les plus nombreux, qu'on retrouve aussi bien chez l'homme que l'animal, c'est le groupe des principaux agents de salmonelloses actuelles tels que *S.Enteritidis*, *S.Typhimurium*, *S.Panama*, *S. Saintpaul*...etc.

I-3-3 : Sources

Les différentes sources de salmonelles sont pratiquement illimitées (oiseaux domestiques ou sauvages, volailles, rongeurs, serpents, eaux, aliments, etc.). Chez les oiseaux infectés, la colonisation de l'intestin (les cæcums en particulier) et des ovaires chez les poules pondeuses infectées par *Enteritidis* et parfois *Typhimurium* facilite la dissémination du germe.

Les matières virulentes principales sont les fientes et les matières fécales, souvent propagées par les animaux et l'homme à la faveur d'erreurs d'élevage ou de production.

Les aliments le plus souvent mis en cause pour les TIAC causées par *Salmonella Enteritidis* sont essentiellement les œufs et les ovoproduits pouvant contenir des bactéries viables crus ou insuffisamment cuits ainsi que les viandes de volaille insuffisamment cuites, le lait cru et les produits laitiers non pasteurisés...etc.

Plusieurs agents peuvent être incriminés lors de TIAC, le tableau°4 présente les agents identifiés ou suspectés et aliments responsables ou suspectés lors de TIAC déclarées entre 2001 et 2003 en France.

Tableau °4: Agents identifiés ou suspectés et aliments responsables ou suspectés lors de TIAC déclarées entre 2001-2003 en France (Delmas et al. 2005).

Aliments	<i>Salmonella</i>				<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Autres agents (dont virus)	Agent indéterminé	Total
	Enteritidis	Typhimurium	Autres sérotypes	Sérotype inconnu	<i>Bacillus cereus</i>				
Laits produits laitiers	2	5	11	3	5	34	12	7	79
Œufs et produits à base d'œufs	162	53	4	64	6	25	3	17	334
Viandes	4	5	1	10	44	29	13	28	134
Produits de charcuterie	11	7	2	11	9	20	17	11	88
Volailles	3	1	4	15	19	13	19	11	85
Poissons et fruits de mer	3	1	0	6	5	9	76	13	113
Coquillages	8	2	0	2	7	2	89	11	121
Autres aliments	21	3	1	25	78	56	25	42	251
Eau boissons	0	0	0	1	1	3	4	12	21
Aliments non retrouvés	37	13	5	40	50	68	63	285	561
Total	251	90	28	177	224	259	321	437	1787

I-3-4 : Résistance des salmonelles dans le milieu extérieur

Les travaux de McLaren et Wray en 1991 suggéraient l'hypothèse que les salmonelles pouvaient persister sur les lieux d'une infection à *S.Typhimurium* pendant des périodes allant de quatre mois à deux ans avec une moyenne de 14 mois. *S.Dublin* peut survivre dans les fèces d'un animal infecté jusqu'à 28 semaines et jusqu'à 10 mois sur les murs, voire 8 à 36 mois dans les fèces desséchées. (McLaren et Wray, 1991).

La survie des salmonelles est étroitement liée à plusieurs facteurs : la température, le Ph, l'*Aw*...etc

a) La température

Les salmonelles peuvent se multiplier à des températures allant de 7°C à 41°C avec un optimum de 35-43°C ; elles sont détruites à 65-70°C pendant 5-15min.

Des températures basses en dessous de 10°C ralentissent la croissance alors qu'une température inférieure à 5.2°C permet de l'arrêter, la réfrigération permet leur survie alors que la congélation et la surgélation n'entraînent pas leur complète destruction. (Le Boucher et al, 1997).

b) Le Ph

Les salmonelles se multiplient à des ph compris entre 4.5 et 9.0 avec un optimum entre 6.5 et 7.5 mais peuvent supporter des ph plus acides allant jusqu'à 3.8, elles sont détruites à des ph inférieurs à 3.8 et supérieurs à 9.4. (Grimont, 2000).

c) Activité de l'eau (*Aw*)

Les valeurs optimales pour leur croissance sont comprises entre 0.945 et 0.999 mais peuvent survivre dans des produits déshydratés tels que les farines, dans les aliments elles peuvent se multiplier jusqu'à des valeurs d'*Aw* de 0.93.

d) Radiations

Les salmonelles sont inactivées par la lumière et les rayons ionisants.

e) Sel (*NaCl*)

Les salmonelles y sont peu sensibles, elles ont pu être isolées de saumures à 3,2% (Peiffer, 1999).

La survie des salmonelles dans l'environnement est également liée à la nature du support, les différentes durées de survies sont représentées dans le tableau°5.

Tableau°5 : Résistance des salmonelles en fonction de la nature du support
(Elgroud, 2008 ; Bell et Kyriakides, 2002)

Nature du support	Durée de survie des salmonelles
Sol , eau d'étang à température 4-20°C	4 à 9 mois
Poussières	Plus d'un an
Fientes sèches de volailles	Jusqu'à 28 mois
Duvet de couvoirs	Jusqu'à 5 ans
Carcasse de poulets congelés à -21°C	Jusqu'à 13 mois

I-3-5: Modes de transmission

a) Chez l'homme

La principale voie de contamination pour l'homme est alimentaire (David, 2009), elle est le plus souvent liée à la consommation d'aliments d'origine animale que végétale (Poulain, 2003). L'infection résulte de la consommation d'aliments contaminés. Elle peut être intrinsèque, comme cela peut être le cas pour les oeufs (Rabsch et al. 2001), ou extrinsèque suite au contact avec des matières fécales lors de l'abattage pour les aliments issus d'animaux contaminés, ou encore avec une surface ou un autre aliment contaminé lors de la préparation ou de la transformation des denrées ; on parle alors de contamination croisée. Ceci est d'autant plus vrai lors de consommation d'aliments infectés insuffisamment cuits tels que les œufs à la coque ou le blanc de poulet rosé (Bornert, 2000).

Cependant, la contamination peut également avoir lieu par contact avec des animaux infectés, notamment avec des animaux de compagnie et des NAC (nouveaux animaux de compagnie) (Woodward et al. 1997; De Jong et al. 2005; Swanson et al. 2007). Ce dernier mode de transmission non alimentaire serait d'une importance trop souvent sous estimée (Barber et al. 2003).

b) Chez la volaille

Le mode de transmission des salmonelles chez les volailles peut se faire selon deux voies : verticale et horizontale.

➤ *Voie Verticale :*

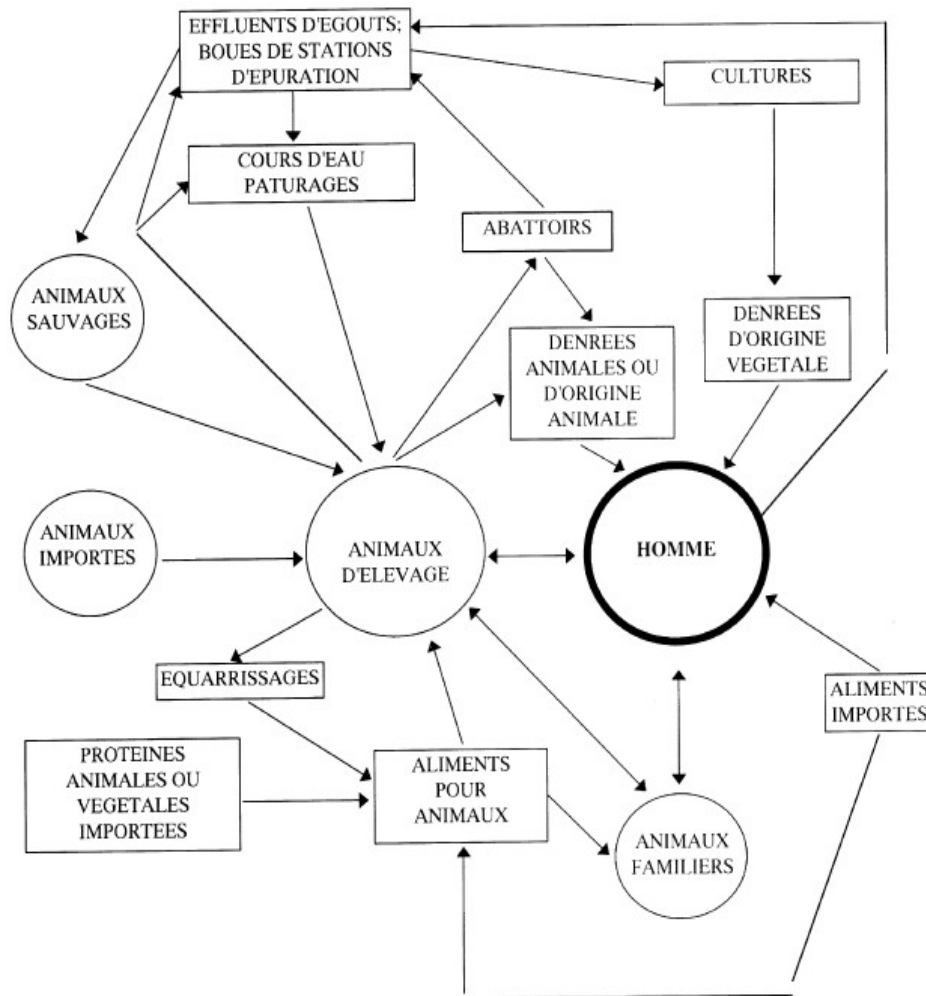
La transmission des salmonelles aux œufs par voie transovarienne est possible pour certains sérovars tels que *S.Enteritidis*. Elle peut se faire aussi par contamination de la coquille lors du passage dans le cloaque. L'œuf peut aussi être contaminé par des matières fécales présentes sur la litière ou dans un couvoir mal nettoyé, la transmission verticale est considérée comme la plus difficile à maîtriser (Valancony Et al, 2001).

➤ *Voie Horizontale :*

Elle peut être directe ou indirecte ; la transmission directe se fait par contact avec des animaux porteurs sains ou malades, en effet un animal porteur sain peut excréter de 10^6 à 10^7 bactéries par gramme de fèces (Humbert, 1998).

Alors que la transmission indirecte se fait par l'intermédiaire de vecteurs tels que l'eau de boisson (eau polluée) et l'aliment (aliment souillé par excréments de sujets contaminés).

Les vecteurs tels que les rongeurs ou les insectes peuvent jouer le rôle de vecteurs de salmonelles. Aussi, les supports et surfaces souillées, le matériel contaminé et insuffisamment nettoyé ainsi que le personnel malade sont souvent sources de dissémination du germe. La figure°6 représente le cycle de transmission des salmonelles et les différentes voies s'articulant autour de l'homme, l'animal et l'environnement, permettant ainsi la diffusion du germe.



Figure°6 : Cycle de diffusion des salmonelles dans l'environnement (Decludt et al. 1996)

I-3-6: Pathogénie et virulence des salmonelles

Les salmonelles font partie des bactéries entéropathogènes invasives, elles sont toutes potentiellement pathogènes mais la gravité de l'affection provoquée dépend non seulement de la souche, de la quantité de bactéries ingérées mais aussi du statut immunitaire de l'hôte. La contamination se fait toujours par voie digestive et provoque des infections variées allant de la gastro-entérite à la septicémie chez les sujets immunodéprimés.

L'inoculum peut être faible (10^3 bactéries), et de l'importance de cet inoculum dépendent la durée de l'incubation et l'importance des symptômes. Un inoculum lourd (10^7) est habituellement nécessaire pour induire une infection chez un sujet immunocompétent, mais une hypo-acidité gastrique, une diminution de la motilité intestinale (médicaments,

diabète), peuvent contribuer à rendre pathogènes des inoculums faibles (Pennec et Garre, 2003).

L'infection salmonellique peut prendre trois aspects (Humbert, 1998 ; Carlier, 2001) :

- *Un portage sain strictement limité à l'appareil digestif*: avec un nombre de salmonelles excrétées par gramme de matière fécale allant de moins de 10^4 à plus de 10^7 , cette excrétion peut être intermittente et on parle alors de porteur sain.
- *Un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme* mais sans symptômes apparents : les salmonelles sont alors hébergées dans les monocytes et les macrophages où elles sont capables de survivre et se multiplier.
- *Une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie*, lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient, soit dépassé par l'importante charge bactérienne envahissant l'organisme, cette maladie a pu s'exprimer à la faveur d'une :

1) Ingestion d'une forte dose de salmonelles (10^5 à 10^8 bactéries)

2) Multiplication importante dans le tube digestif d'une quantité initialement faible de bactéries ingérées, leur accroissement est due à un déséquilibre de la flore digestive pouvant être du à un stress, une pathologie intercurrente ou un changement brutal de régime alimentaire.

a) Principales étapes de la pathogénie des infections à Salmonella

Les caractéristiques essentielles de la pathogénie des salmonelles sont leur capacité à entrer dans les cellules hôtes et y persister en tant que parasite intra-cellulaire facultatif (Millemann, 1998). Leur processus infectieux suit deux phases : une intestinale puis une autre systémique (Figure°7) (Nauciel et Vilde, 2005).

a-1) Phase intestinale

Après ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, une partie de la charge bactérienne subit une première élimination grâce à l'effet bactéricide de l'acidité gastrique. A ce stade, seulement 1% des bactéries de l'inoculum initial va survivre. Elles parviennent au niveau de l'intestin grêle où 80% seront évacuées par les fèces dans les 6-10heures post-infection, environ 15% vont atteindre la lumière intestinale où elles vont se multiplier (Baumler et al.

2000). Les caeca représentent le site le plus important pour la colonisation intestinale chez la volaille (Reed et al. 2002 ; Desmidt et al. 1997).

L'invasion des cellules épithéliales constitue une étape cruciale dans la pathogénèse (Van Immerseel, 2005). Elle débute 15min après l'infection, ce temps est nécessaire à la sécrétion des molécules impliquées dans l'invasion (Santos et al.2002). L'apparition d'appendices appelés « invasomes » résulte de l'interaction entre la bactérie et la face apicale des cellules épithéliales; induisant simultanément une dégénérescence des microvillosités et de la bordure en brosse avec ondulations membranaires des cellules épithéliales (Millemann, 1998).

Au moment où la bactérie s'attache à la cellule épithéliale, elle injecte une série de protéines bactériennes à l'intérieur de la cellule de l'hôte. Ces protéines vont interagir avec les protéines de la cellule hôte, avec pour effet la réorganisation du squelette de la cellule épithéliale qui induit la formation de projections du protoplasme qui l'entoure en quelques minutes. La bactérie se retrouve ainsi dans une vacuole à l'intérieur de la cellule où elle possède la capacité de réprimer le processus normal d'apoptose de la cellule, elle peut donc s'y multiplier tranquillement à l'abri du système immunitaire (Van Immerseel, 2005).

Au niveau intestinal, les salmonelles présentent une certaine affinité pour les cellules M des plaques de Peyer, elles sécrètent un ensemble de molécules grâce à un système particulier appelé TTSS (Type Three Secretion System/ Système de sécrétion de type 3). Parmi les protéines codées par ce système, les « invasines » se fixeraient à des récepteurs spécifiques des cellules M et faciliteraient leur invasion (Palumbo et Wang, 2006).

La reconnaissance et la liaison aux cellules M nécessiteraient la présence des fimbriae (adhésines) et de résidus de type mannosyl dans le mucus (Dibb-Fuller *et al.* 1999 ; Thorns et Woodward, 2000 ; Vimal *et al.* 2000), s'ensuit une rapide internalisation puis une destruction de la cellule M (Millemann, 1998 ; Korsak et al. 2004).

a-2) Phase systémique

Après avoir franchi la barrière épithéliale, les salmonelles phagocytées par les macrophages sont transportées jusqu'aux nœuds lymphatiques, il semblerait que les cellules dendritiques participent également à ce transport (Yrild, 2001).

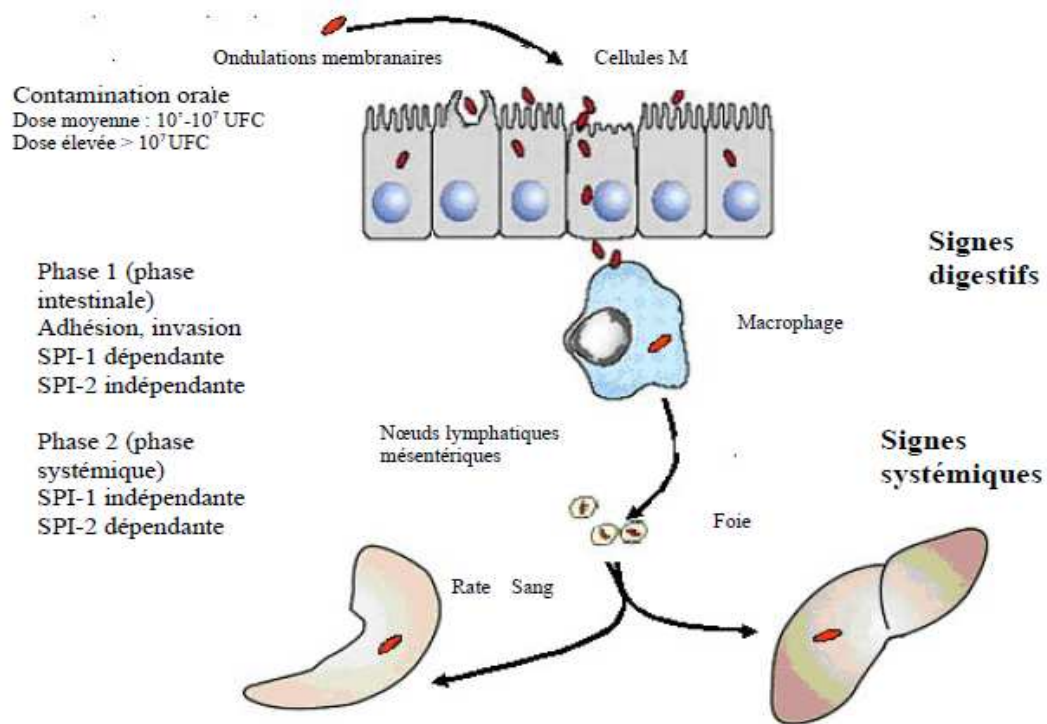
A l'intérieur des macrophages, les salmonelles se retrouvent dans une vacuole VCS (vacuole contenant des *Salmonella*) et peuvent survivre et se multiplier. Leur multiplication est sous le contrôle du système de sécrétion de type 3 (TTSS) codé par l'îlot de pathogénicité 2 (*SPI-2*). Ce dernier présente une structure en aiguille par laquelle des protéines bactériennes sont injectées à travers la membrane de la vacuole (Van Immerseel, 2005 ; Hensel et al. 2000).

La bactérie développe une série de stratégies lui permettant de survivre à l'intérieur du macrophage. Parmi elles, la bactérie est capable de libérer des protéines du TTSS *SPI-2* inhibant la fusion entre la VCS et le lysosome. Le macrophage dispose d'une arme très efficace dans la lutte anti bactérienne, la NADPH oxydase des phagocytes catalyse la réduction d'oxygène en superoxyde qui a un effet antibactérien puissant. Lors de la stimulation du macrophage, les différentes sous unités de ce complexe enzymatiques fusionnent et l'activent mais *Salmonella* dispose d'une stratégie pour inhiber la production de la NADPH oxydase ou bloquer la migration des vésicules contenant la NADPH oxydase vers la VCS.

Autre stratégie, mais dont le mécanisme exact reste encore peu connu, les salmonelles semblent pouvoir manipuler la viabilité des macrophages, ce qui a aboutit selon le stade de l'infection à sa nécrose ou à son apoptose. (Van Der Velden et al. 2000 ; Van Immerseel, 2005).

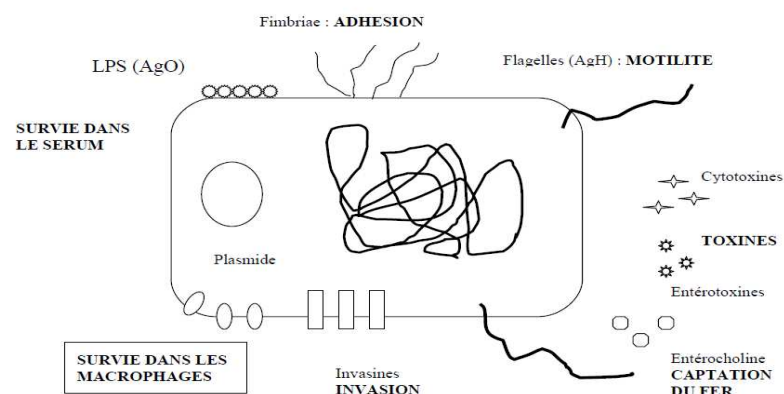
La pénétration des salmonelles dans le système réticulo-endothélial permet leur dissémination vers les organes tels que le foie et la rate où elles se multiplient, s'ensuit alors une phase bactériémique puis un envahissement de l'ensemble des organes, la libération d'endotoxine après lyse bactérienne induit un choc toxique.

Les salmonelles peuvent également rester de nombreux mois dans un état latent, sans multiplication, l'hôte est qualifié ainsi de porteur latent, une multiplication et une excrétion sont alors possibles à la faveur d'une immunodépression.

Figure°7 : Pathogénie du genre *Salmonella* (Millemann, 2005)

b) Facteurs de virulence mis en jeu

Les facteurs bactériens sont indispensables aux salmonelles pour provoquer la maladie. La figure°8 présente les principaux facteurs de virulence mis en jeu pour *Salmonella Typhimurium*.

Figure°8 : Facteurs de virulence potentiels de *Salmonella Typhimurium* (Desprez, 1992)

b-1) L'Adhésion aux cellules hôtes épithéliales

L'adhésion des salmonelles aux cellules épithéliales est indispensable, elle permet d'éviter leur expulsion par les mouvements péristaltiques de l'intestin (Leclerc et al. 1995). Cet attachement, réalisé grâce aux fimbriaes ou Pili, se réalise en deux phases dont la première est réversible.

De nombreuses études in vitro ont démontré que les pili interviennent dans l'adhésion des salmonelles à un grand nombre de lignées cellulaires aviaires ou de mammifères et contribuent à l'invasion de ces cellules (Craven et al, 1992).

b-2) Survie dans le sérum

L'effet bactéricide du sérum est principalement lié à l'activation du complément. Les chaînes polysaccharidiques portant l'antigène O contribuent à la résistance bactérienne en jouant le rôle de barrière physique contre le complexe d'attaque formé par le complément (Sansone, 2002 ; Millemann, 1998).

La protéine RCK (resistance to complement killing) codée par un gène plasmidique du plasmide sérotype-spécifique ou SSP est également impliquée dans ce phénomène de résistance et joue aussi un rôle dans l'invasion des cellules eucaryotes.

b-3) Plasmide de virulence

Plusieurs sérovars de *Salmonella* hébergent des plasmides de virulence importants pour la phase systémique de l'infection (Marcus et al. 2000), nécessaires pour la propagation de l'infection au-delà de la barrière intestinale, permettant notamment l'augmentation du taux de croissance des salmonelles dans le foie et la rate. Par ailleurs la perte du plasmide SSP réduit la capacité de la bactérie à provoquer une infection systémique chez la souris (Millemann, 1998)

b-4) Toxines

Différentes toxines sont responsables des manifestations cliniques observées chez l'hôte, parmi les toxines produites par les salmonelles :

➤ Endotoxine (Lipide A du LPS) :

Constituée par le lipide A, responsable en grande partie de la toxicité du LPS, ses effets sont liés à l'activation de phénomènes inflammatoires importants avec libération de plusieurs cytokines : TNF, IL 1, 2 et 6. L'endotoxine est responsable de la plupart des symptômes de la fièvre typhoïde et du choc septicémique, mais aussi dans les diarrhées des formes gastroentériques (Millemann, 1998 ; Garre et Pennec, 2003).

➤ Entérotoxines :

Les entérotoxines jouent un rôle dans les diarrhées des formes gastroentériques, et un peu plus de la moitié des salmonelles produisent une entérotoxine thermolabile similaire sur le plan antigénique et immunologique à la toxine cholérique (Millemann, 1998). Elle se lie à l'épithélium de la muqueuse intestinale et stimule l'AMP cyclique ce qui provoque une sécrétion d'ions et d'eau.

➤ Cytotoxines :

La cytotoxine joue un rôle dans la destruction des cellules M, la survie intracellulaire (Millemann, 1998) et est capable de chélater les ions Ca^{++} et Mg^{++} . Cette chélation avec la membrane des cellules de la muqueuse intestinale change probablement la structure de la membrane cellulaire permettant l'introduction de la bactérie dans la cellule hôte avec fuite sélective de molécules (Desprez, 1992).

b-5) Système de captation du fer

Le fer est un des facteurs de croissance indispensable pour la multiplication des salmonelles chez l'hôte. Certaines salmonelles sont alors capables de synthétiser l'entérochéline ou entérobactrine, un sidérophore de la famille des phénolates secrété dans des conditions limitées en fer telles que celles rencontrées dans l'organisme hôte afin de capter le fer nécessaire à leur multiplication (Popoff et Norel, 1992).

Il a été démontré que ce sidérophore favorise la croissance dans le sérum murin mais n'est pas indispensable à la virulence pour la souris (Benjamin et al. 1985 ; Millemann, 1998).

I-4: ASPECT CLINIQUE

I-4-1: Salmonelloses aviaires

Les salmonelloses aviaires, anciennement dénommée paratyphoses (paratyphoid salmonellae), sont essentiellement définies comme étant les manifestations d'une infection causée par des salmonelles autres que le sérovar *Gallinarum-Pullorum* (agent de la typhose-pullorose) (Ganiere, 2008).

Ce sont des maladies infectieuses contagieuses, virulentes et inoculables (Poppe, 2000).

S'il existe de nombreux sérovars ubiquistes connus chez le poulet, les plus importants compte tenu de la fréquence des cas de TIAC chez l'Homme sont *Enteritidis*, *Typhimurium*, *Hadar*, *Virchow* et *Infantis* (Ganière, 2008).

➤ Salmonelloses dues à *Salmonella Gallinarum Pullorum* :

La pullorose du poulet est due à *Salmonella enterica subspecies enterica* sérovar *Pullorum* (*Salmonella Pullorum*). La forme aiguë de cette maladie est spécifiquement une affection septicémique chez les poussins. La transmission ovarienne est le principal mode de contamination de la maladie. Le gibier à plumes et les volailles de basse-cour sont les principaux réservoirs de l'infection et les oiseaux sauvages peuvent être vecteurs de l'agent infectieux, jouant ainsi un rôle important dans l'épidémiologie de la maladie.

La typhose des poulets est quant à elle due à *S. Gallinarum* et est le plus souvent observée chez des oiseaux plus âgés ou adultes (Anonyme, 2005), le risque zoonotique lié à ces germes est considéré comme minimal (Shivaprasad, 2000).

L'infection peut prendre plusieurs formes :

Forme inapparente : se traduit par le portage de la bactérie sans aucune manifestation clinique chez les animaux apparemment sains ou anciennement malades, le risque que représente cette forme s'explique par l'excrétion permanente ou épisodique de salmonelles durant toute la vie du sujet ce qui facilite la dissémination à bas bruit du germe (Vilatte, 2001).

Forme clinique chez le jeune sujet : se traduit tout d'abord par une diminution de l'éclosabilité dès le sixième jour et après le quinzième jour d'incubation associée à une mortalité en coquille (Brugère-Picoux, 1992).

La pullorose est une maladie provoquée par *Salmonella Pullorum*, elle se transmet pendant l'incubation ou immédiatement après éclosion et entraîne un pic de mortalité vers les 4 et 5èmes jours, tandis qu'un second pic de mortalité lors d'une infection post-natale survient vers le 15^{ème} jour.

Les poussins présentent des symptômes généraux marqués, ils sont abattus, les plumes ébouriffées, les ailes tombantes, les yeux mi-clos, hésitant à se déplacer avec refus de s'alimenter. La diarrhée est d'abord jaune verdâtre puis grise-blanche, crayeuse avec parfois des traces de sang et a la particularité de se coller aux pourtours de l'anus allant jusqu'à l'obstruer, des atteintes oculaires (conjonctivite, opacité de la cornée) sont aussi décrites (Ganière., 2008).

La déshydratation sévère aboutit à la mort en quelques jours, le taux de mortalité varie entre 20 et 80% mais peut approcher exceptionnellement les 100%.

Les poussins sont déshydratés et émaciés (Brugère-Picoux, 1992). On constate la persistance et l'infection du sac vitellin, une typhlite catarrhale, une entérite, des foyers de nécrose hépatique ainsi que des pétéchies sur le foie et la rate qui sont hypertrophiés et congestionnés. Les reins sont pâles avec dépôts d'urates. (Brugère-Picoux, 1992 ; Poppe, 2000).

Forme Subaigue à chronique : L'infection est localisée au niveau de l'appareil ostéo-articulaire, se manifestant par des arthrites tibio-métatarsiennes ou se traduisant par des torticolis ou des œdèmes sous cutanés, avec perte d'appétit, développement du plumage compromis d'où l'observation d'une hétérogénéité qui pénalise fortement les résultats technico-économiques du lot infecté.

Forme clinique chez le sujet adulte : La forme aigue de l'infection chez l'adulte ou typhose est une maladie provoquée par *Salmonella Gallinarum*, les symptômes sont caractéristiques d'une infection septicémique, les oiseaux sont abattus ; la respiration est laborieuse et de la diarrhée jaune verdâtre striée de sang.

Dans les élevages de reproducteurs les seuls symptômes peuvent être une diminution des taux de ponte et d'éclosabilité.

Lors de typhose, du fait d'une septicémie généralisée, le foie est généralement hypertrophié, sombre et friable avec une couleur vert-bronze caractéristique. La moelle osseuse est souvent brunâtre, le cœur présente une péricardite exsudative et l'intestin présente une entérite aigue catarrhale. Les reins et les poumons sont le siège de nécroses localisées (Anonyme, 2005 ; Shivaprasad, 2000).

Les lésions de l'appareil génital sont des ovaro-salpingites, les ovaires sont déformés ou rabougris et présentent plusieurs kystes. Des péritonites sont observées lors de ponte intra abdominale : les œufs sont de mauvaise qualité et tachés de sang ou présentent des débris nécrotiques.

➤ Salmonelloses dues aux autres sérotypes :

Le développement de l'incidence des toxi-infections alimentaires chez l'homme causées par *Salmonella Typhimurium* et *Salmonella Enteritidis*, suite à la consommation de produits d'origine aviaire, a mis l'accent sur l'importance sanitaire de la contamination de la filière avicole par ces bactéries. Pour ces raisons, ces deux infections font partie depuis 1995 de la liste des MRC (Ganière, 2008).

Le portage sain est le cas de figure le plus fréquent chez les volailles, l'infection est strictement limitée à la sphère digestive et correspond à un portage avec élimination continue ou intermittente de salmonelles dans les fèces. Les porteurs sont alors cliniquement indécélables.

Chez les jeunes sujets, *Salmonella Typhimurium* peut provoquer des formes cliniques graves, d'allure septicémique avec mortalités brutales dans les jours qui suivent l'éclosion avec prostration, diarrhée liquide blanchâtre et ventre gonflé. Chez les poussins plus âgés, l'allure est d'avantage subaigüe, les sujets sont tristes, assoiffés, cyanosés et présentent une diarrhée aqueuse jaune verdâtre parfois hémorragique, une cécité est parfois observée (Snoeyenbos et Williams, 1991).

Salmonella Enteritidis provoque le plus souvent une pathologie transitoire et fruste, compte tenu de sa forte affinité pour le tractus génital, l'infection peut alors se transmettre verticalement. (Feuillet, 2007).

Salmonella Enteritidis et *Typhimurium* peuvent provoquer, en particulier chez la poule, une chute de ponte, une diminution de la fertilité et de l'éclosabilité et une mortalité accrue des jeunes. (Ganiere, 2008)

.

La mortalité due à *S.Typhimurium* varie de 1,7 à 10,6 % dans les quinze premiers jours de vie contre 2% pour *S. Enteritidis*, une forte proportion de survivants restera porteurs sains et excréteurs. (Padron, 1990).

Les lésions observées sont une non-résorption du sac vitellin avec un contenu souvent liquide et grumeleux, un aspect cuit généralisé, une hépatomégalie avec des lésions dégénératives nodulaires, des lésions cæcales plus ou moins intenses avec présence fréquente d'un magma caséeux (parfois très discret), éventuellement de la péricardite et de l'aérosacculite.

Diagnostic :

Les symptômes et les lésions des formes apparentes peuvent orienter le diagnostic vers une suspicion de salmonellose, mais seul un diagnostic expérimental fondé sur l'isolement, l'identification et le typage des salmonelles permettent la confirmation.

Les méthodes bactériologiques peuvent être réalisées sur différents types de prélèvements. Les salmonelles peuvent être isolées à partir du foie, de la vésicule biliaire ou du sac vitellin chez les poussins mourant en phase septicémique, alors que chez les sujets vivants, la recherche est réalisée sur l'intestin mais surtout le contenu cæcal ou les fientes.

En ce qui concerne le contrôle sérologique, il est réalisé en pratique pour *S. Gallinarum-pullorum* alors que pour la plupart des salmonelles au tropisme surtout digestif, elles génèrent peu ou pas de réponse sérologique détectable.

L'infection par *S. Enteritidis* chez la poule s'avère particulière, en raison d'une systématisation plus fréquente de l'infection chez cette espèce : des tests ELISA sont ainsi utilisables pour détecter les troupeaux infectés par *S. Enteritidis* (cette possibilité existe aussi pour *S. Typhimurium*) (Ganiere., 2008).

La répétition des tests sérologiques (deux fois minimum) est indispensable afin d'éradiquer les sujets infectés jusqu'à l'obtention de résultats négatifs pour tous les oiseaux de l'élevage (Anonyme, 2005).

Au delà du simple diagnostic, le dépistage primordial des troupeaux infectés passe par la recherche systématique des salmonelles dans des prélèvements adaptés à chaque situation :

- Prélèvements de garnitures de fonds de boîtes réalisés lors de la livraison des oiseaux livrés dans une exploitation, prélèvements de fientes fraîches, chaussettes pour les troupeaux élevés au sol, chiffonnettes frottées sur les surfaces exposées (éclosoir, surface des tapis à déjections, fonds des cages, etc. (selon des procédures réglementaires), échantillons de coquilles brisées provenant des éclosiers...etc.
- La détection d'une contamination verticale vraie sera bien plus efficacement détectée dans l'éclosoir que chez les reproductrices ou a fortiori sur les œufs. En effet, on considère que seulement 0,1% à 1% des œufs pondus par une poule infectée par *S. Enteritidis* sont contaminés. La transmission horizontale très rapide des salmonelles parmi les poussins d'un éclosoir permet d'augmenter très significativement la sensibilité de la détection.

Traitement :

- Le traitement antibiotique des salmonelloses est interdit.
- Les traitements antibiotiques (quinolones...) réduisent le portage, mais ne le suppriment pas, favorisant ainsi la dissémination du germe par l'intermédiaire de ces porteurs latents, avec comme risque, l'apparition d'antibiorésistances transmissibles à l'homme.

I-4-2: Gastro-entérite à salmonelles chez l'homme

La gastro-entérite à salmonelles est un syndrome qui s'exprime suite à l'ingestion d'un aliment contaminé par une souche de *Salmonella subsp. Enterica* autre que le sérotype *Typhi*, *Paratyphi* et *Sendai* et est souvent causée par des sérotypes ubiquistes tels que *S. Enteritidis*, *S. Virchow* ou *S. Typhimurium*..etc.

On estime à 64% le pourcentage de toxi-infections alimentaires à salmonelles mais il faut insister sur le caractère non exhaustif des cas déclarés et évalué, mondialement, à 10 ou 100 fois plus le nombre de cas réels.

Après consommation d'un aliment contaminé, la période d'incubation varie de 8 à 72h, en général 12 à 36h après le repas, une forte dose de salmonelles ou une sensibilité du sujet raccourci la période d'incubation.

Les troubles apparaissent de façon soudaine et se manifestent par une fièvre de 38-39°C, des frissons, des douleurs abdominales violentes, des vomissements, de la diarrhée fétide habituellement glaireuse et parfois sanglante avec abattement général et céphalées. L'infection peut s'aggraver par des symptômes d'ordre nerveux (mouvements cloniques, somnolence).

L'évolution est le plus souvent spontanée et favorable sans aucun traitement antibiotique, néanmoins des complications graves peuvent être observées chez les sujets âgés, les jeunes enfants ou les personnes immunodéprimées.

I-4-3: Prophylaxie

La prophylaxie fait appel aux mesures de prévention et de lutte spécifiques aux salmonelloses, elle répond aux différentes recommandations de l'arrêté interministériel n° 006 du 20 janvier 2003.

Les mesures générales d'hygiène doivent être mises en place aux différents stades, tant au niveau du couvoir et des élevages en suivant un protocole de nettoyage et de désinfection rigoureux avec un contrôle systématique des élevages.

Tenant également compte des multiples sources d'infection (eau, aliments, visiteurs, rongeurs, insectes, etc.) et notamment des oiseaux et des œufs issus d'élevages non indemnes) pouvant jouer le rôle de vecteur ou de réservoir de salmonelles.

En cas de d'apparition d'un foyer salmonellique, la destruction de la totalité du troupeau infecté ainsi que des œufs suivie d'une désinfection des locaux et matériel contaminés et un vide sanitaire sont souvent le seul moyen de permettre d'éliminer l'infection.

La prévention médicale peut également faire appel à des vaccins mais également à l'utilisation de flores de barrière protégeant la muqueuse intestinale des germes exogènes.

L'acidification de l'eau de boisson par addition d'un acide organique permet d'empêcher la multiplication des salmonelles par abaissement du pH de l'eau et du contenu intestinal rendant le milieu défavorable au développement des salmonelles. (Van Immerseel et al. 2005).

I-5: METHODES DE DETECTION DANS LES DENREES ALIMENTAIRES**I-5-1 : Techniques classiques de microbiologie :**

Compte tenu des conditions de traitement et de conservation des aliments, les salmonelles éventuellement présentes en petit nombre ou ayant subi un stress nécessitent un isolement en plusieurs étapes successives (pré-enrichissement, enrichissement, isolement puis confirmation biochimique et sérologique) entraînant un temps de réponse relativement important (Korsak et al, 2004).

Ces méthodes sont spécifiques et constituent les méthodes de référence bien qu'elles présentent le principal inconvénient d'être assez longues alors que l'analyse des produits alimentaires nécessiterait un résultat rapide. (Elgroud, 2008).

Les deux principales méthodes microbiologiques utilisées pour la recherche de salmonelles dans les denrées alimentaires sont : La méthode NFV08-052/1997 et la méthode ISO 6579-2002. Cette dernière est actuellement la méthode de référence pour la détection de *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires mais également dans des échantillons d'environnement collectés dans les entreprises agro-alimentaires. (Korsak et al, 2004). Dans un contexte de globalisation des échanges commerciaux de denrées alimentaires, cette norme est la référence internationale pour la détection de *Salmonella* dans les aliments.

Protocole d'isolement de Salmonella***Pré-enrichissement***

C'est une phase non sélective permettant la revivification des salmonelles éventuellement présentes dans l'aliment. Vingt cinq grammes (25g) de l'échantillon sont déposés dans un sac Stomacher stérile auxquels sont ajoutés 225ml d'eau peptonnée tamponnée à température ambiante. L'échantillon est ensuite broyé et homogénéisé dans un broyeur de type Stomacher puis transféré dans un flacon stérile avant d'être incubé pendant une durée allant de 16 à 20h à 37°C.

Enrichissement

L'enrichissement est successivement réalisé sur bouillon Rappaport-Vassiliadis-Soja (RVS) et bouillon Sélénite-Cystéine. 0,1ml du milieu pré-enrichi est transféré dans un tube de 10ml de RVS et incubé à $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ et 1 ml du milieu pré-enrichi dans 10ml de bouillon Sélénite-Cystéine puis incubé à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24h.

Cette phase d'enrichissement permet une croissance sélective des salmonelles notamment par la résistance des salmonelles aux Vert de Malachite présent dans le bouillon RVS et l'inhibition de la croissance des autres bactéries.

Isolement

A partir des milieux d'enrichissement utilisés, l'isolement est réalisé sur gélose XLD (Xylose/Lysine/Desoxycholate) à partir du bouillon RVS et sur gélose Hektoen pour le bouillon Sélénite-Cystéine suivis d'une incubation à $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant $24\pm 3\text{h}$.

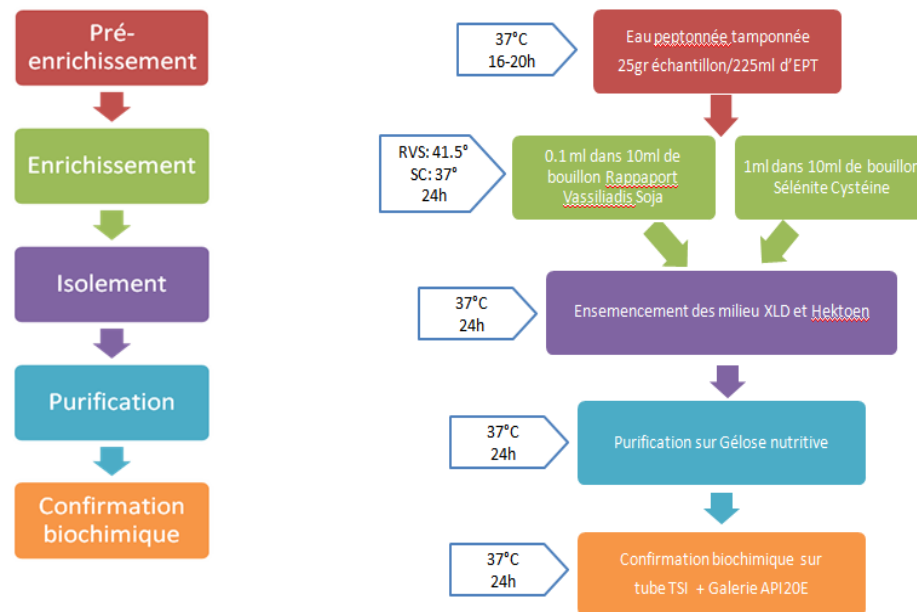
Le lendemain, les boîtes sont examinées afin de rechercher la présence de colonies présentant les caractéristiques de *Salmonella*.

Purification et Confirmation

La purification est réalisée par ensemencement d'une gélose nutritive afin d'isoler les colonies avant de procéder aux tests biochimiques de confirmation.

Pour des raisons pratiques et afin d'obtenir une double indication, les colonies suspectes sont repiquées à la fois sur gélose TSI et sur mini galeries API20E. L'ensemencement de la gélose TSI est réalisé par étalement en surface et pique centrale, le tube est ensuite incubé à 37° pendant une durée allant de 18 à 24h.

La confirmation biochimique est complétée sur mini galerie API20E (*Biomérieux*) afin de mettre en évidence les différents caractères biochimiques. Les différentes phases d'isolement des salmonelles sont synthétisées dans la Figure°9.

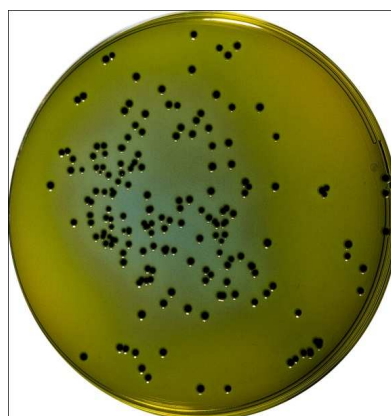


Figure°9: Protocole de recherche et d'isolement des salmonelles
(Norme ISO 6579/NFV08-052)

a) Identification bactériologique, morphologique et biochimique

b-1) Etude macroscopique

Sur gélose Hektoen, les colonies de salmonelles prennent une coloration bleu-vert avec ou sans centre noir, qui deviennent entièrement noires en fin d'incubation telles que présentées sur la figure°10. Elles sont de forme ronde à bords réguliers, légèrement bombées avec un diamètre de 1 à 1,3 millimètres (Biokar Diagnostic, 2011)



Figure°10: Aspect des colonies typiques de *Salmonella Typhimurium* sur gélose Hektoen
(Biokar Diagnostic, 2011)

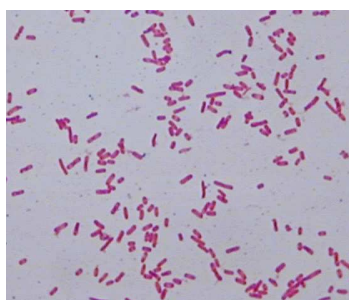
Sur gélose Xylose Lysine Desoxycholate XLD, les colonies typiques de salmonelles sont rondes à bords réguliers et présentent un centre noir entourées d'un halo clair transparent rouge, dû à un changement de l'indicateur du milieu telles que représentées sur la figure°11. Les variantes de *Salmonella* H₂S négatif (*S.Paratyphi* A) sont roses avec un centre rose foncé (Heipha Diagnostic, 2008) et les salmonelles lactose positif sont jaunes sans noircissement (AFNOR- ISO6579, 2002).



Figure °11: Aspect des colonies typiques de *Salmonella Enteritidis* sur gélose Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) (Biokar Diagnostic, 2011).

b-2) Etude microscopique

Une fois la coloration de Gram réalisée, l'observation au microscope optique (G X1000) permet de mettre en évidence le caractère Gram négatif des salmonelles, la morphologie du genre *Salmonella* après coloration de Gram est représentée par la figure°12.



Figure°12 : Morphologie microscopique du genre *Salmonella* après coloration de Gram : bacille à Gram négatif (Fraperie, 2007)

Purification

Après examen visuel des boîtes de géloses Hektoen et XLD, l'apparition de colonies bien distinctes permet de procéder à la fois à une étude biochimique et à une purification

nécessaire à la réalisation ultérieure d'un antibiogramme. Il était parfois nécessaire de procéder à plusieurs purifications successives pour obtenir des cultures pures. Pour cela, trois à cinq colonies sont repiquées sur gélose nutritive ou Hektoen et incubées à 37°C pendant 24 heures.

Etude biochimique

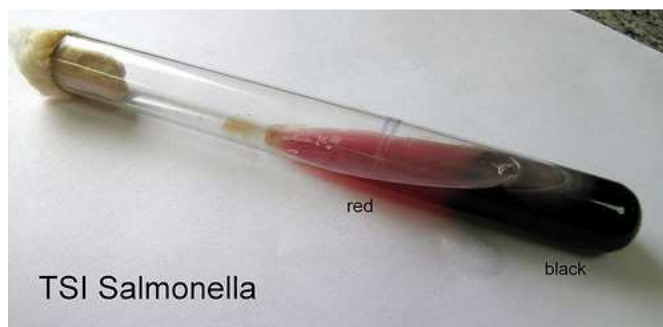
L'étude des caractères biochimiques nous renseigne sur le métabolisme des bactéries ainsi que leurs enzymes. Pour des raisons pratiques, nous avons procédé à une identification à la fois sur gélose TSI et sur mini galerie API20E. *Biomérieux*).

Gélose TSI

La gélose TSI permet de mettre en évidence la fermentation du glucose, du lactose, la production de sulfate d'hydrogène ainsi que la production de gaz.

L'ensemencement se fait par étalement en surface et pique centrale, le tube est ensuite incubé à 37°C pendant une durée allant de 18 à 24h. La lecture est basée sur les différentes colorations du milieu :

Lors de suspicion de Salmonelle, trois colorations différentes de la gélose sont obtenues. L'utilisation du glucose induit le virage du culot au jaune suite à l'acidification du rouge phénol et la production de H₂S se traduit par l'apparition d'un précipité noir formé à partir des acides aminés à radical soufré. Enfin, la coloration rouge de la pente reflète l'absence de fermentation du lactose. La figure°13 illustre les différentes modifications de couleurs obtenues sur tube TSI lors de suspicion de salmonelles, la coloration jaune étant masquée par l'importance du précipité noir.



Figure°13 : Aspect typique d'une gélose TSI lors de suspicion du genre Salmonella (Mehdar, 2010).

La dislocation de la gélose est due à la production de gaz lors de la fermentation du glucose. Il est important de noter que *S.Gallinarum* ne produit pas de H_2S , induisant donc l'apparition de deux couleurs seulement (rouge et jaune) et que les souches lactose positif telle que *S.Arizonae* fermentent le lactose d'où le virage de la pente du rouge au jaune.

Galerie miniaturisée API 20E

La galerie API20E comprend 20 microtubes contenant des substrats déshydratés (Figure°14), inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs afin d'identifier des bacilles Gram Négatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae.



Figure °14 : Galerie Api20E avant inoculation de la suspension bactérienne (Anonyme,2008).

Protocole de la galerie API 20E

Une colonie jeune obtenue à partir d'une culture âgée de 18 à 24h de la souche à tester est suspendue dans un volume de 5ml d'eau physiologique stérile d'opacité 0,5 sur l'échelle de Mac Farland. Cette dernière est homogénéisée au vortex et introduite à l'aide d'une pipette dans les tubes de la galerie, en l'inclinant légèrement afin d'éviter la formation de bulles.

Pour certains tests tel que le [VP], il est nécessaire de remplir les tubes et les cupules alors que pour d'autres tests tel que le H_2S il est impératif de remplir la cupule d'huile de paraffine afin de créer une anaérobiose. Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C pendant 18-24h.

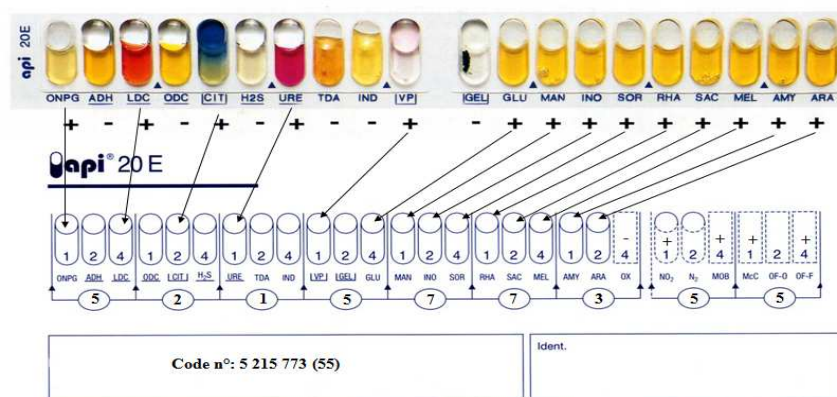
La figure°15 présente les différents résultats obtenus sur galerie API20e permettant la lecture et l'interprétation des réactions observées selon les différents tests.

Les codes couleurs permettant de distinguer les résultats positifs et négatifs sont présentés en Annexe.

Tests	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactoside	Beta-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Vert pâle/jaune	Bleu-vert/vert
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/ fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA / Immédiat	
			jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	IND / 2 mn, maxi	
			jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	VP 1 + VP 2 / 10 mn	
			incolore	Rosé-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu/bleu-vert	Jaune

Figure°15: Tableau de lecture de la galerie API 20^E (Delahaye, 2010)

Les réactions qu'elles soient positives (+) ou négatives (-) sont rapportées sur une fiche permettant d'obtenir un profil numérique (Figure°16) et l'identification est obtenue à l'aide du logiciel APIweb. (Référence : 880300)



Figure°16: Exemple d'interprétation numérique des réactions lues sur galerie API20E

(Anonyme, 2010)

Quelques principes des tests représentés sur la galerie API20E :

ONPG : Recherche de la β galactosidase

La β galactosidase est une enzyme capable de scinder le lactose en glucose et galactose. Sa recherche se base sur l'utilisation de l'ONPG (Ortho-nitrophenyl- β -galactopyranoside) qui est un composé incolore qui va être scindé par la β -galactosidase en libérant de l'orthonitrophénol de couleur jaune (Figure°17). Grâce à ce test, nous pouvons classer les bactéries en lactose positif et négatif.

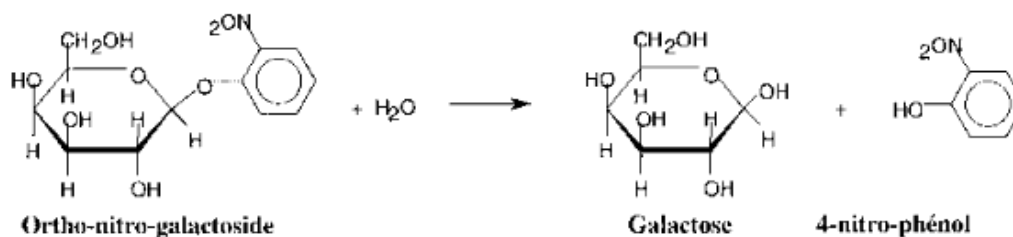


Figure °17: Principe de la réaction de l'ONPG sur galerie API20E (Anonyme, 2011)

CIT : Recherche de l'oxydation aérobie du citrate

Le citrate constitue l'unique source de carbone du milieu. Les bactéries possédant une citrate-perméase et les enzymes du catabolisme du citrate peuvent se développer avec oxydation aérobie du citrate, engendrant ainsi une alcalinisation du milieu entraînant le virage du bleu de bromothymol du vert au bleu.

URE : Recherche de l'uréase

Ce test permet la mise en évidence de l'uréase qui transforme l'urée en carbonate d'ammonium, ce qui induit une alcalinisation du milieu et par conséquent le virage du rouge de phénol au rouge orangé. Par ailleurs, une réaction négative se traduit par une coloration jaune.

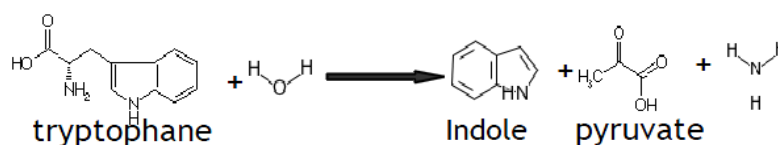
LDC : (lysine décarboxylase), ODC (ornithine décarboxylase) et ADH (arginine dihydrolase)

Ces enzymes, dont l'action est favorisée en milieu acide et en conditions d'anaérobiose, forment des substances alcalines à partir des acides aminés avec libération de CO_2 . 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.

L'hydrolyse du seul acide aminé présent dans le milieu induit la production d'amine avec alcalinisation du milieu auparavant acide, induisant le virage de l'indicateur de pH qui est le rouge de phénol du jaune au rouge.

IND : Recherche de la production d'indole

Grace à la tryptophanase, certaines bactéries dégradent le tryptophane en indole qui réagit avec la fonction aldéhyde du paradiméthylaminobenzaldéhyde pour donner un composé coloré en rouge, sa révélation se fait par l'addition du réactif Kovacs (Figure°18).



Figure°18: Principe de la réaction de l'indole sur galerie API20E (Anonyme, 2011)

b-3) Sérotypage

La recherche de la présence des antigènes « O », « Vi » ou « H » des *Salmonella* est effectuée par une agglutination sur lame à l'aide d'une culture obtenue en 18-24h à 37°C avec des sérums appropriés selon le schéma de Kauffmann White. (Figure°5).

*I-5-2 : Nouvelles techniques de détection de *Salmonella* spp. :*

De nouvelles méthodes de détection plus rapides et plus sensibles ont été développées mais beaucoup d'entre elles nécessitent des équipements onéreux ou encore un haut niveau de technicité afin d'être appliquées (Favrin et al, 2001).

Une des voies d'amélioration fut l'utilisation de milieux semi-solides exploitant les propriétés de mobilité de la plupart des salmonelles tels que le MSR/V (modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis) permettant à la fois d'obtenir des résultats négatifs en 48h mais aussi de détecter un petit nombre de salmonelles présentes dans l'échantillon parmi une flore compétitive importante (Korsak et al, 2004).

Bien que les méthodes bactériologiques demeurent les méthodes de références, elles tendent petit à petit à laisser la place aux techniques telles que la PCR qui abaissent considérablement le seuil de détection des bactéries pathogènes dans l'aliment. Plusieurs systèmes commerciaux en kit sont actuellement disponibles, deux d'entre eux ayant été validés AFNOR : ProbeliaTM Salmonella (*BioRad*) et BAXTM Salmonella (*Qualicon*) (Carlier et al, 2001).

D'autres méthodes mettent en œuvre des procédés immunologiques et immuno-enzymatiques tels que le Salmonella rapid test (*OXOID*) et le Dynabeads Salmonella (*DYNAL*) (Carlier et al, 2001) utilisant des particules magnétiques sur les quelles des anticorps spécifiques des salmonelles ont été fixés afin de capturer spécifiquement *Salmonella* spp. Ainsi que le système automatisé VIDAS (*Biomérieux*) largement utilisé par les laboratoires de diagnostic de routine. (Korsak et al, 2004).

CHAPITRE II : ESCHERICHIA COLI

II-1 : NOMENCLATURE

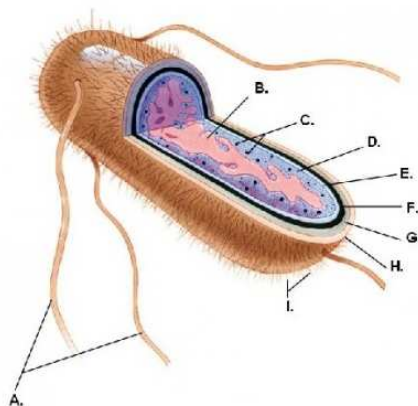
Le bactériologiste et pédiatre allemand Theodor Escherich décrit pour la première fois la bactérie *Escherichia coli* en 1885 suite à son isolement dans les fèces de nourrisson, elle fut appelée *Bacterium coli* Commune puis renommée en 1911 par Castellani et Chambers en l'honneur de son découvreur (Meng et Schroeder, 2007). Elle appartient à la famille des Enterobacteriaceae et représente l'organisme vivant le plus étudié à ce jour de part son ancienneté et sa culture aisée.

Le genre *Escherichia* regroupe six espèces : *E. albertii*, *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. (Grimont, 1987). *Escherichia coli* constitue l'espèce dominante de la flore aérobie de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud, le plus souvent à l'état commensal, certaines souches peuvent cependant être pathogènes, à l'origine de pathologies intestinales (Levine, 1987) ou extra-intestinales (Pohl, 1993).

II-2 : CARACTERISTIQUES BACTERIOLOGIQUES

II-2-1 : Caractères morphologiques :

E. coli est une bactérie Gram négatif, bacille droit mesurant 1,1-1,5 μm de large et 2,0 à 6,0 μm de long, Ils se présentent soit seuls ou groupés le plus souvent par deux (diplobacilles), plus rarement ils sont rencontrés en amas, le plus souvent mobile grâce à une ciliature péritriche, non acido-résistants, parfois capsulée et asporulée. (Meng et Schroeder, 2007).



- A : Flagelles
- B : Nucléotides
- C : Ribosomes
- D : Cytoplasme
- E : Membrane plasmique
- F : Espace périplasmique
- G : Paroi cellulaire
- H : Capsule
- I : Pili

Figure°19: Structure microscopique d'*Escherichia coli* (Anonyme, 2011)

II-2-3 : Caractères biochimiques:

Au sein de la famille des Enterobacteriaceae, l'espèce *Escherichia coli* est identifiée en pratique courante par les caractères Lactose +, Indole +, Uréase – , H₂S –, TDA –, VP – et LDC+. Certaines souches présentent un profil biochimique proche de celui de *Shigella*. Elles sont immobiles, agazogènes, parfois Lactose – et ONPG – (Bonnefoy et al, 2002).

Le tableau°6 présente les principaux critères biochimiques permettant, également, de différencier les espèces du genre *Escherichia*:

Tableau°6: Quelques critères biochimiques permettent de différencier les espèces du genre *Escherichia* (Grimont, 1987).

Caractéristiques	<i>E.coli non</i> <i>O157 :H7</i>	<i>E.coli</i> <i>O157 :H7</i>	<i>E. hermanii</i>	<i>E.vulneris</i>	<i>E.fergusonii</i>
Indole	+	+	+	-	+
Pigment jaune	-	-	+	(+)	-
LDC	(+)	(+)	-	+	+
ODC	+/-	+/-	+	-	+
β xylosidase	-	-	-	+	-
β glucuronidase	(+)	-	-	-	-
Sorbitol	+	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	+	-
Adonitol	-	-	-	-	+

(+), positif avec la majorité des souches ; +/-, positif ou négatif selon les souches; LDC, Lysine Décarboxylase ; ODC, Ornithine Décarboxylase

II-2-4 : Caractères antigéniques :

L'antigène somatique O, définissant le sérotype, est contenu dans les lipopolysaccharides (LPS) présents sur la paroi bactérienne des souches à Gram négatif. L'antigène flagellaire H est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle (cillature péritriche) permettant la mobilité de la bactérie. L'antigène K de surface qui est de type L, A ou B, il inhibe l'agglutinabilité de l'antigène O lorsqu'il est présent. (Pilet et al. 1983)

Les antigènes O :

L'antigène O contient un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 3 à 6 sucres dont la combinaison détermine la diversité des antigènes O, de nature lipopolysaccharidique très complexe. Plus de 170 types différents sont décrits (Bonney et al. 2002).

Il est possible de classer sérologiquement les souches de *E. coli* dans les groupes O au moyen d'immun-sérums spécifiques (Pilet et al. 1983). Cette sérotypie est la seule à être utilisée en routine, mais cette technique est limitée par le nombre de plus en plus élevé de sérums à fabriquer et par la présence d'agglutinations croisées entre les antigènes O de *E. coli*, *Shigella* et ceux de *Salmonella*. Des méthodes de sérotypage moléculaire reposant sur l'analyse de la diversité des antigènes O sont en perpétuel développement. (Weill et Filliol, 2008).

Les antigènes H :

Il en existe plus de 52, présents que chez les souches mobiles (Meng et Schroeder, 2007) et sont très difficiles à mettre en évidence. Ils ne sont pas utilisés pour l'identification des *Escherichia coli* pathogènes mais présentent un intérêt du point de vue épidémiologique. La diversité des antigènes H est due aux différents types de flagelline (la composante essentielle du flagelle), (Wang et al. 2003).

Une technique de sérotypage moléculaire a donc été également développée pour déterminer l'antigène H. L'antigène H est codé par le gène *fliC*. Les parties N et C terminales de la flagelline sont très conservées et c'est la partie médiane, plus variable, qui donne la spécificité de l'antigène H. Les *E. coli* immobiles possèdent également le gène *fliC* mais sont incapables de synthétiser un flagelle fonctionnel. Après amplification et restriction du gène *fliC*, il est possible de typer l'antigène H en comparant le profil obtenu à une base de données de profil-type. Par exemple, le profil *fliC* (noté F) portant le numéro F8, correspond au type H8 obtenu avec le sérum (Weill et Filliol, 2008).

Les antigènes K:

On distingue plus de 90 antigènes K de structure polysaccharidique : les souches les plus pathogènes, responsables notamment de méningites possèdent l'antigène K1.

On distingue trois types d'antigènes K désignés par les lettres **L**, **A** et **B** : (Pilet et al. 1983) :

a) **L'antigène L** : est le plus fréquent, c'est un antigène de surface. Il est thermolabile et détruit en 30 minutes à 100°C. Le chauffage par conséquent va provoquer une perte du pouvoir antigénique.

b) **L'Antigène A** : est beaucoup plus rare ; c'est un antigène capsulaire, rencontrés chez les *Escherichia coli*, responsables d'infections urinaires. Il est thermostable et n'est détruit que par autoclavage.

c) **L'Antigène B** : est rencontré chez les souches d'*Escherichia coli* responsable de gastro-entérite infantile. Il est thermolabile et détruit en 30 mn à 100°C. (Djelouat, 2011).

II-2-4 : Caractères culturels :

E.coli est une bactérie mésophile aéro-anaérobie facultative, pousse sur milieux usuels à 37°C en présence d'oxygène avec un temps de génération moyen de 20 mn environ (Leyral et Vierling, 2007). Sur gélose Hektoen, *Escherichia coli* présente des colonies circulaires de couleur jaune saumon, sur gélose EMB les colonies sont bombées de couleur violet foncé à reflet métallique (Richard, 1996).

.II-3 : DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

II-3-1: Habitat

Escherichia coli est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud et représente près de 80% de la microflore aérobie (Ghebru, 1988). Ainsi chez l'homme, son établissement dans le tube digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent l'accouchement (Wikipédia,2011) alors que chez la volaille, il peut se faire à l'éclosion de l'œuf par contamination fécale de la coquille ou chez le poussin nouvellement éclos par l'intermédiaire de l'aliment et la litière contaminés.

Le plus important réservoir des *E.coli* aviaires est le tractus digestif de l'animal dont 10-15% de la population colibacillaire appartiennent à des sérotypes potentiellement pathogènes. Chez le poulet les concentrations sont de l'ordre de 10^6 colibacille par gramme de matière fécale, les plus grandes concentrations sont retrouvées chez les animaux de moins de trois semaines, essentiellement au niveau du tractus digestif postérieur (Gross, 1994 ; Dho-Moulin et Fairbrother, 1999 ; Strodeur 2002).

La présence de colibacilles ou espèces voisines (les coliformes) dans l'eau est un témoin de contamination fécale. (Cohen Et Karib, 2006).

II-3-2: Sources de l'agent pathogène

Les sources d'*Escherichia coli* sont diverses, les animaux peuvent constituer un réservoir et la dissémination dans l'environnement provient essentiellement de contaminations fécales. Peuvent aussi être contaminé l'eau, les sous produits d'activités agroalimentaires et les aliments.

Le risque de contamination des denrées alimentaires d'origine animale est en fonction de l'importance du portage animal, mais également du respect des procédures d'hygiène appliquées notamment en abattoir et dans les ateliers de transformation. (Cohen Et Karib, 2006).

La bactérie peut ainsi se transmettre par l'intermédiaire des selles provenant de porteurs du germe de différentes manières notamment les mains sales, sa recherche dans l'aliment et l'eau témoigne d'une éventuelle contamination fécale

Les produits contaminés d'origine non animale tels que les fruits et légumes peuvent être une source de transmission de la bactérie. *E.coli* est facilement véhiculée par la poussière qui constitue une source importante de contamination en élevage, elle peut contenir jusqu'à 10^6 colibacilles par gramme (Stordeur et Mainil, 2002).

II-3-3 : Resistance aux différents facteurs

a) La température

La température optimale de croissance d'*Escherichia coli* est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°) mais peut pousser entre 15 et 45°C. La limite de croissance inférieure se situe aux environs de 7°C.

La congélation et la surgélation ont peu d'effet sur la population d'*E.coli* présents dans un aliment alors qu'une température supérieure à 70°C les détruit rapidement (Cohen Et Karib, 2006).

b) Le pH

Le pH optimum avoisine les 7,5, La croissance des *E. coli* est arrêtée à des pH extrêmes (<3,8 ou >9,5) (Cohen et Karib, 2006).

c) Activité de l'eau (A_w)

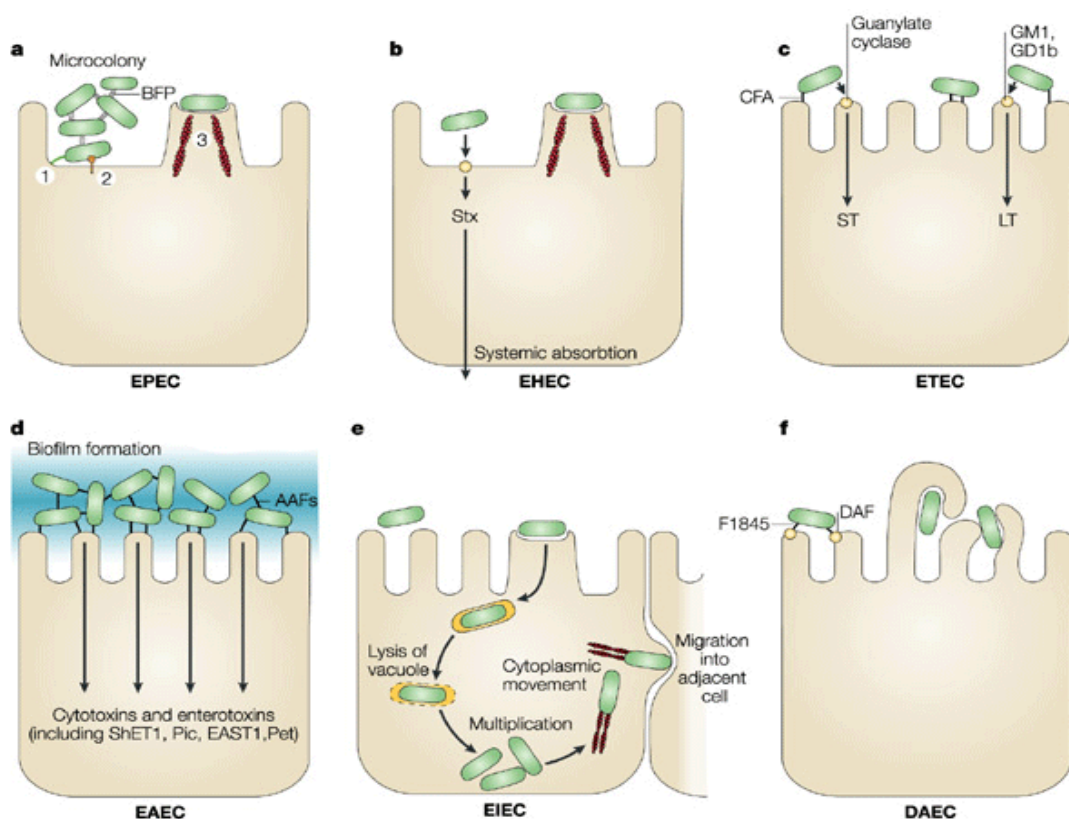
Les valeurs optimales pour leur croissance avoisinent les 0,94.

II-3-4: Pouvoir pathogène et virulence

Certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent être pathogènes et entraînent alors diverses manifestations telles que des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites ou des septicémies.

Chez l'homme, une classification basée sur la pathogénie et la symptomatologie des syndromes diarrhéiques permet de classer les *E.coli* en six « pathovars » ou « pathotypes » :

Les *E.coli* entéropathogènes ou EPEC qui furent les premiers décrits, les *E.coli* entérohémorragiques ou EHEC, les *E.coli* entérotoxigènes ou ETEC, les *E.coli* entéroinvasifs ou EIEC, les *E.coli* entéroaggrégatifs ou EAEC et les *E.coli* à adhésion diffuse ou DAEC (Kaper et al. 2004). Les différents modes d'actions de ces pathovars sont schématisés sur la figure°20.



Figure°20 : Modes d'actions des grands pathovars de la bactérie *Escherichia coli* induisant des diarrhées (Kaper et al. 2004)

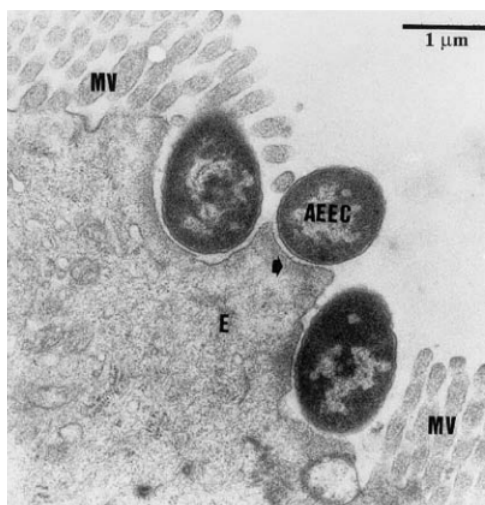
- *Les E.coli entéropathogènes ou EPEC*

Elles sont à l'origine de diarrhées sévères surtout chez l'enfant et rarement chez l'adulte, provoquant alors des épisodes diarrhéiques avec vomissements et fièvre nécessitant parfois une hospitalisation du patient avec ses symptômes pouvant se prolonger au delà de deux semaines (Cohen Et Karib, 2006).

Dans certains pays en voie de développement les EPEC sont responsables de 30 à 40% des cas de diarrhées infantiles, dépassant même parfois l'incidence des diarrhées à Rotavirus. Les principaux sérotypes impliqués sont O111-B4 et O119-B14 avec une fréquence importante du sérotype O111-B4 dans l'UE depuis quelques années (Loukiadis, 2007).

L'infection par les EPEC est caractérisée par l'apparition de lésions dites d'attachement-effacement ou A/E, celles-ci sont provoquées par l'adhésion intime des bactéries aux entérocytes. (Cohen Et Karib, 2006 ; Chahed et al, 2007).

La désorganisation du cytosquelette de la cellule hôte, combinée à l'accumulation d'actine polymérisée en regard de la zone d'adhésion de la bactérie, induit la destruction locale des microvillosités intestinales avec formation de piédestaux épousant la bactérie. Ces lésions résultent de l'action combinée de protéines codées par des gènes regroupés dans des îlots de pathogénicité « LEE » (Locus of enterocyte effacement). La Figure°21 illustre les points clés des lésions d'attachement-effacement (Chahed et al, 2007).



Les E. coli attachantes et effaçantes (AEEC) s'attachent intimement à l'entérocyte et effacent les microvillosités (MV) conduisant à l'accumulation d'actine et à la formation du piédestal (flèche)

Figure°21: La lésion d'attachement et d'effacement. (Chahed et al, 2007).

- *Les E. coli entérohémorragiques ou EHEC*

Décrites pour la première fois en 1982 suite à une épidémie survenue aux Etats-Unis après consommation d'hamburgers contaminés (Kaper et al. 2004).

Elles sont associées à des troubles variés allant de la simple diarrhée aqueuse à la colite hémorragique parfois accompagnée d'insuffisance rénale, syndrome hémolytique et urémique (SHU) chez l'enfant, purpura thrombotique et thrombocytopénique avec même parfois une atteinte du système nerveux central pouvant conduire à la mort du patient (Riley et al. 1983).

Les EHEC sont caractérisées par la production de toxines « STX » (Shiga like toxine) anciennement appelées « Vérotoxines » en raison de leur toxicité sur les cellules Véro.

Le changement d'appellation fait suite aux travaux d'O'Brien et al, qui démontrent que l'effet cytotoxique de ces Vérotoxines peut être neutralisé par un sérum dirigé contre la Shiga toxine chez les souches EHEC 0157 :H7 (O'Brien et al. 1982).

La toxine STX est codée par le gène *Stx* et est responsable de lésions de l'endothélium vasculaire au niveau rénal, intestinal et cérébral. Les souches possédant le gène *Stx* sont appelées « STEC » pour « Shiga like toxin producing *E.coli* » (Loukiadis, 2007).

Tout comme les EPEC, les EHEC sont capables d'induire des lésions d'A/E in vivo et possèdent aussi un locus d'effacement des entérocytes (Cohen Et Karib, 2006).

- *Les E. coli entérotoxinogènes ou ETEC*

Elles sont le plus souvent associées aux diarrhées du nourrisson et des enfants âgés de moins de trois ans, notamment dans les pays en voie de développement. Elles sont souvent décrites lors de diarrhées dites du « voyageur » ou « turista ».

Le processus pathogénique se fait par colonisation du grêle par des adhésines reconnaissant des oses ou des osamines composants de glycopéptides de la membrane cytoplasmique (Cohen Et Karib, 2006). Les ETEC peuvent produire des entérotoxine de type thermostable « ST » ou de type thermolabile « LT » (Loukiadis, 2007).

- *Les E. coli entéroinvasifs ou EIEC*

Les EIEC sont biochimiquement et génétiquement assez proches de *Shigella Spp* (Brenner et al, 1973) avec similitudes également au niveau de leur pathogénie, responsables de diarrhées aqueuses suivie d'une dysenterie avec selles muco-purulentes, accompagnée d'une forte fièvre, de crampes abdominales et de ténésmes. (Kaper et al, 2004).

Elles peuvent pénétrer dans les cellules épithéliales de la muqueuse colique, s'y multiplier avant de se déplacer à travers le cytoplasme de la cellule infectée pour gagner les cellules adjacentes. Cette invasion induit une mort entérocytaire avec réaction inflammatoire lorsque la bactérie atteint la lamina propria. La fuite hydro-électrique résulte de l'action de toxines cytotoxiques (Cohen Et Karib, 2006).

- *Les E. coli entéroaggrégatifs ou EAEC*

Les EAEC sont responsables de diarrhées avec selles aqueuses ou non formées persistant au-delà de 15 jours (Cohen Et Karib, 2006). Elles présentent un phénotype d'adhésion aux cellules Hep-2 (Human Epithelioma Pharynx n°2) proche de celui des EPEC mais formant des amas en brique. L'adhésion des EAEC à la muqueuse intestinale, le plus souvent colique, est à l'origine de nécroses au pôle apical des villosités avec œdème inflammatoire et hémorragique de la sous-muqueuse.

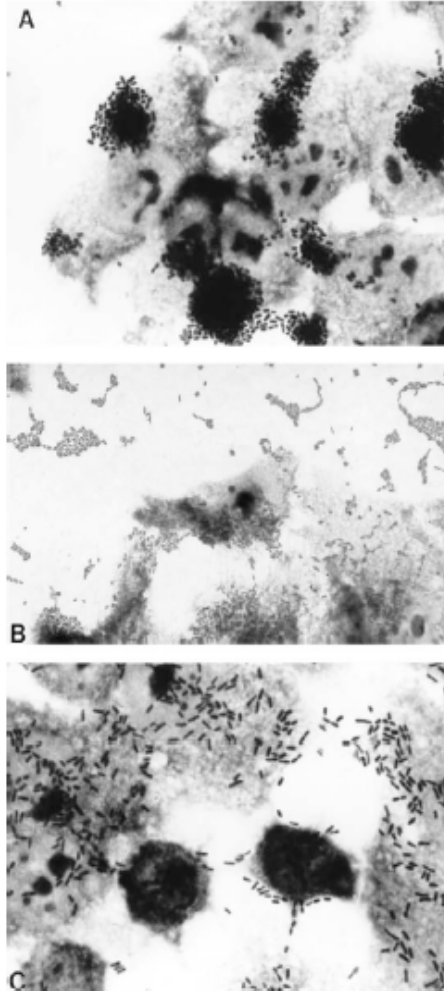
L'expression des facteurs de virulence des EAEC est codée par des gènes plasmidiques ou chromosomiques, dépendants de l'activateur de transcription *AggR*. Les souches dites « typiques » d'EAEC sont celles possédant ce gène *AggR* alors que celles n'ont possédant pas sont dites « atypiques » (Loukiadis, 2007).

- *Les E. coli à adhésion diffuse ou DAEC*

Les DAEC sont responsables de diarrhées pouvant persister de 8 à 15 jours avec fièvre et vomissements. (Cohen Et Karib, 2006).

Elles sont caractérisées par un mode d'adhésion aux cellules épithéliales Hep-2 de type « adhésion diffuse » grâce à l'expression d'une adhésine fimbriale et d'une protéine de membrane externe, induisant un effet cytopathique avec formation d'extensions cellulaires

s'enroulant autours de la bactérie et d'une intense réaction inflammatoire (Loukiadis, 2007). La figure°22 présente différents phénotypes d'adhésion des *E.coli* responsables de diarrhées permettant de définir les pathovars précédemment cités.



A. Les EPEC typiques adhèrent aux cellules en formant des micro-colonies : c'est le phénotypique d'adhésion localisée (LA « localized adherence »).

B. Les EAEC adhèrent aux cellules en formant des agrégats en « amas en brique » : c'est l'adhésion agrégative (AA « aggregative adherence »).

C. Les DAEC adhèrent à la surface cellulaire entière, avec une distribution diffuse : c'est l'adhésion diffuse (DA « diffuse adherence »).

Figure°22 : Phénotypes d'adhésion aux cellules épithéliales HEp-2 en culture des *E. coli* responsables de diarrhées chez l'homme et définition de différents pathovars (Nataro et Kaper, 1998).

Outre ces pathovars responsables d'infections intestinales, d'autres pathovars sont à l'origine d'infections extra-intestinales, comme les UPEC (pour « Uropathogenic *E. coli* »), responsables d'infections du tractus urinaire, les *E. coli* associés à des méningites (MNEC pour « Meningitis-associated *E. coli* ») ou à des septicémies. Ces souches ont récemment été regroupées sous le terme de ExPEC (pour « Extra-intestinal pathogenic *E. coli* » (Wikipédia, 2011).

II-3-5 : Facteurs de virulence mis en jeu

De nombreux facteurs interviennent dans le pouvoir pathogène des *E.coli* et sont à l'origine de troubles variés :

a) Les adhésines

Les souches d'*E.coli* pathogènes mettent en jeu des facteurs d'adhésion leur permettant de coloniser des sites où elles ne sont pas présentes normalement comme l'urètre. L'adhérence constitue une étape essentielle de la pathogenèse des infections dues aux bactéries entériques. Les adhésines confèrent aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales.

- **Les adhésines fimbriales** : les fimbriae disposées tout autour de la bactérie portent des adhésines se fixant de manière spécifique à un récepteur cellulaire.
- **L'intimine** : protéine de la membrane externe codée par le gène chromosomique jouant un rôle important dans l'attachement des *E.coli*.

Après une première adhésion lâche des pili, un signal de transduction provoque la phosphorylation des protéines des cellules hôtes avec augmentation de la concentration intracellulaire du calcium et du dinositol-triphosphate causant l'effacement des microvillosités. (Cohen Et Karib, 2006).

b) Les toxines

Selon des caractéristiques structurales, biochimiques ainsi que le mode d'action, les entérotoxines protéiques furent classées en deux groupes :

Premier groupe : les entérotoxines cytotoniques touchent les cellules épithéliales intestinales pour en altérer les fonctions sécrétoires, d'où la manifestation d'une diarrhée non inflammatoire et d'une déshydratante induite par la toxine produite par les ETEC.

Deuxième groupe : les entérotoxines cytotoxiques agissent sur l'épithélium intestinal avec des dommages histologiques importants, telles que les STX produites par les EHEC.

Certains facteurs tels que la réponse spécifique de l'hôte à la toxine peut rendre difficile le classement d'une toxine dans un de ces deux groupes (Cohen Et Karib, 2006).

c) Les enzymes

L'entérohémolysine est produite par 90% des EHEC en fin de croissance bactérienne et agit en formant des pores dans la membrane de la cellule. L'alpha-hémolysine quant à elle est fréquente pour des souches uropathogènes ou d'autres infections extra-intestinales chez l'homme. Elle est produite très tôt pendant la croissance bactérienne et est aussi à l'origine de formation de pores induisant une fuite ionique puis éclatement de la cellule (Cohen Et Karib, 2006).

d) Système de captation du fer

E.coli produit des sidérophores (entérobactine ou aéro bactéine), retrouvés également dans le milieu permettant de capter le fer libre indispensable à la multiplication bactérienne. Les récepteurs cellulaires des sidérophores chargés sont les protéines de la membrane externe, qui sont aussi des récepteurs de phages (Mainil, 2003).

e) Résistance au sérum

La résistance à l'effet bactéricide du sérum est possible grâce à plusieurs structures bactériennes telles que la capsule qui s'oppose à la phagocytose ou le LPS qui empêche la fixation du complément (Stordeur Et Mainil, 2002).

II-4 : ASPECT CLINIQUE

II-4-1 : Colibacillose aviaire

Un certain nombre d'*E.coli* appelées APEC pour Avian Pathogenic *E.coli* et appartenant à des sérotypes bien particuliers sont associés à un syndrome de colibacillose surtout chez le poulet de chair. La présence de fimbriae de type P est significativement plus fréquente chez les souches isolées de poulets septicémiques que chez des souches isolées de poulets sains (Stordeur et Mainil, 2002).

La colibacillose aviaire est le plus souvent considérée comme une infection secondaire mais constitue l'un des motifs de saisie les plus fréquents à l'abattoir induisant des pertes économiques importantes.

La voie d'entrée principale étant le tractus respiratoire par l'inhalation de particules de poussières contaminées par des *E.coli* excrétées du tractus digestif. Les manifestations et lésions engendrées sont variables selon l'âge de l'animal (Stordeur et Mainil, 2002).

Parmi les pathologies rencontrées lors de colibacillose, nous pouvons citer :

a) Mortalités embryonnaires et du jeune poussin

La contamination de l'œuf se fait essentiellement lors de la ponte, par les fèces lors du passage de l'œuf dans le cloaque. Les bactéries pénètrent à travers les membranes coquillières pour contaminer la membrane vitelline.

Les œufs contaminés présentent une coquille de mauvaise qualité, plus chauds avec une surface humide, les mortalités apparaissent peu avant l'éclosion et se poursuivent pendant une période de 3 semaines.

Les poussins peuvent présenter des lésions d'omphalite, après 3 semaines ils présentent bien souvent des lésions de péricardite alors que parfois, la seule manifestation de la maladie est la diminution du gain quotidien moyen (Guerin et Boissieu, 2008).

b) Complexe respiratoire chronique

Cette maladie est la principale manifestation de la colibacillose, elle touche les animaux de deux à douze (2-12) semaines avec des pertes importantes entre quatre et neuf (4-9) semaines. Le taux de mortalité varie de 30 à 50% avec un taux de morbidité pouvant dépasser les 50%.

D'importantes pertes économiques sont enregistrées du fait des retards de croissance, des saisis à l'abattoir et de l'augmentation du coefficient alimentaire.

L'infection par les *E.coli* est secondaire et se fait par voie respiratoire, s'ensuit une baisse de la consommation alimentaire, de l'hyperthermie et de l'abattement avec signes de détresse respiratoire.

Les lésions observées concernent principalement les sacs aériens (aérosacculite avec perte de l'aspect transparent, épaissement et aspect congestif), le cœur (péricardite), le foie (périhépatite) et le péritoine.

c) Swollen Head Disease

Cette maladie est associée à une inflammation aigüe à subaigüe des cellules de la peau et du tissu sous cutané de la tête et des régions périorbitaires.

La colonisation des tissus par les colibacilles est secondaire à une infection par des agents prédisposant comme les virus (Pneumovirus, Coronavirus) ou à des teneurs élevées en ammoniac.

Les lésions observées sont un œdème de la tête et de la région périorbitaire, un exsudat caséux dans le tissu conjonctif de la tête, de la région périorbitaire et des glandes lacrymales.

Même si la morbidité est faible (1%), les retards de croissance résultant de l'infection sont à l'origine de pertes économiques importantes.

d) Hjarres's disease

Hjarres's disease ou Granulome à *E.coli*, est une maladie touchant l'adulte et à mortalité sporadique mais pouvant atteindre 75% dans certains lots. Des granulomes apparaissent dans le foie, le caecum, le duodénum et le mésentère, avec très peu de symptômes. La rupture des granulomes est à l'origine d'une mort subite. En plus de ces maladies, il existe d'autres manifestations de la colibacillose telles que des ovarites, des salpingites et des dermatites nécrotiques.

II-4-2 : Diagnostic

En présence de lésions évoquant la colibacillose, seul un isolement et une identification de l'agent pathogène permettent de confirmer le diagnostic.

Lors de la réalisation des prélèvements, il est nécessaire d'éviter toute contamination par le contenu intestinal, le typage de l'isolat est nécessaire, mais ne permet pas toujours de conclure sur la pathogénicité de la souche identifiée.

Le diagnostic différentiel se fait essentiellement avec des pathologies pouvant imiter la manifestation de la colibacillose, comme : la pasteurellose, la salmonellose, le coryza infectieux, la variole aviaire, les mycoplasmoses ou tuberculose dans le cas de la maladie de Hjärre. (Guerin et Boissieu, 2008).

II-4-3 : Traitement

Le traitement est essentiellement basé sur l'antibiothérapie et l'antibiogramme est nécessaire du fait des nombreuses antibiorésistances observées.

Si le choix est possible, il est préférable d'utiliser des molécules comme les quinolones par voie orale (Acide Nalixidique, Acide Oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacin), les lincosamides par voie orale, les aminosides par voie parentérale, les β -lactamines par voie orale, et les tétracyclines.

Certains antibiotiques, comme les aminosides, la colistine, la spectinomycine ou la framycétine, ne franchissent pas la barrière intestinale : ils sont donc inactifs lorsqu'ils sont administrés par voie orale sur les colibacilloses systémiques (Guerin et Boissieu, 2008).

Des traitements alternatifs existent, également, comme l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes (Stordeur et Mainil, 2002).

II-4-4 : Prophylaxie

La prophylaxie vise à maîtriser les facteurs de risques en limitant les sources de contamination (alimentation, conditions environnementales ou plus globalement respect des règles de biosécurité). La prévention médicale peut également faire appel à des vaccins inactivés administrés aux reproducteurs, pour protéger les jeunes poussins avec les anticorps d'origine maternelle (Guerin et Boissieu, 2008).

II.5 : METHODES DE DETECTION DANS LES DENREES ALIMENTAIRES

II-5-1 : Techniques classiques :

Pour dénombrer les bactéries, l'analyse microbiologique classique des aliments nécessite une phase de revivification grâce à la réalisation d'une suspension mère dans laquelle l'échantillon est généralement dilué au dixième (ex: 10g d'aliment dans 90ml d'eau peptonnée tamponnée). La deuxième étape consiste en une mise en culture sur les milieux gélosés sélectifs. Plusieurs types de milieux peuvent être utilisés, ces milieux doivent permettre au personnel de laboratoire de distinguer facilement les colonies de coliformes sur géloses VRBL, Mc Conkey ou d' *E. coli* sur milieux TBX, rapid *E.coli* ou coli ID.

L'étape de confirmation consiste en leur caractérisation biochimique, moléculaire et sérologique. Pour les *E. coli* pathogènes les techniques d'identification sont différentes de celles destinées à cultiver les *E. coli* indicateurs de contamination fécale et consistent pour la recherche des EHEC à l'utilisation de la gélose Mac Conkey au Sorbitol + BCIG (EHEC sont sorbitol et β -glucuronidase négatives) et la méthode de séparation magnétique. (Cohen et Karib, 2006).

Plusieurs normes microbiologiques sont disponibles pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* dans les denrées alimentaires, parmi elles, la norme ISO-16649-2/2001 est la norme horizontale pour le dénombrement des *E.coli* β -glucuronidase positives à 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronate. Elle présente l'avantage de fournir les résultats en 24h sans nécessiter de phase de confirmation biochimique.

a) Principe de la méthode

La gélose TBX (Tryptone, Bile, X-Glu) est un milieu sélectif permettant un isolement et une énumération rapide des *E.coli*, son principe repose sur la combinaison de sels biliaires inhibant la croissance des microorganismes à Gram positif et favorisant la récupération des *Escherichia coli* ainsi que d'un substrat chromogène, le BCIG (acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronique). La plupart des souches d'*Escherichia coli*, possédant une β -D-glucuronidase, agissent par clivage du BCIG, entraînant la coloration des colonies en bleu selon le mécanisme réactionnel présenté sur la figure°23.

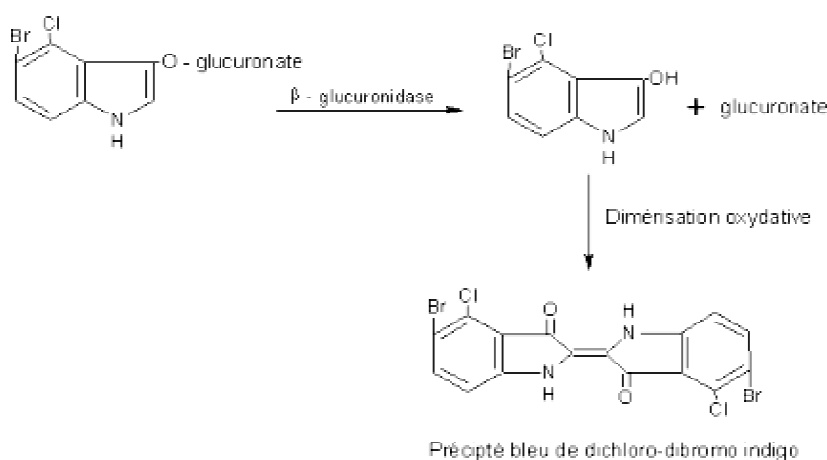
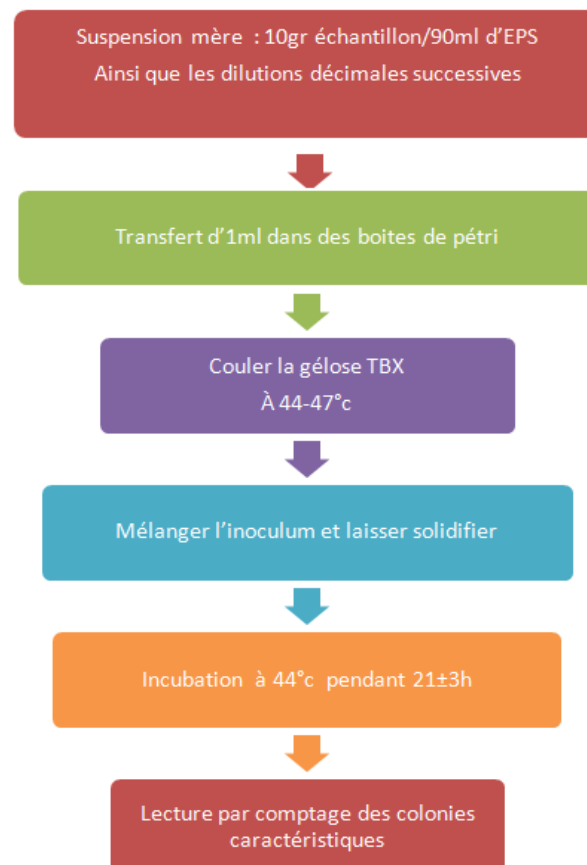


Figure °23: Principe réactionnel de la méthode d'isolement sur gélose TBX (Biokar Diagnostic, 2010).

b) Protocole

Afin d'obtenir une suspension-mère diluée au dixième, 10gr d'un mélange de peau et de muscle du bréchet sont mélangés avec 90ml d'eau physiologique stérile dans un sac stomacher. L'échantillon est ensuite broyé et homogénéisé dans un broyeur de type Stomacher et des dilutions décimales successives sont ensuite réalisées.

Des prises de un millilitre du produit à analyser et de sa dilution sont transférées dans des boîtes de Pétri stériles. La gélose TBX est fondue puis refroidie à une température variant entre 44 et 47°C et 15ml sont coulés en simple couche afin d'améliorer la lisibilité et la praticabilité. La boîte est ensuite homogénéisée délicatement puis incubée à 44°C pendant 24 heures tel qu'expliqué dans la figure °24.



Figure°24 : Protocole d'isolement et de dénombrement d'*Escherichia coli*
(Schéma personnel)

c) Lecture

Le dénombrement d'*Escherichia coli* est réalisé par comptage des colonies bleues caractéristiques dans les boîtes en contenant moins de 150. Par ailleurs, celles-ci doivent contenir moins de 300 colonies caractéristiques et non caractéristiques au total.

Les colonies non caractéristiques présentent des colonies blanches à beige vert sur le milieu TBX (Figure °25).

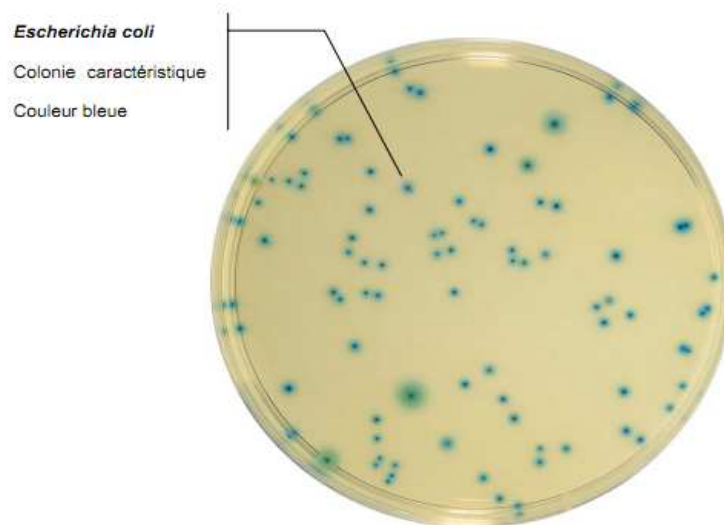


Figure °25: Aspect des colonies caractéristiques d'*Escherichia coli* sur gélose TBX
(Biokar Diagnostic, 2010)

II-5-2 : Nouvelles techniques de détection d'*Escherichia coli*:

De nombreuses méthodes immunologiques permettent de détecter *E. coli* O157:H7 dans l'aliment. Ces méthodes ne recherchent souvent que l'antigène somatique O157 et nécessitent une étape de confirmation après isolement et caractérisation biochimique et sérologique de la bactérie cible. Deux méthodes sont validées AFNOR pour la détection de *E. coli* O157:H7 dans l'aliment. L'une utilise l'immuno-séparation magnétique (*IMS - Dynal*), l'autre l'automate VIDAS (*BioMérieux*). (Cohen et Karib, 2006 ; Anonyme, 2001).

Des méthodes génétiques de détection des EHEC consistent en la détection des gènes *Stx* codant les vérotoxines, soit directement sur le génome total (hybridation de sondes ADN), soit après amplification d'une partie des gènes recherchés (PCR).

Il est possible aussi de détecter des gènes spécifiques du sérotype O157 :H7 : le gène *uidA* (gène codant la β -glucuronidase), le gène *fliC* (gène codant la flagelline de H7) ou du gène *rbfE* (gène codant l'antigène O157). (Cohen et Karib, 2006 ; Anonyme, 2001).

I. Objectif de l'étude

Notre travail a consisté en la recherche de *Salmonella* et *Escherichia coli* dans les carcasses de poulets destinées à la consommation, à leur identification et à la détermination de leurs sensibilités aux agents antimicrobiens par les méthodes microbiologiques.

II. Echantillonnage

II.1. Nature des échantillons et lieux de prélèvements

Dans la présente étude, la recherche des bactéries a été réalisée à partir de 57 échantillons représentés par des carcasses de poulets prélevées au niveau de boucheries de six communes du centre ville d'Alger. La répartition des échantillons effectués selon les lieux de prélèvements est présentée dans le tableau°7.

Le choix de ces communes a été fortement influencé par la proximité de ces dernières, limitant ainsi les trajets et permettant d'effectuer les prélèvements le matin même pour être directement acheminés au laboratoire de microbiologie et d'hygiène alimentaire de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach (ENSV), où sont réalisées les analyses.

Il est à souligner que les échantillons positifs pour la recherche des salmonelles ont fait l'objet d'un sérotypage au niveau du laboratoire de l'institut Pasteur d'Algérie.

Tableau° 7: Répartition des échantillons effectués selon les lieux de prélèvements

Numéro de lot	Nombre d'échantillons (n)	Lieux de prélèvements
1	10	Hydra
2	10	1 ^{er} Mai
3	10	Ben Aknoun
4	10	El Biar
5	10	Draria
6	7	Alger Centre

II.2. Méthode d'échantillonnage

Les prélèvements ont été effectués au niveau des boucheries et détaillants choisis de manière aléatoire, à raison de 10 poulets prélevés le même jour pour chaque zone, à l'exception de la zone d'Alger centre où seulement 7 échantillons ont été collectés.

Les carcasses ont été immédiatement déposées au frais dans une glacière afin de conserver au mieux la charge bactérienne initiale, puis directement acheminées au laboratoire de microbiologie et d'hygiène alimentaire de l'ENSV.

III. Analyses microbiologiques

III.1. Milieux de culture

La liste ainsi que la composition des milieux de culture, bouillons et réactifs utilisés est présentée en annexe.

III.2. Protocoles de recherche des salmonelles et *E coli*

Une fois arrivés au laboratoire, les échantillons recueillis sont directement traités pour la recherche de salmonelles et d'*Escherichia coli*.

III.2.1 Prélèvements

Des prélèvements de peau et de muscle ont été effectués au niveau de la zone du bréchet tel que schématisé sur la figure°26, à raison de 25gr pour la recherche de salmonelles et 10gr pour la recherche d'*Escherichia coli*.



Figure°26: Schématisation de la zone de prélèvement des échantillons de peau et de muscle au niveau du bréchet.

III.2.2. Recherche et isolements des salmonelles

Pour l'isolement des salmonelles, nous avons adopté la méthode directe de bactériologie classique. La disponibilité des différents milieux nous a mené à établir un protocole de recherche et d'isolement des salmonelles en référence aux normes ISO-6579 :2002 et NF V 08-052 :1998 comportant des phases de pré-enrichissement, d'enrichissement, d'isolement et de confirmation schématisées par la figure°9 (voir page 34)..

III.2.3. Recherche, isolement et dénombrement des *Escherichia coli*

Pour la recherche, l'isolement ainsi que le dénombrement d'*Escherichia coli*, nous avons opté pour une méthode dite rapide par l'utilisation d'une gélose chromogénique « TBX » permettant la mise en évidence des *Escherichia coli* β -D-glucuronidase positive dans les produits alimentaires. Nous avons retenu la dilution 10^{-2} qui nous a permis de réaliser aisément le dénombrement. Le protocole de dénombrement des *E.Coli* est présenté dans la figure°24 (voir page 58).

Toutes les souches d'*Escherichia coli* obtenues sur gélose TBX, ont fait l'objet d'une purification sur gélose Hektoen, afin de procéder d'une part à une confirmation biochimique sur galerie Api20E, et d'autre part, afin d'obtenir des cultures pures pour la réalisation d'un antibiogramme.

III.3. Test de sensibilité aux antibiotiques – antibiogramme-

L'antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne donnant ainsi des indications sur l'efficacité *in vitro* de ces antibiotiques.

Pour la réalisation des antibiogrammes des souches de *Salmonella* et d'*Escherichia coli*, nous avons opté pour la méthode standard en milieu gélosé dite méthode des disques.

III.3.1. Principe

La culture bactérienne estensemencée à la surface de la gélose de Mueller-Hinton, des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à sa surface. L'antibiotique diffuse à partir du disque en créant un gradient de concentration. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une évaluation de la sensibilité ou de la résistance de la souche bactérienne aux différentes molécules testées.

III.3.2. Technique

Un inoculum est préparé à partir d'une colonie obtenue sur une culture pure âgée de 18 à 24h et mélangées dans 5ml d'eau physiologique stérile. La suspension est ensuite homogénéisée au vortex avec une opacité de 0,5 Mac Farland.

Nous avons opté pour la technique d'écouvillonnage afin de limiter les contaminations dues aux aérosols lors de l'utilisation de la technique par inondation.

Un écouvillon stérile est imbibé de suspension bactérienne et l'excès est éliminé en le pressant légèrement et en le faisant rouler sur la paroi du tube. L'ensemencement est effectué en stries serrées sur toute la surface de la gélose à trois reprises, en dessinant à chaque fois un sens différent afin que toute la surface gélosée soit recouverte.

L'écouvillon est ensuite passé sur le bord de la boîte, cette dernière est séchée à couvert pendant quelques minutes à température ambiante.

Les disques d'antibiotiques sont ensuite déposés à l'aide d'une pince stérile en appuyant légèrement afin qu'il adhère à la gélose. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 16 à 18h, le protocole de l'antibiogramme est schématisé sur la figure°27.

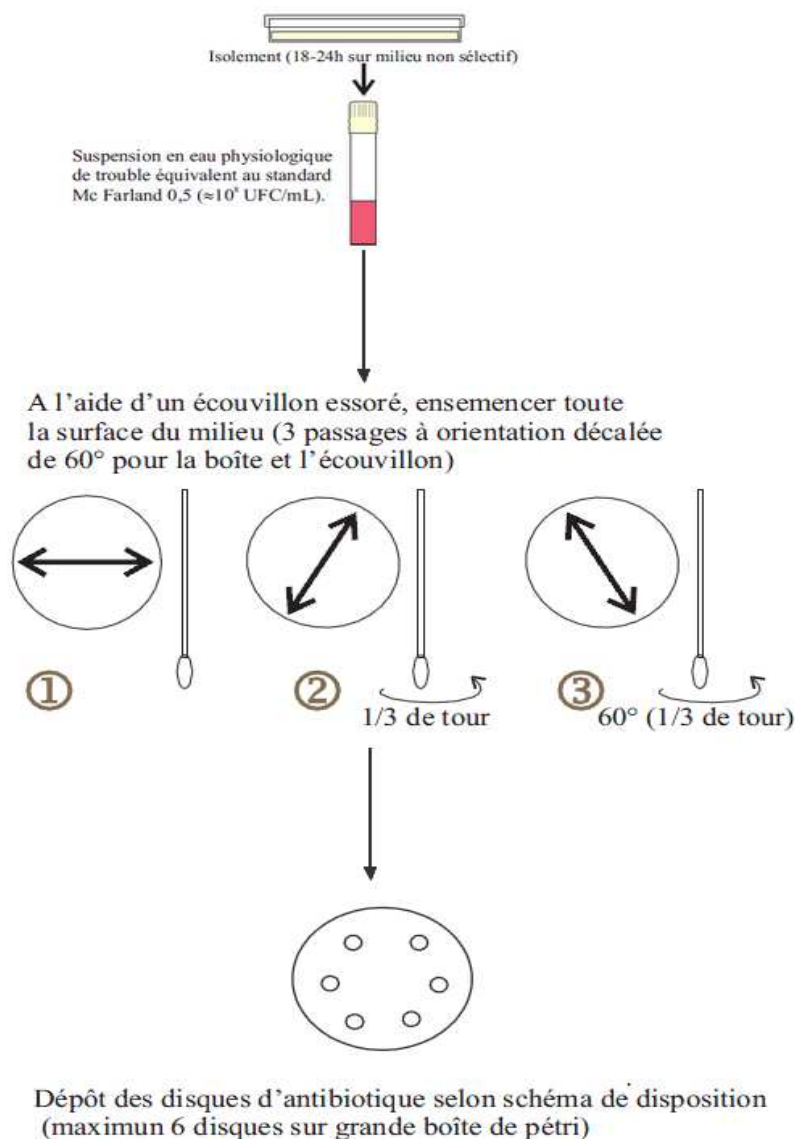


Figure °27: Protocole de réalisation d'un antibiogramme (Moreda,2007).

Le choix des antibiotiques testés a été conditionné par leur disponibilité et leur utilisation sur le terrain. L'antibiogramme a été réalisé avec dix antibiotiques de différentes familles, la classification des différents antibiotiques est présentée dans le tableau° 18 en annexe. Le tableau°8 présente les différentes charges d'antibiotiques utilisées.

Tableau°8: Types d'antibiotiques et charge des disques utilisés pour l'antibiogramme

Type d'antibiotique	Charge du disque
Ampicilline	10 mcg
Amoxicilline	25 mcg
Amoxicilline+Acide clavulanique	20/10 mcg
Chloramphénicol	30 mcg
Céfotaxime	30 mcg
Ciprofloxacine	5 mcg
Gentamycine	10 mcg
Erythromycine	15 mcg
Acide Nalidixique	30 mcg
Tétracyclines	30 mcg

III.3.3. Lecture

Pour chaque antibiotique, le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré avec précision. Ces données sont ensuite comparées aux valeurs critiques figurant dans des tableaux d'interprétation dont un exemple est présenté dans le tableau°17 en annexe.

Ceci nous permet de déterminer la catégorie de la bactérie vis à vis de chaque antibiotique testé, qu'elle soit classée en sensible, intermédiaire ou résistante.

Ce travail a permis, après évaluation de la contamination de carcasses de poulets destinées à la consommation par les salmonelles et les *Escherichia coli*, de procéder à l'identification de ces bactéries et enfin à la détermination de leur sensibilité aux agents antimicrobiens.

I. RECHERCHE DES SALMONELLES

I.1. Isolement et identification

La recherche de salmonelles réalisée sur un total de 57 échantillons de carcasses de poulet de chair (prélèvement de peau et de muscle du bréchet), prélevées au niveau de six zones du centre d'Alger, nous a permis d'isoler 5 souches de salmonelles soit une prévalence de 8,8%. La répartition des échantillons positifs est représentée dans les Tableaux °9 et °10 et la Figure°28.

Tableau °9 : Résultats de la recherche de salmonelles (n=57)

Zone d'échantillonnage	Recherche de <i>Salmonella</i>			
	Négative	Positive	Total	%
Hydra	10	00	10	00
Ben Aknoun	10	00	10	00
Alger Centre	07	00	07	00
El Biar	09	01	10	10
1 ^{er} Mai	08	02	10	20
Draria	08	02	10	20
Total et %	52	05	57	8,8

Trois zones ont présenté des résultats négatifs (Hydra, Ben Aknoun et Alger Centre). En revanche, les échantillons prélevés au niveau d'El Biar, du 1^{er} Mai et de Draria ont permis d'isoler cinq souches, réparties au nombre de 01 pour la première zone et de 02 pour chacune des deux dernières (Figure°28).

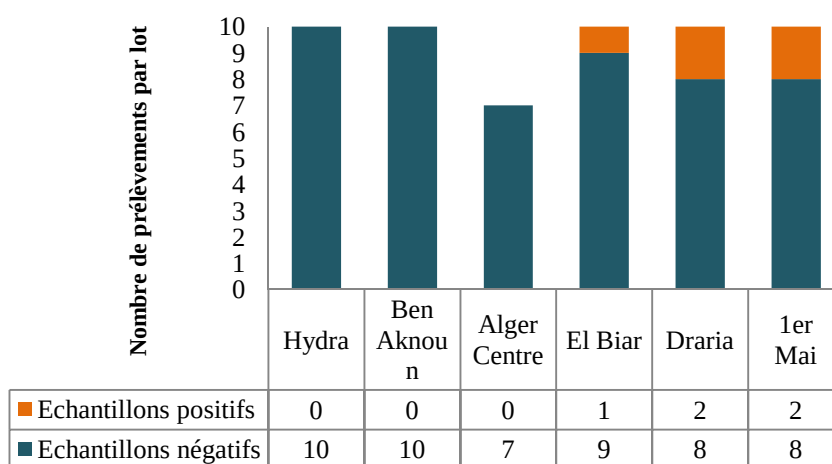


Figure °28: Répartition des échantillons positifs et négatifs selon les communes prélevées (n= 57).

Sur gélose Hektoen, les colonies obtenues étaient rondes, à bords réguliers de coloration bleu-vert avec un centre noir (Figures °29 et °30):



Figure° 29 : Résultat de l'isolement de *Salmonella* sur gélose Hektoen pour l'échantillon prélevé au niveau de la zone du 1^{er} Mai (photo personnelle)

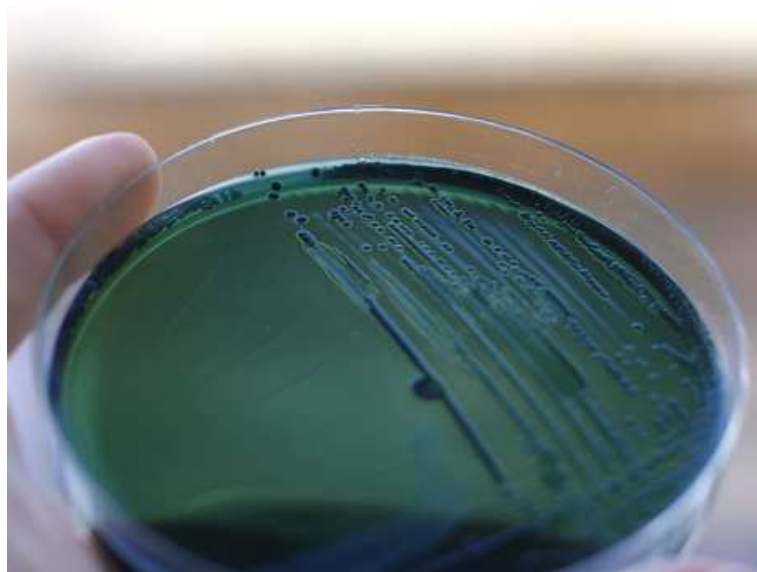


Figure ° 30: Résultat de l'isolement de *Salmonella* sur gélose Hektoen pour l'échantillon prélevé au niveau de la zone de Draria (photo personnelle)

Après isolement, la confirmation des colonies suspectes a été réalisée à la fois sur gélose TSI et sur galerie API20E. La Figure °31 montre l'aspect des tubes TSI lors de l'étape de confirmation pour les deux échantillons prélevés au niveau de la zone du 1^{er} Mai.



Figure° 31: Résultats lors de la confirmation des échantillons prélevés au niveau de la zone du 1^{er} Mai sur tubes TSI (Photo personnelle)

Le profil biochimique des échantillons a été réalisé sur galerie Api20E, en se basant sur le code couleur des différentes réactions. Les résultats positifs (+) et négatifs (-) sont inscrits sur la fiche fournie dans le kit, et le profil numérique obtenu est reporté sur le logiciel APIweb permettant de déterminer le type de bactérie isolé. La figure° 32 illustre le résultat de l'échantillon positif prélevé au niveau de la zone d'El Biar, avec une identification qualifiée d'excellente pour le profil bactérien obtenu.



Figure °32 : Interprétation des résultats obtenus sur galerie API20E pour l'échantillon prélevé à El Biar (Photos personnelles)

Les tests sérologiques réalisés au niveau de l'Institut Pasteur d'Algérie ont permis de confirmer les échantillons positifs. La répartition des sérotypes est représentée sur le tableau° 11.

Tableau° 11 : Résultats des sérotypages réalisés sur les cinq souches isolées

Numéro de l'échantillon positif	Zone	Sérotype
13	1 ^{er} Mai	<i>Kentucky</i>
20	1 ^{er} Mai	<i>Kentucky</i>
36	El Biar	<i>Virchow</i>
42	Draria	<i>Virchow</i>
48	Draria	<i>Virchow</i>

Sur les cinq échantillons positifs pour la recherche de salmonelles (Tableau°9), le sérotypage a permis de mettre en évidence deux sérotypes. Ainsi, le sérotype *Kentucky* est retrouvé au niveau des deux échantillons positifs prélevés dans la zone du 1^{er} Mai et le sérotype *Virchow* au niveau des prélèvements opérés dans les trois autres zones.

I.2. Antibiogramme

Les cinq souches de *Salmonella* isolées, ont fait l'objet d'un antibiogramme afin de tester leur sensibilité aux dix antibiotiques cités plus haut, les résultats sont représentés dans le tableau°12.

Tableau° 12 : Résultats de l'antibiogramme réalisé sur les cinq souches de *Salmonella* isolées

Echantillon	Zone	AM	AMC	AMX	CHL	C	CIP	GM	ERY	NA	TE
<i>S.Kentucky</i>	1 ^{er} Mai	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R
<i>S.Kentucky</i>	1 ^{er} Mai	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R
<i>S. Virchow</i>	El Biar	S	R	R	S	S	S	S	R	S	R
<i>S. Virchow</i>	Draria	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>S. Virchow</i>	Draria	S	S	S	S	S	S	S	R	S	I

Abréviations du tableau°12 : AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline+Acide clavulanique, AMX : Amoxicilline, CHL : Chloramphénicol, C : Céfotaxime, CIP : Ciprofloxacine, GM : Gentamycine, ERY : Erythromycine, NA : Acide nalidixique, TE : Tétracyclines.
S : Sensible, R : Résistant, I : intermédiaire.

Les résultats obtenus révèlent que les deux salmonelles de sérotype *Kentucky* présentent une résistance à au moins 07 sur les 10 antibiotiques testés. Toutefois un des échantillons prélevés dans la zone du 1^{er} Mai, présente une résistance supplémentaire au chloramphénicol (CHL).

Les salmonelles de sérotype *Virchow* sont sensibles à pratiquement tous les antibiotiques testés à l'exception de l'Erythromycine. Notons que seul l'échantillon prélevé au niveau d'El Biar présente une résistance à quatre molécules (AMC, AMX, ERY et TE).

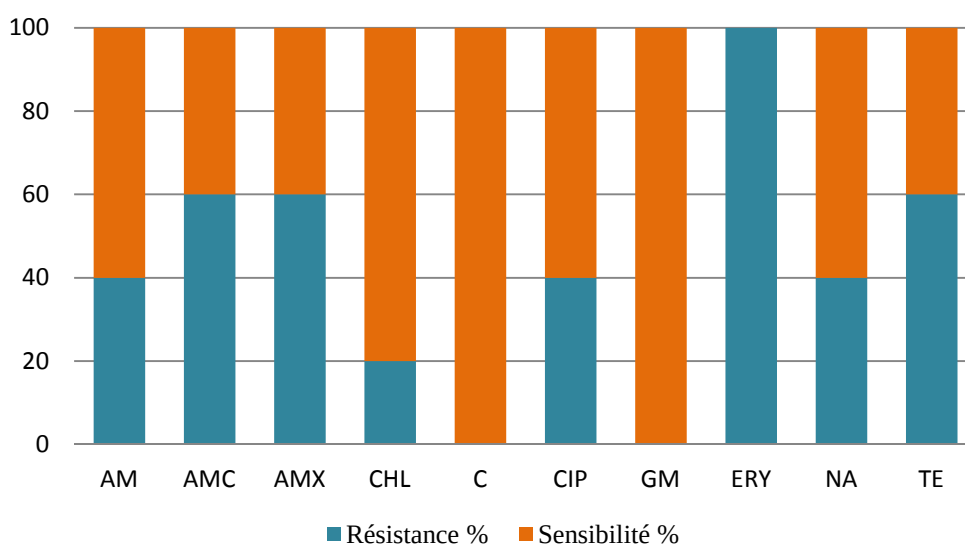


Figure ° 33: Pourcentage des souches isolées de salmonelles résistantes et sensibles aux antibiotiques

La figure n° 33 montre clairement que toutes les salmonelles isolées sont sensibles à la GM et à la C (sensibilité de 100%), suivies par le CHL (sensibilité de 80%) puis par les AM, CIP et NA (sensibilité moyenne de 60%). Les résistances les plus élevées concernent en premier l'ERY (résistance de 100%) puis celles de l'AMC, l'AMX et les TE avec une résistance moyenne de 60%.

II. RECHERCHE ET DENOMBREMENT DES *ESCHERICHIA COLI*

II.1. Isolement et dénombrement

Le dénombrement d'*Escherichia coli* réalisé sur un total de 57 échantillons de peau et de muscle du bréchet nous a permis d'obtenir les résultats suivants (Tableaux 13 et 14).

Tableau° 13 : Résultats des dénombrements d'*Escherichia coli* (n=57)

Zone de prélèvements	n	10 ⁴ UFC/g	CV
1er Mai	10	1,8±0,8	46,6
Ben Aknoun	10	1,9±1,1	56,8
Alger Centre	7	2,5±1,1	46,3
Hydra	10	2,8±1,5	53,6
El Biar	9*	2,9±1,6	54,2
Draria	8**	3,8±3,2	85,4
Moyenne générale	54	2,6±1,8	68,4

*et ** : 1 et 2 échantillons ont une charge bactérienne indénombrable

Cv coefficient de variation

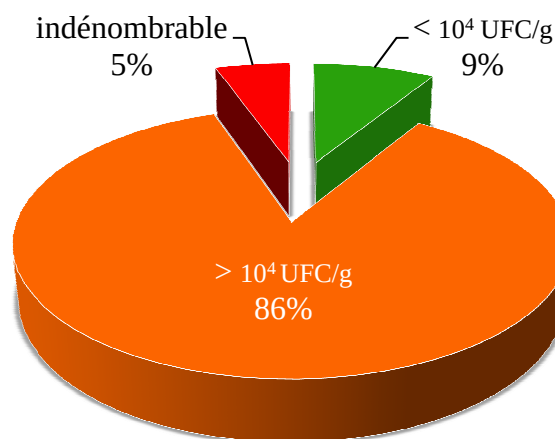
Selon les tableaux 13 et 14 nous obtenons une moyenne de dénombrement de 2,6±1,8 UFC/g avec un étalement de 0,5 à 9,6 *10⁴ UFC/g représentant un coefficient de variation de 68,4%, avec toutefois trois échantillons indénombrables.

Le tableau °13 montre que les prélèvements réalisés au niveau de la région de Draria présentent le dénombrement moyen de *E.coli* le plus élevé : 3,8 * 10⁴ UFC/g (sans compter les 02 échantillons jugés indénombrables).

Les régions d'El Biar, d'Hydra et d'Alger Centre présentent respectivement des dénombrements estimés à 2,9* 10⁴ UFC/g; 2,77 * 10⁴ UFC/g et 2,46 * 10⁴ UFC/g. Toutefois, les lots d'échantillons présentant les dénombrements moyens les plus bas proviennent des zones de Ben Aknoun et du 1^{er} mai : respectivement 1,92 * 10⁴ UFC/g et 1,76 * 10⁴ UFC/g.

Se basant sur les valeurs seuils déterminées par l'arrêté interministériel (24 janvier 1998) ainsi que des normes microbiologiques précisées par le manuel de la FIA (Fédération des industries avicoles, 2007), le dénombrement d'*Escherichia coli* a permis de révéler que seuls cinq échantillons (soit 9%) présentaient des résultats inférieurs à la limite autorisée.

Alors que 49 (soit 86%) présentaient des valeurs dépassant largement le seuil d'acceptabilité (Figure° 34). Rappelons que trois échantillons ont été jugés indénombrables (soit 5%).



Figure°34 : Classes d'interprétation des dénombrements d'*Escherichia coli*

II.2. Antibiogramme

Les 57 souches d'*Escherichia coli* isolées ont fait l'objet d'un antibiogramme afin de tester leur sensibilité aux dix antibiotiques choisis dans notre étude. Le tableau°15 illustre les résultats obtenus sur l'ensemble des souches isolées au niveau des échantillons prélevés.

L'antibiogramme a permis de déterminer le taux de résistance des différentes souches isolées. Le tableau° 16 présente les pourcentages des souches classées en sensibles, intermédiaires et résistantes aux différents antibiotiques testés.

Tableau n° 16: Proportions de souches sensibles, intermédiaires et résistantes aux antibiotiques testés (% ; n=57)

Antibiotiques	Sensible	Intermédiaire	Résistant
AM	36,8	-	63,2
AMC	80,7	-	19,3
AMX	29,8	-	70,2

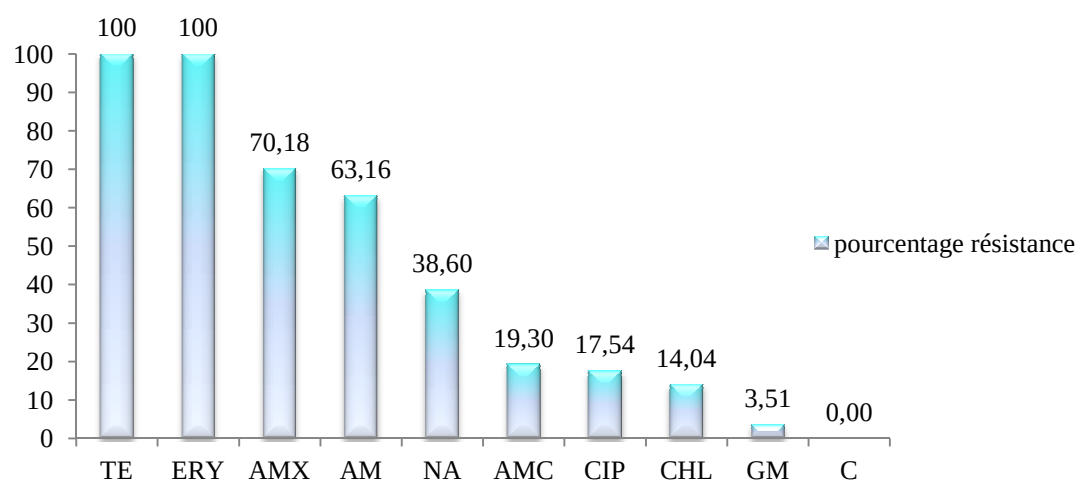
CHL	85,9	-	14,0
C	96,5	3,5	-
CIP	68,4	12,3	17,5
GM	96,5	-	3,5
NA	61,4	-	38,6
TE	-	-	100
ERY	-	-	100

Nous remarquons que les taux de sensibilité les plus élevées concernent l'AMC, le CHL, la C et la GM avec respectivement 80,7%, 85,9%, 96,5% et 96,5%, suivies par la CIP et le NA avec 68,4% et 61,4%. L'AM et l'AMX présentent les pourcentages les plus faibles avec 36,8% et 29,8%.

Seules 3,5% et 12,3% des souches ont été classées intermédiaires quant à leur sensibilité vis-à-vis de la C et la CIP.

Dans la présente étude, deux antibiotiques ont présenté un taux de résistance maximal de 100% pour l'ERY et la TE, suivis par l'AM, l'AMX et le NA avec 63,2%, 70,2% et 38,6% de résistance. Les taux les plus faibles ont été observés avec l'AMC, le CHL, la CIP et la GM avec respectivement 19,3%, 14%, 17,5% et 3,5%.

Les différents taux de résistance ont été classés par ordre décroissant démontrant ainsi un très fort taux de résistance aux Tétracyclines et à l'Erythromycine. La Céfotaxime est le seul antibiotique présentant une efficacité quasi totale contre toutes les souches isolées (Figure° 35).



Figure° 35 : Taux de résistance des souches d'E.coli testées (% ; n=57)

➤ *Aspects méthodologiques.....*

.....et choix de l'échantillon

Dans notre étude, la recherche de salmonelles et d'*Escherichia coli* a été réalisée sur un total de 57 échantillons représentés par des carcasses de poulets prélevées au niveau de boucheries de six communes du centre ville d'Alger.

Afin de réaliser les différentes analyses microbiologiques, un mélange de peau et de muscle du bréchet ont constitué la prise d'Essai tel que recommandé par le manuel de la FIA.

Ce choix est justifiable pour plusieurs raisons, la première étant l'importance de la peau en tant que barrière protectrice de la carcasse. Elle est ainsi davantage exposée aux contaminations extérieures notamment celles dues aux manipulations des différents acteurs de la chaîne alimentaire (abattage par saignée, chaîne de plumaison, stockage des carcasses....). Ce qui concorde avec l'étude réalisée par Cardinale et al (2002), révélant un pourcentage d'isolement de salmonelles supérieure dans la peau de 10% et de 7% pour le muscle.

Parallèlement, la chair peut également révéler la présence de germes endogènes, principalement suite au portage de ces bactéries avec ou sans manifestation de la pathologie correspondante, rendant la réelle appréciation des carcasses difficile.

Ce choix peut également être expliqué par notre volonté d'évaluer le risque de présence de ces deux germes au niveau du dernier maillon qu'est le consommateur, les différentes habitudes alimentaires font que seul un mélange de peau et de muscle se rapproche le plus de la réalité de consommation.

Différentes études ont été réalisées avec des échantillons de mélange de peau et de muscle du bréchet, notamment lors de l'étude réalisée par Cohen et al (2007) sur la qualité microbiologique du poulet cru au Maroc avec prélèvement de 25gr d'un mélange de peau et de muscle sur le bréchet.

Dans l'étude d'Asensi et al (2005), la recherche de salmonelles et d'*Escherichia coli* fut réalisée sur le liquide de rinçage de la carcasse de poulet entière. Malgré le fait que cette méthode pourrait permettre de récupérer davantage de germes, elle présente l'inconvénient de nécessiter une quantité plus importante d'Eau Peptonnée Tamponnée.

Il semble important de noter que, dans notre étude, l'échantillonnage fut réalisé par lots de 10 poulets par zone. Le manque d'EPT, en raison de son indisponibilité à partir de la dernière semaine, nous a contraints à réduire notre échantillonnage à 57 au lieu de 60.

➤ *Aspects méthodologiques....*

.....et méthodes microbiologiques appliquées

Recherche et isolement des salmonelles

La norme ISO-6579:2002, prévoyant une méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella spp*, reste la méthode de référence la plus fréquemment utilisée notamment dans différentes études sur la recherche de salmonelles dans les denrées alimentaires.

Après pré-enrichissement, l'enrichissement est réalisé sur deux milieux utilisant trois types de bouillons : le bouillon Rappaport Vassiliadis Soja (RVS), Muller Kauffmann au tétrathionate novobiocine (MKTTn) et le bouillon Sélénite Cystéine (SC). La norme NF EN ISO-6579 prévoit l'utilisation des deux bouillons RVS et MKTTn.

Dans notre étude, nous avons retenu le RVS compte tenu de son excellente sélectivité (Waltman, 2000 ; Korsak, 2004) alors que l'indisponibilité du MKTTn nous a conduit à utiliser le bouillon SC comme deuxième bouillon d'enrichissement. Ce dernier ayant été également choisi comme milieu d'enrichissement lors de l'étude réalisée au Canada par Bohaychuk et al en 2006 pour la recherche de salmonelles dans le poulet cru ainsi que pour l'isolement de salmonelles à partir de carcasses de poulets au Maroc (Chaiba et al, 2009).

Cette norme s'est vue améliorée d'un autre choix de milieu d'enrichissement, avec l'utilisation du milieu semi-solide MSRV (Rappaport-Vassiliadis semi-solide modifiée) additionné d'une solution de Novobiocine à 2% (Jensen et al, 2003). Permettant d'obtenir des résultats négatifs plus rapides mais aussi de détecter un nombre plus réduit de salmonelles dans l'échantillon. Ce milieu présente néanmoins l'inconvénient de ne pas détecter *S.Gallinarum* chez la volaille.

Le milieu d'isolement préconisé dans la norme ISO-6579 est le milieu XLD combiné à un deuxième milieu laissé à l'initiative du laboratoire, qui dans notre cas était le milieu Hektoen. Il est à noter que, l'isolement des colonies présumées positives n'a pu être réalisé

qu'à partir du milieu Hektoen, le milieu XLD n'a permis l'isolement d'aucune colonie suspecte, ce qui nous laisse penser que le milieu utilisé était de qualité médiocre.

Par ailleurs, l'existence chez la volaille de souches de *S.Gallinarum* ne produisant pas de H₂S complique la reconnaissance des colonies sur le milieu d'isolement (Korsak et al, 2004). Cela pourrait être pallié par l'utilisation d'un milieu chromogénique tels que la gélose Rapid'Salmonella (BioRad), offrant non seulement une facilité de manipulation mais aussi un gain de temps à l'obtention des résultats négatifs et positifs, plus particulièrement lors de la réalisation d'un protocole court.

Par ailleurs, de plus en plus d'auteurs optent pour des techniques de biologie moléculaire. En 2011, les travaux dirigés par Hassanein et al en Egypte ont permis l'isolement et l'identification de salmonelles dans des échantillons de poulet récoltés à partir de différents points de vente sur la base de techniques PCR.

Isolement et dénombrement d'*Escherichia coli*

Pour l'isolement et le dénombrement d'*E.coli*, nous avons opté pour la méthode de référence NF ISO 16649-2 (Juillet 2001) relative à la méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* à 44°C.

L'utilisation de la gélose destinée au dénombrement des *Escherichia coli* β -D-glucuronidase positive dans les produits alimentaires, permet l'obtention de résultats directement par comptage des colonies caractéristiques après seulement 24 heures d'incubation, sans qu'il soit nécessaire de pratiquer une étape de confirmation.

Cette méthode présente, outre le gain important de temps et de milieux, l'avantage de permettre une lecture aisée des résultats. Le choix des dilutions décimales dépend du type d'échantillon et de son degré de contamination. En effet, nous avons retenu la dilution 10⁻². Ce choix fut orienté par un premier lot d'essais réalisé avant le début de l'étude. Plusieurs dilutions ont été préparées de manière à éviter toute source de contamination externe pouvant fausser le dénombrement. Après inoculation sur gélose TBX et incubation, la lecture des boîtes nous a poussé à retenir cette dilution pour la suite des essais.

Il est important de souligner que certains auteurs tels que Cohen et al (2007) ont utilisé la gélose chromogénique Rapid E'Coli pour l'isolement et le dénombrement des *Escherichia*

coli. Celle-ci présente les mêmes avantages que la gélose TBX de part sa sensibilité et sa rapidité, et sa validation a été réalisée en conformité avec le référentiel NF EN ISO 16140 par rapport à la méthode de référence ISO 16649-2 (Certification AFNOR).

D'autres méthodes de dénombrement sont utilisées, tels que le test Petrifilm™ pour la numération sélective des *E. coli* (SEC) à partir de carcasses de poulets de chair. Le Petrifilm est un milieu de culture prêt à l'emploi se basant, tout comme le TBX, sur l'utilisation du BCIG (acide 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronique). Ce milieu permet un dénombrement facile, rapide et est très pratique lors d'utilisations urgentes (Berrang et al, 2008).

Face aux méthodes bactériologiques, les techniques moléculaires sont de plus en plus utilisées. Dans l'étude réalisée par Asensi et al (2005) sur la recherche et l'isolement d'*Escherichia coli* et de *Salmonella*, les méthodes microbiologique et moléculaire ont été combinées. Il en ressort que la rapidité et la sensibilité des méthodes moléculaires en font des méthodes de choix lorsqu'il s'agit de recherches rapides notamment lors de toxi-infections alimentaires.

L'antibiogramme

Avec l'augmentation croissante de bactéries résistantes aux antibiotiques, l'antibiogramme est devenu un outil indispensable dans le choix judicieux de la molécule antibactérienne.

Dans notre étude, nous avons opté pour la technique d'écouvillonnage afin de limiter les contaminations dues aux aérosols lors de l'utilisation de la technique par inondation. Cette méthode à la fois simple et efficace permet une répartition homogène de l'inoculum sur toute la surface de la gélose Muller-Hinton. Elle reste la méthode la plus courante et la plus utilisée notamment lors de l'étude réalisée par Sharada et al (2010) sur l'évaluation de la sensibilité d'*E.coli* isolée du poulet ainsi que pour les travaux réalisés par Bada-Alambéji et al (2006) sur la sensibilité antibiotique des salmonelles isolées à partir des carcasses de poulet au Sénégal.

Il convient de préciser qu'un antibiogramme doit être interprété avec précaution puisque les risques d'erreurs sont toujours présents. Il existe une résistance naturelle et une

résistance acquise aux antibiotiques. Par exemple, *Escherichia coli* est naturellement résistant aux Pénicilline G alors que la résistance à l'ampicilline peut être acquise (Zahar et Moumile, 2003).

Le développement de résistances acquises des bactéries pose un problème en raison du principe d'incertitude qu'elles introduisent dans l'efficacité de la prescription empirique d'un antibiotique et de l'impasse thérapeutique qui peut en résulter (Genné et Siegrist, 2003).

Les méthodes microbiologiques fournissent des résultats pouvant mettre plusieurs jours avant d'être disponibles. Des méthodes génétiques d'identification peuvent déterminer l'agent infectieux et ses résistances en moins d'une heure. Ces techniques progressent et conduisent au développement et à l'application de nouvelles stratégies perfectionnées pour l'analyse de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Genné et Siegrist, 2003).

En l'état actuel des connaissances, les deux méthodes d'évaluation des résistances bactériennes, phénotypique et génotypique, sont complémentaires et sont le plus souvent utilisées ensembles comme c'est le cas lors de l'étude réalisée par Majtan et al (2006) sur la résistance de *Salmonella Kentucky* ainsi que lors des travaux de caractérisation phénotypique et génotypique des résistances des souches d'*Escherichia coli* isolée à partir du poulet (Guerra et al, 2003).

➤ **Contamination des carcasses.....**

..... par les salmonelles

Les Salmonelles sont la cause la plus fréquente de toxi-infections alimentaires transmises de l'animal à l'homme par l'intermédiaire de l'eau, viandes, œufs et produits avicoles (Riyaz-Ul-Hassan et al, 2004), les viandes de volailles crues sont considérées comme étant les viandes présentant le plus haut risque pour *Salmonella* (Jordan et al, 2006). Elles représentent une réelle menace pour la santé publique, et constituent un indicateur sanitaire nécessitant une réelle maîtrise et une sérieuse surveillance. (Norme n° 2073/2005).

Prévalence avérée des salmonelles.....

La prévalence de *Salmonella* a été évaluée à 8,8% sur un total de 57 échantillons de bréchets. Un niveau de contamination similaire fut rapporté par Chaiba et al (2009) dans des

carcasses de poulet avec 9,9% au Maroc, également lors des travaux réalisés par Lidiya et al (2006) avec un pourcentage de 9,5% en Croatie mais aussi avec 7,9% obtenus par Train et al (2004) au Vietnam.

Les résultats que nous avons obtenus étaient plus élevés que ceux rapportés par Cohen et al (2007) au Maroc avec une prévalence de 2,1% et 4,2% pour Zhao et al (2001) aux États-Unis.

Notre prévalence était plus faible que celle rapportée par l'étude réalisée par Mezali (2008) avec 17,9% en Algérie contre 18,1% pour Goncagül et al (2005) en Turquie.

Plusieurs auteurs ont exposé des prévalences encore plus élevées notamment avec des taux de 30% pour Bohaychuk et al (2006) au Canada, 32% pour Cardinale et al (2003-F45) au Sénégal et 60% par Asensi et al (2005) au Brésil.

La prévalence que nous avons obtenu peut ne pas sembler importante (8,8%), or elle doit être interprétée avec précaution car notre échantillonnage n'a concerné que quelques communes du centre ville d'Alger et par conséquent la comparaison de ces chiffres avec ceux d'autres études doit se faire de manière réfléchie sans sous-estimation de l'impact des salmonelles puisqu'elles sont toutes potentiellement pathogènes pour l'homme.

Leur isolement à partir de poulets réfrigérés au niveau des différents points de vente, suggère que la propagation des salmonelles ne peut être toujours imputée au non respect des consignes d'hygiène mais aussi à la possibilité d'un portage initiale de l'animal et ou de l'homme (Cohen et al, 2007).

Les différences de résultats peuvent en partie être expliquées par le choix des échantillons (carcasses entières, morceaux, filets, poulet frais ou congelé) (Bohaychuk et al, 2006 ; Elgroud, 2008 ; Asensi et al, 2005 ; Goncagül et al, 2005) , aux méthodes de détection des salmonelles (méthodes microbiologiques contre méthodes de biologie moléculaire). (Hassanein et al, 2011 ; Majtan et al, 2006 ; Guerra et al, 2003) et aux conditions environnementales (effet de saison), à la gestion des élevages, aux procédés d'abattage mais principalement au respect des règles de biosécurité. (Desenclos et al, 1996 ; Cohen et al, 2007).

Deux sérotypes de salmonelles identifiés.....

..... *S.Kentucky* et *S.Virchow*

Deux sérotypes : *S.Kentucky* et *S.Virchow* furent identifiés à partir des cinq souches de salmonelles isolées. Ces deux sérovars ont également été isolés lors des travaux réalisés par Cardinale et al (2003), Bada-Alamedji et al (2006), Saad et al (2007) et Bohaychuk et al (2006) à partir de prélèvements de poulet.

L'étude réalisée par Yan et al (2004) révèle que les sérotypes les plus fréquemment isolés chez le poulet aux Etats-Unis, seraient *S. Kentucky*, *S. Heidelberg*, *S. Hadar*, *S. Typhimurium*, et *S. Thompson*, retrouvés dans les aliments et chez les humains. De même, les résultats rapportés par Chang et al, (2000) citant que les sérovars les plus fréquemment isolés dans les viandes blanches sont *Virchow* et *Enteritidis*. Cette distribution est très proche des résultats d'une étude européenne, rapportant que les sérotypes les plus fréquents chez le poulet de chair seraient *S. Virchow*, *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* (Chemaly et al, 2006).

Les variations de prévalence des différents sérotypes, pourrait s'expliquer essentiellement par la charge initiale du sérovar du vivant de l'animal ainsi que de l'état d'hygiène au niveau des abattoirs dans lesquels une contamination croisée des carcasses d'origine fécale peut se produire.(Goncagül et al, 2005).

Résistance des salmonelles aux antibiotiques....

... *S.Kentucky* plus résistante

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques indique que les résistances les plus élevées ont concerné l'ERY (résistance de 100%) puis l'AMC, l'AMX et les TE avec une résistance moyenne de 60%.

Or, une analyse globale induit forcément en erreur puisque nous avons eu affaire à deux sérotypes au comportement très différent. *S.Kentucky* présente une résistance largement supérieure qui aurait tendance à être masquée par la bonne sensibilité aux antibiotiques de *S.Virchow*, une vue d'ensemble est forcément sujette aux mauvaises interprétations d'où la nécessité d'une approche individuelle.

S.Kentucky a révélé une proportion inquiétante de résistance à différentes molécules testées, en particulier à la Ciprofloxacine. Sachant que les Fluoroquinolones sont, avec les Céphalosporines de 3^{ème} Génération, considérés comme étant l'ultime traitement contre les salmonelles multirésistantes (Bada-Alambedji et al., 2006). L'émergence de souches de *S.Kentucky* résistantes à la CIP constitue un problème majeur de santé publique. En 2002 la première souche fut isolée chez un patient français après un séjour en Egypte qui présentait une gastro-entérite persistante, depuis, les souches n'ont cessé d'augmenter pour atteindre 84% de CIP^R en 2009-2010 (Weill, 2011).

Les chercheurs estiment par ailleurs probable que *Salmonella Kentucky* ait acquis les premières résistances par l'intermédiaire des filières aquacoles. Le recours massif aux antibiotiques dans ces élevages développés en Egypte dès le début des années 90 aurait favorisé la sélection des souches bactériennes résistantes. La bactérie s'est ensuite propagée dans la filière volailles en Afrique, considérée comme la principale vectrice de la souche chez l'homme. (Le Hello et al, 2011).

Cette résistance peut être liée à l'utilisation anarchique de ces molécules pourtant couteuses. L'émergence d'une résistance aux antibiotiques résulterait selon Weill (2008) et Little et al (2008) d'une utilisation systématique de ces molécules à des doses sub-thérapeutiques en prophylaxie ou dans le but de stimuler la croissance des animaux.

Fort heureusement, aucune résistance aux céphalosporines de troisième génération (3CG) n'a été mise en évidence dans notre étude.

Quant à *S.Virchow* et plus particulièrement l'échantillon prélevé au niveau d'El Biar présentant une résistance aux quatre antibiotiques (AMC, AMX, ERY et TE). La résistance aux AMC/AMX pourrait s'expliquer par l'utilisation des bêta-lactamines dans le traitement des infections survenant en élevage. La résistance à l'AMX peut être liée à la production de bêta-lactamase or l'association de l'amoxiciline et de l'acide clavulanique supprime l'action de cette enzyme, on peut donc supposer que la résistance simultanée à l'AMX et l'AMC pourrait ne pas être d'origine enzymatique.

La résistance aux tétracyclines est de plus en plus fréquente puisque l'utilisation fréquente et abusive de cette molécule depuis plusieurs années maintenant en pratique avicole a provoqué une pression de sélection à l'origine de l'émergence de souches résistantes (Steele et al, 2005).

➤ Contamination des carcasses.....

..... par *E coli*

Escherichia coli est l'espèce dominante de la flore aéro-anérobie de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud. Sa présence reflète une contamination fécale permettant de juger la qualité de l'eau et des denrées alimentaires. (Kapley, 2002 ; Min et Baueumner, 2002), elle constitue donc un excellent indicateur d'hygiène.

Prévalence et dénombrement de *E coli*

..... Supérieure au seuil toléré

Dans la présente étude, la prévalence des *E.coli* fut de 100%, parmi les études démontrant des taux aussi importants, nous pouvons citer Alterkruse et al (2009) aux Etats-Unis avec 99,5%, Thomas et al (2006) avec 89,3% ainsi que les travaux de Sharada et al en 2010 avec 76,5% en Inde. Nos résultats étaient largement supérieurs à ceux obtenus par Cohen et la (2007) avec 43% au Maroc, Voidarou et al (2007) avec 40% en Grèce et Asensi et al (2005) avec 26,6% au Brésil. *E.coli* étant un commensal du tube digestif de l'homme et des animaux, il n'est pas surprenant de trouver ces taux à cause des mauvaises pratiques d'hygiène.

L'hétérogénéité des résultats est le plus souvent liée au respect des règles d'hygiène et aux procédés d'abattage mais aussi aux conditions de transport et de conservation des carcasses de poulet. Une prévalence aussi élevée d'*E.coli* ne doit nullement être prise à la légère puisqu'elle est forcément liée à une contamination fécale et peut être à l'origine de pathologies graves chez l'homme si parmi eux devaient se trouver des souches pathogènes.

Dans les textes législatifs algériens (arrêté interministériel du 24 janvier 1998), les coliformes fécaux sont dénombrés sans précision des limites imposées pour *Escherichia coli*, nous avons donc du ajouter à ces données, les critères fournis par la Fédération des industries avicoles (FIA 2007). Les industriels et les autorités de contrôle ont reconnu l'intérêt d'utiliser *E. coli* dans les abattoirs de volailles comme indicateur de contamination d'origine digestive. Ce dernier point est confirmé par le fait que *E. coli* ait un faible potentiel de colonisation des équipements de la chaîne d'abattage.

Sachant que 86% de nos échantillons ont présenté des valeurs dépassant largement le seuil d'acceptabilité, la question du respect des bonnes pratiques d'hygiène devient

inquiétante, compte tenu des différentes étapes de transformation des produits avicoles de l'élevage au point de vente en passant par l'abattoir, pouvant causer à chaque fois une contamination supplémentaire. La multitude des sources de contamination par des dangers biologiques à toutes les étapes de la chaîne alimentaire impose une réelle surveillance et une démarche scientifique rigoureuse.

Dans un souci de globalisation des résultats, nous avons converti la valeur moyenne des dénombrements obtenus en $\times \log_{10}$ UFC/gr, nous obtenons donc une moyenne de dénombrement d'E.coli de $4,30 \log_{10}$ UFC/gr, ces résultats sont plus faibles que ceux rapportés par Thomas et al. en 2006 ($5,46 \log_{10}$ UFC/gr) mais sont proches de ceux de Smith et al. en 2009 ($4,1 \log_{10}$ UFC/gr) et de Berrang et al. en 2008 ($3,3 \log_{10}$ UFC/gr).

L'étude réalisée par Cohen (2007) a permis de mettre en évidence un dénombrement de $1,9 \log_{10}$ UFC/gr en hiver et $2,9 \log_{10}$ UFC/gr en été, les résultats plus faibles en hiver pourraient faire penser à l'effet direct de la température ambiante sur la croissance bactérienne et par conséquent sur le portage de germes.

La contamination a lieu le plus souvent lors de la production et la transformation d'aliments crus d'origine animale, ou indirectement, via la contamination de l'eau et des différents supports. Il est important de noter que la principale source de contamination par *E. coli* est le tractus intestinal des animaux, sa présence correspond à un défaut de la technique d'abattage, ou une contamination croisée, mais peut également être due à une contamination par les personnes manipulant ces denrées alimentaires (Ghafir et Daube, 2007).

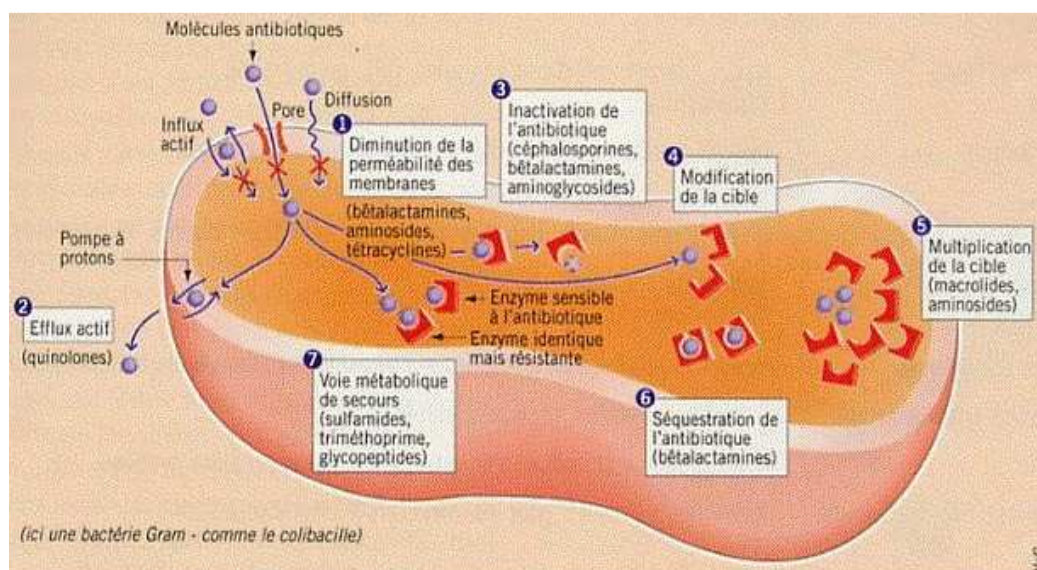
Résistance de *E coli* aux antibiotiques.....

Sur les 57 souches testées, on constate que le pourcentage de résistance le plus élevé concerne la TE et l'ERY avec une résistance de 100%. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Van der Bogaard et al en 2001, et concordent avec ceux par Sharada et al (2010) ayant révélé que les deux résistances les plus importantes observées furent de 83,1% pour la TE et 94,2% pour l'ERY. La résistance naturelle des *E.coli* aux macrolides (Erythromycine) a déjà été mentionnée par certains auteurs tels que Genné et Siegrist (2003). La résistance aux tétracyclines quant à elle, peut s'expliquer par les mêmes raisons évoquées pour les salmonelles.

L'importante résistance à l'AMX est en accord avec les résultats rapportés par Soussy et al (2004) concluant qu'un pourcentage très élevé de résistance à l'AMX est très fréquent chez les entérobactéries. Dans notre étude, nous avons obtenu 70,2% de souches résistantes à cette molécule, ce qui concorde avec les résultats de Kim et al (2007) avec 67,3% de résistance chez *E.coli*, pouvant être due à la production de bêta-lactamase.

Par ailleurs, aucune souche d'*E.coli* n'a présenté de résistance à la Céfotaxime, mais nous avons obtenu 3,5% de souches intermédiaires, ce qui demande une interprétation particulière car la résistance à la C a déjà été signalée chez les souches aviaires par Timko et Kmet (2003) et est le plus souvent liée à la production de céphalosporinases.

En effet, en réponse à la pression de sélection des antibiotiques, les bactéries ont développé, tant sur le plan biochimique que génétique, de nombreux mécanismes de résistance à ces molécules (Figure°36).



Figure°36 : Les mécanismes de résistance des bactéries selon la nature des antibiotiques (Julienne et Sargent, 1998).

Dans le cas des souches d'*Escherichia coli* présentant une résistance aux β lactamines, celle-ci peut être due à une inactivation de l'antibiotique par l'acquisition d'enzymes. Par exemple la résistance aux aminopénicillines telles que l'AMX, est due à la production de pénicillinases.

Ces enzymes peuvent être de bas niveau et donc responsables d'une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines, ou de haut niveau et

donc responsables d'une résistance non seulement aux trois antibiotiques cités mais aussi aux molécules possédant des inhibiteurs de β lactamases ainsi qu'au céphalosporines de première et deuxième génération.

E.coli peut aussi acquérir une céphalosporinase plasmidique appelée bétalactamases à spectre élargi (BLSE) responsable d'une résistance à toutes les béta-lactamines (Zahar et Moumil, 2003).

CONCLUSION :

Les entérobactéries sont des hôtes normaux du tractus digestif des animaux ainsi que de l'homme, cependant la problématique que représente le portage de germes tels que *Salmonella* ou *Escherichia coli* dans la filière avicole constitue un problème majeur de santé publique et représente un lourd fardeau économique dans de nombreux pays y compris l'Algérie.

L'objectif principal de ce travail était de mettre en évidence la présence de salmonelles dans les carcasses de poulet prélevées au niveau des détaillants du centre ville d'Alger mais aussi d'évaluer le portage des *Escherichia coli* ainsi que leurs résistances aux molécules antibiotiques.

Même si les niveaux de contamination par *Salmonella* peuvent paraître bas, elles constituent toujours un problème d'actualité et il ne s'agit en aucune manière, d'un combat d'arrière-garde puisqu'elles sont parmi les premières causes de toxi-infections alimentaires. Ceci est d'autant plus inquiétant face à l'émergence de souches multi-résistantes telles que *Salmonella Kentucky* que nous avons pu isoler dans notre étude et dont la propagation ces dernières années inquiète le monde scientifique.

Il est impératif de songer à l'association de techniques phénotypiques et génotypiques efficaces afin de tracer avec précision la diffusion ou la persistance de *S.Kentucky* qui risque à long terme de détrôner des sérotypes tels que *S.Enteritidis* ou *S.Typhimurium* et dont l'éradication sera de plus en plus difficile.

L'élimination des salmonelles chez la volaille est probablement une utopie, cependant en théorie la prévention apparaît simple. Sauf qu'en pratique, la réalité est toute autre, puisque le germe est en constante adaptation aux conditions du milieu environnant, pouvant ainsi contaminer aux différentes étapes de la chaîne alimentaire, une meilleure connaissance de l'écologie des salmonelles apparaît comme étant une étape importante dans la lutte contre ces germes.

Dans notre étude, nous avons utilisé *Escherichia coli* en tant qu'indicateur de contamination fécale. Une prévalence aussi importante lors du dénombrement de cette bactérie, suggère que le problème du respect des bonnes pratiques d'hygiène et bonnes pratiques de fabrication est loin d'être résolu. Cette situation peut être due aux conditions précaires d'élevage et d'abattage, mais aussi aux erreurs des pratiques de gestion et d'hygiène dans les élevages, abattoirs et points de vente.

Malgré le fait que globalement, les isolats d'*E.coli* étaient résistants essentiellement à des molécules anciennes telles que les tétracyclines, le danger que représente les antibiorésistances ne doit aucunement être pris à la légère puisque ces germes constituent une source de dissémination de gènes de résistances vers les bactéries sensibles de l'environnement mais aussi à l'homme pouvant causer des échecs thérapeutiques.

Les récentes épidémies observées en Allemagne et en France durant l'été 2011 dues à la souche *Escherichia coli* entéro-hémorragique EHEC sérotype O104 prouvent que la diffusion de sérotypes, pourtant rares, peuvent avoir des conséquences gravissime ayant des répercussions à long terme sur la confiance entre consommateurs et professionnels de l'agro-alimentaire.

Le principal challenge sera donc de proposer une denrée saine et de promouvoir des démarches intégrées d'analyse du risque pour assurer la communication auprès du consommateur afin que ce dernier soit conscient du possible danger lié à ce qu'il mange et dont la responsabilité incombe au secteur avicole et à son entourage, y inclus les vétérinaires, les éleveurs, les chercheurs, les décideurs et les consommateurs. Tous devront collaborer pour que la lutte contre ces pathogènes majeurs devienne un succès.

A

Altekruse S.F., Berrang M.E., Marks H., Patel B., Shaw W., Saini P., Bennett P.A., And Bailey J.S. (2009). Enumeration Of *Escherichia Coli* Cells On Chicken Carcasses As A Potential Measure Of Microbial Process Control In A Random Selection Of Slaughter Establishments In The United States. *Applied And Environmental Microbiology*, 3522–3527.

Anonyme. (2002). Norme AFNOR ISO 6579:2002: Microbiologie des aliments: Méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella* spp.

Anonyme. (2005). *Manuel terrestre de l'OIE : Chapitre 2.10.3. — Salmonelloses p1117-1133.*

Anonyme. (2001). *Escherichia Coli Enterohemorragique (EHEC).* Document AFSSA Novembre 2001.

Asensi G.F., Rodriguez D.P., Silva J.T., Paschoalin V.M.F. (2005). Isolation And Identification Of *E. Coli* And *Salmonella* In Chicken Rinse Through Microbiological And Molecular Methods.

B

Bada-Alamedji R., Fofana A., Seydi M. Et Akakpo A.J. (2006). Antimicrobial Resistance Of *Salmonella* Isolated From Poultry Carcasses In Dakar (Senegal). *Brazilian Journal Of Microbiology* 37:510-515.

Barber, D.A., G.Y. Miller, and P.E. McNamara. (2003). Models of antimicrobial resistance and foodborne illness: examining assumptions and practical applications. *Journal of Food Protection* 66(4):700-709.

Baumler, A.J., Tsois, R.M. et Heffron, F. (2000). Virulence mechanisms of *Salmonella* and their genetic bases in: *Salmonella in domestic animals*. eds. Wray, C. And Wray, A. CAB International, U.K. 57-71.

Bell, C. et Kyriakides, A. (2002). *Salmonella* in: *Foodborne Pathogens. Hazards, risk analysis and control*. Woodhead: 307-330.

Benjamin W.H., Turnbough C.L., Posey B.S., Briles D.E. (1985). The ability of *Salmonella* Typhimurium to produce the siderophore enterobactin is not a virulence factor in mouse typhoid. *Infect. Immun.* 50/392-397.

Berche P., Gaillard J.L. Et Simonet M., (1988). Bactériologie, bactéries des infections humaines Ed. Flammarion, 77-92.

Bergey DH., Holt JG.(1968). International journal of systematic bacteriology vol18,No.3, 191-196.

Bergey DH .(1984). Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology 9ème Édition.

Berrang M. E., Bailey J. S., Altekruze S. F and Shaw W. K. Jr. (2008). Presence and Numbers of *Campylobacter*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* Determined in Broiler Carcass Rinses from United States Processing Plants in the Hazard Analysis and Critical Control Point-Based Inspection Models Project. Poultry Science Association.

Bohaychuk V. M., Gensler G. E., King R. K., Manninen K. I., Sorensen O., Wu J. T., Stiles M. E., and McMullen L. M. (2006). Occurrence Of Pathogens In Raw And Ready-To-Eat Meat And Poultry Products Collected From The Retail Marketplace In Edmonton, Alberta, Canada. Journal Of Food Protection, Vol. 69, No. 9, 2006, 2176–2182.

Bonnefoy C.,Guillet F., Leyral G., Verne Bourdais E. (2002). Microbiologie Et Qualité Dans Les Industries Agroalimentaires 153-178.

Bornet, G. (2000). Le poulet sans salmonelles : Mythe ou réalité? Rev.med.vet.151, 12: 1083-1094.

Bouvet, P. (1995). Salmonelles et Salmonelloses en France. Dans: Sécurité alimentaire du consommateur (Collection STAA). Moll, M. et Moll, Editions Lavoisier: 1-20.

Brenner, D., G. Fanning, G. Miklos, and A. Steigerwalt. (1973). Polynucleotide sequence relatedness among shigella species. International Journal of Systematic Bacteriology 23:1-7.

Brown JH. (1935). Theobald Smith 1859-1934; J Bacteriol. July 1935; 30(1): 1–3.

Brugere-Picoux J. (1992). Environnement et pathologie chez les volailles. In : Brugere-Picoux J. ; Silim, A. Manuel de Pathologie Aviaire, 1ère édition. Maison Alfort, 77-84.

C

Camart-Périé., (2006). Salmonella, Salmonelloses Bovines : Etat Des Lieux, Epidémiologie En France. Thèse Doctorat Vétérinaire.

Cardinale1 J.D.,Perrier G.C., Tall F.,Cissé M.,Guèye E.F., Salvat G. (2002). Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in Retail Chicken Carcasses in Senegal. Revue Elev. Méd. vét. Pays trop., 2003, 56 (1-2) : 13-16.

Carlier, V. et Lagrange, P. (2001). Salmonella, service d'information alimentaire, H.C.S. International. Paris. 84.

Chahed A., China B., Daube G. (2007). Les *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines dans les toxi-infections d'origine alimentaire. Ann. Méd. Vét., 2007, 151, 215-246.

Chaiba A., Rhazi Filali F, Chahlaoui A, Soulaymani Bencheikh R and Zerhouni M. (2009). Prevalence and anti-microbial susceptibility of *Salmonella* isolates from chicken.

Chang Y.H. (2000). Prevalence of *Salmonella* spp. In poultry broilers and shell eggs in Korea. Journal of food protection, 63 (5), 655-658.

Chemaly M., Huneau A., Rouxel S., Lalande F., Bohnert M., Petetin I., LeBouquin S. et Fravallo P. (2006). Enquêtes communautaires sur la prévalence de *Salmonella* en filières avicoles. Communication, 10ème Réunion annuelle du Réseau Salmonella.

Cohen N et Karib H. (2006). Risque hygiénique lié à la présence des *Escherichia coli* dans les viandes et les produits carnés: Un réel problème de santé publique?

Cohen N., Ennaji H., Bouchrif B., Hassar M. and Karib H. (2007). Comparative Study of Microbiological Quality of Raw Poultry Meat at Various Seasons and for Different Slaughtering Processes in Casablanca (Morocco). Poultry Science Association, Inc. carcasses and giblets in Meknès, Morocco Afr. J. Microbiol. Res. Vol. 3(5). 215-219.

Cohen Y. et Jacquot C. (2008). Pharmacologie. Ed Elsevier Masson, 348-370.

Craven S.E., Cox N.A., Bailey J.S., Blankenship L.C. (1992). Binding of *Salmonella* strains to immobilized intestinal mucosal preparations from broiler chickens, Avian Dis. 36 296-303.

D

David J. (2009). Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France. Adaptabilité et robustesse du modèle bayésien d'attribution par typage microbiologique [thèse doctorat].

Decludt, B., Haeghebaert, S., Bouvet, P., Grimont, P.A.D., (1996). Epidémiologie de salmonellose à *Salmonella* serotype Hadar, France Juin-Septembre 1995. BEH 32, 14-41.

De Jong, B., Andersson, Y. & Ekdahl, K. (2005). Effect of regulation and education on reptile-associated salmonellosis. *Emerg Infect Dis* 11, 398–403.

Delmas G., Le Querrec F., Weill F-X., Gallay A., Espie E., Haeghebaert S., Vaillant V. (2005). Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001-2003. Maladies d'origine alimentaire. Surveillance nationale des maladies infectieuses, 1-10.

Desenclos J.C., Bouvet P., Benz Lemoine E., Grimont F., Desqueyroux H., Rebiere I. et Grimont P.A. (1996). Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection caused by a goat's milk cheese, France, 1993. A case finding and epidemiological study. *BMJ*, 312, 91-94.

Desmidt, M., F. Haesebrouck, and R. Ducatelle, (1997). Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* phage type four after experimental infection of young chickens. *Vet. Microbiol.* 56:99–109.

Desprez C. (1992). La Salmonellose Du Porc. Thèse Méd. Vét., Alfort.

Devos N. (2011). Une salmonelle multirésistante, de sérotype Kentucky, inquiète les scientifiques (<http://www.wk-vet.fr/actualites/detail/42794-revues-1/une-salmonelle-multiresistante-de-serotype-kentucky-inquiete-les-scientifiques-.html>)

Dibb-Fuller, M. P., E. Allen-Vercor, C. J. Thorns, and M. J. Woodward. (1999). Fimbriae-and flagella-mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *Salmonella Enteritidis*. *Microbiology* 145:1023–1031.

Dho-Moulin M., Fairbrother J.M. (1999). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.*, 30, 299-316.

E

Elgroud R. (2008). Contaminations Du Poulet De Chair Par Les Salmonelles Non Typhiques En Elevages Et Abattoirs De La Wilaya De Constantine. Thèse Doctorat Vétérinaire.

Espié E et Vaillant V. (2002). Toxi-infection alimentaire collective à *Escherichia coli* O148:H8 producteur de shigatoxines. Gironde, juin 2002 : Rapport d'investigation. Institut de veille sanitaire.

Euzeby J.P. (2005). Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. Nomenclature des salmonelles.

F

Favrin SJ, Jassim SA et Griffiths MW. (2001) Development and optimization of a novel immunomagnetic separation-bacteriophage assay for detection of *Salmonella enterica* serovar enteritidis in broth. *Appl Environ Microbiol* 67:217–224.

Feuillet L. (2007). Étude Comparée Des Vaccins Et Des Flores Bactériennes Dans La Lutte Contre Les Salmonelles En Élevage De Poules Pondeuses Étude Bibliographique. Thèse Doctorat Vétérinaire.

Fédération des industries avicoles FIA. (2007). Critères Microbiologiques /Filière Avicole Et Cunicole.

G

Ganiere J-P. (2008). Salmonellose De La Poule Et De La Dinde, Polycopié Envn-Avicampus - Maladies Réputées Contagieuses Ou A Déclaration Obligatoire.

Genné D. et Siegrist H.(2003). De l'antibiogramme à la prescription d'un antibiotique. *Forum Med Suisse* No 20, 464-468.

Ghafir Y., Daube G. (2007). Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Ann. Méd. Vét.*, 2007, 151, 79-100.

Ghebru H. (1998). Contribution à l'étude du pouvoir pathogène des *Escherichia coli*. Mémoire de maîtrise en science vétérinaire en microbiologie et immunologie.

Gledel,J. et Corbion,B. (1995). Le Genre *Salmonella*: Microbiologie Alimentaire, Bourgeois Et Mescle, Tome 1, 62-77.

Goncagül G., Günaydin E. Et Tayfun Carli K. (2005). Prevalence of *Salmonella* Serogroups in Chicken Meat. *Türk J Vet Anim Sci* 29, 103-106.

Grimont P.A.D., Grimont F. et Bouvet P. (2000). Molecular Basis Of The Diversity In The Genus *Salmonella*. In: *Salmonella In Domestic Animals*. Wray Et Col. CABI Publishing, British Library, London, U.K.:1-17.

Grimont P.A.D. et Weill F.X. (2007). Antigenic Formulas Of The *Salmonella* Serovars, 9th Edition Institute Pasteur.

Grimont P.A.D. (1992). Les marqueurs épidémiologiques des *Salmonella*. *Méd. Mal. Infect.*, 22, spécial, 249-257.

Grimont, P. (1987). Taxonomie des *Escherichia*. *Méd Mal Infect (Numéro spécial)*: 6-10.

Gross W.G. (1994). Diseases due to *Escherichia coli* in poultry. In: GYLES C.L. (Eds), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Cab international: Wallingford, 237-259.

Guerra B., Junker E., Schroeter A., Malorny B., Lehmann S. and Helmuth R. (2003). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 52, 489–492.

Guerin J.L et Boissieu C. (2008). Les colibacillooses ou infections à *Escherichia coli*, document avicampus-ENVET.

H

Hassanein R., Hassan Ali S.F., Abd El-Malek A.M., Moemen, Mohamed A. and Elsayh K.I. (2011). Detection and identification of *Salmonella* species in minced beef and chicken meats by using Multiplex PCR in Assiut city. *Veterinary World* 2011, Vol.4 (1):5-11.

Hasley C., Leclerc H. (1993). Microbiologie Des Eaux D'alimentation. Technique Et Documentation – Lavoisier.

Hensel M. (2000). *Salmonella* pathogenicity Island 2. *Mol. Microbiol.*, 36, 1015-1023

Hu L., Kopecko D. (2002). *Salmonella* Typhi And Paratyphi. In: Sussman M. (Ed.), *Molecular Medical Microbiology* (Volume 2). Academic Press: London, 1365-1391

Humbert F. (1998). Les Salmonelloses. dans Manuel de Bactériologie Alimentaire, ed. Polytechnica. Paris.

J

Jensen, A.N., G. Sørensen, D.L. Baggesen, R. Bødker, et J. Hoorfar. (2003). Addition of Novobiocin in pre-enrichment step can improve *Salmonella* culture protocol of modified semisolid rappaportvassiliadis. *Journal of Microbiological Methods* 55: 249–255.

Jordan E., Egan J., Dullea C., Ward J., McGillicuddy K., Murray G., Murphy A., Leonard N., Bradshaw B., Rafter P. et McDowell S. (2006). *Salmonella* surveillance in raw and cooked meat products in the republic of Ireland from 2002 to 2004. *International journal of food microbiology* : 112, 66-70.

Julienne M. et Sergent D. (1998). Résistance aux antibiotiques: l'état d'urgence, *Eurêka* n°31, 18 à 23.

K

Kaci A., Nouri M., Ferrah A., Kabli L et Azzouz H. (2001). Conduite des élevages de poulets de chair en Algérie: Un sous- équipement chronique. Agroligne n° 18. Novembre-Décembre 2001: 17-19.

Kaper JB, Nataro B, Mobley H.T.L. (2004). Pathogenic Escherichia Coli. Nature reviews-Microbiology;2,123-139.

Kim TE, Jeong YW, Cho SH, Kim SJ, Kwon HJ. (2007). Chronological study of antibiotic resistances and their relevant genes in Korean avian pathogenic Escherichia coli isolates. J Clin Microbiol. 2007 Oct;45(10), 3309-3315.

Korsak N., Clinquart A., Daube G.(2004). Salmonella Spp. Dans Les Denrées Alimentaires D'origine Animale : Un Réel Problème De Santé Publique ?.

L

Le Boucher, G. et Cohen-Maurel,E. 1997. Salmonelles: La prévention concerne toute la filière. Filières avicoles. Mai 1997, 577: 18-21.

Leclerc H., Gaillard J.L., Simonet M., (1995). Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien. Edit. Doin.

Le Hello S, Hendriksen RS, Doublet B, Fisher I, Nielsen EM, Whichard JM, Bouchrif B, Fashae K, Granier SA, Jourdan-Da Silva N, Cloeckaert A, Threlfall EJ, Angulo FJ, Aarestrup FM, Wain J, Weill FX. (2011). International Spread of an Epidemic Population of Salmonella enterica Serotype Kentucky ST198 Resistant to Ciprofloxacin. J Infect Dis. 2011 Sep;204(5):675-84. Epub 2011 Aug 2.

Le Minor,L.,Veron,M., Et Popoff,M.Y. (1982).Taxonomie Des Salmonella. Annales De Microbiologie 133B: 223-243.

Le Minor L.,Popoff M Y.,Laurent B. et Hermant D. (1986). Individualisation D'une Septième Sous-Espèce De Salmonella: S.Choleraesuis Subsp.Indica Subsp.Nov. Annales De L'institut Pasteur/Microbiologie 137B: 211-217.

Le Minor L. et Veron M., (1990). Bactériologie Médicale 2ème Edition Ed. Flammarion p 411-427.

Levine M. (1987). *Escherichia coli* that cause diarrhea : enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. Journal of Infectious Diseases 155:377-389.

Leyral G, Vierling E.(2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires p37, Editions Doin,

Lidija K., Mirza H., and Nevijo Z. (2006). Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *VETERINARSKI ARHIV* 76 (4), 305-313.

Little C.L., Richardson J.F., Owen R.J., DePinna E. and Threlfall E.J. (2008). Campylobacter and Salmonella in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. *Food Microbiology*, 25, 538-543.

Loukiadis E. (2007). Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement *via* les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC) ; thèse doctorat microbiologie.

M

Mainil J. (2003). Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli* : II) Franchissement des muqueuses et propriétés invasives.

Marcus SL, Brumell JH, Pfeifer CG, Finlay BB. (2000). Salmonella pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microbes Infect.*(2):145-56.

McLaren, I. M. & Wray, C. (1991). Epidemiology of salmonella typhimurium infection in calves: persistence of salmonellae on calf units. *The Veterinary Record*, 129, 461-462.

Majtan V., Majtan T., Majtan J., Szaboova M. and Majtanova L. (2006). Salmonella enterica Serovar Kentucky: Antimicrobial Resistance and Molecular Analysis of Clinical Isolates from the Slovak Republic. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 59 (6), 358-362.

Mezali L. (2008). Étude de la prévalence et de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* spp. isolées de denrées alimentaires d'origine animale dans la région d'Alger. Mémoire de magistère en science vétérinaire.

Millemann, Y. (1998). Pathogenicity of Salmonellae: Virulence factors and study models. *Vet. Res.* 29: p385-407

Millemann, Y.(2005). Gastro-entérites néonatales du veau: conduite à tenir. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de pathologie du Bétail.

Meng J et Schroeder C.M. (2007). *Escherichia Coli*; Infectious Disease: Foodborne Disease, Humana Press.

Min, J., Baeumner, A., J. (2002). Highly sensitive and specific detection of viable *Escherichia coli* in drinking water. *Anal Biochem.*, 303(2), 186.

Moreda R. (2007). AntibioGramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé/ Document édition janvier 2007 du comité de l'antibioGramme de la société française de microbiologie

N

Nataro, J. P., and J. B. Kaper. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 11:142-201.

Nauciel C. et Vildé J.L. (2005). Pathogénie *Salmonella*. Bactériologie médicale, éd Masson.

O

O'Brien, A., G. LaVeck, M. Thompson, and S. Formal. (1982). Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 146:763-769.

P

Padron M.N. (1990). *Salmonella typhimurium* outbreak in broiler chicken flocks in Mexico. *Avian diseases* 34:221-223.

Palumbo Rn, Wang C. (2006). Bacterial invasin: structure, function, and implication for targeted oral gene delivery, *Curr. Drug Deliv*, 3, 47-53.

Peiffer B.(1999) .Salmonelloses Et Fièvres Typhoïdes
[<http://www.listehygiene.org/SALMON.html>]

Pennec YL, Garre M. (2003).Salmonelloses de l'adulte. *Encycl Med Chir,Maladies infectieuses*, 8-018-A-15.

Pilet,C. Bourdoin,J.L.,Toma,B.,Marchal,N.,Balbastre,C., (1983). Bactériologie médicale et vétérinaire.Systématique bactérienne.Douin. p141-150.

Pilet,C. Bourdoin,J.L.,Toma,B.,Marchal,N.,Balbastre,C., et Person,J.M. (1987).Bactériologie médicale et vétérinaire.Systématique bactérienne. Douin. 81-93.

Pohl P. (1993). Les souches pathogènes d'*Escherichia coli*, histoire et classification. Annales de médecine vétérinaire 137:325-333.

Popoff My, Norel F, (1992). Bases moléculaires de la pathogénécité des *Salmonella*, *Med. Mal.Infect.*,22, 310-324.

Poppe, C., (2000). *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: Wray, C. and A. Wray (Eds.), *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing, UK,107-132.

Pouget M. (2006). *Salmonellose Mammaire Ovine : Caractérisation Clinique Et Bactériologique*. Thèse Doctorat Vétérinaire.

R

Rabsch W., Tschäpe H., Baumler A J. (2001). Non typhoidal salmonellosis: emerging problems *Microbes infec* 3, 237-247.

Rahal K. (2008). Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS, 5ème édition; Institut Pasteur d'Algérie.

Reed, K. A., Hobert, M. E., Kolenda, C. E., Sands, K. A., Rathman, M., O'Connor, M., Lyons, S., Gewirtz, A. T., Sansonetti, P. J., Madara, J. L. (2002). The *Salmonella* typhimurium Flagellar Basal Body Protein FliE Is Required for Flagellin Production and to Induce a Proinflammatory Response in Epithelial Cells. *J. Biol. Chem.* 277: 13346-13353.

Richard C. (1996). Les eaux, les bactéries, les hommes et les animaux. P49. Masson.

Riley, L. W., R. S. Remis, S. D. Helgerson, H. B. McGee, J. G. Wells, B. R. Davis, R. J. Hebert, E. S. Olcott, L. M. Johnson, N. T. Hargrett, P. A. Blake, and M. L. Cohen. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 308:681-685.

Riyaz-Ul-Hassan, S., Verma, V., Qazi, G. N. (2004). Rapid detection of *Salmonella* by polymerase chain reaction. *Mol. Cell. Probes*, 18, 333.

Rycroft A. (2000). Structure, Function And Synthesis Of Surface Polysaccharides In *Salmonella*. Wray C., Wray A.(Eds.), *Salmonella In Domestic Animals*,19-33.

S

Saad A.M ., Almujaali D.M., Babiker S.H., Shuaib M.A., Abdelgadir M.K.A. and Alfadul Y.A..(2007). Prevalence of *Salmonellae* in Broiler Chicken Carcasses and

- Poultry Farms in the Central Region, K.S.A.** Journal of Animal and Veterinary Advances, 164-167.
- Santos R.L, Zhang S, Tsolis R.M, Baumler A.J, Adams L.G.(2002):** Morphologic and molecular characterization of *Salmonella* typhimurium infection in neonatal calves. Vet. Pathol.39(2):200-215.
- Sharada R., Wilfred Ruban S. et Thiyaageeswaran M. (2010).** Isolation, Characterization and Antibiotic resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from poultry. American Eurasian Journal of Research 5, 18-22.
- Shelobolina ES., Sullivan SA., O'Neill KR., Nevin KP., and Lovley DR. (2004).** Isolation, Characterization, and U(VI)-Reducing Potential of a Facultatively Anaerobic, Acid-Resistant Bacterium from Low-pH, Nitrate- and U(VI)-Contaminated Subsurface Sediment and Description of *Salmonella subterranea* sp. Appl.Environ.Microbiol, 2959-2965.
- Shivaprasad HL. (2000).** Fowl typhoid and pullorum disease. Review in Scientific Technologies (OIE); 19(2):405-424.
- Snoeyenbos G.H. et Williams J.E.(1991).** Salmonellosis, Diseases of poultry 9th edition. Ed. Iowa State University Press,3, 72-137.
- Soussy C.J. (2004).** Le CA-SFM et la normalisation de l'antibiogramme en Europe. Bull. Soc. Fr. Microbiol, 19, 191-193.
- Steele M., Brown N., et Botzler G. (2005).** Prevalence of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the pacific coast of California & Washington.USA. Journal of wildlife diseases, 735-744.
- Stordeur P. et Mainil J.(2002).** La colibacillose aviaire, *Ann. Méd. Vét.*, **146**, 11-18
- Su L.H et Chiu C.H. (2007).** *Salmonella*: Clinical Importance And Evolution Of Nomenclature.
- Swanson SJ, Snider C, Braden CR, et al. (2007).** "Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium associated with pet rodents". *New England Journal of Medicine* 356 (1): 21–28.

T

Timko J., Kmet V. (2003). Susceptibility of Enterobacteriaceae from the Alpine Accentor *Prunella collaris*. ACTA VET. BRNO, 72: 285-288

Tindall BJ, Grimont PA, Garrity GM, Euzéby JP. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*.

Thomas A., Lallo C.H.O., and Badrie N. (2006). Microbiological Evaluation of Broiler Carcasses, Wash and Rinse Water from Pluck Shops (Cottage Poultry Processors) in the County Nariva/Mayaro, Trinidad, Trinidad and Tobago, West Indies. TROPICULTURA, 24, 3, 135-142.

Thorns J., Woodward M. (2000). Fimbriae of *Salmonella*. In :Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 35-55.

Train T.F., Khai L.T.L., Nguyen T.T., Akita M., Ogasawara N., Shinoda D., Hayashidani H. (2004). Prevalence of salmonella spp. in pigs, Chickens and Ducks in the Mekong Delta, Vietnam.J. Vet. , Med. Sci., 66:1011- 1014.

V

Valancony H., Humbert F., Drouin P., Balaine L., Lalande F., (2001).Influence du type de sol sur les performances des poulets, la gestion de l'ambiance et l'aptitude à la décontamination du poulailler. In Quatrième Journées de la Recherche Avicole, Nantes, 27-29 mars 2001, p 37- 40.

Van Der Velden A.W., Lindgren S.W., Worley M.J., Heffron F. (2000). *Salmonella* pathogenicity island Independent induction of apoptosis in infected macrophages by *Salmonella enterica* serotype Typhimurium.*Infect. Immun.*, 68, 5702-5709.

Van Immerseel,F.,De Buck,J.,Boyen,F., Pasmans,F., Bertrand,S., Collard,J.M., Saegerman,C., Hooyberchs, J.,Haesebrouck,F., et Ducatelle,R. (2005). *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs: Un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. Ann.Méd.Vét.149,34-48.

Villate D.(2001). Maladies des volailles. 2eme édition France agricole.

Vimal D., Khullar M., Gupta S., Ganguly N.(2000). Intestinal mucins: the binding sites for *Salmonella typhimurium*. *Mol. Cell. Biochem.*, 204, 107-17.

Voidarou C., Vassos D., Kegos T., Koutsotoli A., Tsiotsias A., Skoufos J., Tzora A., Maipa V., Alexopoulos A., and Bezirtzoglou E.. (2007). Aerobic and Anaerobic Microbiology of the Immersion Chilling Procedure During Poultry Processing. *Poultry Science* 86:1218–1222.

W

Wang L, Rothemund D, Curd H, and Reeves P.R.(2003). Species-Wide Variation in the *Escherichia coli* Flagellin (H-Antigen) Gene.

Waltman W. (2000). Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. *Salmonella* in Domestic Animals. 355-372.

Weill F.X. (2008). Salmonelles non typhiques d'origine animale et résistance aux antibiotiques. *Bull Acad.Vét.France*, 161 (3), 221-234.

Weill F.X et Filliol I. (2008). Rapport d'Activité 2008:Centre National de Référence *Escherichia coli* /Shigella, Institut Pasteur.

Weill F.X. (2011). Antibiorésistance et *Salmonella* : contribution à la compréhension de la barrière de transmission inter-espèces. Cours Institut Pasteur de Paris.

Woodward D, Khakhria R, Johnson WM, and Poppe C.(1997). *Salmonella* isolated from humans , animals and other sources in Canada, 1983 - 1992. *Epidemiology and infection*;119: 15-23.

Y

Yan S.S., Pendrak M.L., Abela-Ridder B., Punderson J.W., Fedorko D.P. et Foley S.L. (2004). An overview of *Salmonella* typing public health perspectives. *Clinical and applied immunology reviews*.4,189-204.

Yrliid Uy. (2001). In vivo activation of dendritic cells ad T cells during *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection, *Infect. Immun.*, 69, 5726-5735.

Z

Zahar JR. et Moumile K. (2003). *Escherichia coli*, définition, épidémiologie des résistances. Document du service de microbiologie hygiène, CHU Necker Enfants malades.

Zhao C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E., Zhao S., White D.G., Wagner D., And Meng J.(2001). Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. *Applied And Environmental Microbiology*, 5431–5436.

@ webographie

Anonyme. (2008). Galerie API20e (<http://www.flickr.com/photos/cdepaz/2415035755/>)

Anonyme. (2010). La galerie Api20e (pedagogie.ac-montpellier.fr/Disciplines/sti/.../LA_GALERIE_Api20e.PPT).

Anonyme. (2011). Sérotypage des Gram- . (<http://pedagogie.ac-montpellier.fr/Disciplines/sti/biotechn/documents/Le%20s%C3%A9rotypage.pdf>)

Anonyme. (2011). Understanding The E.Coli Bacteria (<http://melpor.hubpages.com/hub/Understanding-The-E-Coli-Bacteria>)

Anonyme. (2011). Interprétation des réactions biochimique de la galerie API20E (http://www2.ac-lyon.fr/enseigne/biotech/microbio/tests_microbiologie2.htm)

Anonyme. (2011). Alerte aux bactéries multi-résistantes aux antibiotiques ! (<http://www.agro-media.fr/actualit%C3%A9/consommation/alerte-aux-bact%C3%A9ries-multi-r%C3%A9sistantes-aux-antibiotiques>)

Biokar Diagnostic. (2011). Document gélose Hektoen/Salmonella (<http://www.biokar-diagnostics.fr>) .

Biokar Diagnostic. (2011). Document gélose XLD/Salmonella (<http://www.biokar-diagnostics.fr>)

Biokar Diagnostic. (2011). Document gélose TBX/*Escherichia coli* (<http://www.biokar-diagnostics.fr>)

Delahaye A. (2010). Technique galerie Api20E (<http://www.arnobio2.com/techniques/20-e.pdf>) .

Djelouat S. (2011), Les *Escherichia Coli* : Etude Et Diagnostic (<http://knol.google.com/k/les-eschrichiacoli>).

Fraperie P. (2007). Coloration Gram salmonella (http://www.geniebio.ac-aix-marseille.fr/biospip/spip.php?article252&id_document=831)

Heipha Diagnostic. (2008). Document XLD Agar (<http://www.heipha.com>) .

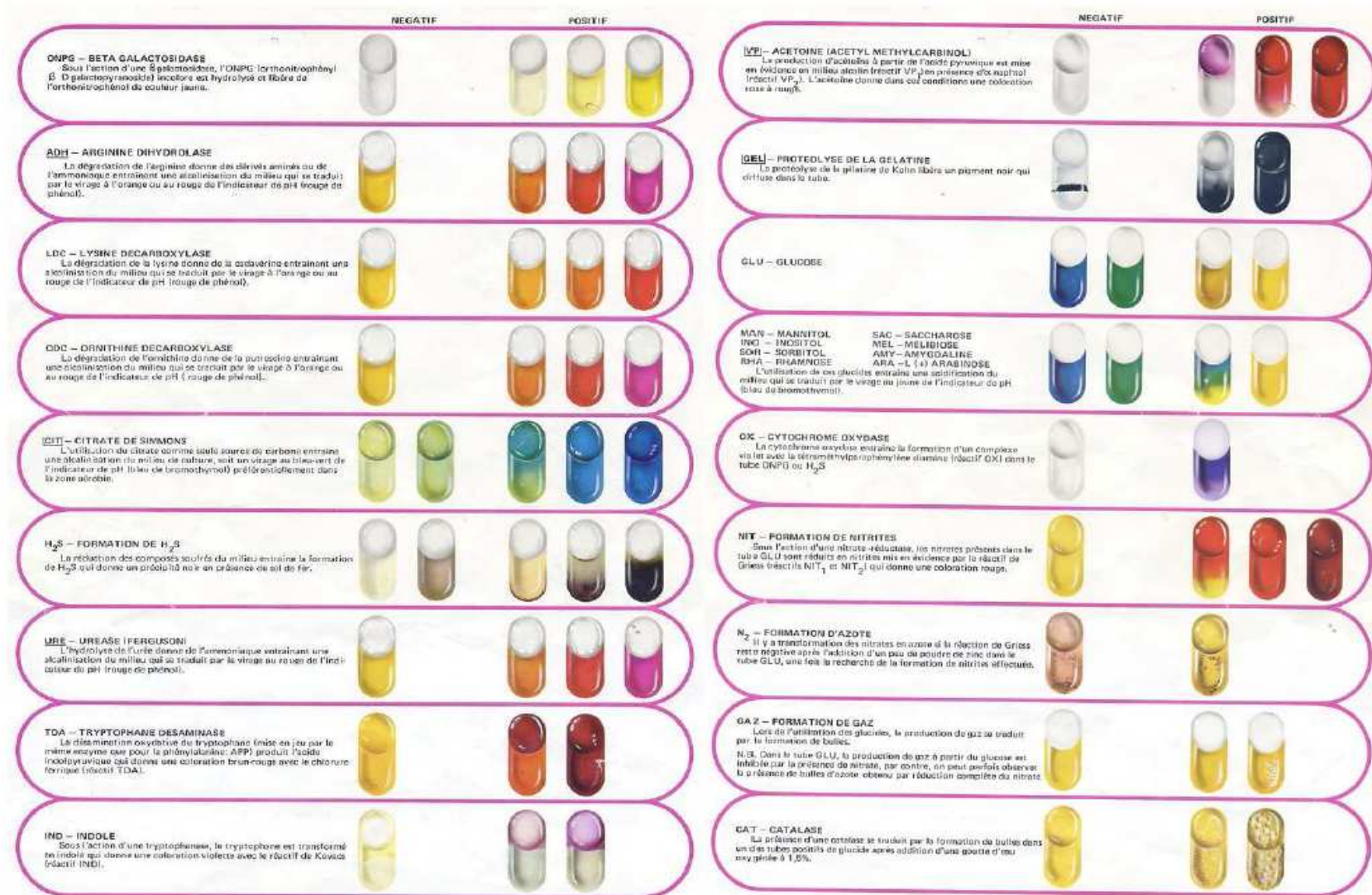
Mehdar A. (2010). TSI salmonella (<http://fiveprime.org/hivemind/Tags/high,microbiology>)

Wikipédia, (2011). *Escherichia coli* (http://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli). Consulté le 03/08/2011.

Tableau°17 : Exemple de tableau d'interprétation des diamètres critiques des zones d'inhibition de certains antibiotiques testés contre les entérobactéries (Rahal, 2008).

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)	
		Résistant	Intermédiaire	Sensible	Résistant	Sensible
<u>β-lactamines :</u>						
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 8
Amoxicilline + Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4
Cefazoline	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Cefotaxime	30µg	≤ 14	15 – 22	≥ 23	≥ 64	≤ 8
Ceftriaxone	30µg	≤ 13	14 – 20	≥ 21	≥ 64	≤ 8
Imipenem	10µg	≤ 13	14 - 15	≥ 16	≥ 16	≤ 4
<u>Aminosides</u>						
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 8	≤ 4
<u>Quinolones</u>						
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	≤ 8
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	≤ 1
<u>Autres</u>						
Chloramphenicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	≤ 8
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	≤ 64
Trimethoprim + sulfamethoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38

Figure°37 : Interprétation des codes couleurs des réactions biochimiques sur galerie API20E



Tableau°18 : Classification des différents antibiotiques testés (Cohen et Jacquot, 2008).

<i>Classe d'antibiotiques</i>	<i>Exemples de molécules</i>
β-lactamines	
Pénicillines (β-lactame)	<i>Amoxicilline + év. un inhibiteur de lactamase=acide clavulanique</i> <i>Ampicilline</i> <i>Pénicilline G. Substance originale de la pénicilline</i>
Céphalosporines (β-lactame)	<i>1ère génération</i> - Céfaclor - Cefazoline <i>2ème génération</i> - Céfamandole - Céfuroxime <i>3ème génération</i> - Céfixime - Céfpodoxime - <i>Céfotaxime</i> - Ceftazidime - Ceftriaxone
Aminosides	<i>Streptomycine</i> <i>Neomycine</i> <i>Tobramycine</i> <i>Amikacine</i> <i>Gentamycine</i>
Macrolides	<i>Azitromycin</i> <i>Erythromycine</i> <i>Roxithromycine</i> <i>Clarithromycine</i>
Quinolones	
Quinolones	<i>1ère génération</i> - <i>Acide nalidixique</i>
Fluoroquinolones	<i>2ème génération</i> - Pefloxacin - Ofloxacin <i>3ème génération</i> - <i>Ciprofloxacine</i>
Phénicolés	<i>Chloramphénicol</i>
Cyclines	<i>Tétracyclines</i>

Liste des bouillons et milieux de culture utilisés :

- Eau peptonnée tamponnée
- Bouillon Rappaport Vassiliadis Soja
- Bouillon Sélénite Cystéine
- Gélose XLD
- Gélose Hektoen
- Gélose nutritive
- Gélose TSI
- Gélose Muller Hinton
- Eau physiologique stérile
- Gélose TBX
- Gélose de conservation

Compositions pour un litre de milieu:

- **Eau peptonnée tamponnée :**

- Peptone de viande ou de caséine	1,0 g
- Chlorure de sodium (NaCl)	4,30 g
- Phosphate disodique	7,20 g
- Phosphate monopotassique	3,50 g
- Eau distillée stérile	1000ml

- **Bouillon Rappaport Vassiliadis Soja :**

- Peptone papaïnique de soja	4,50 g
- Chlorure de sodium	7,20 g
- Phosphate monopotassique	1,26 g
- Phosphate dipotassique	0,18 g
- Chlorure de magnésium anhydre	13,4 g
- Vert malachite (oxalate)	36,0 mg

- **Bouillon Sélénite Cystéine :**

- Tryptone	5,0 g
- Lactose	4,0 g
- Phosphate disodique	10,0 g
- Hydrogénosélénite de sodium	4,0 g
- L-cystine	10,0 mg

- **Gélose XLD :**

- Extrait autolytique de levure	3,0 g
- L-Lysine	5,0 g
- Lactose	7,5 g
- Saccharose	7,5 g
- Xylose	3,5 g
- Désoxycholate de sodium	2,5 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	6,8 g
- Citrate ferrique ammoniacal	0,8 g
- Rouge de phénol	80,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

- **Gélose Hektoen :**

- Peptone pepsique de viande	12,0 g
- Extrait autolytique de levure	3,0 g
- Lactose	12,0 g
- Saccharose	12,0 g
- Salicine	2,0 g
- Sels biliaires	9,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide	40 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

- **Gélose nutritive :**

- Tryptone	5,0 g
- Extrait de viande	1,0 g
- Extrait de levure	2,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Agar agar bactériologique	12,0 g

- **Gélose TSI :**

- Tryptone	14,0 g
- Extrait autolytique de levure	3,0 g
- Extrait de viande	3,0 g
- Glucose	1,0 g
- Lactose	10,0 g
- Saccharose	10,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	0,3 g

- Citrate ferrique ammoniacal	0,3 g
- Rouge de phénol	24,0 mg
- Agar agar bactériologique	13,5 g

• **Gélose Muller Hinton :**

- Hydrolysât acide de caséine	17,5 g
- Infusion de viande	2,0 g
- Amidon soluble	1,5 g
- Agar agar bactériologique	17,0 g

• **Gélose TBX :**

- Tryptone	20,0 g
- Sels biliaires n°3	1,5 g
- BCIG	75,0 mg
- Agar agar bactériologique	9,0 g

• **Gélose de conservation :**

- Peptone	10,0 g
- Extrait de viande	5,0 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Agar agar bactériologique	10,0 g

RESUME

Les sérovars de *Salmonella* font partie des principaux pathogènes bactériens pouvant provoquer des pathologies d'origine alimentaire et *Escherichia coli* est un excellent indicateur de contamination fécale.

Le but de cette étude était de détecter et identifier ces microorganismes afin d'évaluer la qualité bactérienne du poulet. Les échantillons de volailles ont été recueillis au hasard à partir de différents points de vente de six communes du centre ville d'Alger et analysés pour déterminer la prévalence des souches de *Salmonella* spp, le dénombrement d'*Escherichia coli* ainsi que d'évaluer la sensibilité de ces deux bactéries aux antibiotiques.

Au total 57 carcasses de poulet on fait l'objet d'une recherche de salmonelles selon la norme ISO-6579/ NFV08-052, le dénombrement d'*Escherichia coli* a été réalisé selon la norme

ISO-16649-2 ainsi qu'une évaluation de la sensibilité à dix antibiotiques par méthode microbiologique classique de diffusion sur gélose.

Les échantillons prélevés au niveau d'El Biar, du 1er Mai et de Draria ont permis d'isoler cinq souches de salmonelle, la prévalence globale de *Salmonella* spp. a été évaluée à 8,8% avec identification de deux sérovars *S.Kentucky* et *S.Virchow*. Les résistances les plus élevées ont concerné l'Erythromycine (résistance de 100%) puis l'Amoxicilline, l' Amoxicilline+ Acide clavulanique et les Tétracyclines avec une résistance moyenne de 60%. *S.Kentucky* a révélé une proportion inquiétante de résistance à différentes molécules testées en particulier à la Ciprofloxacine.

Nous avons obtenu une prévalence de 100% pour *Escherichia coli* avec un dénombrement moyen de $2,6 \pm 1,8$ UFC/g. Ces résultats ont permis d'évaluer à 86% le taux d'échantillons présentant des valeurs dépassant le seuil d'acceptabilité fixé par les normes Algériennes (arrêté interministériel du 24 janvier 1998) et Françaises (FIA 2009 -Règlement (CE) n° 2073/2005). Deux antibiotiques ont présenté un taux de résistance maximal de 100% pour l'Erythromycine et les Tétracyclines, suivis par l'Ampicilline, l'Amoxicilline et l'acide Nalidixique avec respectivement 63,2%, 70,2% et 38,6% de résistance.

Mots-clés : Poulet, carcasse, bactéries, *Salmonella*, *Escherichia coli*, prévalence, antibiotiques, antibiorésistance, *Kentucky*, *Virchow*.

ABSTRACT

Salmonella serovars are among the major bacterial pathogens that can cause foodborne disease and *Escherichia coli* is an excellent indicator of fecal contamination.

The purpose of this study was to detect and identify these organisms to assess the bacterial quality of chicken. Samples from poultry were collected randomly from different outlets six communes of the city center of Algiers and analyzed to determine the prevalence of strains of *Salmonella* spp, *Escherichia coli* count and to evaluate the sensitivity of these bacteria to antibiotics.

A total of 57 chicken carcasses on the subject of a search for *Salmonella* according to ISO-6579 / NFV08-052, the enumeration of *Escherichia coli* was performed according to standard

ISO 16649-2 and an assessment of the sensitivity to ten antibiotics by microbiological method conventional agar diffusion.

Samples taken at El Biar, 1er Mai and Draria have isolated five strains of salmonella, the overall prevalence of *Salmonella* spp. was estimated at 8.8% with identification of two serovars *S. Kentucky* and *S. Virchow*. The highest resistances are concerned Erythromycin (resistance of 100%) then the +A.Clavulanic, Amoxicillin and Tetracyclin with an average resistance of 60%. *S. Kentucky* revealed an alarming proportion of resistance to different molecules tested in particular Ciprofloxacin.

We obtained a prevalence of 100% for *Escherichia coli* with an average count of 2.6 ± 1.8 CFU / g. These results were used to assess the rate of 86% of samples with values exceeding the acceptability standards set by the Algerian (interministerial decree of 24 January 1998) and French (FIA-2009 Regulation (EC) No. 2073 / 2005). Two antibiotics showed a resistance rate of up to 100% for Erythromycin and Tetracyclin, followed by the Ampicilin, the Amoxicillin and A.Nalidixic respectively 63.2%, 70.2% and 38.6% resistance.

Keywords: chicken, carcass, bacteria, *Salmonella*, *Escherichia coli*, prevalence, antibiotics, antimicrobial resistance, *Kentucky*, *Virchow*.

ملخص

أنواع السالمونيلا هي من بين مسببات الأمراض البكتيرية الرئيسية التي يمكن أن تسبب الأمراض التي تنقلها الأغذية و كولاى مؤشرا ممتازا للتلوث برازي .

وكان الغرض من هذه الدراسة لكشف وتحديد هذه الكائنات لتقييم نوعية البكتيريا من الدجاج .تم جمع عينات من الدواجن عشوائيا من منافذ مختلفة six البلديات من وسط

مدينة الجزائر العاصمة وتحليلها لتحديد مدى انتشار سلالات السالمونيلا spp ، القولونية العد القولونية وتقييم حساسية هذه البكتيريا للمضادات الحيوية .

وكان ما مجموعه 57 جثث الدجاج في موضوع بحث عن السالمونيلا وفقا ل ISO - 6579 NFV08 / 052 - ، أجرى تعداد القولونية وفقا لمعيار

ISO 16649-2 ، وتقييما للحساسية المضادات الحيوية إلى عشرة حسب الطريقة التقليدية الميكروبيولوجية نشر آغار .

عزلت عينات أخذت في البيار 1 مايو والدرارية five سلالات السالمونيلا ، ومعدل انتشار spp السالمونيلا .وقدرت بنسبة 8.8 ٪ مع تحديد اثنين من ولاية كنتاكي و S.

فيرخوف س .أعلى المقاومة ERY (مقاومة 100 ٪) ثم ، AMC AMX ET مع المقاومة في المتوسط 60 ٪ .كشفت S. كنتاكي نسبة مقلقة لمقاومة جزيئات مختلفة

اختبارها في سيبروفلوكساسين صالخصو وجه على

حصلنا على نسبة انتشار قدرها 100 ٪ عن القولونية مع عدد متوسط قدره 2.6 ± 1.8 CFU / جرام .وقد استخدمت هذه النتائج لتقييم نسبة 86 ٪ من العينات مع القيم

التي تتجاوز معايير القبول التي حددتها الجزائرية (المرسوم الوزارات من 24 يناير 1998 (والفرنسية 2009 - FIA) اللائحة (EC) رقم 2073 . (2005) /وأظهرت

اثنين المضادات الحيوية معدل المقاومة لمدة تصل إلى 100 ٪ ل ERY ، ET ، يليه صباحا ، و 63.2 AMX NA ٪ على التوالي ، 70.2 ٪ و 38.6 ٪ المقاومة .

الكلمات الرئيسية : الدجاج ، والذبيحة ، والبكتيريا ، السالمونيلا ، كولاى ، وانتشار والمضادات الحيوية ومضادات الميكروبات المقاومة ، كنتاكي ، فيرخوف .

