

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Blida 1
Institut des Sciences Vétérinaires



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Identification des *Salmonella* dans la filière aviaire de la région du centre

Présenté par
BENAMARA Lynda Fatma
KEBBAB Nassima

Devant le jury :

Président(e) : BERBERE A. –Professeur- Université Blida 1

Examineur : MERDJA S. –Maître de Conférences B- Université Blida 1

Promoteur : KHALED H. –Maître de Conférences B- Université Blida 1

Co-promoteur : ABOUN A. –Docteur Vétérinaire chargé de Recherche- Institut Pasteur d'Algérie

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

En premiers lieu nous exprimons nos vifs remerciements à nous encadreurs :

Notre promoteur Dr Khaled, H et notre copromotrice Dr Aboun, A ; Qui ont bien voulu nous encadrer, pour l'effort fourni, les conseils prodigués, leur patience et leur persévérance dans le suivi.

A Monsieur le Professeur Berbere, A qui nous a fait l'honneur et le privilège d'accepter la charge de présider le jury de notre projet de fin d'étude. Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.

A Monsieur Merdja, S qui nous a fait l'honneur de juger notre travail et participer au jury. Qu'il soit remercié pour le temps consacré à lire et à analyser ce travail.

Notre gratitude s'adresse également à l'ensemble du personnel du laboratoire de bactériologie vétérinaire de l'institut Pasteur d'alger à sa tête Dr Aboun, A ainsi qu'à Mr Rezallah, M ; Mlle Bouda, K ; Mme Abi Haidar, N ; Mr Mebarki, A ; Mme Djennadi, T ; Mme Laib, A ; Mr Debabha, M pour leur accueil chaleureux ainsi que leur disponibilité.

Un merci particulier à Mlle Bouda Kahina, pour sa précieuse aide au laboratoire. Merci d'avoir supporté le rythme infernal. Votre aide et présence était indispensable.

A Mr Lafri professeur à ISVB pour son aide dans les premiers pas de la réalisation de ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr Jean Désigaux et Mme Menchaoui, N Responsables du centre culturel français pour leurs aides continues et leurs encouragements durant ce travail.

A Mme Kessar, S directrice de la cité universitaire Revoil ; Mr Remache, K directeur des œuvres universitaires Alger Est ; Mr Sekal R sous directeur d'œuvres universitaire Alger Est ; Mr Belhadj directeur de la cité RUB 5 ; Mr Felfoul, B directeur de la cité universitaire Zoubida Hamadouche, nous vous remercions pour votre contribution.

A Mme Benali, N et son neveu Mr Lamara, A d'avoir fait des mains et des pieds pour notre bien être.

Comment pourrions-nous finir sans remercier Mr Menouari, M.N de nous avoir fait découvrir le monde de la microbiologie, initiée au gout du laboratoire et ses difficultés.

Pour finir nous tenons à remercier toute personne ayant participé de prêt ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

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

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

Je dédie ce modeste travail à

Mon défunt grand père si seulement il était présent pour partager ce bonheur avec nous, qu'il repose en paix.

A mon cher père, ma chère mère qui ont veillé à ce que je suis arrivé maintenant. Ce travail est le fruit des sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation que dieu vous garde et vous protège. Je vous aime.

Mes frères Mohand Cherif et Yanis. Que dieu vous protège et vous offre une vie pleine de joie, bonheur et de réussite.

A ma grande mère, longue vie a toi.

A ma tante Fatiha et sa petite famille, de m'avoir épaulé tout au long de ce parcours, je vous remercie infiniment que dieu vous accorde bonheur, joie et santé.

A mon oncle Mourad ainsi que sa petite famille qui ont toujours été présent pour moi. Merci a vous que dieu vous garde et vous protège.

A ma tante Ouerdia qui ne cesse de s'inquiéter pour moi je te dédie ce travail en te souhaitant tous le bien qui puissent exister dans ce monde.

Je remercie infiniment professeur Berbere, A qui pendant ces cinq années répondait présent pour chaque détail, merci pour la positive attitude et le réconfort que je trouvais chez vous dans mes moments de détresse. Monsieur les mots ne seront décrire la reconnaissance que j'ai envers vous.

J'adresse mes dédicaces les plus chaleureux a Mme Touaright, N d'avoir cru en moi, je la remercie du fond du cœur pour ses encouragements et ses efforts. Madame la confiance que vous m'avez donnée avait un rôle capital dans ma réussite.

A mes amis qui ont toujours été la pour moi ; Hassina, Souraya , Yasmine, Amazigh. Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance.

Au groupe trois, spécialement Bessma et Djallel Eddine après ce parcours ensemble nous arrivons à la fin j'espère que chacun trouvera son chemin, mes camarades je vous dis heureuse vie.

Et pour finir je dédie ce travail a toute personne voulant me voire réussir et a toute personne chère a mon cœur.

A la mémoire de mes grands parents maternelle et paternelle

Que Dieu tout puissant, assurer le repos de votre âme

A la mémoire de ma chère tante Nora, son enfants et mon petit cousin Amar

Le destin ne nous a pas laissé le temps pour jouir ce bonheur ensemble et d'exprimer tout mon respect. Puisse Dieu tout puissant vous accueillir dans son saint paradis

A ma chère Mama et mon cher Papa

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

A vous mes sœur Katia, Sadia, Lydia et Amel et à toi Sofiane

Je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler.

A ma grand famille maternelle et paternelle en particulier Malik et Algia. Mouleud et Fatima Madjid et sa femme . Ouiza et son mari et les petits enfants Lilia. Sami. Ghilas. Katia. Lina et Dihia

Et à tout les gents qu'est on contribue de prés ou de loin a la réalisation de se mémoire ou qu'est mon soutenu dans mon parcours

TABLE DES MATIERES

| | |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Résumé | |
| Introduction..... | 1 |
| PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE | |
| Chapitre 1 : AGENT CAUSAL | 3 |
| 1.1. Historique..... | 3 |
| 1.2. Taxonomie..... | 3 |
| 1.3. Habitat..... | 4 |
| 1.4. Caractères bactériologiques | 4 |
| 1.4.1. Caractères morphologiques..... | 4 |
| 1.4.2. Caractères cultureux | 5 |
| 1.4.3. Caractères biochimiques..... | 5 |
| 1.4.4. Caractères antigénique | 6 |
| 1.5. Pathogénie et symptômes associés aux <i>salmonella</i> | 7 |
| 1.6. Antibiorésistance..... | 7 |
| Chapitre 2 : SALMONNELLOSE..... | 9 |
| 2.1. Généralité..... | 9 |
| 2.2. Clinique | 9 |
| 2.2.1. Chez la volaille..... | 9 |
| 2.2.1.1. Chez les poussins | 9 |
| 2.2.1.2. Chez les adultes..... | 10 |
| 2.2.2. Chez l'homme..... | 10 |
| 2.2.2.1. Forme septicémique | 10 |
| 2.2.2.2. Forme digestive..... | 10 |
| 2.2.2.3. Forme extra-digestive..... | 11 |
| 2.2.3 Lésions..... | 11 |
| 2.2.3.1. Chez les poussins..... | 11 |
| 2.2.3.2. Chez les adultes | 11 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3. Source de contamination et mode de transmission..... | 11 |
| 2.3.1. Source de contamination..... | 11 |
| 2.3.1.1. Au niveau des couvoirs..... | 12 |
| 2.3.1.2. Au niveau des élevages..... | 13 |
| 2.3.1.3. Au niveau des abattoirs | 13 |
| 2.3.2. Mode de transmission..... | 14 |
| 2.3.2.1. Transmission verticale..... | 14 |
| 2.3.2.2. Transmission horizontale..... | 14 |
| 2.4. Pathogenèse de l'infection..... | 15 |
| 2.4.1. Contamination de la volaille..... | 15 |
| 2.4.2. Contamination de l'œuf | 16 |
| 2.4.2.1. La contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille..... | 16 |
| 2.4.2.2. Contamination de l'œuf pendant sa formation..... | 17 |
| 2.5. Traitement..... | 18 |
| 2.6. Prophylaxie..... | 18 |

PARTIE EXPERIMENTALE

| | |
|--------------------------------------------|----|
| Chapitre 1 : Matériels et méthodes..... | 19 |
| Avant propos | 19 |
| Organigramme..... | 21 |
| 1.1. Echantillonnage..... | 22 |
| 1.2. Prélèvement..... | 22 |
| 1.3. Solutions et milieux de cultures..... | 23 |
| 1.4. Méthodes de diagnostic..... | 23 |
| 1.4.1. Enrichissement..... | 23 |
| 1.4.2. Isolement..... | 23 |
| 1.4.3. Identification | 23 |
| 1.4.3.1. Identification microscopique..... | 23 |
| 1.4.3.2. Identification biochimique..... | 24 |
| 1.4.3.3. Identification antigéniques..... | 24 |
| 1.4.4. Antibiogramme..... | 24 |

| | |
|-----------------------------------------------------|----|
| Chapitre 2 : Résultats et Discussion..... | 25 |
| 2.1. Prévalence de Salmonella | 25 |
| 2.2. Evaluation de la contamination..... | 27 |
| 2.2.1. Evaluation de la contamination des OAC..... | 27 |
| 2.2.2. Evaluation de la contamination des PssC..... | 28 |
| 2.2.3. Evaluation de la contamination des RC..... | 28 |
| 2.2.4. Evaluation de la contamination des PC..... | 29 |
| 2.3. Prévalence des Salmonella selon les sites..... | 30 |
| 2.3.1. Dans les couvoirs..... | 30 |
| 2.3.2. Dans les élevages..... | 30 |
| 2.3.2.1. Les élevages des reproducteurs..... | 30 |
| 2.3.2.2. Les élevages des poulets de chair..... | 31 |
| 2.4. Antibiogramme..... | 32 |
| Conclusion générale..... | 34 |
| Référence..... | 35 |
| Annexe..... | 42 |

Liste des abreviations

BAI : Bureau of Animal Industry.

S : *Salmonella*.

ADN : Acide Désoxyribonucléase.

H₂S : Sulfure d'Hydrogène.

LPS : Lipopolysaccharide.

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé.

DAOA : Denrées Animales et/ou d'Origine Animale.

SFB : Bouillon Sélénite-Cystine.

TSI : Triple Sugar Iron.

AGP : Absence de Germes Pathogènes.

OAC : Œuf A Couver.

PssC : Poussin Chair.

PC : Poulet de Chair.

RC : Reproducteur Chair.

ATB : Antibiotique.

Liste des figures

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1: Voies d'entrée de Salmonella en élevages..... | 12 |
| Figure 2 : Pathogenèse d'une infection à Salmonella..... | 16 |
| Figure 3 : Prévalence de <i>Salmonella</i> | 26 |
| Figure 4 : Prévalence de <i>Salmonella</i> dans les lots étudiés..... | 26 |
| Figure 5 : Taux de contamination des OAC..... | 27 |
| Figure 6 : Taux de contamination des PssC..... | 28 |
| Figure 7 : Taux de contamination des RC..... | 29 |
| Figure 8 : Taux de contamination des PC..... | 29 |
| Figure 9 : (a ; b) Résultat d'un antibiogramme réalisé pour une souche <i>S.Virchow</i> . | 32 |
| Figure 10 : Résultats des antibiogrammes. | 33 |

Liste des tableaux

Tableau 1: Caractères biochimiques de *Salmonella*.....6

Tableau 2 : Prévalence de *Salmonella*.....25

Résumé :

Les animaux représentent un énorme réservoir de Salmonelles et les salmonelloses aviaires n'en représentent qu'une partie. L'importance de cette maladie ne cesse de progresser depuis des années. Après avoir été confronté à un accroissement en fréquence et en sévérité des salmonelloses cliniques chez la volaille, les vétérinaires doivent faire face à des foyers de salmonelloses aiguës touchant le poulet sur plusieurs formes salmonelliques graves, contagieuses et mortelles en l'absence de traitement antibiotique raisonné. En plus, l'émergence des toxi-infections alimentaires associées à la transmission verticale des *Salmonella* dans les élevages et les œufs entraîne un regain d'intérêt pour ces bactéries vu le danger qu'elles représentent pour la santé publique.

Cette étude a été conduite entre mars 2017 et mars 2018 pour déterminer le statut salmonellique des élevages et des couvoirs dans la région du centre. Au total, 473 prélèvements ont été recueillis, dont vingt huit se sont révélés positifs avec 3 différents sérovars identifiés, *S. virchow*, *enteritidis*, *kedougou* et 10 souches non identifiées. Les questionnaires distribués nous ont permis de déterminer la mise en évidence de cette bactérie avec des taux intéressants. Par la suite, des antibiogrammes ont été réalisés afin de déterminer le profil de sensibilité des souches isolées, 100% des souches étaient sensibles à au moins deux antibiotiques les plus utilisés.

Mots clés : *Salmonella*, volaille, œuf, santé public, antibiogramme.

ملخص:

كثير من الحيوانات حاملة لمرض السالمونيلا و هذا المرض عند الدواجن يمثل جزء من باقي الحيوانات. هذا المرض ينمو بشكل سريع منذ سنوات، بعدها كان عرض اليتنامي عند الدواجن

البيطرة يجب عليهم أن واجه مع زيادة في تواتر وشدة السالمونيلا السريرية في الدواجن والوجه البيطرة يجب عليهم التعامل مع تفشي السالمونيلا الحادة الذي تؤثر على الدجاج بشكل عام في غياب العلاج للمضادات الحيوية بالإضافة إلى ذلك ، فإن ظهور التسمم الغذائي المرتبط بالانتقال العمودي للسالمونيلا في المزارع والبيض يتسبب في تجدد الاهتمام بهذه البكتيريا بالنظر إلى الخطر الذي تشكله على الصحة العامة.

أجريت هذه الدراسة بين مارس 2017 ومارس 2018 لتحديد وضع السالمونيلا للمزارع والمفرخات في المنطقة الوسطى. تم جمع ما مجموعه 473 عينة ، منها ثمانية وعشرون إيجابية مع 3 serovars مختلفة محددة ، S. virchow ، S. kedougou S، enteritidis و 10 سلالات مجهولة الهوية. الاستبيانات التي تم توزيعها سمحت لنا بتحديد الكشف عن هذه البكتيريا مع معدلات مثيرة للاهتمام. في وقت لاحق ، تم إجراء المضادات الحيوية لتحديد نمط الحساسية من السلالات المعزولة ، وكانت 100 ٪ من السلالات حساسة لمضادات حيوية على الأقل اثنين الأكثر استخداما.

الكلمات المفتاحية: السالمونيلا ، الدواجن ، البيض ، الصحة العامة ، المضادات الحيوية.

Abstract

Animals represent a huge reservoir of Salmonella, and avian salmonellosis is only a part of it. The importance of this disease has been growing steadily for years. After experiencing an increase in the frequency and severity of clinical salmonellosis in poultry, veterinarians have to deal with outbreaks of acute salmonellosis affecting chicken in several serious, contagious and fatal salmonella forms in the absence of reasoned antibiotic treatment. . The emergence of food poisoning associated with the vertical transmission of Salmonella in farms and eggs is causing renewed interest for these bacteria given the danger they pose to public health.

This study was conducted between March 2017 and March 2018 to determine the salmonella status of farms and hatcheries in the central region. A total of 473 samples were collected, twenty-eight were positive and 3 different identified serovars, *S. virchow*, enteritidis, kedougou and 10 unidentified strains. The question about animal were distributed they were allowed for as to determine the detection of this bacterium with interesting rates. Subsequently, antibiograms were performed to determine the susceptibility strains pattern isolated, 100% of strains were sensitive to at least two antibiotics most used.

Key words: Salmonella, poultry, egg, public health, antibiogram.

Partie

Bibliographique

INTRODUCTION

Depuis plusieurs décennies et à travers le monde entier, les toxi-infections d'origine alimentaire constituent la cause la plus fréquente de maladies intestinales chez l'homme. Parmi les bactéries impliquées, *Salmonella* et *Campylobacter* sont à l'origine de plus de 90% des cas signalés de toxi-infections alimentaires d'étiologie bactérienne à l'échelle mondiale (Thorns, 2000).

Parmi les sources de contamination identifiées, la principale cause est l'ingestion d'aliments contaminés, en particulier l'eau, le lait cru ou la viande insuffisamment cuite (Kimura et al, 2004) et les contaminations qui en résultent. La viande de volaille apparaît comme un agent important de la transmission car elle est incriminée dans la plupart des cas humains de salmonelloses (Davies et al, 2001).

Il est essentiel de prendre en considération le problème de la contamination des élevages (Bailey et al, 2001), tant pour son impact sur la santé publique que pour ses répercussions économiques non négligeables engendrées, tout en sachant que la contamination de la viande est possible à tous les niveaux de la chaîne de production (Mead, 1993).

A cela, l'augmentation de la fréquence des résistances aux antibiotiques sont un autre aspect du problème de santé publique des salmonelloses, car une partie des *Salmonella* multi-résistantes retrouvées chez l'homme est d'origine animale et a acquis les gènes de résistance en élevages avant de les transmettre aux humains à travers les denrées alimentaires (Ungmech, 2006)

L'infection est d'ailleurs très communément associée à la consommation de viande et de produits carnés, surtout ceux à base de volaille (Kimura, 2004)

En Algérie, la filière avicole «chair» a connu depuis 1980 un développement notable. Néanmoins, les pratiques d'élevage et d'abattage accusent un retard technologique très considérable (Kaci et Nouri, 2001). En effet, la problématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditions d'élevage en général, et plus particulièrement de l'hygiène des bâtiments (Kaci et Nouri, 2001)

Très peu de données expérimentalement vérifiables existent sur la prévalence des salmonelloses en Algérie ; néanmoins, certaines données nous laissent augurer d'un danger en expansion, notamment, le nombre croissant de gastro-entérites enregistrées dans les

Centres hospitaliers ou universitaires algériens et les bulletins sanitaires vétérinaires
(Anonyme 2002 et 2005)

A la lumière de ces données, apparait notre Projet de Fin d'Etude présenté en vue de l'obtention de Diplôme de Docteur Vétérinaire, il est initié par une approche bibliographique concernant différentes caractéristique de la bactérie ainsi que différentes aspects de la maladie. Par la suite, la partie expérimentale consiste à isoler la bactérie ; identifier les différents sérotypes et à réaliser des antibiogrammes. A la fin, des recommandations seront envisagées selon la situation en cause.

CHAPITRE 1 : AGENT PATHOGENE

1.1. Historique

Les *Salmonella* sont des *Entérobacteriaceae* du genre *Salmonella*, nommées ainsi en l'honneur du médecin vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon même si l'homme qui a découvert le genre était Theobald Smith, qui travailla sous la direction de Salmon au Bureau of Animal Industry (BAI) dès 1884 (Brown, 1935).

Eberth (et *al*, 1880) découvre l'agent responsable de la fièvre typhoïde dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky, le bactériologiste Daniel eut isolé une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella Choleroesuis*) qui était considérée comme étant la cause de la fièvre porcine (choléra du porc). En 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de *Salmonella* (Grimont et *al*, 2000).

Depuis les premières observations rapportées par Eberth jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et sur le plan médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme des fièvres typhoïdes et des toxi-infections alimentaires collectives à *Salmonella* (Bornert, 2000).

1.2. Taxonomie

Selon le Bergey's Manuel (2001): le Genre *salmonella* fait partie de la Famille des *Enterobacteriaceae*, de l'ordre des Enterobacteriales, Classe des Gammaproteobacteria et du Phylum des Proteobacteria (Scaria et *al*, 2008).

Comme indique la dernière nomenclature, qui reflète les avancées récentes en taxonomie (Popoff et *al*, 2001), le genre *Salmonella* comprend seulement 2 espèces : *S. enterica* et *S.bongori*, et 2500 sérovars (Le Minor et Popoff, 1987 ; Popoff, 1994). *Salmonella enterica* est divisée en 6 sous espèces, qui se distinguent par certains caractères biochimiques et certaines d'entre eux correspondent aux anciens sous-genres. Ces sous-espèces sont :

Nomenclature ancienne Nomenclature actuelle

- Sous-espèces I= Sous-espèces *enterica*
- Sous-espèces II= Sous-espèces *salamae*
- Sous-espèces IIIb= Sous-espèces *arizonae*

- Sous-espèces III= Sous-espèces *diarizonae*
- Sous-espèces IV= Sous-espèces *houtenae*
- Sous-espèces VI= Sous-espèces *indica*

La sous-espèce *enterica* est celle la plus fréquemment isolée (99,4%) (Brisabois et al, 2002). Actuellement les *Salmonella* sont définies comme un groupe d'hybridation ADN/ADN, dont les membres ont des hybridant à 70%. Cette technique d'hybridation montre qu'il n'y avait que deux espèces génomiques ; *S. enterica* qui représente 99% des *Salmonella*, et *S. bongori* espèce très rare, ne représente que 1% du genre (Grimont et al, 2000).

1.3. Habitat

Le réservoir des *Salmonella* est ubiquiste et de nombreux animaux à sang chaud (oiseaux, mammifères dont l'homme et les rongeurs), ainsi que des animaux à sang froid (reptiles, poissons et insectes) malades ou porteurs sains sont susceptibles d'héberger ces bactéries (Elgroud, 2009 ; Humbert, 1998), chez ces derniers le principal réservoir est constitué par leurs intestins (Bertrand 2003). La sous-espèce I contient généralement les souches isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud (Bertrand, 2003), les autres sous-espèces se retrouvent chez des animaux à sang froid comme les reptiles, les batraciens ou les tortues (Grimont, 1994 ; Castagnos, 2003).

Elles sont aussi retrouvées dans l'environnement (sol, boues) dans lequel elles disséminées par les excréta, elles peuvent y survivre pendant plusieurs mois si les conditions de températures, de pH et d'humidité sont favorables (Castagnos, 2003 ; Le Minor, 1990).

1. 4. Caractères bactériologiques

1.4.1. Caractères_morphologiques

Les *salmonella* sont des bacilles de 2 à 3 µm (Humbert, 2005), à Gram négatif, non sporule, aéro-anaérobies facultatifs (Le Minor 1989 ; Laryal), Habituellement mobile suivant un trajet sinueux (Pilet et al,1975) au moyen d'une ciliature péritriche à l'exception de sérovars d'origine aviaire , *S. Gallinarum* (Korsac, 2004) et *S. Avium*, de rares mutants paralysés dont les flagelles sont immobiles, ainsi que de mutants dépourvus de flagelles de sérovars normalement mobiles (Le Minor 1989).

1.4.2. Caractères cultureux

Les *salmonella* sont des aéro-anaérobies facultatives. Après 24 heures d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire, les colonies obtenues ont un diamètre de 3 à 4 mm. Elles sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides. Elles sont généralement lisses (S : smooth). Après plusieurs passages en série sur gélose, des colonies R (rough) peuvent apparaître. Leur bord est alors irrégulier. Ces salmonelles de type R présentent une mutation portant sur la synthèse du polysaccharide. Il est rare d'en isoler en pathologie.

A partir d'un milieu mono microbien (tel que le sang ou le liquide céphalorachidien), une gélose ordinaire suffira à leur croissance. Par contre, dans le cas de prélèvements poly microbiens (selles), l'utilisation de milieux sélectifs est indispensable comme nous le verrons ultérieurement. (Camart-péret, 2006)

1.4.3. Caractères biochimiques

Les caractères permettant l'identification biochimique des *Salmonella* sont l'absence d'uréase, de tryptophane désaminase, mais également l'absence de production d'indole et d'acétone. Les *Salmonella* réduisent les nitrates en nitrites, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, et fermentent le glucose avec ou sans production du gaz.

Cependant elles ne fermentent ni le lactose ni le saccharose. Elles produisent aussi H₂S à partir du thiosulfate et la réaction au test à l'oxydase est toujours négative (Korsak et al, 2004). En résumé, le profil biochimique de la majorité des souches de *Salmonella* isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud, appartenant à la sous-espèce I est présentée dans le tableau 1.

| Tests | Réaction | Tests | Réaction |
|-------------------------------|----------|--------------------------------|----------|
| Motilité (1) | + | Fermentation de | |
| Réduction des nitrates | + | Glucose avec gaz (2) | + |
| Oxydase | - | Mannitol | + |
| Catalase | + | Maltose | + |
| Uréase | - | Lactose (3) | - |
| Indole | - | Saccharose (3) | - |
| Production d'H ₂ S | + | Salicine | - |
| Utilisation du citrate | + | Adonitol | - |
| Rouge de méthyle | + | Dulcitol | + |
| Vogue – Proskauer | - | Lysine décarboxylase (3) | + |
| Gélatinase | -/+ | Arginine dihydrolase | + |
| ONPG (4) | -/+ | Ornithine décarboxylase | + |
| Tétrathionate réductase | + | Désaminase de la phénylalanine | - |

Tableau 1: Caractères biochimiques de *Salmonella* (Bourgeois, 1996).

(1) Sauf *S. Gallinarum* ; (2) Sauf les sérovars *Typhi* et *Gallinarum* ; (3) Certaines souches atypiques peuvent fermenter le lactose (exemple: *S.Seftenberg*) ou le saccharose ou ne pas décarboxyler la lysine. Les *S. arizonae* peuvent fermenter le lactose ; (4) ONPG : Orthonitrophenyl-β-D-galactopyranoside.

1.4.4. Caractères antigéniques

Les *Salmonella* peuvent posséder trois types d'antigènes d'intérêt diagnostique (Le Minor, Veron, 1989). Des antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O qui correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) et qui constituent les endotoxines des bactéries à Gram négatif, cet antigène résiste au phénol et à l'alcool, il est thermostable même à une température de 100°C (Wray 2003 a et Wray 2003 b).

En plus, les espèces mobiles possèdent des antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique, constitués de flagellines, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. Ils sont présents sous deux phases différentes, Soit sous les deux phases simultanément

“diphase” soit “monophasique”, ce cas le moins fréquent chez *Salmonella*, est retrouvé chez *S. Typhi* ou encore chez *S. Enteritidis* (Gimont et al, 2000).

Certaines souches possèdent en plus un antigène capsulaire (Vi) qui masque l’antigène O et le rendre inagglutinable, cet antigène correspond à une enveloppe polysidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux (Thiaw, 1998). L’enveloppe peut être détruite par chauffage à 100°C pendant 10 minutes .L’antigène de virulence (Vi) n’a été identifié que chez 3 sérovars : *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* et *S. Dublin* (Carip et al, 2008).

C’est sur la base des multiples combinaisons des antigènes somatiques O, des antigènes flagellaires H et, enfin, capsulaires (Vi) que découlent les sérovars des *Salmonella*. Ce type de classification porte le nom de schéma de KAUFFMAN et WHITE (Le Minor et Veron, 1989 ; Guillot et Loret, 2010).

1.5. Pathogénie et symptômes associés aux *Salmonella*

Les infections causées par les sérotypes de *Salmonella* peuvent produire la fièvre entérique, la gastroentérite, ou des conditions de bactériémie ou septicémie. La fièvre entérique est causée par *Salmonella Typhi* et *Paratyphi*. La période d’incubation de cette infection peut s’étaler de 8 à 28 jours et les symptômes les plus communs sont la fièvre, la diarrhée, douleurs abdominales et maux de tête. Les symptômes apparaissent à partir de 8 à 72 h après l’ingestion, et ils sont moins sévères que la fièvre entérique, la diarrhée et les douleurs abdominales disparaissent au bout de 5 jours (Weill, 2008 ; Rabie et al, 2012).

Salmonella peut aussi persister d’une manière asymptomatique chez les humains, ceux-ci deviennent des porteurs sains, qui peuvent excréter les *Salmonella* pendant des années (Bäumler et al, 1998).

1.6. Antibio-résistance des *Salmonella*

Chez les animaux, les agents antimicrobiens désignés pour le traitement des maladies sont parfois utilisés de façon anarchique, sans diagnostic précis, en doses insuffisantes ou en surdosage, qui peut engendrer une résistance antimicrobienne chez ces animaux.

L’antibiorésistance est l’un des problèmes majeurs de santé en médecine humaine et animale, elle est aussi reconnue par l’O.M.S., comme un problème émergent de santé publique, de fait que le phénomène est d’autant plus important qu’il concerne des germes

pathogènes pouvant être transmis à l'homme. Le monde bactérien s'est avéré capable de s'adapter aux antibiotiques et il est remarquable que les bactéries isolées d'infections humaines et animales progressivement et de plus en plus fréquemment résistaient aux antibiotiques successivement apparus. (Elgroud *et al*, 2008).

A tout instant, une pression de sélection est imposée aux populations bactériennes et les antibiotiques contribuent à cette pression, c'est l'exemple des tétracyclines qui sont les plus utilisées et continuent à être utilisés comme additifs alimentaires dans certaines parties du monde (Elgroud *et al*, 2008).

L'antibiorésistance des salmonelles réduit l'efficacité thérapeutique et prophylactique des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire et pose un problème à l'hygiéniste, car ces bactéries résistantes peuvent être transmises à l'homme (Elgroud *et al*, 2008).

Chapitre 2 : SALMONELLOSE

2.1. Généralités

Les salmonelloses sont des maladies infectieuses, contagieuses, transmissibles à l'homme et à divers espèces animales, dues à la présence d'un germe du genre *Salmonella* et de la famille des *Entérobacteriaceae* (Lecoanet, 1992).

Les salmonelloses peuvent être responsables chez l'homme d'une simple diarrhée accompagnée ou non de fièvre ou d'une infection généralisée parfois mortelle ou à la simple infection inapparente selon le sérotype en cause et en fonction de l'état physiologique de l'hôte.

En effet, les salmonelloses sont la première cause de toxi-infection alimentaire dans les pays industrialisés (Moury, 2005).

Les sérotypes *Entéritidis* et *Typhimurium* sont prédominants. Ces sérotypes n'ont pas de spécificités d'espèces, et leur épidémiologie est complexe (Barrow, 1998)

2.2. Clinique

2.2.1 Chez la volaille

2.2.1.1. Chez les poussins

A partir du sixième et surtout après le quinzième jour d'incubation, des mortalités en coquille ou des troubles de l'éclosion sont observés, si c'est une mortalité post-natale ; elle est d'évolution classiquement bi-phasique dans le cas de la pullorose avec 2 pics de mortalité au 4ème et 5ème jour de vie objectivant respectivement la contamination in-ovo puis post éclosion de lot les signes clinique de pullorose sont essentiellement observés :

- Chez les poussins de moins de 3 semaines :

Les poussins sont abattus et se recroquevillent. On note également une perte d'appétit, une détresse respiratoire et une diarrhée crayeuse, blanchâtre et collante.

- Chez les oiseaux de plus de 3 semaines : on note deux formes (forme subaigüe et une forme chronique).

Les sujets présentent une arthrite tibio-métatarsienne, torticolis un œdème sous cutané, les animaux ont un retard de croissance. (Lecoanet, 1992)

2.2.1.2. Chez les adultes

Elle correspond à la typhose de la poule, caractérisée par des signes généraux : Abattement, fièvre, cyanose intense des appendices « maladie de la crête bleue ». Et des symptômes locaux surtout digestifs : diarrhée jaune verdâtre striée de sang provoquant une soif inextinguible et une inappétence (Gordon, 1979)

- **Symptômes respiratoires** : les râles inspiratoires et jetage spumeux parfois aux commissures de bec.
- **Symptômes nerveux** : peuvent-être observés chez certains sujets. On note également un abattement, une asthénie, les plumes sont ébouriffées, les yeux sont fermés. (Lecoanet, 1992)

2.2.2. Chez l'homme

Les salmonelloses peuvent revêtir trois aspects :

2.2.2.1. Forme septicémique

Ce sont d'abord les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux sérotypes *S. thyphi* et *S. paratyphi* A, B ou C. Elles sont caractérisées par une bactériémie avec fièvre et symptômes 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.

2.2.2.2. Forme purement digestive

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. La grande fréquence des entérites due à des *Salmonella* au cours du SIDA est à souligner.

2.2.2.3 Formes extra-digestives

Elles sont plus rares : cholécystite, méningite, ostéomyélite, spondylodiscite, glomérulonéphrite, atteinte pulmonaire. Les déficits enzymatiques des globules rouges et la drépanocytose sont des circonstances favorisantes. (Fauchère et Avril, 2002)

2.2.3. Lésions

2.2.3.1. Chez les poussins

Pour les animaux morts immédiatement après l'éclosion du fait de l'œuf infecté on note :

- La persistance du sac vitellin
- Une péritonite
- Congestion de poumon dans certains cas
- Inflammation catarrhale de caecum
- Foyers de nécroses hépatique, le foie est noir hypertrophié avec présence d'hémorragie en sa surface. Il n'y a pas de signes de péricardite, ni d'hépatite.
- Lésions articulaires caractérisées par : un exsudat gélatineux orange gonfle les articulations, souvent accompagné de lésions nécrotiques du foie et du myocarde.
- Le cœur prend souvent l'aspect d'une masse irrégulière. (Gordon, 1779)

2.2.3.2. Chez les adultes

- Les adultes sont plus atteints par *S. gallinarum*. Leur carcasse a une apparence septicémique et très amaigrie (vaisseau sanguin proéminent, muscle squelettique congestionné et de couleur noire), splénomégalie.
- Les carcasses sont fortement émaciées et animées dans les formes chroniques avec présence de lésions de dégénérescence au niveau des organes suivants : la rate, le cœur et le foie (maladie de foie bronze) (Lecoanet, 1992).

2.3. Sources et transmission

2.3.1. Sources de contamination: (voir figure n° 1)

La source principale est bien sûr l'animal malade ou porteur qui excrète les bactéries, que ce soit en couvoir, en élevage ou en abattoir, qui propage le germe par les excréments ou par les œufs infectés.

La contamination de l'environnement par les *Salmonella* est une évidence; Ces germes peuvent être retrouvés à peu près partout : déjections animales, sols, points d'eau, effluents, animaux sauvages, et domestiques, flore sauvage etc. Il suffit de les chercher pour les mettre en évidence.

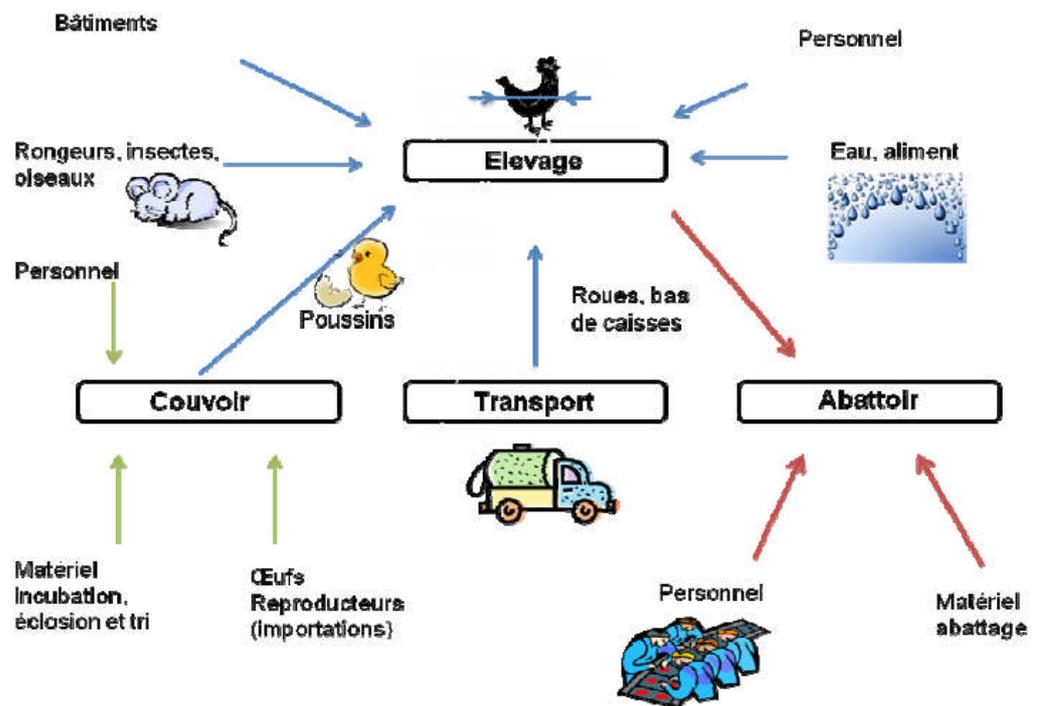


Figure 1:Voies d'entrée de *Salmonella* en élevages.

2.3.1.1. Au niveau des couvoirs

Des transmissions horizontales entre poussins à l'éclosoir peuvent se produire. Dans une même salle où il y a plusieurs éclosiers, une *Salmonella* invasive telle *S. Enteritidis* peut essaimer par l'intermédiaire des poussières en général et du duvet, dans différents éclosiers, à partir d'un seul point de départ.

Les couvoirs dont les conditions hygiéniques sont défectueuses peuvent être des réservoirs pour certaines souches (Gradel et al, 2003).

Les œufs infectés, provenant de porteurs, perpétuent le cycle animal- animal, lors de l'éclosion, grâce aux coquilles, duvet et déjections, mais aussi par la voie respiratoire en inhalant la poussière (Acha Pedro et al, 1989 ; Van Immerseel et al, 2005).

Les caisses de livraison en plastique, de plus en plus utilisées, augmentent le risque d'inter contaminations quand elles sont mal désinfectées entre deux livraisons de poussins (Riggi, 1999 ; Villate, 2001 ; Van Immerseel et *al*, 2005).

2.3.1.2. Au niveau des élevages

Il est connu depuis de nombreuses années qu'un grand nombre de cas de salmonellose chez les humains sont attribués à la consommation de la viande de poulets et des œufs contaminés. La majorité de ces cas sont dus à *S. enterica* sérotype *Enteritidis* ou le sérotype *Typhimurium* (Poppe, 2000). Le secteur avicole comprend toutes les étapes dans la chaîne de conversion du poulet vivant en produits alimentaires pour la consommation humaine.

L'élevage de poulets est une des formes les plus intensives d'élevage animal. Les conditions dans lesquelles les poulets sont cultivés conduisent facilement à des infections par les pathogènes opportunistes. Le risque de contamination par des pathogènes potentiels est omniprésent au niveau de toutes les étapes de la chaîne de production avicole (Ayachi et *al*, 2009).

Il y a deux voies de transmission de *Salmonella* dans l'élevage avicole: transmission verticale à partir des ovaires, qui conduit à la production d'œufs contaminés, qui peuvent ainsi propager l'infection à l'ensemble de la lignée de volailles; ou par transmission horizontale par des vecteurs inanimés (tout objet en contact avec les volailles) ou par des vecteurs animés comme les insectes et les rongeurs (Van immerseel et *al*, 2005).

Les signes cliniques ne sont généralement pas observés chez les volailles, alors qu'ils peuvent être apparents chez les jeunes poulets et les poussins. Les signes sont non spécifiques et peuvent se manifester sous plusieurs formes : dépression, croissance ralentie, faiblesse et diarrhée. La mortalité se produit généralement durant les premières semaines de la vie ; une septicémie rapide peut aussi se développer, causant un taux élevé de mortalité (Ait Abdelouhab, 2001).

Les normes de sécurité et de qualité sont donc des préoccupations majeures pour les éleveurs de volailles.

2.3.1.3. Au niveau des abattoirs

Ils jouent un rôle majeur dans la dissémination du germe.

Les *Salmonella* peuvent être présentes chez la volaille lors de l'abattage, notamment dans le tube digestif dont il faut absolument respecter l'intégrité pour ne pas polluer les carcasses. Ces bactéries peuvent être apportées par l'environnement dans toutes les phases d'abattage et de préparation des animaux. Les deux possibilités peuvent coexister et contaminer un ou plusieurs maillons de la chaîne d'abattage.

Le risque hygiénique est immense et la rigueur de travail doit l'être encore plus, même si le risque salmonellique ne se situe pas uniquement à ce niveau car les bactéries accompagneront les denrées animales jusqu'au consommateur. Les ruptures de chaînes de froid prennent, lors de portage de *Salmonella* une ampleur catastrophique.

Les *Salmonella* ne se multiplient plus à une température inférieure à +5,2°C ; c'est une des raisons pour lesquelles il faut décongeler les DAOA (Denrées Animales et/ou d'Origine Animale) à +4° : 1 Salmonella/g d'aliment représente un danger.

Tous les aliments d'origine animale sont virtuellement dangereux mais parmi eux surtout les œufs et les ovo produits, les viandes de volailles hachées et transformées. (Villate, 1997)

2.3.2. Transmission

2.3.2.1. Transmission verticale

Elle résulte d'une infection de l'ovaire ou de l'oviducte de la pondeuse par un sérotype adapté de *Salmonella*. C'est essentiellement *S. Enteritidis* et plus rarement *S. Typhimurium*, *Heidelberg*, *Hadar*, qui ne se traduit pas nécessairement par des signes cliniques, mais par un décrochement de la courbe de ponte suivi d'un rattrapage rapide. Les *Salmonella* colonisent les milieux intérieurs de l'œuf. Les poussins issus de ces œufs infectés sont viables et éclosent infectés par la souche de *Salmonella* d'origine maternelle (Carlier et al, 2001; Van Immerseel et al, 2005; Lieljebjelke et al, 2005).

2.3.2.2. Transmission horizontale

Elle peut débuter dès le couvoir, où les œufs sont contaminés au niveau des coquilles à la ponte, sans pénétrer dans l'œuf, mais persiste sur la cuticule. Le poussin est infecté dès l'éclosion par contact avec la coquille infectée. De plus, dans les claies des couvoirs, une intercontamination par création et diffusion d'un aérosol contaminé est prouvée (Gradel et al, 2003; Skov et al, 2004).

Les pratiques de gestion dans toute la filière volaille ont un effet profond sur la transmission et la persistance des *Salmonella* dans les systèmes de production de la volaille (Lieljebjelke et al, 2005). C'est aussi le cas des modes de transmission par la litière, l'eau, l'alimentation, les nuisibles, le personnel, etc. (Carlier et al, 2001).

2.4. Pathogenèse de l'infection

2.4.1. Contamination de la volaille

La plupart des bactéries appartenant à l'espèce *Salmonella* peuvent coloniser un large spectre d'hôtes. Néanmoins, certains sérotypes sont adaptés à un spectre d'hôtes plus restreint, ce qui signifie qu'ils ont acquis une série de propriétés génétiques qui leur permettent de coloniser de manière préférentielle et persistante ce type d'hôtes. Certains sérotypes sont mêmes exclusivement associés à un seul hôte, comme par exemple *S. gallinarum* chez la volaille. Ces sérotypes induisent souvent une pathologie sévère, voire létale. (Uzzau et al, 2000).

En général, la pathogenèse débute avec l'ingestion de la bactérie par voie orale. Les bactéries passent dans l'intestin et s'attachent aux cellules épithéliales. Après cette phase d'attachement, la bactérie peut envahir les cellules épithéliales. Ensuite, après la phase intestinale, il y a une phase systémique au cours de laquelle les bactéries peuvent survivre et persister dans les macrophages (figure 2). Pour ces différents processus la bactérie possède une série de gènes de virulence, qui sont regroupés sur le génome dans des îlots de pathogénicité. (Van Immerseel et al, 2005).

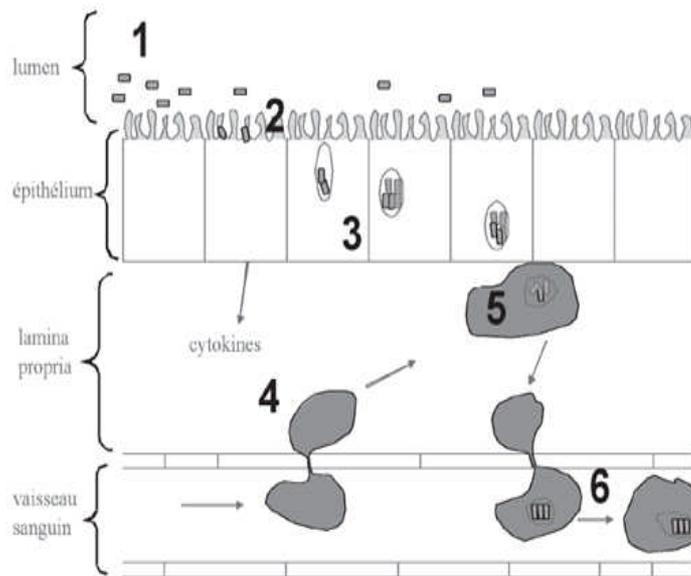


Figure 2 : Pathogénèse d'une infection à *Salmonella*

- 1) après ingestion orale, les bactéries passent par l'estomac pour arriver dans la lumière intestinale ;
- 2) les bactéries s'attachent aux cellules épithéliales et induisent une modification des filaments d'actine de la cellule ;
- 3) ceci donne lieu à une internalisation de la bactérie dans la cellule épithéliale ;
Salmonella est capable de se multiplier à l'intérieur de la cellule eucaryote ;
- 4) des macrophages vont migrer des vaisseaux sanguins vers la paroi intestinale et font partie d'une réaction inflammatoire ;
- 5) ces macrophages peuvent phagocyter les bactéries. *Salmonella* dispose de mécanismes qui permettent à la bactérie de survivre et même de se multiplier à l'intérieur des macrophages ;
- 6) les macrophages infectés peuvent passer dans le sang et se disperser vers d'autres organes, tels que la rate et le foie. Ceci constitue la phase systémique de l'infection.

2.4.2. Contamination de l'œuf

La contamination de l'œuf par *Salmonella enteritidis* est possible à travers la coquille quand l'œuf est contaminé par des matières fécales (Van Immerseel et al, 2005).

Il est également possible que la contamination ait lieu directement dans le jaune d'œuf, le blanc d'œuf, la membrane interne de la coquille ou la coquille même avant la ponte de l'œuf, suite à l'infection du système de reproduction de la poule (Timoney et al, 1989).

2.4.2.1. La contamination de la surface de l'œuf et la pénétration à travers la coquille.

La présence de *Salmonella* sur la surface extérieure de la coquille de l'œuf et la contamination du contenu de l'œuf présente une menace pour la santé publique. La surface peut être contaminée soit dans la partie distale de l'oviducte, soit par le biais d'une contamination fécale.

Plusieurs recherches ont démontré la possibilité d'une pénétration à travers la coquille de l'œuf dans des conditions de laboratoire avec différents sérotypes de *Salmonella*, comme par exemple, *Salmonella enteritidis* et *Salmonella typhimurium* (Berrang et al, 1999), Ce qui

peut expliquer que le contenu de l'œuf pouvait être contaminé immédiatement après la ponte par des bactéries passant à travers les pores ou des fissures dans la coquille.

Le niveau de contamination varie selon plusieurs facteurs : le surpeuplement conduit à une forte production de matières fécales, une augmentation de la température d'ambiance des locaux favorable à la multiplication microbienne, ainsi que la mauvaise hygiène des locaux et du matériel qui favorise la persistance de *Salmonella* dans les poussières de l'air ambiant et au niveau des surfaces de ponte.

2.4.2.2. Contamination de l'œuf pendant sa formation.

Les poules atteintes d'infections des ovaires ou des oviductes par *Salmonella enteritidis* (Souvent sans signes cliniques) vont contaminer les milieux internes de l'œuf avant la formation de la coquille.

Salmonella enteritidis a été isolée principalement dans le jaune ou l'albumine d'environ 10% des œufs durant les 2 premières semaines suivant l'inoculation expérimentale orale, ce qui suggère la possibilité de l'infection par *Salmonella enteritidis* transovarienne (Timoney et al, 1989). La capacité de l'infection transovarienne a été également démontrée par l'isolement des *Salmonella* à partir du jaune et / ou de l'albumine d'œufs pondus par des poules contaminées par *Salmonella enteritidis* (Shivaprasad et al, 1990). Les modifications pathologiques macroscopiques observées dans l'ovaire et l'oviducte de la poule pondeuse ou reproductrice ont également indiqué la possibilité d'une transmission transovarienne de *Salmonella enteritidis* chez les volailles.

Le jaune ou l'albumine sont probablement contaminés quand l'œuf pondu par une poule infectée passe de l'ovaire par l'oviducte avant d'être couverts par la coquille. En outre, le fait que l'albumine était plus fréquemment contaminée que le jaune a suggéré que certains œufs ont été infectés dans le péritoine ou l'oviducte (Shivaprasad et al, 1990).

La différence dans la proportion des œufs contenant des *Salmonella* peut dépendre de la taille des élevages examinés, car une proportion importante et petite a été observée respectivement dans des petits et des grands élevages (Duguid et North, 1991).

Les *Salmonella* ont été isolées en faible nombre à partir des œufs pondus par des poules infectées par *Salmonella enteritidis*. Le système complexe des barrières membranaires, les composants antibactériens dans l'albumine et la teneur en grande quantité des anticorps dans le vitellus peuvent expliquer la présence d'un petit nombre seulement de bactéries dans l'œuf (Suzuki, 1994).

Il reste néanmoins difficile de faire la distinction entre une contamination pendant la formation de l'œuf ou après la ponte de celui-ci. Dans le cas des œufs fécondés, une contamination de la membrane interne de la coquille peut mener à la situation que le poussin ne sera contaminé que tardivement et, parfois même, au moment de l'éclosion.

2.5. Traitement

Les traitements antibiotiques réduisent le portage intestinal mais ne peuvent pas éliminer totalement les *Salmonella*. Il faudra donc distinguer le contexte de la « salmonellose maladie » au démarrage, qui est justifié pleinement par une intervention énergique fondée sur un antibiogramme, dont la maîtrise ne peut reposer sur l'usage d'antibiotique. (Guérin et al, 2011)

2.6. Prophylaxie

- Prophylaxie sanitaire:

Des méthodes différentes qui se montrent efficaces pour réduire le risque d'infection (des conditions d'hygiène rigoureuse et la protection de l'élevage contre d'autres oiseaux et rongeurs)

- Prophylaxie médicale :

La chimio prévention : elle combat plus les performances économiques des lots infectés qu'elle n'empêche l'apparition épisodique de manifestation clinique ou élimine le portage chronique des germes. Elle a ainsi été appliquée avec des résultats variables, dans le cadre de programmes d'assainissement de milieu infectés.

- La vaccination

Permet une protection variable en durée et intensité selon :

- Le type de vaccin utilisé
- L'état sanitaire des volailles
- L'immunité des volailles
- La technique de vaccination elle-même (Lecoanet, 1992)

Objectif

Le besoin nutritif de l'homme en matières protéiques ne cesse d'augmenter dans notre société. Pour palier à cette situation, l'homme a opté pour l'intensification de l'élevage aviaire. De nos jours cependant, le poulet de chair constitue une des sources les plus importantes de salmonellose humaine d'origine alimentaire. La présence de *Salmonella* a été en effet mise en évidence à tous les maillons de la filière aviaire, ce qui constitue un risque pour la santé publique.

L'objectif de l'étude a été de réaliser une enquête terrain transversale afin d'estimer l'épidémiologie des infections salmonnelles dans les élevages de poulets de chairs algériens ; Ainsi les objectifs de ce projet ont été entrepris afin :

- D'estimer la prévalence de contamination des élevages de poulet de chair de la région du centre par *Salmonella*
- Identifier les sérotypes rencontrés, et déterminer les profils d'antibiorésistance des isolats appartenant aux différents sérotypes.
- Déterminer les facteurs de risques potentiellement liés à la contamination des élevages de poulet de chair par *Salmonella*.
- Déterminer la prévalence de résistance des souches de *Salmonella* aux antibiotiques.

Avant propos :

Le présent travail a été effectué au niveau du laboratoire interne de bactériologie vétérinaire de l'institut Pasteur d'Algérie en convention avec l'Institut des Sciences Vétérinaire de Blida.

Historique :

L'Institut Pasteur d'Alger fut créé en 1894, à l'initiative des Docteurs **Jean Baptiste Paulin TROLARD** et **H. SOULIE**. Il avait pour mission au départ, d'assurer le traitement antirabique des personnes mordues.

En l'an 1900, l'Institut Pasteur de Paris détacha à Alger une mission permanente, dirigée par les frères **Edmond et Etienne SERGENT**, pour vérifier les hypothèses émises par le Docteur Alphonse LAVERAN sur l'agent du paludisme.

Conformément aux conclusions de la mission, fut créé le 31 décembre 1909, l'Institut Pasteur d'Algérie, né de la fusion entre cette mission et l'Institut Pasteur d'Alger. L'Institut Pasteur d'Algérie fut considéré comme un Institut d'Outre-mer, rattaché à la maison-mère et placé sous la tutelle des autorités coloniales locales

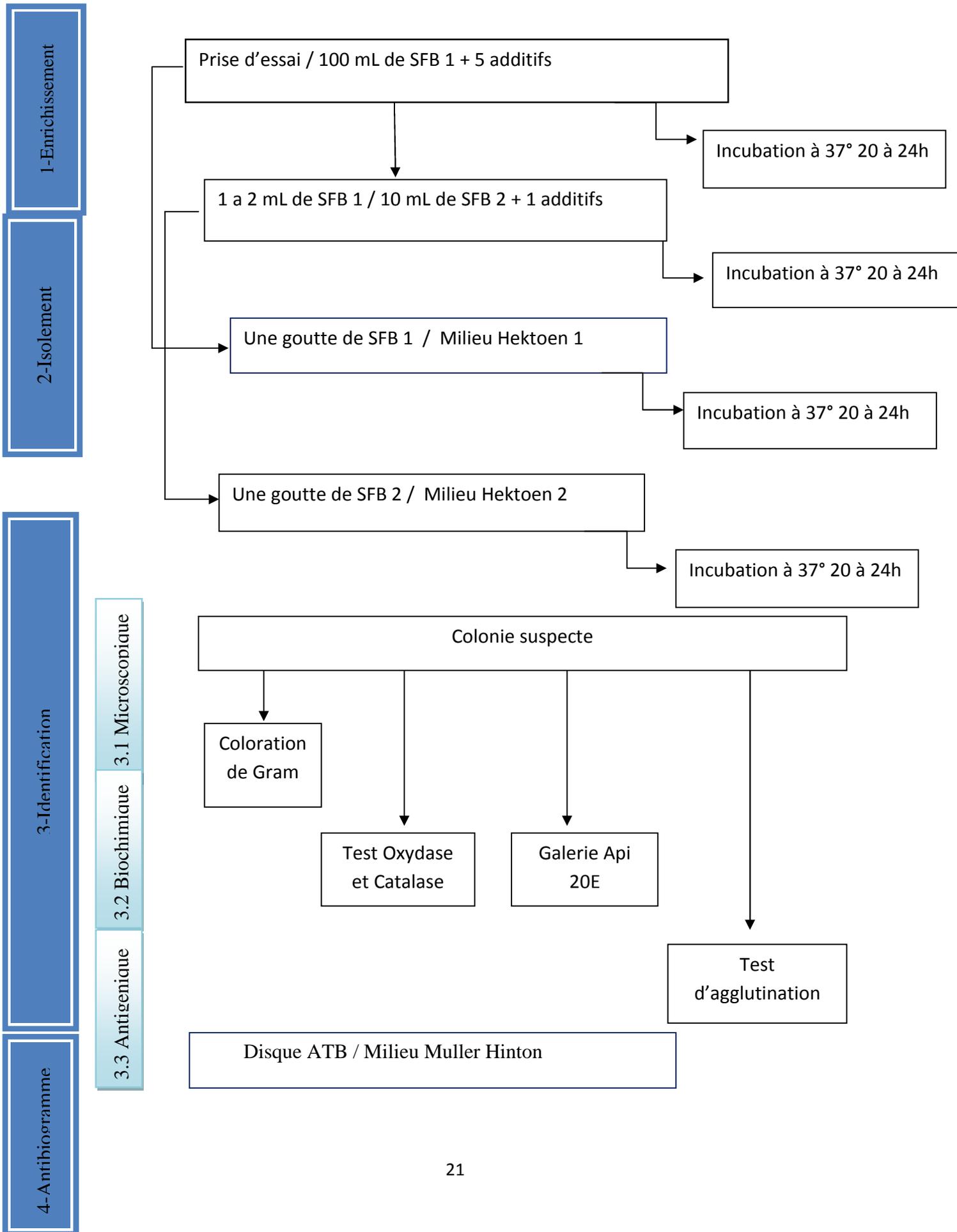
Annexe Hamma :

Etant le siège principal jusqu'à 2005, l'annexe du Hamma abrite actuellement : le nouveau centre des prélèvements et de diagnostic courant, le service de Mycobactérie, le laboratoire de bio-pathologie, le laboratoire des milieux de culture, le laboratoire des sérums thérapeutiques, le laboratoire de production de réactifs ainsi que la Bibliothèque.

Le laboratoire est sous la responsabilité de Dr ABOUN Assia et il a comme mission :

- Effectuer des analyses microbiologiques des volailles de différents âges.
- Effectuer des analyses microbiologiques des fientes et des aliments.
- Effectuer des analyses microbiologiques des organes des différents animaux
- Effectuer des analyses sérologiques.

Organigramme



Chapitre 1 : MATERIELS ET METHODES

1. Echantillonnage

Le travail effectué intéresse la filière chair dans les différents maillons d'élevages et ce dans la région du centre algérien. Les prototypes ont été prélevés dans les élevages et couvoirs ; nous avons essayé de couvrir toutes les villes du centre sur une période s'étalant du 18 Mars 2017 au 18 Mars 2018 et pour assurer la confidentialité les centres pris pour l'étude resteront anonymes.

Le nombre d'échantillons étudiés est de 473 sont constitués comme suit :

- 78 lots de Reproducteurs chair.
- 40 lots d'Œufs à couvrir.
- 156 lots de Poussins chair.
- 199 lots de Poulets de chair.

Chaque échantillon était accompagné d'une fiche de suivi comportant les rubriques suivantes: Le nom de l'opérateur, la date, le type de prélèvement, la race et l'âge des animaux, leur origine, et les signes éventuels de pathologie (voir fiche de suivi des prélèvements en annexe). Les prélèvements ont été effectués par différents opérateurs.

1.2. Prélèvements

Après l'arrivée des lots au laboratoire la procédure commence par l'identification de l'échantillon et l'adjonction d'un dossier.

Ensuite passage au niveau de la salle d'autopsie où les volailles sont sacrifiées et éviscérées.

Des fragments de foie, poumon, rate et cœur sont mis dans une boîte de pétri déjà portant le numéro du dossier pour les poulets de chair.

Les grappes ovariennes sont mises dans une boîte de pétri portant déjà le numéro du dossier pour les reproductions

Des fragments de bourse de Fabricius, foie, poumon, rate sont mis dans une boîte de pétri déjà portant le numéro du dossier pour les poussins chair.

Pour les œufs à couvrir prendre 5 œufs au minimum de chaque plateau les casser et verser le contenu dans le verre à pied ensuite tout mélanger.

Tout ces prélèvements sont transférés au laboratoire de bactériologie pour le diagnostique.

1.3. Solutions et milieux de cultures

Les compositions des solutions et des milieux utilisés sont invoquées dans la partie annexe.

1.4. Méthode de diagnostic

1.4.1. Enrichissement

L'enrichissement se déroule en deux temps :

- Le premier jour chaque prise d'essai (fragment d'organe et/ou mélange d'œufs) a été mise dans un bouillon SFB incubé à 37°C pendant 20 à 24 h.
- Le deuxième jour lancement du 2eme enrichissement SFB2 à partir du 1^{er} puis procéder à l'incubation pendant 20 à 24h à 37°.

1.4.2. Isolement

A partir des milieux d'enrichissement SFB1 et SFB2 réalisation des isolements sur milieu Hektoen, ainsi toutes les boîtes sont incubées à 37°C pendant 20 à 24 h.

1.4.3. Identification

Après incubation, examiner les boites afin de rechercher la présence de colonie noire à halo clair caractéristique des Salmonella, la ou les colonies suspectes passent au repiquage pour les différentes démarches d'identification qui sont les suivantes :

1.4.3.1. Identification microscopique

Nous réalisons une coloration de Gram pour la détermination des caractères morphologiques de la bactérie en question.

1.4.3.2. Identification biochimique

a) Test oxydase

Le test est réalisé afin de nous orienter vers le type de galerie à utiliser pour l'identification biochimique.

b) Test catalase

Nous réalisons le test de catalase afin de mettre en évidence la dégradation du peroxyde d'hydrogène.

c) Repiquage sur TSI

Repiquage sur TSI et urée des colonies présumées être des *Salmonella*, isolées à partir d'un milieu Hektoen, puis nous passons à l'incubation 20 à 24h à 37°

d) Galerie Api 20 E

L'identification des souches *Salmonella* a été confirmée par la galerie Api 20 E

1.4.3.3. Identification antigénique

Le sérotypage des souches de *salmonella* a été réalisé selon le schéma défini par KAUFFMAN-WITHE.

La recherche des sérogroupes a été réalisée en utilisant les sérums polyvalents OMA et OMB. Pour les sérotypes ont été déterminé en utilisant les sérums monovalents anti-O pour l'antigène somatique et anti-H pour l'antigène flagellaire.

Le test d'agglutination demeure le test le plus utilisé pour le diagnostic d'une salmonellose.

1.4.4. Antibiogramme

La sensibilité des souches aux différents antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton Agar, pour 10 disques d'antibiotiques. Après 24 h d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition ont été mesurées et interprétées en sensible (S), résistant (R), ou intermédiaire (I).

Chapitre 2 : RESULTAT ET DISCUSSION

2.1. Prévalence de *salmonella*

Au total 473 prélèvements ont été collectés, les résultats varient entre des positifs, des AGP (absence de germes pathogènes) ainsi que des isolats contenant d'autres bactéries pathogènes que *Salmonella*.

La bactérie était présente dans au moins 28 sur 473 analysés. Sur ces 28 prélèvements positifs, avec un pourcentage de 6 %, 3 sérotypes de *Salmonella* ont été isolées avec une prédominance de *S. virchow*, il est important de signaler que certaines *Salmonella* n'ont pas été identifiées par manque de moyens :

- 12 *Salmonella kedougou* équivalent de 2.6 %.
- 10 *Salmonella spp* équivalent de 2.2 %.
- 04 *Salmonella virchow* équivalent de 1%.
- 02 *Salmonella enteritidis* équivalent de 0.4%.

| | <i>S.enteritidis</i> | <i>S.kedougou</i> | <i>S.virchow</i> | <i>S.spp</i> |
|-------------------------------|----------------------|-------------------|------------------|--------------|
| Nombres des <i>Salmonella</i> | 2 | 4 | 12 | 10 |
| Pourcentages | 0.4% | 1% | 2.6% | 2.2 % |

Tableau 2 : Prévalence de *Salmonella*.

Les AGP s'étalent sur 362 prélèvements dans les 473 analysés, avec un pourcentage de 76% le plus significatif observé.

Concernant les autres bactéries isolées un nombre de 83 sur 473 équivalents de 18%.

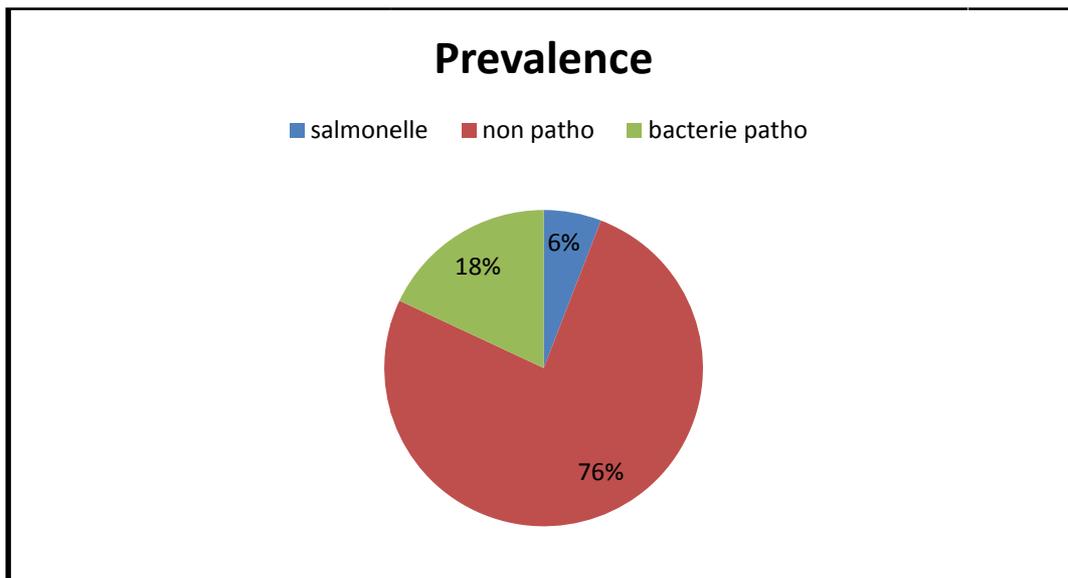


Figure 3 : Prévalence de *Salmonella*.

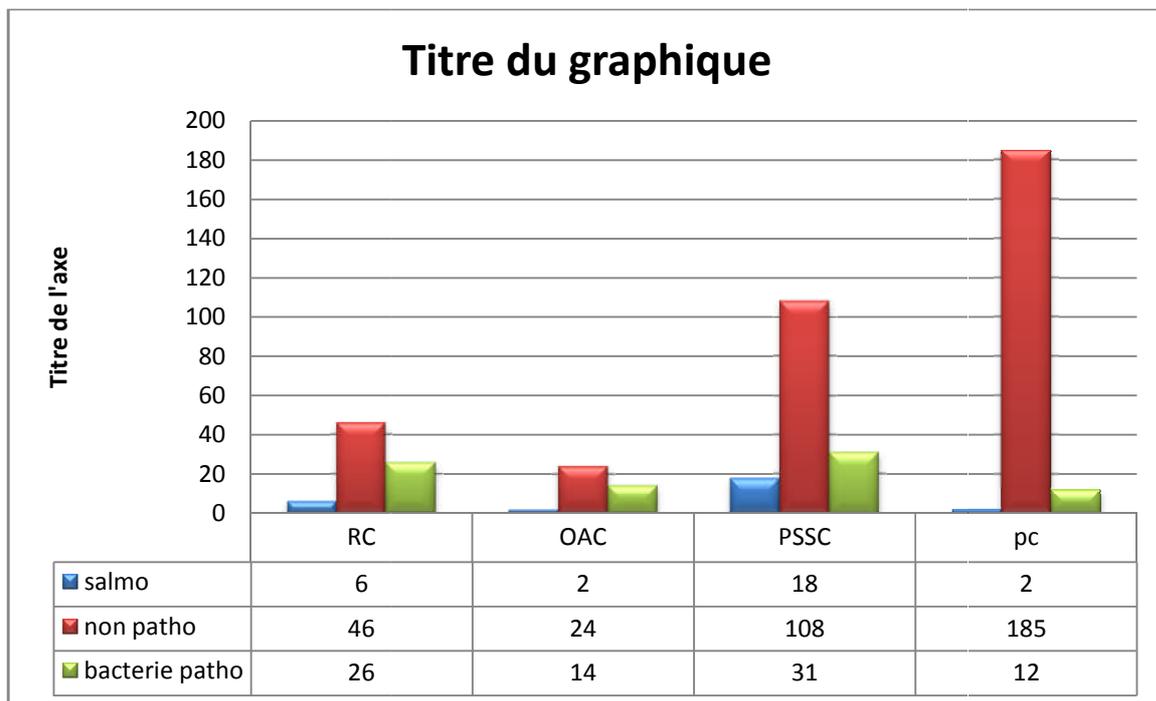


Figure 4 : Prévalence de *Salmonella* dans les lots étudiés.

Néanmoins, l'étude effectuée par Achek R et *al* qui a été réalisée de la période allant de 2003 à 2011 sur 7240 lots a révélé la présence de 235 souches de *Salmonella* dont 17 sérovars différents, avec une prédominance de *Salmonella enteritidis*. (Achek et *al*, 2011)

Ainsi nous remarquons que nos résultats démontrent une baisse significative d'identification de souche *Salmonella*, nous pouvons expliquer cette baisse par une éventuelle amélioration des conditions d'hygiène.

2.2. Evaluation de la contamination :

Le taux de la prévalence peut être expliqué par plusieurs facteurs dans les différentes structures prise dans l'étude.

2.2.1. Evaluation de la contamination des OAC :

La présence de *salmonella* dans les OAC (œufs à couver) peut être justifiée par une transmission verticale à travers la mère contaminée, mais cette proposition ne peut pas être estimée à 100%.

La contamination de la mère peut influencer la qualité sanitaire des œufs ainsi le contrôle de la qualité hygiénique des sites impose le risque d'une contamination horizontale des œufs par la bactérie à travers les surfaces ou les couvoirs présentant une qualité hygiénique médiocre, parfois faciliter par le lavage cassant la barrière protectrice située autour de l'œuf ce qui permet la pénétration des *Salmonella* (Gradel et *al*, 2003).

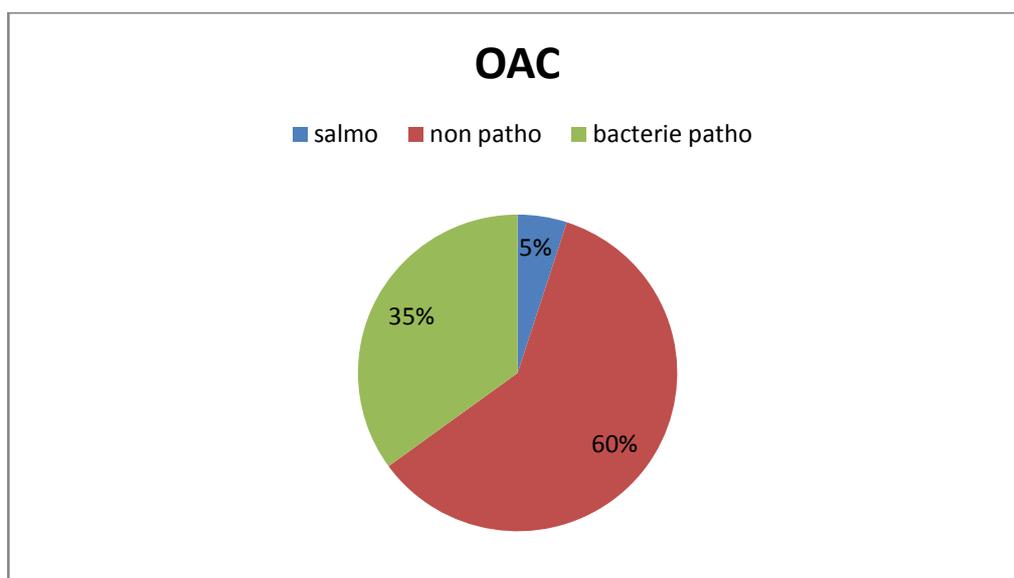


Figure 5 : Taux de contamination des OAC.

2.2.2. Evaluation de la contamination des PssC

Dans les lots des PssC (poussin chair) 18 souches de *Salmonella* ont été isolées, ce qui équivaut à 65% de toutes les souches isolées.

Les voies de l'infection par *Salmonella* peuvent être soit :

- Une voie de transmission verticale par la mère contaminée vers les constituants de l'œuf puis vers les poussins. (Carlier et al, 2001; Van Immerseel et al, 2005; Lieljebjelke et al, 2005).
- Une voie de transmission horizontale via différentes sources de contamination comme le personnel, les mauvaises conditions d'élevage, l'aliment, les rongeurs, etc. prouvée (Gradel et al, 2003; Skov et al, 2004).

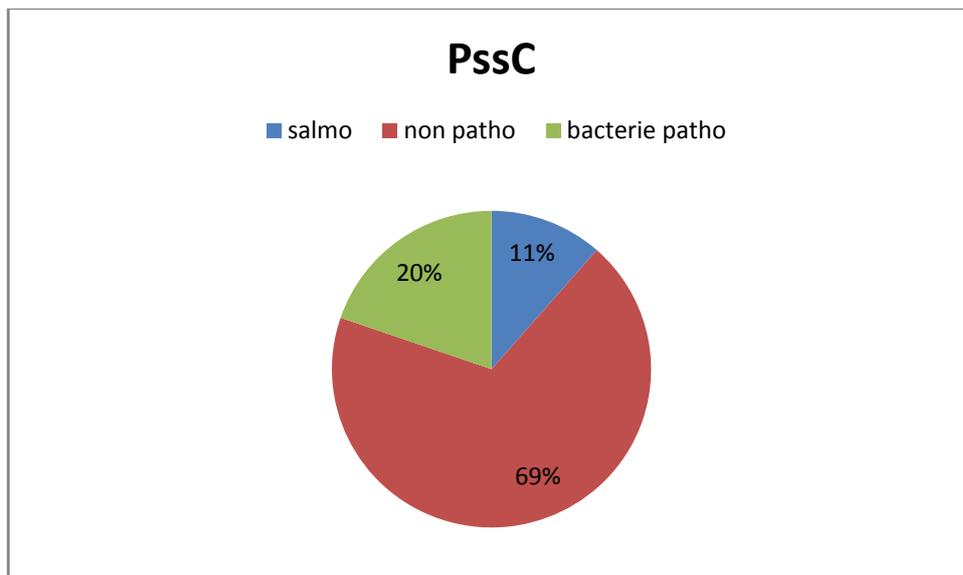


Figure 6 : Taux de contamination des PssC.

2.2.3. Evaluation de la contamination des RC

Dans les prélèvements des reproducteurs 6 souches ont été prélevées, avec un pourcentage de 23%. Ceci peut-être expliqué par une contamination de l'élevage, des locaux, des aliments et de l'eau. (Carlier et al, 2001).

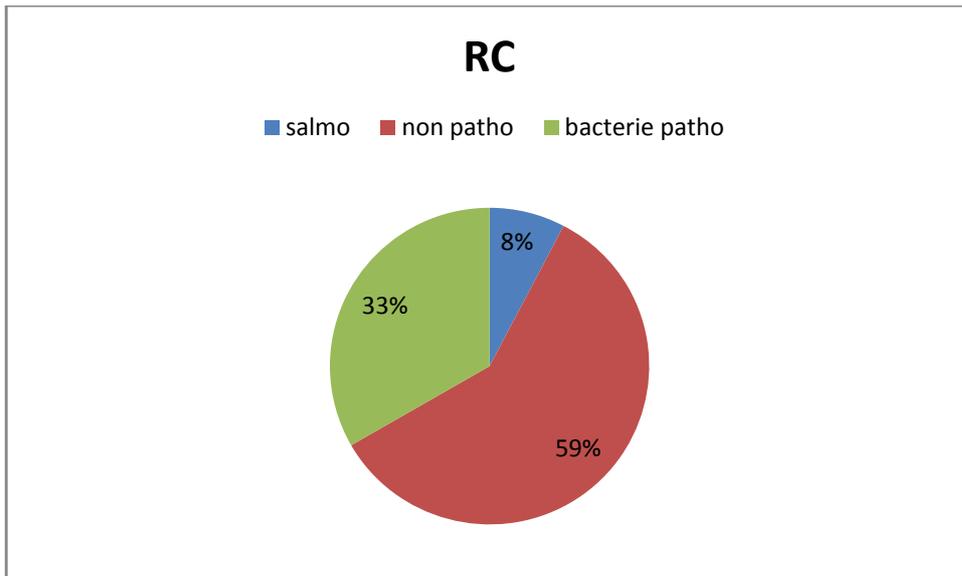


Figure 7 : Taux de contamination des RC.

2.2.4. Evaluation de la contamination des PC

Dans tous les échantillons traités uniquement 2 souches ont été isolées ; ce résultat très faible par rapport aux années précédentes peut être expliqué par une amélioration des conditions d'élevages. (Ayachi et *al*, 2009).

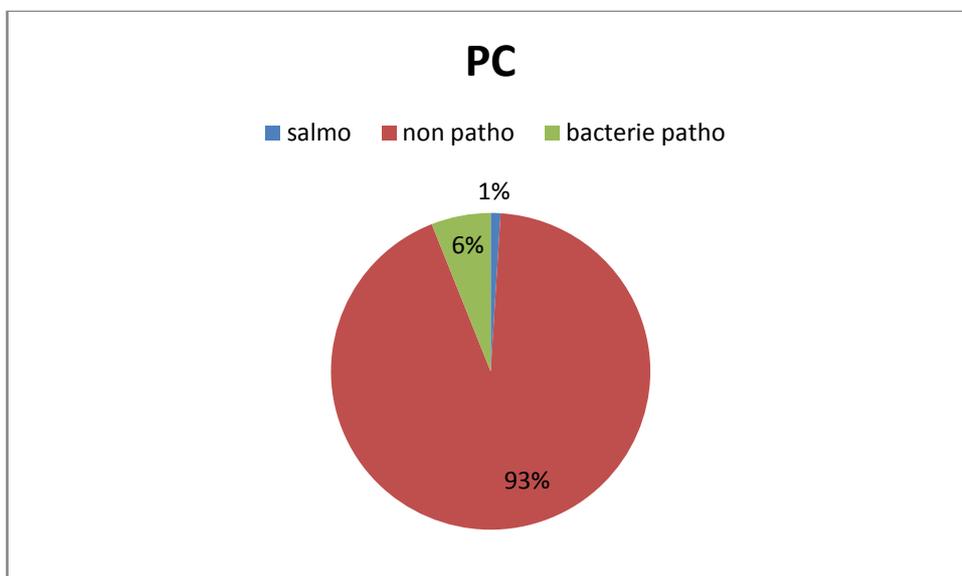


Figure 8 : Taux de contamination des PC.

Ces résultats s'avérant faibles aux années précédentes (Achek et *al*, 2011) peuvent être justifiés par une diminution de contamination des élevages. L'utilisation prophylactique

d'antibiotiques contre d'autres pathologies peut limiter le taux d'infection mais pas l'assainissement des élevages et par conséquent réduit les chances de les isoler.

2.3. Prévalence des *Salmonella* selon les sites

2.3.1. Dans les couvoirs

Si la détection des *Salmonella* s'est faite au niveau des couvoirs (les OAC) bien qu'elle soit insipide ceci prouve que les bâtiments des reproducteurs sont contaminés ; car lors de notre étude les informations récoltées sur les couvoirs semblent être en défaveur d'une contamination : puisque la décontamination des couvoirs se fait quotidiennement aux incubateurs, ils sont nettoyés tous les 21 jours (du fait de l'incubation en âge unique).

Quant aux éclosiers ils le sont après chaque éclosion ; malgré ces bonnes conditions nous avons isolé deux souches de *Salmonella* dont la présence pourrait être expliqué comme suit : il est possible que les œufs soient contaminés à travers la coquille dans le cas où l'œuf est souillé par des matières fécales, il est également possible que la contamination ait lieu directement dans le jaune d'œuf, le blanc d'œuf, la membrane interne de la coquille ou la coquille même avant la ponte de l'œuf, suite à l'infection du système de reproduction de la poule pondeuse. (Timoney et *al*, 1989).

2.3.2. Dans les élevages

Le questionnaire nous a permis de recueillir des informations sur les pratiques d'élevage et le niveau d'hygiène dans les établissements concernés par l'étude, ces informations nous ont permis d'expliquer le taux des *Salmonella* trouvé chez les reproducteurs, chez les poussins et le poulet de chair.

2.3.2.1. Les élevages des reproducteurs

Dans les sites étudiés, nous avons noté des conditions d'élevages répondent aux exigences de coup de cette filière, mais nous avons constaté un taux d'infection considérable dans certains élevages ce qui nous emmène à poser trois hypothèses :

- Introduit par de nouveaux mâles reproducteurs contaminés.
- Véhiculé par les employés, les réparateurs, les vétérinaires...

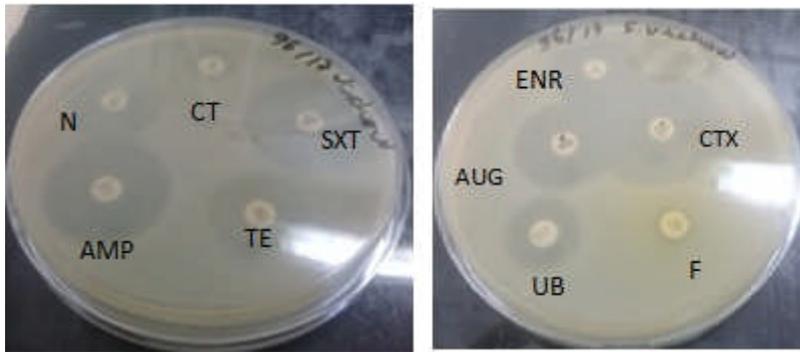
-Transmis les équipements ayant déjà été contaminé auparavant et qui n'ont pas été correctement nettoyé.

2.3.2.2. Les élevages des poulets de chair

L'équipement de la plupart des élevages étudiés se limite au strict minimum (mangeoires, abreuvoirs et radiants de chauffage et système de ventilation) avec inexistence de systèmes d'isolation, les fumiers sont stockés au voisinage des élevages ce qui favorise la propagation dans l'exploitation. Nous avons aussi constaté que certaines pratiques d'élevage induisent un effet direct ou indirect sur l'infection des poulets par *Salmonella*.

Lors de notre étude nous avons noté que le risque de contamination des lots par *Salmonella* augmente lorsque la bande d'élevage précédente est contaminée, la présence de la bactérie semble être liée aux pratiques sanitaires durant le vide sanitaire précédant ; nous avons également constaté que plus la densité des poussins au premier jour est importante plus la contamination est fréquente. L'infection des poussins à la mise en place a aussi un impact sur l'infection du lot. En outre, la prévalence de la bactérie dans les élevages suit une variation saisonnière, avec un pic de contamination pendant les saisons chaudes. Cependant, l'utilisation d'antibiotiques à la mise en place des poussins et l'usage de détergent pour le nettoyage semble diminuer le risque. (Guérin et *al*, 2011)

2.4) Antibiogramme :



AMP : Ampicilline, N : Néomycine, CT : Colistine, SXT : Triméthoprime +Sulfaméthoxazole, TE : Tétracycline, XNL : Ceftiofur, ENR : Enrofloxacin, AUG : Amoxicilline + Acide clavulanique, UB : Flumequine, F : Nitrofurantoine)

Figure 9: Résultat d'un antibiogramme réalisé pour une souche *S.virchow*.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé une différence de réponse des souches vis-à-vis des dix antibiotiques utilisés, ainsi nous avons noté :

-100 % (n= 28) des souches étaient sensibles à l'amoxicilline, ceftiofur, colistine et au triméthoprime associé a la sulfaméthoxazole.

-50% (n=14) des souches étaient sensibles a la néomycine associé a la kanamycine les 50% (n=14) exprimaient une sensibilité intermédiaire.

-32.14% (n=6) des souches étaient résistantes à la flumequine, 50% (n=14) des souches exprimaient une sensibilité intermédiaire et 17,85 (n=5) des souches ont été sensibles.

-46,42% (n=13) des souches exprimaient une sensibilité intermédiaire, 50,57 (n=15) des souches étaient sensibles.

-3.57% (n=1) des souches étaient d'une sensibilité intermédiaire à la tétracycline et 96,42% (n=27) des souches étaient sensibles.

-42,42% (n=13) des souches exprimaient une résistance au nitrofurane, 7,14% (n=2) des souches étaient d'une sensibilité intermédiaire et 42.42% (n=13) des souches étaient sensibles.

Par ailleurs, aucune différence significative n'a pu être observée entre différentes souches.

Nous pouvons expliquer les sensibilités soit par une efficacité des antibiotiques, soit par l'arrêt d'utilisation des antibiotiques comme additifs dans l'aliment et les résistances par la possibilité de l'usage courant et abusif de ces antibiotiques qui peuvent donner lieu à des résidus dans les isolats et risquent de contribuer au développement d'une antibiorésistance.

Néanmoins dans une étude des profils d'antibiorésistance des différents sérotypes de *salmonella* a révélé des résultats assez distincts, sur un total de 114 souches identifiées entre les mois de février et avril 2007, toutes les souches isolées étaient résistantes à au moins deux antibiotiques. Une résistance élevée aux tétracyclines (81,6%) a été constatée, suivie par celles aux quinolones (acide nalidixique et enrofloxacin 26,3% ; fluméquine 39,4%) et aminosides (29%). Une résistance moins élevée a été relevée pour l'amoxicilline (18,4%) et l'ampicilline (10,5%). (Ben-mahdi et al, 2007) Si nous comparons nos résultats avec les résultats ci-dessus nous remarquons que nos souches ont montré un pourcentage élevé de sensibilité et que ces résultats démontrent une résistance élevée, nous pouvons expliquer cela par une utilisation plus réfléchie et plus judicieuse des antibiotiques ce qui a limité la dissémination de ces *salmonella* et prévenir leur pérennisation dans les élevages.

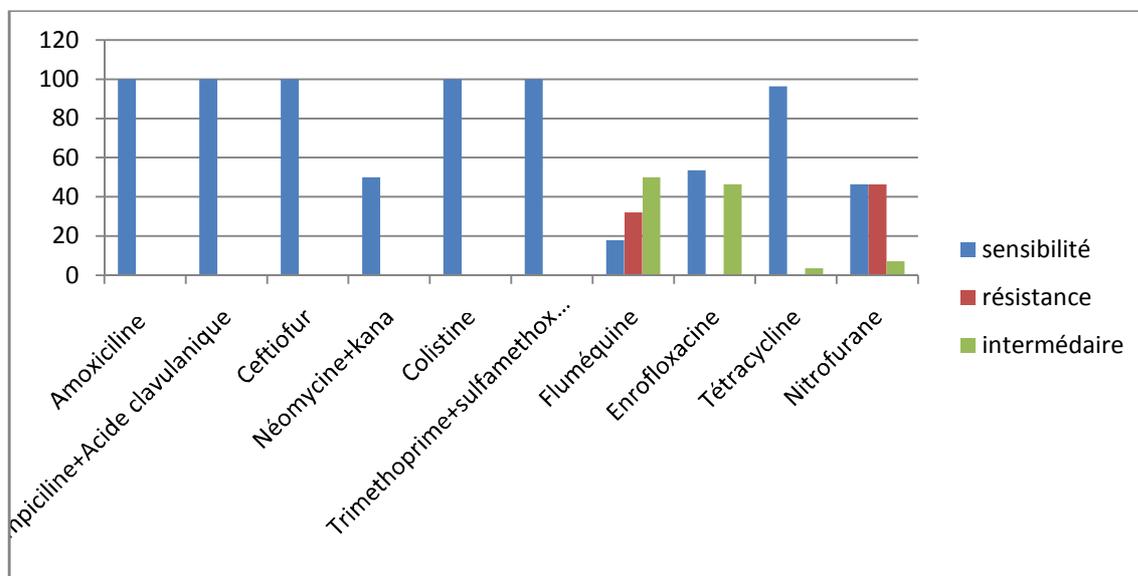


Figure 10 : Résultats des antibiogrammes.

Conclusion générale

L'étude que nous avons effectuée sur les *salmonella* aviaires dans la région du centre algérien a atteint les objectifs assignés, elle nous a procuré une estimation sur la prévalence de la contamination des élevages de la région. En plus, elle a porté à notre connaissance une prévalence élevée aussi bien en élevage reproducteur ainsi qu'en élevage de poulet de chair.

Cette situation peut-être due aux conditions instables d'élevage, mais aussi aux déficits de gestion et d'hygiène dans les élevages de la région Centre. L'étude nous a éclairci sur les sérotypes les plus fréquemment isolés, à savoir *S. virchow*, *S. kedougou* et *S. enteritidis*.

De manière générale, les isolats été souvent sensible à au moins un à deux antibiotiques, mais des résistances sont rencontrés pour certains antibiotiques telle que les nitrofuranes.

Quelques facteurs de risque liés à la contamination par *Salmonella* dans les élevages ont été identifiés, mais aucun d'eux ne s'est avéré statistiquement significatif. Des études complémentaires seraient essentielles pour déterminer les facteurs de risque conditionnel des élevages et évaluer après coup leur effet correctif.

La prévalence de la contamination de nos élevages par cette bactérie ainsi que les profils de résistance aux antibiotiques nous ont démontré l'importance d'une large surveillance de l'industrie avicole, pour assurer le respect des normes d'élevage, particulièrement les mesures d'hygiène individuelles et collectives et vu la résistance développer par certaines souches. Il serait capital d'accentuer la surveillance de l'utilisation des antibiotiques, notamment en filière avicole, dans le but de prévenir l'augmentation des résistances aux molécules récentes.

Références bibliographiques

-A-

- Acha Pedro,N Et Szyfrés,B(1989). Salmonella dans: Zoonoses des maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. OIE. 2eme ed, Paris, France : 156-164 p.
- Achek, R ; Belabadi, I ; Hamdi, T.M(2011). Prévalence et évolution des serotypes des salmonelles aviaires dans sept de l'ouest de l'Algérie : étude rétrospective de 2003 à 2011.
- Ait Abdelouahab, N(2008). Microbiologie alimentaire, office de publications universitaires, 452 p.
- Anonyme, 2002. Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2002. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie, 6 p.
- Anonyme, 2003. Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2003. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie, 6 p.
- Anonyme, 2004. Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2004. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie, 6 p.
- Anonyme, 2005. Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2005. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie, 6 p.
- Ayachi, A; Alloui N ; Kassah-laouar, A ; Bennoune, O (2009). Détection de Salmonelles mineurs au niveau des couvoirs du secteur étatique et privé de la Wilaya de Batna. JRA, 413-417 p.

-B-

- Bailey,JS ; Stern,NJ; Fedorka-Cray,P et al(2001). Sources and movement of Salmonella through integrated poultry operations: a multistate epidemiological investigation. J. Food Prot. 64(11): 1690–1697p.
- Bäumlér, A ; Tsolis, R ; Ficht, T ; Adams, L(1998).Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. Infect. Immun, 66, 4579-4587 p.
- Barrow, P.A(1998). Virulence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, In: SAEED AM.*Salmonella enterica* Serovar Enteritidis in Humans and Animals Epidemiology,Pathogenesis and Control, 173-178 p.

- Ben-Mahdi, MH; Yahiaoui F ; Bouzagh-Belazouz T ; Aboun, A ; Kechich, S ; Djellout, B ; Djerbal, M(2007). Identification des profils d'antibiorésistance des différent serotypes de salmonelles rencontrées dans des élevages de poulet de chair de l'algérois.
- Berrang, M.E ; Frank J.F ; Buhr, R.J ; Bailey, J.S ; Cox, N.A (1999). Eggshell membrane structure and penetration by *Salmonella typhimurium*. *J. Food Protect*, 62, 73-76 p.
- Bertrand, Robert-Bonhomme. "Etudes de la contamination des milieux internes de l'œuf par salmonella sérotype enteridis" ; Thèse pour le doctorat vétérinaire la faculté de médecine de Créteil France, 110 p.
- Bornert, G(2000). Le poulet sans salmonelles : mythe ou réalité ? *Revue Méd. Vét.* 151(12), 1083-1094 p.
- Bourgeois, C.M ; Mescle, J.F ; Zucca, J(1996). Microbiologie alimentaire Tome1 .Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. ISS N : 0243-5624.
- Brisabios, A ; Fremy, S ; Gauchard, F ; Goncalves, M ; Lallier, R ; Moury, F ; Oudart, C ; Piquet, C ; Pires-Gomes, C (2002)Inventaire des *Salmonella*. Edition de l'AFSSA, juin 2004, 108 p.
- Brown,JH . Theobald Smith (1859-1934), dans *J Bacteriol*, vol. 30, n° 1, 1935, 1-3p [texte intégral [archive] texte sur PMID [archive]].

-C-

- Camart-Périé, Amélie(2006) 'Salmonella, Salmonellose etat des lieux : Epidémiologie en France, Faculté de médecine de Creteil, 18 p.
- Carip, C ; Jacky, B ; Dorsainvil, E ; Salvert, M-H ; Tandeau, A(2008) Microbiologie Hygiène : Base microbiologique de la diététique. LONDRES-PARIS-NEW YORK.
- Carlier, V et Lagrange, P(2001).Salmonella, service d'information alimentaire,H.C.S.International.Paris, 84 p.
- Castagnos, S(2005). " Contribution a l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (aviguard©) contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest", thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 110p.

-D-

- Davies,R ; Breslin, M ; Corry, JE ; Hudson,W ; Allen,VM(2001). Observations on the distribution and control of *Salmonella* species in two integrated broiler companies. Vet. Rec. 149(8): 227–232 p.
- Duguid, J.P and North, R.A.E (1991). Egg and *Salmonella* food-poisoning: an evaluation. J. Med. Microbiol. 34, 65-72 p.

-E-

- Elgroud, Rachid.M(2009) «Contamination du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine: Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR et PFGE », Université de Mentouri Constantine Faculté des sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences Vétérinaires, 16 p et 157 p.

-F-

- Fauchere J.L ; Avril J.L. « Bactériologie générale et médicale » Edition ellipses, 245 p.

-G-

- Gradel, K.O; Rattenborg, E(2003). Aquestionnaire-based retrospective field study of persistence of *Salmonella* Typhimurium in Danish broiler houses. Prev. Vet. Med, 56,267-284 p.
- Grimont, P.A.D ; Grimont, F ; Bouvet P.J.M(1994). “*Salmonella* In Manuel de bactériologie clinique” In FREYNEY, J ; RENAUD, F ; HANSEN, W et Bollet, C. Vol2, 2ème édition Ed. Elsevier, 10-17-42 p.
- Grimont, P.A.D ; Grimont, F et Bouvet, P (2000).Molecular basis of the diversity in the genus *Salmonella*.In: *Salmonella in domestic animals*.Wray et col.CABI Publishing,British Library,London,U.K,1-17 p.
- Guérin, J.L ; Balloy, D ; Villate, D(2011).edition France agricole 2011.

- Guillot, J.F(1989). Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. - HAL. ARTICLE DE SYNTHESE (20), 3-16 p.

- Guillot, E and Loret, J.F (2010). Watherborne pathogens : Review for the Drinking Water industry. London- New York, 20 -23 p.

-H-

-Humbert, F(1998)“Les salmonelloses dans Manuel de Bactériologie Alimentaire, Ed. Polytechnica ”. Paris.

-Humbert, F (2005)“ Les salmonelles”, In \square Bactériologie alimentaire : Compendium d’hygiène des aliments \square , (Federighi, M.), 2 ème Édition Economica, Paris, 1-23 p.

-K-

-Kaci, A ; Nouri, M ; Ferrah, A ; Kabli, L ; Azzouz, H(2001). Conduite des élevages de poulets de chair en Algérie: Un sous- équipement chonique.Agroligne18, 1719 p.

-Kimura, C ; Reddy, V ; Marcus,R et al(2004). Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic Salmonella enteric serotype Enteritidis infections in the United States, a case-control study in FoodNet sites. Clin. Infect. Dis. 38: 244–252 p.

- Korsak, N ; Clinquat, A ; Daube, G(2004).« Salmonella spp, dans les denrées alimentaires d’origine animale : un réel problème de sante publique ? » Revue de Médecine vétérinaire 148, 174-193 p.

-L-

- Laryal, G ; Vierling, E. "Microbiologie et toxicologie des aliments \square

- Lecoanet, J(1992). « Salmonelloses Aviaires », In ‘manuel de pathologie aviaire’ (Picoux, J. et Silim, A.), E.N.V. Alfort. Paris, Faculté de Med. Vét. De Montréal, Quebec, 225-235 p.

- Liljebjelke, K.A ; Hofacre, C.L ; Liu, T ; White, D.G ; Ayers, S., Young, S et Maurer, J.J(2005). Vertical and Horizontal transmission of Salmonella within integrated broiler production system. Foodborne Pathogens and Disease. Vol.2, n°1: 90-102 p.

- Le Minor, L(1989). « les salmonella », In « Bactériologie alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments », (Federighi,M), 2ème Edition Flammarion Médecine-sciences, Paris, 411-427 p.

- Le minor, L et Popoff, M.Y(1987). Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. Nov. Nom. Rev, as the type and only species of the genus *Salmonella*. Int. J. Syst. Bacterid, 37, 68, 465 p.

- Le Minor L ; Veron M(1989). Bactériologie médicale. Les entérobactéries : *Salmonella*. Flammarion. Médecine. Sciences Edition, Paris, 2ème Edition: 411-427 p.

- Le Minor, L ; Veron, M(1990). "Bactériologie médicale" 2ème édition Ed. Flammarion, p 411-427 p.

-M-

-Mead GC. 1993. Problems of producing safe poultry: discussion paper. J. R. Soc. Med. 86: 39-42 p.

- Moury, F(2005). « Epidémiologie-surveillance des salmonelles d'origine non humaine. Données récentes du réseau salmonella », Froid et denrées périssables, n°1053, 47-52 p.

-P-

-Pilet,C ; Boudon, J.L ; Toma, B ; Marchal, N ; Balbastre, C, Person, J.M(1975).« bactériologie médicale et vétérinaire, Systématique bactérienne » 3ème Edition Doin, Paris, 474 p.

-Popoff, M.Y ; BOCKEMUHL, J et MCWHORTER-MURLIN, A(1994).

Supplement 1993 (No. 37) to the Kauffmann- White scheme. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Unite des Enterobacteries, U389 INSERM, Institute Pasteur, Paris. Res. Microbiol, 145, 711-716.

-Popoff, M.Y(2001). Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. Pasteur Institute, Paris, France.

- Poppe, C (2000). *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: Wray C. and Wray A. *Salmonella* in domestic animals. CAB International, New York, US. 107-132 p.

-R-

-Rabie, N.S ; Khalifa, N.O ; M.E.I ; Radwan and Afify J. S.A (2012) .Epidemiological and Molecular Studies of *Salmonella* Isolates from Chicken, Chicken Meat and Human in Toukh, Egypt. *Global Veterinaria* 8 (2), 128-132 p.

- Riggi, A(1999). Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie contre la colonisation intestinale par les salmonelles en poulet de chair. Thèse pour le doctorat vétérinaire, E.N.V. Alfort, Paris.

-S-

-Scaria, J ; Palaniappan, R ; Chiu, D ; Ann Phan, J ; Ponnala, L ; McDonough , P ; Grohon, Y ; Porwollik, S ; McClelland, M ; Chiou, C ; Chu,C ; Chang ,Y-F(2008). Microarray.

-Shivaprasad, H.L ; Timoney, J.F ; Morales, S ; Lucio, B et Baker, R.C (1990), Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding and serologic responses. *Avian Dis*, 34, 548-557 p.

- Skov, M.N ; Spencer, A.G ; Hald, B ; Petersen, L ; Nauerby, B ; Carstensen, B ; et Madsen, M(2004). The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. Between broiler flocks. *Avian Dis*, 48, 9-18 p.

-Suzuki Shoko, 1994. Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* in poultry. *International Journal of Food Microbiology*, 21 89-105 p.

-T-

- Thiaw, A(1998). Les salmonelloses au C.H.U. de fann : aspects bactériologiques. Thèse de doctorat, 8-9 p.

-Thorns, CJ(2000). Zoonoses bactériennes d'origine alimentaire : *Rev.Sci. Tech.* 19: 226–239 p.

-Timoney, J.F; Shivaprasad H.L ; Baker, R.C ; Rowe B ; 1989. Egg transmission after infection of hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *Vet. Rec.*, 125, 600-601 p.

-U-

- Ungemach, F.R ; Müller-Bahrtdt, D ; Abraham, G(2006). Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. Int. J. Med. Microbiol. 296 (S2), 33-38 p.

-Uzzau, S ; Brown, D.J ; Wallis, T ; Rubino, S ; Leori, G ; Bernard, S ; Casadesús, J ; Platt, D.J ; Olsen, J.E (2000). Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiol.Infect*, 125, 229-255 p.

-V-

- Van, H.H.T; Moutafis, G ; Istivan, T ; Thuoc ; Tran, L and Coloe, P.J(2005). Detection of *Salmonella spp.* in Retail Raw Food Samples from Vietnam and Characterization of Their Antibiotic Resistance. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Nov. 2007, Vol 73, No. 21, 6885-6890 p.

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

- Villate, D(1997) .Maladie des volailles, Paris France Edition France Agricole 1^{er} Edition, 247 p.

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

-W-

- Weill, X.F (2008) .Zoonotic non-typhi *Salmonella* and antibiotic resistance. Bull. Acad. Vét. France - Tome 161 - N°3, 222 p.

- Wray, C ; Wray, A(2003). *Salmonella* in Domestic Animals. CABI, 5-9 p.

ANNEXE 1

Bouillon sélénite-cystine :

Le bouillon sélénite-cystine est utilisé pour l'enrichissement sélectif des salmonelles dans les produits pharmaceutiques, le lait et les produits laitiers, les autres produits alimentaires, ainsi que dans le domaine de l'eau.

Composition type (g/L) :

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

Présentation : Bouillon en flacon de 100mL ou tube de 10mL.

Additifs Selinite acide de sodium pour SFB :

Le sélénite acide de sodium est un additif du milieu SFB, le milieu SFB est conçu pour la recherche des selles, les eaux et les produits alimentaires.

Charge du disque : chaque disque contient 40 mg de sélénite acide de sodium.

Milieu Hektoene :

La gélose Hektoen est un milieu sélectif permettant l'isolement et l'enrichissement des entérobactéries pathogènes à partir des prélèvements divers.

Composition Type (g/L) :

| | |
|------------------------------|------|
| Peptone pepsique de viande.. | 15g |
| Extrait de levure | 3g |
| Extrait de viande..... | 3g |
| Lactose..... | 3,4g |
| Salicine | 0,2g |

Saccharose.....12g
Chlorure de sodium.....5g
Sels biliaires.....4g
Citrate de Fer ammoniacal.....1,5g
Bleu de Bromothymol0,064g
Fuchsine acide.....0,1g
Agar.....18g

Présentation : Hektoen base flacon de 225ml.

Violet de Gentiane :

Solution utilisé en bactériologie et provoque une réaction particulière connue sous le nom de la méthode de GRAM, cette dernière s'applique qu'à des frottis desséchés, selon le résultat on parlera de Gram – ou de Gram +.

Composition type (g/L) :

Violet de Gentiane :.....1g
Ethanol à 95°.....10cc
Phenol cristallisé :.....2g

Présentation : Flacon compte goutte de 100mL.

Fushine :

Composition type (g/L) :

Fushine basique.....10g
Alcool a 90°100MI
Acide phénique cristallisé....50g

Présentation : Flacon compte goutte de 100mL.

Gélose TSI :

Milieu d'identification rapide pour les Entérobactéries. Il permet de mettre en évidence la fermentation du lactose ou de glucose (avec ou sans dégradation gazeux), du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré.

Composition Type (g/L) :

| | |
|--------------------------------|-------|
| Peptone de viande..... | 15g |
| Proteose | 5g |
| Extrait de levure | 3g |
| Extrait de viande | 3g |
| Glucose | 1g |
| Lactose..... | 10g |
| Saccharose..... | 10g |
| Chlorure de sodium..... | 5g |
| Citrate de Fer ammoniacal..... | 0,3g |
| Sodium Thiosulfate..... | 0,3g |
| Rouge de phénol..... | 0,05g |
| Agar..... | 18g |

Présentation : Gélose dans un tube a vis de 7mL.

Urée Indole :

Permet la recherche d'uréase, la production d'indole et la tryptophane désaminase (TDA) indique pour l'identification des *salmonella*.

Composition type (g/L)

| | |
|-------------------|----|
| Tryptophane | 3g |
|-------------------|----|

Phosphore dipotassique.....1g

Phosphate monopotassique....1g

Chlorure de sodium.....5g

Urée..... 20g

Rouge de phénol.....2, 5g

Présentation : Bouillon en ampoules de 10mL

Eau physiologique stérile :

L'Eau physiologique à 0,85 % est un diluant isotonique utilisé pour les dilutions ou la réalisation de suspensions bactériennes.

Composition type (mg/L) :

Chlorure de sodium.....8,50mg

Présentation : Flacon de 10mL.

Galerie Api 20 E : (Galleries API biomérieux)

Principe :

Le système API® Biomérieux (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries.

Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition de réactifs.

Elle permet l'identification d'une centaine de bacilles à Gram négatif dont les *salmonelles*. Elle comprend **20** tests biochimiques.

Réactif de VOGES – PROSKAUER I ET II :

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence d'acétyl-méthyl carbinol (acétone) dans le milieu. Ce composé est un produit de dégradation de l'acide pyruvique par

les bactéries qui empruntent la voie de fermentation butanediolique caractéristique de certaines Entérobactéries.

Composition type :

VP I : Soude caustique (NaOH).

VP II : Alphanaphtol et Alcool 95°.

Réactif de KOVACS :

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de l'indole d'origine bactérienne en vue de l'identification des micro-organismes indole -positifs et indole- négatifs.

Composition type :

Para-dimethyl-amino-benzaldehyde.

Alcool isoamylitique.

Alcool chlorhydrique.

Milieu Mueller Hinton :

Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides. Il constitue également un excellent milieu de base pour la fabrication de gélose au sang.

Composition type (g/L) :

Extrait de viande.....3g

Hydrolysat acide de caséine.....17,5g

Amidon.....1,5g

Agar.....6g

Présentation : Gélose en flacon de 225mL.

Milieu de conservation :

Milieu principalement destiné à la conservation de souches bactériennes.

Composition type (g/L) :

Extrait de viande.....3g

Proteose peptone.....10g

Chlorure de sodium.....3g

Disodium phosphate..... ..8g

Agar.....10g

Présentation : Hydraté en tube de conservation de 3mL.

Sérum agglutinants anti-salmonella :

Les sérums agglutinant anti-salmonella sont préparés pas immunisation de lapin au moyen de suspension bactérienne de souches sélectionnées.

| Libelle | Présentation | Code |
|--------------------------------|--------------|-----------|
| S.Anti.Salmo.Mono. H : a | F/ 1,2 ml | 15 151101 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : b | F/ 1,2 ml | 16 151102 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : d | F/ 1,2 ml | 17 151104 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : f, g | UN | 18 151106 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : g, s, t | UN | 19 151107 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : i | F/ 1,2 ml | 20 151109 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : m, t | F/ 1,2 ml | 21 151112 |
| S.Anti.Salmo.Mono. H : z29 | F/ 1,2 ml | 22 151001 |
| S.Aggl.Anti.Salmo. H : 1 | F/ 1,2 ml | 23 151130 |
| S. Salmo.Mono. g. m | UN | 24 151001 |
| S. Salmo.Mono. g. p | F/ 1,2 ml | 25 152102 |
| S.Anti.Salmo.Mono. O :9 | F/ 1,2 ml | 26 152109 |
| S.Anti.Salmo. O :1,2 | F/ 1,2 ml | 27 152112 |

| | | |
|--------------------------------------|-----------|-----------|
| S.Anti.Salmo.Mono. O :3,10,15 | F/ 1,2 ml | 28 152115 |
| S.Anti.Salmo.Mono. O :1,3,19 | F/ 1,2 ml | 29 152119 |
| S.Anti.Salmo.Mono. O :4,5 | F/ 1,2 ml | 30 152145 |
| S.Anti.Salmo.Mono. O :6,7 | F/ 1,2 ml | 31 152167 |
| S.Anti.Salmo.Mono. O :6,8 | F/ 1,2 ml | 32 152168 |
| S.Anti.Salmo.Mono. O :6,7,8 | F/ 1,2 ml | 33 152168 |
| S. Salmo.Mono.Mel. H,G | F/ 1,2 ml | 34 153101 |

Autres matériels :

-Etuve de séchage : VWR INCU-line 150R ECN : 390-0729 SN : 15R 160237.

-Etuve d'incubation: memert 854 shwaback / TV30 uL / 651067 = 37°.

-Densimètre : Densimat / Biometrieux SA France / IDN 009946.

-Microscope phtonique.

-Pipette Pasteur : Volac, Poulen et Graf. ISO1712

-Ecouvillon : APTACA

-Lame en verre

-Lamelle

Fiche accompagnant les échantillons :

-N° du dossier :.... /.....

-Date de réception :.....

-Propriétaire/Nom de l'exploitation :

-Adresse :.....

-Nom du Vétérinaire :.....

-N° Tel :.....

-Nature du prélèvement : Repro chair :.....(Age).....(Nombre).....

Poulet de chair : (Age).....(Nombre).....

Poussins chair :.....(Age).....(Nombre).....

Œufs à couvrir/ œufs embryonnés :(Age).....(Nombre).....

Autre prélèvement :.....

-Origine du prélèvement :.....

-Souche :.....

-Age de la parentale :.....

-Capacité du bâtiment :.....

-Capacité de l'exploitation :.....

-Information complémentaire : -Signes cliniques :.....

-Début de la maladie :.....

-Traitement éventuel :.....

-Programme de vaccination :.....

Questionnaire distribuer :

- Wilaya :

- Type d'élevage :

- Poulet de chair
- Poule pondeuse
- Repro chair
- Repro ponte
- Dinde de chair
- Repro dinde

-Souche :

-Taille de l'élevage :

- Moins de 5000 sujets
- Entre 5000 et 10000 sujets
- Plus de 10000 sujets

-Type de construction:

- Parpaing en ciment
- Parpaing de terre
- Murs en PVC
- Autres

-Type de sols :

- Béton
- Terre battus
- Autres

- Type de ventilation :

- Dynamique
- Statique

- Densité des animaux :

- Moins de 10 / m²
- Plus de 10 / m²

-Taux de mortalité dans la bande :

- Moins de 10 %
- Plus de 10 %

- Accès d'autres animaux

- Oui
- Non

- Opération de Désinfection, Désinsectisation, Dératisation pratiquée par :

- Méthode traditionnelle
- Méthode moderne

- Aliment distribué :

- Fabriqué localement
- Acheté

ANNEXE 2

Méthode de diagnostic :

1) Enrichissement :

Se déroule en deux temps :

- Le premier jour chaque prise d'essai (fragment d'organe et/ou le mélange d'œufs) a été mise dans un bouillon SFB de 100 mL contenant 5 additifs
- additifs, incubée à 37°C pendant 20 à 24 h.

Préalablement, faire des isollements directs sur milieu Hektoen à l'aide d'écouvillons puis pipettes Pasteur (étape faite uniquement pour les fragments d'organe) ensuite placée à l'étuve.

- Le deuxième jour 1 à 2 mL du premier SFB qu'on nommera SFB1 sont mise dans un tube de bouillon SFB de 10 mL contenant 1 additif qu'on nommera SFB2 puis procéder à l'incubation pendant 20 à 24h à 37°.

2) Isolement :

Par la technique des stries d'épuisement, une goutte de culture d'enrichissement SFB 1 après son incubation estensemencée sur le milieu Hektoen 1, nous procédons de la même technique pour le SFB2 ainsi nous obtiendrons le milieu Hektoen 2.

Toutes les boîtes sont incubées à 37°C pendant 20 à 24 h.

3) Identification :

Après incubation, on examine les boites afin de rechercher la présence de colonie noire à halo clair caractéristiques des salmonelles, la ou les colonies suspectes passe au repiquage pour les différentes démarches d'identification.

3.1) Identification Microscopique :

a) Préparation du frottis :

- Etalement : Prendre une lame propre, faire un prélèvement de l'inoculum bactérien
- Séchage : Sécher rapidement en passant la préparation au-dessus de la flamme d'un bec bunsen.
- Fixation : Verser quelques gouttes d'alcool à 95°C et enflammer, les bactéries sont tuées et « fixées » sur la lame

b) Coloration de gram :

Le protocole est le suivant :

- Après la préparation du frottis, le recouvrir de violet de gentiane (violet cristal oxalaté) ; laisser agir 1mn ; rincer à l'eau distillée.
- Verser du Lugol et laisser agir pendant 1mn ; rincer à l'eau distillée.
- Décolorer à l'alcool à 95°C entre 15 et 30 s ; rincer à l'eau distillée.
- Recolorer avec de la Fushine pendant quelque seconde ; rincer à l'eau distillée.
- Verser une goutte d'huile d'immersion, procéder à l'observation microscopique avec l'objectif ×100

3.2) Identification biochimique :

a) Test oxydase :

Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN-diméthyl-paraphénylène diamine) en un dérivé rose violacé.

Technique : Nous avons placé un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée, puis déposer une goutte de réactif sur le disque non imprégné, avec une pipette Pasteur nous avons prélevé une colonie sur milieu solide et on la déposer doucement sur le disque.

Lecture : Pas de lecture avant 30 secondes environ

-Pas de tache rose violette, la bactérie ne possède pas l'activité oxydase elle est dite Oxydase

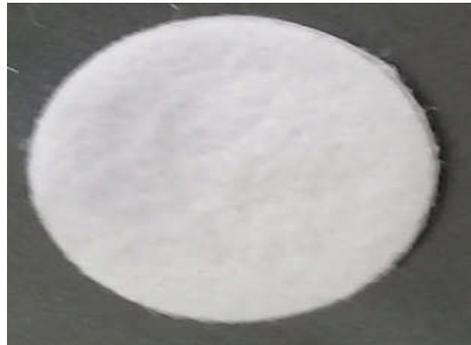


Figure A1: Résultat du test d'oxydase.

b) Test catalase :

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

-Technique : Sur une lame une goutte d'eau oxygénée (= peroxyde d'hydrogène) a été déposé à l'aide d'une pipette Pasteur, puis nous avons prélevé une colonie à l'aide de l'anse qu'on a dissocié dans la goutte.

Lecture : Formation de bulles d'oxygène la bactérie est dite Catalase +.

Figure A2: Aspect d'une réaction catalase



c) Repiquage sur TSI :

Dans un tube à essais on met 0.5 mL d'urée ; avec une pipette Pasteur on prélève une colonie dans le milieu Hektoen qu'on mélange avec l'urée

préalablement préparer, ensuite avec la même pipette on fait des stries avec piqure centrale sur le TSI, puis mettre à l'étuve pendant 20 à 24 h à 37°C.

Lecture du TSI: La culture de *Salmonella* correspond à une pente alcaline rouge, avec formation de gaz, et un culot acide jaune et noircissement de la gélose par H₂S.

Lecture du tube de l'urée : La couleur du milieu reste inchangé pour les souches suspectes, et sont dites uréase négative (non productrices d'uréase). Dans le cas contraire, il vire au rose.

d) Galerie api 20 E :

-Préparation d'une suspension riche à partir du TSI déjà incubé (avec de l'eau distillée ou eau physiologique) de densité de 0.5 MacFarland.

-Remplir les 20 microtubes avec la suspension par une pipette Pasteur munis d'une poire pour l'aspiration (en respectant la limite de remplissage indiqué pour chaque cupule comme mentionner dans le tableau A1).

-Ajouter la paraffine pour les cupules concernées par l'addition

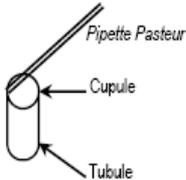
| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Remplir les tubules et les cupules des tests du type <u>CIT</u> | <p>Remplissage des tubes :</p>  <p>Remplir en posant la pipette contre la paroi de la cupule.</p> |
| Remplir les tubules des tests du type <u>ADH</u> et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l' anaérobiose . | |
| Remplir uniquement les tubules des tests restants | |

Tableau A1 : Méthode de remplissage des cupules.

-Incuber 20 à 24 h à 37°C.

-Après l'incubation remplir les cupules nécessitant l'addition de réactifs :

- 1g de VPI et 1g VPII dans la cupule du VP.

- du Kovac dans la cupule de l'indole.

- TDA dans la cupule du TDA.

-Laisser quelques minutes pour passer à la lecture.



Figure A3: Résultat d'une Galerie Api 20 E.



Figure A4 : Interprétation des résultats de la Galerie.

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISEE API 20E

| Microtube | Substrat | Caractère recherché | Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire) | Résultat + | Résultat - |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| ONPG | Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside | β -galactosidase | Lecture directe |  |  |
| ADH LDC ODH | Arginine Lysine Ornithine | Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase | Lecture directe |  |  |
| CIT | Citrate | Utilisation du citrate | Lecture directe |  |  |
| H ₂ S | Thiosulfate de sodium | Production d'H ₂ S | Lecture directe |  |  |
| URE | Urée | Uréase | Lecture directe |  |  |
| TDA | Tryptophane | Tryptophane désaminase | Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer |  |  |
| IND | Tryptophane | Production d'indole | Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs |  |  |
| VP | Pyruvate de sodium | Production d'acétone | Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol |  |  |
| GEL | Gélatine emprisonnant des particules de charbon | Gélatinase | Lecture directe |  |  |
| GLU à ARA | Substrat carboné | Utilisation de substrat carboné | Lecture directe |  |  |
| NO ₂ /N ₂ | Nitrates (NO ₃) | Nitrate réductase | Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif |  | |

3.3) Identification antigénique

Test d'agglutination sur lame :

- Une goutte de sérum test a été déposée sur une lame.
- A partir du TSI et à l'aide d'une pipette pasteur, nous déposons une portion de la colonie à proximité de la goutte de sérum.
- La colonie a été dissociée avec le sérum test, et nous avons incorporé progressivement les bactéries dans le sérum (mélange opalescent, homogène).
- La lame a été agitée pendant un certain temps.
- Lecture : voir s'il y a formation d'un agglutinat.



Figure A5: Résultat du test d'agglutination de la souche *salmonella* Virchow.

4) Antibiogramme :

La sensibilité des souches aux différents antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton Agar, pour 10 disques d'antibiotiques, ces derniers ont été déposés dans les boîtes inoculées par une suspension bactérienne à l'échelle de 0.5 MacFarland. Après 24 h d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition ont été mesurées et interprétées en sensible (S), résistant (R), ou intermédiaire (I).

| Famille | Antibiotiques | Concentration du disque | Disque diffusion | | |
|-----------------|------------------------------------|-------------------------|------------------|-------|-----|
| | | | R | I | S |
| B-Lactamines | Ampicilline | 10 ug | ≤13 | 14-16 | ≥17 |
| | Amoxicilline + acide Clavulanique | 30 ug | ≤13 | 14-17 | ≥18 |
| Cephalosporines | Ceftiofur | 30 ug | ≤22 | 23-25 | ≥26 |
| Aminosides | Neomycine / Kanamycine | 30 ug | ≤13 | 14-17 | ≥18 |
| Polypeptide | Colistine | 10 ug | ≤10 | - | ≥11 |
| Sulfamide | Triméthoprimine + Sulfaméthoxazole | 25 ug | ≤10 | 11-15 | ≥16 |
| Quinolones | Flumequine | 30 ug | ≤13 | 14-18 | ≥19 |
| Tétracyclines | Enrofloxacin | 50 ug | ≤16 | 17-22 | ≥23 |
| Phénicol | Tétracycline | 30 ug | ≤14 | 15-18 | ≥19 |
| Furanes | Nitrofurantoïne | 300 ug | ≤14 | 15-16 | ≥17 |

Tableau A3 : Tableau illustrant la concentration et les diamètres de diffusion des disques d'antibiotiques.