



001THV-2

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro-vétérinaire

Département des Sciences Vétérinaires

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L' OBTENTION DU DIPLOME DE  
DOCTEUR EN MEDECINE VETERINAIRE

**THEME :**

**« ETUDE DE LA RESISTANCE DE  
SOUCHES DE *SALMONELLA ENTERITIDIS*  
D'ORIGINE AVIAIRE VIS-A- VIS DE  
QUELQUES ANTIBIOTIQUES »**

**Présenté par :**

Mr BARAHEBERWA Nestor

**Jury:**

**Président:** Mr BERBER. A , Maître de conférences à l'USDB

**Examineurs :** Mr RAHAL. K, Maître de conférences à l'USDB

Mr YAHIMI A.E.K, Maître assistant titulaire à l'USDB

**Promoteur :** Mr BACHIR – PACHA.M, Maître de conférences à l' USDB

**PROMOTION 2006**

# DEDICACES

Ce modeste travail est dédié:

A mes parents pour m'avoir scolarisé et pour m'avoir montré le fruit de l'effort

A NTAMUNGURIZO Rémy pour son soutien indéfectible dans diverses choses notamment pour son attention.

A mes frères et sœurs que j'adore

A mes amis : Abdourahman, Téléspore et les autres

A tous mes collègues de la promotion 2006

A la communauté burundo-rwandaise de l'université de Blida

A tous les étudiants Burundais en Algérie.

## REMERCIEMENTS

Cette expérimentation a eu une finalité grâce à l'aide et multiples conseils de la plupart des personnes notamment :

Mr BACHIR- PACHA Mohammed, mon promoteur pour sa rigueur et ses multiples conseils.

Au chef du laboratoire vétérinaire régional de D.B.K

A Mr BERBER Ali chef du département des sciences vétérinaires

A tout le personnel du laboratoire vétérinaire régional de D.B.K

Le personnel plus particulièrement le corps enseignant de l'institut des sciences vétérinaires de l'université SAAD DAHLAB de Blida pour les connaissances acquises tout au long du cursus vétérinaire.

# SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

## Partie I : Etude Bibliographique

CHAPITRE I: GENERALITES SUR LES BACTERIES .....	2
---	---

I.1. Historique.....	2
I.2. Fonctions de quelques parties de la cellule bactérienne.....	3
A. L'enveloppe bactérienne.....	3
B. La membrane cellulaire.....	3
C. La paroi cellulaire.....	3
C.1. La paroi des bactéries à Gram positif.....	4
C.2. La paroi des bactéries à Gram négatif.....	5
D. Les flagelles.....	5
E. Le nucléotide .....	6
F. Les granules de stockage et autres inclusions.....	6
I.3. Les agents antibactériens.....	6
A. Les antibiotiques.....	6
A.1. Introduction.....	6
A.2. Résistances bactériennes aux antibiotiques.....	7
A.3. Evolution des espèces bactériennes vers la résistance : cas des entérobactéries.....	8
A.4. Antibiogramme.....	8
A.5. L'utilisation des antibiotiques à tester.....	9
A.6. Le choix des antibiotiques à tester.....	9
A.7. Intérêt de l'antibiogramme.....	9
A.8. Le milieu de culture utilisé pour réaliser un antibiogramme.....	9
A.9. L'antibiothérapie dans l'élevage avicole.....	10
A.10. La standardisation.....	10

CHAPITRE II :ETUDES DES SALMONELLES.....	11
--	----

II.1. Introduction.....	11
II.2. Historique.....	11
II.3. Habitat.....	11
II.4. Résistances dans le milieu extérieur.....	12
II.5. Caractères bactériologiques.....	12
a. Taxonomie et nomenclature.....	12
b. Caractères morphologiques.....	12
c. Caractères cultureux.....	13
d. Caractères biochimiques.....	14
e. Caractères antigéniques.....	15

CHAPITRE III : POUVOIR PATHOGENE ET PATHOGENIE DES SALMONELLES.....	18
III.1. Spécificité d'hôte.....	18
III.2. Pouvoir pathogène.....	18
III.2.1. Pouvoir pathogène chez l'homme.....	19
III.2.1. Pouvoir pathogène chez l'homme.....	19
III.3. Pathogénie des salmonelles.....	20
III.4. Tableau clinique et lésionnel.....	20
a. Chez les volailles.....	20
b. Chez l'homme.....	21
CHAPITRE IV : EPIDEMIOLOGIE ET PROPHYLAXIE DES SALMONELLES.....	23
IV.1. Modalités de transmission.....	23
IV.2. Epidémiologie.....	23
IV.3. Contamination et incubation.....	25
IV.4. Prophylaxie.....	26

## PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

A. PROBLEMATIQUES.....	27
B. OBJECTIFS.....	27
I. MATERIELS ET METHODES.....	28
I.1. Matériels.....	28
I.2. Méthodes.....	30
I.2.1. Contrôle de la qualité.....	30
1. Préparation du milieu de culture.....	30
2. Repiquage d'une souche à partir d'un milieu de conservation.....	30
a. Inoculum.....	30
b. Ensemencement.....	31
c. Application des disques d'antibiotiques.....	31
d. Incubation.....	31
e. Lecture.....	31
f. Résultats.....	34
g. Conclusion.....	35
I.2.2. Prélèvements.....	36
I.2.3. Identification des Salmonelles.....	39
1. Etude microscopique.....	39
a. Etat frais.....	39
b. Coloration simple.....	40
c. Coloration de Gram.....	40
2. Identification biochimique.....	41
2.1. Recherche des enzymes respiratoires.....	41
2.2. Mise en évidence de la fermentation des glucides (Glucose, Lactose, Saccharose) et de la production de H <sub>2</sub> S.....	43
2.3. Mise en évidence de la dégradation du Mannitol.....	43
2.4. Etude de la dégradation des acides aminés.....	44
2.5. Recherche de la β-galactosidase.....	46

2.6..Etude de type respiratoire.....	46
1.2.4. Identification antigénique.....	47
I. Mise en évidence des salmonelles.....	48
II. Lecture d'antibiogramme des Salmonelles identifiées.....	48
III. Résultats de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>S.enteritidis</i> .....	49
IV. Effets des antibiotiques testés vis-à-vis de Salmonelles Enteritidis.....	52
V. Commentaires des résultats des antibiogrammes.....	52
VI. Discussions.....	53
Conclusion.....	54
Annexes	

## Liste des tableaux

- Tableau 1 : Quelques différences importantes entre cellules eucaryotes et Procaryotes.
- Tableau 2 : Caractères biochimiques spécifiques au genre *Salmonella*.
- Tableau 3 : Caractères particuliers de quelques sérovars.
- Tableau 4 : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisée pour le contrôle de qualité.
- Tableau 5 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour **Entérobactéries**.
- Tableau 6 : Résultats des diamètres zones d'inhibition en mm.
- Tableau 7 : Résistance des *Salmonella Enteritidis* aux antibiotiques.
- Tableau 8 : Pourcentage de sensibilité.

## Liste des figures

Figure 1 : Réservoirs et circulations des salmonelles entre l'homme, les animaux et l'environnement.

Figure 2 : Recherche et identification des salmonelles dans les organes.

Figure 3 : Recherche des salmonelles dans les caeca.

Figure 4 : Histogramme de pourcentage de souches de *Salmonella Enteritidis* sensibles aux antibiotiques testés.

Figure 5 : Pourcentage de résistance.

Figure 6 : Pourcentage de résistance intermédiaire.



***PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE***

## INTRODUCTION

Avec le développement de l'aviculture en Algérie, la production a atteint 150 millions de poulets de chair par an, 15 millions de poules pondeuses, 150 milles reproducteurs chair et 120 milles reproducteurs ponte. Les Salmonelles posent de plus en plus de problèmes en pathologie aviaire. Elles sont également, mais à un degré moindre un souci de santé publique car elles peuvent engendrer des toxi-infections alimentaires.

Dans les élevages, la facilité de dissémination de ces bactéries dans l'environnement et leur capacité de survie rend leur élimination difficile.

Cette maladie freine le commerce de la viande blanche et d'ovo produits compromettant ainsi le développement socio-économique. [24]

Les répercussions économiques de cette pathologie sont considérables et sont liées à la mortalité, la chute de la production, la saisie à l'abattoir du cheptel et à son incinération lors d'une salmonellose à *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium*.

Les animaux contaminés par les salmonelles peuvent présenter la maladie (salmonellose) ou être porteurs sains asymptomatiques.

Le but de ce travail est de rechercher les entérobactéries et plus précisément les salmonelles au niveau des différents organes des volailles et cela par les différentes techniques d'isolément et d'identification, ensuite tester la sensibilité de ces germes vis-à-vis de certains antibiotiques (antibiogramme).

## CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES BACTERIES

### I.1. Historiques

Les bactéries sont des organismes minuscules que l'on trouve à peu près partout. Elles manifestent parfois leur présence : les blessures s'infectent, le lait s'acidifie, la viande se putréfie, mais habituellement nous les ignorons parce que leurs activités sont moins évidentes et à cause de leur petite taille. Il a fallu attendre l'apparition de la microscopie, au 17<sup>ème</sup> siècle, pour que l'on découvre leur existence.

Dans la plupart des cas, la bactérie est un être unicellulaire autonome. La cellule bactérienne présente une organisation procaryote et diffère de façon marquée des cellules eucaryotes des animaux et des plantes. Certaines de ces différences seront données dans le tableaux suivant : [3].

Cellules eucaryotes	Cellules procaryotes
Les chromosomes sont inclus dans une sorte de sac fait d'une membrane double : la membrane « nucléaire »	Il n'y a pas de membrane nucléaire : les chromosomes sont au contact direct du cytoplasme
Les chromosomes sont de structures complexes ; l'ADN est habituellement associé à des protéines appelées histones	La structure chromosomique est relativement simple
La cellule se divise par mitose ou méiose	La division cellulaire n'implique ni mitose, ni méiose
Les composés de structure de la paroi cellulaire, quand il y en a une, sont la cellulose ou la chitine, jamais le peptidoglycane	La paroi cellulaire, quand il y en a une, contient habituellement du peptidoglycane (bien que, chez certains membres des Archaea, ce ne soit qu'un composé semblable au peptidoglycane), jamais de cellulose, ni de chitine
La présence de mitochondries et généralement ; on trouve des chloroplastes dans les cellules photosynthétiques	Jamais de mitochondries, ni de chloroplastes
Les ribosomes sont de deux types : plus grands dans le cytoplasme, plus petits dans les mitochondries et les chloroplastes	Tous les ribosomes sont de la même taille
Quand il existe des flagelles, leur structure est complexe	Quand il existe des flagelles, leur structure est relativement simple

Tableaux 1 : Quelques différences importantes entre cellules eucaryotes et procaryotes.

Les bactéries ont été observées pour la première fois en microscopie optique par LEEUWENHOEK, en 1675. C'est après deux siècles que leur rôle dans les processus de fermentation et dans la transmission des maladies a été découvert et que l'étude de leur morphologie a commencé. En raison de leur petite taille, leur structure interne a pu être étudiée avec l'avènement du microscope électronique. Ce moyen a permis d'acquérir les connaissances ultra structurales qui montrent combien les bactéries diffèrent de toutes les cellules animales et végétales. Les bactéries se caractérisent par leur petite taille (0,1 à 2µ

de diamètre et 0,5 à 5 $\mu$  de long, exception faite de certaines bactéries filamenteuses). Leur forme, caractéristique de l'espèce, est génétiquement déterminée. Cette forme est donnée par une enveloppe appelée paroi. [1]

## I.2. Fonction de quelques parties de la cellule bactérienne

### A. L'enveloppe bactérienne

Comme toutes les cellules, c'est d'abord à leur surface que les bactéries perçoivent les caractéristiques de leur environnement. Il s'ensuit donc que les propriétés structurales et fonctionnelles de l'enveloppe des bactéries sont le reflet direct des stratégies adaptatives de ces bactéries. Les constituants de l'enveloppe bactérienne sont adaptés à l'ingestion des nutriments, souvent à partir de solutions très diluées, et à l'exclusion de certains composés toxiques. De plus, les constituants de leur surface participent directement à l'adhérence des bactéries aux surfaces et interfaces, et au transfert de l'information génétique. Il y a chez les bactéries un investissement important vers cet objectif et une grande partie de leur potentiel génétique (jusqu'à un quart du total) est dévolue à la synthèse, la régulation, et la maintenance des constituants de l'enveloppe cellulaire. C'est un caractère qui varie considérablement selon l'espèce bactérienne : parmi les propriétés intrinsèques d'une espèce donnée, on ne trouvera en effet que rarement plus typique que ses membranes, sa paroi, et ses appendices de surface. Beaucoup de traits utilisés pour distinguer les bactéries du point de vue taxonomique découlent de différences dans leurs constituants de surface.

### B. La membrane cellulaire

Toutes les bactéries possèdent une membrane dont la surface est celle, habituelle, des « membranes » : une double couche. La membrane d'E.coli, comme celle de la plupart des eubactéries, est constituée de phospholipides et de protéines dont nombre d'espèces différentes peut atteindre 200. Environ 70% de la masse de la membrane revient aux protéines, une proportion considérablement plus élevée que dans les membranes des cellules des mammifères.

Fondamentalement, la membrane cellulaire est une barrière osmotique modifiée par la présence de systèmes spécifiques de transport. Puisque la plupart des synthèses macromoléculaires et des réactions métaboliques se déroulent dans le cytoplasme, la membrane cellulaire est la vraie frontière entre l'intérieur de la cellule et l'extérieur. Le contenu élevé en protéines de la membrane d'une cellule bactérienne suggère que cette structure est impliquée dans de nombreuses fonctions capitales. Effectivement la membrane cellulaire est le lieu de nombreux processus métaboliques complexes, et ceci d'une manière qui est sans commune mesure dans le reste du monde vivant. [2]

### C. La paroi cellulaire

Les bactéries sont des cellules particulièrement robustes : elles sont difficiles à casser par des moyens mécaniques, et elles gardent leur forme même dans des conditions rigoureuses. Une grande partie de cette robustesse est due à leur paroi cellulaire qui fournit un support mécaniquement rigide et s'oppose à la pression qui ferait autrement exploser la cellule (la lyse osmotique). La paroi cellulaire représente, de plus, un moyen de défense chimique et physique contre des composés nocifs qui pourraient endommager la membrane cellulaire. Il y a une différence considérable dans la structure des parois des

bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et dans le rôle que joue cette structure dans l'adaptation aux changements du milieu. Toute portion de la paroi d'une bactérie à Gram positif ressemble à un épais manteau, celle de la plupart des bactéries à Gram négatif n'étant qu'une pauvre chemise. En réalité, même la fine paroi des Gram négatifs possède une considérable force de tension [2].

### C.1. La paroi des bactéries à Gram positif

La paroi des bactéries à Gram positif consiste en une épaisse couche multimoléculaire de muréine (un type de peptidoglycane) associée à des quantités moindres d'autres polymères dispersés, en particulier des acides teichoïques. Cette étoffe de polymères enveloppe de nombreuses fois la cellule sur la totalité de sa longueur et de sa largeur, formant ainsi une sorte de sac qui détermine la taille et la forme de l'organisme. La muréine peut être isolée intacte sous la forme de structures appelées saccule. La forme de la bactérie dépend de celle du saccule : la plupart des bactéries ressemblent à des bâtonnets (les bacilles), à des sphères (les coques ou cocci), ou à des hélices (les spirilles et les spirochètes), quelques unes ressemblent à des fuseaux, des étoiles de mer, ou des polyèdres aplatis ; d'autres encore revêtent des formes différenciées plus complexes.

Les autres composants majoritaires de la paroi des bactéries à Gram positif sont les acides téichoïques et téichuroniques, qui peuvent représenter jusqu'à la moitié de la masse de la paroi chez certaines espèces. Il existe une grande variété de ces composés, hautement antigéniques ; c'est-à-dire que varient la nature de leur squelette saccharique, et la nature de la position de leur nombreux substituants. Puisqu'une espèce bactérienne produit un certain type d'acide téichoïque, ces molécules sont utiles comme marqueurs taxonomiques (par exemple le « polysaccharide A » de *Staphylococcus aureus*, ou « l'antigène de groupe D » d'*Enterococcus faecalis* sont des acides téichoïques distincts). La fonction des acides téichoïques reste un objet de spéculation. Certains d'entre eux possèdent des substituants lipidiques (tels les acides lipotéichoïques) et paraissent fonctionnellement distincts des acides téichoïques de la paroi, il pourrait servir à l'ancrage de la paroi dans la membrane sous-jacente.

Comment la paroi de la cellule contribue-t-elle à la protection de la membrane cytoplasmique contre les agents chimiques ? La paroi multicouche des bactéries à Gram positif empêche le passage des composés hydrophobes, parce que les sucres aminés et les acides aminés chargés de la muréine, et les phosphates des acides téichoïques rendent la paroi très polaire. Ainsi, les cellules sont entourées d'une large couche hydrophile. Par conséquent, les cellules à Gram positif peuvent souvent résister à des composés hydrophobes toxiques, tels que les sels biliaires présents dans l'intestin des vertébrés.

L'existence d'un épais manteau hydrophile peut expliquer pourquoi certaines bactéries positives dans le test de Gram. Nous jouons là sur l'exclusion mais en sens inverse : le complexe hydrophobe iode-colorant, une fois formé à l'intérieur de la cellule, ne peut apparemment pas s'échapper à travers l'épaisse couche de muréine de ces organismes. Les mailles de la muréine sont perméables à des composés hydrophiles, et des nutriments comme les sucres les acides aminés peuvent facilement les traverser pour atteindre la membrane cellulaire. La couche de muréine ne semble pas présenter d'obstacles particuliers à l'ADN, et de nombreuses bactéries à Gram positif peuvent être génétiquement transformés par l'ADN d'autres cellules.

La rigidité des mailles de la muréine permet aux bactéries de survivre dans des milieux qui sont généralement hypotoniques ayant une pression osmotique plus basse que celle de leur cytoplasme. En l'absence de cette espèce de corset qui s'y oppose, la membrane exploserait et les cellules lyseraient. Cette issue peut être démontrée expérimentalement en retirant la muréine par l'action d'une enzyme hydrolytique, le lysozyme, qui est présente dans de nombreux fluides des tissus humains et animaux. Le traitement par le lysozyme provoque la lyse des bactéries si elles sont dans un milieu de basse pression osmotique. Si les bactéries traitées au lysozyme sont conservées dans un milieu iso-osmotique, comme du saccharose 0,5M, elles ne lysent pas mais deviennent sphériques. Ce type de structures est appelé protoplastes. Quand le lysozyme est retiré, les protoplastes, s'ils sont manipulés doucement peuvent reverser vers leur forme originelle en bâtonnet [2].

## C.2. La paroi des bactéries à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif ont élaboré une solution radicalement différente au problème de la protection de la membrane cytoplasmique. Leur couche de muréine est beaucoup plus fine que celle des bactéries à Gram positif, et elles fabriquent une structure complètement différente, une membrane externe, qui est construite à l'extérieur de la fine couche de muréine. La membrane externe a une composition chimique distincte de celle des membranes biologiques habituelles, et elle a la capacité de résister à des produits corrosifs. Sa structure est une double couche dont le feuillet interne a une composition ressemblant à celle de la membrane cytoplasmique. Son feuillet externe, par contre, possède un constituant particulier à la place des phospholipides. Ce composé est le lipopolysaccharide bactérien, ou LPS, une molécule complexe qu'on ne trouve pas ailleurs dans la nature. Le résultat est que les feuillets de cette membrane sont extrêmement asymétriques, et que les propriétés de cette double couche inhabituelle diffèrent considérablement de celles d'une membrane biologiques normale. Sa capacité à exclure des composés hydrophobes ne s'observe généralement pas pour les autres membranes biologiques.

Les lipopolysaccharides sont constitués de trois parties :

-Un lipide, appelé lipide A

-Une courte série de sucres constitue la partie centrale ou noyau.

-Une longue chaîne glucidique, dont la longueur atteint 40 sucres, constitue l'antigène O

Les chaînes glucidiques hydrophiles de l'antigène O couvrent la surface de la bactérie. Bien qu'il s'agisse d'une structure lâche, du moins si on la compare à la couche de muréine des bactéries à Gram positif, elle est très efficace pour repousser les composés hydrophobes. Les mutants qui ne forment pas d'antigène O deviennent sensibles à des composés comme les sels biliaires et certains antibiotiques auxquels la souche sauvage est résistante [2].

## D. Les flagelles

Ce sont les organes locomoteurs des bactéries. Il s'agit de longs filaments très fins visibles en microscopie électronique où au microscope optique après coloration. [15]

Les flagelles permettent à la cellule de se mouvoir en milieu liquide, c'est-à-dire qu'ils interviennent dans la mobilité de la cellule. Selon l'espèce, la cellule peut avoir un seul flagelle, un flagelle à chaque extrémité, une touffe de flagelles à une ou aux deux extrémités ou des flagelles répartis tout autour de la surface cellulaire.[3]

## E. Le nucléoïde

Dans la plupart des bactéries, le chromosome consiste essentiellement en une boucle d'acide désoxyribonucléique (ADN). Il y a cependant des espèces dont le chromosome est fait d'une molécule d'ADN linéaire. L'ADN est associé à certains types de protéines, dont certaines interviendraient dans le repliement du chromosome. Dans la cellule, l'ADN considérablement replié forme un corpuscule dense, le nucléoïde, qui est associé à la membrane cytoplasmique. [3]

## F. Les granules de stockage et autres inclusions

Dans les coupes de procaryotes, on observe fréquemment des inclusions sous forme de granules. Dans le cas d'*E. coli*, ces structures sont des corpuscules de forme irrégulière, denses aux électrons, d'un diamètre de 20 à 100 nm, et constitués de glycogène. Ce sont des formes de stockage qui s'accumulent en réponse à un excès de carbone dans le milieu alors que la source d'azote, de soufre, ou de phosphore est limitante, ou que le pH est bas. En cas de privation de carbone, ces granules disparaissent au fur et à mesure de l'utilisation du glycogène.

De nombreuses bactéries, en particulier les bactéries entériques, les bactéries sporulées, et les cyanobactéries, stockent le carbone sous forme de glycogène. D'autres, comprenant les *Pseudomonaceae* et les *Rhizobiaceae*, stockent le carbone sous la forme de granules de poly- $\beta$ -hydroxyalcanes. D'autres encore, parmi lesquelles certaines bactéries photosynthétiques, sont capables de stocker le carbone sous l'une ou l'autre forme. Certaines bactéries semblent incapables de stocker le carbone sous quelque forme insoluble que ce soit.

Les composés riches en carbone ne sont pas les seuls nutriments stockés par les bactéries. Certaines espèces stockent le phosphate dans des granules de polyphosphate et le soufre sous forme élémentaire.

Chez quelques bactéries, les inclusions ne sont pas là pour stocker des composés riches en énergie, mais pour remplir un rôle bien précis. Ainsi, certaines bactéries sont magnétotactiques, c'est-à-dire qu'elles répondent aux champs magnétiques grâce à la présence de petits grains de fer intracellulaire. [2]

## I.3. Les agents antibactériens

### A. Les antibiotiques

#### A.1. Introduction

Les antibiotiques sont, dans le sens le plus commun de ce terme, les médicaments des maladies infectieuses bactériennes ou mycosiques, c'est-à-dire des agents antimicrobiens non ou relativement peu toxiques pour l'organisme, de sorte que l'on peut, au moins pour la plupart d'entre eux, les administrer par voie générale, condition nécessaire au traitement de la majorité des infections:

En l'état actuel de nos connaissances, on peut dire que les antibiotiques se présentent essentiellement comme des inhibiteurs de diverses réactions de synthèse, et qu'ils n'interfèrent pas dans les réactions de dégradation et de production d'énergie.

Quatre structures ou processus métaboliques des microbes sont intéressés à différents niveaux :

- certains antibiotiques inhibent la synthèse de la paroi bactérienne ;

- d'autres altèrent la membrane cytoplasmique, provoquant des troubles létaux de perméabilité ;
- beaucoup perturbent les synthèses protéiques au niveau du ribosome ;
- certains, enfin, inhibent la synthèse des acides nucléiques.

Il en résulte que tous les antibiotiques ne sont pas indistinctement actifs sur tous les agents pathogènes. Les antibiotiques antibactériens et les antifongiques sont différents. De plus, dans chaque catégorie, les divers produits ne sont pas actifs sur toutes les espèces de bactéries ou de champignons. C'est ainsi que, pour tout nouvel antibiotique, on étudie et définit son « spectre d'activité », c'est-à-dire la liste des espèces sur lesquels il agit. Certains agissent sur de nombreuses espèces : ils ont un spectre « large » ; d'autres ont un spectre beaucoup plus limité, voir très étroit. [13]

## A.2. Résistances bactériennes aux antibiotiques

La résistance des bactéries aux antibiotiques a vraisemblablement plusieurs origines dans la nature et doit être aussi ancienne que la synthèse des antibiotiques par les microorganismes du sol. Il a été démontré que des gènes de résistance préexistaient dans la nature, le sol, l'eau, et que leur présence était liée à la production naturelle d'agents antibactériens, synthétisés dans l'environnement par de nombreux microorganismes saprophytes, tels que les actinomycètes. Or, les actinomycètes possèdent un puissant pouvoir de synthèse et sont de grands producteurs naturels de substances à activité antibactérienne. Ce sont des microorganismes filamenteux, procaryotes (donc bactériens) qui offrent une remarquable diversité et sont les principaux producteurs d'antibiotiques extractifs. Mais ces microorganismes doivent se protéger contre leurs propres produits comme l'ont montré certaines études et les chercheurs ont eu la surprise de découvrir chez les espèces analysées à la fois la capacité de produire un antibiotique donné et la présence du mécanisme de résistance correspondant précisément à ce produit.

Les gènes chromosomiques gouvernant ces mécanismes de résistance ont été clonés pour la plupart. Ainsi, les souches de *Streptomyces* spp productrices d'aminosides synthétisent des enzymes d'inactivation, telles que phosphotransférases, acétylases, capables d'inhiber, probablement in situ, l'antibiotique produit. Ces données indiquent clairement que, bien avant l'isolément par l'homme du premier antibiotique, ces phénomènes couplés de « production-inhibition » d'antibiotiques existaient dans la nature, probablement dès que des bactéries d'espèces variées se sont développées sur la terre. [14]

Donc à côté de la résistance « naturelle » de certaines espèces bactériennes à certains antibiotiques, existe une résistance « acquise » des souches à l'intérieur des espèces théoriquement sensibles.

Qu'elle soit naturelle, inscrite dans le génome de l'espèce, ou acquise à la suite de modifications génétiques chez certaines souches, la résistance bactérienne s'explique par différents mécanismes qui aboutissent schématiquement à deux situations différentes : [13]

- a. Certaines bactéries ont la capacité de produire des enzymes qui, en modifiant ou en clivant la molécule d'antibiotique, en assurent l'inactivation.  
On comprend aisément que de telles bactéries résistent à l'antibiotique qu'elles sont capables d'inactiver. Ce mécanisme est actuellement connu pour les  $\beta$ -lactamines, les aminosides, le chloramphénicol, les streptogramines. Il est très largement répandu parmi les souches isolées en clinique.



Les enzymes inactivant les  $\beta$ -lactamines sont les  $\beta$ -lactamases qui ouvrent le cycle  $\beta$ -lactame ; certaines hydrolysent surtout les pénicillines, ce sont des « pénicillinases » ; d'autres, des « céphalosporinases », inactivant surtout les céphalosporines.

Les aminosides sont inactivés par diverses phosphorylases, adénylases et acétylases, le chloramphénicol par des acétylases, les streptogramines par une hydrolase et une acétylase. La phosphorylation, l'adénylation ou l'acétylation de la molécule, réalisées par ces enzymes, suffiront à inactiver ces antibiotiques.

- b. Dans d'autres cas, la bactérie est capable de croître en présence de l'antibiotique non modifié.

Ceci recouvre des faits différents, souvent encore mal connus, de trois types principaux :

-non-pénétration de l'antibiotique dans la bactérie ; il n'atteint pas son site d'action ; ceci résulte d'une imperméabilité des membranes bactériennes à l'antibiotique, conséquence parfois de la modification des porines impliquées dans la pénétration ;

-particularité de structure du site d'action, conditionnant un manque d'affinité pour l'antibiotique, qui ne se fixe pas sur lui ;

-développement d'une autre voie métabolique, suppléant la voie métabolique inhibée par l'antibiotique (uniquement dans le cas de résistance acquise).

Beaucoup de ces phénomènes de résistance intrinsèque sont donc liées au mode d'action de l'antibiotique considéré, au contraire de l'inactivation enzymatique.

#### A.3. Evolution des espèces bactériennes vers la résistance : cas des Entérobactéries

Les salmonelles et les shigelles sont les deux groupes d'entérobactéries restés les plus sensibles. On isole pourtant parmi elles des souches résistantes et même polyrésistantes.

C'est en effet avec les shigelles que fut découverte au Japon la résistance infectieuse d'origine plasmidique.

Ce phénomène, que l'on sait aujourd'hui être de portée très générale, n'épargne pas les salmonelles et nous avons actuellement en France de nombreux exemples d'épidémies de salmonelloses intestinales à germes résistants.

A côté de ces infections intestinales à Salmonella de sérotypes divers, il a été isolé épisodiquement en France quelques rares souches de Salmonella paratyphi B et de Salmonella typhi possédant quelques caractères de résistances dont parfois le chloramphénicol. Mais on a observé, au Mexique d'abord puis en Extrême-Orient, des épidémies de fièvres typhoïde (S.typhi) dues à des souches polyrésistantes (streptomycine, chloramphénicol, tétracyclines, sulfamides). [13]

#### A.4. Antibiogramme

L'antibiogramme est une méthode de laboratoire permettant de mesurer la sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique afin de prédire avec un risque d'erreur l'efficacité thérapeutique de la molécule. [24]

#### A.5. L'utilisation des antibiotiques à tester

Les antibiotiques doivent être réservés avant tout à un usage curatif suite au diagnostic d'une maladie bactérienne. L'utilisation des antibiotiques dans des stratégies préventives doit rester l'exception et être particulièrement réfléchie.

Un tel usage ne peut se concevoir qu'après une analyse de risque :

-Existe-t-il une période de sensibilité particulière de l'animal (stade physiologique, période d'élevage) au cours de laquelle l'hygiène ne peut à elle seule assurer une prévention satisfaisante ?

-Existe-t-il une pression infectieuse particulière pour l'animal non maîtrisable par la seule hygiène ?

Le diagnostic préalable est une garantie indispensable à une utilisation judicieuse des antibiotiques pour traiter la maladie bactérienne. [25]

#### A.6. Le choix des antibiotiques à tester

Le choix des antibiotiques à tester repose avant tout sur l'identification du germe et sur la connaissance de sa résistance naturelle. Ce choix dépend également du site de l'infection et de l'espèce animale infectée.

Parmi les antibiotiques susceptibles d'être utilisés en thérapeutiques, toutes les molécules ne sont pas prises en compte. En effet, la connaissance des familles d'antibiotiques et des mécanismes de résistance croisés permet de ne faire figurer dans l'antibiogramme qu'un nombre restreint de molécules représentatives. [24]

#### A.7. Intérêt de l'antibiogramme

L'antibiogramme a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques.

Par définition (OMS), la CMI est la plus faible concentration d'antibiotiques capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée.

La détermination de cette valeur est peu précise mais elle est consacrée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'information recueillie à son sujet. [26]

Grâce à l'antibiogramme, le clinicien est orienté dans le choix d'un traitement anti-infectieux, ainsi que l'obtention de données épidémiologique fiables sur l'évolution dans le temps et l'espace de la résistance acquise aux différents antibiotiques des principales espèces bactériennes pathogènes. [24]

#### A.8. Le milieu de culture utilisé pour réaliser un antibiogramme

Le milieu de culture utilisé est le Mueller-Hinton, ce dernier estensemencé soit par inondation, soit par écouvillonnage (technique de Kirby-Bauer), elle est conseillée pour les bactéries à croissance lente et pour les anaérobies. L'inoculum doit être standardisé et les boîtes doivent être parfaitement séchées avant le dépôt des bandelettes. Ce dépôt est un temps délicat, il est impératif de ne pas déplacer les bandelettes sur la surface de la gélose car l'antibiotique diffuse dans le milieu en quelques secondes. [24]

#### A.9. L'antibiothérapie dans l'élevage avicole

L'antibiothérapie en élevage de volailles occupe une place majeure en élevage et est d'autant plus importante que l'intensification des productions conduites à un confinement des animaux avec des risques infectieux. Malgré cette importance, leur utilisation est souvent assez empirique et mal conduite. Il en résulte de nombreux échecs thérapeutiques, le développement d'antibiorésistance et parfois des accidents de toxicité, la mise en œuvre d'une antibiothérapie raisonnée implique le choix d'une substance anti-infectieuse et le choix d'un protocole thérapeutique (posologie, voie et rythme d'administration), ces choix doivent tenir compte de plusieurs aspects :

- Des considérations bactériologiques : la nature des germes en cause et l'activité antibactérienne de l'antibiotique.
- Des considérations pharmacocinétiques : Sa capacité d'accès et de persistance dans le foyer infectieux.
- Des considérations toxicologiques : Sa tolérance locale et générale dans les espèces destinataires.
- La commodité d'emploi.
- Des considérations d'ordre économique : le coût du traitement.

Malgré les apparences, les principes de leur utilisation thérapeutique sont encore débattus. Au cours des dernières années, les connaissances sur les bases bactériologiques et pharmacocinétiques de l'antibiothérapie ont connu des développements importants. Si les trois règles de base bien connues « frapper, vite, fort et longtemps » restent toujours globalement valables, ce ne sont pas pour autant des principes intangibles. Par ailleurs, de très nombreux travaux de pharmacocinétique ont été réalisés chez les volailles et contribuent à une connaissance plus précise du devenir des antibiotiques chez les oiseaux et de là à mieux prendre en considération ces aspects pharmacocinétiques.[27]

#### A.10. La standardisation

La fiabilité des résultats d'un antibiogramme est influencée par de nombreux paramètres qui doivent être rigoureusement contrôlés.

La standardisation est régie par des documents émanant de l'OMS et des divers comités nationaux (pour la France, le comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie est pour la bactériologie animale, le comité Français d'accréditation). Selon les pays, il peut exister des variations techniques et il est important de respecter une technique identique à celle utilisée pour l'établissement des courbes de concordance. [26]

## CHAPITRE II : ETUDES DES SALMONELLES

### II.1. Introduction

Les conséquences de l'infection salmonellique sont difficiles à apprécier avec précision car sont multiples et sont liées :

- à la mortalité intéressant surtout les jeunes sujets,
- aux saisies à l'abattoir ou à l'élimination de troupeaux infectés,
- aux litiges survenant lors de fournitures d'animaux ou d'aliments, sources éventuelles de contagie ;
- aux répercussions sur la santé publique et sur la consommation des produits avicoles ;
- au fait, enfin, que le problème des salmonelloses aviaires peut de moins en moins être dissocié des problèmes des salmonelloses en général qui pose, en raison de l'émergence des sérotypes ubiquitaires participant à des cycles de transmission intra- espèces et inter espèces complexes, un passionnant problème d'écologie microbienne et d'hygiène de l'environnement comme de l'alimentation animale et humaine. [12]

### II.2. Historique

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

Les salmonelles jouent un rôle important en pathologie animale comme en pathologie humaine où elles représentent l'un des volets principaux de ce que l'on a coutume d'appeler « le péril fécal » là où le niveau général d'hygiène des populations est insuffisant ; nul n'ignore, en outre, qu'elles constituent l'un des causes d'intoxication alimentaires les plus classiques chez l'homme dans les pays développés et à ce titre défraient périodiquement la chronique, mobilisent les opinions publiques et inquiètent les circuits de consommation donc de production et de commercialisation de certains produits d'origine animale.[12]

### II.3. Habitat

De nombreuses espèces animales (animaux à sang froid ou à sang chaud) hébergent des salmonelles, pathogènes ou non pour l'homme.

On rencontre des salmonelles hautement pathogènes pour l'homme chez des porteurs de germes apparemment bien portants, qui contribuent à disséminer l'infection. Ces porteurs sont généralement des sujets convalescents mais il existe des porteurs permanents de *Salmonella typhi* (très abondantes dans la vésicule biliaire). [4]

Le réservoir des salmonelles est très large, et de nombreux animaux (mammifères dont l'homme et les rongeurs, oiseaux, reptiles, poissons, insectes...) sont susceptibles d'héberger, de multiplier et d'excréter ces bactéries. La très grande majorité des salmonelles présentes dans l'environnement (terre, eau, matières premières pour l'alimentation du bétail...) ou dans les aliments destinés à l'homme proviennent d'une contamination fécale. Ces différents supports constituent des réservoirs secondaires où les salmonelles survivent parfois très longtemps (plus d'un an dans des poussières) mais ne se multiplient qu'accidentellement (multiplication dans un plat préparé mal conservé par exemple). Le réservoir principal dans lequel les salmonelles se multiplient activement est constitué par tous les tubes digestifs de leurs hôtes potentiels [5]

## II.4. Résistances dans le milieu extérieur

Les salmonelles sont capables de se multiplier entre 6 et 46°C, mais leur optimum est aux environs de 37°C. Les salmonelles survivent très bien aux basses températures (réfrigération, congélation) mais sont relativement sensibles à la chaleur et sont détruites par la pasteurisation. Elles sont capables de se multiplier dans une plage de pH allant de 5 à 9 (optimum 7), mais leur survie est assurée même à des pH supérieurs ou inférieurs. Leur développement est limité par une forte teneur en chlorure de sodium et les compétitions consécutives à la croissance d'autres flores. Cependant, les salmonelles sont capables de survivre dans les effluents d'élevage (fumiers, lisiers...) et dans l'environnement pendant des mois ou des années avant d'être ingérées par un hôte qui pourra alors les multiplier. [5]

## II.5. Caractères bactériologiques

### a. Taxonomie et nomenclature

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des Enterobactériaceae. Il est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et *Hafnia* et phénotypiquement proche des genres *Citrobacter* et *Hafnia*. Leur différenciation se fait par les caractères biochimiques. [5]

Les *Salmonella*, bacilles de la famille des Entérobactéries, sont définies par leur morphologie (bacilles à Gram négatif, soit mobiles et, dans ce cas, péritriches, soit immobiles) et par leurs caractères culturels et biochimiques : elles se reproduisent sur des milieux ordinaires, elles sont anaérobies facultatives, réduisent les nitrates en nitrites, donnent une réaction des oxydases négative, et dégradent le glucose par métabolisme fermentatif. [6]

Les premiers sérotypes individualisés portaient un nom indiquant le syndrome dont ils étaient responsables et souvent l'origine zoologique (*Salmonella typhimurium*, *Salmonella abortus ovis*, *Salmonella typhi suis*, etc...). Certains de ces noms sont mal choisis car ils laissent supposer une spécificité zoologique : *S.typhimurium* est fréquemment rencontré non seulement chez les rongeurs, mais encore chez l'homme et de nombreuses espèces animales. De même *S. bovis morbificans* est souvent à l'origine de diarrhées de l'enfant, *S.cholerae suis* est fréquemment à l'origine de salmonelloses graves de l'homme aux Etats-Unis.

Les *Salmonella* découvertes ultérieurement portent le nom de la ville ou de la région où elles ont été isolées la première fois (*S.London*, ...) [7]

### b. Caractères morphologiques

La plupart de *Salmonella* sont mobiles. Dans ce cas, comme chez toutes les Entérobactéries mobiles, les flagelles sont nombreux et disposés autour de la bactérie (ciliation de type péritriche).

Certains sérotypes sont cependant toujours immobiles : ce sont les *Salmonella* dites aviaires, *Salmonella gallinarum pullorum*.

Enfin, dans des cas très exceptionnels on peut rencontrer des variantes immobiles, flagellées (paralysées) ou aflagellées de sérotypes normalement mobiles. [7]

Les salmonelles sont de petits bâtonnets (2 à 3  $\mu\text{m}$  par 0,6 à 0,8  $\mu\text{m}$ ) présentant une ciliature péritriche. [5]

### c. Caractères cultureux

Ce sont des bactéries aéro-anaérobies facultatives, qui se développent facilement sur milieu ordinaire ou sélectif après une incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures et à un pH proche de la neutralité. [8]

La plupart des *Salmonella* poussent rapidement et abondamment sur les milieux ordinaires (bouillon gélosé). Les colonies ont de 2 à 4 mm de diamètre.

Cependant certains sérotypes comme *Salmonella abortus ovis*, *Salmonella typhi suis* qui ne se rencontrent guère que dans le domaine vétérinaire, cultivent sur ces milieux en colonies « naines » ressemblant à celles des streptocoques.

Exceptionnellement, on peut rencontrer des variantes « naines » de *Salmonella* donnant habituellement des colonies normales. Repiquées sur gélose ascite ou sur gélose additionnée de cystine ou plus simplement de 2 g % d'hyposulfite de soude, ces variantes naines donnent des colonies normales.

Un autre type de variation morphologique dans l'aspect des colonies, a trait à l'aspect muqueux avec deux formes possibles :

-Les colonies entièrement muqueuses, ressemblant à celles de *Klebsiella* : d'un diamètre double ou triple de celui des colonies habituelles, elles ont un aspect gélatineux et une tendance à la confluence. Elles se rencontrent surtout chez *Salmonella paratyphi B*.

-Le rempart muqueux se voit aussi surtout chez les *S. paratyphi B* : si, après 24 heures d'étuve à 37°C, on laisse pendant 2 à 3 jours les cultures à la température du laboratoire, on voit que les colonies sont entourées d'un anneau muqueux. Cet aspect s'observe sur gélose ordinaire ou mieux sur gélose glucosée. Couramment observé chez les *S. paratyphi B* d-tartrate négatif, ce mur muqueux est très rare chez un sérotype voisin, *S. typhi murium*. L'élaboration de ce mur muqueux est favorisée par la présence dans le milieu de tempon phosphate de Sørensen pH 7, M/5 ou de glycérophosphate de soude M/5 pH 7.

Dans ces conditions, la plupart des *S. paratyphi B* d-tartrate positif forment aussi un mur muqueux.

Enfin, une dissociation courante chez les souches de collection est la dissociation smooth (S) – rough (R).

Sur gélose les colonies S sont rondes, bombées, lisses, brillantes et humides.

Les colonies R ont des contours irréguliers, une surface rugueuse, sèche, une teinte mate.

Si l'on repique en bouillon une colonie S, on observe un trouble uniforme et, si l'on agite le tube, des ondes moirées.

Au contraire, une colonie R repiquée en bouillon donne un développement grumeleux au fond du tube, surmonté d'un bouillon qui est limpide. L'aspect grumeleux de la culture est particulièrement net après 5 à 6 heures d'incubation à 37°C.

Ce type de dissociation peut se rencontrer chez toutes les entérobactéries. [7]

d. Caractères biochimiques [5], [9]

Les salmonelles possèdent les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae. Sept caractères définissent cette famille :

- ❖ Bacilles Gram négatif, souvent mobiles par leur ciliature péritriche (rarement immobiles), non sporulés,
- ❖ Cultivant sur milieux ordinaires,
- ❖ Aéro-anaérobies facultatifs,
- ❖ Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz,
- ❖ Réduisent les nitrates en nitrites,
- ❖ Donnant une réaction de l'oxydase négative,
- ❖ Et possèdent une catalase.

Quelques caractères biochimiques permettent la différenciation du genre Salmonella des autres Entérobactéries :

Uréase	-
Tryptophane désaminase (TDA)	-
Lysine décarboxylase (LDC)	+
Ornithine Décarboxylase (ODC)	+
Mannitol	+
Production d'indole	-
Utilisation du citrate	+
VP	-
RM	+
Fermentation du lactose	-
Fermentation du glucose avec production de gaz	+
Fermentation du saccharose	-
Production de H <sub>2</sub> S	+

VP : Test de Voges-Proskauer

RM : Rouge de méthyle

Tableau 2 : Caractères biochimiques spécifiques au genre Salmonella

Ces caractères sont communs à toutes les salmonelles, mais certains sérovars peuvent présenter des exceptions :

	Mobilité	Gaz en glucose	H <sub>2</sub> S	LDC	Citrate
Salmonella Paratyphi A	+	+	-	-	-
Salmonella Choleraesuis	+	+	V	+	+
Salmonella typhi	+	-	(+)	+	-
Salmonella Gallinarum	-	-	+	+	-
Salmonella Pullorum	-	+	+	+	-

V : variable

(+) fréquemment positif

Tableau 3 : Caractères particuliers de quelques sérovars

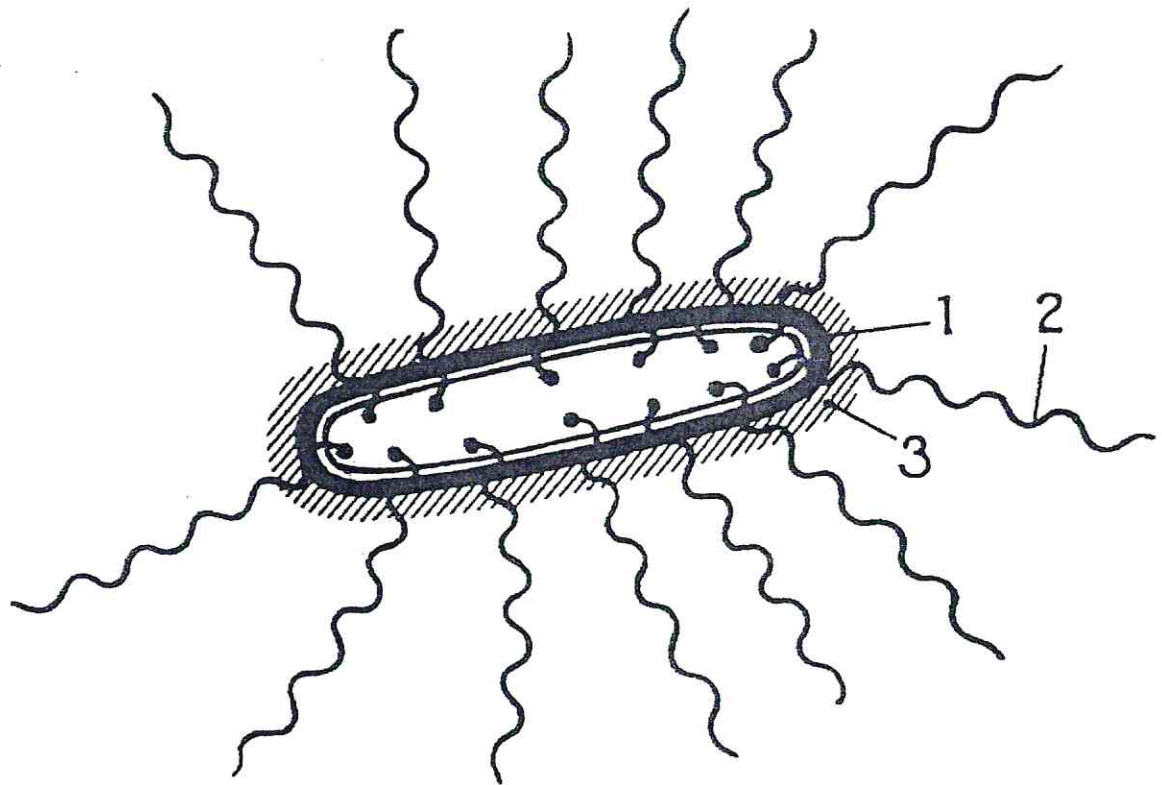
e. Caractères antigéniques. [18]

Les caractères antigéniques des salmonelles permettent d'établir une classification en fonction de la formule « antigénique » de chacun des sérotypes (plusieurs milliers) connus à l'heure actuelle. Les salmonelles peuvent posséder les antigènes somatiques O, Vi, R, M et des antigènes flagellaires H.

1. L'antigène O, ou antigène somatique, thermostable, est résistant à l'alcool ; l'agglutinabilité est entravée par le formol à 0,5%.  
L'antigène O est constitué par une série de facteurs représentés par des chiffres arabes.  
Exemple : 1, 4, 5, 12 pour *S.typhimurium*



Localisation de quelques antigènes des entérobactéries



1. Antigène O,
2. Antigène H,
3. Antigène K (Vi).

Les sérotypes sont répartis en groupe A, B, C...A l'intérieur d'un groupe, tous les sérotypes possèdent au moins un facteur O commun.

Exemple : pour le groupe B, le facteur commun est O<sub>4</sub>, pour le groupe D, le facteur commun est O<sub>9</sub>...

2. L'antigène Vi est un antigène somatique d'enveloppe qui peut masquer l'agglutinabilité O, et qui ne se rencontre que chez *S.typhi*, *S.paratyphi* C et exceptionnellement chez *S.dublin*.  
L'agglutinabilité Vi n'est pas détruite par l'alcool ou le formol, mais elle l'est par un chauffage à 100°C.  
On distingue selon la quantité d'antigène Vi les formes :
  - V, initiale du mot Allemand Viehl qui signifie « beaucoup » : dans ce cas, l'antigène O est masqué par l'antigène Vi.
  - W, initiale du mot allemand Wenig qui signifie « peu » : dans ce cas, l'agglutinabilité O est préservée.
  - V W, intermédiaires, agglutinables aussi bien par les anticorps O que par les anticorps Vi.
3. L'antigène H représente l'antigène flagellaire des formes mobiles de salmonella. Il est thermolabile, détruit par l'alcool, insensible à l'action du formole. Les salmonelles d'un même sérotype peuvent posséder leurs facteurs H sous deux formes différentes. Dans une même souche, certains bacilles peuvent avoir des antigènes H dits en « phase 1 » et désignés généralement par des lettres minuscules, et

d'autres bacilles des antigènes H dits en « phase 2 » et désignés le plus souvent par des chiffres arabes. Pour une bactérie donnée, les gènes responsables de l'apparition des différentes formes d'antigènes H ne pouvant s'exprimer simultanément, celle-ci se trouve en phase 1 ou en phase 2, mais dans une même colonie, les deux phase coexistent généralement.

Exemple : *S.typhimurium* possède en phase 1 : le facteur i, et en phase 2 : le facteur 1,2.

On pourra obtenir, suivant la souche et les conditions de cultures :

- Soit une agglutination avec les deux sérums,
- soit uniquement avec le sérum anti-H i,
- soit uniquement avec le sérum anti-H 1,2.

Dans ces deux derniers cas, on dira que la salmonelle est en « phase1 » ou en « phase 2 » : les antigènes de la phase 1 sont généralement assez spécifiques pour permettre une identification précise. Tel n'est pas le cas des antigènes de la phase 2 (ainsi dans l'exemple que nous avons pris, les antigènes 1,2 sont communs à *S.paratyphi B* et *S.typhimurium*, sérotypes également fréquents).

## CHAPITRE III: POUVOIR PATHOGENE ET PATHOGENIE DES SALMONELLES

### III.1. Spécificité d'hôte [10]

Sur la base de leur spécificité d'hôte, les salmonelles sont classées en 3

Groupes :

- Les sérovars étroitement adaptés à l'homme : *Salmonella Typhi*, *Paratyphi A*, *Paratyphi B*, *Paratyphi C*, et *Sendai* ;
- Les sérovars étroitement adaptés à certains animaux ou exprimant une pathologie particulière chez certaines espèces animales : *Salmonella Dublin* chez les bovins (mais aussi chez l'homme), *Salmonella Cholerae suis* et *Typhi suis* chez le porc, *Salmonella Abortus ovis* chez les ovins, *Abortus equi* chez les chevaux et *Salmonella Gallinarum-Pullorum* chez les volailles ;
- Les sérovars dits ubiquistes qui colonisent indifféremment différentes espèces animales et qui sont les plus nombreux : *Enteritidis*, *Typhimurium*, *Infantis*, etc.

En raison de la spécificité d'hôte de quelques sérovars (homme et *Salmonella Typhi* responsable de la typhoïde, cheval et *Salmonella Abortus Equi* à l'origine d'avortements de la jument), certaines associations hôte-bactérie conduisent à des tableaux cliniques particuliers.

### III. 2. Pouvoir pathogène [10]

Les rapports développés par ces Salmonelles ubiquitaires avec leurs hôtes peuvent entraîner :

- un portage sain strictement limité au tube digestif, avec des nombres de Salmonelles excrétées par gramme de matière fécale allant de moins de 10 à plus de  $10^7$  germes par gramme de fèces.

L'excrétion peut être intermittente, c'est-à-dire s'annuler pendant un certain temps ; il s'agit alors d'un porteur inapparent ;

- un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents. Les Salmonelles sont alors hébergées dans les monocytes et les macrophages où elles sont capables de survivre et de se multiplier. A ce titre, elles sont considérées comme des bactéries à multiplication intracellulaire facultative ;

- 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 de l'ingestion d'une forte dose de Salmonelles (de l'ordre de  $10^5$  à  $10^8$ ),
- Ou bien à la suite d'une importante multiplication dans le tube digestif d'une quantité initiale faible de Salmonelles ingérées. Cette multiplication étant la conséquence d'une perturbation ou d'un déséquilibre de l'écosystème digestif (stress, pathologie intercurrente). Dans ce cas, l'ingestion des Salmonelles peut être très antérieure à l'expression de la pathologie elle-même.

### III.2.1. Pouvoir pathogène chez l'homme

Les salmonelloses peuvent revêtir trois aspects : [15]

#### a. Les formes septicémiques

Ce sont d'abord les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux sérotypes *S.Typhi*, *S.Paratyphi A*, *B* ou *C*. Elles sont caractérisées par une bactériémie avec fièvre, tufhos et des signes digestifs.

Chez le nouveau-né et le jeune enfant, d'autres sérotypes donnant des épidémies, comme *S.Panama* ou *S.Wien*, peuvent être responsables de formes septicémiques qui mettent en jeu le pronostic vital.

#### b. Les formes purement digestives

Les toxi-infections alimentaires à *Salmonella* se manifestent par des diarrhées, des vomissements et de la fièvre. Les premiers signes surviennent 8 à 10 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. L'évolution de ces gastro-entérites est en règle générale spontanément favorable en deux ou trois jours. La mortalité est pratiquement nulle. Certains sujets guéris restent porteurs sains et éliminent des *Salmonella* dans leurs selles.

#### c. Les formes extra-digestives

Elles sont plus rares : cholécystite, méningite, ostéomyélite, spondylodiscite, glomérulonéphrite, atteinte pulmonaire. Ces formes surviennent plus volontiers chez des malades immunodéprimés. Les déficits enzymatiques des globules rouges et la drépanocytose sont des circonstances favorisantes.

Chez l'homme, les salmonelles peuvent être responsables :

- de fièvre typhoïde et paratyphoïde (fièvres entériques) causées respectivement par *Salmonella typhi* et *Salmonella paratyphi A*, *B* ou *C*. Ce sont des infections septicémiques transmises uniquement à l'homme, par consommation d'eau ou d'aliments souillés par les excréments humains provenant de sujets atteints ou convalescents de la typhoïde ou paratyphoïde ou encore de porteurs sains. [11]
- Toxi-infections alimentaires (TIA)  
Les salmonelles ubiquistes sont principalement responsables des TIA dont les plus importantes sont : *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium*. Elles apparaissent après ingestion d'eau ou d'aliments contaminés contenant une quantité de bactéries viables suffisante pour entraîner la maladie (cette quantité varie en fonction de la souche et de la sensibilité de l'individu). [8], [11]

### III.2.2. Pouvoir pathogène chez les animaux

En général les salmonelles animales dues aux sérovars ubiquistes se manifestent par des signes digestifs accompagnés d'hyperthermie. Elles peuvent évoluer en bactériémie et par conséquent envahir divers organes : foie, rate, grappe ovarienne, les articulations... [17]

Chez les volailles :

Selon le sérovar, l'âge et l'état de l'animal, les salmonelles peuvent causer différentes maladies :

-Infection par des sérovares ubiquistes :

Les salmonelles ubiquistes causent rarement des maladies cliniquement exprimées. Les animaux chez lesquels elles sont présentes sont le plus souvent des porteurs sains. Néanmoins, elles peuvent causer des septicémies avec localisation des germes dans les organes ou des diarrhées importantes avec abattement. [8]

-Infection par des sérovares spécifiques d'hôte :

La pullorose : due à *Salmonella Pullorum*, touche les poussins, et est responsable d'une grande mortalité de ceux-ci au moment de l'éclosion. Sa transmission est verticale, et par la suite peut être horizontale.

La typhose : due à *Salmonella Gallinarum*, et touche les poulets adultes. Sa transmission est horizontale. Il peut y avoir des mortalités. [16]

### III.3. Pathogénie des salmonelles

Les salmonelles font partie des bactéries entéropathogènes invasives à multiplication intracellulaire. Après adhésion à la muqueuse intestinale et destruction de la bordure en brosse des entérocytes, les bactéries pénètrent dans la cellule par une invagination de la membrane et gagnent la lamina propria en causant des lésions ulcératives.

Le mécanisme exact de la diarrhée déclenchée est encore mal connu. [12]

Au cours de la fièvre typhoïde, les Salmonelles traversent la muqueuse intestinale en pénétrant dans des cellules M des plaques de Peyer et sont arrêtées au niveau des ganglions lymphatiques mésentériques où elles se multiplient. De là, elles essaient dans le sang à la phase septicémique de la maladie. La lyse des corps bactériens libère leur endotoxine lipopolysaccharidique qui, en irritant le sympathique abdominal, provoque les lésions intestinales. L'endotoxine véhiculée par voie sanguine jusqu'aux centres neuro-végétatifs est responsable du typhos et des accidents cardio-vasculaires.

Les entérites à *Salmonella* sont dues à la réaction inflammatoire consécutive à la multiplication bactérienne dans la sous-muqueuse et les formations lymphoïdes. [15]

### III.4. Tableau clinique et lésionnel

a. Chez les volailles

La typhose :

Dans les cas aigus, il y a mortalité subite (dans les 48 heures) de quelques sujets qui ne présentaient aucun symptôme. La mortalité est d'environ 30% ou plus si l'hygiène est mauvaise.

Pour les régions d'endémie, la maladie évolue de façon chronique, avec une mortalité étalée dans le temps. Elle apparaît sporadiquement à intervalle irrégulier.

Dans les cas les plus aigus, il y a mort de quelques sujets et les symptômes apparaissent plus tardivement dont : diminution de l'appétit, soif intense, dépression, cyanose de la crête, respiration accélérée... [16]

-Salmonelloses dues aux sérovars ubiquistes : Elles sont rarement symptomatiques alors que de nombreux sujets peuvent être infectés et devenir des porteurs sains. Les symptômes sont non spécifiques et similaires quelque soit le sérovar. Ils sont observés essentiellement chez les poussins âgés de moins de 15 jours et sont rares chez les sujets de plus de 4 semaines.

On peut observer :

- Des formes septicémiques avec des signes généraux marqués, une diarrhée et parfois des atteintes oculaires (conjonctivite et opacité de la cornée) avec une hypertrophie et une congestion de nombreux viscères (foie, rate, poumon et reins)
- Des formes localisées avec diarrhée importante et abattement caractérisés par des lésions d'entérites et parfois de points de nécrose sur les viscères (foie, poumons...). Chez les poussins, le sac vitellin est non résorbé. [8]

La pullorose :

La mortalité due à cette salmonellose peut être très variable allant de 2% à 50% selon l'âge.

- ✓ Chez les poussins : Les signes cliniques de la pullorose sont inconstants et rarement spécifiques.  
Lorsque l'infection débute dans l'incubateur, les poussins succombent rapidement après éclosion et ne montrent souvent aucun signe anormal avant de mourir. La contamination est très rapide avec un 1<sup>er</sup> pic de mortalité entre le 5<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour.  
Si l'infection débute dans l'élevage, l'évolution des symptômes est plus longue avec une plus faible mortalité.

Les poussins moins jeunes semblent somnolents, se serrent les uns contre les autres, les yeux fermés, refusent de s'alimenter, leur abdomen est gonflé, la diarrhée est blanchâtre et colle au cloaque.

- ✓ Chez les adultes : ce sont en général des porteurs latents ayant survécu à cette maladie dans leur plus jeune âge. Les signes cliniques sont rares mais peuvent parfois se manifester par une chute de ponte, de fécondité et du taux d'éclosion. Il peut y avoir 20% de mortalité. [16]

b. Chez l'homme

-Fièvres typhoïde et paratyphoïde

Après incubation de 8 à 14 jours, la maladie évolue en 3 septénaires :  
1<sup>er</sup> septénaire (début) : les premiers symptômes apparaissent : céphalées, constipation, perte d'appétit, fièvres s'élevant progressivement atteignant 39 à 40°C, douleurs abdominales, fatigue, vomissements...

2<sup>ème</sup> septénaire ou phase d'état : il y a prostration (abattement extrême), diarrhée fétide parfois sanglante, splénomégalie. La fièvre est constante « en plateau » à 40°C. Il peut y avoir des complications : perforation intestinale, hémorragies, endocardite...

3<sup>ème</sup> septénaire : diminution de la fièvre, convalescence qui dure 3 semaines avec excrétion de germes.

Les fièvres paratyphoïdes suivent la même évolution que la fièvre typhoïde mais les symptômes sont moins sévères. [18]

#### -Toxi-infections alimentaires

Elles se manifestent par une gastro-entérite accompagnée de fièvre, vomissements, crampes abdominales, frissons...

L'incubation est de 12 à 24 heures, voir moins si l'aliment est extrêmement contaminé. La gastro-entérite persiste 2 à 3 jours chez un sujet bien portant, alors qu'elle peut être mortelle pour les personnes âgées, les nourrissons et les immunodéprimés en raison de l'importante déshydratation qu'elle peut engendrer. Très rarement, elle peut évoluer en septicémie surtout chez les sujets à défenses immunitaires affaiblies. Après guérison, certains sujets peuvent excréter des salmonelles dans leurs selles. [18], [19]

## CHAPITRE IV : EPIDEMIOLOGIE ET PROPHYLAXIE DES SALMONELLES

### IV.1. Modalités de transmission [20]

#### a. Matières virulentes

Elles assurent la pérennité et l'extension de la maladie dans l'espace et dans le temps. Elles sont nombreuses et on peut considérer que l'épidémiologie des salmonelles est caractérisée par la pérennité de l'infection et l'omniprésence des germes qui ne « respectent rien, ni espèce, ni denrée ».

Chez les malades, la plupart des organes et excréta sont virulents y compris les plumes et les duvets des poussins, même si les matières fécales jouent le rôle principal.

La résistance des germes dans le milieu extérieur est variable en fonction des conditions locales mais toujours largement suffisante pour assurer la pérennité de l'infection (12 mois pour *Salmonella gallinarum pullorum* en milieu légèrement alcalin).

#### b. La transmission

Elle peut être assurée par tous les vecteurs inanimés, nous retiendrons particulièrement les aliments, l'eau de boisson, les bâtiments et le matériel d'élevage, de stockage ou de transport des œufs et des animaux. Mais ce sont les vecteurs animés, source principale de l'infection, qui jouent le plus grand rôle : plus de 100 espèces d'oiseaux peuvent héberger et disséminer une trentaine de sérotypes de salmonelles. Le rôle principal revenant bien sûr, en dehors des volailles domestiques, aux espèces à mœurs grégaires et plus ou moins anthrophiles : étourneaux, cervidés, pigeon, mouettes, rapace... l'émergence des sérotypes ubiquitaires ne pouvant que renforcer le rôle vecteur de la plupart des mammifères sauvages mais surtout domestique qui représentent pour les élevages intensifs une pression d'infection considérable. Les insectes et les animaux à sang froid fournissent aux chercheurs bactériologiques et épidémiologiques un réservoir encore inépuisé de souches nouvelles rares ou atypiques.

#### c. Les modalités de transmission

Les modalités de la contagion sont les mêmes pour toutes les salmonelles et la transmission « horizontale » peut jouer dans tous les cas. En ce qui concerne la contamination congénitale des poussins, il est à remarquer que *gallinarum pullorum* se transmet plutôt « in ovo » après contamination des organes génitaux internes de la femelle après souillure puis pénétration de la coquille de l'œuf dont la perméabilité aux bactéries varie selon des paramètres qu'il est important de connaître pour tirer d'intéressantes conclusions pratiques en matière de prophylaxie sanitaire.

Bien que pour toutes salmonelles les modalités de contamination des œufs puissent jouer simultanément avec des fréquences différentes. Certains auteurs pensent que l'infection des œufs par *Salmonella enteritidis* est la conséquence essentiellement d'une infection ovarienne de la poule.

### IV.2. Epidémiologie

Maladie infectieuse, contagieuse, la salmonellose (surtout bovine et aviaire) connaît une recrudescence inquiétante dans certains pays depuis une dizaine d'années. Evoluant autrefois sous forme de cas sporadiques ou de petites enzooties, elle est actuellement



beaucoup plus fréquent, frappant les grandes collectivités où elle occasionne des pertes financières importantes. [21]

Exemple d'un cas d'une intoxication :

L'épidémie de janvier 1998 : huit personnes malades appartenant à une même famille dont l'âge varie entre 16 et 78 ans.

L'épidémie de juillet 1998 : six personnes malades appartenant à une même famille dont l'âge varie entre 3 et 57ans.

Tous ces patients souffraient de gastroentérites sévères accompagnées de fièvre (39-40°C), vomissements, diarrhées, douleurs abdominales intenses.

Ces signes sont apparus suite à la consommation de poulet.

Après isolément (coproculture), identification du germe responsable (*S.Enteritidis*), des tests de sensibilité aux antibiotiques ont été effectués.

L'antibiogramme révèle la sensibilité des 14 souches à l'ampicilline, la ticarcilline, l'amoxicilline+acide clavulanique, céfotaxine, gentamicine, chloramphenicol, cotrimoxazole et colistine.

La résistance unique aux furanes concerne huit souches isolées lors de l'épidémie de janvier 1998.

La résistance aux furanes de huit souches de salmonelles provenant de selles de patients non traités aux furanes peut provenir de l'aliment incriminé dans l'épidémie : poulet qui était traité ou avait reçu les furanes comme additifs alimentaires. [28]

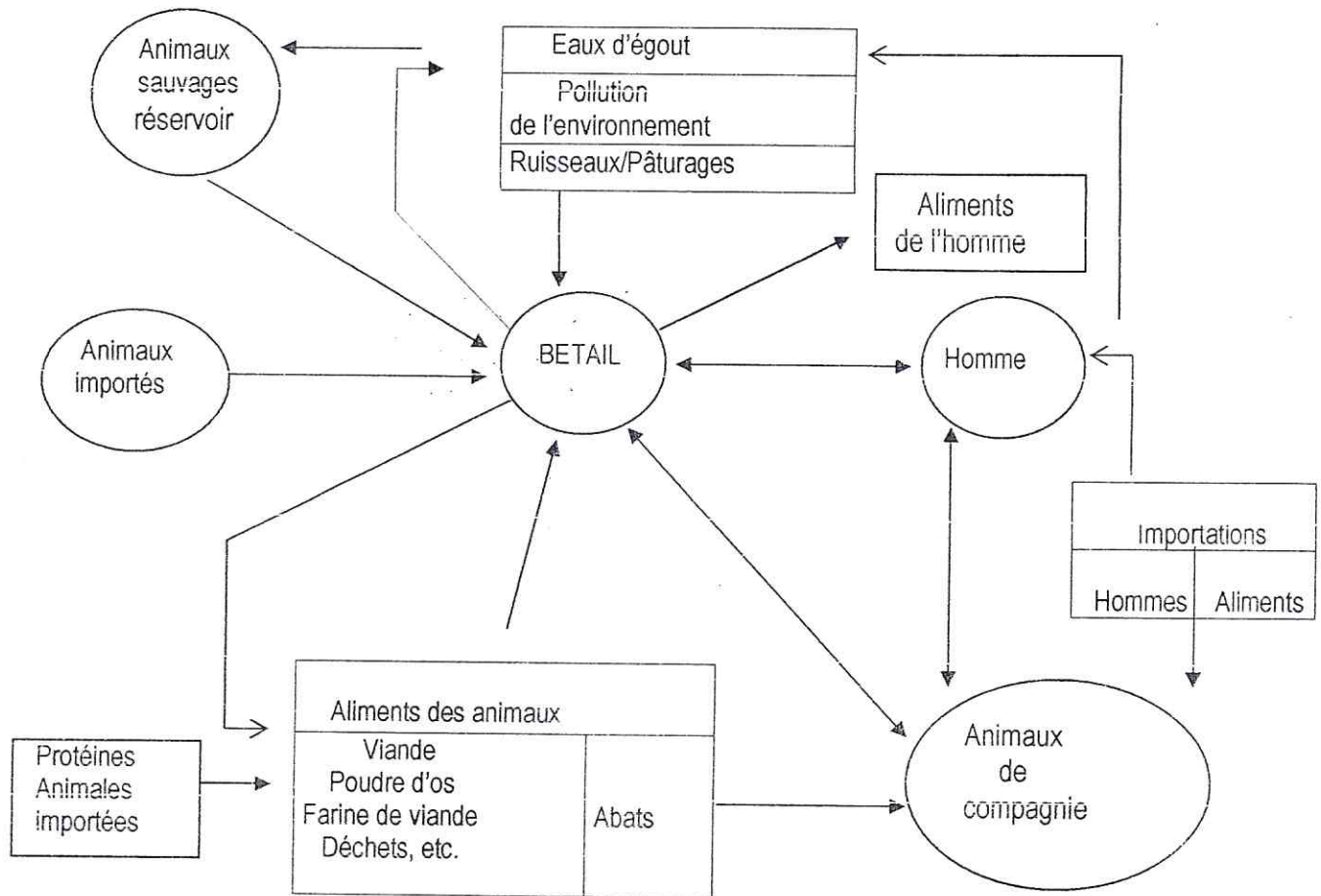


Figure 1 : Réservoirs et circulations des salmonelles entre l'homme, les animaux et l'environnement[5].

#### IV.3. Contamination et incubation

L'homme ou les animaux se contaminent principalement par voie orale : contact direct avec un homme ou un animal infecté, ingestion d'aliments contaminés. La voie aérienne est également efficace, en particulier dans les élevages intensifs confinés.

L'ingestion de salmonelles ayant proliféré dans un aliment (dans le cas de l'homme) ou présentes à la suite de contaminations fécales des auges ou de l'eau de boisson en élevage (dans le cas des animaux), peut entraîner une pathologie variable selon les souches et la sensibilité des individus. Les signes cliniques s'expriment après une incubation d'environ 17 heures (de 10 à 24 heures) si la dose ingérée est de l'ordre de  $10^5$  à  $10^8$  salmonelles. Cependant, le rôle protecteur de certains aliments (chocolat, fromage), le jeune âge des sujets infectés ainsi que le stress ou les déficits immunitaires sont autant de facteurs capables de diminuer la dose infectante nécessaire à l'expression d'un tableau clinique.

Le temps d'incubation est donc fonction de la dose infectante ingérée. Dans les cas d'ingestion d'un faible nombre de bactéries viables, une colonisation sans aucune pathologie associée est toujours possible. Le sujet devient alors porteur sain et parfois excréteur. Chez ces porteurs, une salmonellose clinique ou un simple recrudescence de l'excrétion peuvent s'exprimer à la faveur d'un stress (par exemple transport à l'abattoir pour les animaux, accident ou opération chirurgicale pour l'homme...); d'une baisse des défenses immunitaires ou d'une pathologie intercurrente. Les problèmes posés par les salmonelles ne sont donc pas limités aux toxi-infections alimentaires collectives, aussi

spectaculaires soient-elles. Les conséquences indirectes de leur circulation dans les différents réservoirs sont difficiles à évaluer exactement, et sont plus souvent qu'on ne l'imagine, décalées dans le temps par rapport à la contamination initiale de l'hôte. [5]

#### IV.4. Prophylaxie

##### a. Prophylaxie sanitaire

- La désinfection des incubateurs au niveau des couvoirs doit se faire correctement avec des désinfectants bactéricides.  
Les œufs doivent être nettoyés juste après ramassage et conservés à des températures inférieures à 18°C.
- Au niveau des élevages, des règles rigoureuses doivent s'appliquer pour éviter la dissémination des salmonelles :
  - Désinfection et dératisation après retrait des animaux
  - Nettoyage de tout le bâtiment
  - Contrôle bactériologique régulier de l'eau et des aliments
  - Le transport des animaux doit se faire dans un matériel facilement désinfectable, dans les véhicules propres et réservés à cet effet.
- L'acidification de l'eau de boisson qui permet d'empêcher la multiplication des salmonelles et leur prévalence dans l'environnement.  
Cette méthode consiste à additionner à l'eau de boisson un acide organique qui abaisse le pH de l'eau mais surtout abaisse le pH du contenu intestinal et celui des caeca, rendant ainsi les milieux défavorables au développement des salmonelles [22]

##### b. Prophylaxie médicale

- Vaccination contre *Salmonella gallinarum pullorum*
- Vaccination contre les autres salmonelles en mélangeant le vaccin aux aliments [23]
- Utilisation de flore de barrière : proposée par Nurmi en 1973 :  
A sa naissance, le poussin ne possède aucune flore intestinale. L'utilisation de « flore barrière » consiste à l'administration aux poussins d'une culture de flore intestinale naturelle non pathogène de poulet adulte, qui colonisera plus rapidement la lumière intestinale (1 semaine au lieu de six semaines) et empêchera l'adhésion et l'implantation des germes provenant du milieu extérieur. Elles sont administrées par pulvérisation. Leur utilisation n'est qu'un complément supplémentaire d'une prophylaxie sanitaire rigoureuse. [22]

## A. PROBLEMATIQUES

Depuis le début de la décennie 90, la volaille est la viande dont l'offre mondiale s'accroît le plus rapidement avec une progression moyenne annuelle de 5% contre une progression de 2% pour le porc et une stagnation pour le bœuf.

Les salmonelles sont des germes qui sont beaucoup incriminés en pathologie aviaire. La salmonellose occupe les premières places dans la classification des pathologies bactériennes avicoles en Algérie, cela est lié :

- Au manque de contrôle systématique des élevages par les services vétérinaires.
- A la non application des programmes de prophylaxie par les aviculteurs.

Ces salmonelles sont à localisation multiples en cas d'infection et c'est pour cette raison que plusieurs prélèvements ont été effectués et à différentes localisations :

- Au niveau des cloaques
- Au niveau du caecum (leur localisation préférentielle)
- Avant le sacrifice de l'animal : prélèvements de sang effectué à la veine alaire ou par ponction cardiaque pour des examens hématologiques et surtout sérologiques.
- Après le sacrifice de l'animal : prélèvements d'échantillons d'organes pour examens bactériologiques et cela le plus tôt possible après la mort de l'animal pour éviter des lésions d'autolyse.

## B. OBJECTIFS

- Etudier les caractères morphologiques, culturels et biochimiques des salmonelles isolées chez la volaille.
- Tester l'efficacité des antibiotiques couramment utilisés sur les souches isolées (antibiogramme) et voir la résistance de ces souches isolées vis-à-vis de certains antibiotiques.

Objectif 1 : Technique de contrôle de qualité des produits utilisés (fiabilité, sensibilité).

Objectif 2 : Prévalence antibiorésistance.

## I. MATERIELS ET METHODES

### I.1. Matériels

Cette identification et isolément des salmonelles a été réalisée au niveau du laboratoire régional vétérinaire de Drâa Ben Khada (DBK) dans la wilaya de Tizi-ouzou. La population de l'étude était l'espèce aviaire de tout âge en provenance de Tizi-ouzou et ses environs. Après l'autopsie au niveau du service de pathologie générale où les sujets sont sacrifiés, les prélèvements ont été effectués sur 54 sujets à partir d'organes tels que les morceaux d'intestins, de foie et le cœur et ont été acheminés vers le service de bactériologie médicale pour isoler et identifier éventuellement les salmonelles.

#### I.1.1. Matériels et équipements utilisés

##### A. Matériels biologiques

- Souches de salmonelles isolées à partir de prélèvements d'organes de volailles (foie, intestins, cœur)
- Souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité sont les suivantes :
  - E.coli ATCC 25922
  - S.aureus ATCC 25923
  - P.aeruginosa ATCC27853

##### B. Matériels de laboratoire

###### -Appareillages et verreries

- Etuves
- Bain- mari
- Anse de platine
- Pipette Pasteur
- Bec bunsen
- Flacon en verre
- Tubes à essaie
- Portoirs
- Lames et lamelles
- Microscope
- Ciseaux
- Pincés
- Ecouillons
- Boîtes de pétri
- L'huile de paraffine
- Pied à coulisse métallique
- Agitateur
- Lames et lamelles
- Pincés stériles

###### -Colorants

Fuschine  
Lugol  
Violet de gentiane

-Solutions

Alcool à 90°  
Eau distillée stérile  
Eau oxygénée  
Huile de paraffine  
Eau de javel

- Milieux de culture

Gélose Hektoen  
Gélose nutritive  
Gélose Müller – Hinton (M.H)  
Eau physiologique stérile à 0,9%

-Les réactifs

Kovacs  
Rouge de méthyle (RM)  
Voges-Proskauer (VP)  
Tryptophane désaminase  
Mannitol - mobilité  
ONPG  
Lysine décarboxylase (LDC)  
Arginine déshydrolase (ADH)  
Uréase  
Indole  
Tryptophane désaminase (TDA)

-Antibiotiques

Tétracycline (TE)  
Colistine  
Néomycine (NE)  
Enrofloxacin (ENR)  
Ceftiofur (XNL)  
Ampicilline

-Disques d'antibiotiques et distributeur de disques

## I.2. Méthodes

### I.2.1. Contrôle de la qualité

❖ Le contrôle de qualité a pour but d'assurer :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité
- La performance des réactifs utilisés dans les tests
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture

❖ Afin de répondre à cela, trois souches ont été utilisées à savoir :

S.aureus ATCC 25923  
E.coli ATCC25922  
P.aeruginosa ATCC27853

#### Procédure de contrôle

Ce travail de contrôle de qualité était permanent et devait se faire à chaque nouveau lot de Müller – Hinton et /ou d'antibiotiques.

- Ces 3 souches citées ci-haut ont été testées dans les mêmes conditions opératoires que celles des salmonelles que j'ai eu à identifier
- Des antibiotiques ont été pratiqués quotidiennement pour chacune de ces souches
- Les mesures des diamètres d'inhibition ont été soigneusement prises et comparées aux valeurs critiques figurant dans le livre de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS [29]

#### 1. Préparation du milieu de culture

Il a fallu d'abord chauffer la gélose Hektoen qui est mélangée avec un additif. Ce chauffage a pour but de liquéfier la gélose car au départ elle était solide. Une fois la gélose chauffée, j'ai mélangé et ensuite j'ai versé une certaine quantité dans la boîte de pétri (épaisseur de 4 mm) et laisser refroidir pendant quelques minutes. Les géloses sont pré séchées avant l'emploi.

Une fois le milieu de culture est prêt, il a fallu passer à l'étape suivante.

#### 2. Repiquage d'une souche à partir d'un milieu de conservation

##### a. Inoculum

C'est un travail qui a été effectué dans un milieu stérile pour éviter d'éventuelles contaminations.

Donc j'ai versé un peu d'eau peptonée dans un tube à essai avec une asepsie rigoureuse car je flambais chaque fois le bouchon et le bout du flacon d'eau peptonée avant de verser l'eau et de fermer le flacon.

Après avoir flambé l'anse de platine, laisser refroidir dans une zone stérile.

A partir d'une culture pure sur milieu d'isolément, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Décharger l'anse de platine dans 10ml d'eau peptonée stérile à 0,9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalent 0.5 Mc Farland où à une densité optique de (0,08 à 0,1) à 625 nm.

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

L'ensemencement se faisait après incubation dans le tube à essai pendant 1 heure à 3 heures à 37°C.

#### b. Ensemencement

Tremper l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

Le retirer 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.

Dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger à chaque fois.

#### c. Application des disques d'antibiotiques

Il a fallu ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre.

La liste des antibiotiques à tester, selon la souche de référence sont les suivants :

<i>S.aureus</i> ATCC 25923	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853
-Néomycine -Ampicilline -Enrofloxacin	-Enrofloxacin -Ampicilline -Colistine -Néomycine -Tétracyclines	-Enrofloxacin -Ceftiofur

Après avoir chargé d'antibiotiques le distributeur en fonction de la souche, une application a été effectuée sur la boîte de Pétri où l'ensemencement a été effectué.

#### d. Incubation

L'incubation dure 18 à 24 heures à 37°C

#### e. Lecture

La prise des mesures avec précision a été effectuée à l'aide d'un pied à coulisse afin de voir les diamètres de zones d'inhibition.

Ces résultats ont été comparés aux valeurs critiques figurant dans le livre de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS (1<sup>ère</sup> édition, 2001) et ensuite ces souches ont été classées dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, ou Résistante.



Antibiotiques testés	Charges des disques ( $\mu\text{g}$ )	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S.aureus</i> ATCC 25923
Ampicilline	10	16 - 22	-----	27 - 35
Amoxicilline +acide clavulanique	20/10	19 - 25	-----	28 - 36
Acide nalidixique				
Bacitracine				
Ceftiofur	30	26 - 31	14 - 18	27 - 31
Cefalexine	30			
Colistine	10	11 - 15	-----	-----
Chloramphenicol	30	21 - 27	-----	19 - 26
Erythromycine	15	-----	-----	22 - 30
Enrofloxacin	5	32 - 40	15 - 19	27 - 31
Furanes	300	20 - 25	-----	18 - 22
Flumequine				
Gentamicine	10	19 - 26	16 - 21	19 - 27
Neomycine	30	17 - 23	-----	18 - 26
Oxacilline	1	-----	-----	18 - 24
Penicilline	10UI	-----	-----	26 - 37
Streptomycine				
Trimethoprime/ sulfamethoxazole	125/23.75	23 - 29	-----	24 - 32
Tetracyclines	30	18 - 25	-----	24 - 30
Tilmicosine				
Vancomycine	30	-----	-----	17 - 21

Tableau 4 : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisée pour le contrôle de qualité

Antibiotiques testés	Charge des Disques ( $\mu\text{g}$ )	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	sensible
<b><math>\beta</math>-lactamines</b>				
Ampicilline	10	$\leq 13$	14 - 16	$\geq 17$
Amoxicilline	10	$\leq 14$	-----	$\geq 21$
Amoxicilline+acide clavulanique	20/10	$\leq 13$	14 - 17	$\geq 18$
Ceftiofur	30	$\leq 17$	18 - 20	$\geq 21$
<b>Aminosides</b>				
Néomycine	30	$\leq 13$	14 - 17	$\geq 18$
Gentamicine	10	$\leq 12$	13 - 14	$\geq 15$
<b>Sulfamides</b>				
Trimethoprime/sulfamethoxazole	1.25/23.75	$\leq 10$	11 - 15	$\geq 16$
<b>Tétracyclines</b>				
Tétracycline	30	$\leq 14$	15 - 18	$\geq 19$
<b>Quinolones</b>				
Acide nalidixique	30	$\leq 13$	14 - 18	$\geq 18$
Fumequine	30	$\leq 21$	-----	$\geq 25$
Norfloxacine	10	$\leq 12$	13 - 16	$\geq 17$
Enrofloxacine	5	$\leq 16$	17 - 22	$\geq 23$
<b>Polyptides</b>				
Colistine	10	-----	-----	$\geq 15$
<b>Furanes</b>				
Nitrofurantoïne	300	$\leq 14$	15 - 16	$\geq 17$
<b>Phénicolés</b>				
Chloramphenicol	30	$\leq 12$	13 - 17	$\geq 18$

Tableau 5: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour Entérobactéries [29]

## f. Résultats

Les valeurs limites des diamètres de zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité :

*Escherichia coli* ATCC 25922

ATB Test	Colistine		Néomycine		Ampicilline		Tétracyclines		Enrofloxacin	
	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)
01	15	11 - 15	18	17 - 23	18	16 - 22	21	18 - 25	33	32 - 40
02	12	11 - 15	17	17 - 23	19	16 - 22	22	18 - 25	34	32 - 40
03	13	11 - 15	19	17 - 23	20	16 - 22	19	18 - 25	35	32 - 40
04	12	11 - 15	21	17 - 23	19	16 - 22	20	18 - 25	37	32 - 40

R= Résultats en mm

N= Norme en mm

ATB= Antibiotique

*Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853

ATB Test	Enroloxacin		Ceftiofur	
	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)
01	16	15 - 19	15	14 - 18
02	17	15 - 19	17	14 - 18
03	18	15 - 19	16	14 - 18

*Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ATB Test	Néomycine		Ampicilline		Enrofloxacin	
	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)	R (mm)	N (mm)
01	19	18 - 26	28	27 - 36	30	27 - 31
02	20	18 - 26	29	27 - 36	29	27 - 31
03	20	18 - 26	31	27 - 36	28	27 - 31
04	21	18 - 26	32	27 - 36	30	27 - 31

g. Conclusion

Nos tests de contrôle ont été réussis car les résultats des diamètres des zones d'inhibition pour les trois souches de référence ont été inclus dans l'intervalle des valeurs critiques (normes) avec une tolérance d'une ou deux valeurs en dehors des valeurs critiques définies pour la souche et l'antibiotique.

Nous pouvons en conclure que la précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité a été efficace, la performance des réactifs a été satisfaisante ainsi que la performance de notre travail (manipulation et lecture) a été correcte et efficace.

### I.2.2. Prélèvements

Les volailles malades ont été autopsiées au niveau du service de pathologie générale. Des morceaux d'organes ont été prélevés à savoir l'intestin, le foie, le cœur et la grappe ovarienne, mis dans des boîtes de pétri stériles et acheminés au service de bactériologie médicale pour analyses. (Voir figure n°2)

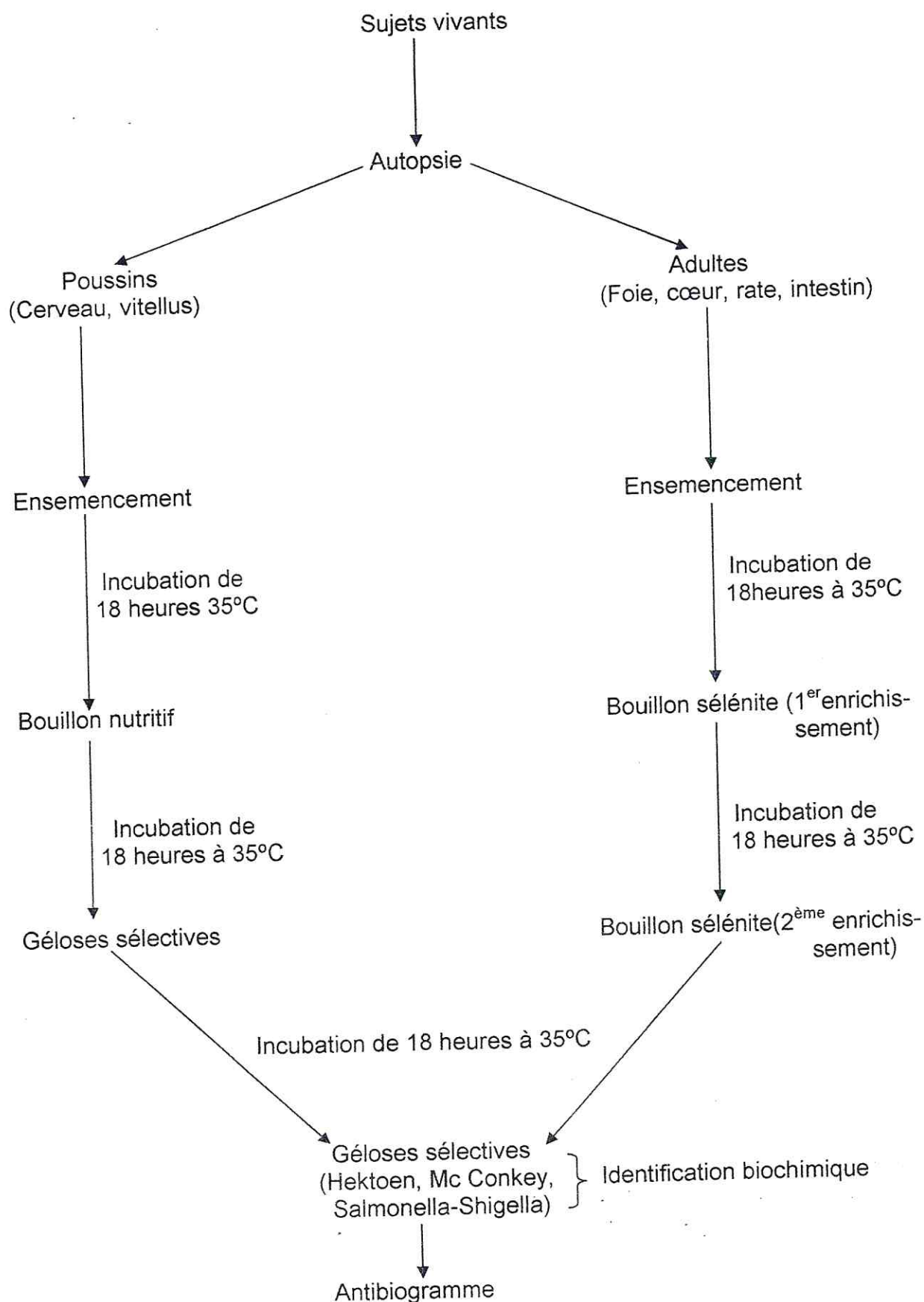


Figure 2 : Recherche et identification des salmonelles dans les organes

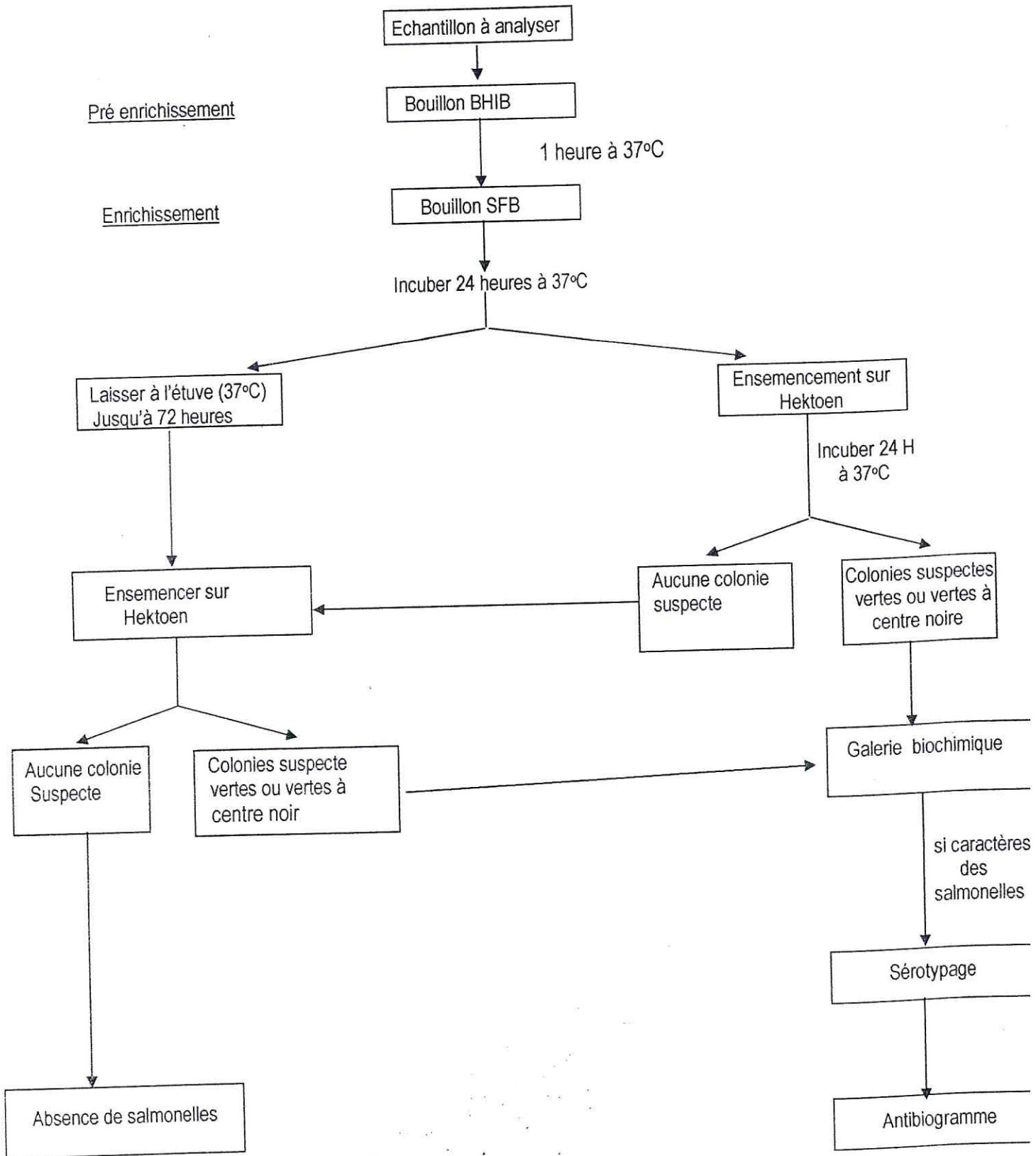


Figure 3 : Recherche des salmonelles dans les caeca

### I.2.3. Identification des Salmonelles

C'est une opération qui est réalisée uniquement après l'obtention de souches pures des germes que l'on recherche. Ce sont des cultures jeunes (de 18 à 24 heures) qui sont utilisées et que nous avonsensemencées sur gélose nutritive.

Les étapes sont les suivantes :

#### 1. Etude microscopique

##### a. Etat frais

-Principe :

L'examen à l'état frais consiste à examiner les bactéries à l'état vivant en l'absence de toute fixation ou coloration

-but :

L'examen microscopique à l'état frais a pour but d'observer les bactéries à l'état vivant, d'étudier leur morphologie, leur mode de groupement et leur mobilité. Il permet aussi l'estimation quantitative du nombre de cellules dans un champ microscopique.

-Technique :

Le matériel à examiner a été prélevé à partir d'un milieu de culture liquide et/ou solide, et même à partir d'un produit pathologique naturel.

-prélèvement et préparation des frottis :

- Prélèvement à partir d'un milieu liquide

Sur la partie centrale d'une lame de microscope (porte objet) rigoureusement propre et bien dégraissée, nous avons déposé une gouttelette de la suspension de culture au moyen d'une pipette pasteur stérile (l'anse de platine peut être aussi utilisée) dans des conditions rigoureuses d'asepsie.

L'anse de platine a été stérilisée par flambage à la flamme d'un bec bunsen puis refroidie.

Par la suite, on a eu à déposer soigneusement et délicatement sur la goutte une lamelle également propre. En mettant la mise en place la lamelle, elle a été bien orientée afin d'éviter d'éventuelles formations de bulles d'air. Il a aussi fallu répartir le liquide sous la lamelle en appuyant très légèrement avec l'extrémité d'une pince, ainsi la lamelle s'applique sur la lame et la couche du liquide devient fine. Lorsque le liquide déborde, il faut l'absorber à l'aide du papier buvard.

Faire attention afin de ne pas porter la pulpe des doigts sur la lamelle car elle dépose à sa surface un enduit sébacé qui risque de troubler la qualité de l'image microscopique.



- Prélèvement à partir de cultures sur milieu solide

Dans ce cas, il faut faire recours le plus possible, à des cultures jeunes ne correspondant pas à la phase terminale de développement. Comme précédemment, nous avons choisi une lame porte-objet où nous avons déposé au centre une goutte d'eau distillée ou de l'eau physiologique dans laquelle nous avons associé une petite colonie prélevée à l'anse de platine préalablement flambée et refroidie. Bien étendre aussi.

#### b. Coloration simple

##### 1. Principe :

La coloration simple consiste à faire un frottis du matériel à examiner sur une lame porte-objet.

Pour cela nous avons laissé, nous avons laissé sécher soigneusement, puis j'ai fixé et finalement une solution de colorant a été appliquée sur la lame.

Les colorants utilisés étaient le bleu de méthylène, le bleu de toluidine, la safranine.

##### 2. But :

Cette technique de coloration aide à la détermination de la morphologie et du nombre d'éléments bactériens.

##### 3. Technique :

-Utiliser une lame porte-objet rigoureusement propre et bien dégraissée.

-Laisser sécher à la température du laboratoire

-Quand le frottis est sec, le fixer en passant très rapidement la lame, à deux reprises, dans la flamme d'un bec bunsen. Ce mode de fixation peut être remplacé avantageusement par l'alcool éthylique à 95°. Placer 4 ou 5 gouttes sur la préparation.

Laisser en contact quelques secondes et l'enflammer avec la veilleuse d'un bec bunsen.

-Placer sur le frottis une quantité suffisante de colorant pour le recouvrir complètement.

Laisser en contact pendant environ une minute

-laver à l'eau courante et sécher entre deux feuilles de papier buvard ou passer la préparation rapidement au-dessus de la flamme d'un bec bunsen en évitant un chauffage trop violent.

-Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame et examiner celle-ci avec l'objectif 100 X.

#### c. Coloration de Gram

##### 1. Principe :

Les germes sont colorés en bleu violet avec le cristal violet phénique. Après l'action d'un mordant (solution de lugol), une décoloration à l'acétone-alcool est tentée. La safranine ou la fuschine basique agissent ensuite comme colorant de contraste.

## 2. But :

La méthode de coloration de Gram permet de classer les bactéries en « Gram positif ou négatif »

## 3. Technique :

### -Préparation et fixation des frottis

Il faut utiliser des lames très propres. Pratiquer l'étalement du germe. Laisser sécher à l'air. Fixer à la chaleur (plaque chauffante ou passage rapide au dessus de la flamme) ou à l'alcool.

### -Coloration

a/ Couvrir le frottis avec une solution de cristal violet ou de violet de Gentiane.

Laisser en contact 30 secondes à une minute.

b/ Rincer rapidement à l'eau pour enlever l'excès de colorant.

c/ Recouvrir de la solution de lugol et laisser agir pendant environ une minute, puis laver doucement à l'eau.

d/ Recolorer le frottis avec la fuschine basique. Laisser en contact pendant 30 secondes (on peut remplacer la solution de fuschine par une solution de safranine).

e/ Laver la lame à l'eau, sécher et examiner à l'immersion.

## 4. Lecture

Les bactéries « Gram positifs » sont celles qui, après différenciation à l'acétone-alcool, restent colorées en bleu, tandis que les bactéries « Gram négatifs » prennent la coloration de contraste en rouge par la fuschine ou la safranine.

## 2. Identification biochimique

### 2.1. Recherche des enzymes respiratoires

#### a. Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme qui empêche l'accumulation d'eau oxygénée dans la cellule bactérienne qui pourrait être létale pour celle-ci.

Elle catalyse cette réaction :  $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

#### ➤ Technique :

Déposer une goutte d'eau oxygénée ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) à 10 volumes sur une lame propre. Une colonie prélevée à partir d'une gélose nutritive y est dissoute avec une pipette Pasteur.

➤ Lecture

- S'il y a dégagement de bulles gazeuses  $\Rightarrow$  Bactérie catalase positive.
- S'il n'y a pas dégagement gazeux  $\Rightarrow$  Bactérie catalase négative.

b. Recherche de la nitrate réductase

C'est une enzyme qui catalyse la réduction des nitrates en nitrites. Sa présence est mise en évidence par la recherche des nitrites formés (Réaction de Griess). Cependant, certaines bactéries réduisent les nitrates au-delà du stade nitrite qui est l'azote moléculaire, dans ce cas, l'absence ou la présence de nitrites est révélée par l'épreuve de Zo-Bell. Le milieu utilisé est le bouillon nitraté.

➤ Technique

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, le bouillon estensemencé avec une culture de la souche à étudier ; l'incuber pendant 18 à 24 heures à 37°C.

➤ Lecture

5 gouttes de chacun des deux réactifs de griess sont ajoutées au milieu :

Réactif 1 = Nitrate réductase I : Acide parasulfanilique + acide acétique

Réactif 2 =Nitrate réductase II :  $\alpha$ -naphtylamine + acide acétique

-Coloration rouge après addition des 2 réactifs  $\rightarrow$  Bactéries Nitrate Réductase positive.

-Si la réaction de Griess est négative, une petite quantité de poudre de zinc est ajoutée au milieu incolore (épreuve de Zo-bell) :

\*Coloration rouge  $\rightarrow$  Bactéries Nitrate Réductase négative.

La poudre de zinc a réduit les nitrates non réduits par la bactérie en nitrites ;

\*Pas de coloration  $\rightarrow$  Bactéries Nitrates Réductases positive.

La réduction des nitrates par la bactérie a dépassé le stade nitrites et a atteint le stade d'azote moléculaire. La réaction est fortement positive

c. Recherche de l'oxydase (Cytochrome oxydase)

C'est une enzyme qui transfère les électrons passant dans la chaîne respiratoire à l'oxygène moléculaire.

En présence de la cytochrome oxydase, l'oxalate dimethyl-phénylène-diamine (incolore) est oxydé libérant une semi-quinone qui se colore en violet foncé.

➤ Technique

Un disque d'oxydase est placé sur une lame propre. Il est imbibé d'eau distillée stérile ; Avec une pipette Pasteur boutonnée, une colonie obtenue à partir d'une gélose nutritive est prélevée et est déposée sur une extrémité du disque.

➤ Lecture

Elle est immédiate :

- Coloration violette → Oxydase positive
- Aucune coloration → Oxydase négative

#### d. Recherche de la citrate perméase

Pour mettre en évidence la présence de cette enzyme, on cultive les bactéries dans un milieu dont la source de carbone et d'énergie est le citrate. Seules les bactéries qui possèdent cette enzyme pourront se développer en alcalinisant le milieu qui prendra une coloration bleue.

Le milieu utilisé est le milieu synthétique Citrate de Simmons, qui est une gélose inclinée de couleur verte.

##### ➤ Technique

La surface du milieu estensemencée par stries ;  
Il est incubé pendant 1 à 7 jours à 37°C.

##### ➤ Lecture

- Coloration bleue → Les bactéries possèdent une citrate perméase, elles peuvent donc utiliser le citrate comme source de carbone et d'énergie.
- La coloration reste verte → Absence de citrate perméase.

#### 2.2. Mise en évidence de la fermentation des glucides (Glucose, Lactose, Saccharose) et de la production de H<sub>2</sub>S.

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) est le milieu utilisé et présente une pente et un culot colorés en rouge.

##### ➤ Technique

En premier lieu, la pente estensemencée par stries serrées, puis le culot par piqûre profonde et centrale. Il est incubé 24 heures à 37°C.

##### ➤ Lecture

Le milieu TSI fournit quelques résultats :

- Coloration jaune du culot (acidification du milieu) ⇔ Fermentation du glucose
- Pas de coloration jaune du culot ⇔ Le glucose n'est pas fermenté.
- Présence de bulles qui peuvent décoller le fond du milieu ⇔ Production de gaz.
- Coloration jaune de toute la pente ⇔ Fermentation du lactose et du saccharose
- Pas de coloration jaune de la pente ⇔ Le lactose et saccharose ne sont pas fermentés.
- Noircissement du milieu ⇔ Production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S).

#### 2.3. Mise en évidence de la dégradation du Mannitol

Le milieu utilisé est le milieu Mannitol mobilité, partiellement gélosé de couleur rouge

➤ Technique

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale avec une pipette Pasteur chargée d'une colonie prélevée d'un milieu gélosé puis incubé pendant 24 heures à 37°C.

➤ Lecture

- Coloration jaune  $\implies$  La souche fermente le mannitol
- La coloration reste rouge  $\implies$  La souche ne fermente pas le mannitol
- Croissance uniquement le long de la piqûre centrale  $\implies$  Souche immobile,
- Diffusion à partir de la ligne d'ensemencement en créant un trouble dans le milieu  $\implies$  Souche mobile.

4. Recherche de l'uréase

Toute bactérie qui possède une uréase est capable de transformer l'urée en carbonates d'ammonium, qui alcalinise le milieu, selon la réaction :



Le milieu utilisé est le milieu Urée – Indole

➤ Techniques

Une petite quantité du milieu Urée – Indole est versée dans un tube qui est ensemencée par la suite avec une culture sur milieu gélosé pour obtenir une suspension dense. Il est incubé à 37°C.

➤ Lecture

- Coloration rouge violacée  $\implies$  Bactérie uréase positive ;
- Pas de changement de couleur  $\implies$  Bactérie uréase négative.

2.4. Etude de la dégradation des acides aminés

a. Dégradation de Tryptophane désaminase (TDA)

Les bactéries qui possèdent cette enzyme peuvent transformer le tryptophane en acides cétoniques.

Le milieu utilisé est le milieu Urée - Indole.

➤ Technique

La suspension dense de bactéries en milieu Urée – Indole précédente est utilisée.

➤ Lecture

Lorsqu'on ajoute quelques gouttes d'une solution de perchlorure de fer, la réaction est immédiate :

- Coloration brun-rouge  $\implies$  Bactérie TDA positive

-Coloration jaune  $\implies$  Bactérie TDA négative

#### b. Recherche des décarboxylases et des dihydrolases

Ce sont des enzymes dont la synthèse est favorisée à pH acide et en anaérobiose, elles décarboxylent les acides aminés en formant l'amine correspondante avec dégagement de  $\text{CO}_2$ .

Trois de ces enzymes ont été étudiées :

- Lysine décarboxylase (LDC) :  $\nearrow$   
Lysine  $\longrightarrow$  Cadaverine +  $\text{CO}_2$
- Ornithine décarboxylase (ODC)  $\nearrow$   
Ornithine  $\longrightarrow$  Putrescine +  $\text{CO}_2$
- Arginine dihydrolase (ADH)  
Arginine  $\longrightarrow$  Ornithine.

Les milieux utilisés sont : Le milieu Moeller témoin, trois milieux Moeller avec respectivement Arginine, Lysine, et Ornithine. Ce sont des milieux liquides de couleur violette.

#### ➤ Technique

Une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture en milieu gélosé de 18 heures à 24 heures ;

Les quatre tubes sontensemencés avec quelques gouttes de cette suspension et recouverts avec de l'huile de vaseline.

Ils sont incubés quatre jours au maximum à  $37^\circ\text{C}$

#### ➤ Lecture

Dans un premier temps, il y a acidification des milieux lors de la fermentation du glucose

$\implies$  Coloration jaune

Dans un deuxième temps, si les enzymes sont actives sur les acides aminés, il y a formation de substances alcalines  $\implies$  Coloration violette.

-Coloration violette  $\implies$  Réaction positive ;

-Coloration jaune  $\implies$  Réaction négative ;

Dans les deux cas le témoin doit être toujours jaune.

#### 6. Recherche de la production d'indole

Les bactéries qui possèdent une tryptophanase peuvent dégrader le tryptophane et donner de l'indole comme produit de la réaction.

Deux milieux peuvent être utilisés : Le milieu urée – Indole et l'eau peptonée exempte d'indole qui est le milieu choisi.

➤ Techniques

Le milieu liquide : Eau peptonée exempte d'indole est ensemencé avec une culture de la bactérie à étudier.

Il est incubé 18 à 24 heures à 37°C

➤ Lecture

Quelques gouttes de réactifs de Kovacs sont ajoutées à la culture, la réaction est immédiate :

-Formation d'un anneau rouge à la surface du milieu  $\implies$  Bactérie Indole positif.

-Formation d'un anneau jaune à la surface du milieu  $\implies$  Bactérie Indole négatif.

## 2.5. Recherche de la $\beta$ -galactosidase

Pour qu'une bactérie puisse dégrader le lactose, elle doit posséder des enzymes fonctionnelles notamment : la  $\beta$ -galactoside perméase qui permet la pénétration du lactose dans la cellule et la  $\beta$ -galactosidase qui est capable de scinder cette molécule en glucose et galactose.

Les bactéries dont la  $\beta$ -galactoside perméase ne fonctionne pas ou est absente ne pourront dégrader le lactose même en présence de la  $\beta$ -galactosidase.

Pour mettre en évidence cette enzyme, des disques d'ONPG (Ortho-Nitrophényl  $\beta$ -D galactopyranoside) sont utilisés. La dégradation de l'ONPG par la  $\beta$ -galactosidase libère l'orthonitrophenol et colore le milieu en jaune.

➤ Technique

Un disque d'ONPG est introduit dans un tube qui contient une suspension bactérienne dense ;

Cette suspension est incubée 24 heures à 37°C.

➤ Lecture

Coloration jaune de la suspension  $\implies$  ONPG positif (présence d'une  $\beta$ -galactosidase)

Pas de coloration jaune de la suspension  $\implies$  ONPG négatif (absence d'une  $\beta$ -galactosidase)

## 2.6..Etude de type respiratoire

Selon le rapport des bactéries avec l'oxygène, quatre types respiratoires peuvent être mis en évidence :

Le milieu utilisé est le milieu semi-solide Viande – Foie.

➤ Technique

Le milieu est régénéré au bain-marie bouillant avant chaque utilisation afin d'en chasser l'oxygène ;

Après refroidissement, le tube est ensemencé par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur fermée préalablement introduite dans la suspension bactérienne, puis est retirée en faisant des tours de spires.

Le milieu est incubé pendant 24 heures à 37°C.

➤ Lecture

Développement en surface uniquement → Aérobie stricts

Développement en profondeur uniquement → Anaérobie stricts

Développement tout au long du tube → Aéro-anaérobie facultatifs

Développement légèrement en dessous de la surface (formation d'un anneau dans la zone intermédiaire aérobie-anaérobie) → Micro-aérophiles.

#### 1.2.4. Identification antigénique

Une fois les caractères biochimiques de la souche à étudier correspondent à ceux du genre salmonella, il est nécessaire de déterminer sa formule antigénique (antigènes O et H) pour connaître de quelle salmonelle (séovar) il s'agit.

Cette identification antigénique s'effectue par agglutination sur lame avec des sérums agglutinants anti-salmonella, préparés par immunisation de lapins.

Il existe différents types de sérums :

-Sérums destinés à l'orientation du diagnostic :

- Sérums O mélanges : Ils renferment des anticorps dirigés contre différents facteurs O essentiels et spécifiques de groupe.  
Toute culture de salmonelles O – agglutinable, agglutine immédiatement avec un des sérums O mélanges.

-Sérums destinés à l'étude de la formule antigénique :

- Sérums O monovalents : Ils servent à préciser le groupe auquel appartient la salmonelle.
- Sérums H monovalents : Ils servent à déterminer les antigènes H en phase 1 et phase 2.



## I. Mise en évidence des salmonelles

### 1. Coloration de Gram

Après avoir réalisé les différentes étapes de la coloration de Gram décrites précédemment, nous avons fait la lecture et il a été constaté ce qui suit :

La coloration a pris la couleur rose, les bactéries étaient sous forme de bacilles.

### 2. Identification du germe

Les étapes utilisées étaient celles citées précédemment à savoir l'enrichissement et l'isolément.

Lors de la lecture, nous avons constaté ceci :

C'étaient des colonies de couleur saumon dues à la fuschine qui prend la teinte saumonée en présence d'aldéhyde, de forme ronde, lisse de 2 à 3 mm de diamètre.

La couleur du milieu était devenue jaune à cause du bleu de bromothymol qui vire au jaune en milieu acide.

Il a fallu ensuite faire la galerie biochimique classique qui avait été citée précédemment et ensuite la lecture afin de pouvoir mettre en évidence les salmonelles.

## II. Lecture d'antibiogramme des Salmonelles identifiées

Après avoir identifié les Salmonelles, il a fallu faire l'antibiogramme. La technique utilisée était la même que celle utilisée pour le contrôle de la qualité. C'est-à-dire qu'il a fallu préparer l'inoculum, faire l'ensemencement, appliquer des disques d'antibiotiques, incuber et en fin, faire la lecture.

III. Résultats de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. enteritidis*.

Sur 54 prélèvements (volailles) effectués, on a isolé 5 souches de *S. enteritidis*. Les résultats des antibiogrammes effectués sont portés dans le tableau suivant :

ATB	Normes (mm)	S1	S2	S3	S4	S5
Ampicilline	Voir tableau 5	19	20	19	21	22
Néomycine		27	26	27	24	28
Enrofloxacin		17	18	16	18	19
Colistine		21	22	21	20	22
Tétracyclines		17	18	17	18	17
Ceftiofur		13	16	14	16	17

S1, S2, S3,... : Numéro de souches

Tableau 6 : Résultats des diamètres zones d'inhibition en mm

## Résultats des Antibiogrammes

Souche \ ATB	S1	S2	S3	S4	S5
Ampicilline	S	S	S	S	S
Néomycine	S	S	S	S	S
Enrofloxacin	I	I	I	I	I
Colistine	S	S	S	S	S
Tétracyclines	I	I	I	I	I
Ceftiofur	R	R	R	R	R

S : Sensible ;

R : Résistant ;

I : Intermédiaire

Tableau 7 : Résistance des *Salmonella Enteritidis* aux antibiotiques

Pourcentage de résistance et de sensibilité de *S. Enteritidis* isolées chez la volaille

ATB	Résistance		Intermédiaire		Sensible	
	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%	Nombre de souches	%
Ampicilline	0	0	0	0	5	100
Néomycine	0	0	0	0	5	100
Enrofloxacin	0	0	5	100	0	0
Colistine	0	0	0	0	5	100
Tétracyclines	0	0	5	100	0	0
Ceftiofur	5	100	0	0	0	0

Tableau 8 : Pourcentage de sensibilité

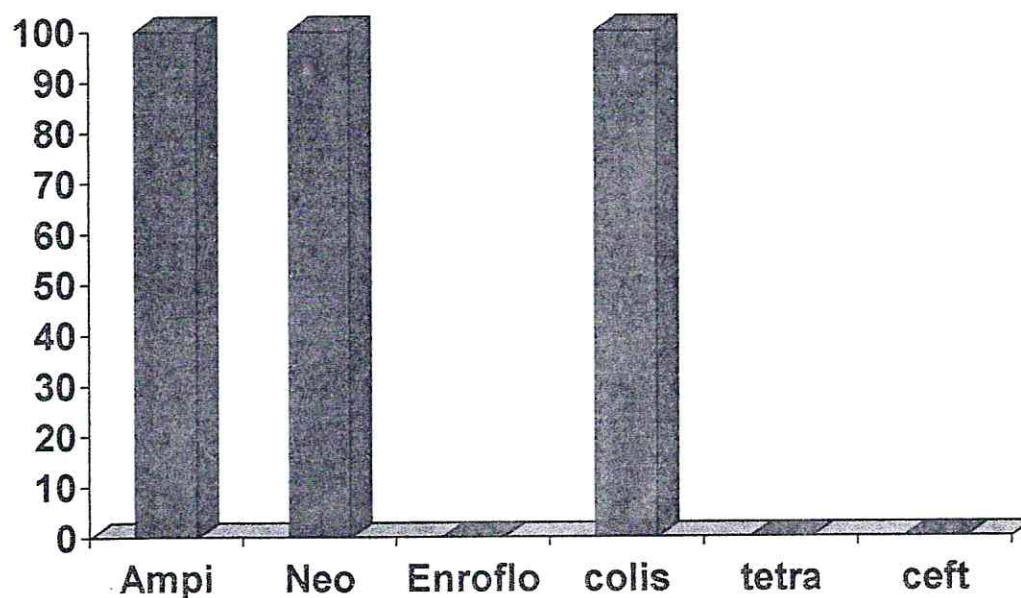


Figure 4: Histogramme de pourcentage de souches de *Salmonella Enteritidis* sensibles aux antibiotiques testés

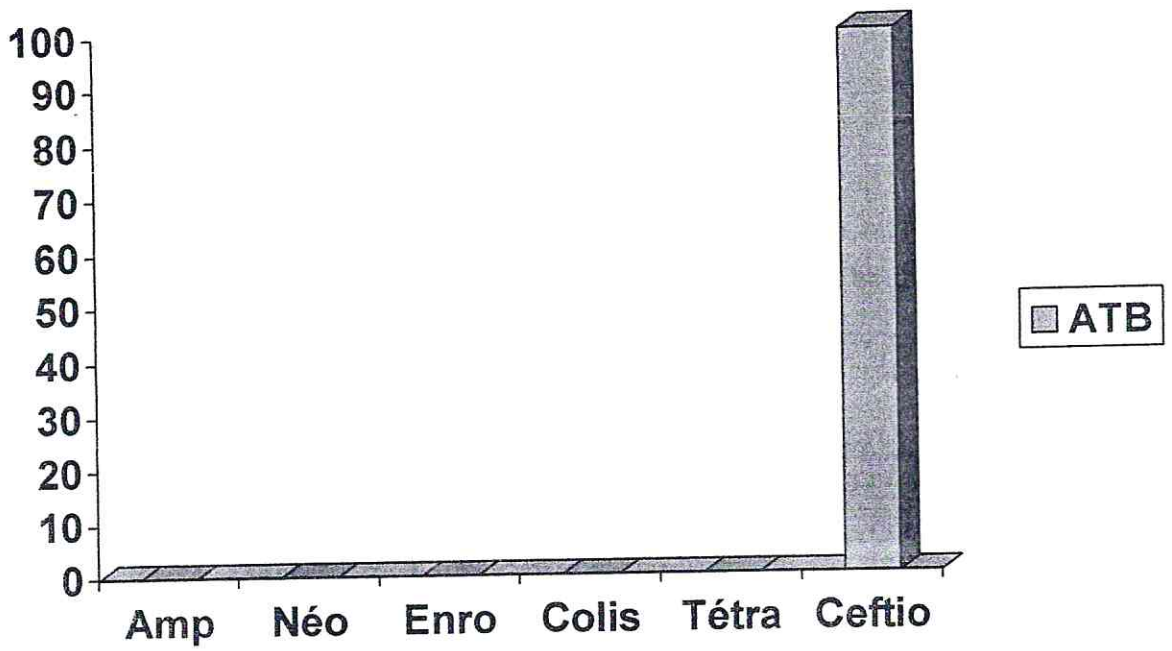


Figure 5 : Pourcentage de résistance

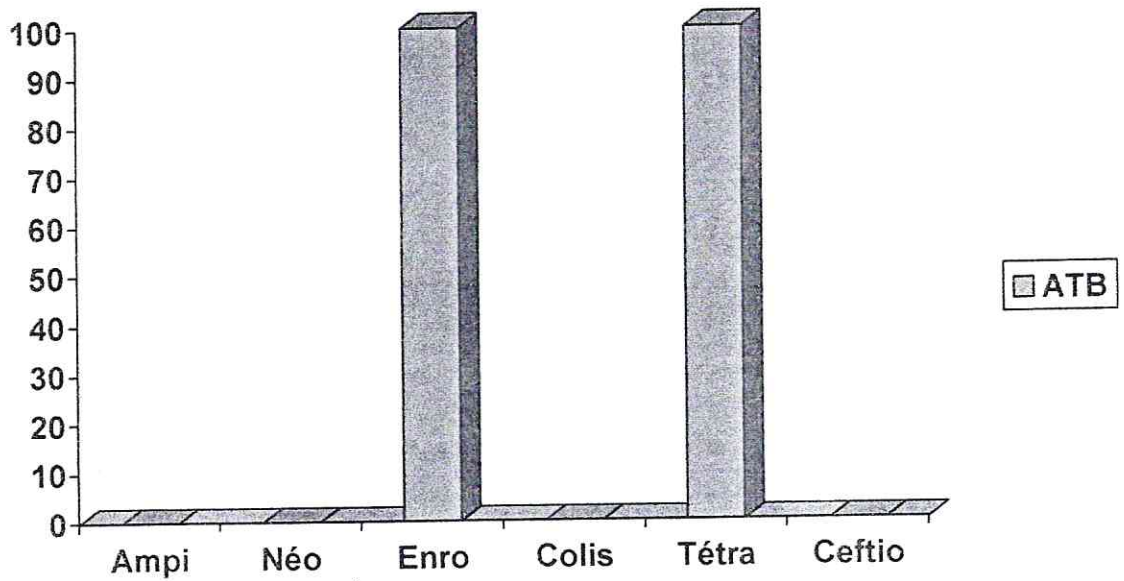


Figure 6 : Pourcentage de résistance intermédiaire

#### IV. Effets des antibiotiques testés vis-à-vis de *Salmonelles* Enteritidis

Le nombre de souches de *Salmonella* Enteritidis résistantes, sensibles ainsi que les résistances intermédiaires sont représentés dans le tableau 7.

Les pourcentages de résistance et de sensibilité des souches respectives sont représentés dans le tableau 8.

Les taux de résistance, de sensibilité ainsi que de résistance intermédiaire exprimés en pourcentages sous forme d'histogramme sont représentés dans les figures 4, 5 et 6

#### V. Commentaires des résultats des antibiogrammes

L'ampicilline, la néomycine ainsi que la colistine sont actives sur toutes les souches de salmonelles Enteritidis isolées. (S1,....S5)

L'enrofloxacin et la tétracycline ont manifesté une résistance une résistance intermédiaire sur toutes les souches de *Salmonella* Enteritidis isolées (S1,....S5)

La ceftiofur est non active sur toutes les souches de *Salmonella* Entéritidis isolées (S1,....S5)

## VI. Discussions

Pendant l'élevage, les antibiotiques sont couramment administrés aux volailles via l'alimentation ou l'eau. Cette pratique a contribué à la sélection des germes résistants chez l'espèce aviaire.

Notre étude a fait ressortir un niveau de sensibilité important chez *S. Enteritidis*, les antibiotiques comme l'ampicilline, la colistine et la néomycine manifestent une bonne situation par contre la ceftiofur manifeste une situation préoccupante.

La majorité des souches isolées présentent une sensibilité élevée (100%) vis-à-vis des antibiotiques comme l'ampicilline, la néomycine et la colistine.

Ces résultats montrent une bonne activité de ces antibiotiques chez la volaille, ceci est dû probablement à la non utilisation de ces produits durant l'élevage. Par contre l'antibiotique comme la ceftiofur présente une résistance élevée (100%). Ce résultat montre la mauvaise activité de cet antibiotique chez la volaille, ceci est dû aux larges quantités de ceftiofur utilisées durant la période d'élevage ce qui a favorisé la pression de sélection.

Des études en cours sur cette bactérie isolée chez la volaille montrent une multi résistance de fréquence faible par rapport à *E. coli*. [28]

La raison pour laquelle il n'y a pas eu beaucoup de résistances c'est qu'en cas d'infections dues à *S. Enteritidis*, on ne préconise pas de traitement en médecine vétérinaire.

Le danger de ces résistances est le risque qu'elles peuvent faire encourir chez l'homme, on s'est inspiré d'une étude menée par Ouar – M.N ; Mohammedi –D ; Belouni-R ; Kerrad-N ; Khaled-S concernant deux catégories de gastroentérites dues à *S. Enteritidis* déclarées à l'hôpital El HADI FLICI à Alger (maladies infectieuses) en janvier et juillet 1998.

Dans notre travail expérimental, nous avons constaté et confirmé la sensibilité des cinq souches étudiées à plusieurs antibiotiques dont l'origine est rapportée par d'autres auteurs. La ceftiofur et son usage abusif comme additif alimentaire ou traitement non adéquat pour la volaille a malheureusement beaucoup contribué à l'apparition et au développement de cette résistance.

## Conclusion

Dans notre étude, nous avons testés le comportement de cinq souches de *S. Enteritidis* à partir de la volaille vis-à-vis de six antibiotiques (Ampicilline, Néomycine, Enrofloxacin, Colistine, Tétracycline et Ceftiofur). Il ressort de cette étude que seule la Ceftiofur manifeste une situation préoccupante voire alarmante.

En effet, la volaille forme un grand réservoir de germes résistants ce qui pourrait constituer un grand danger pour la santé humaine. Ces germes résistants peuvent être transférés à l'homme par la chaîne alimentaire.

Le vétérinaire a un rôle primordial à jouer pour faire respecter par l'éleveur la posologie, le rythme d'administration et la durée du traitement.

La déficience de l'hygiène en élevage pourrait constituer un facteur pouvant augmenter les résistances bactériennes aux antibiotiques d'où l'importance d'inciter les éleveurs à améliorer les conditions d'hygiène à leurs animaux.

Pour éviter le développement des résistances, on préconise une utilisation assez réfléchie des antibactériens en particulier ceux utilisés pour la stimulation de la croissance qui peuvent être remplacés par une gestion plus rigoureuse en hygiène des élevages.

On suggère la création des réseaux nationaux de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques tout en tenant compte des antibiotiques des antibiotiques prescrits à titre curatif, préventifs et utilisés comme facteur de croissance.

La standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale existe depuis l'année 2001 (fascicule de standardisation 1<sup>ère</sup> édition).

En effet, cette standardisation de l'antibiogramme permet le dépistage exact des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques à travers tous les laboratoires du pays, par voie de conséquence connaître le pourcentage des bactéries résistantes à un antibiotique donné. Ainsi nous pouvons orienter ces résultats vers la production et éventuellement l'importation des antibiotiques. Le praticien pourra aussi utiliser une meilleure prescription médicale.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [21] ADJROUD H, les salmonelloses : Mise en évidence dans le composant L'aliment de bétail (1997). page : 1, 3, 5, 9, 10, 11
- [28] AMARA A., ZIANI Z., BOUZOUBAA K. 1995  
« Antibioresistance of *Escherichia colis* trains isolated in Morocco from Chichens with colibacillosis »  
Veterinary microbiology 43, page: 325-330
- [11] Berche P., Gaillard J.L., Simonet M. « Les salmonelloses »  
Dans : Les bactéries des infections humaines  
Flammarion Médecine Sciences, 1989, page : 77-92
- [19] Bouvet P.  
« Salmonelles et salmonellose en France » : Sécurité alimentaire du consommateur. M. Moll et N.Moll  
Technique et documentation Lavoisier, 1995, page : 2-19
- [23] DIAH S, FERRAD L, 1999, « Les salmonelles aviaires en Algérie », page : 43
- [8] Euzéby J.B :  
« Les salmonelles et les salmonelloses aviaires dues aux sérovars ubiquistes. »  
Revue de Médecine vétérinaire, 1997, 148, 1, page : 61-67
- [6] Encyclopédie : CD Universalis 8
- [24] FAROULT B, ALNO JP, 1999 : Journée nationale GTV/INRA, page : 163
- [2] F.C. Neidhardt, J.L. Ingraham, M. Schaechter (1987) : Physiologie de la cellule bactérienne. Une approche moléculaire, page : 30-36
- [5] F.Humbert : Manuel de bactériologie alimentaire (1998), page : 29, 31, 32, 37, 38, 39,40
- [26] GOLDSTEIN F, JONES R, 1994 : 1<sup>er</sup> Symposium Etest<sup>®</sup> : La lettre de Symptomatologie
- [16] Gordon R.F : « Pathologie des volailles »  
Maloine S.A éditeurs, 1977, page : 19-36
- [10] Humbert F. (1992), Le point vétérinaire, 24, 25, page : 207-214
- [22] HUMBERT F, 1998 « POUR toutes les productions' faire un barrage aux Salmonelles, réussir l'aviculture » page : 20, 23
- [13] J.Duval, C.J Soussy : Antibiothérapie (4<sup>ème</sup> édition, 1998), page : 11,12, 13, 26



- [15] Jean-Louis FAUCHERE, Jean-Loup AVRIL : Bactériologie générale et médicale (1990), page : 245
- [1] Léon Le Minor et Michel Véron (1989) : Bactériologie Médicale, page :3
- [3] Paul Singleton : Bactériologie (4<sup>ème</sup> édition, 1984), page : 6, 7, 22, 23,30
- [4] Quinet C.J., L. Marshall (1999) : Bactériologie médicale et vétérinaire, page : 90
- [7] Léon Le Minor : Le diagnostic de labo des bacilles à Gram négatif, Entérobactéries, tome1, 4<sup>ème</sup> édition (1972) : page : 21, 22, 23
- [20] LECOANET J (1992) : Manuel de pathologie aviaire, page : 227, 237
- [14] Les résistances bactériennes : sous la coordination de E.BERGOGNE-Brézin(1999) page :9, 10
- [12] Manuel de pathologie aviaire : Jeanne BRUGERE-PICOUX et Amer SILIM (1992), page : 225, 226
- [25] Ministère de l'agriculture et de la pêche, 1999, Direction générale de l'alimentation – antibiorésistance chez les animaux. Salon international de l'agriculture
- [9] Pilet C., Bourdon J.L., Toma B., Marchal N., Balbastre C. :  
« Les bacilles Gram négatif anaérobies facultatifs : Famille des Enterobacteriaceae »  
Bactériologie médicale et vétérinaire, systématique bactérienne. Collection biologie appliquée, 2<sup>ème</sup> édition, 1983, page :108
- [27] PUYT JD, 1999 : Journée internationale GTV/INRA, page : 479
- [29] Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandation de l'OMS (3<sup>ème</sup> édition 2005).
- [17] Villate Didier : « Les maladies bactériennes : les salmoneloses »  
Maladies des volailles  
Edition France Agricole, 1997, page : 242, 243

ANNEXE I

## Conduite à tenir en cas de salmonellose aviaire selon la législation Algérienne

Avant projet d'arrêté concernant les salmonelloses aviaires

Le Ministre de la santé et de la population ;

Le Ministre du commerce ;

Le Ministre de l'Agriculture et de la Pêche ;

-Vu la loi n° 88 08 du 26 janvier 1988 relative aux activités de la Médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale.

-Vu la loi n° 89 02 du Aouel Radjeb 1409 correspondant au 7 février 1989 relative aux règles générales de protection du consommateur.

-Vu la loi n° 85 05 du 16 février 1985 modifiée et complétée relative à la protection et la promotion de la santé ;

-Vu le décret présidentiel n° 98 – 428 du 01 Ramadhan 1419 correspondant au 19 décembre 1998

portant nomination des membres du gouvernement ;

Vu l'arrêté interministériel du 1<sup>er</sup> 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 ;

Sur rapport du ministre de l'agriculture et de la pêche,

Arrêtent :

Article 1 : Le présent arrêté a pour objet de définir les mesures à prendre en cas de Salmonelloses aviaires à *S.enteritidis*, *S.typhimurium*, *S.arizonae* ou *S.dublin* :

Article 2 : Sont reconnus atteint de Salmonellose aviaire à *S.enteritidis*, *S.typhimurium*, *S.arizonae* ou *S.dublin* :

a. Les sujets sur lesquels le germe a été isolé.

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

- La litière ;
- L'eau de boisson contenue dans les abreuvoirs ;
- Les fientes ;
- Le duvet des poussins à l'éclosion.

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

Article 3 : Lors de la constatation dans un élevage avicole de l'une des maladies citées dans l'article 2, l'inspecteur vétérinaire de wilaya ou son représentant dûment mandaté doit en informer le directeur chargé du commerce territorialement compétent.

Il doit en outre prendre les mesures suivantes :

- La séquestration de l'élevage.

- L'interdiction de sortie des animaux sauf vers un abattoir en vue de leur abattage sanitaire. Les produits issus de l'abattage ne peuvent être livrés à la consommation humaine que s'ils répondent aux dispositions de l'arrêté ministériel du 14 Safar 1415 susvisé.
- La destruction de tous les œufs issus de cet élevage.

Le repeuplement du bâtiment d'élevage ne pourra être autorisé que si une désinfection rigoureuse des murs, du sol et de tout le matériel a été effectuée et qu'un contrôle bactériologique de cette désinfection sur des prélèvements de surface s'est révélé négatif.

Article 4 : Lorsqu'un couvoir est reconnu contaminé par *S.enteritidis*, *S.typhimurium*, *S.arizonae* ou *S.dublin*, l'inspecteur vétérinaire de wilaya ou son représentant dûment mandaté doit procéder à :

- Séquestration du couvoir ;
- Arrêt de toutes les incubations ;
- Destruction de tous les œufs et tous les poussins éclos.

Une nouvelle mise en incubation ne pourra être autorisée que si une désinfection rigoureuse des murs, du sol et de tout le matériel a eu lieu et qu'un contrôle bactériologique de cette désinfection sur des prélèvements de surface, sur les murs et sur le matériel d'élevage s'est révélé négatif.

Article 5 : Le traitement anti-infectieux des élevages atteints ou soupçonnés d'être atteints par l'une des maladies sus-citées est interdit. Les contrevenants s'exposent aux dispositions réglementaires en vigueur.

Article 6 : Le présent arrêté sera publié au journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire.

## ANNEXE II

**Avant projet d'arrêté interministériel définissant les mesures à prendre en cas de Salmonellose aviaire à *Salmonella gallinarum pullorum***

Le Ministre de l'agriculture et de la pêche ;  
Le Ministre du commerce ;

- Vu la loi n°88 08 du 26 janvier 1988 relative aux activités de la médecine vétérinaire et à la protection de la santé animale.
- Vu le décret exécutif n° 95-66 du 22 Ramadhan 1416 correspondant au 21 février 1995 fixant la liste des maladies animales à déclaration obligatoire et les mesures générales qui leur sont applicables ;
- Vu le décret présidentiel n°98 – 428 du 01 Ramadhan 1419 correspondant au 19 décembre 1998 portant nomination des membres du gouvernement.
- Vu l'arrêté ministériel du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires modifié et complété ;

Sur rapport du ministre de l'agriculture et de la pêche ;

Arrêtent :

Article 1 : En application des dispositions de l'article 3 du décret exécutif n°95-66 du 22 Ramadhan 1415 correspondant au 22 février 1995 sus-visé

Le présent arrêté a pour objet de fixer les mesures de prévention et de lutte spécifique à la salmonellose à *Salmonella gallinarum pullorum*

Article 2 : Sont reconnus atteints de Salmonellose à *Salmonella gallinarum pullorum* :

- a. Les sujets sur lesquels a été isolé le germe quelque soit l'âge ou 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 contenue dans les abreuvoirs ;
  - Les fientes : prélèvement effectué au fond de cage.
  - Le duvet des poussins à l'éclosion.

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

Article 3 : Toute personne physique ou morale ayant à quelque titre que ce soit, la charge ou la garde d'animaux de l'espèce aviaire, atteints ou suspect d'être atteints de Salmonellose à *Salmonella gallinarum pullorum* est tenu d'informer le vétérinaire le plus proche du lieu où se trouve l'animal ou le président de l'instance communale territorialement compétente.

Article 4 : Le vétérinaire informé de l'existence d'un cas de suspicion de salmonellose à *Salmonella gallinarum pullorum* est tenu de se rendre sur les lieux afin d'examiner les animaux et de faire procéder, le cas échéant, aux tests de laboratoire nécessaires.

Article 5 : Dès la confirmation de la maladie, le vétérinaire est tenu d'en faire la déclaration à l'autorité vétérinaire.

Article 6 : Sur proposition de l'inspecteur vétérinaire de wilaya, le wali déclare l'infection et édicte les mesures sanitaires obligatoires.

Article 7 : A l'égard des animaux de l'exploitation, les mesures suivantes sont prises :

- Séquestration de l'élevage.
- Les animaux seront interdits de sortie sauf vers un abattoir en vue de leur abattage sanitaire.
- La viande issue de cet abattage pourra être livrée à la consommation humaine sous réserve qu'elle réponde aux dispositions de l'arrêté interministériel du 14 Safar 1415 sus-visé.
- Les œufs issus de reproducteurs sont interdits d'incubation.
- Les œufs issus d'élevage de poules pondeuses pourront être livrés à la consommation humaine sous réserve qu'ils répondent aux dispositions de l'arrêté sus-cité.

Article 8 : Le repeuplement du bâtiment d'élevage ne pourra avoir lieu que si une désinfection rigoureuse des murs, du sol et de tout le matériel a été effectuée et qu'un contrôle bactériologique de cette désinfection sur des prélèvements de surface sur les murs et le matériel s'est révélé négatif.

Article 9 : Les reproducteurs, les poulettes démarrées, les poules pondeuses ou les poulets de chair reconnus atteints de salmonellose à *Salmonella gallinarum*, peuvent faire l'objet de traitement anti-infectieux avant leur destination à l'abattage sous réserve que les délais d'attente nécessaires soient respectés afin d'éviter tout résidu médicamenteux.

Article 10 : Lorsqu'un couvoir est reconnu contaminé par *Salmonella gallinarum pullorum*, les mesures suivantes doivent être prises :

- Séquestration du couvoir.
- Arrêt de toutes les incubations.
- Destruction de tous les œufs et tous les poussins éclos.

Une nouvelle mise en incubation ne pourra avoir lieu que si une désinfection rigoureuse des murs, du sol et de tout le matériel a eu lieu et qu'un contrôle bactériologique de cette désinfection sur des prélèvements de surface sur les murs et sur le matériel s'est révélé négatif.

Article 11 : Le présent arrêté interministériel sera publié au journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

ANNEXE III



Référence : .....  
Date du prélèvement : .....

## DEMANDE D'ANALYSE

Cadre réservé au laboratoire  
Date de réception : .....

### AVIAIRE - CUNICOLE - APICOLE

N° Dossier : .....

- Contrôle
- Diagnostic
- Autre : .....

**Vétérinaire :** Nom : ..... Prénom : ..... AVN- N° : .....  
Adresse : ..... Télé/Fax : .....  
**Propriétaire/ éleveur :** Nom : ..... Prénom : ..... Code : .....  
Adresse : ..... lieu dit : .....  
Commune : ..... Wilaya : ..... Télé/Fax : .....  
DSI : .....

**Prélèvement :** Nature : ..... Nombre : ..... N° bâtiment (s) : .....  
N° clapier (s) : ..... N° ruche (s) : .....  
Age : ..... Origine :  Locale  Importée (précisez le pays et le n° d'identification) : .....

#### Espèce aviaire :

Effectif : .....

Type d'élevage :  PC  PP  REPRO  DINDE  AUTRE (précisez) : .....  
Type d'alimentation :  Concentré  Autre (précisez) : .....  
Abreuvement :  Robinet  Puits  Source  Bâche  Sonde  Autre : .....  
Taux de ponte : ..... Taux d'éclosion : ..... Aspect/qualité des œufs :  Normal  Anormal  
Homogénéité :  Oui  Non Programme de Vaccination :  Appliqué  Non Appliqué  
Traitement effectué : ..... Date d'arrêt : .....

#### Espèce cunicole :

Type d'élevage :  Au sol  Clapier  En batterie  
Type d'alimentation :  Concentré  Autre : .....  
Vaccination effectué : .....  
Traitement effectué : .....  
- Condition d'élevage :  Bonnes  Mauvaises  
- Appart d'eau de boissons  Oui  Non  
- Date : .....  
- Date d'arrêt : .....

#### Espèce apicole :

Nombre de ruches modernes : ..... - Nombre de ruches traditionnelles : .....  
Type de production :  Miel  Essaims  Autre : ..... - Nourrissement :  Oui  Non  
Disposition /orientation du rucher :  Conforme  Non conforme  
Odeur du couvain :  Normal  Anormal - Aspect du couvain :  Normal  Anormal  
Traitement effectué : ..... - Date d'arrêt : .....

#### Description de la maladie :

Date d'apparition : ..... - Taux de morbidité : ..... - Taux de mortalité : .....  
Symptôme observés :  Digestifs  Respiratoires  Locomoteurs  Cutanés  
 Nerveux  Autres : .....  
Lésion observées : .....

#### La maladie suspectée :

Analyse demandée :  Bactériologie  Virologie  Parasitologie  Mycologie  Histologie  
 Autres : .....

Date et Signature : .....

**FICHE DE SUIVI DU DOSSIER N° .....**

Date de réception : ..... Date de prélèvement : ..... Référence S<sup>cc</sup> : .....

Fait par : ..... Service destinataire :  B.Med  Viro  Parasito  B. Alt  Rage  Path. G<sup>lc</sup>

Vétérinaire : ..... - Avn : .....  
 Adresse : .....  
 Propriétaire : .....  
 Adresse : .....  
 Wilaya : .....

**Motif de la demande**

Diagnostique  
 Contrôle  
 Autre :

Prélèvement :  sujets vivants  Œufs  Sérums  Autres : .....

Quantité et nombre de prélèvement : .....

Identification : .....

Sexe : ..... Origine  Locale : .....  Importé /pays d'origine : .....

Caractéristiques :  
 Effectif : .....  
 Type d'élevage :  PP  PR  PC  PD  Dindes  
 Autres : .....  
 Type d'alimentation :  Démarrage  Croissance  Finition  
 Abreuvement :  Puits  Forage  Source Autres : .....  
 Taux de ponte : ..... - Taux d'éclosion : .....  
 Aspect et qualité des œufs :  Normal  Déformé  Autre  
 Aspect de la bande :  Bon  Moyen  Mauvaise  
 Homogénéité :  Homogène  Hétérogène

Condition d'élevage:  Bonnes  Moyennes  Mauvaise  
 Espèce et race (Ruminants) : .....  
 Introduction d'animaux (RTS) : .....  
 Sortie d'animaux (RTS): .....  
**PROGRAMME SANITAIRE :**  
 Désinfection :  Oui  Non  
 Vaccinations effectuées :

Maladies	Souche	Date	Mode d'administration

Description de la maladie :

Date d'apparition : ..... / ..... / ..... ( Jour / Mois / Année )

Taux de morbidité : ..... - Taux de mortalité : .....

Symptômes observés :  Digestifs  Génitaux  Locomoteurs  Nerveux  Respiratoires  
 Autres : .....

Signes observés :  Digestives  Génitales  Locomoteurs  Nerveuses  Respiratoires  
 Autres : .....

Antécédents :  Non  Oui - Anti-infectieux utilisés : .....

Date de début du TRT : ..... - Date D'arrêt : .....

Pathologie suspectée : .....

Analyses demandées : .....

État des prélèvements à la réception :  vivants : .....  Morts : .....  
 Conformes  Non conformes

**SERVICE DE PATHOLOGIE GENERALE :**

Personne en charge du prélèvement par : ..... Date : ..... Heure : .....

Lésions Observées à L'autopsie : .....

Maladie (s) suspecté (es) : .....

Réalisé par / le : ..... Validé par / le.....

Signature Signature

## EXEMPLE DE FICHE DE COMMÉMORATIFS

Date  
Propriétaire  
Adresse

Un vétérinaire  
Adresse

Nature de l'envoi : Espèce Origine Nombre de sujets expédiés Sexe Âge	Evolution des troubles observés	
	Date d'apparition Évolution des troubles	
<b>Elevage :</b> Destination Effectif total Nombre de lots Densité Ventilation Température Alimentation	Nombre de morts	État % par lot
	Nombre de malades	

Symptômes observés

Résultats des autopsies effectuées

Traitements effectués	Nature	Date
Avant l'apparition de la maladie		
Après l'apparition de la maladie		
Additifs alimentaires (préciser la nature des coccidiostatiques)		

Vaccinations effectuées	Souche vaccinales utilisées	Dates de vaccination	Mode d'administration
<input type="checkbox"/> Maladie de Newcastle			
<input type="checkbox"/> Bronchite infectieuse			
<input type="checkbox"/> Maladie de Marek			
<input type="checkbox"/> Encéphalomyélite aviaire			
<input type="checkbox"/> Maladie de Gumboro			
<input type="checkbox"/> Laryngotrachéite infectieuse			
<input type="checkbox"/> Maladie des œufs mous			
<input type="checkbox"/>			
<input type="checkbox"/>			

Diagnostic envisagé

Recherches demandées :  Virologie  Bactériologie  Mycologie  Parasitologie  Histologie  
 Maladie nutritionnelle  Intoxication  Hématologie