

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

THÈME :

**ISOLEMENT, IDENTIFICATION ET ANTIBIORESISTANCE
DES SALMONELLES CHEZ LA VOLAILLE**

Présenté par : DERBAL RADHIA

CHENAIFI SAFAA

Soutenu le : 11 Octobre 2018

Devant le jury composé de:

- Présidente : Mr KHALEF DJ.
- Promotrice : Mr MASSAI CR.
- Examineur 1 : Mme ABED M.
- Examineur 2 : Mme YAHYAOUI W.

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 aidés à mener ce travail à son terme.

Nos remerciements vont aussi aux membres de jury, Monsieur KHALEF DJAMEL, Madame ABED MOUNA et Madame YAHYAOUI Wafa, 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 et Saliha, Chaima et Didou

A ma binôme : Radus

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 tout 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

Et leurs maris Lakhdhar ,Radhwan et Morad

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

A Ma binôme Safaa

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 :

Bastale Houda ; Hamsas Walide ; Djanan Moulouda

Mes chers Drs Benhah Fatah et Imen je vous remercie tout particulièrement pour votre soutien continu



Derbal Radhia

Tables des matières

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

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|---|----------|
| CHAPITRE I : LES 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 |
| CHAPITRE IV : LES ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCES..... | 19 |
| 1. Les antibiotiques | 19 |
| 1.1. Introduction | 19 |
| 1.2. Définition..... | 19 |
| 1.3. Historique..... | 19 |
| 1.4. Classification..... | 19 |
| 2. L'antibiorésistance..... | 21 |
| 2.1. Définition | 21 |
| 2.2. Types de résistance..... | 22 |
| 2.2.1. Résistance naturelle..... | 22 |
| 2.2.2. Résistance acquise..... | 22 |

| | |
|--|----|
| 2.3. Mécanismes génétiques de la résistance acquise..... | 22 |
| 2.4. Mécanismes biochimiques de la résistance acquise..... | 22 |
| 2.5. Conséquence de la résistance..... | 24 |

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES26

| | |
|---|----|
| 1. Objectifs..... | 26 |
| 2. Lieu et période de l'étude..... | 26 |
| 3. Matériel et méthodes..... | 27 |
| 3.1. Matériel..... | 27 |
| 3.1.1. Echantillonnage et prélèvement..... | 27 |
| 3.1.2. Milieux de culture..... | 27 |
| 3.1.3. Produits de laboratoire..... | 28 |
| 3.2. Méthodes..... | 28 |
| 3.2.1. Conduite expérimentale..... | 28 |
| 3.2.2. Autopsie..... | 29 |
| 3.2.3. Bactériologie..... | 30 |
| 3.2.3.1. Isolement des salmonelles..... | 30 |
| 3.2.3.1.1. Pré-enrichissement..... | 30 |
| 3.2.3.1.2. Enrichissement..... | 31 |
| 3.2.3.1.3. Ensemencement..... | 31 |
| 3.2.3.2. Identification des salmonelles..... | 32 |
| 3.2.3.2.1. Identification morphologique..... | 32 |
| 3.2.3.2.2. Identification biochimique..... | 32 |
| 3.2.3.2.2.1. Test des 3 sucres (TSI)..... | 32 |
| 3.2.3.2.2.2. Identification biochimique par API 20 E..... | 34 |
| 3.2.3.3. Antibiogramme..... | 39 |
| 3.2.3.3.1. Principe..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2.3.3.2. Technique | 40 |
| 3.2.3.3.3. Lecture | 42 |
| CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION..... | 44 |
| 1. Bactériologie..... | 44 |
| 1.1. Isolement et identification des <i>Salmonella</i> | 44 |
| 1.1.1. Résultats sur Milieu Hektoen..... | 44 |
| 1.1.2. Résultats sur milieu TSI..... | 44 |
| 1.1.3. Résultats de la galerie API 20 ^E | 45 |
| 2. Antibiogramme..... | 46 |
| 2.1. Résistances individuelles par antibiotique..... | 46 |
| 2.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques..... | 49 |
| 2.2.1. Les β -lactamines..... | 49 |
| 2.2.2. Les Cyclines..... | 49 |
| 2.2.3. Les Quinolones..... | 49 |
| 2.2.4. Les Sulfamides..... | 50 |
| 2.2.5. Les Aminosides..... | 50 |
| 2.2.6. Les polypeptides..... | 51 |
| 2.2.7. Les Phénicolés..... | 51 |
| 2.2.8. Les Furanes | 51 |
| 2.3. Multirésistances..... | 51 |
| CONCLUSION | 54 |
| RECOMMANDATIONS..... | 55 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | |
| ANNEXES | |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Structure des porines..... | 23 |
| Figure 2: Inactivation enzymatique de l'antibiotique..... | 23 |
| Figure 3 : Modification de la cible | 24 |
| Figure 4 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif..... | 24 |
| Figure A : Foie avec points de nécrose..... | 26 |
| Figure B : Foie vert bronzé..... | 26 |
| Figure 5: Prélèvements d'organes dans les pots stériles | 27 |
| Figure 6 : Réactifs utilisés | 28 |
| Figure 7: Tubes de disques imprégnés d'antibiotiques pour antibiogramme | 28 |
| Figure 8: Schéma montrant le protocole expérimental suivi..... | 29 |
| Figure 9 : Flambage et découpage des organes..... | 30 |
| Figure 10: Pré-enrichissement dans de l'eau peptonée tamponée | 31 |
| Figure 11: Enrichissement dans le milieu SFB S /C + cystéine | 31 |
| Figure 12: Ensemencement sur gélose Hektoen | 32 |
| Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies | 32 |
| Figure 14: Tube de milieu TSI | 33 |
| Figure 15 : Galerie API 20 E après incubation 18 h à 37°C et ajout des réactifs..... | 39 |
| Figure 16 : Application des disques d'antibiotiques | 42 |
| Figure 17 : Aspect de colonies suspectes de <i>Salmonella</i> su milieu Hektoen..... | 44 |
| Figure 18: Resultats de l'identification par le test TSI..... | 45 |
| Figure19: Résultat de l'identification par la galerie Api 20E | 45 |
| Figure 20: Pourcentages de résistance et sensibilité des souches de <i>S.gallinarum</i> | 47 |
| Figure 21 : Pourcentages des multirésistances des souches de <i>S.gallinarum</i> isolées..... | 52 |

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 <i>Salmonella</i> | 8 |
| Tableau 4 :Caractères biochimiques recherchés par les milieux TSI..... | 34 |
| Tableau 5 : Liste des antibiotiques testés pour l'antibiogramme..... | 40 |
| Tableau 6 : Application des disques d'antibiotique par boîte de Pétri..... | 41 |
| Tableau 7 : Résultats des caractères biochimiques des isolats identifiés par le test TSI | 45 |
| Tableau 8 : Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches <i>Salmonella</i> | 46 |
| Tableau 9 :Fréquence des antibiorésistances en Algérie, en Iran et au Sénégal..... | 48 |
| Tableau 10 : Pourcentages de multirésistances des souches <i>S.gallinarum</i> | 52 |

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;

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 : Proteines Liant la Pénicilline ;
R : Resistance ;
RHA : Rhamnose ;
S : Salmonella ;
S : Sensible ;
SAC: Saccharose ;
SFB : Selenite 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 ;
B : Béta ;

Introduction

Introduction

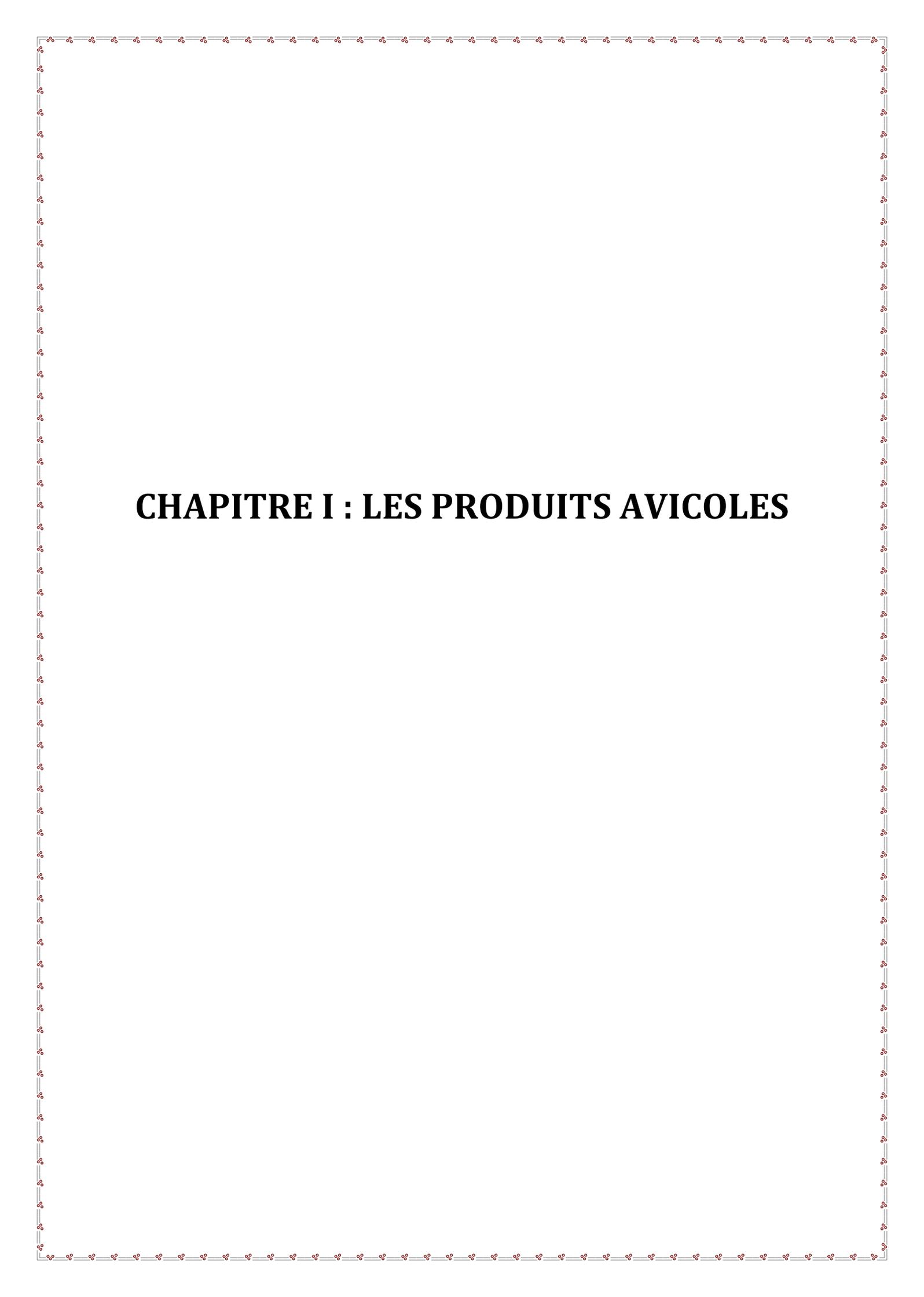
Depuis les premières observations rapportées en 1880 par Eberth jusqu'à nos jours, le genre salmonella n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et médicaux. La présence de cette bactérie peut engendrer de grosses pertes économique et une forte incidence chez l'homme 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).

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

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.

C'est dans cette optique que s'inscrit ce travail de fin d'étude, dont l'objectif consiste à isoler et identifier par culture bactériologique des souches de salmonelles chez l'espèce volaille, ainsi que faire une évaluation de l'antibiorésistance, et ceci, à l'encontre de différentes molécules d'antibiotiques utilisées en antibiothérapie.

Partie Bibliographique



CHAPITRE I : LES PRODUITS AVICOLES

Chapitre I

Les produits avicoles

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

Parmi les sérotypes les plus fréquemment incriminés lors de toxi-infection 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 denrée 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 en présence 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.

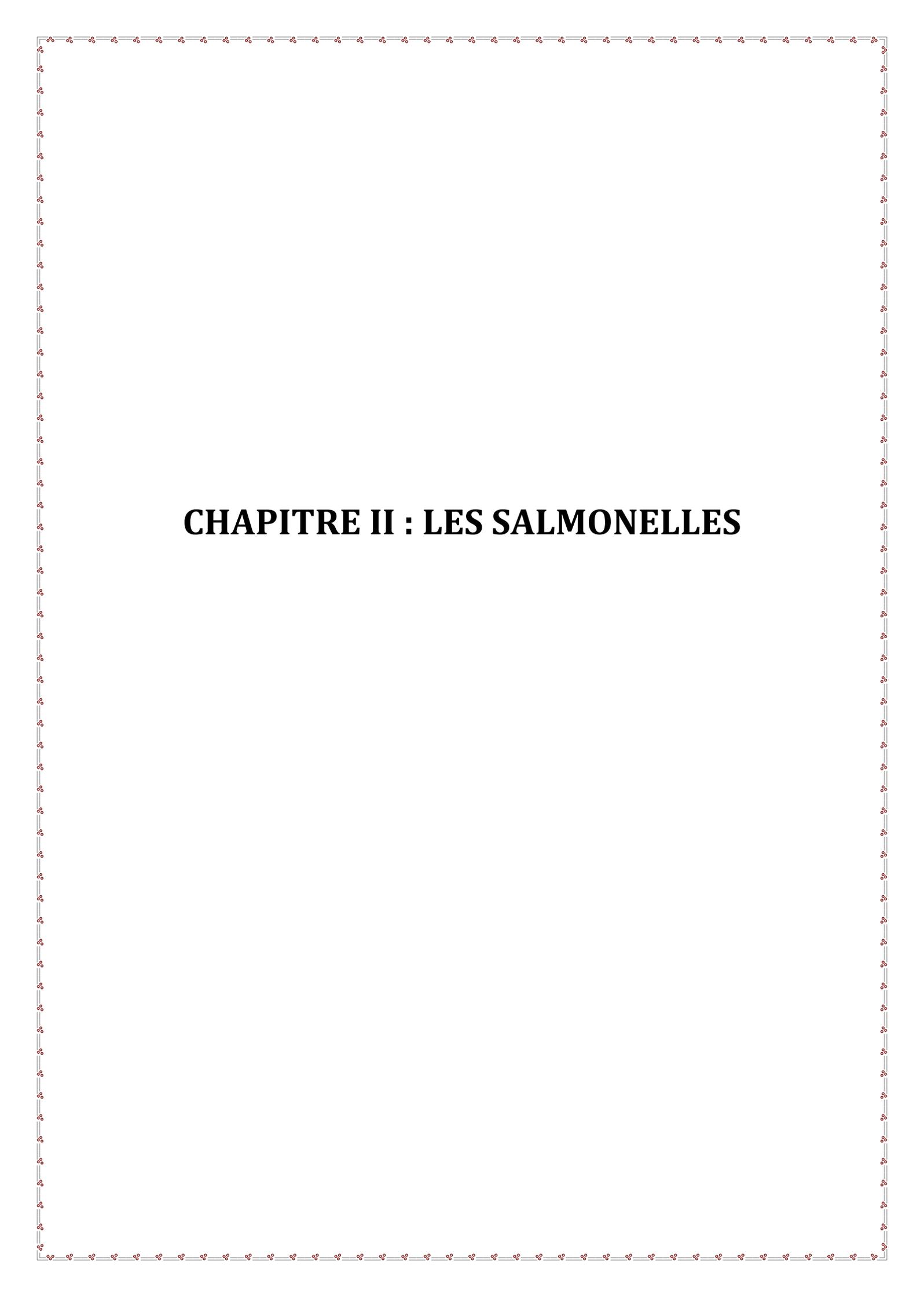
Certains auteurs ont approfondi cette problématique en immergeant l'œuf entier dans le milieu de culture et en faisant ensuite des cultures de coquilles après avoir assuré la désinfection préalable de leur surface (BICHLER *et al.*, 1996).

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 immunohistochimique, 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 : LES SALMONELLES

Chapitre II

Les 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 isolèrent 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, découvrent 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, découvrent 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* (EVA 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

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 cultureux

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 n° 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* (Source : Grimont, 2000)

| 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

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

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).

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).

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.

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 10⁷ germes par gramme de fécès. L'excrétion fécale peut être intermittente: on parle de porteur inapparent ;

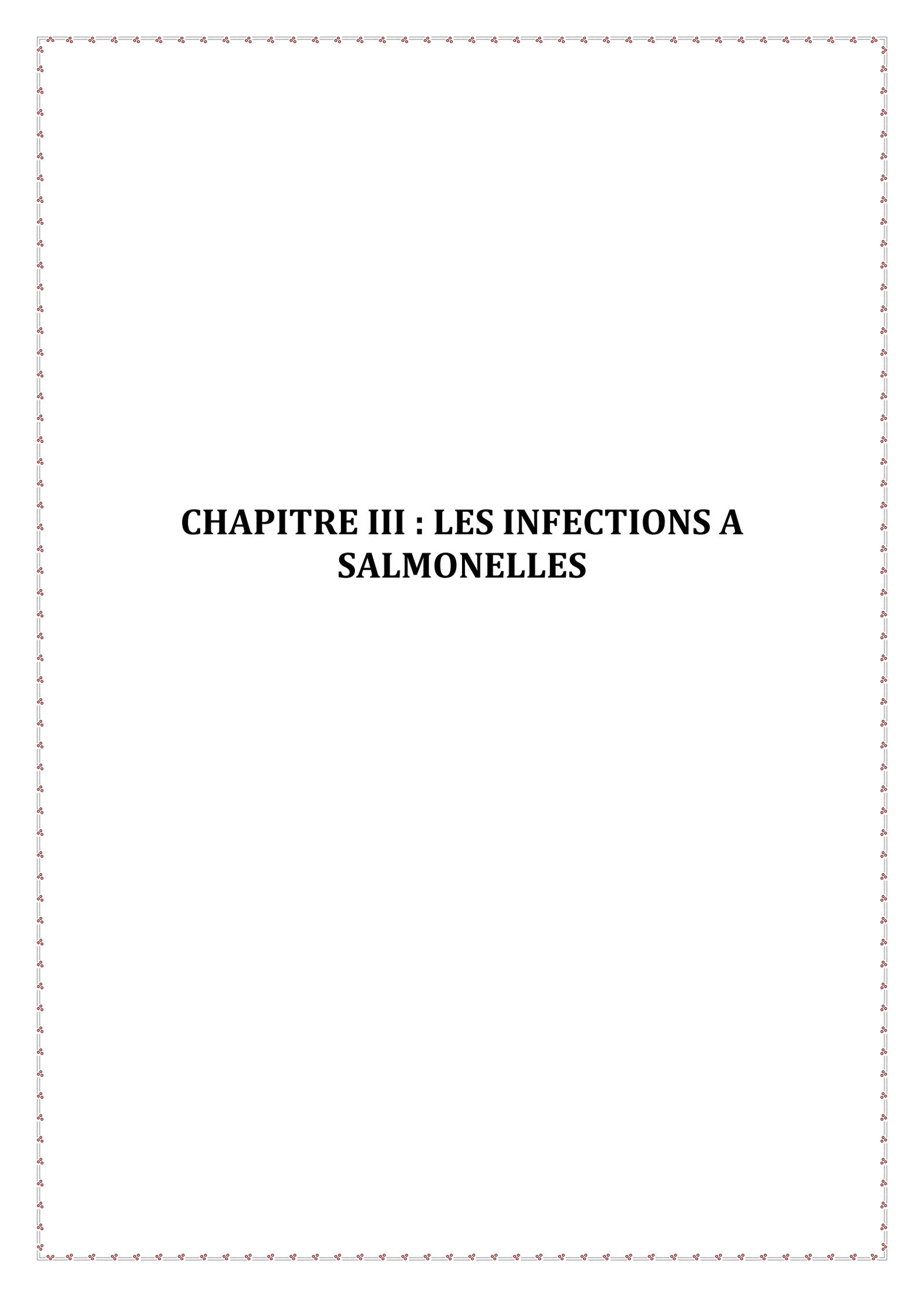
- soit un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents ;

- soit une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie, lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient, soit dépassé par le nombre de salmonelles envahissant l'organisme.

Cette pathologie peut s'exprimer :

- A la faveur d'ingestion d'une dose de l'ordre de 10⁵ à 10⁸ 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 : LES INFECTIONS A SALMONELLES

Chapitre III

Les 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 Etats 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 (JEANNE BRUGERE-PICOUX ET AMER SILIM., 2015).

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.

2) Importance économique et sanitaire (poules et dindes)

- **Importance hygiénique** : la filière avicole, par le biais de la consommation d'œufs et d'ovoproduits ou celui de la consommation de viande de volailles est une source importante de toxi-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. 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...) 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...) 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.

Noter l'émergence de souches multirésistantes aux antibiotiques (exemple de S. Kentucky, un sérovar multirésistant aux antibiotiques, notamment les fluoroquinolones).

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.

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 *Meleagris gallopavo*) est interdit, sauf dans les troupeaux de poulets et de dindes de chair atteints de salmonellose clinique.

4.6. Prophylaxie

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.

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. Ils provoquent cependant des interférences avec le dépistage sérologique.

La vaccination reste réglementairement possible en France, avec des vaccins inactivés, sur les volailles de reproduction au stade de la multiplication (poules reproductrices en filière ponte et en filière chair, dindes de reproduction) et sur les poulets de chair et dindes d'engraissement.

L'emploi d'un vaccin vivant n'est autorisé que sur les troupeaux de poulettes futures pondeuses d'œufs de consommation destinées à des sites de ponte contaminés au cours des deux années antérieures.

Elle est interdite en France, même avec des vaccins inactivés, sur les volailles de reproduction au stade sélection.

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

5.1. Définition

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.

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 tufos, 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 (EVA PIERE, 2013).

5.4. Diagnostic

Prélèvements

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

5.5. Traitement

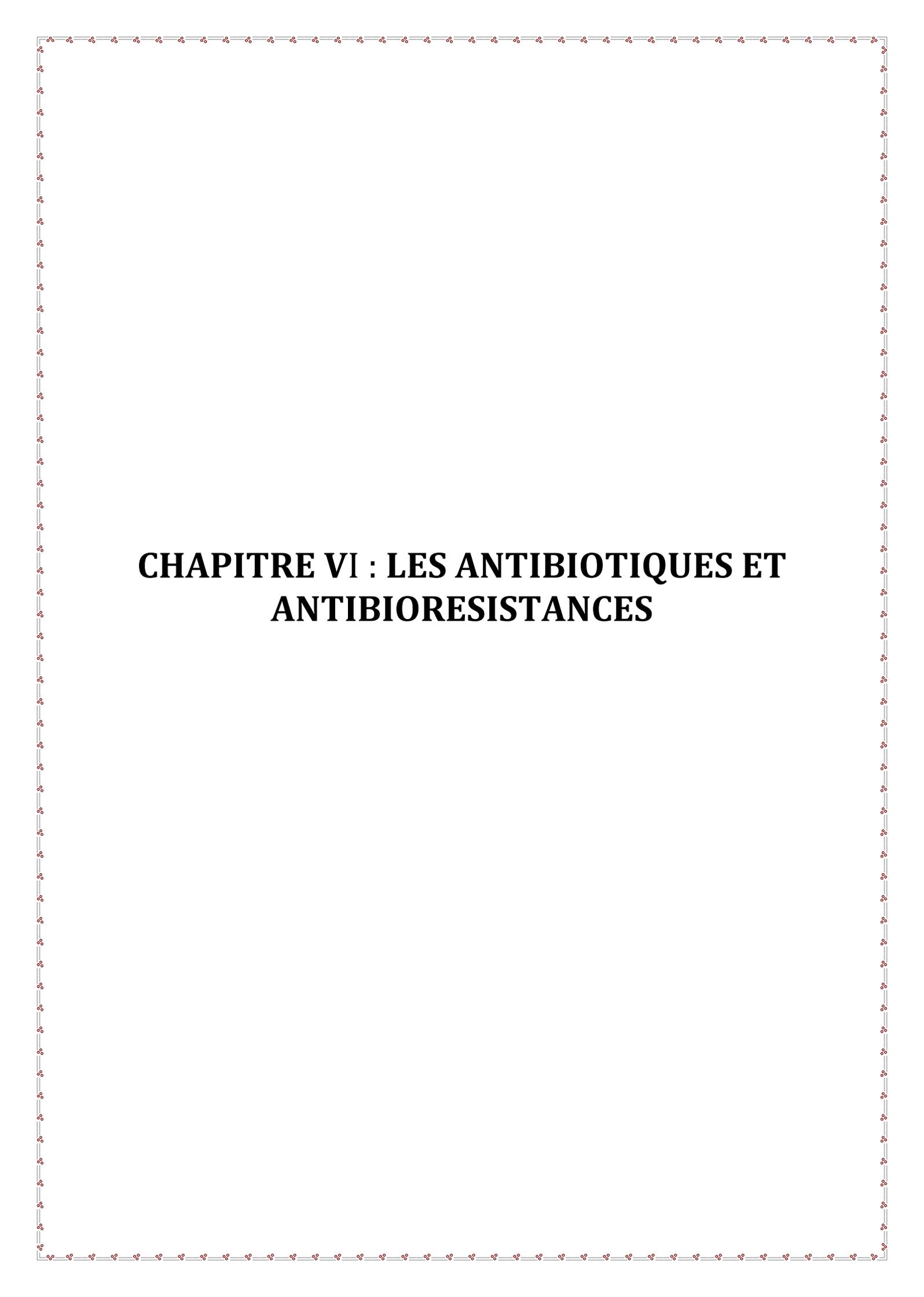
Tous les efforts doivent être faits pour éradiquer la pullorose ou typhose et le traitement doit être la dernière option. Divers sulfamides, suivis par des nitrofuranes et d'autres antibiotiques, se sont révélés efficaces pour réduire la mortalité de la pullorose et la typhose. Certains antibiotiques 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



CHAPITRE VI : LES ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCES

Chapitre IV

Les antibiotiques et antibiorésistances

1. Les 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 (CATHRINE GAUDY et BUXERAUD ,2005).

1.2. Définition

Un antibiotique est une substance naturelle, semi synthétique ou synthétique doué 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.

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).

2) Antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des protéines

Les aminosides : 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).

- **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.

- **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 amino acyl ARNt 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 M et COURVALIN P, 1982).

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) 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. L'antibiorésistance

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

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).

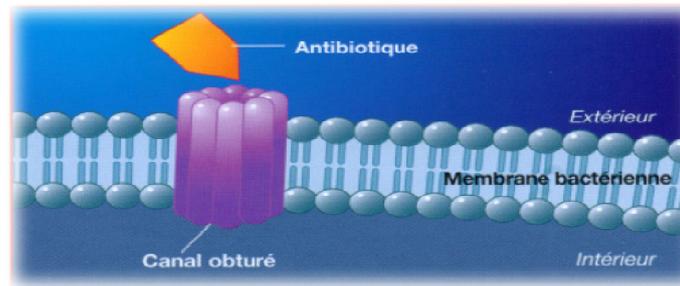


Figure 1 : Structure des porines (ARCHAMBAUD ,2009)

2) 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).

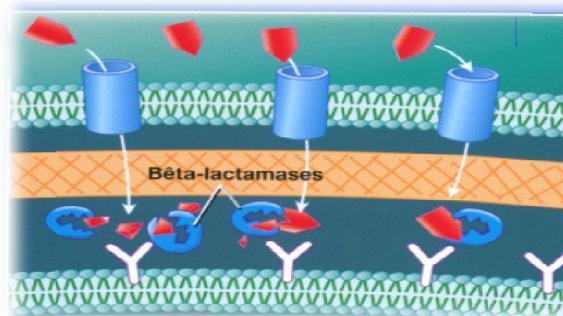


Figure 2: Inactivation enzymatique de l'antibiotique (ARCHAMBAUD, 2009).

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 certains 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).

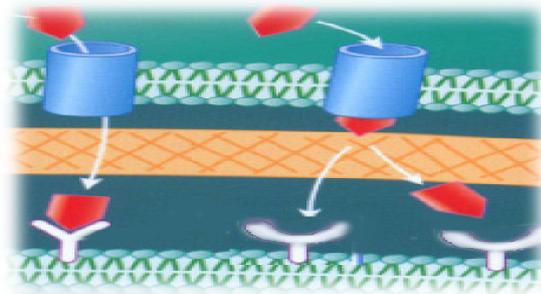


Figure 3 : Modification de la cible (ARCHAMBAUD, 2009).

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).

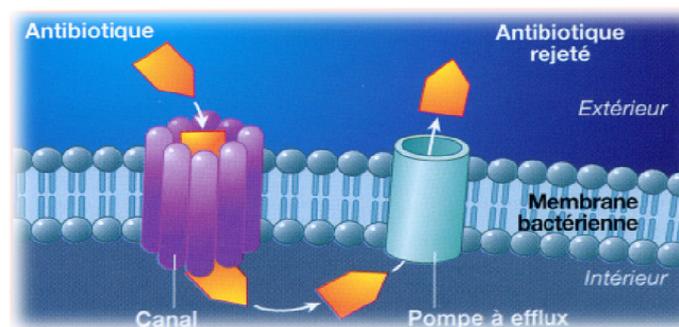


Figure 4 : Excrétion de l'antibiotique par efflux actif (ARCHAMBAUD, 2009).

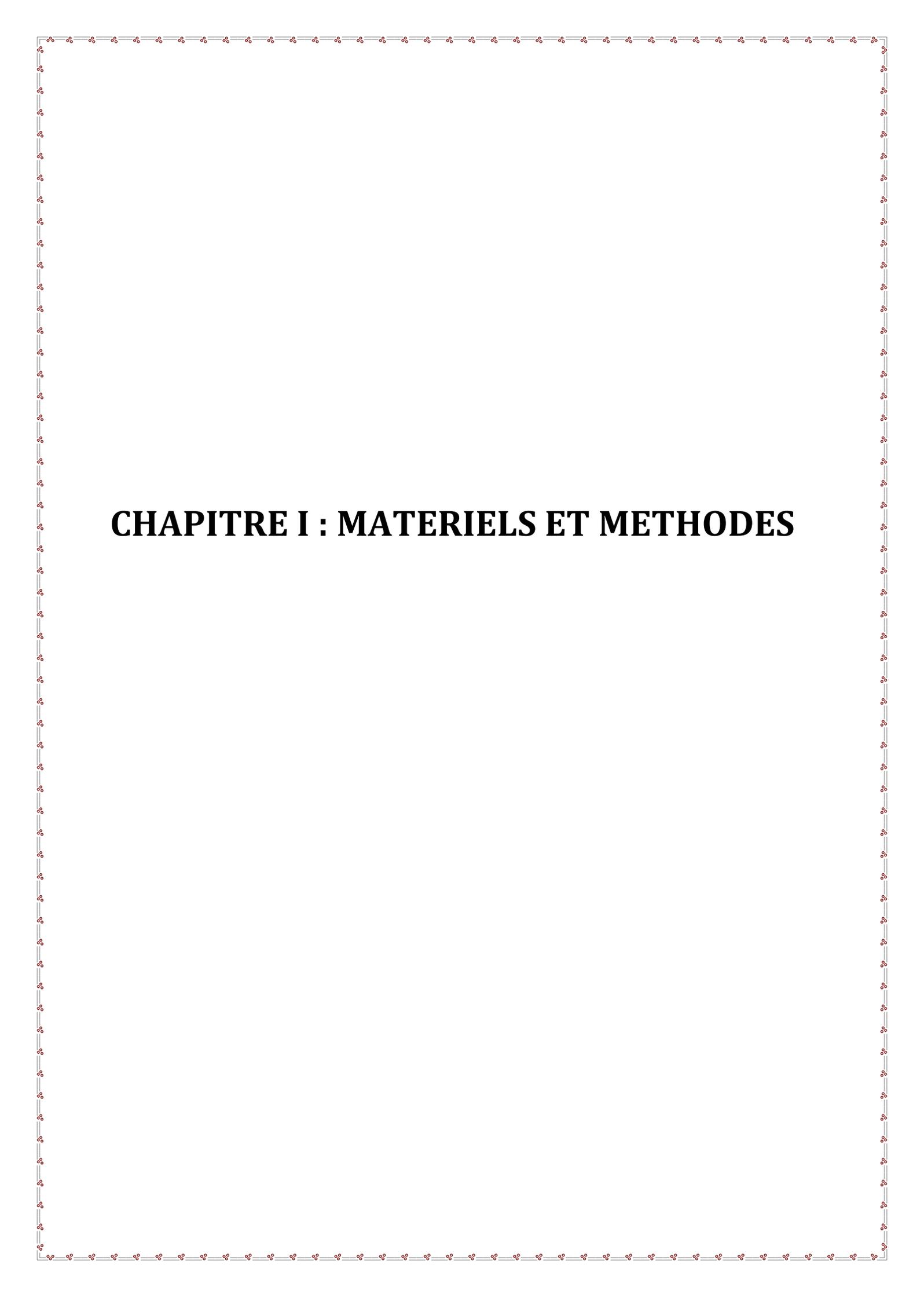
2.5. Conséquence de la résistance

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



CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Objectifs

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

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

2. Lieu et période de l'étude

L'étude s'étend sur une période 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 : Tizi Ouzou, Alger et Boumerdes.

Les sujets sont prélevés à partir des élevages de poules pondeuses, poulets de chairs et dindes chairs.

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 30 sujets permet de recueillir un total de 29 isolats de Salmonella.



Figure 1: 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) ;
- Milieu TSI (Triple Sugar Iron), 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 2 : Réactifs utilisés (Originale, 2018).

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



Figure 3: 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 :

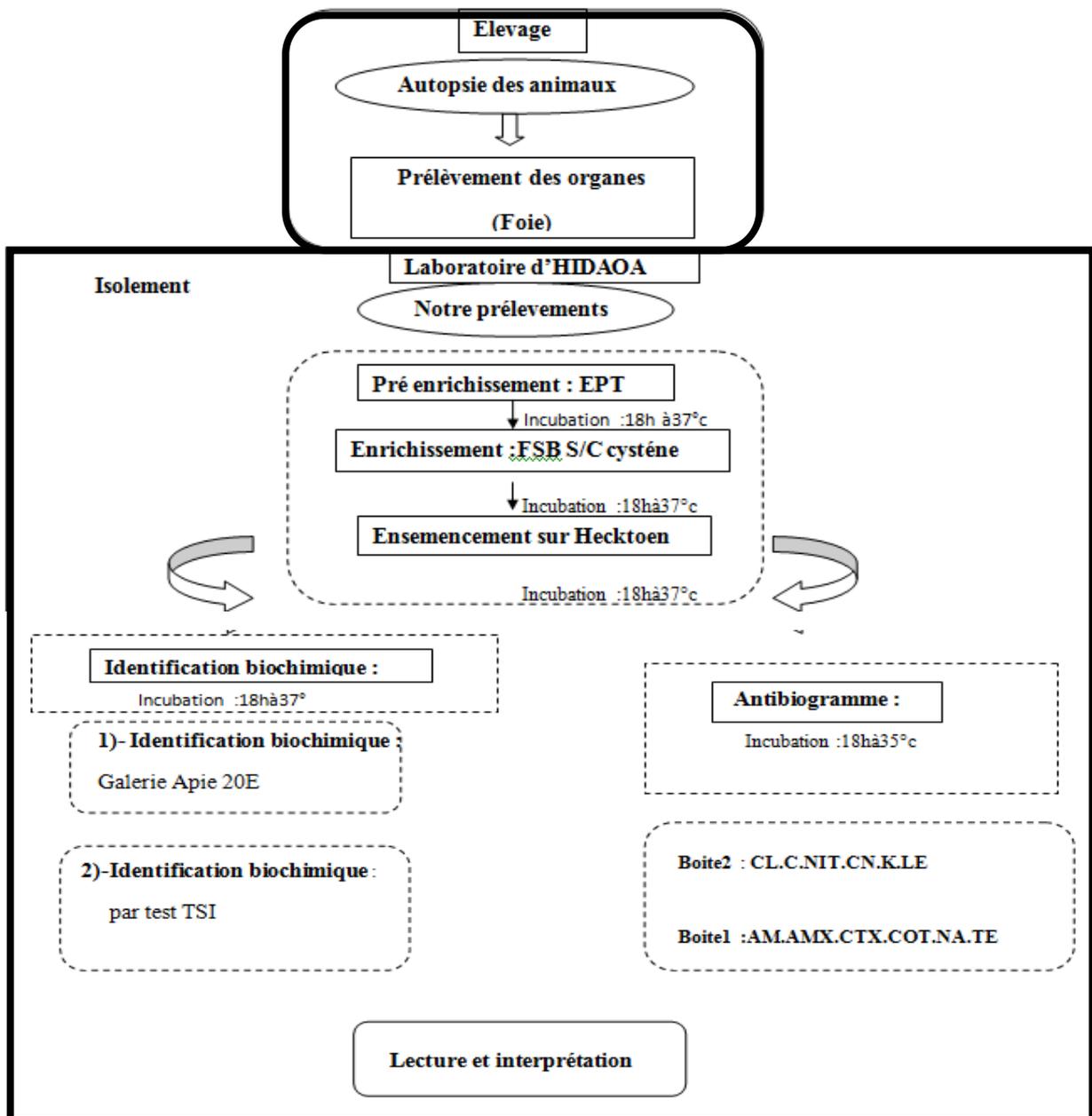


Figure 4: Schéma montrant le protocole expérimental suivi.

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 5 : 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 6: Pré-enrichissement dans de l'eau peptonée tamponée (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 7: 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 8: 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* dans la gélose Hektoen donnent des colonies incolores à vertes (il n'y a pas fermentation des trois glucides présents dans le milieu : lactose, saccharose, salicine) avec un centre noir (H₂S +) (figure 13).

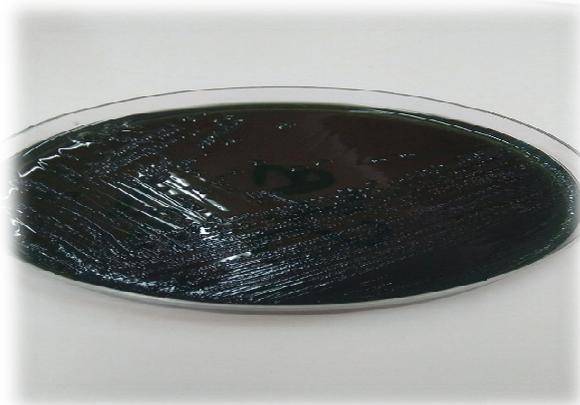


Figure 9 : Aspect macroscopique des colonies (Originale, 2018).

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 14) 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 :

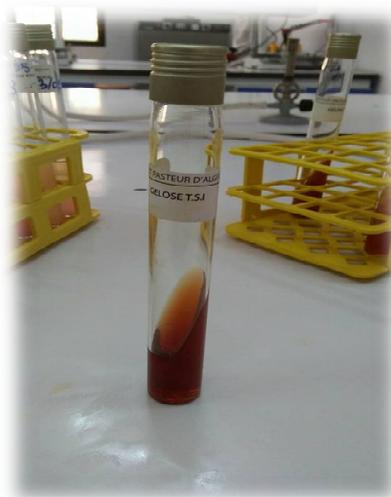
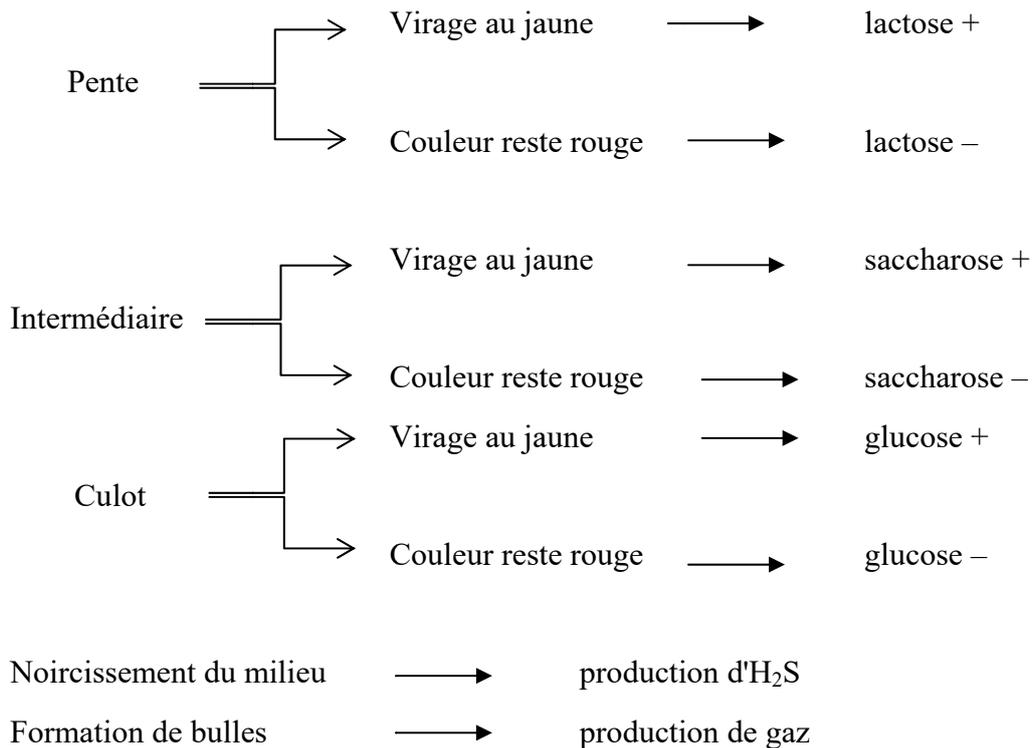


Figure 10: Tube de milieu TSI (Originale, 2018).

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 1 :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 diacétyle qui forme un complexe coloré en rose en réagissant avec une fonction amine d'un groupement guanidyle des protéines. La réaction est plus sensible et plus rapide en présence d'alpha-naphtol.

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

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

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

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

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

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

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

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

Molécule organique cyclique : inositol (INO).

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

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

b) Mode opératoire :

b-1. Préparation de la galerie :

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

b-2. Préparation de l'inoculum :

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

b-3. Inoculation de la galerie :

- Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide d'une seringue stérile. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la seringue sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant ;
 - Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule.
 - Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non pas les cupules).
 - Pour les tests ADH, LDC, ODC, 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 15 : 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).

Tableau 2: 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 | Triméthoprine-sulfaméthoxazole | (1,25/23,75) µg | COT 25 | Oxoid, Angleterre |
| Furanes | Nitrofurantoïne | 300 µg | FT 300 | |
| Cyclines | Tétracyclines | 30 µg | TE 30 | |
| Quinolones | Acide nalidixique | 30 µg | NA 30 | |
| | Enrofloxacin | 5 µg | ENR 5 | |

3.2.3.3.1. Principe :

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

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

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

3.2.3.3.2. Technique

La gélose (Mueller Hinton) est coulée la veille en boîtes de Pétri stériles, sur une épaisseur de 4 mm ; les géloses 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 5 et illustré dans la figure 16:

Tableau 3 : 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 | NIT 300 | K30 | LE 5 |

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

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

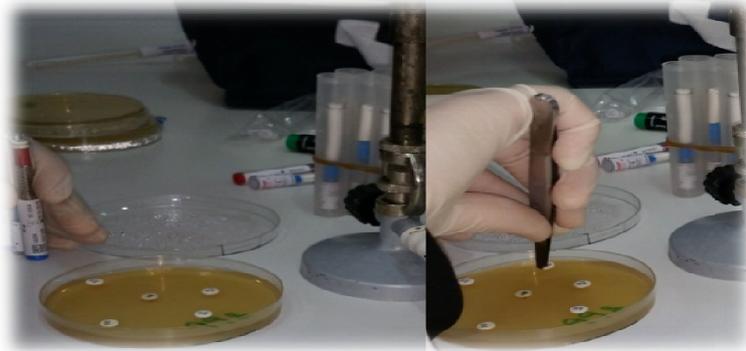


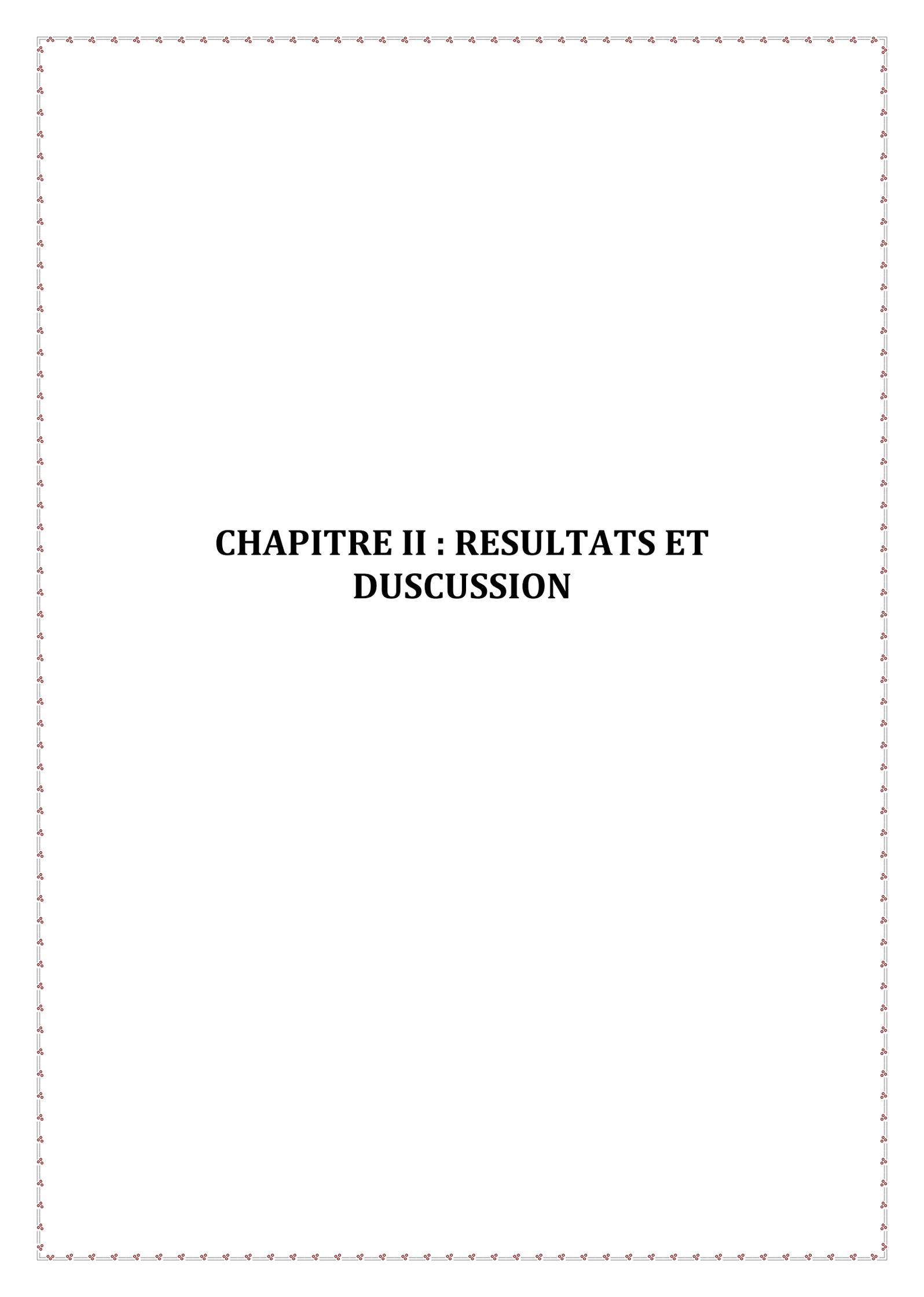
Figure16 : Application des disques d'antibiotiques (Originale, 2018).

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.



CHAPITRE II : RESULTATS ET DUSCUSSION

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Bactériologie

1.1. Isolement et identification des *Salmonella*

Sur les 30 sujets autopsiés, 29 isolats de *Salmonella gallinarum* sont récoltés, soit **96,66 %** de nos sujets étaient positifs. Pour le sujet restant soit **3,44%**, la culture était négative, ce qui témoigne la présence d'autres entérobactéries (*Escherichia coli* atypique : *fergusonii*).

1.1.1. Résultats sur Milieu Hektoen

Les colonies des salmonelles sur milieu Hektoen apparaissent vertes à centre noire, indiquant qu'elles ne fermentent pas les sucres inclus dans ce milieu et produisent l'H₂S (figure 17).

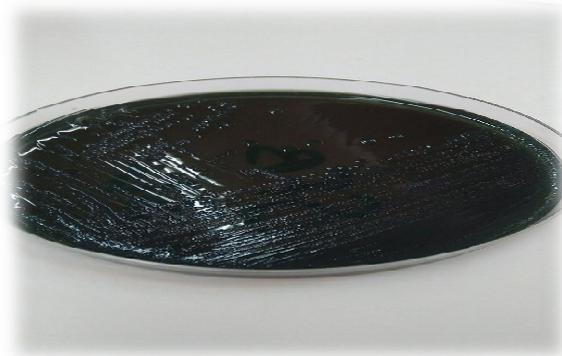


Figure 17 : Aspect de colonies suspectes de *Salmonella* su milieu Hektoen.

1.1.2. 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 la figure 18.

Tableau 1 : 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 + | |

**Figure 18:** Résultats de l'identification par le test TSI (Originale, 2018).

1.1.3. Résultats de la galerie API 20E

Les résultats de l'Api 20E sont présentés dans la figure 19.

**Figure 19:** Résultat de l'identification par la galerie Api 20E (Originale, 2018).

2. Antibiogramme :

2.1. Résistances individuelles par antibiotique

Douze antibiotiques sont testés sur chacune des **29** souches de *S.gallinarum* isolées. Une lecture impérative est utilisée, qui détermine la sensibilité ou la résistance d'une souche en comparant les diamètres des zones d'inhibition de nos souches avec la table de lecture des entérobactéries selon les recommandations du standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) 6^{ème} édition (2015) (voir annexe I) :

Le tableau 8 et la figure 20 montrent les pourcentages de résistances des souches *S.gallinarum* isolées lors de notre étude:

Tableau 2: Pourcentages de résistances et de sensibilités des souches *Salmonella*

| Famille | Antibiotiques testés | Nombre de souches (%) | | |
|----------------|--------------------------------|-----------------------|--------|--------|
| | | R | I | S |
| Bétalactamines | Amoxicilline/AC clavulinique | 13,79% | 3,44% | 82,75% |
| | Ampicilline | 20,68% | 20,68% | 58,62% |
| | Cefotaxime | 0% | 0% | 100% |
| Cyclines | Tétracycline | 41,37% | 13,79% | 44,82% |
| Quinolones | Acide Nalidixic | 96,95% | 0% | 3,44% |
| | Enrofloxacin | 31,03% | 30,03% | 37,93% |
| Sulfamides | Triméthoprime-sulfaméthoxazole | 20,68% | 3,44% | 75,86% |
| Aminosides | Gentamicine | 17,24% | 0% | 82,75% |
| | Néomycine | 17,24% | 0% | 82,75% |
| Polypeptides | Colistines sulfate | 0% | 0% | 100% |
| Furanes | Nitrofurantoine | 3,44% | 3,44% | 93,10% |
| Phénicoles | Chloramphénicol | 3,44% | 0% | 96,55% |

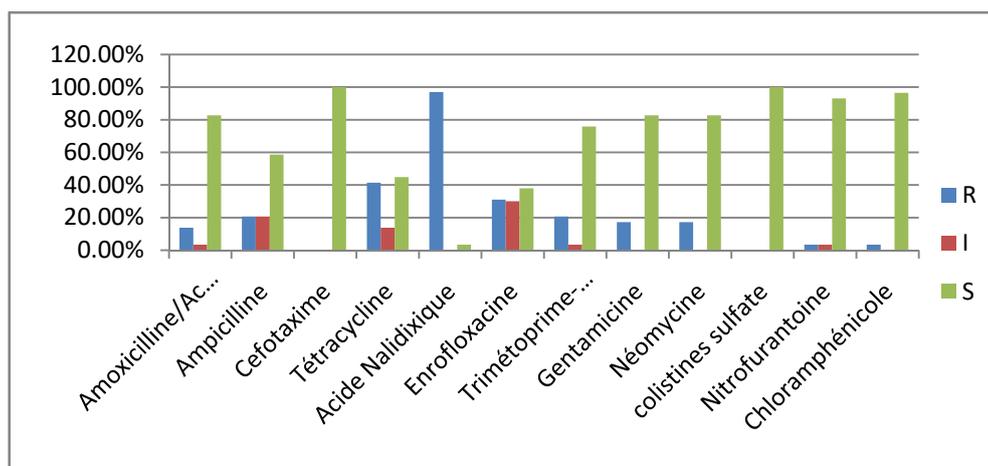


Figure 20: Pourcentages de résistance et sensibilité des souches de *S.gallinarum*.

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

- L'antibiotique pour lequel un très haut niveau de résistance (de 70 à 100) est compris dans le Groupe I et est représenté par l'Acide nalidixique (**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%**), Enrofloxacine (**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,Nitrofurantoine (**3,44%**). pour les Cefotaxime,Colistine (**0%**)

- 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, pour l'Amoxicilline, Gentamicine et Néomycine (**82,75%**) ; pour l'Ampicilline (**58,62%**) ; pour l'Enrofloxacine (**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'acide nalidixique,Chloramphénicol, la gentamycine et la néomycine sont nettement supérieures

à celles communiquées au Sénégal et en Iran, (tableau 9) (AISSATOU, 2004 ; AKBARMEHR, 2011)

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, Nitrofurantoin, Chloramphénicol a augmenté. Ceci pourrait être expliqué par l'utilisation anarchique des antibiotiques.

Par contre, on remarque une diminution du taux de résistance pour l'Amoxicilline,Ampicilline, Gentamicine,Néomycine, Acide nalidixique grâce à leur utilisation raisonnée et/ou au respect des conditions d'utilisation: la dose , la durée et la voie d'injection .

Tableau 3:Fréquence des antibiorésistances en Algérie, en Iran et au Sénégal

| ATB | SAYAH,TA ARKBOUT ,ZOUAMBI 2017 (%) | AISSATOU(2004) : SENEGAL (%) | AKBARMEHR (2011) : IRAN 2011(%) | NOS RESULTATS |
|------------------------------------|---|------------------------------------|---------------------------------------|---------------|
| Amoxicilline / Acclavulinique | 20% | / | 18.91% | 13,79% |
| Ampicilline | 30% | 35.48% | 13.51% | 20,68% |
| Cefotaxime | 0% | / | / | 0% |
| Tétracycline | 65% | 46.24% | 29.72% | 41,37% |
| Acide Nalidixic | 100% | 10% | 18.91% | 96,95% |
| Enrofloxacin | 15% | / | 0% | 31,03% |
| Triméthoprime- sulfaméthoxazole | 0% | 36.56% | 13.51% | 20,68% |
| Gentamicine | 25% | 1% | 0% | 17,24% |
| Néomycine | 25% | 5% | 10.81% | 17,24% |
| Colistines sulfate | 0% | 2% | / | 0% |
| Nitrofurantoin | 0% | 30% | / | 3,44% |
| Chloramphénicol | 0% | 0% | 0% | 3,44% |

2.2. Résistances individuelles par familles d'antibiotiques

2.2.1. Les β -lactamines

Les résultats mettent en évidence une moyenne à faible résistance des *S.gallinarum* à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de **13,79%** pour l'Ampicilline, de **20,68%** pour Amoxicilline/ Ac clavulanique et de **0%** pour la céfotaxime.

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

2.2.2. Les Cyclines

Pour cette famille d'antibiotiques, un taux de résistance de **41,37%** est obtenu vis-à-vis de la tétracycline.

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

2.2.3. Les Quinolones

Dans cette étude, la sensibilité des souches isolées est testée vis-à-vis de l'acide nalidixique, « quinolone de première génération » et de l'enrofloxacin « quinolone de troisième génération ». Les taux de résistance sont de **96,95%** pour l'acide nalidixique soit le taux de résistance le plus élevé dans notre étude et de **31,03%** vis-à-vis de l'enrofloxacin.

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).

2.2.4. Les Sulfamides

En thérapeutique, les sulfamides se retrouvent dans trois classes médicamenteuses : les anti-infectieux, les antidiabétiques oraux et les diurétiques. Pour cette famille d'anti-infectieux, la sensibilité des souches est testée vis-à-vis de l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole, connue sous le nom commercial de Bactrim®. Leur spectre d'action, théoriquement large, englobe la majorité des espèces bactériennes à Gram + et à Gram - .

2.2.5. Les Aminosides

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

Pour la gentamicine, nos résultats révèlent un taux de résistance de **17,24%**. La forte sensibilité des souches *S.gallinarum* vis-à-vis de la néomycine et la gentamicine est due à la non utilisation de cet antibiotique dans les élevages avicoles d'où un taux de résistance très faible. En pratique, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme

l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme intéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet.

2.2.6. Les polypeptides

La sensibilité des souches est testée vis-à-vis de la molécule type de cette famille d'antibiotiques qui est la colistine. Les résultats indiquent une résistance nulle avec un taux de **0%**. Ce taux nul de résistance peut être expliqué par l'utilisation modérée de cette molécule en élevage avicole dans la région étudiée.

2.2.7. Les Phénicolés

La sensibilité des souches de *Salmonelles* isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance de **(3,44%)**. Ce médicament n'est plus sur le marché officiel.

2.2.8. Les Furanes

La sensibilité de nos souches est testée vis-à-vis du nitrofurane .un taux **(3,44%)** de résistance a été enregistré. Il est à signaler que cet antibiotique ayant été retiré de la nomenclature vétérinaire.

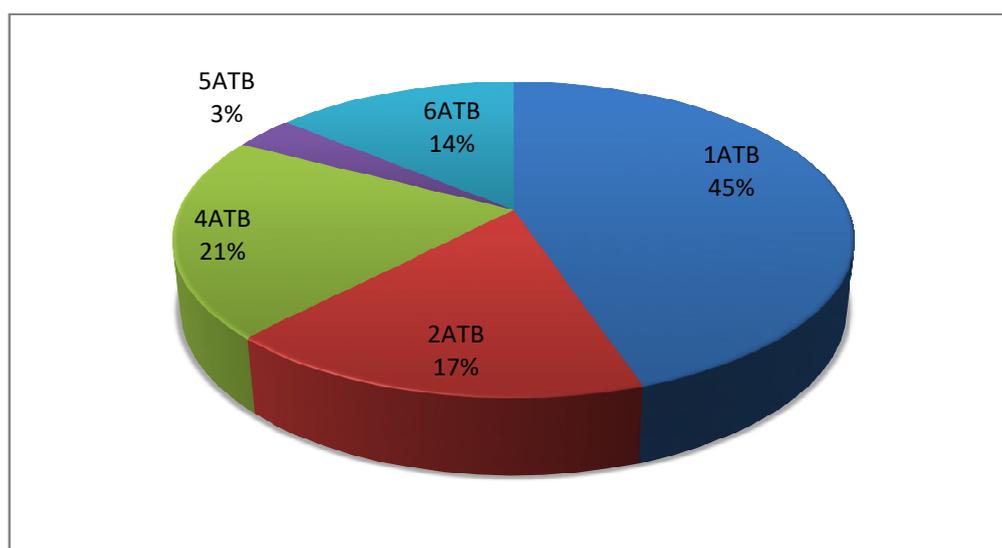
2.3. Multirésistances

Les taux de multirésistance sont présentés dans le tableau 10 et illustrés dans la figure 21 :
Les 29 souches sont résistantes à au moins un antibiotique avec un taux de 45%. 17% sont résistantes à au moins deux antibiotiques. Alors que 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 4 : Pourcentages de multirésistances des souches *S.gallinarum*

| Nombre de disques | Nombre des 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 21 :** 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.

***Conclusion et
Recommandations***

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 espèces de salmonella, à partir de 30 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 le sérotype *Salmonella gallinarum*, 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 12 molécules d'antibiotiques.

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

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 :

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.

- 1- **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
- 2- **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 écouvillons 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.

Références bibliographiques

Bibliographie

- **ABDENNEBI EH., 2006:** Antibactériens en médecine vétérinaire. Actes Editions Maroc, 303 pages.
- **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., HAESEBROUCK 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 .
- **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 , organisaton mondiale de la santé .20.AVENUE APPIA,CH-1211 GENEVE 27 suisse ,p 8-12.
- **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 epidemiologiques 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 bacteriologie alimenataire 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 .
- **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 .
- **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.
- **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* .

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 | |
| Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine) | 5 µg | ≤14 | 15-19 | ≥20 | ≥4 | 2 | ≤1 | |
| Danofloxacin (espèce bovine) | 5 µg | - | - | ≥22 | - | - | ≤0,25 | |
| Colistine | 10 µg | - | - | - | >2 | - | ≤2 | |
| Nitrofurantoin** | 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

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 couvrir 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.

Résumé

Salmonella Gallinarum et Salmonella Pullorum sont des espèces spécifiques de la volaille et agents de la typhoïde aviaire et de la pullorose, respectivement. Les biovars provoquent des infections septicémiques, entraînant une mortalité élevée.

Ce travail a pour objectif l'isolement puis l'identification des souches de salmonella à partir de 30 prélèvements de foie de poulets de chairs et de poules pondeuses. 29 souches ont été isolées sur gélose Hektoen après enrichissement sur milieu SFB. L'identification biochimique a été réalisée par galeries ApiE20. Les résultats ont montré que 96,66% des isolats appartiennent au sérovar *Salmonella gallinarum*.

L'antibiogramme a été déterminé par la méthode de diffusion de disques sur la gélose MH (Muller Hinton) selon les normes NCCLS recommandées par l'OMS. Les résultats montrent des taux de résistances différents.

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

Abstract : Salmonella Gallinarum (S. Gallinarum) and Salmonella Pullorum (S. Pullorum) are specific species of poultry, agents of avian typhoid and pullorum disease, respectively.

These biovars cause septicemic infections, resulting in high mortality.

The purpose of this work is to isolate and then identify Salmonella species from 30 liver samples collected from broiler chickens and laying hens. 29 species were isolated on Hektoen agar after enrichment on SFB medium. The biochemical identification was carried out by the ApiE20 system. Results revealed that 96,66% of the strains belong to Salmonella gallinarum. The antibiogram was determined by the disk diffusion method on MH (Muller Hinton) agar according to the NCCLS standards recommended by OMS. The results show different levels of resistance.

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

ملخص

السالمونيلا Gallinarum والسالمونيلا Pullorum هما نوعان معين من البكتيريا التي تصيب الدواجن ومن العوامل المسببة للتيفوئيد ومرض الانسحاب على التوالي، والتي تسبب العدوى، مما يؤدي إلى ارتفاع معدل الوفيات. الغرض من هذا العمل هو عزل ثم تحديد أنواع السالمونيلا من 30 عينة كبد من دجاج التسمين والدجاج البيضاء. تم عزل 29 نوع على آجار Hektoen بعد التخصيب على وسط SFB. وقد تم تحديد الهوية البيوكيميائية بفضل اختبارات ApiE20.

كشفت الصور النمطية من سلالاتنا أن 96،66 ٪ تنتمي إلى نوع السالمونيلا غاليناروم.

تم تحديد اختبار الحساسية من خلال طريقة نشر القرص MH (مولر هينتون) وفقاً لمعايير NCCLS التي أوصت بها منظمة الصحة العالمية. أظهرت النتائج مستويات مختلفة من المقاومة

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