



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة زيان عاشور-الجلفة  
Université Ziane Achour – Djelfa  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie



## Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie Appliquée  
Option : Microbiologie Appliquée

### Thème

**Isolement, identification et étude de l'antibiogramme de  
*salmonella spp* et autres entérobactéries chez la volaille  
dans la région de Djelfa**

Présenté par : - JAKDALLI Morad  
- CHETTOUH Saad

Devant le jury :

Président : YABRIR B.	M.C.A.	Univ. Djelfa
Promotrice : CHENOUF N.S.	M.A.A.	Univ. Djelfa
Examineurs : MOSTEFAOUI A.	M.C.A.	Univ. Djelfa
Examinatrice : CHENOUF A.	M.A.A.	Univ. Djelfa

Année universitaires : 2017/2018

# Remerciements

*Nous tenons à remercier en premier lieu «Allah» le tout puissant miséricordieux de nous avoir donné le courage et la confiance ainsi que la volonté pour préparer ce travail*

*Nous remercions nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite.*

*Nous tenons à adresser nos sincères remerciements, Nos haute considération et plus grand respect à notre promotrice **M<sup>lle</sup> CHENOUF NADIA** qu'en tant que directrice de mémoire. C'est toujours montrée à l'écoute, on le remercie pour sa compréhension, sa disponibilité et le temps qu'elle nous a rapporté, Nous la remercions infiniment.*

*Qu'il trouve le témoignage de ma haute considération et de mon profond respect.*

*Nous aimerions exprimer notre gratitude et remerciements à tous les membres de jury qui ont accepté d'évaluer notre travail et de nous avoir honorés par leur présence.*

*Au terme de ce travail, Nous tenons à remercier chaleureusement tous les professeurs qui nous enseignés durant nos études ainsi que les personnels administratifs, et toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de département de biologie à l'université de Ziane Achour de DJALFA, en particulier **AISSA** et **ZINEB**, et mes amies **Sihem**, **Nassira** et **Khansaa**.*

*On teint à remercier toute me famille, tous les amis de notre promotion qui nous ont toujours soutenues et encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*\*Merci\**

*A ceux celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.*

*Merci à tous*

# Dédicaces

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que Je dédie ce modeste travail, fruit de études:*

*À mes très chers parents **Ben-Alia** et **Oum-El-Kheir** : vous m'avez donné la vie, La tendresse et le courage pour réussir. qui m'ont aidés et entourés d'amour avec fierté je leur exprime ma profonde reconnaissance et gratitude pour, leur confiance, leur financement soutien moral inconditionnel ainsi que pour leurs sacrifices, disponibilité et encouragements durant tout mon parcours vers un avenir meilleur.*

*Tout ce que je peux vous offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je vous porte ; qu'Allah vous préserve et vous procure santé et longue vie.*

*Mes chers frères **Ameur**, **Rachid** et **Hossine** ; et ma sœur **Soria** , qui m'ont toujours encouragé et aider dans tous mes recherches de mon parcours avec beaucoup de dévouement de tendresse et surtout d'amour et d'affection, qui ont toujours éclairé mon chemin.*

*Toute ma grande famille en témoignage mon profond respect .*

*À toutes mes amies et surtout mes intimes: **Sihem** , **Widad**...  
Une dédicace particulière pour mes enseignants et mes collègues de la faculté des Sciences Biologiques.*

*Tous ceux qui ont contribué près ou de loin à finaliser ce travail.*

*Je vous dis merci.*

*Enfin, à tous ceux qui m'aiment.*

**JAKDALLI MORAD**



# *Dédicaces*

*Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous avoir guidé vers  
le droit chemin*

*Je dédie ce modeste travail à ma cher mère, mon très cher père pour leur  
amour inestimable, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su  
m'inculquer.*

*Que dieux vous garde, vous comble de santé, et vous donne longue vie.*

*A mes chers ma fierté dans cette vie.*

*A mes chères amies , je les remercie pour le sourire qu'elles ont su  
toujours dessiner sur mon visage.*

*A mon binôme **JAKDALLI MORAD**, je la remercie pour le courage qu'il  
m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.*

*À toute ma famille ainsi qu'à mes camarades de la promotion*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce  
travail*

*chettouh Saad*



## Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction .....1

### Chapitre I: Synthèse bibliographique

#### *Généralité sur les salmonelles*

1. Historique .....	3
2. Taxonomie et nomenclature .....	3
3. Caractères bactériologiques .....	5
3.1. Caractères morphologiques .....	5
3.2. Caractère culturaux .....	5
3.3. Caractères biochimiques .....	5
3.4. Caractères antigéniques .....	6
3.4.1. Antigène somatique O (Ag O).....	7
3.4.2. Antigène flagellaire (Ag H).....	7
3.4.3. L'antigène de virulence (Ag Vi).....	7
4.Habitat.....	8
5.Epidémiologie.....	8
5.1.Réservoir.....	8
5.2.Salmonella dans les élevages volailles.....	9
6. Pathogénie et symptômes associés aux salmonelles.....	10

7. Le processus infectieux de <i>salmonella</i> .....	11
8. Facteur de virulence.....	11
9. Détection et identification des <i>salmonelles</i> .....	12
9.1. Les méthodes phénotypiques .....	12
9.2. Méthodes moléculaires .....	13
10. Résistance des <i>salmonelles</i> aux antibiotiques.....	14
10.1. Molécules d'antibiotiques actives contre les <i>salmonelles</i> .....	14
10.2. Historique de la résistance de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques.....	14
10.3. Situation de l'antibiorésistance de <i>Salmonella</i> en Algérie .....	15

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

1. Rappel des objectifs.....	17
2. Echantillonnage.....	17
3. Analyses bactériologiques.....	17
3.1. Pré-enrichissement.....	18
3.2. Enrichissement.....	18
3.3. Isolement.....	19
3.4. Purification.....	19
3.5. Identification.....	20
3.5.1. Coloration de Gram.....	20
3.5.2. Etude du profil biochimique des souche d'entérobactéries.....	20
3.5.3. Identification biochimique .....	20
a. Test d'uréase.....	20
b. Test d'indole.....	21
c. Test de la TDA.....	21
d. Test TSI.....	22

e. Test ONPG.....	22
3.5.4. Identification biochimique par la galerie API20E.....	23
4. Détermination de l'antibiorésistance des souches bactérienne isolées.....	25

### **Chapitre III : Résultats et discussion**

1. Résultats de l'isolement et de l'identification .....	29
2. Résultats du profil de résistance .....	32
2.1. Résultats de tous les isolats .....	32
2.2. Résultats des souches de <i>Salmonella spp</i> .....	34
2.3. Résultats par type d'antibiotiques .....	35
2.3.1 la résistance des $\beta$ - lactamines.....	35
2.3.2 la résistance des Polypeptides.....	36
2.3.3. la résistance des Phenicolés .....	37
2.3.4. la résistance des Quinolones .....	37
2.3.5. la résistance des Tétracyclines .....	38
2.3.6. la résistance des Aminoglycosides.....	39
2.3.7. la résistance des acides phosphoniques ..	40
2.4. Multi-résistantes.....	40
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>43</b>

#### **Références bibliographiques**

#### **Annexe**

### Liste des abréviations :

**ADH** : Arginine dihydrolase

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**AMC** : Amoxicilline+ acide clavulanique.

**AMX**: Amoxicilline.

**API 20E** : Analytical Profile Index 20 Entérobactéries.

**ATM** : Aztréoname.

**BHIB**: Brain heart infusion broth

**BLSE** :  $\beta$ -Lactamases à Spectre Étendu.

**BMR** : bactéries multirésistantes

**C** : Chloramphénicol.

**°C** : Degré Celsius.

**C3G** Céphalosporines de Troisième Génération.

**CAZ** : Ceftazidime.

**CDC** : The Center for Disease Control and prevention.

**CIP** : Ciprofloxacine.

**CIT**: Citrate.

**CL** : Chloramphénicol.

**CS** : Colistine Sulfate.

**CT**: Colistine.

**CTX** : Céfotaxime.

**FF**: Fosfomycine.

**FOX** : Cefoxitine.

**FQ** : Fluoroquinolones

**GEL**: Gélatine.

**GEN** : Gentamycine.

**H** : heure.

**H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'hydrogène.

**HK** Hektoen.

**IMP** : Imipenem.



**IND** : Indole.

**KCN** : Potassium cyanide.

**LCD** : Lysine Décarboxylase.

**ODC** : Ornithine Décarboxylase.

**URE** : Urée.

**LEV** : Levofloxacin.

**LPS** : lipopolysaccharide.

**MH** : Muller Hinton.

**NA** : Acide nalidixique.

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

**ONPG** : Ortho nitro-phényle-galactoside.

**pH** : potentiel d'Hydrogène.

**PLP**: protéine liant pénicilline.

**R** : Résistant.

**S** : Sensible.

**RVS** : Rappaport Vassiliadis Soja.

**S.** : *Salmonella*.

**Spp** : abréviation de species au pluriel représente l'ensemble des espèces du genre.

**TDA** :Tryptophane désaminase.

**TE** : Tétracycline.

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**TDA** : Tryptophane désaminase.

**VIP**: Vasoactive Intestinal Polypeptide.

**VP** : Voges Proskauer.

**WHO** : World Health Organization.

**XLD** : Xylose-Lysine- Désoxycholate.

## Liste des Figures

<b>Figure 1:</b> Taxonomie de <i>Salmonella</i> (Langridge et al., 2005).....	4
<b>Figure 2:</b> Cycle simplifié de la transmission des <i>salmonelles</i> dans la filière avicole (Castagnos, 2003).....	10
<b>Figure 3:</b> Les facteurs de virulence de <i>Salmonella</i> (Madigan et Martinko, 2007).....	12
<b>Figure 4:</b> Détection de <i>Salmonella spp.</i> dans les aliments selon la méthode normalisée ISO 6579:2002 (AFNOR, 2002).....	13
<b>Figure 5:</b> Prélèvement d'organes.....	17
<b>Figure 6:</b> Fragmentation des organes .....	18
<b>Figure 7:</b> Enrichissement dans le BHIB .....	18
<b>Figure 8:</b> Ensemencement sur milieu gélosé Hektoen .....	19
<b>Figure 9:</b> Purification par repiquage sur Hektoen .....	19
<b>Figure 10:</b> Identification par Test d'uréase .....	20
<b>Figure 11:</b> Identification par Test d'indole .....	21
<b>Figure 12:</b> Identification par Test de la TDA .....	21
<b>Figure 13:</b> Identification par Test TSI .....	22
<b>Figure 14:</b> Identification par ONPG .....	22
<b>Figure 15:</b> Présentation la galerie API20E.....	23
<b>Figure 16:</b> Préparation de l'inoculum.....	24
<b>Figure 17:</b> Ensemencement de la galerie API20E .....	24
<b>Figure 18:</b> Identification biochimique par la galerie API20E .....	25
<b>Figure 19:</b> Différents étapes de l'antibiogramme .....	28

<b>Figure 20:</b> Répartition des souches isolées.....	29
<b>Figure 21:</b> Aspect de colonies suspectes de <i>Salmonella</i> su milieu Hektoen.....	30
<b>Figure 22:</b> Résultat de l'identification de <i>Salmonella</i> spp. <i>Citrobacter freundii</i> et <i>Proteus mirabilis</i> .....	30
<b>Figure 23:</b> Fréquences de résistance des souches d'entérobactéries isolées.....	32
<b>Figure 24:</b> Fréquences de résistance des souches de <i>salmonelles</i> isolées.....	34
<b>Figure 25:</b> Profil d'antibiorésistance des salmonelles vis-à-vis des $\beta$ -lactamines.....	36
<b>Figure 26:</b> Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis de la famille polypeptides.....	36
<b>Figure 27:</b> Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des Phénicolés.....	37
<b>Figure 28:</b> Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des quinolones.....	38
<b>Figure 29:</b> Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des tétracyclines.....	38
<b>Figure 30:</b> Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des Aminoglycosides.....	39.
<b>Figure 31:</b> Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis de la famille phosphonique.....	40
<b>Figure 32:</b> Fréquence des multi-résistances.....	41

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1:</b> Caractères biochimiques de <i>Salmonella</i> .....	6
<b>Tableau 2:</b> Exemples de <i>Salmonella</i> adaptées à des hôtes.....	9
<b>Tableau 3:</b> Différents molécules d'antibiotique testées.....	26
<b>Tableau 4:</b> Fréquences de sensibilité et de résistances des différents isolats.....	33
<b>Tableau 5:</b> Fréquences de sensibilité et de résistances des isolats de <i>salmonelles</i> .....	35
<b>Tableau 6:</b> Fréquences des multi-résistances.....	41

**ملخص**

تم عزل 39 سلالة من البكتيريا المعوية للدجاج، وتم دراسة حساسيتها اتجاه مضادات حيوية ذات اهمية بشرية و حيوانية. في المختبر ، تم الكشف عن مدى حساسية هذه البكتيريا ضد 16 مضاد حيوي عن طريق اختبار نشر قرص المضاد الحيوي على الأجار . اعلى معدل مقاومة سجل ضد التتراسيكلين (100 % ) ، السيفتازيديم وحمض الناليديكسيك (79.31 % ) ، الأموكسيسيلين والأوفلوكساسين (72.41 %). تم تسجيل مستويات مقاومة متوسطة للكوليسيتين كبريتات (62.07%) في حين تم الإبلاغ عن انخفاض المقاومة ضد السيفوتاكسيم والسيروفلوكساسين و ليفوفلوكساسين (27.59%)، سيفوكسيتين (20.69%)، الجنتاميسين (17.24%)، الكلورامفينيكول (13.79%)، الأموكسيسيلين / حمض الكلافولينيك و الأزترينوم (10.34%)، الإيميبينيم (6.90%) و الفوسفومييسين (0.00%).

**الكلمات المفتاحية :** البكتيريا المعوية، المقاومة ضد المضادات الحيوية، الدواجن.

**Résumé**

39 souches d'entérobactéries ont été isolées chez le poulet de chair et ont été examinées pour la sensibilité vis-à-vis des antibiotiques d'importance humaine et vétérinaire. In vitro, l'activité de 16 molécules d'antibiotiques contre les isolats a été déterminée par le test de diffusion sur gélose. Le taux de résistance le plus haut est observé à l'encontre de Tétracycline (100%), ceftazidime et acide nalidixique (79.31%), amoxicilline et ofloxacine (72.41%). Des niveaux de résistance moyens sont enregistrés vis-à-vis de la colistine sulfate (62.07%). Tandis qu'une faible résistance est signalée pour la céfotaxime, la ciprofloxacine et la levofloxacine (27.59%), la cefoxitine (20.69%), la gentamicine (17.24%), le Chloramphénicol (13.79%), l'amoxicilline-acide clavulanique et l'aztréonam (10.34%), l'imipénème (6.90%), fosfomycine (0.00%).

**Mots clés :** Entérobactéries, antibiorésistance, , volaille.

**Abstract**

39 strains of *Enterobacteriaceae* were isolated from broiler chickens, were examined for susceptibility to antimicrobial of human and veterinary significance. In vitro, antibiotic activities of 16 antibiotic substances against the isolates were determined by disc diffusion test. Antibiogram revealed a high level of resistance to Tétracycline (100%), ceftazidime and acide nalidixique (79.31%) , amoxicilline and ofloxacine (72.41%). Mean resistance levels were recorded for Colistine sulfate (62.07%). While low resistance is reported for céfotaxime and ciprofloxacin and Levofloxacin (27.59%), cefoxitine (20.69%), Gentamicin (17.24%), Chloramphenicol (13.79%), amoxicillin-acid clavulanic and aztreonam (10.34%), Imipénème (6.90%), Fosfomycine (0.00%)

**Key words:** *Enterobacteriaceae*, antibioresistance, , poultry.



***Introduction***

## Introduction

Grâce à leur richesse en protéines, les produits alimentaires d'origine animale sont largement consommés à travers le monde. Ils prennent une place importante dans notre alimentation quotidienne.

Cependant, la qualité bactériologique de ces aliments n'est pas toujours assurée du moment qu'ils peuvent héberger de nombreux germes pathogènes pouvant être à l'origine de graves toxi-infections alimentaires (Chenouf et *al.*, 2016).

En fait, les gastroentérites à *Salmonella* représentent une des causes principales de toxi-infections alimentaires dans les pays développés et de mortalité infantile dans les pays en voie de développement. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS, 2013), les pays en voie de développement sont les plus touchés par de maladies alimentaires entre autres les salmonelloses. Les salmonelloses occupent une place prépondérante par le nombre de sérotypes et d'intoxications provoquées (Coulibaly et *al.*, 2010).

Le poulet de chair est le principal type de volaille consommé dans de nombreux pays du monde, y inclut l'Algérie. Malgré les efforts des éleveurs de volailles à travers le monde, le taux de contamination de la volaille vivante par *Salmonella spp.* reste toujours très élevé. A l'échelle globale, il a été estimé que la majorité des épidémies de salmonelloses implique le poulet comme moyen de transmission (Greig et Ravel 2009). Ceci constitue une préoccupation majeure dans la filière avicole (Corrégé, 2001).

Avec l'émergence de souches de plus en plus résistantes aux antibiotiques depuis le début des années 1990, des souches de salmonelles ont acquis progressivement les gènes de résistance aux antibiotiques majeurs utilisés en médecine humaine et vétérinaire, laissant craindre la perspective d'impasse thérapeutique pour les infections les plus sévères (Silva et Le Hello, 2012). L'existence de souches multi-résistantes aux antibiotiques responsables de gastroentérites aggrave le problème de santé publique que constituent les salmonelloses.

Des études menées dans plusieurs pays, montrent que ces bactéries développent une résistance à certains antibiotiques, et face à cette situation, ces pays ont élaboré des réseaux de surveillance sur la résistance aux antibiotiques. En Algérie, plusieurs travaux ont été menés dans ce sens. On cite à titre d'exemple : Achek et *al.*, 2012 ; Chenouf et *al.*, 2016 et Djeffal et *al.*, 2018.

A l'instar de ces travaux, nous nous sommes intéressés à l'étude de la résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella spp* d'origine aviaire en Algérie et plus précisément dans la région de Djelfa. Elle a pour objectifs :

- L'isolement et l'identification des salmonelloses chez des abats de poulets de chair récoltés dans la région Djelfa ;
- L'évaluation du profil de l'antibioresistance des salmonelles isolées vis-à-vis d'une collection de molécules d'antibiotiques.





***Synthèse bibliographique***

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both with rounded ends and a slight shadow effect.

***CHAPITRE 1 :***  
***Généralité sur les salmonelles***

## Synthèse bibliographique « Généralité sur les *salmonelles* »

### 1. Historique

Les *salmonelles* sont des entérobactéries, nommées ainsi en l'honneur du médecin vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon (Bergeron, 2009).

En 1880, Eberth observe le bacille de la typhoïde dans des coupes de rate et de ganglion dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky. Le genre *Salmonella* a été utilisé après que le bactériologiste américain Daniel Salmon avait isolé en 1886 avec quelques collègues, une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella Choleraesuis*) 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 *salmonelles* à l'aide d'un nouveau test qu'il a appelé le sérodiagnostique. Depuis, de nombreux sérovars sont identifiés (Grimont et al., 2000; Camart-perie, 2006).

### 2. Taxonomie et nomenclature

Les *salmonelles* sont des bactéries de la famille des Enterobacteriaceae et du genre *Salmonella*. Elle représente certainement le genre le plus complexe et le plus vaste de la famille des Enterobacteriaceae. Sa classification a fait l'objet de beaucoup de modifications et de controverses ces dernières années. Elle repose notamment sur le schéma de Kauffmann-White qui tient compte des caractères antigéniques O (paroi), H (flagelle), Vi (capsule), auxquels les données biochimiques et moléculaires (hybridation ADN-ADN) ont été ajoutées (Grimont et al., 2000).

Selon le Bergey's Manuel (2001), le genre *salmonella* fait partie de la famille des Enterobacteriaceae, de l'ordre des Enterobacteriales, de la classe des Gamma-protéobacteria et du Phylum des *Proteobacteria* (Scaria et al., 2008).

Comme indique la dernière nomenclature qui reflète les avancées récentes en taxonomie, le genre *Salmonella* se divise en deux espèces bien distinctes (Agasan et al., 2002): la première est *Salmonella enterica*, espèce majoritaire, qui se divise en six sous-espèces: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica* (Popoff et al., 2004; Tindall et al., 2005). La sous-espèce

*S. enterica subsp enterica* est-elle même divisée en plusieurs sérovar (figure 1): Dublin, Enteritidis, Infantis, Paratyphi, Typhi, Typhimurium, Virchow, ...etc. (Aubry, 2013).

La deuxième espèce est *Salmonella bongori* qui correspond à l'ancienne sous-espèce V de *S. enterica* et ne représente qu' 1% du genre, rarement isolée (Barrow et Methner, 2013).

Les sérovats s'écrivent avec une majuscule et en caractère romain (non italique) pour indiquer qu'il s'agit bien d'un sérovar et non pas d'espèce (Brenner et al., 2000). Ainsi, le sérotype Typhimurium par exemple, s'écrit: *Salmonella enterica subsp. enterica* sérovar Typhimurium ou de façon plus concise *Salmonella* Typhimurium ou *S. Typhimurium* (Korsak et al., 2004).

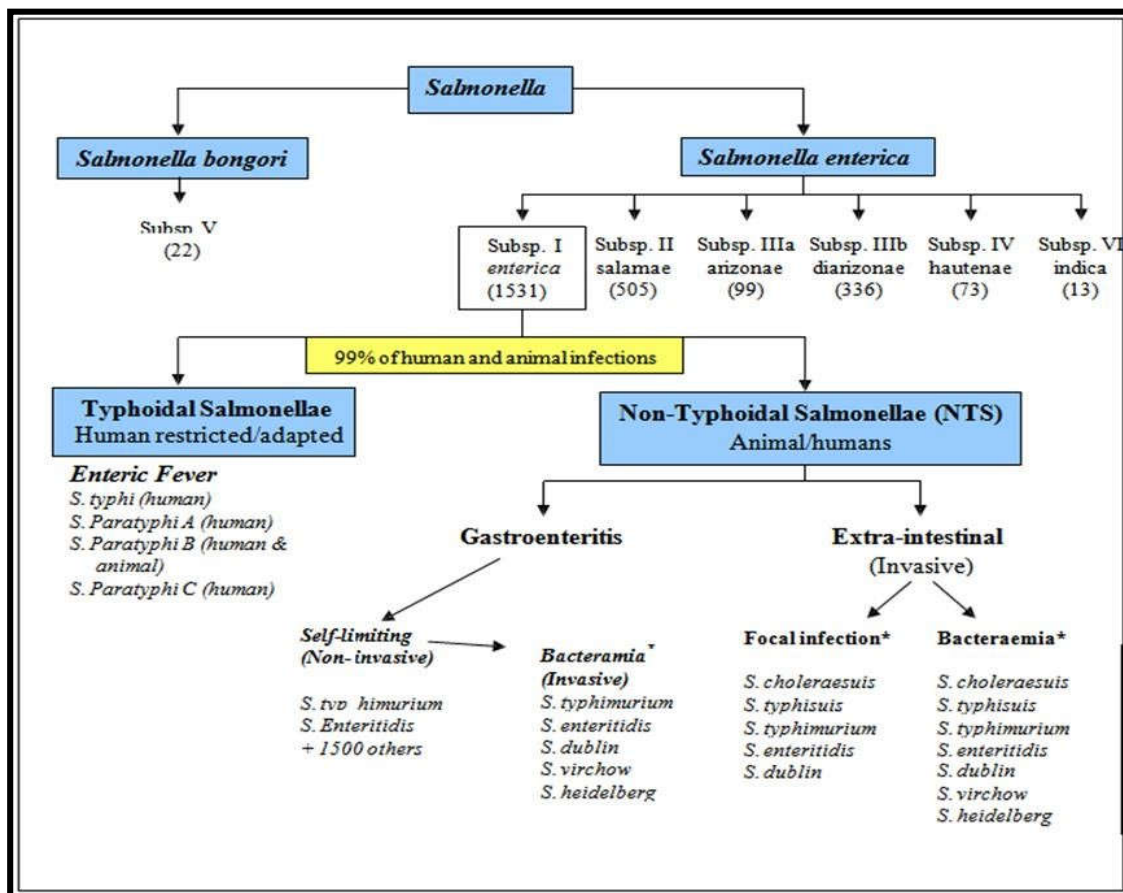


Figure 1: Taxonomie de *Salmonella* (Langridge et al., 2005).

### 3. Caractères bactériologiques

#### 3.1. Caractères morphologiques

Les bactéries du genre *Salmonella* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulants, généralement mobiles grâce à des flagelles péritriches à l'exception de certains sérovars aviaires: *S. Gallinarum* et *S. Pullorum* (Andino and Hanning, 2015). Ces bâtonnets varient entre 2.0 et 5.0 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur (Korsak et al., 2004; Moreno et al., 2009).

#### 3.2. Caractères cultureux

Les *salmonelles* sont des bactéries mésophiles, peu exigeantes d'un point de vue nutritionnel. Elles peuvent se cultiver sur milieu ordinaire contenant des extraits de viande (Le Minor et Richard, 1993). Elles sont aéro-anaérobies facultatives. Après une période de 18 à 24 heures d'incubation à 37 ° C sur un milieu ordinaire et de pH compris entre 6.5 à 7.5, les colonies obtenues ont un diamètre de 2 à 4 mm à l'exception de certains sérovars donnant toujours des colonies naines tel que: *S. Abortusovis* et *S. Abortusequi* (Legiot et al., 1993; Bourgeois et al., 1996).

#### 3.3. Caractères biochimiques

Les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont l'absence d'uréase, de tryptophane désaminase, mais également l'absence de production d'indole et d'acétoïne. Elles réduisent les nitrites en nitrates, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, et fermentent le glucose. Cependant, elles ne fermentent ni le lactose ni le saccharose. Par ailleurs, elles produisent du gaz à partir du glucose (sauf *Salmonella* Typhi). La réaction au test à l'oxydase est toujours négative (Korsak et al., 2004).

En résumé, les caractères biochimiques de la majorité des souches de *Salmonella* isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud, appartenant à la sous-espèce I sont présentées dans le tableau 1. Les deux espèces du genre *Salmonella* peuvent être différenciées par leurs caractères biochimiques : *Salmonella bongori* ne fermente pas le sorbitol, contrairement à *Salmonella enterica*, et à l'exception de la plupart des souches de cette dernière, elle se cultive sur un milieu contenant du KCN.

Les six sous-espèces de l'espèce *Salmonella enterica* peuvent aussi être identifiées et différenciées par leurs caractères biochimiques (Korsak, 2004).

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

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 <sub>2</sub> 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	-

Source : Gledel (1996).

(1) Sauf *S. Gallinarum* ;

(2) Sauf les sérovars *TyphietGallinarum* ;

(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.

### 3.4. Caractères antigéniques

Les *salmonelles* peuvent posséder trois types d'antigènes présentant d'intérêt diagnostique (Dumas, 1958). L'antigène somatique (O), l'antigène flagellaire (H) qui est associé avec les

flagelles péritriches, et l'antigène capsulaire (Vi) qui est retrouvé seulement chez quelques sérovars de *Salmonella*, comme par exemple Typhi (Guthrie, 1992).

### 3.4.1. Antigène somatique O (Ag O)

L'antigène O est un antigène de la paroi. Les antigènes O sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS). C'est un complexe contenant une protéine, un polysaccharide et un composé phospholipidique. On distingue 67 facteurs O selon la nature des sucres entrant dans la constitution des unités oligosaccharidiques du polysaccharide (Humbert et al., 1998).

Les antigènes O sont formés d'une fraction lipidique appelée lipide A qui est responsable des effets toxiques, du core ou partie basale et du polysaccharide support de la spécificité (Gledel et Corbion, 1991).

Les antigènes sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires. Les facteurs majeurs sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O : 4, tyvélose pour O : 9) (Humbert et al., 1998).

Cet antigène est stable ; il résiste à l'alcool et au phénol pendant deux heures et demi à la température de 100°C (Dumas, 1958).

### 3.4.2. Antigène flagellaire (Ag H)

C'est un polymère de flagelline (protéine de structure des flagelles). Cet antigène est thermolabile, détruit par la chaleur à 100° C et par l'action de 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* (Grimont et al., 2000).

### 3.4.3. L'antigène de virulence (Ag Vi)

C'est un antigène de l'enveloppe, 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). Cet antigène correspond à une enveloppe polyosidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux (Thiaw, 1998). L'antigène Vi, d'intérêt diagnostique, masque l'antigène O, rendant les bactéries

«O-inagglutinables». Par chauffage de la suspension bactérienne à 100°C pendant 10 min, l'antigène Vi est solubilisé et l'antigène O devient accessible aux agglutinines.

#### **4.Habitat**

Les *salmonelles* peuvent survivre plusieurs semaines en milieu sec et plusieurs mois dans l'eau. Elles se retrouvent donc fréquemment dans les milieux aquatiques pollués, la contamination par les excréments d'animaux porteurs étant très importante. Les vertébrés aquatiques, notamment les oiseaux (Anatidés) et les reptiles (Chéloniens) sont d'importants vecteurs de *salmonelles*. Les volailles, les bovins et les ovins étant des animaux fréquemment contaminants, les *salmonelles* peuvent se retrouver dans les aliments, notamment les viandes et les œufs crus.

#### **5.Epidémiologie**

L'épidémiologie fait intervenir l'alimentation, surtout les viandes, les œufs et les produits laitiers.

##### **5.1. Réservoir**

D'un point de vue épidémiologique, les sérovars de *Salmonella* peuvent être classés selon l'espèce animale cible et le degré de pathogénicité de ces sérovars en trois catégories écologiques (Kingsley et Bäumler, 2000 ; Korsak et *al.*, 2004). Un premier groupe de sérotypes particulièrement pathogènes pour l'homme (responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde) n'est exclusivement isolé que chez celui-ci (Bäumler et *al.*, 1998 ; Hu et Kopecko, 2003).

Un deuxième est constitué par toute une série de sérotypes qui sont spécifiques aux espèces animales, auxquelles ils sont étroitement adaptés et chez qui ils sont de responsables de maladies parfois graves (diarrhées, avortements, ... etc.).

Enfin, la majorité des *salmonelles* sont ubiquistes. Leur ubiquité se traduit par un large spectre de réservoirs : humains (Todd et *al.*, 2008), animaux et mammifères (Dechet et *al.*, 2006 ; Swanson et *al.*, 2007). Sur la base de leur spécificité d'hôtes, les *salmonelles* sont distinguées en trois groupes (tableau 2).



**Tableau 2:** Exemples d'espèces de *Salmonella* adaptées à des hôtes

Groupe	Sérotype
Sérovars étroitement adaptés à l'homme	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. Typhi</i>,</li> <li>• <i>S. ParatyphiA</i>,</li> <li>• <i>S. ParatyphiC</i></li> <li>• <i>S. Sendai</i>.</li> </ul>
Sérovars étroitement adaptés à certains animaux	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. Dublin</i>(Bovins)</li> <li>• <i>S. Abortusovis</i>(ovins)</li> <li>• <i>S. Abortusequi</i>(chevaux)</li> <li>• <i>S. Gallinarum-Pullorum</i>(volailles)</li> <li>• <i>S. Cholerasuis</i>et<i>S. Typhisuis</i>(porcs)</li> </ul>
Sérovars ubiquistes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. Enteritidis</i></li> <li>• <i>S. Typhimurium</i></li> <li>• <i>S. Montevideo</i></li> <li>• <i>S. Panama</i></li> <li>• <i>S. Saintpaul</i></li> </ul>

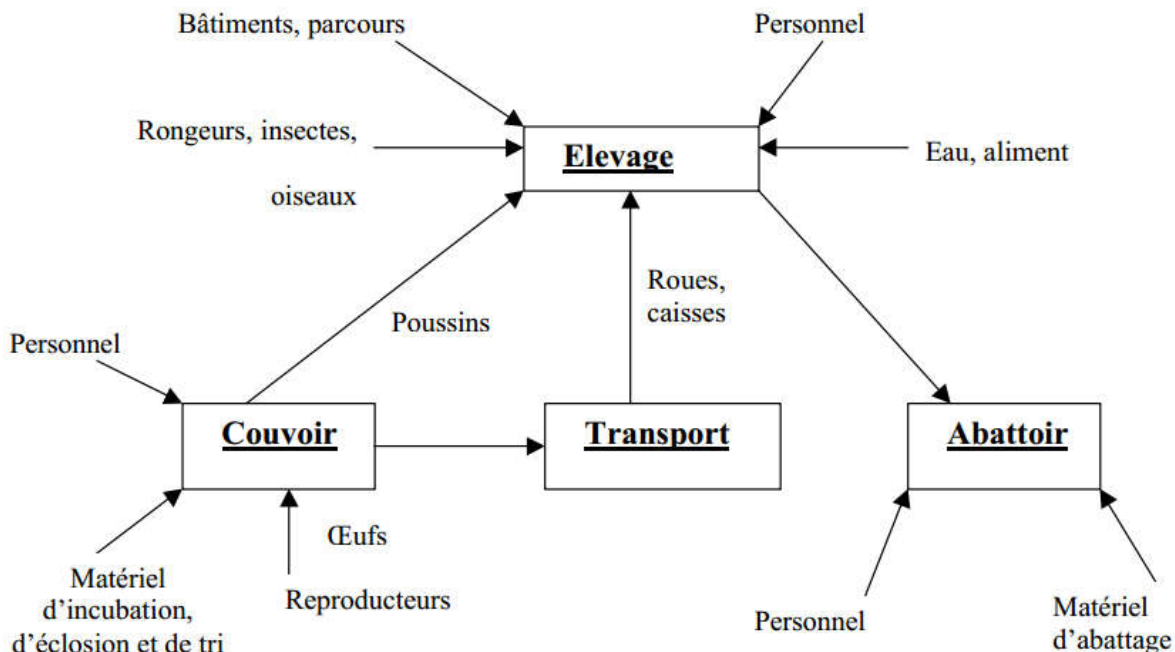
Source : Foley et al. ( 2013)

## 5.2. *Salmonella* dans les élevages de volailles

La viande de volaille est l'une des sources les plus importantes de l'infection humaine. Généralement, l'infection à *Salmonella* est due à une forte pollution par les excréments d'oiseaux infectés pendant la transformation des abattoirs ou les magasins (Jerngklinchan et al., 1994).

L'élevage de poulets est une des formes les plus intensives d'élevage animal. Les conditions dans lesquelles les poulets sont cultivés sont facilement conductrices 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 existe deux façons de transmission de *Salmonella* dans l'élevage avicole: transmission

verticale à partir des ovaires et transmission horizontale par des vecteurs inanimés ou même par des vecteurs animés comme les insectes et les rongeurs (Van immerseel et al., 2005) (figure 2).



**Figure 2 :** Cycle simplifié de la transmission des *salmonelles* dans la filière avicole (Castagnos, 2003).

## 6. Pathogénie et symptômes associés aux *salmonelles*

La pathogénèse de *Salmonella* débute par l'ingestion de la bactérie. L'environnement des oiseaux est la source habituelle de cette transmission. L'aliment ainsi que l'eau contaminés sont les plus importantes sources d'infections à *Salmonella* chez la volaille (Cox et al., 1991 ; Heyndrickx et al., 2002). 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*. Quand les infections sont dues à la consommation d'aliments contaminés avec des *salmonelles non-typhique*, la maladie est autolimitée chez les individus sains. Les symptômes apparaissent à partir de 8 à 72 h après l'ingestion. Ils sont moins sévères que la fièvre entérique, la diarrhée et les douleurs abdominales qui disparaissent au bout de 5 jours (Weill, 2008; Rabie et al., 2012).

## 7. Processus infectieux de *salmonella*

Après l'ingestion de *Salmonella* par voie orale, ils survivent à l'acidité de l'estomac, atteignant le niveau de l'intestin grêle où elles s'adhèrent aux cellules de l'épithélium intestinal, préférentiellement aux cellules M des plaques de Peyer. Les bactéries sont ensuite absorbées dans les cellules épithéliales où elles résident et se multiplient dans les lacunes. Après le pontage épithélial, il existe deux types d'invasions:

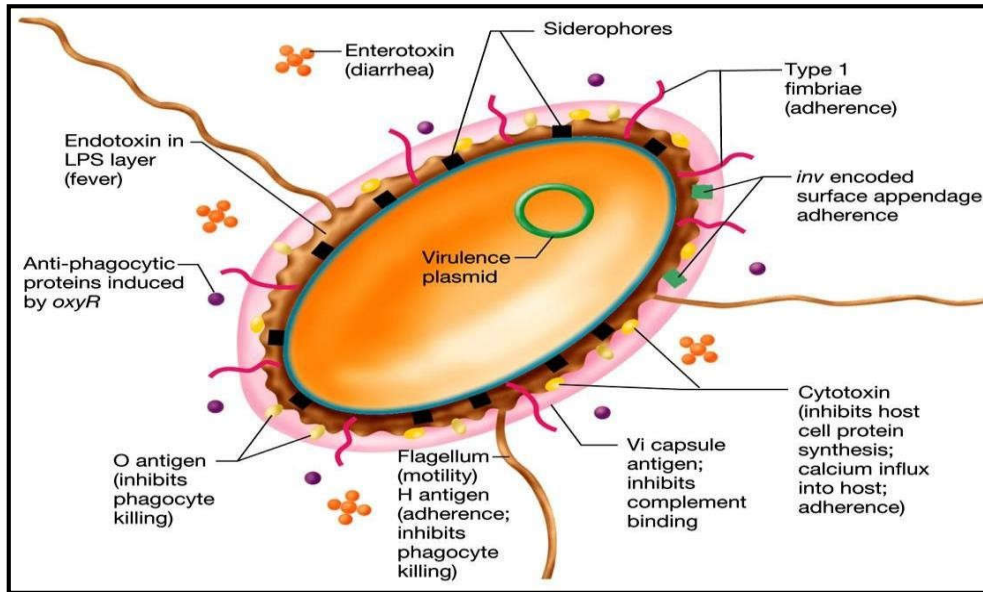
(1) Les sérotypes de *Salmonella* responsables de maladies systémiques (par ex. *S. typhoïde*) entrent dans les macrophages intestinaux et se propagent à d'autres organes du corps ;

(2) Par contre, d'autres sérotypes de *Salmonella non-typhiques*, responsables de gastroentérites (comme *S. Typhimurium* ), induisent une inflammation précoce des intestins, ce qui conduit à l'afflux d'un grand nombre de neutrophiles dans la muqueuse intestinale, causant la destruction de l'épithélium intestinal et de la diarrhée (Haraga et al., 2008) .

## 8. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence sont des produits bactériens nécessaires aux microorganismes pour provoquer une maladie. Les caractéristiques essentielles de la pathogénie des *salmonelles* sont leur capacité à entrer dans les cellules-hôtes et à y demeurer comme parasite intracellulaire facultatif (Finlay et al., 1989).

Les facteurs de virulence chez les *salmonelles* sont impliqués dans les diverses étapes de l'infection: la production de toxines (endotoxine, entérotoxine, cytotoxine), la colonisation, l'adhésion et l'invasion, ainsi la survie à l'intérieur des cellules de l'hôte (Finlay et Brumell, 2000; Millemann, 1998) (figure 3).



**Figure 3:** Facteurs de virulence de *Salmonella* (Madigan et Martinko, 2007).

En théorie, tous les sérotypes de *Salmonella* peuvent être pathogènes chez l'homme. Cette virulence et cette pathogénicité dépend de la dose ingérée de la souche et notamment du sérotype (Coleman et al., 2004; Weinberger et al., 2004; Foley et Lynne, 2008; Jones et al., 2008). Les *salmonelles* peuvent causer une infection systémique chez l'humain au statut immunitaire diminué, alors que la plupart d'entre elles engendrent une simple diarrhée fébrile, parfois des vomissements, et des douleurs abdominales. Une fois ingérée, *Salmonella* gagne l'intestin qu'elle peut coloniser. Ensuite, elle réside dans les cellules épithéliales intestinales et les cellules M localisées au niveau de l'épithélium associées aux follicules.

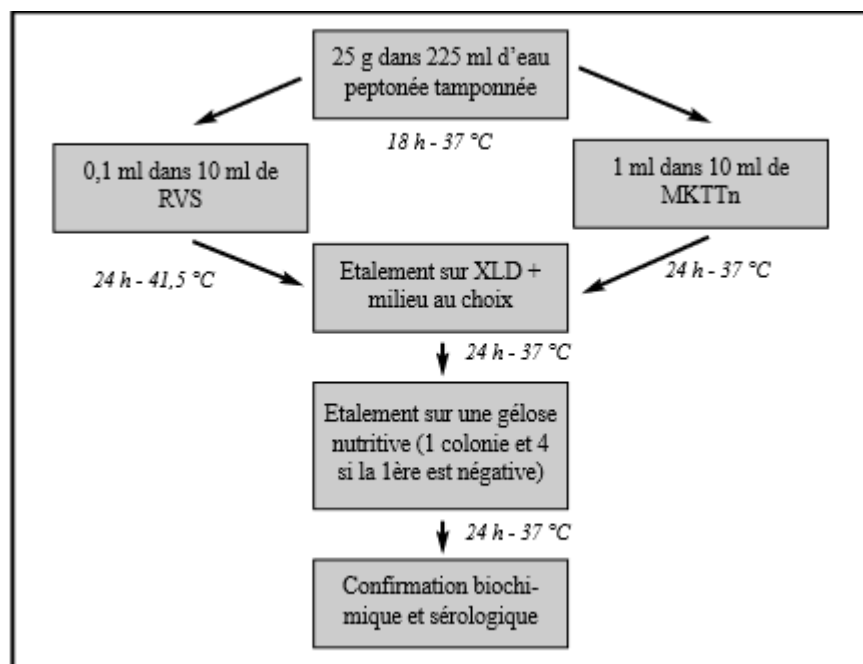
## 9. Détection et identification des *salmonelles*

### 9.1. Méthodes phénotypiques

Elles étudient les propriétés exprimées par les bactéries telles que les propriétés biochimiques qui reposent sur la mise en évidence des caractères biochimiques différentiels qui permettront de classer les souches selon leur activité métabolique par l'utilisation de sucre et/ou leur activité enzymatique (Millemann, 1997).

La norme NF EN ISO 6579 est la méthode horizontale de référence pour la détection de *Salmonella* spp. dans une denrée alimentaire, mais également dans des échantillons

d'environnement collectés dans les entreprises agro-alimentaires (AFNOR, 2002). Dans sa nouvelle version (2002), le sélénite-cystine a été remplacé par le milieu Muller Kauffmann tétrathio- nate novobiocine (MKTTn), le Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) est utilisé à la place de la formule simple de RV. Les laboratoires doivent expressément utiliser le milieu d'isolement «xylose-lysine-deoxycholate» (XLD) conjointement avec un autre milieu au choix (figure 4). Dans un contexte de globalisation des échanges commerciaux de denrées alimentaires, cette norme est la référence internationale pour la détection de *Salmonella* dans les aliments (figure 4).



**Figure 4 :** Détection de *Salmonella* spp. dans les aliments selon la méthode normalisée ISO 6579 :2002 (AFNOR, 2002).

## 9.2. Méthodes moléculaires

L'importance des salmonelloses, associées aux conséquences économiques et en santé publique, a entraîné le développement de nombreuses méthodes phénotypiques et moléculaires pour la caractérisation des *Salmonelles*. Cette caractérisation s'appuie en premier lieu sur la détermination de biotype, sérotype, antibiotype et lysotype. Ces dernières sont des méthodes de suivie des tendances évolutives des sérotypes dans différentes filières (Anne, 2001).

## 10. Résistance des *salmonelles* aux antibiotiques

### 10.1. Molécules d'antibiotiques actives contre les *salmonelles*

Les souches sauvages de *Salmonella* sont naturellement sensibles à tous les antibiotiques actifs sur les entérobactéries. Les molécules préconisées pour traiter les salmonelloses humaines étaient le chloramphénicol, l'ampicilline, ou l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole. Cependant, les problèmes de résistance rencontrés contre ces molécules ont conduit à utiliser des antibiotiques plus récents, notamment les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) et les fluoroquinolones (Parry et Threlfall, 2008).

### 10.2. Historique de la résistance de *Salmonella* aux antibiotiques

L'émergence des souches résistantes en médecine humaine et vétérinaire a été observée avec le développement de l'élevage intensif d'animaux. Ainsi, l'utilisation systématique des antibiotiques comme promoteur de croissance et à des fins thérapeutiques destinées à la consommation humaine a été évoquée (Who, 2008).

Les cyclines et le chloramphénicol étaient les deux premières à être touchées par la résistance (Ramsey & Edwards, 1961 ; McWhorter et *al.*, 1963), suivie par une acquisition graduelle de la résistance vis-à-vis de plusieurs molécules introduites dans la lutte contre les épidémies émergente surtout chez la résistance bovine à la streptomycine et aux sulfamides en 1963. Des résistances additionnelles à l'ampicilline, à la kanamycine et aux nitrofuranes ont été remarquées en 1965. Les *salmonelles* résistantes aux antibiotiques ont été transmises à l'homme, par des contacts directs avec les bovins ou indirectes par l'intermédiaire de lait cru (Anderson, 1968). Aux États-Unis à partir de 1963, plusieurs épidémies de grande ampleur, liées à des produits commerciaux dérivés des œufs, avaient conduit le Center for Disease Control (CDC) d'Atlanta à instaurer une véritable surveillance microbiologique des salmonelloses non-typhiques (Cohen & Tauxe, 1986). L'étude de 1967 révélait une prévalence élevée de la multi résistance, notamment pour le sérotype majoritaire Typhimurium (Schroeder et *al.*, 1968). En 1977, le laboratoire central de la santé publique de Londres signalait l'apparition de deux lysotypes du sérotype Typhimurium, responsables de nombreux cas d'infections bovines et humaines sur l'ensemble du territoire du Royaume- Uni (Threlfall et *al.*, 1978). La genèse de ces souches

multirésistantes aux antibiotiques (MRA) était due à l'acquisition de plasmides de différents groupes d'incompatibilité porteurs de nouvelles résistances aux antibiotiques. À la fin des années 1980, la prévalence des souches résistantes aux antibiotiques allait connaître un essor considérable avec l'émergence et la dissémination internationale rapide d'un clone de *S. enterica* sérotype *Typhimurium*, individualisé sur la base de la lysotypie (lysotype DT104) (Threlfall, 2000). Ce clone a été appelé « penta résistant » car la majorité des souches était de phénotype ACSSuTe. Des études sur les mécanismes de résistance ont montré que les souches de ce clone avaient intégré dans son chromosome un îlot génomique de 43 kb, le *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1) (Boyd et al., 2001).

Les premières souches de *Salmonella* résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) sont apparues à la fin des années 1980 et dans la première moitié des années 1990 (Miriagou et al., 2004; Arlet et al., 2006). Ces observations succédées de la résistance aux quinolones et surtout les fluoroquinolones (FQ) qui ont été utilisées au cours des *salmonelloses* humaines et animales durant les années 1990, avec une augmentation de souches de *Salmonella* résistantes à l'acide nalidixique et une diminution de la sensibilité à la ciprofloxacine (Cip) et à l'apparition de souches résistantes à la ciprofloxacine (Herikstad et al., 1997). L'apparition de résistance chez *Salmonella* pourrait conduire à des risques de voir se propager des épidémies due à une souche multi-résistantes aux antibiotiques y compris aux C3G et aux fluoroquinolones ce qui peut conduire à un échec thérapeutique.

Plusieurs cas isolés de salmonelloses dues à de telles souches ont été déjà mis en évidence au cours des dernières années ; à *S. Choleraesuis* en 2002 à Taiwan cette souche était résistante à dix antibiotiques dont le triméthoprime, la ciprofloxacine et le ceftriaxone (C3G) (Chiu et al., 2004). Tout cela rend la surveillance de la résistance aux antibiotiques à tous les niveaux, en élevage, en médecine humaine et passant par la chaîne de production alimentaire indispensable pour anticiper l'apparition de telles souches ou encore de nouveaux mécanismes de résistance.

### **10.3. Situation de l'antibiorésistance de *Salmonella* en Algérie**

En Algérie, Le réseau national de la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques dans son 13ème rapport a déclaré l'isolement de 127 isolats de *Salmonella* non typhoïdiques en médecine humaine pendant la période allant de Janvier à Décembre 2011 avec une prédominance de *Salmonella* Enteritidis (38 isolats) et *Salmonella* Typhimurium (25 isolats) (Rasbra, 2011).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a révélé 45,9% de résistance à l'ampicilline (AMP), 13,3% de résistance à l'amoxicilline + acide clavulanique (AMC), 7% de résistance aux céphalosporines de 3ème génération, 5,7 % pour la cefoxitine (FOX), 72,2 % pour l'acide nalidixique (NAL), 18,8% de résistance au ciprofloxacine (CIP). D'un autre côté en médecine vétérinaire une grande diversité de sérotypes isolés est signalée spécifiquement à partir de prélèvements aviaires avec une prédominance de : *Salmonella Enteritidis* (52% ; N=55), *Salmonella Livingstone*, *S. Gallinarum* et *Salmonella spp.* (6%; N=24), *S. Heidelberg* (3%; N=3), *S. Typhimurium* (4%; N=4), *S. Seftenberg* (3%; N=3) et *Salmonella Bovis-morbificans* (2%; N=2). Avec ces derniers sérotypes une faible résistance de 5% et 3% respectivement à l'ampicilline et à l'amoxicilline + acide clavulanique a été notée. Une sensibilité vis-à-vis du céftiofur, céphalosporine de 3ème génération à usage strictement vétérinaire (100%), une résistance à la fluméquine (44%), à l'acide nalidixique (57%), une résistance à l'enrofloxacin (33%) et à la norfloxacine (1%), une faible résistance de l'ordre de 3% des différents sérotypes à cet antibiotique. Une résistance de 2% et de 38% au chloramphénicol et les nitrofuranes respectivement (Rasbra, 2011).





***Chapitre II***  
***Matériel et méthodes***

## Chapitre II :

### Matériel et méthodes

#### 1. Rappel des objectifs

Il est à rappeler que l'objectif de la présente étude consiste, d'une part, à isoler et identifier des souches de *Salmonella* à partir des abats de volailles commercialisées dans la région de Djelfa et d'autre part, à étudier leur sensibilité à l'encontre de 16 molécules d'antibiotiques

#### 2. Echantillonnage

L'étude a été réalisée durant la période s'étalant du 29 avril jusqu'au 26 juillet 2018. Elle a été menée sur un total de 80 prélèvements d'abats de poulet de chair (50 foies et 30 rates) provenant de différentes boucheries instaurées au marché de Bendjerma. Les échantillons ont été ensuite acheminés sous régime de froid au laboratoire de la faculté dans des pots stériles pour être analysés (figure 5).



**Figure 5:** Prélèvement d'organes (Photo originale, 2018).

#### 3. Analyses bactériologiques

L'isolement et l'identification des souches d'entérobactéries sont réalisés selon le protocole préconisé par Livrelli et *al.* (2007).

### 3.1. Pré-enrichissement

Afin d'éliminer la microflore superficielle, la surface de chaque organe prélevé est flambée à la flamme. L'organe est ensuite fragmenté en de petits morceaux à l'aide d'une pince et de ciseaux stériles (figure 6).



**Figure 6:** Fragmentation des organes (Photo originale, 2018).

### 3.2. Enrichissement

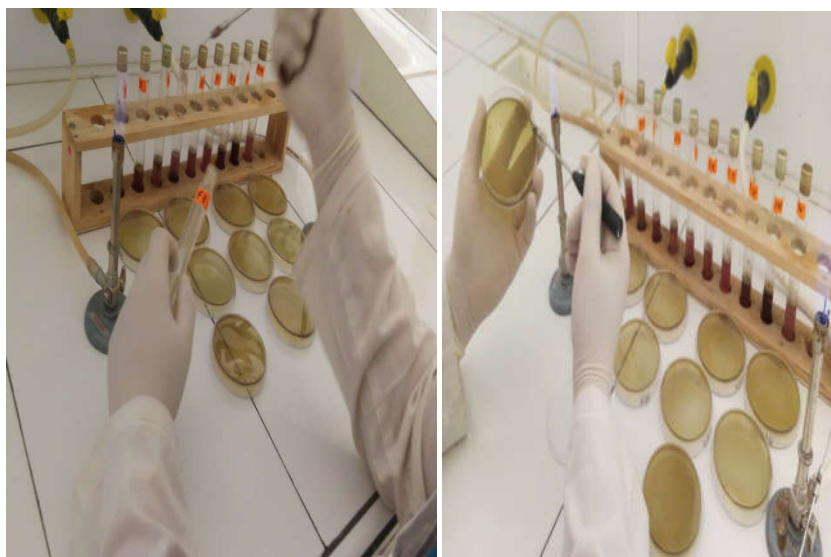
L'enrichissement s'effectue par introduction des morceaux de chaque organe découpé à l'intérieur des tubes à vis stériles contenant un volume de 5ml de bouillon nutritif BHIB. L'incubation se fait à 37°C pendant 18 à 24 h (figure 7).



**Figure 7:** Enrichissement dans le BHIB (Photo originale, 2018).

### 3.3. Isolement

Par la technique des stries d'épuisement, une goutte de la culture d'enrichissement est ensemencée sur une gélose Hektoen à l'aide d'une anse de platine. Les boîtes de Pétri des milieux ensemencés sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 h (figure 8).



**Figure 8:** Ensemencement sur milieu gélosé Hektoen (Photo originale, 2018).

### 3.4. Purification

Après incubation, on examine les boîtes afin de rechercher la présence des colonies caractéristiques culturales des *Salmonelles* (colonies vertes avec ou sans centre noir) pour le milieu d'isolement utilisé. Elles ont été repiquées sur une gélose Hektoen à l'aide d'une anse de platine, dans le but d'obtenir des cultures pures (figure 9).



**Figure 9:** Purification par repiquage sur Hektoen (Photo originale, 2018).

### 3.5. Identification

#### 3.5.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est la coloration la plus utilisée en bactériologie. C'est une coloration différentielle qui divise les bactéries en 2 groupes : les Gram positif et les Gram négatif. Les bactéries Gram positif retiennent la coloration violette du violet de gentiane. Par contre, les bactéries Gram négatif (entre autres *salmonelles*) peuvent être décolorées par l'alcool et sont ensuite colorées en rose avec la safranine (Berraho, 2009).

#### 3.5.2. Etude du profil biochimique des souche d'entérobactéries

L'aspect microscopique et macroscopique des colonies ne suffit pas pour identifier de façon précise les bactéries. Il faut rechercher d'autres caractères, principalement les caractères biochimiques ou métaboliques (Guiraud, 1998).

#### 3.5.3. Identification biochimique

##### a. Test d'uréase

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée en ions d'ammonium et carbonate. La technique consiste à ensemencer un milieu Urée-Tryptophane par une colonie bactérienne, incubé à 37°C pendant 24h. En cas de réaction positive, la décomposition de l'urée produit un dégagement d'ammoniac, faisant virer le rouge de phénol présent dans le milieu au rose (Guillaume, 2004).

La couleur du milieu reste inchangée pour les souches suspectées, et sont dites uréase négatif. Dans le cas contraire, elle vire au rose « uréase positif » (figure 10).



**Figure 10:** Identification par test uréase (Photo originale, 2018).

### b. Test d'indole

Nous avons ajouté quelques gouttes de réactif de Kovacs dans le tube du milieu urée – indole. La dégradation du tryptophane est marquée par l'apparition d'une couleur jaune pour les *salmonelles*. Elles sont dites indole négative. Dans le cas contraire, nous avons un anneau rouge (indole positif) (Le Minor et Richard, 1993) (figure 11).



**Figure 11:** Identification par Test d'indole (Photo originale, 2018).

### c. Test de la TDA

Ajouter quelques gouttes de réactif TDA au milieu Urée indole déjà ensemencé et incubé à 37 °C pendant 24 heures. Le résultat positif se traduit par l'apparition d'une coloration brune foncée ou jaune dans le cas contraire (Le Minor et Richard, 1993) (figure 12).



**Figure 12:** Identification par Test de la TDA (Photo originale, 2018).

#### d. Test TSI

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet l'identification des entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène.

On prélève une colonie bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérile. On inocule le culot d'une gélose inclinée TSI; en sortant le fil de la gélose, on effectue une strie sur la pente. Le bouchon ne doit pas être vissé complètement. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

La production d'hydrogène sulfuré  $H_2S$  est marquée par une coloration noire de la gélose issue de sa combinaison avec les ions ferriques. L'absence de production de  $H_2S$  ne provoque pas de coloration noire du milieu (figure 13).



**Figure 13:** Identification par Test TSI (Photo originale, 2018).

#### e. Test ONPG

Ce test est réalisé lors de l'identification de très nombreuses bactéries (Gram + et Gram -). On réalise une suspension épaisse des bactéries testées en eau distillée et on ajoute avec une pince flambée mais refroidie un disque imprégné d'ONPG. On incube 30 min à 37°C. Le résultat positif est l'apparition du jaune et le résultat négatif lorsque le milieu reste incolore (figure 14).



**Figure 14:** Identification par ONPG (Photo originale, 2018).

### 3.5.4. Identification biochimique par la galerie API20E

#### a. Principe

La galerie API 20E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non fastidieux. Elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces substrats sont inoculés avec des suspensions bactériennes à identifier. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanément ou révélés par l'addition des réactifs (figure 15).



**Figure 15:** Présentation la galerie API20E (Photo originale, 2018).

#### b. Mode opératoire

##### b-1. Préparation de la galerie API20E

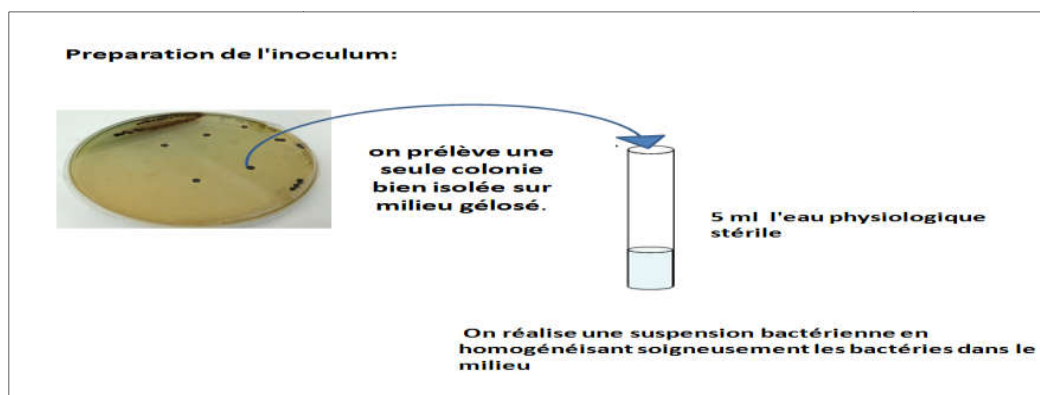
- On réunit fond et couvercle d'une boîte d'incubation et on répartit environ 5 ml d'eau distillée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide;
- On inscrit les références de la souche bactérienne sur la languette latérale de la boîte ;
- On dépose la galerie dans la boîte d'incubation.

##### b-2. Préparation de l'inoculum:

- On ouvre une ampoule contenant 5 ml d'eau physiologique stérile ou d'eau distillée stérile;
- Avec la pipette Pasteur, on prélève une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé;



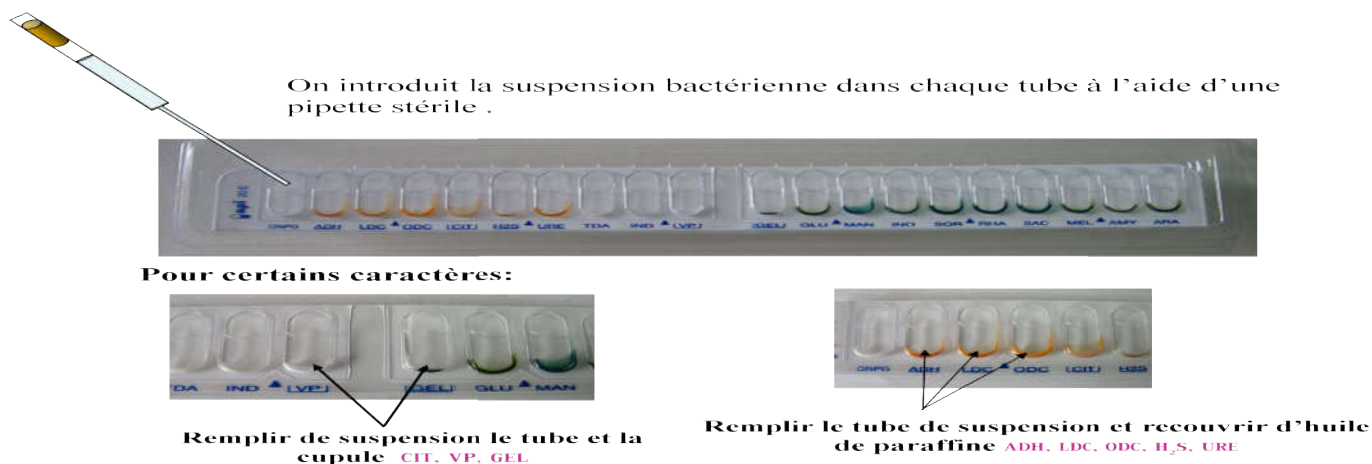
- On réalise une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu (figure 16).



**Figure 16:** Préparation de l'inoculum

### b-3. Inoculation de la galerie API20E

- On introduit la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette stérile ;
- On remplit tubes et cupules des tests CIT, VIP et GEL;
- On remplit uniquement les tubes (et non les cupules) des autres tests;
- On crée une anaérobiose dans les tests ADH, LCD, ODC, URE, H<sub>2</sub>S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine (figure 17);
- On referme la boîte d'incubation et on la place dans l'étuve à 37° C pendant 18 à 24 heures.



**Figure 17:** Ensemencement de la galerie API 20E (Photo originale, 2018).

### c. Lecture de la galerie API20E

- Après incubation, les réactions sont traduites par des changements spontanés de coloration révélés par l'addition ou non des réactifs. La révélation des trois TDA, IND et VP est faite par l'ajoute des réactifs correspondant (TDA, Kovacs, VP1 et VP2).
- L'identification est obtenue à l'aide d'un code de 7 chiffres obtenue de la fiche remplie avec les résultats après la lecture de la galerie. La lecture s'est faite à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification API WEB™ ( figure 18).



**Figure 18:** Identification biochimique par logiciel de la galerie API 20E (Photo originale, 2018)

## 4. Détermination de l'antibiorésistance des souches bactérienne isolées

La sensibilité des souches aux différents agents antibactériens a été déterminée par la technique de diffusion des disques sur gélose Mueller Hinton, selon les recommandations des différents fascicules de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) (édition 2011). Les disques d'antibiotique ont été déposés dans les boites inoculées par une suspension bactérienne (tableau 3).

Tableau 3 : Différentes molécules d'antibiotique testées

Familles d'antibiotiques	Antibiotiques testés	Sigle	Concentration du disque	Marque
<b>β- lactamines</b>	Amoxicilline/Acide clavulanique	AMC	20/10 µg	Liofichem, Italie
	Aztréonam	ATM	30 µg	Bio-rad ,France
	Céfotaxime	CTX	30 µg	
	Amoxicilline	AMX	25 µg	
	Cefoxitine	FOX	30 µg	
	Imipenème	IPM	10 µg	Bioanalyse ,France
	Ceftazidime	CAZ	30 µg	
<b>Polypeptides</b>	Colistine sulfate	CS	10 µg	
<b>Phenicolés</b>	Chloramphénicol	CL	30 µg	
<b>Quinolones</b>	Acide nalidixique	NA	30 µg	Bio-rad ,France
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	
	Levofloxacine	LEV	5 µg	
	Ofloxacine	OFX	10 µg	
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline	TE	30 µg	
<b>Aminoglycosides</b>	Gentamicine	GEN	10 µg	
<b>Acides phosphoniques</b>	Fosfomycine	FF	50 µg	

#### 4.1. Principe

L'antibiogramme par diffusion permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques. Elle est la méthode la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Les disques imprégnés d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu de culture standardisé (milieu de Mueller-Hinton) préalablementensemencé avec une culture de la bactérie à tester.

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

## 4.2. Technique standardisée

### a. Milieu pour antibiogramme :

- La gélose de Mueller-Hinton est coulée en boîtes Pétri stériles;
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi ( figure 19A).

### b. Préparation de l'inoculum :

- Après revivification des souches et à partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, on racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques;
- On bien décharge l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%;
- La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée, l'opacité doit être équivalente à 0,5 MF;
- L'ensemencement se fait dans les 15 min suivant la préparation de l'inoculum.

### c. Ensemencement (écouvillonnage):

- Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne;
- On l'essore en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum;
- L'écouvillon est ensuite frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées ( figure 19B et 19C);
- On répète l'opération trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. On finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose;
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

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

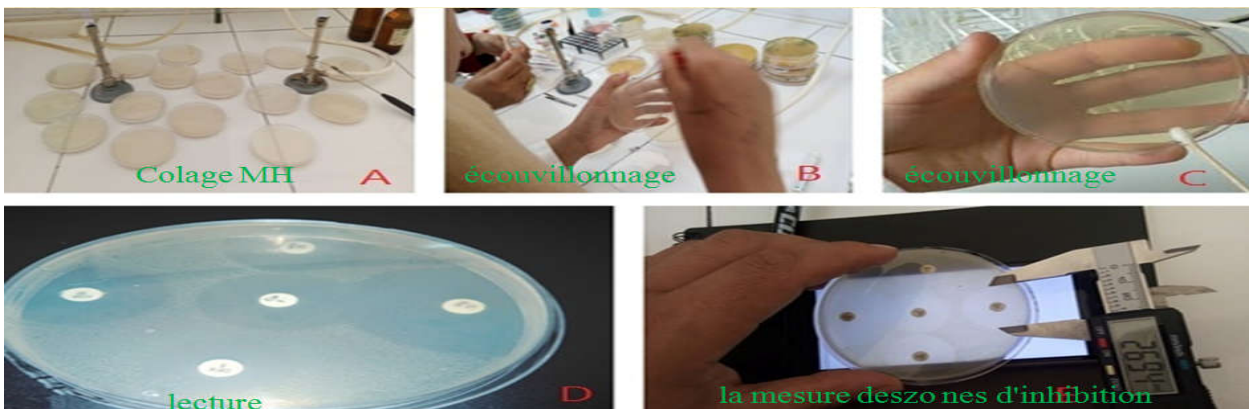
- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm de diamètre;
- On met les disques d'antibiotique au contre centre environ 25 mm;
- On presse chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et on ne déplace pas les disques après application.

#### e. Incubation :

L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 18 à 24 heures ( figure 19D) après diffusion de 30 minutes.

#### 4.3. Lecture :

- L'estimation de l'antibiorésistance des souches est basée sur la mesure avec précision des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse (figure 19E) ;
- Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée;
- On compare les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale médecine humaine et vétérinaire (2011);
- On classe la bactérie dans l'une des catégories: sensible (S), intermédiaire (I), ou résistant (R).



**Figure 19:** Différentes étapes de l'antibiogramme (Photo originale, 2018).



***Chapitre III***  
***Résultats et discussion***

## Chapitre III

## Résultats et discussion

## 1. Résultats de l'isolement et de l'identification

Sur les 80 échantillons, nous avons pu isoler et purifier 39 d'entérobactéries. La répartition des différents isolats est résumée dans la figure 20.

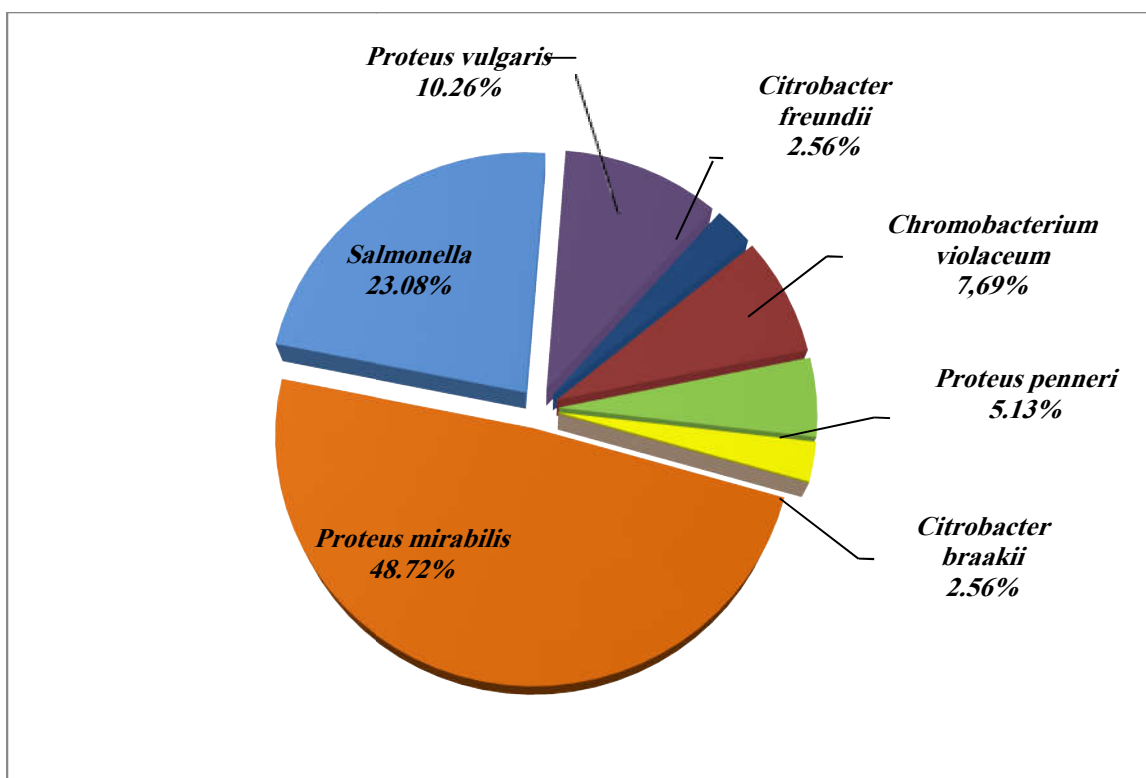


Figure 20: Répartition des souches isolées

Il est à rappeler que les colonies des salmonelles sur milieu Hektoen apparaissent vertes à centre noire, indiquant qu'elles ne fermentent pas les sucres inclus dans ce milieu et produisent l'H<sub>2</sub>S (figure 21). La figure 22 représente le résultat de la galerie biochimique.



**Figure 21** : Aspect de colonies suspectes de *Salmonella* su milieu Hektoen(Photo originale, 2018).



**Figure 22**: Résultat de l'identification de *Salmonella* spp ,*Citrobacter freundii* et *Proteus mirabilis*(Photo originale,2018).



Parmi l'ensemble des entérobactéries isolées, *Proteus mirabilis* reste l'espèce la plus fréquente avec 48.72% (soit 19/39). *Salmonella spp.* Vient en deuxième position avec une valeur estimée à hauteur de 23.08% (soit 9/39).

De nombreuses études ont investigué la contamination du poulet de chair par *Salmonella* à travers le territoire national, dont la fréquence varie d'une région à une autre. En fait, un résultat similaire a été rapporté récemment dans la même région, où les deux espèces (*P. mirabilis* et *Salmonella spp.*) ont été isolées avec des taux évalués à 24% et 5% (Chenouf et al., 2016). Ainsi, une prévalence de 34.37% a été publiée par une autre étude menée dans les élevages et les abattoirs de la région de Skikda (Djeffal et al., 2018).

Une étude rétrospective de 2003 à 2011 dans sept wilayas de l'ouest algérien a révélé une incidence de 3,24% (Achek et al., 2012). Une fréquence très proche (3,33%) a été enregistrée dans des tueries avicoles de la wilaya de Blida (Medjbar et al., 2012). Hamitouche et Chahed (2012) ont dévoilé une prévalence de 6,67% au niveau des commerces dans la région d'Alger.

L'association entre les *salmonelles* et la viande de poulet n'est pas nouvelle puisque celle-ci apparaît comme la denrée alimentaire d'origine animale la plus souvent incriminée dans les toxi-infections alimentaires collectives. Il s'agit d'une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde. Aux États-Unis, on estime que 1,4 million de personnes sont infectées par des *salmonelles* non typhiques chaque année, avec 15000 hospitalisations et 400 morts, alors qu'en France, le nombre est estimé à 30000 cas de salmonelloses avec entre 92 et 535 morts (Mekademi, 2012).

Les modes de contamination et de dissémination des germes sont très variés le long de la chaîne de production avicole par conséquent tous les maillons de la filière peuvent être incriminés. La contamination de la bactérie à l'organisme se fait par ingestion d'aliments infectés ou des contacts avec des zones où prolifère la bactérie comme des milieux aquatiques ou des matières fécales excrétées du tractus digestif des animaux sains et infecté à *salmonella*.

Les intestins sont, en effet, le réservoir le plus important pour des *Salmonella* pathogènes. Après une première multiplication au niveau du tractus respiratoire supérieur, la bactérie atteint le sang et colonise les organes internes comme le foie et la rate (Jordan et Pattison, 1996). De plus, l'échaudage et l'éviscération constituent des points critiques de contaminations croisées des

volailles(Chaiba et *al.*,2011). Pendant l'échaudage, la contamination peut être due au nettoyage ou à la désinfection mal-effectués des bacs et la contamination par les fientes. Une mauvaise manipulation au cours de l'éviscération provoque la contamination fécale des carcasses et des abats à cause de la perforation de l'intestin. Ainsi, le manipulateur peut aussi intervenir dans cette contamination si ses mains sont souillées ou à défaut mal nettoyées.

Il est à signaler que suite à un petit accident qui est survenu au laboratoire, nous avons perdu 10 isolats d'entérobactéries. L'antibiogramme a donc concerné uniquement les 29 souches restantes, y compris celles de *salmonelles*.

## 2. Résultats du profil de résistance

### 2.1. Résultats de tous les isolats

Seize antibiotiques sont testés sur chacune des 29 souches d'entérobactéries isolées. Les résultats de l'antibiorésistance sont présentés dans la figure 23 et le tableau 4

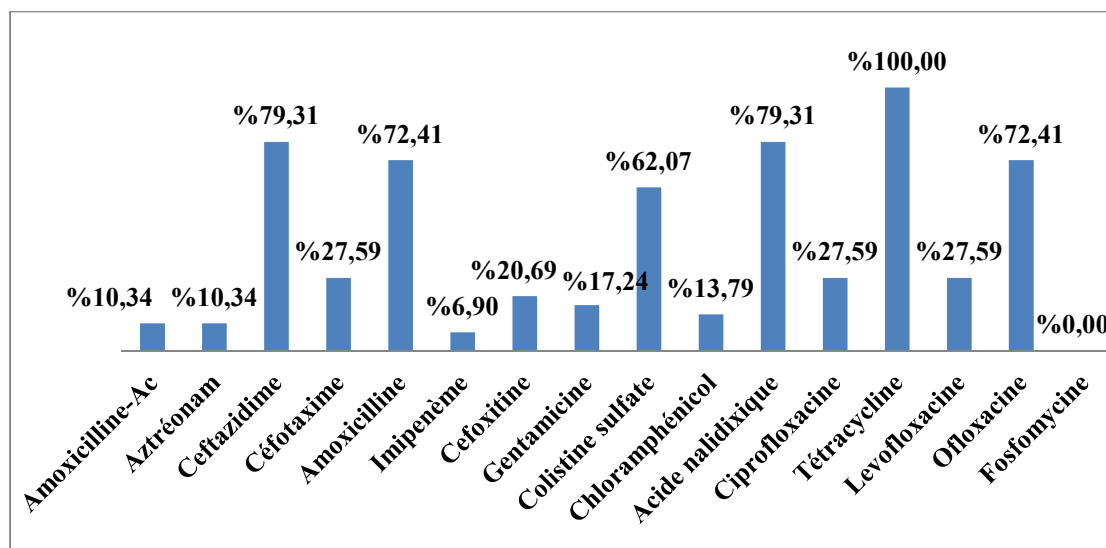


Figure 23: Fréquences de résistance des souches d'entérobactéries isolées.

**Tableau 4** : Fréquences de sensibilité et de résistances des différents isolats

Familles	Antibiotiques testés	Nombre des souches		
		Résistant	Sensible	Intermédiaire
β- lactamines	Amoxicilline/Acide clavulanique	10.34%	86.21%	3.45%
	Aztréoname	10.34%	89.66%	0.00%
	Céfotaxime	27.59%	72.41%	0,00%
	Ceftazidime	79.31%	17.24%	3.45%
	Amoxicilline	72.41%	13.79%	13.79%
	Cefoxitine	20.69%	75.86%	3.45%
	Imipenème	6.90%	93.10%	0,00%
Polypeptides	Colistine sulfate	62.07%	34.48%	3.45%
Phenicolés	Chloramphénicol	13.79%	72.41%	13.79%
Quinolones	Acide nalidixique	79.31%	13.79%	6.90%
	Ciprofloxacine	27.59%	68.97%	3.45%
	Levofloxacine	27.59%	65.52%	6.90%
	Ofloxacine	72.41%	3.45%	24.14%
Tétracyclines	Tétracycline	100,00%	0,00%	0,00%
Aminoglycosides	Gentamicine	17.24%	82.76%	0.00%
Acides phosphoniques	Fosfomycine	0.00%	93.10%	6.90%

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

**Groupe 1** : les antibiotiques pour lesquels de très hauts niveaux de résistance sont observés (de 70 à 100) sont compris dans ce groupe. Ces antibiotiques sont par ordre décroissant :Tétracycline (100%),ceftazidime et acide nalidixique(79.31%),amoxicilline et ofloxacine(72.41%).

**Groupe 2** :il comprend les antibiotiques présentant des niveaux moyens de résistance (de 30 à 70). Ce groupe est représenté parla colistine sulfate (62.07%).

**Groupe 3** : il renferme les antibiotiques ayant des niveaux de résistance bas (de 0 à 30). Il inclut la céfotaxime, la ciprofloxacine et la lévofloxacine(27.59%),la cefoxitine (20.96%),la gentamicine(17.24%),le chloramphénicol (13.79%), l'amoxicilline-acide clavulanique et l'aztréonam (10.34%), l'imipenème (6.90%) et la fosfomycine (0 %).

A la lumière de ces résultats, on pourrait dire que les isolats ont exprimé des niveaux de résistance très variés. La majorité des souches ont exprimé une sensibilité à la plupart des antibiotiques du fait que le troisième groupe comprend le nombre d'antibiotiques le plus élevé (10 antibiotiques). De ce fait, ces derniers restent les molécules les plus actives sur nos souches. Cela pourrait les classer en premier choix dans le traitement des infections aux entérobactéries.

En contrepartie, des inquiétudes naissent du moment que nous avons enregistré des résistances vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération (la céftazidime et la céfotaxime), des carapénèmes (imipinème), du chloramphénicol et de la gentamicine, car ces molécules sont largement utilisées en antibiothérapie. Ces constats sont expliqués par l'utilisation irraisonnée et incontrôlée des antibiotiques dans le traitement des infections, sans passer par l'antibiogramme ni par la culture bactériologique pour déterminer le germe en cause.

## 2.2. Résultats des souches de *Salmonella* spp.

Les résultats relatifs à *Salmonella* spp. sont résumés dans la figure 24 et le tableau 5.

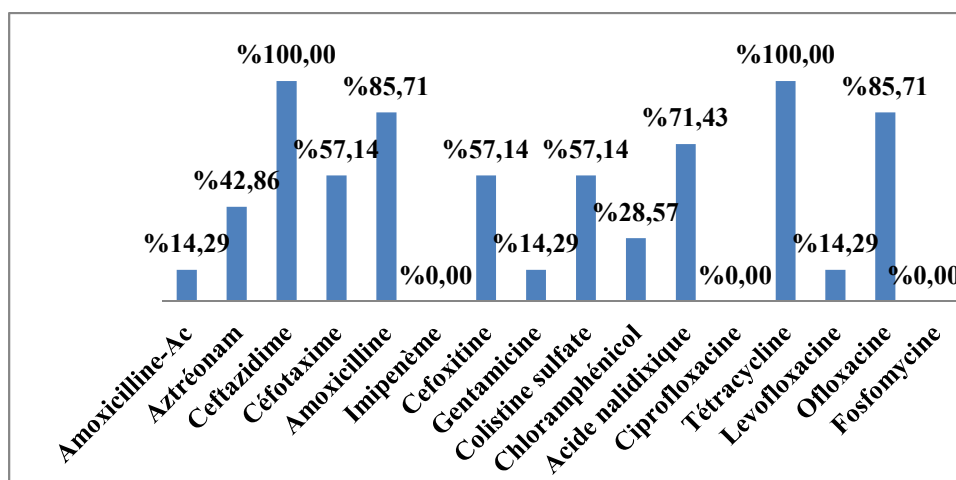


Figure 24 : Fréquences de résistance des souches de *salmonelles* isolées

**Tableau 5** : Fréquences de sensibilité et de résistances des isolats de *salmonelles*

Familles	Antibiotiques testés	Nombre des souches		
		R	S	I
β- lactamines	Amoxicilline/Acide clavulanique	14,29%	85,71%	0,00%
	Aztréoname	42,86%	57,14%	0,00%
	Céfotaxime	57,14%	42,86%	0,00%
	Céftazidime	100%	0,00%	0,00%
	Amoxicilline	85,71%	14,29%	0,00%
	Céfoxitine	57,14%	42,86%	0,00%
	Imipénème	0,00%	100%	0,00%
Polypeptides	Colistine sulfate	57,14%	42,86%	0,00%
Phenicolés	Chloramphénicol	28,57%	42,86%	28,57%
Quinolones	Acide nalidixique	71,43%	0,00%	28,57%
	Ciprofloxacine	0,00%	100%	0,00%
	Levofloxacine	14,29%	85,71%	0,00%
	Ofloxacine	85,71%	0,00%	14,29%
Tétracyclines	Tétracycline	100,00%	0,00%	0,00%
Aminoglycosides	Gentamicine	14,29%	85,71%	0,00%
Acides phosphoniques	Fosfomycine	0,00%	85,71%	14,29%

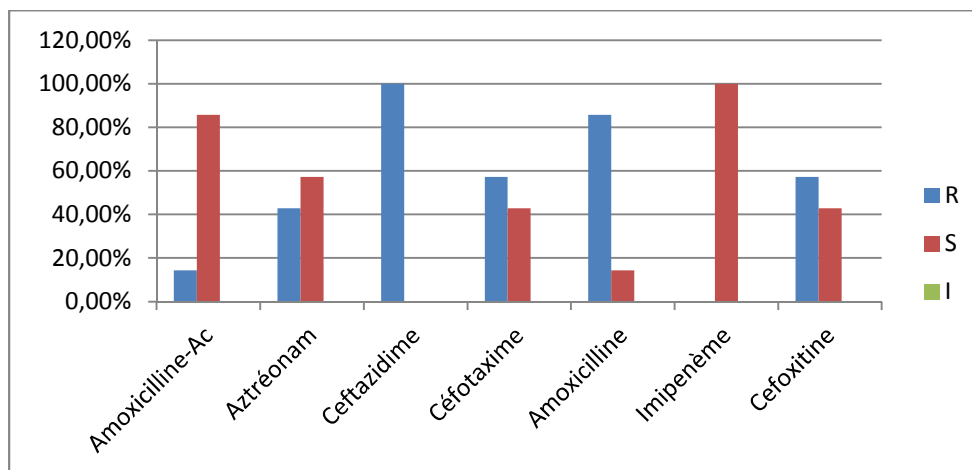
Il ressort de ce tableau que la totalité des souches se sont montrées résistantes à la tétracycline et à la céfotaxime. Des valeurs élevées sont également enregistrées à l'encontre de l'amoxicilline et l'ofloxacine. En revanche, des sensibilités élevées sont mentionnées pour l'imipénème, la ciprofloxacine, l'amoxicilline/acide clavulanique, la lévofloxacine et la fosfomycine, ce qui leur permet d'être un choix thérapeutique dans les élevages avicoles, dans le cas de traitement de salmonelloses.

### 2.3. Résultats par type d'antibiotiques

Nous proposons de discuter les résultats obtenus par type de famille.

#### 2.3.1. la résistance des β- lactamines

Les résultats de la résistance et sensibilité des *salmonelles* vis-à-vis des β- lactamines sont résumés dans la figure 25.



**Figure 25:** Profil d'antibiorésistance des *salmonelles* vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines.

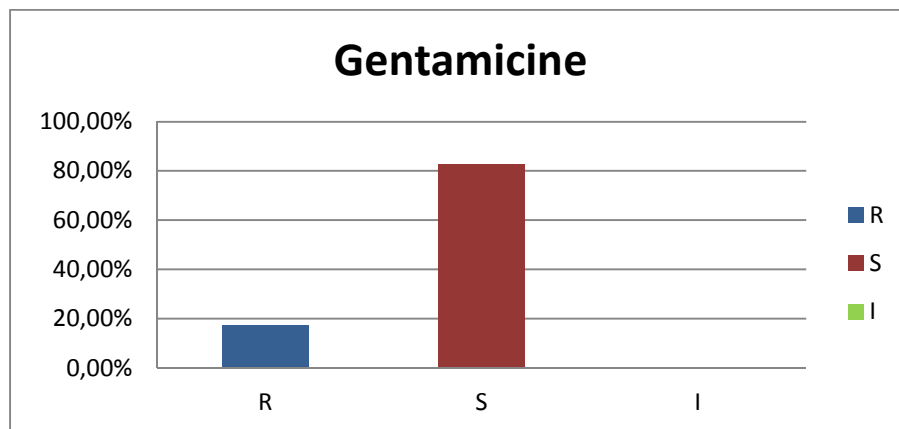
Les résultats évoqués pour cette famille semblent être inquiétants car il s'agit d'une famille très importante et occupe une place prépondérante en antibiothérapie.

Pour les *salmonelles*, il est rapporté que plusieurs isolats se sont montrés résistants aux céphalosporines de troisième génération (Ceftazidime et céfotaxime).

En fait, il existe une diversité de mécanismes de résistances du germe vis-à-vis de cette famille, soit par diminution de l'affinité du  $\beta$ -lactame vis-à-vis des PLP comme rapporté par Gaudy et Buxeraud (2005), soit par production de  $\beta$ -lactamases comme rapporté par Quintiliani et Courvalin (1995).

### 2.3.2. la résistance des Polypeptides

Les résultats relatifs la colistine sulfate sont visualisés dans la figure 26.

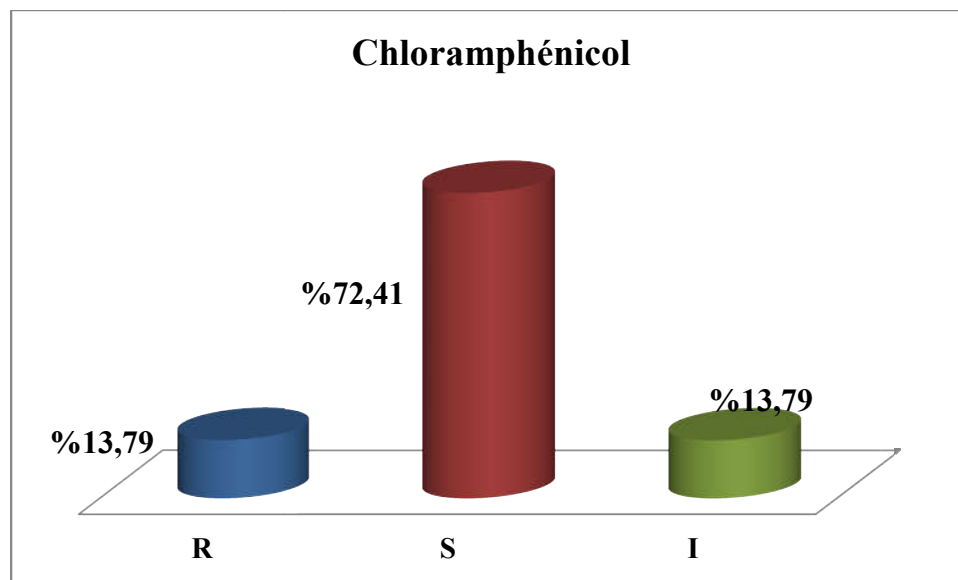


**Figure 26 :** Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis de la famille polypeptides.

Ce résultat est peu effrayant car le taux de résistance a touché plus que la moitié des souches. Les entérobactéries peuvent développer une résistance à la colistine, par modification du groupement phosphate de lipide à composant de lipopolysaccharide (LPS)(Moffatt et *al.*,2010).

### 2.3.3. la résistance des Phénicolés

Les résultats des souches isolées vis-à-vis du chloramphénicol sont mentionnés dans la figure 27.

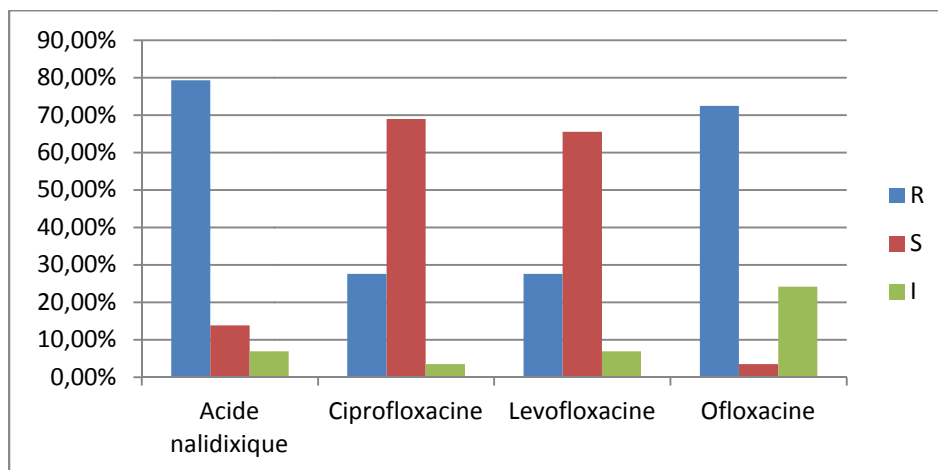


**Figure 27:** Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des Phénicolés.

Le chloramphénicol est un antibiotique bactériostatique de la famille des Phénicolés. Cet antibiotique peut être utilisé pour traiter la méningite. La sensibilité des souches d'entérobactéries isolées dans cette étude est testée vis-à-vis de la molécule la plus ancienne de cette famille, le chloramphénicol. Nous enregistrons un taux de résistance de 13.79%.

### 2.3.4. la résistance des Quinolones

Les résultats vis-à-vis de l'acide nalidixique et de la ciprofloxacine sont enregistrés dans la figure 28.

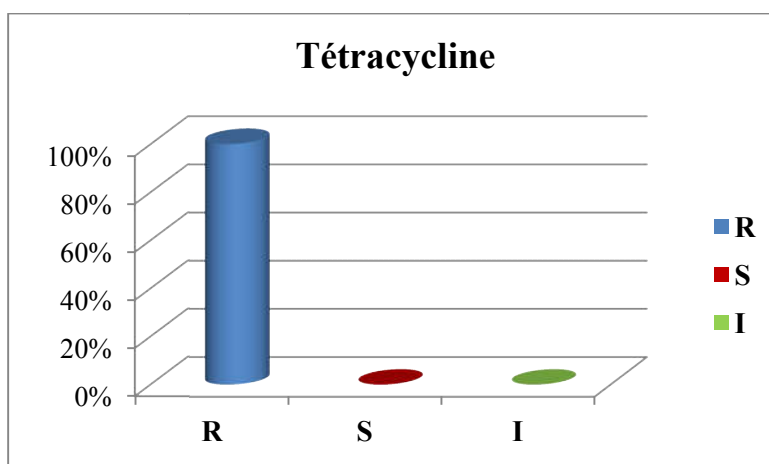


**Figure 28:** Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des quinolones.

La résistance aux quinolones survient principalement par mutations successives au niveau des gènes chromosomiques des cibles des quinolones. L'acide nalidixique a été la première quinolone à être introduite pour un usage clinique au début des années soixante (Ball, 2000). La ciprofloxacine, molécule bactéricide à large spectre d'activité in vitro est particulièrement active vis-à-vis des bactéries de la famille des entérobactéries. Ces taux élevés de résistance à cette famille d'antibiotiques peuvent être expliqués par la forte utilisation de ces molécules en raison de leur grande disponibilité.

### 2.3.5. la résistance des Tétracyclines

Les résultats des souches isolées sont testée vis-à-vis Tétracycline dans la figure 29.



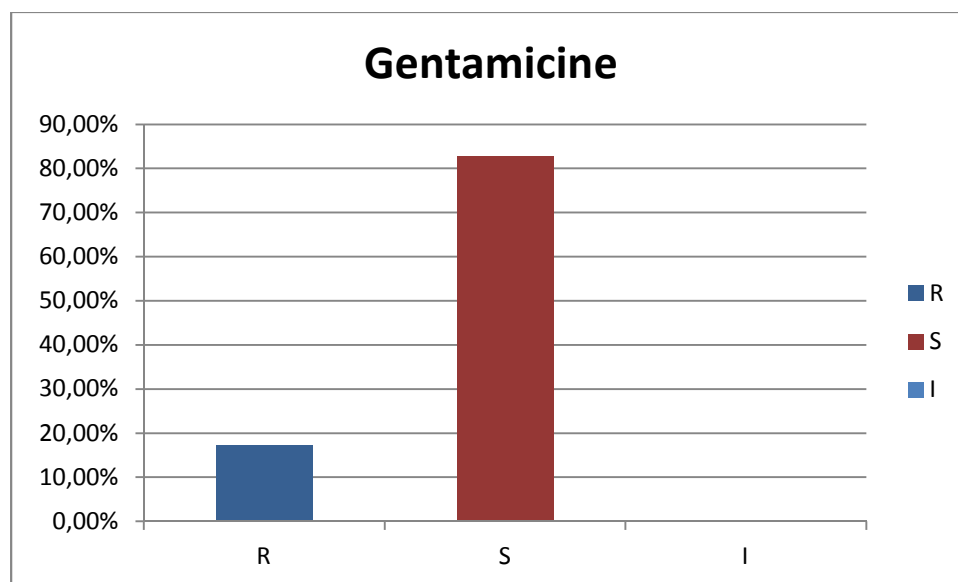
**Figure 29 :** Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des tétracyclines.



Tous les isolats se sont montrés résistants à la tétracycline. Ceci est expliqué en majeure partie par la très large utilisation de des molécules comme « facteurs de croissance » dans les élevages avicoles. De ce fait, il semble indispensable d'implémenter des mesures de surveillance régulières et de revoir les pratiques d'hygiène, d'élevages de poulet et d'utilisation des antibiotiques.

### 2.3.6. la résistance des Aminoglycosides

Les résultats des souches isolées sont testée vis-à-vis gentamicine dans la figure 30.

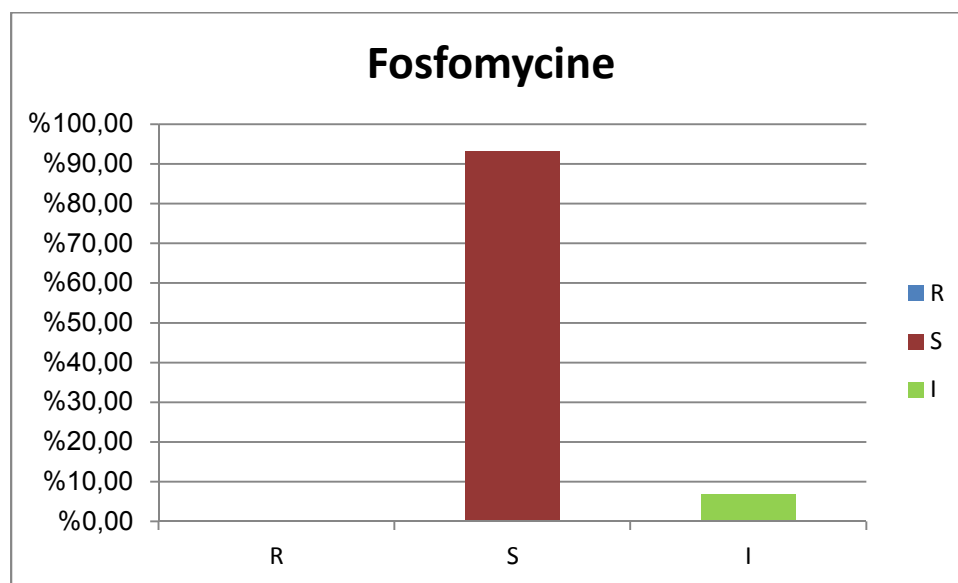


**Figure 30:** Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis des Aminoglycosides.

Plusieurs aminoglycosides font partie d'une famille d'antibiotiques à large spectre d'action. Nous avons enregistré un pourcentage élevé de l'effet de la gentamicine sur les bactéries testées. Par conséquent, elle peut-être une bonne alternative thérapeutique. Cependant, il existe des contraintes quant à son utilisation : dans certains pays, comme l'Iran, la gentamicine n'existe que sous la forme injectable (très récemment en poudre), forme intéressante pour les éleveurs car l'administration de ce produit requiert une main-d'œuvre spécialisée qui coûte cher. De plus, la manipulation des sujets provoque un stress et peut rendre la situation délicate. Les injections ne sont pas tolérées chez le poulet, spécialement lors de colibacillose, comme rapporté par (Saberfar et al., 2008).

### 2.3.7. la résistance des acides phosphoniques

Les résultats enregistrés vis-à-vis de cette famille sont présentés dans la figure 31.



**Figure 31** : Profil d'antibiorésistance des souches étudiées vis-à-vis de la famille phosphonique.

La fosfomycine est un traitement antibiotique à large spectre. L'effet de ce dernier était fort nos souches et nous avons enregistré un taux de sensibilité estimé à 93.10%. Cet antibactérien agit par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En effet, il inhibe une enzyme essentielle à la fabrication de l'acide N-acétylmuraminique, l'un des constituants essentiels de la paroi bactérienne des entérobactéries.

### 2.4. Multi-résistantes

Des bactéries peuvent être résistantes à un ou à plusieurs familles des antibiotiques, on parle alors de bactéries multirésistantes ou BMR.

Dans des cas extrêmes, heureusement encore très rares, une bactérie peut être résistante à tous les antibiotiques utilisables chez l'homme. Elle est dite alors pan-résistante et peut entraîner un échec thérapeutique. Les BMR les plus inquiétantes sont les entérobactéries multirésistantes.

Les taux de multi-résistance enregistré à l'encore des 16 molécules antibiotique testé donnés sont résumés dans le tableau 6 et la figure 32.

Tableau 6 : Fréquences des multi-résistances.

Nombre d'antibiotiques	Nombre de souches	Fréquence
1	0	0%
2	0	0%
3	5	17,24%
4	6	20,69%
5	4	13,79%
6	4	13,79%
7	2	6,90%
8	7	24,14%
9	0	0%
10	1	3,45%
11	0	0%
12	0	0%
13	0	0%
14	0	0%
15	0	0%
16	0	0%
<b>total</b>	<b>29</b>	<b>100%</b>

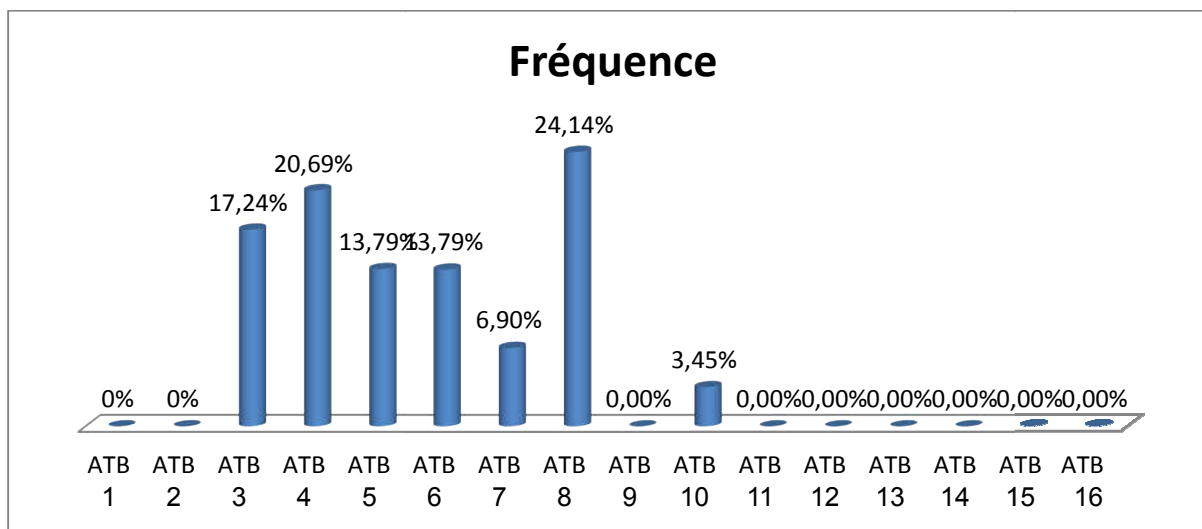
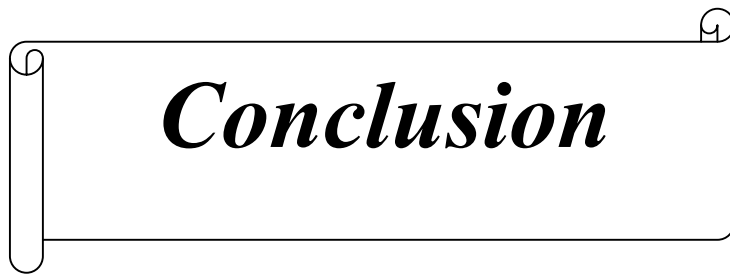


Figure 32 : Fréquence des multi-résistances.

Les forts pourcentages de multi-résistantes sont enregistrés vis-à-vis de 8 antibiotiques (24.14%), 4 antibiotiques (20.69%), 3 antibiotiques (17.24%), 5 et 6 antibiotiques (13.79%). Cette

multi-résistance peut être due utilisation anarchique et abusive des antibiotiques dans le secteur, sans avis de vétérinaire.

Le phénomène de multi-résistance est généralement du soit à une résistance croisée, c'est-à-dire résistance de la bactérie à tous les membres d'une classe d'antibiotiques due à un seul mécanisme de résistance (Chopra et Roberts, 2001 ; Courvalin, 2008) ou à des antibiotiques de classe différentes ayant la même cible d'action quand cette dernière est modifiée par un produit de gène de résistance (Roberts et *al.*, 1999 ; Courvalin, 2008), soit à la présence de plasmides porteurs de plusieurs gènes conférant la résistance à divers familles d'antibiotiques (Perreten et *al.*, 1997).

A decorative scroll graphic with a black outline, featuring a rolled-up edge on the left and a small circular detail on the top right. The word "Conclusion" is written in a bold, italicized serif font in the center of the scroll.

***Conclusion***

## CONCLUSION

Les entérobactéries occupent une place très importante en filière avicole. Cette importance s'explique aussi bien par la variété des espèces bactériennes qui les composent qu'à leur incidence au niveau de la santé des populations.

Notre étude a été menée sur un total de 80 abats de poulet de chair (foie et rate) prélevés à Djelfa. Nous avons pu isoler 39 souches d'entérobactéries. Parmi l'ensemble des souches isolées, *Proteus mirabilis* reste l'espèce la plus fréquente avec 48.72% (soit 19/39). *Salmonella spp.* vient en deuxième position avec une valeur estimée à hauteur de 23.08% (soit 9/39).

En ce qui concerne le profil d'antibiorésistance de l'ensemble des isolats, la majorité des souches ont exprimé une sensibilité à la plupart des antibiotiques. Ainsi, nous avons observé des taux de résistance élevés vis-à-vis de la tétracycline (100%), la céftazidime et l'acide nalidixique (79.31%), l'amoxicilline et l'ofloxacine (72.41%). Des niveaux de résistance moyens sont enregistrés vis-à-vis de la colistine sulfate (62.07%). Tandis qu'une faible résistance a été observée avec la céfotaxime, la ciprofloxacine et la lévofloxacine (27.59%), la cefoxitine (20.96%), la gentamicine (17.24%), le chloramphénicol (13.79%), l'amoxicilline-acide clavulanique et l'aztréonam (10.34%), l'imipénème (6.90%) et la fosfomycine (0 %).

Pour ce qui est des isolats de salmonelles, la totalité des souches se sont montrées résistantes à la tétracycline et à la céfotaxime. Des valeurs élevées sont également enregistrées à l'encontre de l'amoxicilline et l'ofloxacine. En revanche, des sensibilités élevées sont mentionnées pour l'imipénème, la ciprofloxacine, l'amoxicilline/acide clavulanique, la lévofloxacine et la fosfomycine, ce qui leur permet d'être un choix thérapeutique dans les élevages avicoles, dans le cas de traitement de salmonelloses.

Ces résultats sont attribués à l'usage abusif des antibiotiques sans avis du vétérinaire. Cette pratique exerce une pression sur les micro-organismes qui développent de la résistance par plusieurs mécanismes. L'évolution des résistances, comprenant l'apparition incessante de nouveaux mécanismes, exige la mise en place d'une politique d'antibiothérapie justifiée. La lutte contre l'émergence et la diffusion de ces souches multi-résistantes aux antibiotiques passe par

une meilleure et une optimisation de leur utilisation. Ainsi, le développement de nouvelles stratégies et la découverte de nouvelles cibles constituent une nécessité évidente. Il serait également intéressant :

- De réaliser des études similaires dans tout le territoire national;
- Et d'arrêter l'emploi des antimicrobiens comme facteurs de croissance chez les animaux;
- Et de créer des systèmes nationaux de suivi de l'utilisation des antimicrobiens chez les animaux d'élevage;
- Et de proscrire les antimicrobiens autorisés le traitement des maladies des animaux d'élevage;
- Et d'organiser des campagnes de sensibilisation des éleveurs sur la prévention contre les infections et l'usage prudent des antibiotiques.

Il semble aussi indispensable d'implémenter des mesures de surveillance régulières et de revoir les pratiques d'hygiène, d'élevages de poulet et l'utilisation des antibiotiques. Il faut aussi signaler que les bactéries multirésistantes peuvent être facilement transmises aux humains, et leurs traitements par antibiotiques seraient inefficaces.

Cette résistances variables vis-à-vis des antibiotiques testés avec des phénotypes de résistance différents. Cette résistance diffère d'une boucherie à l'autre, cela est peut être dû à l'origine des poussins, aux conditions d'élevage et à l'antibiothérapie exercée par les aviculteurs.

L'utilisation des antibiotiques dans le domaine humain ou animal contribue à l'apparition de la résistance des souches, commensales ou pathogènes, aux antibiotiques.

En perspectives, les salmonelles isolées dans cette étude devraient faire l'objet d'autres études sérologiques et génétiques afin de les mieux caractériser en vue de les comparer avec les souches circulantes au niveau régional et/ou mondial, et de déterminer les facteurs génétiques responsables de leurs pathogénicité et résistance aux antibiotiques.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both ending in small circular curls.

# *Références bibliographiques*



### Références bibliographiques

- Agasan A., Kornblum J., Williams G., Pratt C., Fleckenstein Ph., Wong M., and Ramon A.(2002). Profile of *Salmonella* enterica subsp. enterica (Subspecies I) Serotype 4,5,12:i:Strains Causing Food-Borne Infections in New York City. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 40 : ( 6) .1924–1929.
- Anderson ES.(1968). Drug resistance in *Salmonella* Typhimurium and its implications. Br Med J. 3 : 333 – 339.
- Andino A.,and Hanning I.(2015). *Salmonella* enterica: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. Review Article. The Scientific World Journal. p: 16 .
- Anne B (2001). Intérêt et limites des techniques de caractérisation des Salmonella Epidémiol. et santé anim, 39, 31-42.
- Arlet G., Barrett TJ ., Butaye P., Cloeckart A., Mulvey MR., White DG .(2006). *Salmonella* resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology. Microbes Infect 8: 1945 – 1954.
- ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION NF EN ISO 6579 Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. Association Française de Normalisation : Saint-Denis, Décembre2002, 27 p.
- Aubry P. (2013) .Les salmonelloses. Médecines tropicale des pays de l’Océan Indien. <http://www.sup-numerique.gouv.fr>
- Ayachi A., Alloui N., Kassah-laouar A., Bennoune.O.(2009). Detection de *Salmonelles* mineurs au niveau des couvoirs du secteur étatique et privé de la Wilaya de Batna. JRA:413-417.
- Achek R., Belabdi I., Hamdi T.M.(2012).Prévalence et évolution des sérotypes des *salmonelles* aviaires, isolées dans sept wilayas de l’ouest de l’Algérie : étude rétrospective de 2003 à 2011 la réussite de ces 10ème JSV - 27 et 28 mai 2012 - ENSV d’ALGER. P : 51.
- Ball P. (2000).Quinolone generations natural history or natural selection J. Antimicrob. Chemother.46 : Suppl T1, 17-24
- Barrow A. P. and Methner U.(2013). *Salmonella* in Domestic Animals.2 nd edition CABI. P:8.

- Bäumler A., Tsois R., and Heffron F. (1996). Contribution of fimbrial operons to attachment to and invasion of epithelial cell lines by *Salmonella* Typhimurium. *Infect Immun* 64:1862-1865.
- Bergeron N. (2009) .Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de *Salmonella* *Typhimurium* provenant de porcs sains ou septicémiques. Thèse de doctorat d'université de Montréal. p :8.
- Berraho E.(2009).Cours de Microbiologie Générale. Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire, B.P. 1014, Rabat.
- Bourgeois CM., J.F.Mescle .,J .Zucca. (1996). Microbiologie alimentaire Tome1 .Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité de aliments. ISS N :0243-5624.
- Boyd D., Peters GA., Cloeckert A., Boumedine KS., Chalus-Dancla E., Imberechts H., Mulvey., MR.(2001). Complete nucleotide sequence of a 43-kilobase genomic island associated with the multidrug resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and its identification in phage type DT120 and serovar Agona. *J Bacteriol.* 183, 5725 – 5732.
- Brisabois A .(2001). Intérêt et limites des techniques de caractérisation des *Salmonella* *Epidémiol. et santé anim*, 39, 31-42.
- Brenner F.W., Villar R.G., Angulo F.J., Tauxe R., Swaminathan B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical . Microbiology* . 38 (7) : 2465 – 2467.
- Camart-Périeré A. (2006). *Salmonella*, salmonelloses bovines : état des lieux, épidémiologie en France, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. Thèse de doctorat vétérinaire. P : 122.
- Carip C.,JackyB., Dorsainvil E, Salvert M-H., Tandeau A. (2008).Microbiologie Hygiène : Base microbiologique de la diététique. LONDRES-PARIS-NEW YORK.
- Castagnos S. (2003). 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 de doctorat d'université Paul-Sabatier de Toulouse. P:25
- CH., Su LH., Chu C., Chia JH., Wu TL., Lin TY., Lee YS & Ou JT.(2004). Isolation of *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis resistant to ceftriaxone and ciprofloxacin. *Lancet* 363: 1285-1286.identification in phage type DT120 and serovar Agona. *J Bacteriol.* 183, 5725 – 5732.

- Chaiba A. (2011). Impact des pratiques de production de poulet de chair à Meknès sur la qualité bactériologique, l'antibiorésistance et les résidus d'antibiotiques dans les produits aviaires finis, Thèse de Doctorat National, Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences de Meknès, Marocco.
- Chenouf N.S., Touissi D., Lebboukh H., Messai C.R., Hakem A., Zitouni A.(2016). Antibiorésistance et prévalence des souches BLSE chez les entérobactéries isolées du poulet de chair dans un abattoir avicole a Djelfa. 2èmes Journées de Biologie des Systèmes Microbiens, JBSM Les 26 et 27 novembre 2016. Communication affichée. ENS de Kouba. Alger.
- Chopra I., Roberts M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, application, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65:232-260.
- Cohen ML., and Tauxe RV .(1986). Drug-resistant *Salmonella* in the United States: an epidemiologic perspective. *Science*. 234, 964 – 969.
- Coleman ME., Marks HM., Golden NJ., Latimer HK.(2004). Discerning strain effects in microbial dose–response data. *J Toxicol Environ Health Assess.* 67(8–10):667–85.
- Corrége I., Proux K., Fravallo P., Cornou C., Flého J. Y.(2002). Les *salmonelles* en élevage porcin : caractérisation et rôle épidémiologique du statut des cochettes. *Journées de la Recherche Porcine*, 34, 309-315.
- Coulibaly EK., Bakayoko S., Karou TG., Coulibaly K J., Goualie GB., Dosso M., et Diopoh KJ. (2010). Stéréotypage et antibiorésistance des souches de *Salmonella* isolées dans les foies de poulets vendus sur les marchés de Yopougon (Abidjan Côte d'Ivoire) en 2005. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*. 8, 25-29.
- Courvalin P. (2008). La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bacérial antibiotic resistance : combinations of biochemical and genetic mechanisms*. *Bull. Acad. Vét. France-Tome 161-N°1* ; 7-12.
- Cox N.A., Bailey J.S., Mauldin J.M., Blankenship L.C., and Wilson J.L.. (1991). Extent of *Salmonellae* contamination in breeder hatcheries. *Poult. Sci*, 70: 416-418.
- Dechet A.M., Scallan E., Gensheimer K., Hoekstra R., Gunderman-King J., Lockett J., Wrigley D., Chege W., and Sobel J.(2006). Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella*

- enterica serotype Typhimurium definitive type 104 infection linked to commercial ground beef, northeastern United States, 2003-2004. *Clin. Infect. Dis*, 42: 747-752.
- Djeflal S., Mamache B., Elgroud R., Hireche S., Bouaziz O .(2018) Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in broiler chicken farms and slaughterhouses in the northeast of Algeria, *Veterinary World*, 11(8): 1102-1108.
  - Dourad G., Doublet B.,and Cloeckaert A. (2010). Identification of specific functions for the conjugal transfer of the mobile genomic island *Salmonella* genomic island1 (SGI1). International symposium *Salmonella* and salmonellosis, 29 Juin 2010, Saint - Malo,France.
  - Dumas J.(1958).Tribu des *Salmonella*, In: Bactériologie Médicale. Flammarion et Cie, pp. 399-433.
  - Finlay B. B., Brumell J. H. (2000). *Salmonella* interactions with host cells: in vitro to in vivo. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*. 355: 623-631.
  - Finlay B.B., Falkow S. (1989) .*Salmonella* as an intracellular parasite. *Mol. Microbiol* 3 :1833-1841.
  - Foley S. L., Johnson T.J., Ricke S. C., Nayak R., Danzeisen J. (2013). *Salmonella* Pathogenicity and Host Adaptation in Chicken-Associated Serovars.77: (4). *Microbiology and Molecular Biology Reviews* p. 582-607.
  - Foley, S. L., and Lynne, A.M.( 2008). "Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance." *Journal of animal science*, 86(14 Suppl).
  - Gaudy C., et Buxeraud J.(2005). *Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique*, Elsevier, Paris .P 14,23,24 .
  - Gledel J. (1996). Le genre *Salmonella* In: Bourgeois. *Microbiologie alimentaire*. Tome 1. Tec & Doc. Paris. p : 61-77.
  - Gledel, J., Corbion B.e.a.( 1991). *Le genre Salmonella dans le contrôle Microbiologique*, 2ème édition Edition, 480 p.
  - Greig, JD., & Ravel, A. (2009). Analysis of foodborne outbreak data reported intrnationally for source attribution.*International journal of food Microbiology* 130(2):77-87.

- Grimont P.A.D., Grimont F., et Bouvet P.J.M.(2000). *Salmonella* .In : Frenay J., Renaud F., Hansen W. et Bollet C. Précis de Bactériologie clinique. Paris : Editions ESKA: 1 137-1156.
- Guillaume P T. La microbiologie. In 2004.
- Guiraud J. P.(1998). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod Paris, France.
- Guthrie R. K . (1992). Taxonomy and grouping of the *Salmonella*, p. 23-40, In *Salmonella*. CRC Press Inc, Boca Raton.
- Hamitouche A., Chahed A.(2012). Etude du niveau des contaminants bactériens (critères d'hygiène) des poulets de chair au niveau des commerces dans la région d'Alger. la réussite de ces 10ème JSV - 27 et 28 mai 2012 - ENSV d'ALGER. P : 52.
- Haraga A., Maikke B., Ohlson., & Samuel I. (2008) Miller Nature Reviews Microbiology 6, 53-66.
- Herikstedt H., Hayes P., Mokhtar M., Fracaro ML., Threlfall EJ., Angulo FJ .(1997). Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States. Emerg Infect Dis. 3, 371 – 372.
- Heyndrickx M., Vandekerchove D., Herman L., Rollier I., Grijspeerdt K., De Zutter L. (2002). Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. Epidemiol. Infect, 129: 253– 265.
- Hu L., Kopecko D. (2003). Typhoid *Salmonella* . In: Miliotis N., Bier J (Eds), International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekkers: New York, 151-165.
- Humbert F., Sautra L., Federighi M., Jouve J.-L.(1998). Les *salmonelles*, In: Manuel de bacteriologie alimentaire. pp. 27-52.
- Jerngklinchan J., Koowatananukul C., Daengprom K., Saitanu K.(1994).Occurrence of *Salmonella* in raw broilers and their products in Thailand. J Food Prot.57:808–810.
- Jones TF., Ingram LA., Cieslak PR., Vugia DJ., Tobin-D'Angelo M., Hurd S., Medus C., Cronquist A., Angulo FJ.( 2008). Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype. J Infect Dis.198(1):109-14.
- Jordan F.T.W., Pattison. M.( 1996). Poultry Diseases.W.D. Saunders Company:,London, 38-43.
- Jourdan-Da Silva N., et Le Hello S. (2012). Salmonelloses en France, 2002-2010 : tendances en épidémiologie humaine, émergence de la souche monophasique, principaux

- aliments impliqués dans les dernières épidémies. Cité dans le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire. Institut de veille sanitaire .25-29.
- Kingsley R.A., and Bäumler A.J. (2000). Host adaptation and the emergence of infectious disease: the *Salmonella* paradigm. *Mol. Microbiol*, 36: 1006-1014.
  - Korsak N., Clinquart A., Daube G.(2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique?. *Ann. Méd. Vét.*, 2004, 148, 174-193.
  - Langridge G. C., Wain J., and Nair S.(2005). Invasive Salmonellosis in Humans. *EcoSalPlus* .Cambrige CB 10.
  - Legiot A.D., LE mao P., Convent A., et Penot.(1993). Recherche des *salmonelles* dans les mollusques bivalves marins par conductance-metrie. direction de l'environnement et de l'aménagement journal :6.
  - Le Minor C., and Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour identification des entérobactéries. Institut Pasteur, France. 217p.
  - Le Minor L., & Richard C. (1993). *Salmonella*. In Méthodes de laboratoire pour l'identification des Entérobactéries, pp. 27-54. Edited by I. Pasteur. Paris.
  - Livrelli V., Boonet R., Joly B, Darfeuille-Michaud A., *Escherichia coli* et autre *Escherichia, Shigella*. In Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P.( 2007). Précis de bactériologie clinique, , Edition ESKA, 989-1004.
  - MacDonald K.L., Cohen M.L., Hargrett-Bean N.T., Wells J.G., Puh N.D., Collin S.F., Blake P.A. (1987). Changes in antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from humans in the United States. *JAMA*, 258: 1496- 1499.
  - Madigan M., Martinko J. (2007). Biologie des micro-organismes. 11 ème édition. Pearson, Paris. p : 731-735, 790-792, 943, 947-948.
  - Martinez J.L .(2008). Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environment. *Science* 321 : 365-367.
  - McWhorter AC., Murrell MC., Edwards PR .(1963). Resistance of *Salmonella* isolated in 1962 to chlortetracycline. *Appl Microbiol*. 11, 368 – 370.
  - Millemann Y.(1998). Le pouvoir pathogène des *salmonelles* : facteurs de virulenceet modèles d'étude. *Veterinary Research, BioMed Central*, 29: 385-407.

- Medjbar M., Bouyoucef A., Benayad T., Zerrouki K. (2012). Caractérisation des *salmonelles* dans les tueries avicole de la wilaya de Blida. Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie. p :158-161.
- Mekademi K. Contamination des poulets de chair par *Salmonella* non Typhi à Mitidja. J Curr Res Sci. 2012; 4: 213-217.
- Millemann Y. (1997). Les marqueurs epidemiologiques des *salmonelles*. Veterinary Research, BioMed Central, , 29 : 3-19.
- Miranda JM., Guarddon M., Va'zquez BI., Fente C., Barros-vela'zquez J., Cepeda A., and France CM. (2008). Antimicrobial resistance in enterobacteriaceae strains isolated from organic chicken, conventional chicken and conventional turkey meat: comparative survey. Food control. 19, 412-416.
- Miriagou V., Tassios PT., Legakis NJ., Tzouvelekis LS.(2004). Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*. Int J Antimicrob Agents. 23, 547 - 555.
- Moffatt J. H., Harper M., Harrison P., Hale J.D.F., Vinogradov E., Seemann T., Henry R., Crane B., Michael F.St. Andrew D., Adler Ben, Nation R.I., Li Gian, Boyce J.D. (2010). Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. Antimicrob. Agents Chemother. 54(12):4971-4977.
- Moreno S., Andrea I., Yesim Soyer., Lorin D., Warnick., and Wiedmann M., ( 2009). Review : Foodborne Pathogens and Disease. Emergence, Distribution, and Molecular and Phenotypic Characteristics of *Salmonella enterica* Serotype 4,5,12:i:- . V:6. P : 407-408 .
- Parry C. M., and Threlfall E.J. (2008). Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal *salmonellae*. Curr Opin Infect Dis, 21:531-538.
- Perreten V., Franziska S., Luana Cresta,, Boeglin M., Gottfried D., et Teuber M. (1997). Antibiotic resistance spread in food. Nature. 389:801-802.
- Popoff M. Y., Bockemuhl J., and Gheesling L.L., ( 2004). Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. Rev Microbiol, 155: 568-570.
- Quintiliani J.R., et Courvalin P. (1995). Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. In; Manual of clinical microbiology. Edite par Murray P.R., Baron EJ., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H., 6eds, American Society of Microbiology Press Pages 1308-1326.

- 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.
- Ramsey CH., & Edwards PR .(1961). Resistance of *Salmonellae* isolated in 1959 and 1960 to tetracyclines and chloramphenicol. *Appl Microbiol* 9, 389 – 391.
- Rasbra (Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques) (2011). Surveillance de la resistance des bacteries à l'antibiotique 12eme rapport d'évaluation p : 66.
- Riley L.W., Cohen M.L., Seals J.E., Blaser M.J., Birkness K.A., Hargrett N.T., Martin,S.M., Feldman R.A. (1984). Importance of host factors in human salmonellosis caused by multiresistant strains of *Salmonella*. *J. Infect. Dis*, 149: 878-883.
- Roberts D.F., Foehr U.G., Rideout V.J., & Brodie M. (1999). Kids & media @the new millennium. Menlo Park, CA: Kaiser Family Foundation.
- Ryder R.W., Blake P.A., Murlin A.C., Carter G.P., Pollard R.A., Merson M.H., Allen S.D., Brenner D.J. (1980). Increase in antibiotic resistance among isolates of *Salmonella* in the United States, 1967-1975. *J. Infect.Dis*, 142: 485-491.
- Saberfar E.B., Pourakbari K., Chabokdavan., and F. Taj Dolatshani.( 2008). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from Iranian broiler chicken, 2005-2006. *J. Appl. Poultry Res.*, 17: 302-304.
- 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 for 43 molecular typing of *Salmonella enterica* serovars, *Molecular and Cellular Probes*, 22p, 238-243.
- Schroder G., Krause ES., Zechner L., Traxler B., Yeo HJ., Lurz R., Waksman G., & Lanka E. (1968). TraG-like proteins of DNA transfer systems and of the *Helicobacter pylori* type IV secretion system: inner membrane gate for exported substrates. *Journal of Bacteriology* 184, 2767-2779.
- Swanson S. J., Snider C, et al. (2007). "Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium associated with pet rodents." *N Engl J Med*, 356(1): 21-8.
- Thiaw A.(1998). Les salmonelloses au C.H.U. de fann : aspects bacteriologiques. Thèse de doctorat. P : 8-9.



- Threlfall E .(2000). Epidemic Salmonella Typhimurium DT 104-a truly international multiresistant clone. J. Antimicrob. Chemother 46, 7-10.
- Threlfall EJ., Ward LR., Rowe B. (1978). Spread of multirésistantes strains of *Salmonella* Typhimurium phage types 204 and 193 in Britain. Br Med J 2, 997.
- Tindall B. J., Grimont P. A. D., Garrity G. M., and . Euze´ by J. P.(2005) . Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 55, 521–524 .
- Todd EC., Greig JD., Bartleson CA., Michaels BS.(2008). "Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 5. Sources of contamination and pathogen excretion from infected persons." J Food Prot 71(12): 2582-2595.
- Van immerseel F., De buck J., Boyen F., Pasmans F., Bertrand S., Collard J.M., Saegerman C., Hooyberghs J., Haesebrouck F., Ducatelle R.(2005 ). *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. 149, 34-48.
- Waltman W.(2000). Methodes for the cultural isolation of *Salmonella*. In:Wray C, Wray A. (Eds), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Pulishing: Oxon, 355-372.
- Wanson S. J., Snider C., Braden C.R., Boxrud D., Wunschmann A., Rudroff J.A., Lockett J., Smith K.E. (2007). "Multidrug-resistant *Salmonella* enterica serotype Typhimurium associated with pet rodents." N Engl J Med, 356(1): 21-8.
- Weill X. F.(2008) .Zoonotic non-typhi *Salmonella* and antibiotic resistance. Bull. Acad. Vét. France - Tome 161 - N°3. P : 222 .
- Weinberger M., Andorn N., Agmon, V., Cohen, D., Shohat T. & Pitlik S. D. (2004). "Blood invasiveness of *Salmonella* enterica as a function of age and serotype." Epidemiol Infect, 132(6): 1023-8.
- Who (World Health Organization). (2008). Antibiotic use in food-producing animals must be curtailed to prevent increaed resistance in humans. Geneva : The Organization ; WHO Press Release WHO/73, 1997 Oct 20.
- Yves M. (1998). Les marqueurs épidémiologiques des *Salmonelles*. Vétérinaire Resistances. 29, 3-19.





***Annexe***

	ONPG	Urée	TSI	TDA	Indole	Les souches
F14		+			-	Proteus mirabilis
F16		+			-	Proteus mirabilis
F17		+			-	Proteus mirabilis
F20		+			-	Proteus mirabilis
F23		+	+	+	-	Proteus mirabilis
F25		+	+	+	-	Proteus mirabilis
F26		+	-	+	-	Proteus penneri 67.6%
F27(-)		+	-	+	-	Proteus penneri 67.6%
F31(-)		+	+	-	-	Proteus mirabilis
F32		+	-	-	-	Chromobacterium violaceum
F35(+) <sub>n</sub>	-	-	+	-	-	Salmonella
F35(-) <sub>n</sub>	-	-	-	+	-	Salmonella Paratyphi A
f36		+	+	+	+	Proteus vulgaris group 97,9
F37(-) <sub>n</sub>	-	+		+	-	Proteus mirabilis
F38(-) <sub>n</sub>	-	+		-	-	Chromobacterium violaceum
F39(-) <sub>n</sub>	-	+		-	-	Chromobacterium violaceum
F40(-) <sub>n</sub>	-	+		+	-	Proteus mirabilis
F41	-	-		-	-	Salmonella
F42-	-	-		-	-	Salmonella
F43(-) <sub>n</sub>	-	-		-	-	Salmonella
F44(-) <sub>n</sub>	-	-		-	-	Salmonella
F45	-	-		+	+	proteus vulgaris
F46	-	-		-	-	Salmonella
F48	+	+	+		-	citrobacter braakii 100%
R2		+	+	-	-	Proteus mirabilis
R11		+	-	+	+	Salmonella spp 65.7%
R15		+	+	+	-	Proteus mirabilis
R16	-	-	+	-	-	Salmonella
R20(+) <sub>v</sub>	-	+	-	-	+	Proteus mirabilis 100%
R20(-) <sub>n</sub>	+	+		+	+	Proteus vulgaris group
R22 (-)	+	+		+	+	Proteus vulgaris group
R26	+	-		-	-	citrobacter freundii

Résultats d'identification morphologiques

### Composition des différents milieux de cultures utilisés

#### Gélose de conservation

Peptone	10g
Agar	10g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée q.s.p	1000ml

pH=7,3

#### Hektoen

Protéose peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	9g
Sels biliaires	1,5g
Citrate de fer ammoniacal	2g
Salicine	12g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuchine acide	0,1g
Bleu de bromothymol	0,065g
Agar 13g Eau distillée q.s.p	1000ml

pH=7,5

**Muller-Hinton**

Infusion de viande de boeuf déshydraté	3g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	10g
Eau distillée q.s.p	1000ml

pH =7,4

**Brain Heart Infusion Broth**

Ingredients	Gms / Litre
Calf brain, infusion from	200.000
Beef heart, infusion from	250.000
Proteose peptone	10.000
Dextrose	2.000
Sodium chloride	5.000
Disodium phosphate	2.500

pH ( at 25°C) 7.4±0.2

**Composition des réactifs****Réactif de TDA**

Soluté de perchlorure de fer FeCl <sub>3</sub>	10 ml
Eau distillée	20 ml

**Réactif de Kovacs**

Alcool amylique	5 g
Paradiméthylamino-benzaldéhyde	75 ml
HCL pur	25 ml

