

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Mémoire

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master complémentaire en sciences vétérinaires

THÈME :

**LES SALMONELLOSES AVIAIRES : LESIONS ET ANTIBIO-
RESISTANCE DES SELMONELLA *SPP* ISOLEES DANS
LES ELEVAGES DE L'EST ET DU CENTRE DE L'ALGERIE**

Présenté par : DERBAL RADHIA

CHENAIFI SAFAA

BELHEND SALIHA

Soutenu le : 26 Février 2019

Devant le jury composé de:

- Président : Mr KHALEF DJ.
- Promoteur : Mr MASSAI CR.
- Examinatrice 1 : Mme ABED M.
- Examinatrice 2 : Mme YAHYAOUI WI.

Professeur (ENSV)
Maitre de conférences B
Maitre de conférences B
Maitre Assistant A

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Tout au long de ce travail, nous avons reçu l'aide et l'encouragement de nombreuses personnes que nous tenons ici à remercier, sans elles, ce mémoire n'aurait pu aboutir.

Notre reconnaissance va tout particulièrement à Monsieur Massai Chafik qui nous a apporté ses précieux conseils et nous a aidées à mener ce travail à son terme.

Nos remerciements vont aussi aux membres de jury, Monsieur KHALEF DJAMEL, Madame ABED MOUNA et Madame YAHYAOUI WAFI, d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Nous portons un témoignage de gratitude à nos familles, et nos amis qui, d'une manière ou d'autre, nous ont soutenues dans cette périlleuse aventure.

Dédicace

A mes bonnes étoiles : Maman et Papa

A mes muses Hayet et Rymel et mes gendres : Kadi et Diden

Au précieux frère Khalil

A mes deux anges Bochra et Hamidou

A mes chères amies : Fifi , Mery , Nour el Houda ,Salouh, kamir et Didou

A mon trinôme : Radus , Islah

Une spéciale dédicace a Monsieur : Takfarinass Idres



CHENAIFI SAFAA

Dédicace

A l'aide de dieu, le tout puissant ce travail est achevé ; je le dédie à toutes les personnes qui me sont chères.

A la mémoire de mes parents, J'aurais souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie. Vous m'avez toujours fait preuve d'amour et d'affection, vous êtes toujours présents dans mon esprit et dans mon cœur, Aussi dans ce moment de joie, vous avez toutes mes pensées. Que vos âmes reposent en paix.

A ma chère grand-mère tous les mots ne pourraient témoigner de ta gratitude, aussi je te dédie ce travail comme fruit de ton dévouement et l'expression de mon profond amour.

A mes frères Akram , Djamel, Khalil et Ibrahim

A mes sœurs Najima , Faiza et ma jumelle Najiha

A mes amies Manel ; Lamis ;Wissal ; Nour ;Rofaida ;Katia ;Chahinaz et Zineb

A Mes belles Marwa et Saliha

Une dédicace spéciale aux docteurs vétérinaires qui ont participé de près ou de loin à ma formation qui m'ont encouragé et qui m'ont ouvert les yeux sur le terrain



Derbal Radhia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents *Thoraya* et *Nour Eddine*, je vous aime.

A mon frère *Hatem* et ma sœur *Kholoud*.

A ma tante *Fairouz*.

A mes chères **Radhia** et **Marwa**.

A mes amies : *Fatima, Nada, Afaf, Roufaida, Rania, Louiza, Lamis, Katia, khaoula, Loubna, Wafa*.

Une spéciale dédicace à Monsieur : *Takfarinass Idres*

A tous les autres amis et collègues que je n'ai pas nommés mais qui m'ont tous apporté leur amitié, leur soutien et leur patience.

SALIHA

Liste des abréviations

AC : Acide ;

ADH : Arginine dihydrolase ;

ADN : Acide désoxyribonucléique ;

AM : Ampicilline ;

AMX :Aoxicilline ;

AMY : Amydaline ;

ARA : Arabinose ;

ARN: Acide ribonucléique ;

ATB: Antibiotique ;

AW: Activité of water;

B : Béta ;

C: Cloramphenicol ;

C°: Degré Celsius ;

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

CIT : Citrate ;

CL : colistine ;

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ;

CN :Gentamicine ;

COT : Trimethoprim/ Sulfamide ;

CTX : Cefotoxime ;

ENR : Enrofluxacine ;

ENSV : Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire ;

GEL : Gélatine de Kohn ;

Gr : Gramme ;

H.I.D.A.O.A : Hygiène Industrielle des Denrées d'Origine Animale ;

H2S : Sulfate d'hydrogene ;

I : Intermediarie ;

ID: Degré Identification ;

IND: Indole ;

INO : Inositol;
K : Neomycine ;
L'OMS : Organisation Mondiale de la Santé ;
LDC : Lysine décarboxylase ;
LE : Enrofloxacin ;
LPS : Lipopolysaccharide ;
MAN : Mannitol ;
MEL : Mélibiose ;
MH : Muller Hinton ;
mL : millilitre ;
mm : millimètre ;
N : Nombre ;
NA : Acide nalidixic ;
NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards ;
NIT: Nitrofurane;
O.N.P.G : Ortho-Nitrophenyl-beta-Galactoside;
ODC : Ornithine Décarboxylase ;
PG : Peptidoglycan;
PLP : Protéines liant la pénicilline ;
R : Résistance ;
RHA : Rhamnose ;
S : Salmonella ;
S : Sensible ;
SAC: Saccharose ;
SFB : Selinite F Broth ;
SOR : Sorbitol;
Subsp : Sous-espèce ;
TDA : Tryptophane Désaminase ;
TE : Tétracycline ;
TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective ;
TSI : Tri Sugar Iron ;
URE : Urée ;
VP : Voges –Proskauer ;
XLD : Xylose Lysine Desoxycholate

Tables des matières

INTRODUCTION.....	1
--------------------------	----------

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :CONTAMINATION DES PRODUITS AVICOLES	2
--	----------

1. Filière aviaire dans l'épidémiologie des toxi-infections alimentaires à salmonelles.....	2
2. Contamination des produits avicoles par les salmonelles.....	2
2.1. Contamination des viandes	2
2.2. Contamination des œufs.....	3
2.2.1. Contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille.....	3
2.2.2. Contamination de l'œuf pendant sa formation.....	4

CHAPITRE II : LES SALMONELLES	5
--	----------

1. Historique.....	5
2. Définition.....	5
3. Habitat.....	6
4. Nomenclature et taxonomie.....	6
5. Etude de l'agent causal	6
5.1. Caractères bactériologiques et morphologiques.....	6
5.2. Caractères cultureux.....	7
5.3. Caractères biochimiques.....	7
6. Facteurs de croissance	9
7. Caractères antigéniques.....	9
8. Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité.....	10

CHAPITRE III : LES INFECTIONS A SALMONELLA.....	11
--	-----------

1. Introduction	11
2. Historique.....	11
3. Définition.....	12
4. Enteritidis.....	12
4.1. Définition.....	12
4.2. Etiologie.....	13
4.3. Pouvoir pathogène.....	13
4.4. Diagnostic.....	14
4.5. Traitement.....	14
4.6. Prophylaxie.....	15
5. Infections par Salmonella Gallinarum-Pullorum (SGP)	16
5.1. Définition.....	16
5.2. Etude clinique.....	16
5.3. Lésions.....	17
5.4. Diagnostic.....	17
5.5. Traitement.....	17
5.6. Prophylaxie.....	18
6. Infection par Salmonella arizonae.....	18
6.1. Introduction.....	18
6.2. Agent pathogène.....	18
6.3. Les signes cliniques.....	18
6.4. Les lésions	18
6.5. Diagnostic.....	19
6.6. Contrôle et traitement.....	19
CHAPITRE IV : LES ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCES.....	20
1. Les antibiotiques	20
1.1. Introduction	20
1.2. Définition.....	20
1.3. Historique.....	20

1.4. Classification.....	20
2. L'antibiorésistance.....	23
2.1. Définition	23
2.2. Types de résistance.....	23
2.2.1. Résistance naturelle.....	23
2.2.2. Résistance acquise.....	23
2.3. Mécanismes génétiques de la résistance acquise.....	23
2.4. Mécanismes biochimiques de la résistance acquise.....	23
2.5. Conséquence de la résistance.....	26

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES	27
1. Objectifs.....	27
2. Lieu et période de l'étude.....	27
3. Matériel et méthodes.....	27
3.1. Matériel.....	27
3.1.1. Echantillonnage et prélèvement.....	27
3.1.2. Milieux de culture.....	28
3.1.3. Produits de laboratoire.....	28
3.2. Méthodes.....	29
3.2.1. Conduite expérimentale.....	29
3.2.2. Autopsie.....	30
3.2.3. Bactériologie.....	31
3.2.3.1. Isolement des salmonelles.....	31
3.2.3.1.1. Pré-enrichissement.....	31
3.2.3.1.2. Enrichissement.....	32
3.2.3.1.3. Ensemencement.....	32
3.2.3.2. Identification des salmonelles.....	33

3.2.3.2.1. Identification morphologique	33
3.2.3.2.2. Identification biochimique.....	33
3.2.3.2.2.1. Test des 3 sucres (TSI).....	33
3.2.3.2.2.2. Identification biochimique par API 20 E..	35
3.2.3.3. Antibiogramme.....	40
3.2.3.3.1. Principe.....	40
3.2.3.3.2. Technique.....	41
3.2.3.3.3. Lecture	43
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....	44
1. Lésions.....	44
1.1. Lésions hépatiques.....	44
1.2. Lésions des organes génitaux.....	44
2. Bactériologie.....	45
2.1. Isolement et identification des <i>Salmonella</i>	45
2.1.1. Résultats sur Milieu Hektoen.....	45
2.1.2. Résultats sur milieu TSI.....	47
2.1.3. Résultats de la galerie API 20 ^E	48
3. Antibiogramme.....	49
3.1. Résistances individuelles par antibiotique.....	49
3.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques.....	55
3.2.1. Les Quinolones.....	55
3.2.2. Les Furanes	55
3.3. Multirésistances.....	56
CONCLUSION	60
RECOMMANDATIONS.....	61
REFERENCES BIBLIGRAPHIQUES	
ANNEXES	

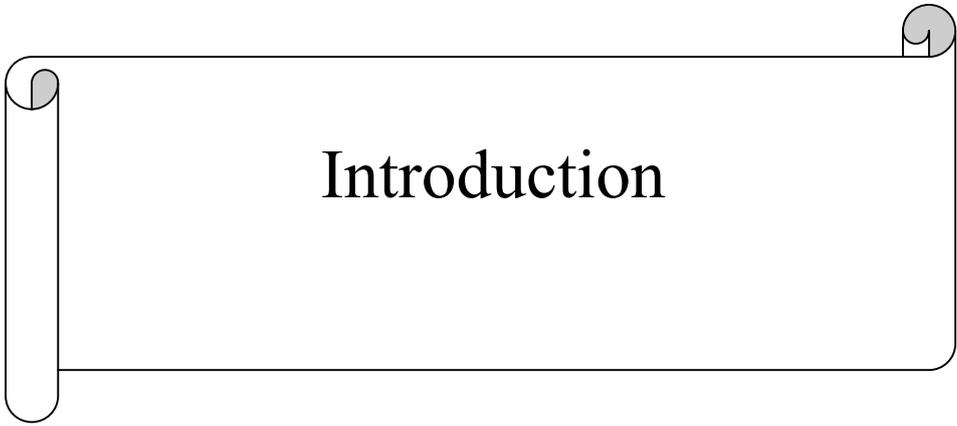
Liste des figures

Figure 1 : Structure des porines.....	24
Figure 2: Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	24
Figure 3 : Modification de la cible	25
Figure 4 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif.....	25
Figure 5: Prélèvements d'organes dans les pots stériles	28
Figure 6 : Réactifs utilisés	29
Figure 7: Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme	29
Figure 8: Schéma montrant le protocole expérimental suivi.....	30
Figure 9 : Flambage et découpage des organes.....	31
Figure 10: Pré-enrichissement dans de l'eau peptonée tamponée	32
Figure 11: Enrichissement dans le milieu SFB S /C + cysténe	32
Figure 12: Ensemencement sur gélose Hektoen	33
Figure 13 : Tube de milieu TSI	34
Figure 14 : Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et ajout des réactifs.....	40
Figure 15 : Application des disques d'antibiotiques	43
Figure 16 : Foie présentant une teinte verte bronzée caractéristique de la typhose.....	44
Figure 17 : Foie hyperrophie présentant des foyers de nécrose blanchâtres.....	44
Figure 18 : Ovaire avec de nombreux follicules difformés.....	45
Figure 19 : Aspect de colonies suspectes de <i>Salmonella gallinarum</i> sur milieu Hektoen.....	46
Figure 20 : Aspect de colonies suspectes de <i>Salmonella arizonae</i> sur milieu Hektoen.....	46
Figure 21 : Aspect de colonies suspectes de <i>Salmonella arizonae</i> sur milieu XLD.....	47
Figure 22: Resultats de l'identification par le test TSI de <i>Salmonella gallinarum</i>	48
Figure 23 : Resultats de l'identification par le test TSI de <i>Salmonella arizonae</i>	48
Figure24: Résultat de l'identification par la galerie Api 20E de <i>Salmonella gallinarum</i>	48
Figure 25 : Résultat de l'identification par la galerie Api 20E de <i>Salmonella arizonae</i>	49
Figure 26: Pourcentages de résistance et sensibilité des souches de <i>S.gallinarum</i>	51
Figure 27 : Pourcentages de résistance et sensibilité des souches de <i>S.arizonae</i>	53
Figure 28 : Pourcentages des multirésistances des souches de <i>S.gallinarum</i> isolées.....	57

Figure 29 : Pourcentages des multirésistances des souches de *S.arizonae* isolées.....59

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques générales des entérobactériaceae	7
Tableau 2: Caractéristiques biochimiques communes aux salmonelles.....	8
Tableau 3 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre Salmonella	8
Tableau 4 : Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI.....	34
Tableau 5: Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme.....	41
Tableau 6 : Application des disques d'antibiotique par boîte de Pétri.....	42
Tableau 7 : Résultats des caractères biochimiques des isolats identifiés par le test TSI.....	47
Tableau 8: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches <i>Salmonella</i>	50
Tableau 9: Fréquence des antibiorésistances des <i>Salmonella gallinarum</i>	52
Tableau 10 : Fréquence des antibiorésistances des <i>Selmonella arizonae</i>	54
Tableau 11 : Pourcentages de multirésistances des souches <i>S.gallinarum</i>	56
Tableau 12 : Les antibiotypes de <i>Salmonella gallinarum</i>	58
Tableau 13 : Pourcentages de multirésistances des souches <i>S.arizonae</i>	59

A decorative scroll graphic with the word "Introduction" written on it. The scroll is horizontal and has a light gray fill. It features a vertical strip on the left side that is rolled up, and the top and right edges are also rolled up, with the top-right corner being a small, dark gray circle. The word "Introduction" is centered on the scroll in a black, serif font.

Introduction

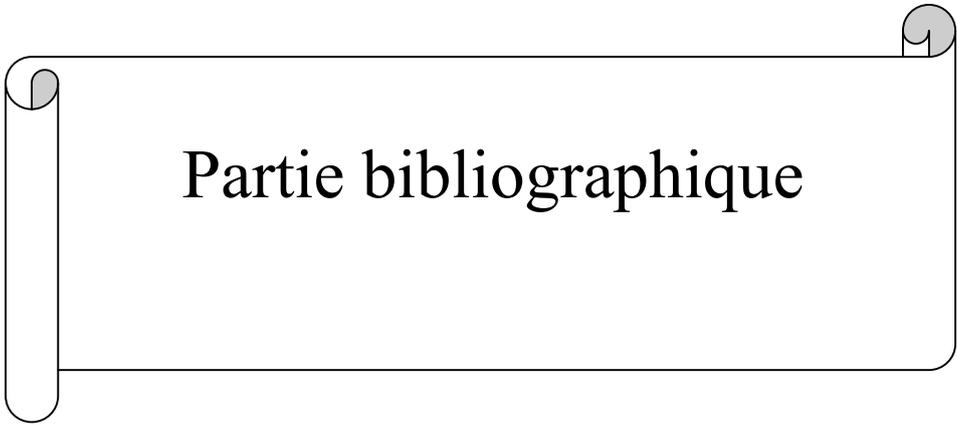
Introduction

Depuis les premières observations rapportées en 1880 par Eberth jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et médicaux. La présence de cette bactérie peut engendrer de grosses pertes économiques et une forte incidence chez l'homme, notamment des fièvres typhoïdes et des infections du tractus digestif suite à la consommation de denrées alimentaires d'origine animale contaminées. Parmi ces denrées, les produits de viande de volaille et en particulier les œufs, demeurent malgré les efforts des producteurs les aliments les plus incriminés (NAVOUN SILUE, 2005).

Très peu de données expérimentalement vérifiables existent sur la prévalence des salmonelles en Algérie, néanmoins certaines données laissent augurer d'un danger en expansion même si cela reste à discuter entre une expansion réelle et une meilleure détection (ABOUN et al., 2003) .

Étant donné que cette problématique perdure depuis des années, des législations ont été rédigées et des programmes de lutte ont été mis en place dans la plupart des pays de la communauté européenne afin de minimiser les risques dus à salmonelles (IMMERSEEL et al., 2005).

C'est dans cette optique que s'inscrit ce travail de mémoire de master , dont l'objectif consiste à isoler et identifier par culture bactériologique des souches présentant des lésions de salmonellose chez l'espèce volaille, ainsi que faire une évaluation du profil de résistance des différents isolats, et ceci, à l'encontre d'un ensemble de molécules d'antibiotiques utilisées en antibiothérapie.



Partie bibliographique

Chapitre I

Contamination des produits avicoles

1. Filière aviaire dans l'épidémiologie des toxi-infections alimentaires à salmonelles

Parmi les sérotypes les plus fréquemment incriminés lors de toxi-infections à salmonelles, *Salmonella Enteritidis*, *Hadar* et *Virchow* sont considérés comme assez typiques de la filière aviaire. Quoique moins spécifique des volailles, le sérotype Typhimurium est aussi très fréquemment rencontré dans les élevages de poulets, de dindes et de canards (RAJASHEKARA et al., 2000).

Le fort taux d'infection salmonellique des oiseaux d'élevage est la cause de la fréquente contamination des produits avicoles par des salmonelles. On explique ainsi que les préparations à base d'œufs représentent la principale famille de denrées incriminée lors de l'apparition d'une toxi-infection alimentaire (UYTTENDAELE et al., 1998).

Le rôle des viandes de volailles dans l'épidémiologie des salmonelloses chez l'homme apparaît, par contre, moins évident.

2. Contamination des produits avicoles par les salmonelles

2.1. Contamination des viandes

Il a été démontré que le taux de contamination par les salmonelles des produits de découpe est plus élevé que celui qu'on trouve au niveau superficiel des carcasses de volaille dans les conditions normales d'abattage.

Selon les études et en fonction des plans d'échantillonnage utilisés, la contamination salmonellique mise en évidence dans les abattoirs peut varier mais reste en général de l'ordre de 30% des carcasses (BRYAN et DOYLE, 1995).

1) Fréquence

Les viandes de volailles sont assez rarement mises en cause en tant qu'aliments à l'origine de toxi-infections alimentaires. Très fréquemment contaminées par des salmonelles, ces denrées sont habituellement consommées très cuites, la cuisson constitue généralement un traitement assainissant efficace.

2) Facteurs de risque

La composition de l'aliment et le sérotype de salmonelle peuvent faire varier de façon considérable le résultat obtenu en matière d'assainissement par la cuisson. Il est donc possible d'envisager que des salmonelles survivent à des traitements de cuisson, notamment ceux utilisant les micro-ondes. L'essor de procédés de cuisson à basse température, ainsi que certains modes culinaires de consommation de viandes crues ou très peu cuites renforcent ce risque.

Le goût de certains consommateurs pour le poulet cuit "rosé" a déjà été constaté lors d'épidémies de salmonellose. Il faut enfin noter que l'incorporation de viandes ou même de peau de poulet dans de nombreux produits élaborés, salades, plats cuisinés, charcuteries, accroît la diversité des préparations culinaires susceptibles de véhiculer des salmonelles d'origine aviaire (DESENCLOS et *al.*, 1996).

2.2. Contamination des œufs

Après la ponte, il est possible que les œufs soient contaminés par *S. Enteritidis* à travers les pores ou les fissures de la coquille quand l'œuf est contaminé par des matières fécales (GAST et BEARD, 1990). Il est également possible que la contamination ait lieu directement dans le jaune d'œuf, le blanc d'œuf, la membrane interne de la coquille ou la coquille même avant la ponte de l'œuf, suite à l'infection du système de reproduction de la poule pondeuse (TIMONEYET et *al.*, 1989).

2.2.1. Contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille

La présence de *Salmonella* sur la surface extérieure de la coquille de l'œuf et contamination du contenu de l'œuf présente une menace pour la santé publique (DE LOUVOIS, 1993).

Une multitude de sérotypes a été isolée de la coquille des œufs y compris *S. Enteritidis* (HUMPHREY, 1994). Cependant, dans la pratique, ce phénomène ne semble pas très fréquent puisque la panoplie de sérotypes que l'on trouve à la surface de la coquille, n'est pas du tout semblable à celle retrouvée à partir du contenu de l'œuf. En effet, à l'intérieur de l'œuf, on retrouve presque exclusivement *S. Enteritidis* (DE BUCK et *al.*, 2004).

Quelques rapports dans la littérature scientifique suggèrent que le contenu de l'œuf serait contaminé surtout pendant le passage dans le cloaque plutôt que par infection de l'ovaire (RODRIGUE et *al.*, 1990).

Afin de faire une distinction entre une contamination de la surface de l'œuf provenant de l'environnement, et une contamination qui a lieu durant la formation de l'œuf, on ne peut pas se contenter de faire des cultures de la coquille entière.

Certains auteurs ont approfondi cette problématique en immergeant l'œuf entier dans le milieu de culture et en faisant ensuite des cultures de coquilles après avoir assuré la désinfection préalable de leur surface (BICHLER *et al.*, 1996).

2.2.2. Contamination de l'œuf pendant sa formation

S. Enteritidis a été isolé du jaune aussi bien que du blanc d'œuf provenant de poules infectées. La plupart des auteurs concluent que l'albumen constitue le compartiment de l'œuf le plus fréquemment contaminé. Cette contamination du blanc d'œuf aurait lieu pendant le passage de l'œuf dans l'oviducte. Plusieurs auteurs suggèrent même que *S. Enteritidis* passerait dans les œufs le plus fréquemment au niveau de la partie supérieure de l'oviducte, associé à l'albumen (GAST *et al.*, 1990).

Après coloration immuno-histochimique, on a même retrouvé *S. Enteritidis* associée aux cellules sécrétoires du magnum supérieur et inférieur, ce qui pourrait expliquer pourquoi la bactérie contamine le blanc de l'œuf. Par contre, la contamination du jaune d'œuf indiquerait une contamination de l'ovaire. Dans le cas des œufs fécondés, une contamination de la membrane interne de la coquille peut mener à la situation que le poussin ne sera contaminé que tardivement et, parfois même, seulement au moment de l'éclosion (HOOP et POSPISCHIL, 1993).

Chapitre II

Salmonelles

1. Historique

Selon Le Minor et coll. (1994), le bacille a été observé pour la première fois en 1880 par un médecin allemand du nom d'Eberth. L'observation s'est faite sur des sections de rate et de nœuds lymphatiques mésentériques d'un patient mort de typhoïde. Le bacille a été ensuite cultivé en 1884 par Gaffky. En 1886, Salmon et Smith ont isolé l'actuelle *Salmonella enterica subsp. enterica sérotype choleraesuis*, à partir d'un porc atteint de « Hog cholera » (LE MINOR et COLL, 1994).

Quelques années plus tard, en 1896, Pfeiffer et Coll d'une part et Gruber et Durham de l'autre, ont découvert que le sérum des patients atteints de fièvre typhoïde agglutinait les cultures du bacille d'Eberth (bacille de la typhoïde). Au même moment, Widal puis Grunbaum, ont remarqué le même phénomène. Ce nouveau test est alors appelé le sérodiagnostic de WIDAL. L'organisme isolé est appelé le bacille paratyphoïdique par Achard et Bensaude (GRIMONT et COLL, 2000). D'autres bacilles, proches du bacille de la typhoïde et de ceux de la paratyphoïde sont ensuite découverts chez beaucoup d'espèces animales, à différents endroits et continuent à être décrits chaque année.

Dans un passé proche, les souches de salmonelles isolées de différents hôtes et différentes conditions cliniques étaient considérées comme différentes espèces et les bactériologistes les appelaient aux noms des pathologies qu'elles provoquent ou au nom de l'espèce animale dont le bacille provenait. C'est ainsi qu'on a: *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Abortusovis*, *Salmonella Typhimurium*, ... etc. Puis, sont arrivés les noms des lieux où ces germes ont été découverts: *Salmonella Panama*, *Salmonella Montevideo*, *Salmonella London*, ... etc. (LE MINOR et COLL, 1994). Le terme de salmonella n'a été créé qu'en 1900 par Lignières, en l'honneur de Salmon (LE MINOR et VERON, 1989).

2. Définition

Les salmonelles sont des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, parasites du tube digestif de l'homme et des animaux. Une distinction doit être faite entre les salmonelles

spécifiques et les salmonelles non spécifiques à une espèce. *Salmonella Pullorum* et *Salmonella Gallinarum* font partie des salmonelles spécifiques à une espèce très pathogène pour les volailles.

Les salmonelles non spécifiques à une espèce sont regroupées sous la dénomination **paratyphoïde**. Des exemples de ces salmonelles zoonotiques sont *Salmonella Enteritidis* et *Salmonella Typhimurium* (PIERRE, 2013).

3. Habitat

Les salmonelles peuvent être isolées de l'intestin de nombreuses espèces animales. Les animaux constituent un réservoir et la dissémination dans l'environnement provient essentiellement de contaminations fécales (BERENDS et al., 2003). Les salmonelles peuvent en outre survivre pendant de très longues périodes dans le milieu extérieur de quelques jours à 9 mois (GRAY et FEDORKA-CRAY, 2001).

4. Nomenclature et taxonomie

Elle a été initiée par White en 1926 et finalisée par Kauffmann en 1941, 1961, 1972, 1978 et par Le Minor. L'étude systématique des antigènes O, flagellaires H et capsulaires, permet de démontrer qu'il existe 87 facteurs antigéniques O et 96 facteurs antigéniques H (BOUVET, 1995).

Les combinaisons des différents déterminants antigéniques entre eux offrent en théorie plus de 20 000 possibilités. L'étude permet aussi de décrire beaucoup d'espèces (sérovars actuels).

Salmonella enterica était subdivisée en six sous espèces: *subsp. enterica*, *subsp. salamae*, *subsp. arizonae*, *subsp. diarizonae*, *subsp. houtenae* et *subsp. indica*.

Prenant l'exemple de *Salmonella Typhimurium*, la nomenclature s'établit comme suit: Genre: *Salmonella*, Espèce: *enterica*, Sous espèce: *enterica*, Sérotype: *Typhimurium* ou simplement *Salmonella Typhimurium* (GRIMONT, 2000).

5. Etude de l'agent causal

5.1. Caractères bactériologiques et morphologiques

Le genre *Salmonella* est défini par le Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (9ème éd. 1984), comme suit: Les salmonelles sont des bacilles de 0,5 à 1,5 μ x 2,0 à 5,0 μ , à Gram

négatif, anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche mais des mutants immobiles peuvent exister. Ils cultivent bien sur les milieux nutritifs ordinaires et donnent en 18 à 20 heures, des colonies de deux à trois millimètres de diamètre à l'exception de certains sérovars donnant toujours des colonies naines (*Abortus ovis* et *Abortus equi*).

Les caractéristiques générales sont rappelées dans le tableau n°1.

Tableau1 : Caractéristiques générales des entérobactériaceae

Bacilles gram négatif, non sporulés
Dimensions moyennes : 0,5µ sur 3µ.
Immobilés ou mobiles à ciliature péritriche.
Développement facile dans un milieu ordinaire.
Aérobies facultatifs et fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
Ne possède pas d'oxydase.
Réduisent les nitrates en nitrites.

Source : Pilet et Coll., 1997.

5.2. Caractères culturels

Aucun milieu n'est à présent disponible avec la capacité d'isoler seulement les salmonelles. C'est ainsi que les milieux qui tendent à être les plus sélectifs exigent du lactose, saccharose, cellobiose ou glycérol et de la salicine avec des indicateurs de pH. Le thiosulfate et les sels ferriques permettent la production et la détection de H₂S à moins que le pH soit acide.

La gélose Hektoen contient les sels biliaires (agents sélectifs), lactose, saccharose, salicine et du thiosulfate de sodium (substrats) et le bleu de bromothymol, la fuschine et les citrates d'ammonium ferrique (indicateurs), les colonies sont dans ce cas vertes à centre noir. (GRIMONT, 2000).

5.3. Caractères biochimiques

Les salmonelles se présentent aussi par des caractéristiques biochimiques communes à l'espèce (voir tableau 2) et se différencient entre elles par d'autres (voir tableau 3).

Tableau 2: Caractéristiques biochimiques communes aux salmonelles

Salmonelles	Caractéristiques biochimiques	Expression
Toutes	Uréase	-
	Tryptophane désaminase	+
En majorité	O.N.P.G.	-
	Gaz en présence de glucose.	+
	H ₂ S.	+
	Lactose.	-
	L.D.C.	+
	Indole.	-
	Citrate de Simmons.	+
	Gélatine.	-
	D-tartrate (en plusieurs jours).	+

Source : Pilet et Coll., 1997.

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

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

Salmonella Abortusequi: H₂S - *Salmonella Abortusovis*: H₂S -.

Tableau 3 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella*

Caractères Biochimiques	<i>SALMONELLA ENTERICA</i>						<i>SALMONELLA BONGORI</i>
	<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.O.G	-	-	+	+	-	v	+
Culture Sur Milieux Kcn	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol Fermentation	+	+	-	-	-	v	+
Malonate (Utilisation)	-	+	+	+	-	-	-
Sorbitol (fermentation)	+	+	+	+	+	+	-
Beta-glucuronidase	v	v	-	+	-	v	-

V : variable ; + : plus de 90% des souches sont positives ; - : moins de 10% des souches positives

Source : Grimont, 2000.

6. Facteurs de croissance

Salmonella est une bactérie mésophile : son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°C). La limite de croissance inférieure se situe aux environs de 5 °C (HANES, 2003).

En dehors de la température, les deux autres facteurs pouvant substantiellement influencer la multiplication de *Salmonella*, sont le pH et l'aw. L'optimum de croissance pour ces deux paramètres est 7,2 et 0,99, respectivement (ICMSF, 1996).

7. Caractères antigéniques

7.1. Antigènes somatiques:(antigènes O)

Les antigènes somatiques sont constitutifs de la membrane externe de la paroi bactérienne et sont de nature lipopolysaccharidique (L.P.S.) et représentent l'endotoxine de la bactérie. Ils sont thermostables, alcoolostables mais sensibles au formol (HUMBERT, 1998).

Les antigènes O sont constitués de trois éléments, de l'intérieur vers l'extérieur:

- Le lipide A (Endotoxine), responsable du pouvoir pathogène et donc des effets toxiques ;
- Le core ou noyau polysaccharidique de base semblable pour toutes les salmonelles ;
- Des chaînes spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2 à 6 monosaccharides (GRIMONT, 1992).

7.2. Antigènes flagellaires

Les antigènes H sont des polymères de flagelline: protéine de structure des flagelles, qui présente une composition en acides aminés constante pour un type antigénique donné. L'antigène H n'est présent que chez les salmonelles mobiles, il est thermolabile et résistant au formol à 0,5 % et détruit par l'alcool (HUMBERT, 1998).

7.3. Antigènes d'enveloppe Vi (capsulaires ou antigènes K)

Le seul antigène d'enveloppe reconnu chez les salmonelles est l'antigène Vi (de virulence), qui n'a été identifié que chez trois sérovars: *Salmonella Typhi*, *S. Paratyphi* et *S. Dublin* (EUZEBY, 2012).

A côté des antigènes d'enveloppe, existent des structures protéiques de surface. Le portage de ce polysaccharide capsulaire ne permet pas l'agglutination avec l'antisérum anti O.

7.4. Fimbriae

Les fimbriae sont des formations en appendices cellulaires, disposés de manière péritriche, d'une longueur variant de 0,2 à 2 μm et dont la largeur est de 7 nm (EISENSTEIN, 1996).

Les fimbriae joueraient un rôle évident dans les premiers événements de l'invasion de l'intestin mais ils semblent être importants pour la maintenance et la survie de l'organisme bactérien dans l'hôte et son environnement par la production de matières hydrophobes pour envelopper et protéger la bactérie (EISENSTEIN, 1996 ; THORNS, 2000).

Enfin, ils semblent jouer un rôle d'évasion des défenses immunologiques spécifiques de l'hôte (THORNS, 2000).

8. Pouvoir pathogène et facteurs de pathogénicité

En général, les salmonelles peuvent entraîner selon Gledel (1995); Humbert (1998); Carlier (2001):

- soit un portage sain, strictement limité au tube digestif, avec une excrétion de salmonelles allant de moins de 10 à 10^7 germes par gramme de fèces. L'excrétion fécale peut être intermittente (les caractéristiques essentielles de la pathogénie des salmonelles sont leur capacité à entrer dans les cellules hôtes et à demeurer comme parasite intracellulaire facultatif) (Yves Millemann , 1998) : on parle de porteur inapparent ;
- soit un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents ;
- soit une maladie avec symptômes diarrhéiques, lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient, soit dépassé par le nombre de salmonelles envahissant l'organisme. Cette pathologie peut s'exprimer :
 - A la faveur d'ingestion d'une dose de l'ordre de 10^5 à 10^8 germes ;
 - A la suite d'une multiplication importante dans le tube digestif, d'une quantité initiale faible. La multiplication survient suite à des perturbations ou déséquilibres de l'écosystème digestif par un stress ou par une pathologie intercurrente (HUMBERT, 1998).

Chapitre III

Infections à salmonelles

1. Introduction

Une distinction doit être faite entre :

- **les infections par les salmonelles mobiles** qui sont des salmonelles ubiquistes (*Salmonella Enteritidis*, *Typhimurium*) dites salmonelles paratyphoïdes, et qui sont le plus souvent aujourd'hui, du fait d'un portage intestinal asymptomatique, d'avantage un problème de santé publique qu'un problème de santé animale ;
- **les infections par *Salmonella Gallinarum-Pullorum*, salmonelle immobile qui sont strictement aviaires**, ce qui constitue en fait un sujet exclusivement de santé animale aviaire. *Salmonella Pullorum* était considérée comme responsable de la pullorose qui affecte les poussins alors que *Salmonella Gallinarum* était considérée comme responsable de la typhose qui affecte les adultes (VILLATE, 2011).

2. Historique

Compte tenu des données internationales disponibles, l'incidence de la salmonellose peut être estimée entre 14 et 120 cas pour 100000 personne en 1997. Selon les estimations du (CDC), il y a tous les ans 1,4 million de cas ,16430 hospitalisations, et 582 décès aux Etat Unis d'Amérique (MEAD et *al.*, 1999).

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

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

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

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

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

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

3. Définition

Les salmonelloses sont des maladies infectieuses, contagieuses, virulentes et inoculables dues à la multiplication dans l'organisme d'un des germes du genre *Salmonella*.

Chez les oiseaux, la maladie s'exprime cliniquement en fonction de la date d'infection et de l'âge des malades par des troubles génitaux, digestifs ou organiques extrêmement variés.

Les salmonelles jouent un rôle important en pathologie animale comme en pathologie humaine ou elles représentent l'un des volets principaux (BRUGERE-PICOUX ET SILIM, 2015).

3.1. Espèces affectées

La salmonellose concerne la plupart des espèces animales, en l'occurrence la poule (*Gallus gallus*), la dinde (*Meleagris gallopavo*), les autres oiseaux (d'élevage ou sauvages) et l'homme.

3.2. Importance économique et sanitaire (poules et dindes)

- **Importance hygiénique** : la filière avicole, par le biais de la consommation d'œufs et d'ovo-produits ou celui de la consommation de viande de volailles est une source importante de toxico-infections alimentaires collectives (TIAC).

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

4. *Salmonella Enteritidis*

4.1. Définition

- Maladie enzootique dont l'entretien est favorisé par la fréquence des porteurs sains et la large contamination de l'environnement.

- On note que dans les établissements infectés en l'absence d'épisode clinique, la proportion de sujets hébergeant des salmonelles est de l'ordre de 2,5 à 8%. Après abattage, la proportion de carcasses contaminées peut s'élever en revanche à 70% ou plus. Ce fait est attribué à la capacité inhabituelle de ce sérovar à coloniser le tissu ovarien des poules et à être présent dans le contenu des œufs en coquille intacts. Un pourcentage élevé de poulets de chair sont colonisés par des salmonelles durant la croissance. Les carcasses sont fréquemment contaminées par le pathogène pendant l'abattage et la transformation (FAO, 2004).

4.2. Etiologie

- Salmonelles : bactéries très résistantes dans l'environnement (sols, lisier..., etc.) et les produits contaminés (œufs, carcasses, cadavres).

- Sources de germes : pratiquement illimitées (oiseaux, autres animaux domestiques, rongeurs, eaux, aliments, etc.). Chez les oiseaux infectés, noter en particulier la colonisation de l'intestin (cæca en particulier) par les salmonelles et chez les poules pondeuses infectées par *Enteritidis* et parfois *Typhimurium*, la possibilité de l'infection des ovaires.

Le portage inapparent ou chronique est habituel. Certains oiseaux peuvent excréter des salmonelles, de façon continue ou intermittente pendant de longues périodes (plusieurs mois).

Les matières virulentes principales sont les fientes.

- Transmission horizontale directe et indirecte.

4.3. Pouvoir pathogène

L'infection des oiseaux est d'abord essentiellement digestive : la plupart des sérovars se limitent à coloniser le tractus intestinal, généralement sans symptôme apparent. Toutefois, divers événements (stress, facteurs favorisants, autre infection sous-jacente, une dose infectante importante, l'acquisition d'un plasmide de virulence..., etc.) peuvent permettre à la bactérie de traverser la barrière digestive et d'induire, en particulier chez le jeune, une maladie systémique (paratyphose) : c'est le cas en particulier pour *Typhimurium* ou *Enteritidis*.

Il est à noter l'émergence de souches multirésistantes aux antibiotiques (exemple de *S. Kentucky*, un sérovar multirésistant aux antibiotiques, notamment les fluoroquinolones).

4.3.1. Sur le plan clinique

Incubation: mal définie (24 à 48 h minimum).

Symptômes :

- Non spécifiques (et similaires quel que soit le sérovar), ils sont observés essentiellement sur les poussins et dindonneaux de moins de 15 jours et sont rares sur les oiseaux de plus de 4 semaines.

La plupart du temps, les infections par des salmonelles des oiseaux sont asymptomatiques ;

- Morbidité et mortalité ;

- Formes septicémiques (jeunes): symptômes généraux marqués (les oiseaux sont abattus, les plumes ébouriffées, les ailes tombantes, les yeux mi-clos, hésitant à se déplacer) et diarrhée. Des atteintes oculaires (conjonctivite, opacité de la cornée) sont aussi décrites ;

- Formes localisées : diarrhée importante et abattement plus ou moins marqué ;

- Troubles de la ponte : Enteritidis et Typhimurium peuvent provoquer, en particulier chez la poule, une chute de ponte, une diminution de la fertilité et de l'éclosabilité, une mortalité accrue des jeunes.

4.3.2. Sur le plan lésionnel

- Non spécifiques, elles varient entre l'absence complète et l'atteinte septicémique avec hypertrophie et congestion de nombreux viscères (foie, rate, poumons, reins), et éventuellement péricardite exsudative.

- Lésions d'entérite (avec parfois péritonite et périhépatite) et notamment de typhlite.

- Présence éventuelle de foyers punctiformes de nécrose sur les viscères (foie, poumon...).

- Sac vitellin non résorbé chez les poussins.

4.4. Diagnostic

Essentiellement bactériologique fondé sur l'isolement, l'identification et le typage des salmonelles. La recherche du profil d'antibiorésistance doit aussi être également réalisé, notamment dans le cas d'isolement de *S. Kentucky*.

- Chez les oiseaux malades (rares) : les salmonelles peuvent être isolées à partir du foie, de la vésicule biliaire ou du sac vitellin.

- L'intestin, et surtout le contenu cæcal, ou chez les sujets vivants des fientes, sont également utilisés pour la détection des porteurs.

- Dans un troupeau reconnu infecté, la recherche des salmonelles est envisageable dans le muscle pour déterminer le risque pour le consommateur.

- Au-delà du simple diagnostic, le dépistage 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 éclosoirs...

4.5. Traitement

Les traitements antibiotiques réduisent le portage, mais ne le suppriment pas. Ils perturbent en outre le dépistage bactériologique (qui ne peut être réalisé lorsque les oiseaux ont été traités avec un antibiotique).

Le traitement antibiotique des salmonelloses visées par la réglementation (chez *Gallus gallus* et *Meleagrisgallopavo*) est interdit, sauf dans les troupeaux de poulets et de dindes de chair atteints de salmonellose clinique.

4.6. Prophylaxie

4.6.1. Sanitaire

- défensive :

Importance de la maîtrise sanitaire des élevages, tenant compte des multiples sources d'infection (eau, aliments, visiteurs, rongeurs, insectes, etc.) et notamment des oiseaux et des œufs issus d'élevages non indemnes.

Importance du contrôle systématique et régulier des élevages fondé sur l'étude bactériologique de prélèvements réalisés sur un nombre significatif de sujets (et l'environnement en mettant l'accent notamment sur les établissements en amont de la filière chair (producteurs d'œufs à couver) et les poules pondeuses.

- offensive :

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

4.6.2. Médicale

Des vaccins à agents inactivés et modifiés contre *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* ont été développés chez la poule. Complétant les mesures sanitaires, leur emploi permet de réduire sans les supprimer.

Les volailles de reproduction et les poules pondeuses doivent être obligatoirement vaccinées contre *S. Enteritidis*, à moins que les lots ne soient mis dans les échanges intracommunautaires ou exportés. La vaccination contre *S. Typhimurium* est facultative.

En cas d'administration de vaccins vivants via l'eau de boisson, il est important de contrôler d'abord si la qualité de l'eau de boisson est correcte. L'administration d'un vaccin mort par injection dans le muscle pectoral ou le muscle de la cuisse doit se faire de façon correcte, de telle sorte que chaque animal reçoive la dose correcte.

5. Infections par *Salmonella Gallinarum-Pullorum* (SGP)

5.1. Définition

5.1.1. Pullorose

Salmonella Pullorum est l'agent de la pullorose, La pullorose affecte des poussins et poulets âgés de 1 à 3 semaines d'âge. les mortalités peuvent débuter dès l'éclosion jusqu'à se manifester avec un pic à 2 ou 3 semaines d'âge après une phase de démarrage silencieuse.

5.1.2. Typhose

La maladie de Klein, ou typhoïde aviaire, est causée par *Salmonella Gallinarum*. La typhoïde peut toucher différentes espèces d'oiseaux mais concerne surtout les poules et les dindes. La bactérie se propage principalement par le biais des matières fécales et de la poussière. Les poules se contaminent via le bec ou éventuellement via les voies respiratoires. Les animaux nuisibles peuvent jouer un rôle dans la propagation entre exploitations. *Salmonella Gallinarum* est normalement sensible aux agents de désinfection mais survit bien si elle est protégée par des matières organiques telles qu'albumen ou déjections. Elle peut également survivre à un vide sanitaire de plusieurs semaines dans des restes de nourriture ou sur des nuisibles (EVAPIERRE, 2012).

5.2. Etude clinique

- **Pullorose :**

Les premiers symptômes sont souvent une diminution de la fertilité, une réduction du taux d'éclosion et mortalité en coquille ou la mortalité de poussins peu après l'éclosion.

- **Forme aiguë:** les jeunes oiseaux présentent une diarrhée gris-blanchâtre, d'aspect crayeux, qui agglutine les plumes autour du cloaque (« maladie de la crotte »), et des signes d'anorexie, déshydratation, de faiblesse, et parfois des signes respiratoires et nerveux.

La mort survient en 10-12 jours.

- **Formes subaiguës et chroniques:** les oiseaux présentent des signes d'anorexie, de faiblesse, et surtout une tuméfaction des articulations, notamment du jarret. Les oiseaux s'amaigrissent.

- **Typhose**

La typhose aviaire affecte les oiseaux en croissance et des adultes(en général à partir de 2-3 mois d'âge).

- **Forme aiguë :** elle se caractérise par l'association d'un tufhos, d'une diarrhée jaune verdâtre, éventuellement une cyanose (« maladie de la crête bleue »), aboutissant souvent à la mort.

- **Formes chroniques** : elles entraînent un amaigrissement et une anémie, une réduction de la ponte et une augmentation de la mortalité. Une apathie chez des oiseaux plus âgés et une légère diminution de la production d'œufs chez les adultes peuvent être les seuls signes observés.

5.3. Lésions

- **Forme aiguë** : des lésions de septicémie hémorragique, de péritonite, un sac vitellin non résorbé, un foie hypertrophié (foie de couleur bronze).

Une typhlite, une entérite et une splénomégalie, des foyers nécrotiques sur le foie et la rate, des nodules grisâtres sur le duodénum, les poumons, le myocarde et le gésier, une moelle osseuse brunâtre, une néphrite et éventuellement des arthrites, péritonite, périhépatite, aérosacculite et péricardite.

-Formes subaiguës et chroniques :

-Oiseaux en croissance: arthrite et synovite

-Adultes : les cadavres, dont la carcasse est pâle et émaciée, présentent une péritonite sérofibrineuse, une ponte intra-abdominale, une salpingite et des anomalies ovarienne, des foyers de nécrose sur le cœur, les intestins, le pancréas et le foie, et parfois arthrites, péritonite, périhépatite, aérosacculite et péricardite (PIERRE, 2013).

5.4. Diagnostic

La bactériologie est le meilleur examen complémentaire. Le foie, la rate et les cæca sont les organes de choix à ensemencher. D'autres organes lésés peuvent être prélevés : poumon, ovaire et oviducte, vitellus...,etc.

5.5. Traitement

Tous les efforts doivent être faits pour éradiquer la pullorose ou typhose et le traitement doit être la dernière option. Divers sulfamides, suivis par des nitrofuranes et d'autres antibiotiques, se sont révélés efficaces pour réduire la mortalité de la pullorose et la typhose. Certains antibiotiques tels que la furaltadone, la furazolidone, le chloramphénicol, la biomycine, l'apramycine, la gentamicine et la chlortétracycline ont été utilisés pour le contrôle et le traitement de ces salmonelloses.

Une résistance à certains de ces antibiotiques a également été rapportée. Il faut prendre soin de suivre les instructions données par le fabricant à l'égard de la voie d'administration, de la posologie, de la durée du traitement, et la période de retrait pour chaque antibiotique avant toute utilisation.

5.6. Prophylaxie

Dans la lutte contre cette maladie, l'éradication, qui doit commencer par les reproducteurs, est la seule méthode d'avenir acceptable, SGP n'est pas plus résistante dans l'environnement que les salmonelles paratyphoïdes, Elle est sensible à la plupart des désinfectants usuels en aviculture et détruite par la chaleur à 65 °C. Elle résiste néanmoins plusieurs jours dans les fientes et plus encore dans les fumiers.

Ce sont du reste les éléments les plus contaminants et on devra prendre garde au risque de contaminations d'autres élevages avicoles par le transport et l'épandage de fientes et fumiers.

6. Infection par *Salmonella arizonae*

6.1. Introduction

L'infection par *Salmonella arizonae* est communément appelée arizonose. *Salmonella arizonae* est une sous-espèce de l'espèce *Salmonella enterica*. Cette infection a été endémique en production de dindes en Amérique du Nord et en Grande-Bretagne mais a maintenant été éradiquée. Il faut néanmoins rester vigilant face au risque de résurgence, notamment par des importations mal contrôlées (VILLATE, 2011).

6.2. Agent pathogène

Salmonella arizonae cultive sur les mêmes milieux que les autres salmonelles mobiles. Ses caractéristiques biochimiques sont celles du genre *Salmonella*, à l'exception du lactose que fermentent la plupart des isolats de *Salmonella arizonae*.

L'infection concerne le plus souvent des dindonneaux de la 1^{ère} à la 3^{ème} semaine de vie et peu souvent les poussins (VILLATE, 2011).

6.3. Signes cliniques

Sont ceux des salmonelloses et sont peu spécifiques : prostrations, diarrhées et parfois cécité et/ou signes nerveux.

6.4. Lésions

Sont également celles des salmonelloses, avec des formes septicémiques et des foies hypertrophiés avec des foyers nécrotiques, des formes plus subaiguës avec des vitellus caséifiés, des lésions caséuses des cæca et des lésions fibrineuses abdominales de péritonites et aérosacculites (VILLATE, 2011).

6.5. Diagnostic

Le diagnostic préliminaire peut être basé sur les signes cliniques et le taux de mortalité associé aux lésions macroscopiques et microscopiques. Cependant, les lésions macroscopiques de l'arizonose seront semblables à d'autres infections bactériennes.

S.arizonae peut être isolé facilement de la plupart des lésions telles que le sac vitellin, le foie, les caecums, le cerveau, les yeux et d'autres organes.

Au couvoir, on peut rechercher *S.arizonae* par la mise en culture des embryons morts ou non éclos, des coquilles d'œuf et des prélèvements pratiqués dans l'environnement (chiffon nettes).

La mise en culture des organes tels que les caecums, les ovaires, l'oviducte des reproductrices infectées est efficace pour l'isolement de l'agent pathogène.

Diverses méthodes sérologiques sont disponibles pour le diagnostic de *S.arizonae* mais certains des antigènes utilisés dans les tests peuvent avoir tendance à présenter des réactions croisées avec d'autres sérotypes de salmonelles (SHIVAPRASAD, 2015)

6.6. Contrôle et traitement

La seule prévention acceptable est l'élimination des troupeaux de reproducteurs incriminés dans la transmission verticale, ce qui a été fait par les filières de production de la dinde (VILLATE, 2011).

Les antibiotiques tels que la gentamicine, les tétracyclines et les sulfamides peuvent être efficaces dans la prévention de la surmortalité. Mais le traitement n'empêche pas les dindes reproductrices de devenir des porteuses de *S.arizonae*.

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

Le traitement par trempage des œufs contaminés dans une solution de gentamicine avant l'éclosion peut être efficace dans le contrôle de *S.arizonae*.

La mise en œuvre des mesures de biosécurité ; l'isolement total des oiseaux ; de lutter contre la pénétration dans les bâtiments d'oiseaux et les rongeurs venant de l'extérieur, le nettoyage , la désinfection et la surveillance des oiseaux ,des œufs et des plateaux d'œufs et de l'environnement sont essentiels pour réussir la prévention et l'élimination de *S.arizonae* tant chez les dindes reproductrices que dans les couvoirs (HL SHIVAPRASAD, 2015).

Chapitre IV

Antibiotiques et antibiorésistances

1. Antibiotiques

1.1. Introduction

Avant la découverte des antibiotiques, les pathologies infectieuses bactériennes entraînaient, dans la majorité des cas, la mort. Avec la découverte des sulfamides et plus tard, de la pénicilline, on est passé au stade au cours duquel la guérison des pathologies bactériennes considérée comme habituelle (GAUDY et BUXERAUD,2005).

1.2. Définition

Un antibiotique est une substance naturelle, semi synthétique ou synthétique douée d'une activité antibactérienne à l'échelon moléculaire, s'exerçant au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques. Les antibiotiques possèdent en commun un certain nombre de propriétés :

- Activité antibactérienne ;
- Toxicité sélective ;
- Activité en milieu organique ;
- Bonne absorption et bonne diffusion dans l'organisme (KEZZAL, 1993).

1.3.Historique

En 1928 : Première découverte d'un antibiotique: la moisissure *Penicillium* (Par Alexander Fleming).

En 1940 : La mise sur le marché de l'antibiotique pénicilline.

1.4. Classification

Plusieurs types de classifications ont été envisagés. Ces classifications sont toutes sujettes à des réserves. Elles reposent généralement sur :

- le spectre antibactérien ;
- la structure chimique ;
- le mode d'action au niveau moléculaire.

La classification tenant compte du spectre ne paraît pas être la meilleure en raison de l'évolution de la résistance des bactéries (NIKAIDO et *al.*, 1988).

La classification chimique permet de diviser les antibiotiques en groupes assez homogènes mais éloignés des objectifs cliniques.

La classification basée sur le mode d'action rend compte des propriétés particulières de chaque groupe d'antibiotiques. Aucune de ces classifications, prise séparément ne paraît satisfaisante.

Nous adopterons comme type de classification celle basée sur le mode d'action de l'antibiotique. Nous nous efforçons de préciser les structures chimiques et les propriétés thérapeutiques essentielles au niveau de chaque groupe d'antibiotiques.

4.1.1. Les antibiotiques inhibiteurs de la biosynthèse des acides nucléiques

- Les sulfamides et le triméthoprim : sont des inhibiteurs enzymatiques de la biosynthèse de l'acide tétrahydrofolique, précurseur des bases puriques et pyrimidiques.
- Les quinolones : inhibent la réplication de l'ADN. Leur action se situe à différentes étapes de la synthèse de cet acide nucléique ; La plupart des produits d'intérêt médical sont substitués en C6 par un atome de fluor (fluoroquinolones ou nouvelles quinolones) et ont une activité bactéricide étendue, Les anciennes quinolones, non fluorées ont un spectre limité aux bactéries à Gram négatif.
- Les rifamycines : par inhibition de l'ARN polymérase, empêchent la biosynthèse de l'ARN messager (GARET G, 1990).

4.1.2. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

- **Les aminosides** : ils se fixent sur la fraction 30S du ribosome. Il en résulte une modification de la conformation ribosomale responsable d'erreurs de traduction entraînant la formation de protéines anormales ayant perdu leurs fonctions, A côté des aminosides naturels, il existe ceux obtenus par semi-synthèse (LE MINOR et *al.*, 1989).

a- Les aminosides naturels sont divisés en deux groupes:

- groupe de la streptomycine ;
- groupe des deoxystreptamines: ils sont divisés en sous-groupe selon la position des sucres substitués sur le noyau déoxystreptamine :
 - *substitution en 4 et 6: Kanamycine, Tobramycine, Gentamicine, Sisomicine ;
 - *substitution en 4 et 5: Néomycine.

b -Les aminosides semi-synthétiques : ont la propriété d'échapper aux enzymes modificateurs des aminosides. Ce sont:

a- l'amikacine

b- la nétilmicine

- **Les tétracyclines :**empêchent la fixation aminoacylARNt sur le site A des ribosomes. Elles sont naturellement produites par les *Streptomyces* et peuvent être obtenues par semi-synthèse.

- **Les Macrolides et le chloramphénicol :** sont des inhibiteurs de la peptidyltransférase qui permet l'élongation de la chaîne peptidique. Le chloramphénicol est élaboré naturellement par *Streptomyces Venezuela*, il est maintenant produit synthétiquement.

- **Les synergistines :** sont composées de deux fractions antibiotiques A et B. La fraction A est un antibiotique de type Macrolides, la fraction B agissant sur la formation de la chaîne peptidique (JEAN et COURVALIN, 1982).

4.1.3. Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

Les principaux antibiotiques perturbant la synthèse du peptidoglycane sont :

- Les bêta-lactamines: se fixent sur les enzymes de la dernière étape de la biosynthèse en particulier sur la transpeptidase. Ces antibiotiques agissent donc avec la plus grande efficacité sur les bactéries en pleine croissance (LABIA R et BARTHELEMY, 1989).

Les bêta-lactamines inhibent la synthèse du peptidoglycane, par inhibition de la réaction de transpeptidation qui permet la formation de ponts peptidiques entre les chaînes latérales des molécules linéaires du peptidoglycane (PEYRET, 1991).

4.1.4. Antibiotiques modifiant la perméabilité de la membrane

Les antibiotiques polypeptidiques présentent la particularité de se fixer aux phospholipides de la membrane cytoplasmique qui se trouve ainsi désorganisée. Il en résulte une fuite des constituants cytoplasmiques qui entraîne la mort cellulaire à titre d'exemple les polymyxines (GASTINEL et *al.*, 1985).

2. Antibiorésistances

2.1. Définition

Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. Les phénomènes de résistance se retrouvent chez toutes les molécules antimicrobiennes, qu'il s'agisse d'antiparasitaires, d'anti fongiques et d'antiviraux. Ces phénomènes de résistances sont un souci constant pour les praticiens puisque chaque résistance qui apparait limite leur marge de manœuvre. De ce fait, il est nécessaire de suivre ces résistances afin de pouvoir adapter en permanence les traitements (EBERLIN, 1994).

2.2. Types de résistance

2.2.1. Résistance naturelle

Ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal.

2.2.2. Résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques souches d'une espèce donnée. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce.

2.3. Mécanismes génétiques de la résistance

Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique.

2.4. Mécanismes biochimiques de la résistance

2.4.1. Diminution de la perméabilité

Mutation affectant la structure des porines (figure 1) ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie. Ce mode de résistance n'affecte que les bactéries Gram (-) à savoir les aminosides, les bêta-lactames, les quinolones (DENYER et MAILLARD, 2002).

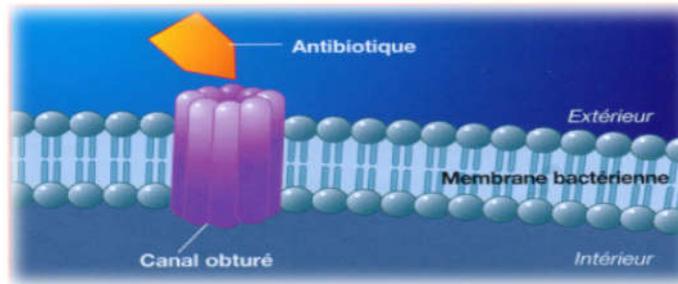


Figure 1 : Structure des porines (ARCHAMBAUD,2009)

2.4.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Certaines bactéries détruisent la molécule de l'antibiotique, alors que d'autres l'inactivent en lui ajoutant des groupements acétyle, adényle ou phosphorique (figure 2).

Pour les bêta-lactames, les bactéries résistantes synthétisent des bêta-lactamases, qui sont des protéases qui scindent le cycle bêta-lactames.

L'inactivation enzymatique est également responsable de la résistance aux aminosides.

Les enzymes impliquées sont de trois types : les phosphotransférases, les adényl-transférase et les acétyl-transférase (DAVIES, 1997).

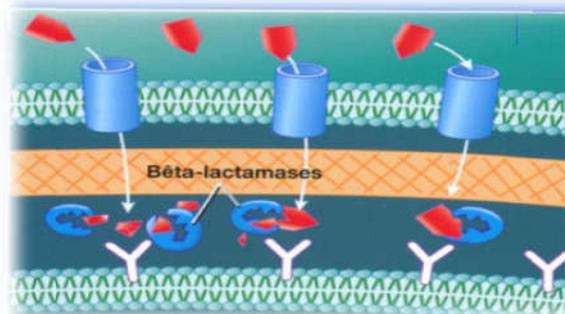


Figure 2: Inactivation enzymatique de l'antibiotique (ARCHAMBAUD, 2009).

2.4.3. Modification de la cible des antibiotiques

Les bactéries ont la capacité de mutation d'un gène responsable de la biosynthèse de la protéine sur laquelle agit l'antibactérien .ce dernier ne reconnaît plus sa cible et devient inactif. Ce type de mécanisme a été mis en évidence chez certaines souches de staphylocoques dites pénicillino-résistantes.il se manifeste par des modifications des protéines fixatrices de la

pénicilline (PBP) qui se localisent dans la paroi bactérienne et sur lesquelles l'antibiotique se lie normalement (QUINTILIANI et COURVALIN, 1995).

La résistance vis-à-vis des macrolides se fait également par la modification de leur site d'action sur la bactérie (figure 3). Ce phénomène résulte de la méthylation de l'adénine de l'ARN (LAI et WEISBLUM, 1971).

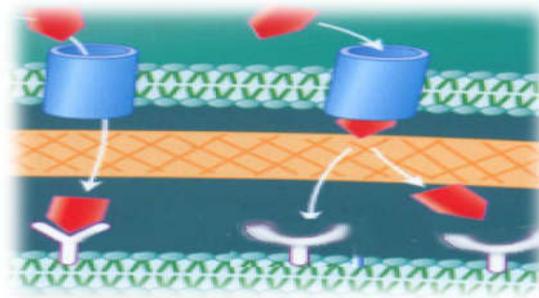


Figure 3 : Modification de la cible (ARCHAMBAUD, 2009).

2.4.4. Résistance par efflux actif

Même après avoir dépassé l'obstacle de l'enveloppe bactérienne et passé à l'intérieur de la bactérie, l'antibactérien peut être rejeté à l'extérieur par des mécanismes développés par la bactérie résistante (figure 4). C'est le cas des tétracyclines qui sont rejetées par une protéine d'excrétion active, codée par un plasmide (NEYFAKH, 1992).

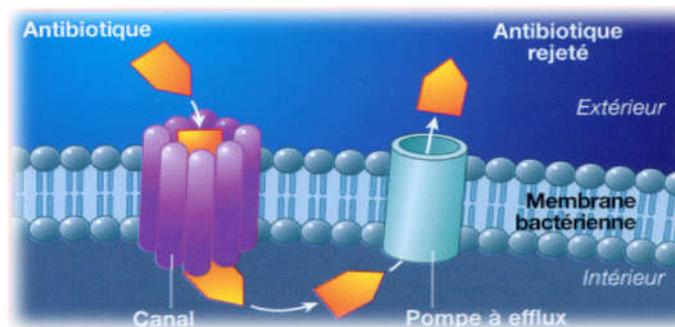
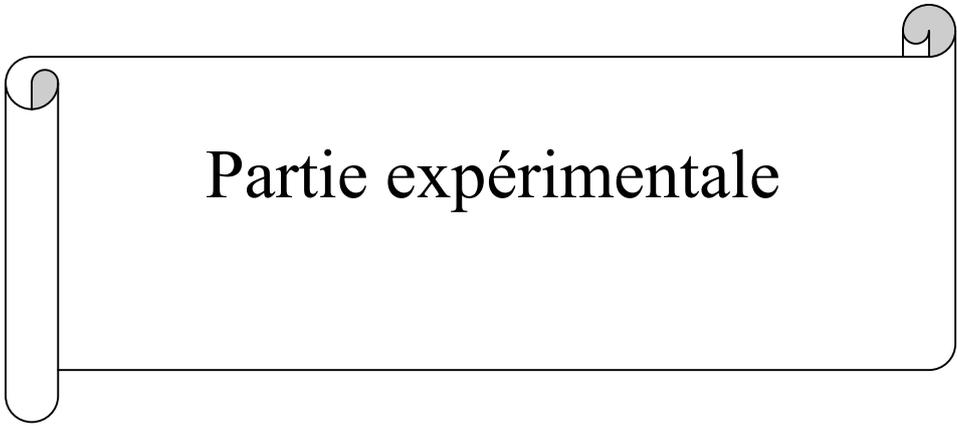


Figure 4 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (ARCHAMBAUD, 2009).

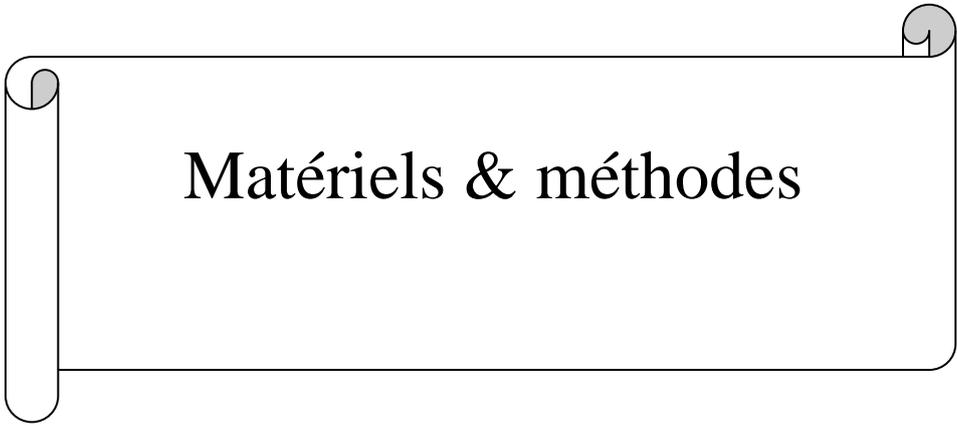
2.5. Conséquence de la résistance

Deux importants sujets d'inquiétude méritent d'être cités :

- L'échec thérapeutique est la conséquence pratique majeure de l'antibiorésistance.
- L'apparition de souches de bactéries transmises par les aliments et résistantes aux antimicrobiens et qui peuvent causer des infections au sein de groupes de population sensible.



Partie expérimentale



Matériels & méthodes

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Objectif

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

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

2. Lieu et période de l'étude

L'étude s'étend sur une période allant du 25 mars 2018 jusqu'au 31 mai 2018. Elle est menée dans la région Est de l'Algérie, dans les wilayas de Sétif, Batna, Bejaïa, Mila. Ainsi que dans certaines wilaya du centre algérien :TiziOuzou, Alger et Boumerdes.

Des sujets ciblés présentant des lésions de salmonelloses sont prélevés à partir des élevages de poules pondeuses, poulets de chairs et dindes chair .

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

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Echantillonnage et prélèvement

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

Les organes sont prélevés stérilement et mis dans des pots stériles (figure 5). L'autopsie de 35 sujets permet de recueillir un total de 33 isolats de *Salmonella*.



Figure 5:Prélèvements d'organes dans les pots stériles (Originale, 2018).

3.1.2. Milieux de culture

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

- Eau Peptonée Tamponnée: Milieu de pré-enrichissement des salmonelles et d'enrichissement sélectif de *E. coli* O157:H7 ;
- SFB S /C Cystéine : Sélénite F Broth a été conçu par Leifson, qui a démontré que sélénite était inhibiteur pour les coliformes et certains autres microbes espèces, telles que les streptocoques fécaux, présents dans les échantillons fécaux et, par conséquent, était bénéfique dans la récupération des espèces de *Salmonella* ;
- La gélose Hektoen est un milieu sélectif de choix pour l'isolement des salmonelles ; bien que de nombreuses bactéries à Gram négatif (BioScan) ;
- La gélose XLD (Xylose Lysine Désoxycholate) est un milieu sélectif utilisée pour l'isolement des salmonelles (BioScan).
- Milieu TSI (Triple SugarIron), milieu d'identification biochimique (Institut Pasteur d'Algérie) ;
- Pour l'identification biochimique, nous utilisons la galerie API 20E (Bio-Mérieux, France).

3.1.3. Produits de laboratoire

Les produits de laboratoire et réactifs utilisés sont:

- Eau physiologique 0,9% ;
- Huile de vaseline stérile, Institut Pasteur d'Algérie ;
- Les réactifs (figure 6) : Kovac's, VP1, VP2, TDA (Tryptophane Désaminase), Institut Pasteur d'Algérie.



Figure 6 : Réactifs utilisés (Originale, 2018).

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



Figure 7: Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme (Originale, 2018).

3.2. Méthodes

3.2.1. Conduite expérimentale :

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

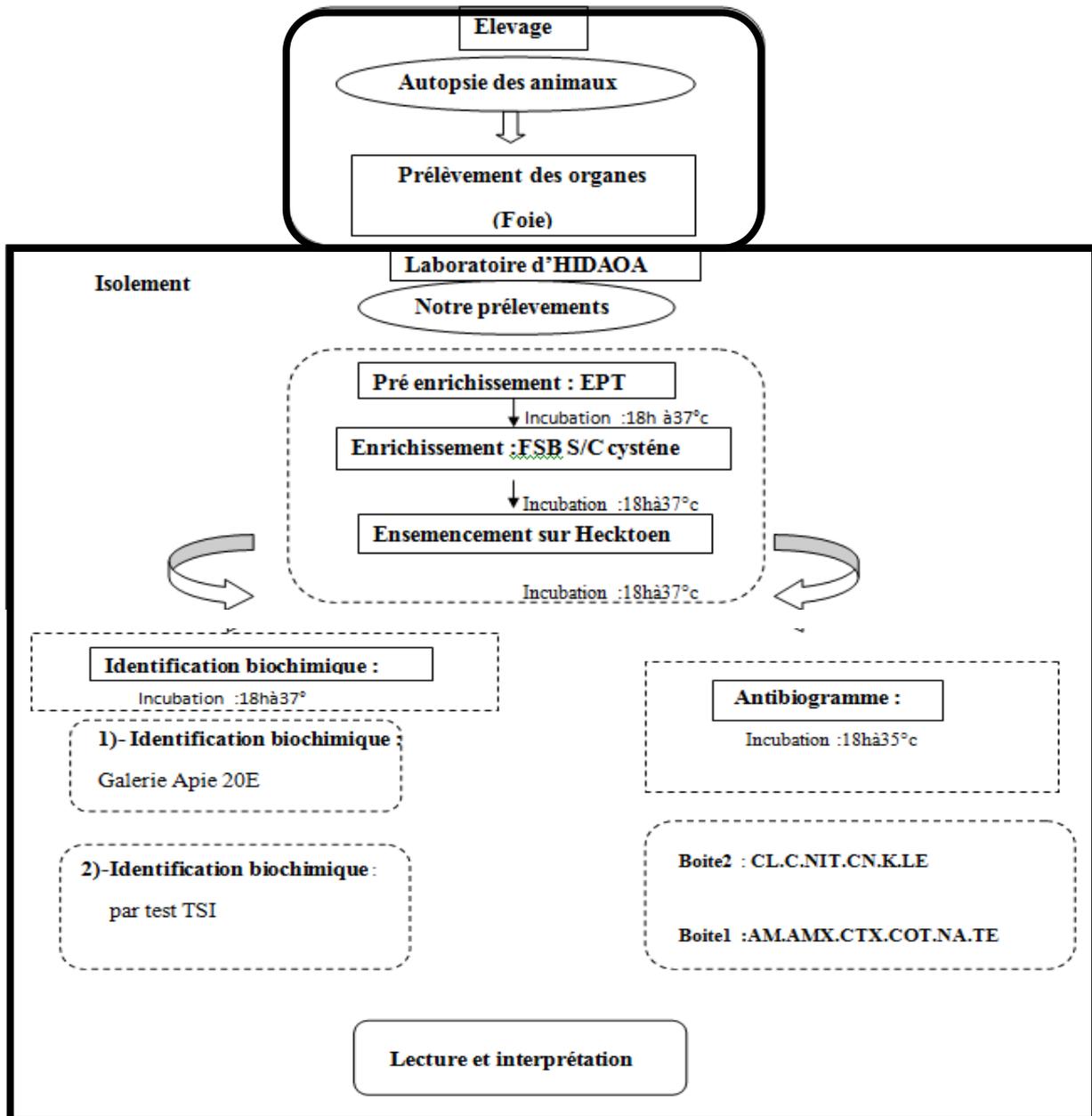


Figure 8: Schéma montrant le protocole expérimental suivi.

3.2.2. Autopsie

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

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

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

3.2.3. Bactériologie

3.2.3.1. Isolement des salmonelles

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



Figure 9 : Flambage et découpage des organes (Originale, 2018).

3.2.3.1.1. Pré-enrichissement

Le milieu de pré-enrichissement, eau péptonnée tomponnée estensemencé par l'introduction des petits dés d'organes à l'intérieur du tube puis l'incubé 18 à 24 h à 37°C (figure 10).



Figure 10: Pré-enrichissement dans de l'eau peptonétamponée(Originale, 2018).

3.2.3.1.2. Enrichissement

Le milieu d'enrichissement, SFB s /c+cystéine, est ensemencé à partir du milieu de pré enrichissement puis incubé 18 à 24 h à 37°C (figure 11).



Figure 11: Enrichissement dans le milieu SFB S /C + cystéine (Originale, 2018).

3.2.3.1.3. Ensemencement

On procède à l'ensemencement par la technique d'épuisement, à partir du milieu SFB. Une goutte de ce bouillon est ensemencée sur la gélose Hektoen, puis une deuxième incubation est pratiquée pendant 18 à 24 h à 37°(figure 12).

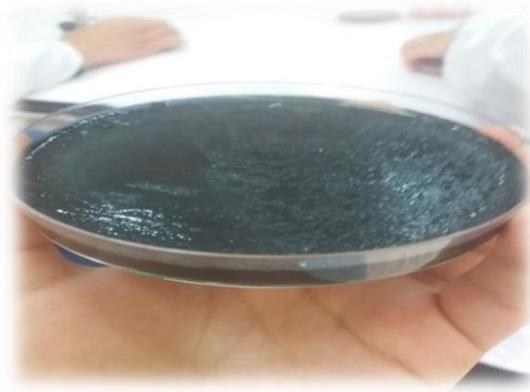


Figure 12: Ensemencement sur gélose Hektoen (Originale, 2018).

3.2.3.2. Identification des salmonelles

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

3.2.3.2.1. Identification morphologique

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

Les *Salmonella arizonae* dans la gélose Hektoen donnent des colonies jaune saumon (il y a fermentation du lactose) avec un centre noir (H₂S+). Cependant, elles sont de couleur jaune sur la gélose XLD.

3.2.3.2.2. Identification biochimique

3.2.3.2.2.1. Test des 3 sucres (TSI) :

Certaines espèces peuvent être identifiées grâce à ce test.

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

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

La production d'H₂S, qui colore le milieu en noir, est due à la formation de sulfure de fer :

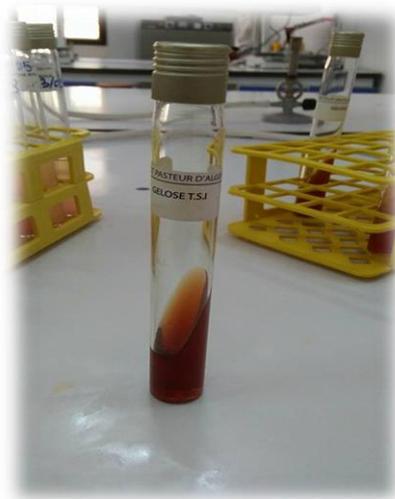
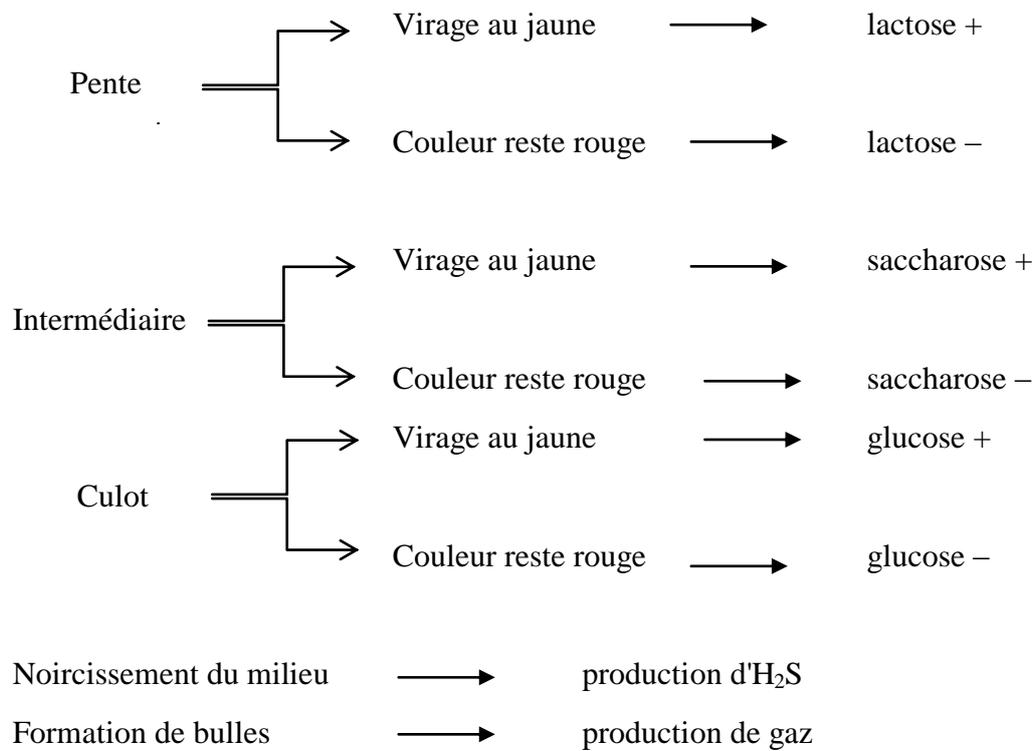


Figure 13: Tube de milieu TSI (Originale, 2018).

Les colonies qui présentent les caractères énumérés dans le tableau 4 seront identifiées à l'aide d'une galerie API 20E, galerie biochimique qui comprend 20 caractères différents.

Tableau 4 :Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI

Milieu	TSI					
Test	Glucose	Saccharose	Lactose		H ₂ S	Gaz
Résultat	+	-	-	+	+	+

3.2.3.2.2. Identification biochimique par API 20 E

a) Principe :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3) Test du citrate (CIT) :

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

De telles bactéries sont capables de croître sur un milieu synthétique, le milieu au citrate de Simmons, dont l'unique source de carbone est le citrate de sodium. Ce milieu contient également des sels d'ammonium comme unique source d'azote et du bleu de bromothymol comme indicateur de pH. Initialement, le pH du milieu est de 7,0 et, à un tel pH, le bleu de bromothymol a une teinte verte.

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

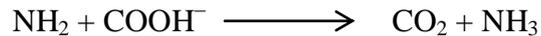
4) Test de la production d'hydrogène sulfuré (H_2S) :

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

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

5) Test de l'urée (URE) :

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



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

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

6) Test de la Tryptophane désaminase (TDA) :

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

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

7) Test de l'indole (IND) :

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

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

8) Test de Voges-Proskauer (VP) :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Molécule organique cyclique : inositol (INO).

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

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

b) Mode opératoire :

b-1. Préparation de la galerie :

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

- Sortir la galerie de son emballage ;
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

b-2. Préparation de l'inoculum :

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

b-3. Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une seringue stérile. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la seringue sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;
 - Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
 - Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules).
 - Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, créer une anaérobiose en remplissant les cupules d'huile de paraffine.
- Refermer la boîte d'incubation ;
- Incuber à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

c. Lecture de la galerie :

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

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



Figure 14 : Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et ajout des réactifs

d. Interprétation de la galerie :

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

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

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

3.2.3.3. Antibiogramme

La sensibilité aux antibiotiques est déterminée par la méthode de l'antibiogramme standard ou la méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton, Institut Pasteur d'Algérie), selon les normes NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards) qui est recommandée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

3.2.3.3.1. Principe :

La méthode de diffusion, ou antibiogramme standard, est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier (tableau 5).

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

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

Tableau 5: Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme

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

3.2.3.3.2. Technique

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

A- Inoculum :

- ❖ A partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- ❖ Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% ;
- ❖ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ;

- ❖ L'inoculum peut être ajusté, en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort ;
- ❖ L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

B- Ensemencement :

- ❖ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- ❖ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- ❖ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées ;
- ❖ Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

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

C- Application des disques d'antibiotiques :

- ❖ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre comme indiqué dans le tableau 6 et illustré dans la figure 15:

Tableau 6 : Application des disques d'antibiotique par boîte de Pétri

Boîtes	Les disques d'antibiotiques					
1	AM 10	AMX 30	CTX 30	COT ²⁵	NA 30	TE 30
2	CL 10	C 30	CN 10	FT300	K30	ENR 5

- ❖ Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre ;
- ❖ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

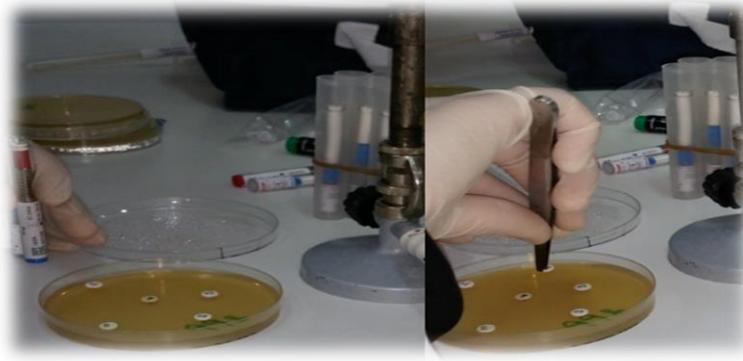


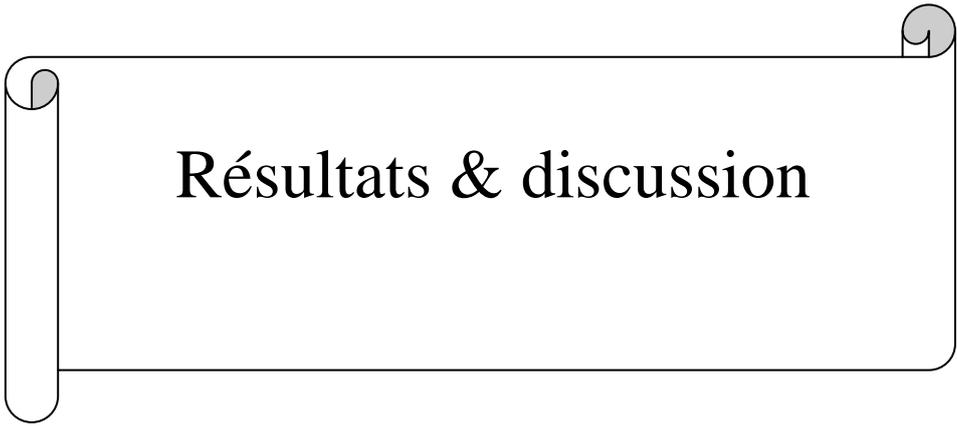
Figure15 : Application des disques d'antibiotiques (Originale, 2018).

D-Incubation :

- ❖ 18 heures à 35°C ;
- ❖ La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas : oxacilline, glycopeptides et aminosides.

3.2.3.3.3. Lecture :

- ❖ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée ;
- ❖ Comparer ces résultats aux valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI des entérobactéries, figurant dans les tables de lecture de CA-SMF 2015 (voir annexe I) ;
- ❖ Classer la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.



Résultats & discussion

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Lésions

L'examen nécropsique de 35 sujets (poulets de chair et dindes) autopsiés à la clinique de pathologie aviaire a révélé les lésions suivantes :

1.1. Lésions hépatiques

Les sujets atteints présentent les lésions suivantes : un foie hypertrophié et congestionné, avec une coloration verdâtre (foie vert bronzé) caractéristique de la typhose (figure 16), cette coloration est due à la rétention biliaire. Notre observation rejoint ce qui a été décrit par Shivaprasad (2008). Certains sujets présentent des foyers de nécrose blanchâtres sous forme de petites taches ou des plages au niveau de la séreuse des viscères (figure 17).



Figure 16: Foie présentant une teinte verte bronzée caractéristique de la typhose (Originale, 2018).



Figure 17 : Foie hypertrophié présentant des foyers de nécrose blanchâtres (Originale, 2018).

1.2. Lésions des organes génitaux :

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

Shivaprasad(2008).



Figure 18 : Ovaire avec de nombreux follicules diformés (Aspect d'omelette) (Originale, 2018).

2. Bactériologie

2.1. Isolement et identification des *Salmonella*

Sur 35 sujets autopsiés, 33 isolats de *Salmonella* sont récoltés, soit **94,27 %** de nos sujets étaient positifs (29 souches de *Salmonella gallinarum* avec une prévalence de 82,85% ; et 4 souches de *Salmonella arizonae* avec une prévalence de 11,42%). Pour le sujet restant soit **5,73%**, la culture était négative, ce qui témoigne la présence d'autres entérobactéries (*Escherichia coli* atypique : *fergusonii*).

2.1.1. Résultats sur Milieu Hektoen

2.1.1.1. *Salmonella gallinarum*

Les colonies des salmonelles *gallinarum* sur milieu Hektoen apparaissent vertes à centre noire, indiquant qu'elles ne fermentent pas les sucres inclus dans ce milieu et produisent l'H₂S (figure 19).

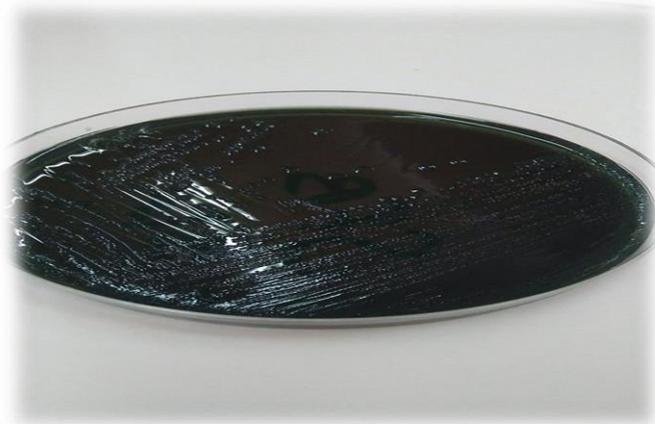


Figure 19 : Aspect de colonies suspectes de *Salmonella gallinarum* sur milieu Hektoen.

2.1.1.2. *Salmonella arizonae*

Les colonies des salmonelles arizonae sur milieu Hektoen apparaissent jaune saumon, indiquant qu'elles fermentent du lactose avec centre noir (H₂S+) (figure 20). Tandis que, elles sont de couleur jaune sur gélose XLD (figure 21).

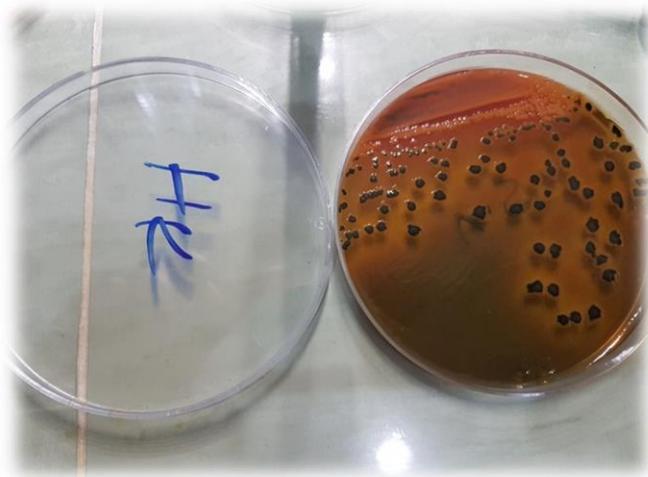


Figure 20 : Aspect de colonies suspectes de *Salmonella arizonae* sur milieu Hektoen (Originale, 2018).

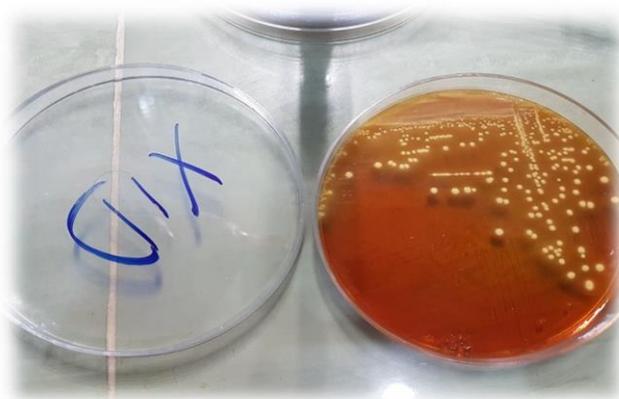


Figure 21 : Aspect de colonies suspectes de *Salmonella arizonae* sur milieu XLD (Originale, 2018).

2.1.2. Résultats sur milieu TSI

La confirmation de l'existence des salmonelles nécessite l'utilisation du test « TSI » (Triple Sugar Iron). Rappelons qu' il s'agit d'une série de tests biochimiques discriminatifs, pour le genre *Salmonella*. Les colonies suspectes, sur les milieux selectifs, ont été mise en présence de sucres (glucose , lactose et saccharose), afin de déceler une éventuelle fermentation et la production d'H₂S.

Les résultats de ces tests sont représentés dans le tableau 7 et les figures 22 et 23.

Tableau 7 : Résultats des caractères biochimiques des isolats identifiés par le test **TSI**.

Tests	Resultats	
TSI	Glucose +	La culture de <i>Salmonella</i> correspond à une pente alcaline (rouge), avec formation de gaz, et un culot acide (jaune) et noircissement de la gélose par H ₂ S (TSI en moustache)
	Lactose-/+	
	Saccharose-	
	H ₂ S +	

Lactose - : *Salmonella gallinarum*.

Lactose+ : *Salmonella arizonae*.



Figure 22: Resultats de l'identification par le test **TSI** de *Salmonella gallinarum* (Originale, 2018).



Figure 23: Resultats de l'identification par le test **TSI** de *Salmonella arizonae* (Originale, 2018).

2.1.3. Résultats de la galerie API 20E

Les résultats de l'Api 20E sont présentés dans les figures 24 et 25.



Figure 24: Résultat de l'identification par la galerie Api 20E de *Salmonella gallinarum* (Originale, 2018).

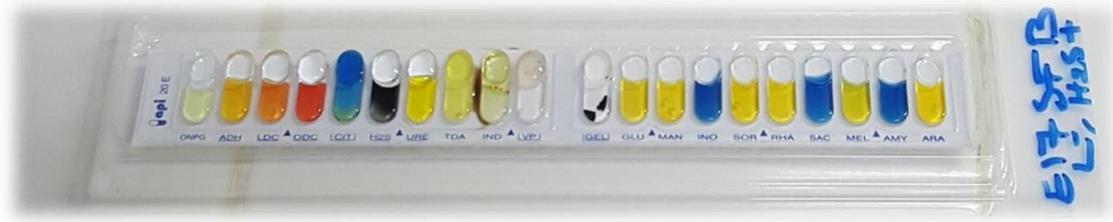


Figure 25: Résultat de l'identification par la galerie Api 20E de *Salmonella arizonae* (Originale, 2018).

3. Antibiogramme

3.1. Résistances individuelles par antibiotique

Douze antibiotiques sont testés sur chacune des **29** souches de *S.gallinarum* et les **4** souches de *S.arizonae* isolées.

Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant le diamètre des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des entérobactéries selon les recommandations du standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6^{ème} édition (2015) (voir annexe I) :

Les tableaux 8, 9 et les figures 26, 27 montrent les pourcentages de résistances des souches *S.gallinarum* et *S.arizonae* isolées lors de notre étude:

Tableau 8: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *Salmonella*

Familles	Antibiotiques testés	<i>S.gallinarum</i>			<i>S.arizonae</i>		
		R	I	S	R	I	S
Bétalactamines	Amoxicilline/AC clavulanique	13,79%	3,44%	82,75%	0%	0%	100%
	Ampicilline	20,68%	20,68%	58,62%	0%	0%	100%
	Céfotaxime	0%	0%	100%	0%	0%	100%
Cyclines	Tétracycline	41,37%	13,79%	44,82%	0%	0%	100%
Quinolones	Acide Nalidixique	96,95%	0%	3,44%	100%	0%	0%
	Enrofloxacin	31,03%	30,03%	37,93%	0%	0%	100%
Sulfamides	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	20,68%	3,44%	75,86%	0%	0%	100%
Aminosides	Gentamicine	17,24%	0%	82,75%	0%	0%	100%
	Néomycine	17,24%	0%	82,75%	0%	0%	100%
Polypeptides	Colistines sulfate	0%	0%	100%	0%	0%	100%
Furanes	Nitrofurantoin	3,44%	3,44%	93,10%	100%	0%	0%
Phénicoles	Chloramphénicol	3,44%	0%	96,55%	0%	0%	100%

R : Résistante ; **I** : Intermédiaire ; **S** : Sensible.

3.1.1. Résultats des souches de *S.gallinarum*

Les résultats de sensibilité et de résistance des différents isolats de *S.gallinarum* sont illustrés dans la figure 29.

Vue la diversité des pourcentages, les résultats sont classés en trois groupes, comme préconisé par Saberfar et al. (2008) :

- L'antibiotique ayant un très haut niveau de résistance (de 70 à 100), est compris dans le Groupe I et est représenté par l'Acide nalidixique (**96,95%**) ;

-Le Groupe II comprend des antibiotiques pour lesquels des niveaux moyens de résistance (de 30 à 70%) sont obtenus. Ce sont : Tétracyclines (**41,37%**), Enrofloxacin (**31,03%**) ;

-Le Groupe III comprend les antibiotiques pour lesquels des niveaux bas de résistance (de 0 à 30%) sont notés. Ce sont par ordre décroissant : Ampicilline, Triméthoprime (20,68%)

Gentamicine, Neomycine(**17,24%**), Amoxicilline (**13,79%**), Chloramphénicol, Nitrofurantoïne (**3,44%**). pour les Cefotaxime, Colistine(**0%**).

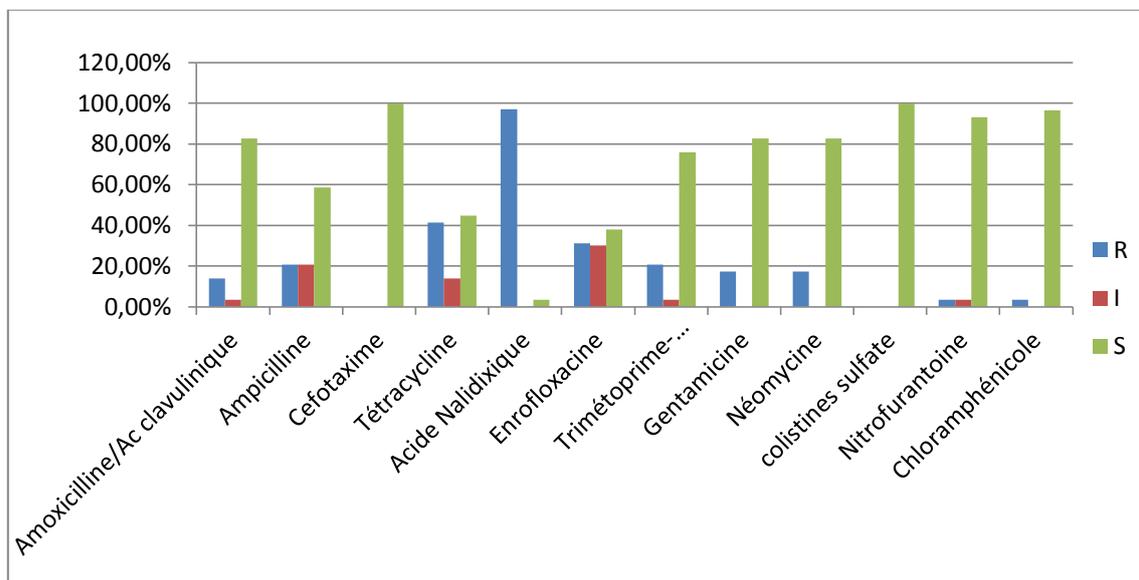


Figure 26: Pourcentages de résistance et sensibilité des souches de *S. gallinarum*.

- Dans cette étude, il ressort clairement que les molécules les plus efficaces contre les salmonelloses sont celles qui sont classées dans le Groupe III, avec des taux de sensibilité et de sensibilité intermédiaire plus élevés par rapport aux autres antibiotiques de différentes familles. Le taux de sensibilité est de 100% pour les Cefotaxime, et la Colistine, de **96,55%** pour le chloramphénicol, l'Amoxicilline, Gentamicine et Néomycine (**82,75%**) ; l'Ampicilline (**58,62%**) ; pour l'Enrofloxacin (**37,93%**) et l'Acide nalidixic (**3,44%**). Le taux de la sensibilité intermédiaire le plus élevé est de (**31,03%**).

A titre de comparaison, il semble que nos valeurs de résistance enregistrées à l'encontre de l'Amoxicilline, la Tétracycline, la Triméthoprime/sulfaméthoxazole, la Gentamicine et le Chloramphénicol sont nettement supérieures à celles communiquées en Chine. Ainsi, on note que nos valeurs de résistances vis-à-vis de l'ampicilline, Tétracycline, Gentamicine, Colistine, et le Chloramphénicol sont nettement inférieures à celles communiquées au Nigeria (tableau9).

Par rapport aux travaux qui ont été faits en 2017, on constate que le taux de résistance vis-à-vis des 4 antibiotiques : Enrofloxacin, Triméthoprime, Nitrofurantoine, Chloramphénicol a augmenté. Ceci pourrait être expliqué par l'utilisation anarchique des antibiotiques. Par contre, une diminution du taux de résistance pour l'Amoxicilline, l'Ampicilline, la Gentamicine, la Néomycine, l'Acide nalidixique a été diminuée, grâce à leur utilisation raisonnée et/ou au respect des conditions d'utilisation: la dose, la durée et la voie d'injection.

Tableau 9:Fréquence des antibiorésistances des *Salmonella gallinarum* rapportées dans la littérature

ATB	SAYAH et <i>al.</i>, 2017 Algérie	Salihu et al., 2014 Nigeria	FULI WU et <i>al.</i>, 2013 Chine	Nos résultats 2018 Algérie
Amoxicilline / Acclavulanique	20%	12,9%	6%	13,79%
Ampicilline	30%	65,8%	80%	20,68%
Céfotaxime	0%	/	/	0%
Tétracycline	65%	58,1%	13%	41,37%
Acide Nalidixique	100%	42,3%	/	96,95%
Enrofloxacin	15%	/	/	31,03%
Triméthoprime- sulfaméthoxazole	0%	/	6%	20,68%
Gentamicine	25%	76,1%	0%	17,24%
Néomycine	25%	14,6%	/	17,24%
Colistines sulfate	0%	35,4%	/	0%
Nitrofurantoine	0%	/	/	3,44%
Chloramphénicol	0%	66,2%	0%	3,44%

3.1.2. Résultats des souches de *S.arizonae*

La figure ci-après résume les résultats de sensibilité et de résistances des 4 isolats de *S. arizonae*.

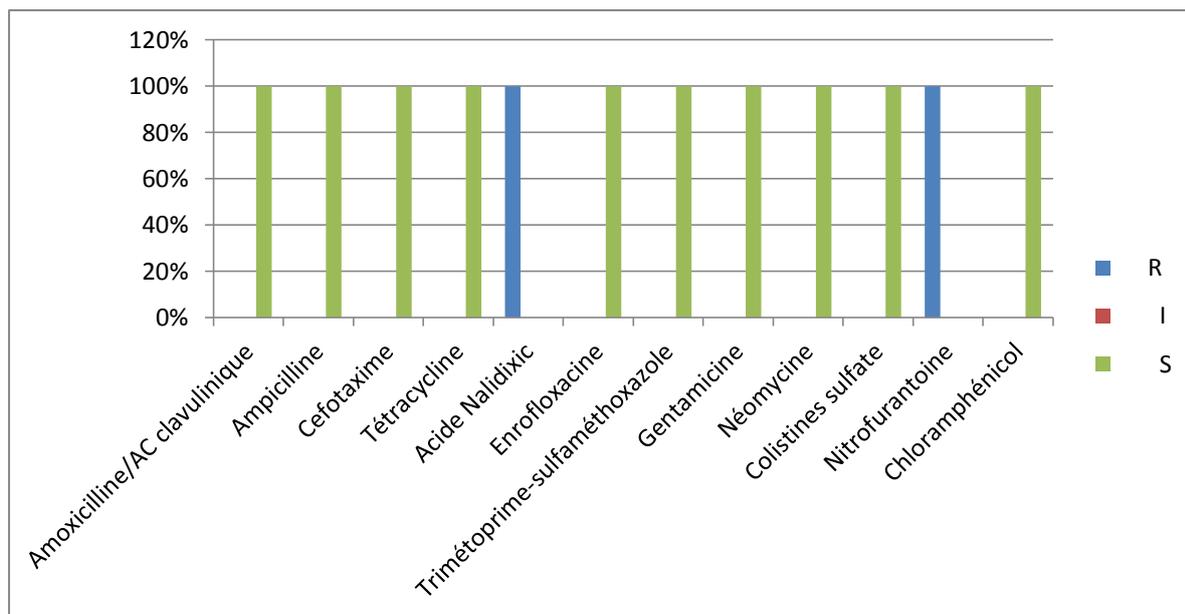


Figure 27 : Pourcentages de résistance et sensibilité des souches de *S.arizonae*

Ces constats montrent clairement que *Salmonella arizonae* est sensible pour la majorité des antibiotiques testés à l'exception de l'acide nalidixique et la nitrofurantoine où on a enregistré une résistance maximale de 100%. Le tableau ci-dessous représente quelques données publiées concernant les taux de résistance de *S. arizonae*.

Tableau 10: Fréquences des antibiorésistances des *Salmonella arizonae* rapportées dans la littérature

ATB	LAMAS et <i>al.</i>, 2015 Espagne	GABRA et <i>al.</i>, 2017 Nigéria	Nos résultats 2019 Algérie
Amoxicilline / Ac. clavulanique	/	12%	0%
Ampicilline	16,41%	13%	0%
Céfotaxime	0%	/	0%
Tétracycline	/	16%	0%
Acide Nalidixique	17,91%	0%	100%
Enrofloxacin	/	1%	0%
Triméthoprim- sulfaméthoxazole	0%	/	0%
Gentamicine	0%	/	0%
Néomycine	0%	/	0%
Colistines sulfate	/	/	0%
Nitrofurantoin	/	1%	100%
Chloramphénicol	14,92%	/	0%

Il ressort que nos valeurs de résistance à l'encontre de l'Acide nalidixique et du Nitrofurane sont maximales et donc largement supérieures à celles publiées Espagne, au Nigéria. Cependant, la totalité des souches ont exprimé des sensibilités maximales à l'encontre des autres antibiotiques. Il est à signaler que ces observations pourraient être fortuitement liées au nombre réduit de nos isolats.

3.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

3.2.1. Les Quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches de *Salmonella arizonae* est testée vis-à-vis de l'Acide nalidixique, « quinolone de première génération » et de l'Enrofloxacin « fluoroquinolone ». Les 4 isolats ont été révélés résistants à l'Acide nalidixique.

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

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

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

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

3.2.2. Les Furanes

La résistance de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane. De même, tous les isolats ont montré une résistance. Il est à signaler que cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire.

3.3. Multirésistances

3.3.1. *Salmonella gallinarum*

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 11 et la figure 28. Les 29 souches sont résistantes à au moins un antibiotique avec un taux de 45%. 17% sont résistantes à au moins deux antibiotiques. Ainsi, 21% sont résistantes à au moins quatre antibiotiques, 3% sont résistantes à au moins cinq antibiotiques et 14% à au moins 6 antibiotiques. Mais il n'existe pas de souches résistantes à 12 antibiotiques car toutes nos souches sont sensibles au Céfotaxime et à la Colistine sulfate sur les 12 molécules utilisées.

Tableau 11 : Pourcentages de multirésistances des souches *S.gallinarum*

Nombre d'antibiotiques	Nombre de souches	Pourcentage %
1	13	45
2	5	17
3	0	0
4	6	21
5	1	3
6	4	14
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
Total	29	100

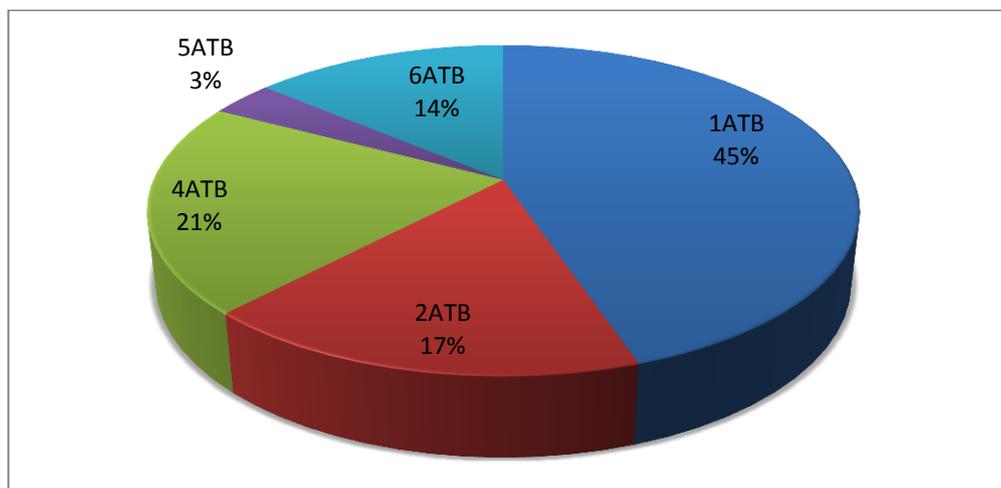


Figure 28 : Pourcentages des multirésistances des souches de *S.gallinarum* isolées.

Cependant, les forts pourcentages de multirésistance sont enregistrés vis-à-vis de 1,2 et 4 antibiotiques avec des pourcentages de 45%, 17% et 21% respectivement.

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

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

Antibiotypes (profils de résistances, phénotypes)

Dans notre étude, 6 Antibiotypes différents sont isolés, dont les plus importants sont rapportés dans le tableau 12 :

Tableau 12 : Antibiotypes de *Salmonella gallinarum*

Antibiotype	Désignation	Nbrede souches	Pourcentage (%)
NA	A	13	44,82%
SXT-NA-ENR-TE	B	6	20,68%
AUG-AMP-CN-KMN-NA-TE	C	4	13,79%
AMP-CN-KMN-NA-ENR-TE	D	1	3,44%
AMP-NA	E	1	3,44%
NA-ENR	F	1	3,44%

Parmi les 6 profils de multirésistance obtenus dans notre étude, 6, désignés de A à F, attirent l'attention particulièrement, dont les plus importants sont : le profil A avec 44,82%, le profil B avec 20,68%, le profile C avec 13,79%. Les profils D, E, F avec un taux 3,44%.

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

Ces souches peuvent transférer leur large phénotype d'antibiorésistance par transmission verticale à leur descendance, permettant la diffusion de ces profils et réalisant la transmission épidémique de cette multirésistance.

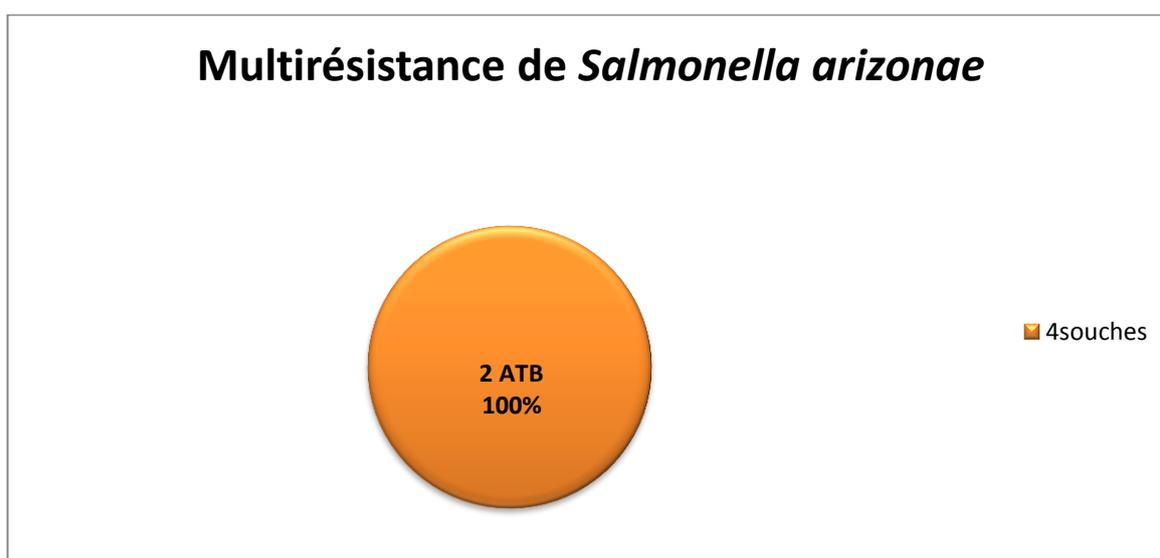
Aussi, nous mettons en évidence une co-résistance vis-à-vis de : l'Acide Nalidixic Tétracycline, Ampicilline, Enrofloxacin, Néomycine. La totalité de nos souches expriment une co-résistance à l'Acide nalidixique.

3.3.2. *Salmonella arizonae*

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 13 et illustrés dans la figure 29 : Les 4 souches sont résistantes à au moins deux antibiotiques avec un taux de 100%.

Tableau13 : Pourcentages de multirésistances des souches *S.arizonae*.

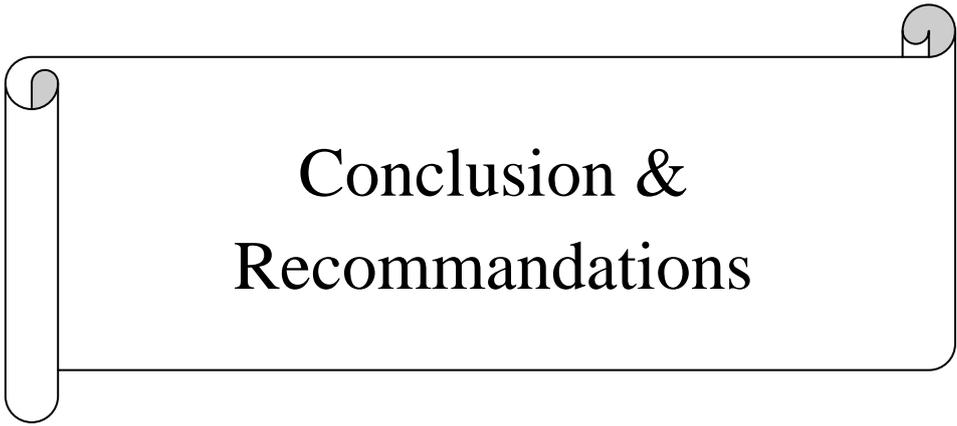
Nombre de disques	Nombre des souches	Pourcentage %
1	0	0
2	4	100
Total	4	100

**Figure 29** : Pourcentages des multirésistances des souches de *S.arizonae* isolées.

Un fort pourcentage de multirésistance est enregistré vis-à-vis de 2 antibiotiques avec des pourcentages de 100%.

- Antibiogrammes (profils de résistances, phénotypes)

Un seul antibiogramme a été signalé (FT-NA) pour les quatre isolats. Ce résultat reflète l'utilisation abusive et anarchique de ces deux antibiotiques en raison de leur disponibilité sur le marché algérien. Ces pratiques exercent une pression de sélection sur les bactéries et favorisent le développement et la dissémination de bactéries résistantes.



Conclusion &
Recommendations

Conclusion

Les salmonelles se retrouvent dans les milieux perturbés par l'activité industrielle de l'homme, et la filière avicole est l'une de ces industries. Leur incidence sur la santé publique découle du fait que la filière avicole dessert à tous les niveaux les consommateurs en produits avicoles à risque. Donc l'existence de salmonelles dans la filière avicole et dans son environnement est elle-même un danger sans égal.

Dans cette étude, nous avons pu isoler 29 souches de *Salmonella gallinarum* et 4 souches *Salmonella arizonae* à partir de 35 prélèvements récoltés auprès des élevages avicoles instaurés au centre et à l'est algérien.

La culture bactériologique nous a permis, d'une part, d'identifier les sérotypes *Salmonella gallinarum* et *salmonella arizonae*, et d'autre part, de dresser un état des lieux sur le niveau de l'antibio-résistance et de la multirésistance des isolats vis-à-vis de 12 molécules d'antibiotiques pour arriver au profil de résistance de la bactérie.

Globalement, les isolats de salmonelles, plus précisément *S.gallinarum*, étaient souvent résistants à au moins un antibiotique, mais essentiellement à des molécules anciennes, telles que les quinolones et les tétracyclines. Les isolats de *S.Arizonae* étaient résistants à 2 molécules : l'Acide Nalidixique et le Nitrofurantoïne

Ces constats confirment le potentiel de la filière avicole de transmettre à l'homme via l'alimentation, des germes bactériens de plus en plus résistants. Cette résistance est expliquée en majeure partie par l'utilisation irraisonnée de l'antibiothérapie dans les élevages avicoles aussi bien à titre curatif que préventif.

Enfin, devant l'ampleur de la contamination de la filière avicole par les salmonelles, nous pouvons conclure que pour diminuer les risques de contagion des élevages avicoles, il est strictement obligatoire de prendre des mesures de prophylaxie sanitaire et de désinfection afin d'éviter la contamination de leurs produits et par conséquent un risque pour l'homme.

Recommandations

Les salmonelloses sont des infections universellement répandues. Elles sévissent avec une acuité particulièrement importante dans l'élevage de volailles.

Les salmonelles se transmettant notamment tout le long de la pyramide de production. La surveillance porte non seulement sur les volailles de production (d'œufs ou de chair) mais également sur les volailles de reproduction. Il serait utile d'appliquer les normes de biosécurité et d'hygiène dans tous les stades de l'exploitation :

- Le vétérinaire doit déclarer la maladie \implies Mesures de police sanitaire doit effectués.
- Ces mesures ne concernent que le bâtiment où la suspicion a été déclarée
- Elles sont sous la responsabilité du Vétérinaire Sanitaire désigné pour l'élevage.
- Dès la suspicion :
 - Mise sous surveillance : observation du comportement, mortalité...
 - Blocage des œufs et des animaux de l'exploitation
 - Mesures d'hygiène obligatoires dans l'exploitation :
 - **Dans le bâtiment :**
 - ✓ Nettoyage et désinfection .
 - ✓ Nécessité de résultats bactériologiques négatifs avant réintroduction
 - ✓ Vide sanitaire obligatoire (préconisation de 3 semaines)
 - ✓ Enquête épidémiologique par les services vétérinaires.
 - **Matériels et effluents :**
 - ✓ Nettoyage et désinfection du matériel.
 - ✓ Traitement des effluents (désinfection chimique ou traitement physique).
 - ✓ Chaulage des abords et parcours.

1-Chez les reproducteurs ou poulettes futures pondeuses d'œufs de consommation :

L'élimination anticipée des volailles et des effluents est obligatoire. Il est indispensable d'Initier des programmes de vaccinations contre *Salmonella Enteritidis* au niveau des reproducteurs ponte.

2-À l'étage pondeuse : L'élimination anticipée des troupeaux est incitée par des mesures d'accompagnement financier mais n'est pas obligatoire. Par contre, tous les œufs provenant d'un troupeau infecté sont destinés à l'industrie où ils subissent un traitement thermique.

- Dans une exploitation de poules pondeuses ou de volailles de reproduction, il est conseillé de procéder à une enquête épidémiologique en cas d'une analyse positive pour *Salmonella*. Cette enquête permet d'établir la voie d'introduction et la propagation du germe dans l'exploitation

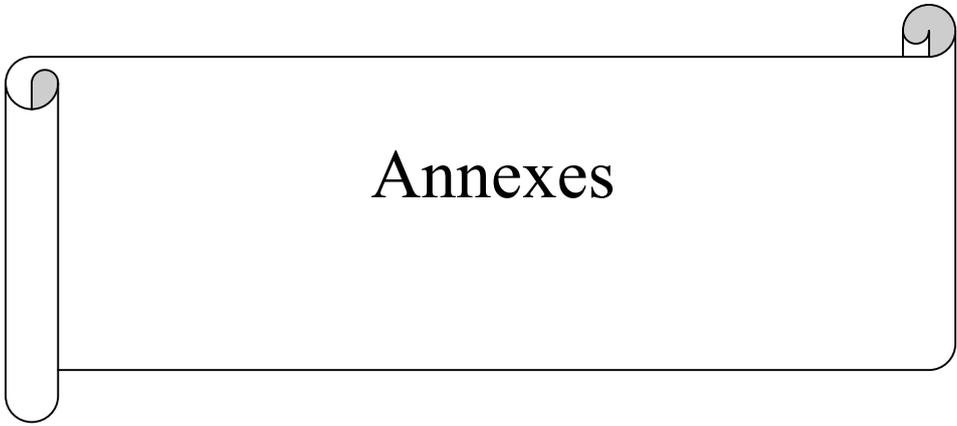
3-Chez les poulets de chair : Les détenteurs des lots de poulets de chair ou de dindes de chair qui se révèlent positifs pour les salmonelles pour la première fois ont l'obligation de prendre les mesures suivantes :

Le lot concerné est destiné à un abattage logistique au terme de la production. Avant la mise en place d'un nouveau lot de volailles, le poulailler est nettoyé et désinfecté en profondeur. La période de vide sanitaire requise (au moins jusqu'à ce que le poulailler soit complètement sec) doit être respectée.

Chez les poules pondeuses et les volailles de reproduction toutefois, un nouveau lot ne peut être mis en place que si les écouillons prélevés par le vétérinaire d'exploitation après nettoyage et désinfection du poulailler sont négatifs pour *Salmonella*. Si l'analyse de l'écouvillon est positive, le nettoyage et la désinfection du poulailler doivent être répétés jusqu'au moment où on ne peut plus détecter la présence de *Salmonella*. Ainsi, il semble important de :

- Procéder à une analyse complémentaire de l'eau ;
- Contrôler tous les vecteurs de la maladie ;
- S'assurer d'une litière ventilée et sèche ;
- N'introduire que des œufs provenant de fermes certifiées sans salmonellose ou immunisés ;
- Assurer un niveau de biosécurité très stricte dans les couvoirs ;
- Contrôler la qualité des aliments ;
- Effectuer des traitements des carcasses au moment de l'échaudage, l'éviscération et la réfrigération, au niveau des abattoirs ;
- Respecter les règles d'utilisation de l'antibiothérapie afin d'éviter de sélectionner des souches microbiennes multi résistantes aux antibiotiques ;
- Réaliser l'antibiogramme avant tout traitement ;

- Entreprendre un traitement intuitif en parallèle de l'antibiogramme ;
- Finalement, mettre en place des réseaux de surveillance épidémiologique de l'antibiorésistance associée à la surveillance des modalités d'utilisation des antibiotiques chez l'homme et chez l'animal.
- en présence de salmonellose à **salmonella arizona** sur demande de l'éleveur et sous contrôle officiel, les produits issus de cet abattage ne pourront être livrés à la consommation humaine que s'ils ont subi un traitement thermique à une température de 65°C pendant 10 mn au minimum et que les résultats d'analyses a posteriori en matière de salmonelloses soient négatifs conformément.
- la destruction de tous les œufs issus de l'élevage sauf en cas de présence de salmonellose à *salmonella pullorum gallinarum* où les œufs seront autorisés à la consommation humaine.

A decorative scroll graphic with the word "Annexes" written on it. The scroll is horizontal and has a light gray fill. It features a vertical strip on the left side that is rolled up, and two small circular tabs on the top edge, one at the left end and one at the right end. The word "Annexes" is centered on the scroll in a black, serif font.

Annexes

Les annexes

Annexe I : Tableau de lecture API 20

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

- (1) Une très légère couleur jaune est également positive.
- (2) Une couleur orange apparaissant après 36-48h d'incubation doit être considérée négative.
- (3) Lecture dans la cupule (zone aérobie).
- (4) La fermentation commence dans la partie inférieure des tubes, l'oxydation commence dans la cupule.
- (5) Une légère coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être lue négative.

Table de lecture 34 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries* (Médecine Vétérinaire)

Antibiotiques testés	Charges des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline - Toutes espèces animales - Chien : <i>Escherichia coli</i>	10µg	≤13	14-16	≥17	≥32	16	≤8	La réponse pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
	-	-	-	-	≥1	0,5	≤0,25	La valeur ≤8 doit être utilisée pour les infections du tractus urinaire, cette valeur correspond à une administration orale de 25.6mg/kg Pour l'amoxicilline, elle est de 11 mg / kg administrées cinq doses consécutives à 8 heures d'intervalle. La concentration des urines produites chez le chien est > 300µ/ml
Amoxicilline+ Acide clavulanique*	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	≥32/16	16/8	≤8/4	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX ou TIO, une image de synergie indique la présence d'une BLSE. Après confirmation, la souche BLSE+doit être rendue résistante à toutes les β-lactamases (sans tenir compte des valeurs critiques)
Céfalotine	30 µg	14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	La réponse à la céfalotine est valable pour toutes les céphalosporines de première génération.
Céftiofur	30 µg	≤17	18-20	≥21	≥8	4	≤2	
Néomycine	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16	La réponse pour la néomycine est valable pour la kanamycine
Gentamicine** - Espèce canine - Espèce équine	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique (utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chiens, la dose de la gentamicine modifiée est : 10mg /kg /24h en IM.
		≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique (utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chevaux, la dose de la gentamicine modifiée est : 6.6mg /kg /24h en IM.
Sulfisoxazole	300 µg	≤12	13-16	≥17	≥512	-	≤256	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤10	11-15	≥16	≥4/76	-	≤2/38	La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines. Les organismes sensibles à la tétracycline sont aussi considérés comme sensibles à la doxycycline mais certains organismes classés comme intermédiaires ou résistants à la tétracycline peuvent être sensibles à la doxycycline ou à la minocycline ou aux deux.
Acide nalidixique/ fluméquine	30 µg	≤13	14-18	≥19	≥32	-	≤16	La réponse pour l'acide nalidixique est valable pour la fluméquine
Acide oxolinique	10 µg	≤17	-	≥20	>4	-	≤2	
Enrofloxacin Espèce Aviaire (poulet et dinde)	5 µg	≤16	17-20	≥21	≥2	0,5-1	≤0,25	
		≤16	17-22	≥23	≥2	0,5-1	≤0,25	
Espèce féline et canine		≤16	17-22	≥23	≥4	1-2	≤0,5	
Marbofloxacine (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 µg	≤14	15-19	≥20	≥4	2	≤1	
Danofloxacine (espèce bovine)	5 µg	-	-	≥22	-	-	≤0,25	
Colistine	10 µg	-	-	-	≥2	-	≤2	
Nitrofurantoïne**	300 µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	
Chloramphénicol**	30 µg	≤12	13-17	≥18	32	16	≤8	

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3. Vol.28 N° 8.Replaces M31-A2. Vol.22 N° 6.February 2008.

*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases

** Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie

Annexe II : Composition des milieux utilisés :

1) Milieu de pré enrichissement :

Eau Peptonée Tamponnée :

Milieu de pré-enrichissement utilisé avant l'enrichissement sélectif lors de la recherche des Salmonella dans les aliments.

http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0509&org=124&c=UK&lang=FR

COMPOSITION	(grammes/litre)
Peptone	10,0
Chlorure de sodium	5,0
Phosphate disodique anhydre	3,5

Dihydrogénophosphate de potassium	1,5
pH 7,2 ± 0,2	

2) Milieu d'enrichissement :

SFB (Selenite F Broth) :

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

Composition :

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

3) Milieu d'isolement :

I. Gélose Hektoen :

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

Composition :

- Peptone de viande ou de la gélatine 10g
- Extrait de levure (facteur de croissance) 3g
- Lactose 12g
- Saccharose 12g
- Salicine 2g
- Chlorure de sodium 5g
- Thiosulfate de sodium 5g
- Sels biliaires 9g
- Citrate de fer d'ammoniacal 1,5g
- Fushine acide 0,1g
- Bleu de bromothymol 0,065g
- Agar(gélose) 14g
- ED qsp1L
- Ph=7,5

II. Gélose XLD :

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

Composition :

- Extrait autolytique de levure 3g
- L-Lysine 5g
- Lactose 7,5g
- Saccharose 7,5g
- Xylose 3,5g
- Désoxycholate de sodium 2,5g
- Chlorure de sodium 5g
- Thiosulfate de sodium 6,8g
- Citrate ferrique ammoniacal 0,8g
- Rouge de phénol 80g
- Agar agar bactériologique 13,5g
- Ph=7,4

4) Milieu pour l'antibiogramme

Mueller Hinton :

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

Composition :

- Extrait de viande 3g
- Hydrolysate acide de caséine 17,5g
- Amidon 1,5g
- Agar 16g
- Eau distillée 1L
- pH = 7,3

Annexe III :

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

Le Ministre de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière,

Le Ministre du Commerce,

Le Ministre de l'Agriculture et du Développement Rural,

Vu le décret présidentiel n°02-208 du 6 Rabie Ethanie 1423 correspondant au 17 juin 2002, portant nomination des membres du gouvernement ;

Vu le décret exécutif n°90-12 du 4 Joumada Ethanie 1410 correspondant au 1er janvier 1990, modifié et complété, fixant les attributions du Ministre de l'Agriculture ;

Vu le décret exécutif n°94-207 du 07 Safar 1415 correspondant au 16 juillet 1994 fixant les attributions du Ministre du Commerce ;

Vu le décret exécutif n°95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété, fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables ;

Vu le décret exécutif n°996-166 du 07 Ramadan 1416 correspondant au 27 janvier 1996, fixant les attributions du Ministre de la Santé et de la Population ;

Vu l'arrêté interministériel du 1er septembre 1984 portant institution d'un comité national et des comités de wilaya de lutte contre les zoonoses ;

Vu l'arrêté interministériel du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété, relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ;

Vu l'arrêté ministériel du 25 Chaoual 1415 correspondant au 27 mars 1995 définissant les mesures générales de prévention en élevage avicole.

Arrêtent

Art. 1er : En application des dispositions de l'article 3 du décret exécutif n°95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995, modifié et complété susvisé, le présent arrêté a pour objet de fixer les mesures de prévention et de lutte spécifiques aux salmonelloses à salmonella Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Arizona, Dublin, Paratyphi et Pullorum Gallinarum.

Art. 2 : Sont reconnus atteints de salmonelloses à Salmonella Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Arizona, Paratyphi et Pullorum Gallinarum :

a. Les sujets, poussins ou adultes, sur lesquels a été isolé l'un de ces germes, quel que soit le type de production.

b. Les sujets adultes ayant une sérologie positive avec une bactériologie positive de :

- La litière (prélèvement effectué autour des abreuvoirs) ;

- L'eau de boisson (continue dans les abreuvoirs) ;

- Les fientes (prélèvement effectué sur fond de cage).

- Le duvet des poussins à l'éclosion.

c. Les oeufs sur lesquels le germe a été isolé.

Art. 5. — Sur proposition de l'inspecteur vétérinaire de wilaya, le wali déclare l'infection par arrêté et édicte les mesures sanitaires suivantes :

1) A l'égard des animaux de l'exploitation :

— séquestration de l'élevage ;

— si le cheptel avicole est constitué de poussins, la destruction et l'incinération doivent être immédiates ;

— si le cheptel avicole est constitué de sujets adultes, l'abattage sanitaire est ordonné et doit être effectué sous huitaine, au niveau d'un abattoir agréé ;
— en présence de salmonellose à salmonella pullorum gallinarum, la viande issue de cet abattage pourra être livrée à la consommation humaine à condition que le transport de cette viande soit effectué en véhicule réfrigéré, étanche et sous couvert d'un laissez-passer délivré par l'inspecteur vétérinaire de wilaya ou de son représentant dûment mandaté, pour éviter toute propagation des germes.

— en présence de salmonellose à salmonella enteritidis, typhimurium, typhi, arizona, dublin et paratyphi, sur demande de l'éleveur et sous contrôle officiel, les produits issus de cet abattage ne pourront être livrés à la consommation humaine que s'ils ont subi un traitement thermique à une température de 65°C pendant 10 mn au minimum et que les résultats d'analyses a posteriori en matière de salmonelloses soient négatifs conformément aux dispositions de l'arrêté interministériel du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, susvisé

— les véhicules ayant transporté le cheptel avicole concerné, avant et après abattage, doivent être désinfectés immédiatement après utilisation ;

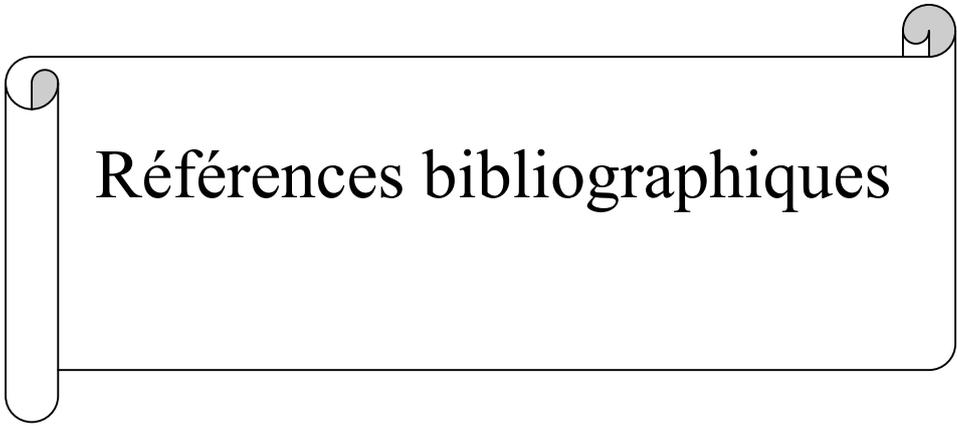
— la destruction de tous les œufs issus de cet élevage sauf en cas de présence de salmonellose à salmonella pullorum gallinarum où les œufs seront autorisés à la consommation humaine.

2/ A l'égard des œufs à couver et des poussins éclos dans un couvoir :

— séquestration du couvoir ;

— arrêt de l'incubation de ces œufs ;

— destruction de tous les œufs et de tous les poussins éclos.



Références bibliographiques

Bibliographie

- **ABDENNEBI EH., 2006:** Antibactériens en médecine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages.
- **ABOUN,A.A.BENELMOUFFOK,R.,BOUGUEDDOUR,A.,TARIL,M.,REZKALLA H ET SELATNIA.,2003:** salmonelloses aviaires diagnostiquées a l'institut Pasteur d'Algérie de 1988 a 2002 : sérotypes rencontrés ,leurs antibiorésistance et les aspects réglementaires .Archives de pasteur d'Algérie ,ED.ADNS .T.64 :93-114.
- **AUTHEVILL., 1979:** Poultry disease and world economy ,edited by R.F.GORDON and B.M.FREEMAN .
- **BALLOY DIDIER VILLATE., JEAN-LUC GUERIN DOMINIQUE., 2011 :** MALADIES DES VOLAILLES Page : 325-330 *3e édition.*
- **BERENDS., MURRAY., HANES., 2003:** Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding Salmonella spp. In pigs. Int. J. Food Microbiol., 30, 37-53.
- **BICHLER L.A., NAGARAJA K.V., HALVORSON D.A., 1996:** *Salmonella* Enteritidis in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. Am. J. Vet. Res., **57**, 489-495.
- **BOUVET.,1995 :** Observation On The Persistence And Vertical Transmission Of Salmonella Enterica Serovars Pollorum And Gallinarum In Chickens : Effet Of Bacterial And Host Genetic Background
- **BRYAN ET DOYLE., 1995:** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.
- **CATHRINE GAUDY., JACQUE BUXERAUD., 2005 :** Antibiotiques : Pharmacologie Et Thérapeutique. Collection, Pharma, Issn1760-1642.Editeur : Gregg Colin, 23, Rue Linois ,75724 Paris Cedex 15, France.
- **DAVIES., 1997 :** Prevalence of Salmonella in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, USA. Epidemiol. Infect., 119, 237-244.
- **DE BUCK J., VAN IMMERSEEL F., HAESBROUCK F., DUCATELLE R., 2004:** Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *J. Appl. Microbiol.* b, **97**, 233-245.
- **DE LOUVOIS J., 1993:** Salmonella contamination of eggs:a potential source of human salmonellosis : a report of the public health laboratory service survey of imported and home-produced eggs . *PHLS Microbiol. Dig.*, **10**,158-162.

- **DENYER SP., MAILLARD JY., 2002:** Cellular impermeability and uptake of biocide and antibiotics in Gram-negative bacteria. J. Appl. Microbiol. Symposium (Suppl.) 92, 35S-45S.
- **DESENCLOS J.-C., REBIERE I., BOUVET P., BENZ-LEMOINE E., ROBAIN M., BOUVIER N., PONGE A., VIANNEZ-GAIDE A.M., PAOLI C., BLEUZE V., TRAN.,1996 :** DISEASE .Rev.SCi.tech,p:568-577.
- **DIDIER VILLATE., 2001 :** Maladies des volailles, 2 Edition Page 244 - 248.
- **DIDIER VILLATE., 2011 :** Maladies des volailles, 3 Edition Page 331-332.
- **ECOLES NATIONALES VETERINAIRES FRANCAISES ., 2013 :** MALADIES REGLEMENTEES, DANGERS SANITAIRES DE 1ERE ET 2EME CATEGORIES CHEZ LES OISEAUX ET LES LAGOMORPHES .Mise à jour au 30 juin 2015 Liste établie sur la base des dispositions de l'arrêté du 29 juillet 2013 relatif à la définition des dangers sanitaires de 1ère catégorie et 2ème catégorie pour les espèces animales Page 61 ; 66.
- **EISENSTEIN.,1996.,THORNS.,2000:** Fimbriae in :*escherichia coli* and *salmonella typhimurium* ,American society for microbiology.
- **EUZEBY J.P.,2012 :** Bactériophages, transduction et conversion lysogénique. [en ligne] (sans date) Adresse URL : <http://www.bacteriologie.net/generale/phages>. Html.
- **EVA PIERRE .,2013 :** Plan d'Action Salmonelles Lutte contre les salmonelles zoonotiques chez les volailles.
- **EVA PIERRE., MIEKE GEERINCKX., 2012 :** Plan d'Action Salmonelles Lutte contre les salmonelles zoonotiques chez les poulets de chair et les dindes d'engraissement.
- **FAO (FOOD And agriculture organization of the united nation),, 2004 :** Evaluation des risques lies a salmonella dans les œufs et les poulets de chair. département de la salubrité des aliments, organisation mondiale de la santé .20.AVENUE APPIA,CH-1211 GENEVE 27 suisse ,p 8-12.
- **GARBA M.K., OLONITOLA I., YAKUBU OS et ABDULLAHI SE., 2017 :** Antimicrobial susceptibility and occurrence of resistance genes among salmonella arizonae isolated from chicken meat samples in sokoto metropolis sokoto state, nigeria.
- **GARET G., 1990 :** Mode d'action des quinolones. Pages : 87-92.
- **GAST., BEARD .,1990 :** Production of *Salmonellan Enteritidis*-contaminated eggs by experimentally in fected hens. Avian Dis., b, **34**, 438-446.

- **GASTINEL P., FASQUELLE R., NEVOT A., CHRISTOL D., DEMANCHE R ET NICOLLE P., 1985** : Précis de bactériologie médicale. Paris : Masson.
- **GRAY ET FEDORKA-CRAYP., 2001**: Survival and infectivity of salmonella choleraesuis in swine feces.
- **GRIMONT., 2000** : Les marqueurs épidémiologiques des salmonella.
- **GRIMONT ET COLL., 2000**: Taxonomy of the genus salmonella . In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 2000, 1-17.
- **HANES D., 2003**: Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J. (Eds.) International Handbook of Foodborne Pathogens, Marcel Dekker : New York, 137-149.
- **HL SHIVAPRASAD ., 2015** : Manuel de pathologie aviaire.
- **HOOP., POSPISCHIL., 1993** : Bacteriological, serological, histological and immunohistochemical findings in laying hens with naturally acquired salmonella enteritidis phage type 4 infection. *Vet. Rec.*, **133**, 391-393.
- **HUMBERT., 1998** : Les salmonelloses dans le manuel de bactériologie alimentaire edpolytechnica.paris.
- **HUMPHREY ., 1994**: Contamination of egg shell and contents with Salmonella Enteritidis : a review. *Int. J. Food Microbiol.*, **21**, 31-40.
- **ICMSF (International Commission On Microbiological Specifications For Foods), 1996**: *Salmonellae*. In: Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens. Blackie Academic & Professional: London, 1996, 217-264.
- **JEAN M ., COURVALIN P., 1982** : Mode d'action et mécanisme de résistance. Edition Paris, Arnettes ; 9-21.
- **JEANNE BRUGERE-PICOUX et AMER SILIM., 2015** : Manuel de pathologie aviaire , paris :AFAS , Edition : association française pour l'avancement des sciences .
- **JING X., FULI W., XUEBIN X., XIAOXIA Y., RONGTAO Z., QIUXIA M., PENG L., LIGUI W., RONGZHANG H., LEIJI J., XINYING D., SHAOFU Q et HONGBIN S., 2018** : Antibiotic resistance and molecular characterization of the hydrogen sulfide-negative phenotype among diverse *Salmonella* serovars in China.
- **K.KEZZAL., 1993** : Les antibiotiques classifications, mode d'Action, Résistances, Action in Vitro, office des publications universitaires, place centrale de ben Aknoun .
- **LABIA R et BARTHELEMY M., 1989** : Propriétés des nouvelles Bêta-lactamases plasmidiques de 3^e génération : position dans la classe A des Bêta-lactamases. *Med Ma Infect* ; 19 (hors série) : 26-7.

- **LAI ., WEISBLUM.,1971:** Bacillus .Edited by colin r .harwood .
- **LAMAS A., FERNANDEZ –NO IC., MIRANDA JM., AZQUEZ BV., CEPEDA A et FRANCOL CM., 2015 :** Prevalence, molecular characterization and antimicrobial resistance of salmonella serovars isolated from north western Spanish broiler flocks (2011-2015).
- **LE MINOR et VERON ., 1989 :** Taxonomie des salmonella .annales de microbiologie 137b :211-243.
- **LE MINOR L., SANSONETTI P., RICHARD C., GRIMONT F., MOLLARET HH., BERCOVIER H ., 1989 :** Entérobactéries. In : LE MINOIR L et VERON M, Edition Bactériologie médicale. Paris: Flammarion; 389-472.
- **MAJO N., DOLZ R., 2012:** Autopsie des volailles. Collection Atlas. Les éditions du point vétérinaire. 82 pages.
- **MEAD P.S., SLUTSKER L., DIETZ V., MCCAIG L.F., BRESEE J.S., SHAPIRO C., GRIFFIN P.M., TAUXE R.V.,1999:** Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, **5**, 607-625.
- **NIKAIDO H., 1988:** Bacterial resistance to antibiotics as a function of outer membrane permeability , pages: 17-22.paper. J. R. Soc. Med. 86: 39–42.
- **NAVOUN SILUE., 2005 :** Thermorésistance de trois serotypes de salmonella dans l’oeuf et les gesiers de poulets, université Cocody d’Abidjan-DEA Biotechnologies.
- **PEYRET M., 1991:** Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. Lyon Pharmaceutique ; 42 (1) : 31-42.
- **QUINTILIANI R JR., COURVALIN P., 1995:** Mechanisms of resistance to antimicrobial agent. In “ Manual of clinical microbiology” Edited by Murry et al., 6th Edition, American Society of Microbiology, Press, pp. 1308-1326
- **QUYET CHINH E., GRIMONT F et GRIMONT P.-A.-D ., 1996 :** Bilan de l’investigation de épidémie communautaire de salmonellose en France .
- **RAJASHEKARA., HAVERLY., HALVORSON., FERRIS K., LAUER et NAGARAJA ., 2000 :** Multidrug-resistant *salmonella typhimirium* .
- **ROB DAVIES.,** Animal Health and Veterinary Laboratories Agency – UK
- **RODRIGUE D.C., TAUXE R.V., ROWE B.,1990:** International increase in *Salmonella enteritidis*: a new pandemic *Epidemiol. Infect.*, **105**, 21-27.

- **SABERFAR E, POURAKBARI B., CHABOKDAVAN K., TAJ DOLATSHAHI F, 2008:** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken flocks, 2005–2006. *J Appl Poult Res.* 17,302–304.
- **Salihu AE, Onwuliri F C et Mawak JD, 2014 :** Antimicrobial resistance profiles of *Salmonella gallinarum* isolates from free-range chickens in Nasarawa state, Nigeria
- **SAYAH ASMAA., TAARKOUBT KHAOULA ., ZOUAMBI HALIMA .,2017 :** Isolement ,Identification et antibioresistance des salmonelles chez la volaille .,P49.
- **SHIVAPRASAD., 2000:** Fowl typhoid and pullurum .
- **THIERRY EBERLIN., 1994 :** les antibiotiques, classification, mode d’action, utilisation, thérapeutique, N°de projet : 10020881-(1)- 3 Imprimé en France par pollina ,85400 luçon- n°65184.
- **THORNS CJ., 2000:** Fimbriae of *Salmonella*. In : Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 35-55
- **TIMONEY J.F., SHIVAPRASAD H.L., BAKER R.C., ROWE B.,1989:** Egg transmission after infection of hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. *Vet. Rec.*125, 600-601.
- **UYTTENDAELE., DEBEVERE., LIPS et NEYTS ., 1998 :** Prevalence of salmonella in poultry carcasses and their products in belgium. *food microbio* .
- **Yves Millemann., 1998** Le pouvoir pathogène des salmonelles : facteurs de virulence et modèles d’étude. 29 (5), pp.385-407

Résumé

Les résultats ont montré que 82,85% des isolats appartiennent au sérovar *Salmonella gallinarum* et 11,42% des isolats appartiennent au sérovar *Salmonella Arizonae*, la diversité des pourcentages de résistance des différents isolats de salmonella a pu les diviser en trois groupes : un 1^{er} groupe avec un taux élevé de résistance pour l'acide nalidixic de 96,95% et 100% pour *gallinarum* et *arizonae* respectivement. Un 2^{eme} groupe avec une résistance de 41,37% pour la tétracycline enregistré pour *gallinarum* tandis que aucun ATB est signalé pour *arizona*, et un 3^{eme} groupe doté d'une résistance faible de 3,44% pour la nitrofurantoïne et chloramphénicol pour *gallinarum* alors que la majorité des ATB testés pour *arizona* font partis de ce groupe avec une sensibilité maximale. L'antibiogramme nous permet de définir les antibiotypes de chaque serovar, dans notre étude 6 antibiotypes différents sont isolés dont le principal attire l'attention avec un taux de 44,82 % pour l'acide nalidixic enregistré pour *gallinarum* et un seul antibiotype FT-NA pour les quatre isolats d'*arizona* avec un pourcentage de 100%.

Mots clés : Salmonella, Antibiogramme, sensibilité, Résistance, Antibiotique, Antibiotype.

Abstract : The results showed that 82.85% of isolates belong to serovar *Salmonella gallinarum* and 11.42% of isolates belong to serovar *Salmonella Arizonae*. The diversity of resistance percentages of different salmonella isolates could be divided into three groups, a first group with a high rate of resistance for nalidixic acid of 96,95 and 100 % for *gallinarum* and *Arizona* respectively. 2nd group with a 41,37% resistance for tetracyclin registered for *gallinarum* while no antibiotic *arizona* and 3rd group with a low resistance of 3,44 % for nitrofurantoin and chloramphenicol while the majority of antibiotics tested for *arizona* are part of this group, with a resistance rate of 100%.

The antibiogram allows us to define the antibiotypes of each serovar, in our study, different antibiotypes are isolated, the main are attracting attention with a rate of 44,82 for nalidixic acid registered for *gallinarum* and one antibiotic that was reported for the four *Arizona* isolated with a percentage of 100%.

Key words: salmonella, antibiogram, susceptibility, resistance, antibiotic, antibiotype

ملخص

كشفت الصور النمطية من سلالاتنا أن 82.85% تنتمي إلى نوع السالمونيلا غاليناروم. و 11.42% تنتمي إلى نوع السالمونيلا أريزونوا. تنوع نسب المقاومة لعزلات السالمونيلا المختلفة أدى إلى تقسيمها إلى ثلاث مجموعات: المجموعة الأولى ذات معدل مقاومة عالي لحمض النالدكسيك بنسبة 96,95% و 100% للغاليناغوم و أريزونوا على التوالي. المجموعة الثانية بمقاومة 41,37% للنتراسكلين المسجل لغاليناغوم بينما لا يوجد أي مضاد حيوي في أريزونوا، و المجموعة الثالثة ذات المقاومة المنخفضة بنسبة 3,44% للنتروفيرونتوين والكورامفينيكول بالنسبة للغاليناغوم في حين أن غالبية المضادات الحيوية التي تم اختبارها لأريزونوا هي جزء من هذه المجموعة مع معدل مقاومة 100%.
يسمح لنا المضاد الحيوي بتحديد المضادات الحيوية لكل serovar. في دراستنا تم عزل 6 أنواع مختلفة من المضادات الحيوية و التي جذب الانتباه الرئيسي بمعدل 44,82% لحمض النالدكسيك المسجل لغاليناغوم و احد المضادات الحيوية التي تم الإبلاغ عنها لعزلات الأريزونوا الأربعة بنسبة 100%.

الكلمات المفتاحية : السالمونيلا ، اختبار الحساسية ، الحساسية ، المقاومة ، المضادات