

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ–BOUIRA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE  
LA TERRE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES  
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine :** SNV

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Microbiologie appliquée

**Présenté par :**

MAYOUF Ryma & TALEB Hadjer Maroua

*Thème*

**Isolement et antibiorésistance des salmonelles isolés à  
partir de poulet de chair**

Soutenu le 23/06/2024 devant le jury compose de :

Nom et Prénom	Grade		
Mme BOUTHELDJA R	MCA	Univ. De Bouira	Présidente
Mme MESSAD S	MCA	Univ. De Bouira	Promotrice
Mme HAMID S	MCA	Univ. De Bouira	Examinatrice

**Année Universitaire : 2023/2024**

## Remerciement

Tout d'abord on tient à remercier **ALLAH** le tout puissant d'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés et pourvoir réaliser ce travail de recherche.

Ce travail est le fruit de la combinaison d'efforts de plusieurs personnes. Nous remercions tout d'abord le tout puissant qui, par sa grâce nous a permis d'arriver au bout de nos efforts en nous donnant la santé la force et le courage

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance à l'égard de notre encadreur docteur **MESSAD Sara** pour son aide, sa constante disponibilité et ses précieux conseils qui ont permis à ce travail de voir le jour

Nous remercions nos enseignants **Madame BOUTHELDJA R** et **Madame HAMID** qui nous ont fait l'honneur de participer dans l'évaluation ce mémoire.

On tient à exprimer nos profondes gratitude et mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de notre stage au sein de L'institut National de la Médecine Vétérinaire **Mme SAADAoui H** et **Mme LAALA S**. Leur soutien inestimable, leur expertise et leurs encouragements ont

Grandement enrichi notre expérience professionnelle.

Nos respects et nos remerciements à tous les enseignants ayant contribué dans notre formation particulièrement ceux du département Biologie, spécialité microbiologie appliquée.

Nous remercions finalement toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à l'élaboration de notre travail.

# Dédicace

*Avec l'exception de ma connaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui je dois ma vie, ma réussite  
et*

*tout mon respect : mon cher papa **Abderrahmane***

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui a jamais dit non  
à*

*mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre*

*heureuse : Mon adorable maman **Djamila***

*A mes chers frères **Abdou, Salah, Islem et Aymen** qui n'ont pas cessé  
de me conseiller, encourager et*

*soutenir tout au long de mes études.*

*A ma grand-mère, mes oncles et mes tantes. Que dieu leur donne une  
longue et joyeuse vie*

*A tous mes cousins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant*

*Merci pour leurs amours et leurs encouragements*

*Sans oublier mon Binôme **Hadjer Maroua** pour son soutien moral, sa  
patience et sa compréhension tout au long de ce projet*

**Ryma**

# Dédicace

*BiSSIMILAHl RAHMANE RAHIM Au nom de Dieu,  
clément et Miséricordieux ☐*

*Tout-puissant pour me porter, protéger et me donner la vie,  
ma chère et tendre mère **Amina** qui a veillé des nuits pour  
me soutenir et qui s'est assurée de m'enseigner avec sa  
patience et ses sacrifices pour mon succès*

*A mon père **lyamine** Ce travail est le fruit de tes  
souffrances, tes inquiétudes et ton encouragement. Nous  
prions Allah, le tout Miséricordieux qu'il te donne longue  
vie pour consommer ta réussite et continuer à nous chérir  
davantage,*

*A mes frères (**Islem** et **Yasser**) Je profite de ce moment pour  
vous dire que je vous aime tous les deux. Que Dieu vous  
donne longue vie.*

*A mes soeurs **Serine** et **wisal** , que Dieu vous donne longue  
vie. Je veux bien être un exemple idéal et utile pour vous Je  
t'aime mes chéries et je t'embrasse très fort.*

*A mes grands-parents, oncles, tantes, cousins et cousines, je  
vous remercie pour votre soutien moral et vos  
encouragements.*

*Ainsi qu'à mes chers amis pour chaque mot reçu, chaque  
geste d'amitié, spécialement :**Zineb** , **Lilia** ,**Wassim**,**Moussa**  
**,Nabil** . A tous les étudiants de ma promotion de  
Microbiologie*

*A ma très chère amie et partenaire **Ryma** je te remercie  
pour tous ces moments de tristesse, joie et de folie. de tout  
coeur je souhaite que notre amitié reste éternelle, surtout ne  
change rien.*

**Maroua**

## Table de matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction ..... 01

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les salmonelles	
1.1. Historique .....	03
1.2. Taxonomie et nomenclature.....	04
1.3. Caractéristiques bactériologique	
1.3.1. Caractères morphologiques.....	07
1.3.2. Caractères cultureux.....	08
1.3.3. Caractères biochimiques .....	08
1.3.4. Caractères antigéniques.....	10
1.3.4.1. Antigène somatique O (Ag O) .....	10
1.3.4.2. Antigène flagellaire (Ag H) .....	10
1.3.4.3. L'antigène de virulence (Ag Vi) .....	11
1.3.4.4. Organisation de schéma de White-Kauffmann-Le Minor ....	11
2. Epidémiologie .....	13
2.1. Réservoirs.....	13
2.2. Modalités d'infection des poulets de chair .....	14
2.2.1. Dans l'élevage.....	14
2.2.2. Dans l'abattoir.....	15
2.2.3. Dans les boucheries.....	16
2.3. Dose infectieuse .....	17
2.4. Modes de transmission à l'homme .....	17
3. Symptômes .....	19
3.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes .....	19
3.2. Gastro-entérites .....	19
3.3. Toxi-infections alimentaires collectives .....	19
3.4. Complications .....	20
4. Pouvoir pathogène.....	20

5. Détection et identification des salmonelles	
5.1. Méthodes microbiologiques.....	22
5.2. Méthodes phénotypiques .....	23
5.2.1. Sérotypie .....	23
5.2.2. Antibiotypie .....	23
5.2.3. Lysotypie.....	23
5.3. Méthodes génotypique .....	24
5.3.1. Multilocus sequence typing (MLST).....	24
5.3.2. Méthode basé sur l'électrophorèse.....	24
6. Résistance aux antibiotiques des salmonelles .....	25
7. Traitement des infections à <i>Salmonella</i> .....	26
8. Prévention des infections à <i>Salmonella</i> .....	26

## Chapitre II : Etude expérimentale

### 1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel .....	28
1.2. Méthodes .....	29
1.2.1. Echantillonnage .....	30
1.2.2. Méthode de recherche des salmonelles .....	31
1.2.2.1. Préparation de suspension mère (Pré-enrichissement).....	31
1.2.2.2. Enrichissement sélectif .....	32
1.2.2.3. Isolement.....	33
1.2.2.4. Identification	
A. Coloration de Gram.....	34
B. Identification par galerie biochimique .....	35
C. Identification par Api20E.....	37
1.2.2.5. Sérotype .....	39
1.2.3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	41

### 2. Résultats et discussion

2.1. Aspect des cultures .....	44
2.2. Identification phénotypique des isolats .....	45
2.3. Taux d'isolement global des salmonelles.....	47
2.4. Taux d'isolement des salmonelles par type d'échantillon .....	48
2.5. Taux d'isolement des échantillons par wilaya .....	49

5.6. Sérotypage des souches confirmées phénotypiquement.....	50
2.7. Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques.....	55
2.7.1. Taux de résistance globale.....	56
2.7.2. Taux de résistances associées .....	57
2.7.3. Profils de résistance des souches isolées .....	58
<b>Conclusion.....</b>	<b>62</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	

## Liste d'abréviation

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**AgO** : antigènes somatiques

**AgH** : Antigène flagellaire

**AgVi** : Antigène de virulence

**BGS** : Brilliant Green Sulfa Agar

**CDC**: Centers for Disease Control and Prevention

**EPT** : Eau peptone tamponnée

**GC%** : coefficient de Chargaff

**g** : gramme

**H<sub>2</sub>S** : L'hydrogène sulfuré

**ICMSF** : The International Commission on Microbiological Specifications for Foods

**KCN** : Cyanure de potassium

**INMV** : Institut national de la médecine vétérinaire

**LDC** : La lysine décarboxylase

**LDA** : La lysine désaminase

**mm** : millimètre

**MKTTn** : bouillon muller-kauffmann au tetrathionate novobiocine

**Milieu KIA** : milieu de Kligler-Hajna

**MSRV** : milieu modifié semi-solide de Rappaport-Vassiliadis

**MLST** : Multi locus sequence typing

**ml** : millième de litre

**ONPG** : ω-nitrophényl-β-D-galactopyranoside

**OMS** : L'Organisation mondiale de la Santé

**OIE** : Organisation mondiale de santé animale

**pH** : potentiel hydrogène

**PFGE** : Pulsed-field Gel Electrophoresis



**RVS** : Rappaport-Vassiliadis soja

**SS** : Salmonella-Shigella

**Schéma WKL** : Schéma whitte-Kauffmann-Le minor

***S. enterica*** : *Salmonella enterica*

***S. bongori*** : *Salmonella bongori*

**SNP** : polymorphismes nucléotidiques simples

**TIAC** : toxi-infection alimentaire collective

**TSI** : triple sugar iron

**WOAH** : world organisation of animal health

**XLD** : xylose–lysine–désoxycholate

**µm** : Micromètre

**°C** : Celsius (degré)

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Répartition mondiale des sérotypes de <i>Salmonella</i> par matrice (Rafaela Ferrai et <i>al.</i> , 2019) .....	06
<b>Figure 02</b> : Classification des salmonelles (Grimont et <i>al.</i> , 2000) .....	07
<b>Figure 03</b> : Caractère morphologique d'une salmonelle (Montville et <i>al.</i> , 2008).....	08
<b>Figure 04</b> : Structure antigénique d'une salmonelle (Gledel et Corbion, 1991).....	10
<b>Figure 05</b> : Transmission inter-espèces, équipements et aliments des souches salmonelles (Ferrari et <i>al.</i> , 2019) .....	18
<b>Figure 06</b> : Représentation schématique des différentes étapes de l'infection orale par <i>Salmonella</i> (Haraga et <i>al.</i> , 2008).....	21
<b>Figure 07</b> : Schéma global d'isolement et de caractérisation phénotypique des salmonelles	29
<b>Figure 08</b> : Prélèvement de foie et intestin .....	30
<b>Figure 09</b> : Les prélèvements de: bréchet, cou, poulet haché et ails .....	30
<b>Figure 10</b> : étapes de préparation de suspension mère .....	31
<b>Figure 11</b> : Enrichissement sur milieux MSR/V .....	32
<b>Figure 12</b> : Enrichissement sur bouillon sélénite.....	32
<b>Figure 13</b> : Bouillon RVS et MKTTn d'enrichissement .....	33
<b>Figure 14</b> : Ensemencement sur gélose hektoen.....	33
<b>Figure 15</b> : Ensemencement sur gélose XLD .....	33
<b>Figure 16</b> : La galerie Api20E avant l'incubation .....	34
<b>Figure 17</b> : Lecture de la galerie Api20E .....	37
<b>Figure 18</b> : Matériels et réactifs utilisés dans le sérotypage.....	38
<b>Figure 19</b> : test des antigènes O.....	39
<b>Figure 20</b> : test des antigènes H.....	40
<b>Figure 21</b> : Mesure de l'opacité de la suspension bactérienne par densitomètre .....	41
<b>Figure 22</b> : dépôt des disques d'antibiotiques sur Muller Hinton.....	42
<b>Figure 23</b> : mesure de diamètre mesure de diamètre d'inhibition .....	42
<b>Figure 24</b> : Aspect de colonies suspectes <i>Salmonella</i> par hektoen et XLD .....	43

<b>Figure 25</b> : Résultats de l'identification par la galerie biochimiques classique d'un isolat appartenant à salmonelle .....	44
<b>Figure 26</b> : Résultat et interprétation de l'identification par la galerie Api20E d'un isolat appartenant à salmonelle .....	46
<b>Figure 27</b> : Pourcentage des résultats positifs pour chaque type d'échantillon .....	46
<b>Figure 28</b> : Le taux d'échantillon positifs et négatifs varie en fonction de la catégorie de produit .....	47
<b>Figure 29</b> : Pourcentage des résultats positifs issus de Bouira et d'Alger .....	49
<b>Figure 30</b> : Répartition des résultats positifs par espèce .....	50
<b>Figure 31</b> : Schéma d'identification de <i>Salmonella</i> Enteritidis .....	51
<b>Figure 32</b> : Schéma d'identification de <i>Salmonella</i> Kentucky .....	52
<b>Figure 32</b> : Pourcentage de chacun des sérotypes identifiés .....	53
<b>Figure 33</b> : Antibiogramme de quelques souches isolées .....	54
<b>Figure 34</b> : Antibiorésistance globale .....	55
<b>Figure 35</b> : Taux de résistance des souches 1, 2 et 3 antibiotiques .....	56
<b>Figure 36</b> : Profils de résistances aux antibiotiques pour chaque sérotypes .....	58

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Nombre de sérovars dans chaque espèce et sous-espèce (Hirzel et Leipzig, 1967) .....	05
<b>Tableau II</b> : Caractères biochimiques de salmonella entre les sous espèces (Le Minor et Popoff, 1987 ; Reeves <i>et al.</i> , 1989) .....	09
<b>Tableau III</b> : Présentation des différentes colonnes du schéma de White-Kauffmann-Le Minor (OMS, 2007).....	12
<b>Tableau IV</b> : Consommable, Appareillage, Réactifs et Milieux de culture utilisés.....	28
<b>Tableau V</b> : Analyses à travers la galerie biochimique classique.....	35
<b>Tableau VI</b> : Les disques d'antibiotiques utilisés, l'abréviation ainsi que leurs charges.....	43
<b>Tableau VII</b> : Caractères phénotypiques qualifiant le genre <i>Salmonella</i> .....	45
<b>Tableau VIII</b> : Fréquence des isolats de salmonelles par type d'échantillons.....	48
<b>Tableau IX</b> : Distribution des prélèvements dans les Wilayas de Bouira et Alger .....	49
<b>Tableau X</b> : Nombre d'échantillons positifs dans les deux Wilayas .....	49
<b>Tableau XI</b> : Profils de résistances aux antibiotiques et sérotypes .....	58

## Résumé

Salmonella est classé parmi les bactéries les plus répandus dans les aliments et qui cause des infections grave et des mortalités infatiles chez l'homme chaque année dans le monde lié à la consommation des aliments avicoles contaminés. L'objectifs de cette étude est d'isolée, identifié et sérotypé les isolats de salmonella provenant des élveges, des abattoirs et points de vente à partir de 75 échantillons collectée dont 15 foie, 15 intestin, 13 bréchet, 12 ails, 10 cou et 10 poulet hachée chez poulet de chair, on a isolée 27 souches de *Salmonella spp.* Le sérotype a identifié 5 sérovars (8 souches appartient au *Salmonella* Kentucky, 6 souches : *Salmonella* Enteritidis, 5 souches : *Salmonella* Typhimirium ,3 souches : *Salmonella* Hadar et 5souches: *Salmonella* Heidelberg. L'antibiogramme a révélé que l'ensemble des salmonelles sont sensibles aux Céfotaxime et gentamicine alors que sont résistante aux Tétracycline, ciprofloxacine et moxifloxacine.

**Mots Clés :** *Salmonella*, Poulets de chairs, Abattoire, Boucherie, Sérotype, antibiogramme

## Abstract

Salmonella is classified as one of the most widespread bacteria in food, causing serious infections and fatalities in humans worldwide every year through the consumption of contaminated poultry feed. The aim of this study was to isolate, identify and serotype Salmonella isolates from schools, abattoirs and sales outlets from 75 samples collected, including 15 liver, 15 intestine, 13 wishbone, 12 garlic, 10 neck and 10 ground chicken from broiler chickens. 27 strains of *Salmonella spp.* were isolated. The serotype identified 5 serovars (8 serovars belonging to *Salmonella* Kentucky, 6 serovars: *Salmonella* Enteritidis, 5 serovars: *Salmonella* Typhimirium ,3 serovars: *Salmonella* Hadar and 5 serovars: *Salmonella* Heidelberg . Antimicrobial susceptibility testing revealed that all Salmonella were sensitive to Cefotaxime and gentamicin, while being resistant to tetracycline, ciprofloxacin and moxifloxacin.

## ملخص

تُصنف بكتيريا السالمونيلا كواحدة من أكثر البكتيريا انتشاراً في الأغذية، حيث تتسبب في إصابات خطيرة ووفيات بين البشر في جميع أنحاء العالم كل عام من خلال استهلاك أعلاف الدواجن الملوثة. كان الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتحديد وتحديد النمط المصلي من المسالخ ومنافذ البيع من 75 عينة تم جمعها، بما في ذلك 15 عينة من الكبد و15 عينة من الأمعاء و13 عظمة و12 اجنحة و10 من الرقبة و10 من الدجاج المفروم من الدجاج اللحم. تم عزل 27 سلالة من سلالات السالمونيلا. وحدد النمط المصلي 5 سلالات مصلية (8 سلالات مصلية تنتمي إلى السالمونيلا كنتاكي، و6 سلالات مصلية: السالمونيلا اونثيريتيديس، 5 سلالات مصلية سالمونيلا تيفيميريوم و3 سالمونيلا هادار و 5 مصليات سالمونيلا هايدلبرغ. كشف اختبار الحساسية لمضادات الميكروبات أن جميع سلالات السالمونيلا كانت حساسة للسيفوتاكسيم والجنتاميسين، بينما كانت مقاومة للتتراسيكلين والسيبروفلوكساسين والموكسيفلوكساسين

## Introduction

Le développement des maladies infectieuses d'origine alimentaire dans le monde, et en Algérie en particulier, peut être lié à la présence de micro-organismes dans les aliments. Cependant, ces infections constituent des problèmes de santé publique dans le monde, générant une source de souffrance humaine et un fardeau social et économique (Dubois- Brissonnet et Guillier, 2020). Parmi les bactéries qui causent des infections d'origine alimentaire, *Salmonella* est la plus répandue, cette bactérie appartient aux groupes des entérobactéries à Gram négatif (Li et al., 2019).

La salmonellose est la maladie de gastro-entérite la plus fréquente dans le monde qui résultent des conséquences parfois dévastatrices dans les pays en développement et une mortalité infantile. D'après L'OMS (2020), salmonelle (non typhoïdiques) est responsable de 550 millions de personnes qui tombent malades chaque année, dont 220 millions d'enfants de moins de cinq ans. En termes de mortalité, environ 33 millions de personnes perdent la vie chaque année.

La contamination des denrées alimentaires à base de volaille se produit souvent au cours de la transformation de ces produits, et cette contamination résulte de trois voies qui sont possibles: la contamination de la chair d'un autre animal abattu le même jour, la contamination par la flore qui réside à l'abattoir et La contamination de la chair de l'animal par ses propres microbes intestinaux (Ghafir et Daube, 2007).

Les poulets de chair sont le principal type de volaille consommé dans de nombreux pays dans le monde, y compris l'Algérie. Malgré les efforts déployés par les aviculteurs du monde entier, le taux de contamination de poulet de chair vivante par *Salmonella* reste extrêmement élevé. À l'échelle mondiale, on estime que la majorité des épidémies de *Salmonella* impliquent les poulets comme mode de transmission (Greig et Ravel 2009). Il s'agit d'une préoccupation majeure pour l'industrie de la volaille (Courage, 2001).

La contamination humaine se fait principalement par voie orale, après ingestion d'aliments ou d'eau contaminés. La volaille et les produits à base de volaille, y compris les œufs et la viande sont depuis longtemps reconnus comme une source majeure d'infections d'origine alimentaire dues à *Salmonella* (Zoubar, 2011).

# Introduction

---

*S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* sont les plus criminalisés. Ils représentent 80% des sérotypes isolés chez l'homme (Virlogeux-Payant et *al.*, 2012).

Les antibiotiques sont les plus utilisés dans les élevages intensifs de poulets de chair pour prévenir les infections des bactéries et stimuler la croissance. Cependant, l'utilisation restrictif des antibiotiques dans l'alimentation des volailles est une question controversée dans le monde entier. D'une part, ces antibiotiques aident à contrôler les infections dans les élevages de volailles et à stimuler la croissance des poulets de chair, mais d'autre part, l'exposition aux antibiotiques peut conduire à l'émergence et à la propagation de bactéries résistant aux antibiotiques chez les humains et les animaux (Mellor et *al.*, 2019)

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette étude était d'améliorer les connaissances sur l'épidémiologie de *Salmonella* à Bouira et à Alger.

Cette étude est divisée en deux parties: la première partie visera l'isolement et l'identification de souches de *Salmonella* chez les poulets de chairs à partir de foie et d'intestin prélevés dans les abattoirs pour contrôler la sécurité de la santé animale, pour la 2ème partie, c'est la recherche des salmonelles à partir de prélèvements dans les points de vente (Bréchet, aile, cou et poulet haché). Et ce pour contrôler la sécurité sanitaire des consommateurs relative à la denrée alimentaire d'origine animale la plus consommée en Algérie en l'occurrence le poulet de chair. Avec établissement des sérotypes incriminés et analyse du profil d'antibiorésistance des souches de *Salmonella* isolées.

## 1. Généralités sur les salmonelles

### 1.1. Historique de *Salmonella*

L'historique de *Salmonella*, depuis l'isolement de la première souche jusqu'à la compréhension du groupe et des interrelations entre ses membres est long et compliqué, et remonte au XIX<sup>ème</sup> siècle (Dedet, 2007).

Le premier bacille de typhoïde fut observé pour la première fois en 1880, par le médecin bactériologiste allemand Karl Joseph Eberth lors d'une observation de coupes histologiques de rate et de ganglions lymphatiques mésentériques d'un patient décédait de fièvre typhoïde (Le Minor et Popoff, 1987).

En 1884, l'immunologiste britannique Sir William Bacton a démontré que la fièvre typhoïde était transmise par voie oro-fécale suite à la contamination de l'eau par la matière fécale, d'autres bacilles furent isolés par Gaffky à partir de patients présentant les mêmes symptômes de fièvre typhoïde, mais étant différents du premier bacille de sections de salmonelles sur le plan sérotypique, ils étaient considérés comme des espèces différentes (Le Minor et Bockemühl, 1984).

En 1896, Widal a mis en évidence la diversité antigénique des espèces de *Salmonella* à l'aide d'un nouveau test nommé sérodiagnostic (Brown, 1935 ; Tindall et *al.*, 2005).

En 1900, La bactérie a été nommée *Salmonella* d'après Daniel Elmer Salmon, un vétérinaire pathologiste Américain (Le Minor et Léon, 1993).

En 1925, les premières règles de classification des souches de *Salmonella* basées sur l'identification des agents antigéniques ont été établies. Fritz Kaufmann s'est joint à ce grand mouvement lancé par Philip Bruce en 1930 et ensemble, ils ont mis au point le schéma Kaufmann White (Le Minor et Verson, 1989 ; Dedet, 2007).

Grimont et Weil proposent une liste de formules antigéniques des sérotypes *Salmonella* connus sous l'appellation du Schéma white-Kauffmann-Le minor (Schéma WKL) (Ryan, O'Dwyer et Adley, 2017).



# Généralités sur les salmonelles

---

## 1.2. Taxonomie et nomenclature

Commencé par White en 1926 et complété par Kaufman en 1941, 1961, 1961, 1972, 1978 et Le Minor. Une étude systématique des antigènes de paroi O (de l'allemand Ohne Hauch), du flagellaire H (de l'allemand Hauch) et capsulaire K (de l'allemand Kapselle) également connue sous le nom de Vi (virulence) a permis de démontrer qu'il existe 87 facteurs antigéniques O et 96 facteurs antigéniques H (Bouvet 1995). Les combinaisons de différents déterminants antigéniques offrent théoriquement plus de 20 000 possibilités (Grimont, 2000). L'hybridation ADN-ADN a montré que ce genre ne comporte que deux espèces différentes, le reste est considéré comme des sous espèces voir des sérovars. Ces deux espèces sont: *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori* (Chabonelle et al., 1989 ; Shelobolina et al., 2004).

La Position taxonomique des salmonelles actuelle est la suivante:

- **Domaine** : Bacteria
- **Phylum**: Proteobacteria
- **Classe**: Gammaproteobacteria
- **Ordre**: Enterobacteriales
- **Famille**: Enterobacteriaceae
- **Genre**: *Salmonella*

Le genre *Salmonella* contient plus de 2500 sérovars (tableau I), la majorité sont classé dans l'espèce *Salmonella enterica*, cette espèce est subdivisée selon ses caractéristiques biochimiques en six sous-espèces contenant 2557 sérovars: Enteritidis, Derby, Hadar, Infantis, Paratyphi, Typhi, Typhimurium, etc, et une autre espèce qui ne contient pas beaucoup de sérovars (22 sérorvars) (Grimont, 2014).

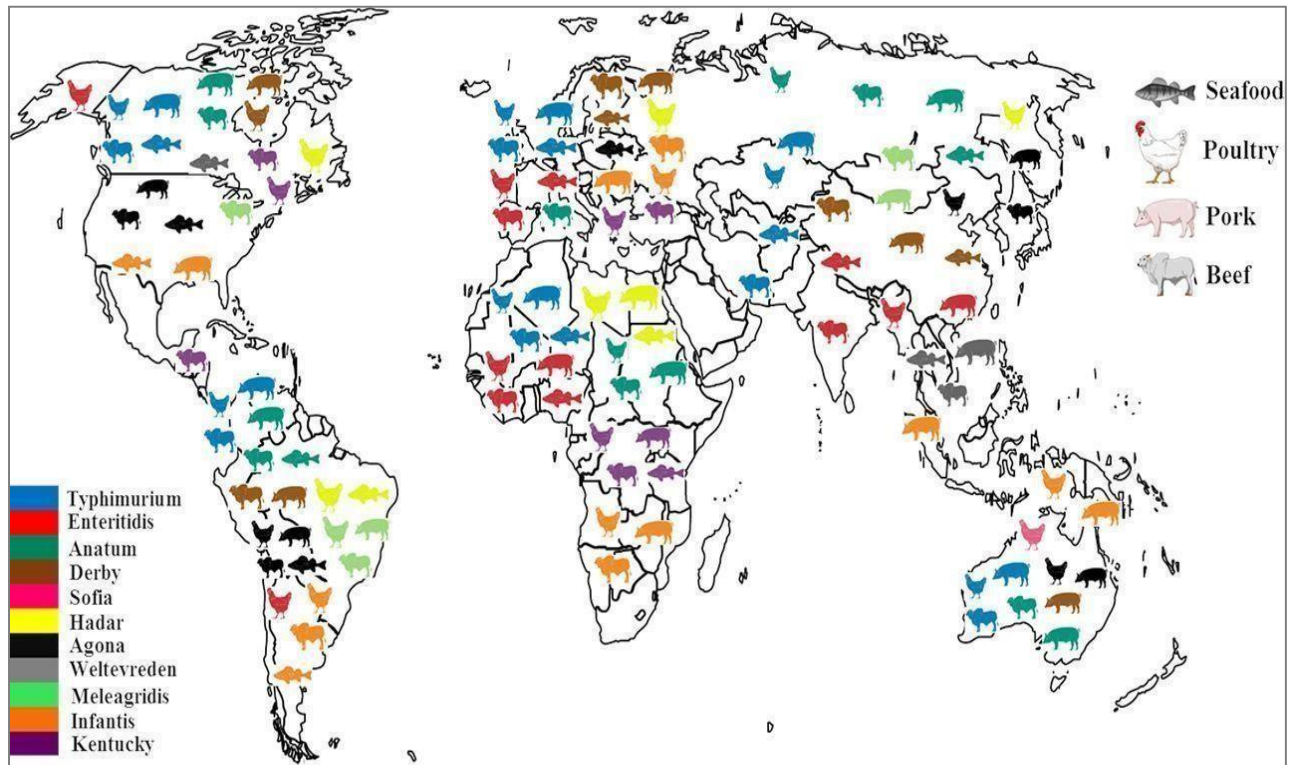
# Généralités sur les salmonelles

**Tableau I:** Nombre de sérovars dans chaque espèce et sous-espèce (Hirzel et Leipzig, 1967).

Espèces et sous-espèces	Nombre de sérovars
<b><i>S. enterica</i></b>	<b>2557 sérovars</b>
- <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Arizonae</i>	99 sérovars
- <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Diarizonae</i>	336 sérovars
- <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enteric</i>	1531 sérovars
- <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Houtenae</i>	73 sérovars
- <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Indica</i>	13 sérovars
- <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Salamae</i>	505 sérovars
<b><i>S. bongori</i></b>	<b>22 sérovars</b>
<b>Total (genre <i>Salmonella</i>)</b>	<b>2579 sérovars</b>

Les sérovars de *Salmonella* chez le poulet de chair expliquent 87,28% des variances (Figure 01) pour les sérovars, *Salmonella* Enteritidis est la plus répandue en Asie, en Amérique latine, en Europe et en Afrique. Cependant, Typhimurium et Sofia comme les sérotypes les plus répons dans le Nord Amérique et Océanique, de même le sérotype Kentucky était le plus répandu dans Afrique (Graziani et al., 2013).

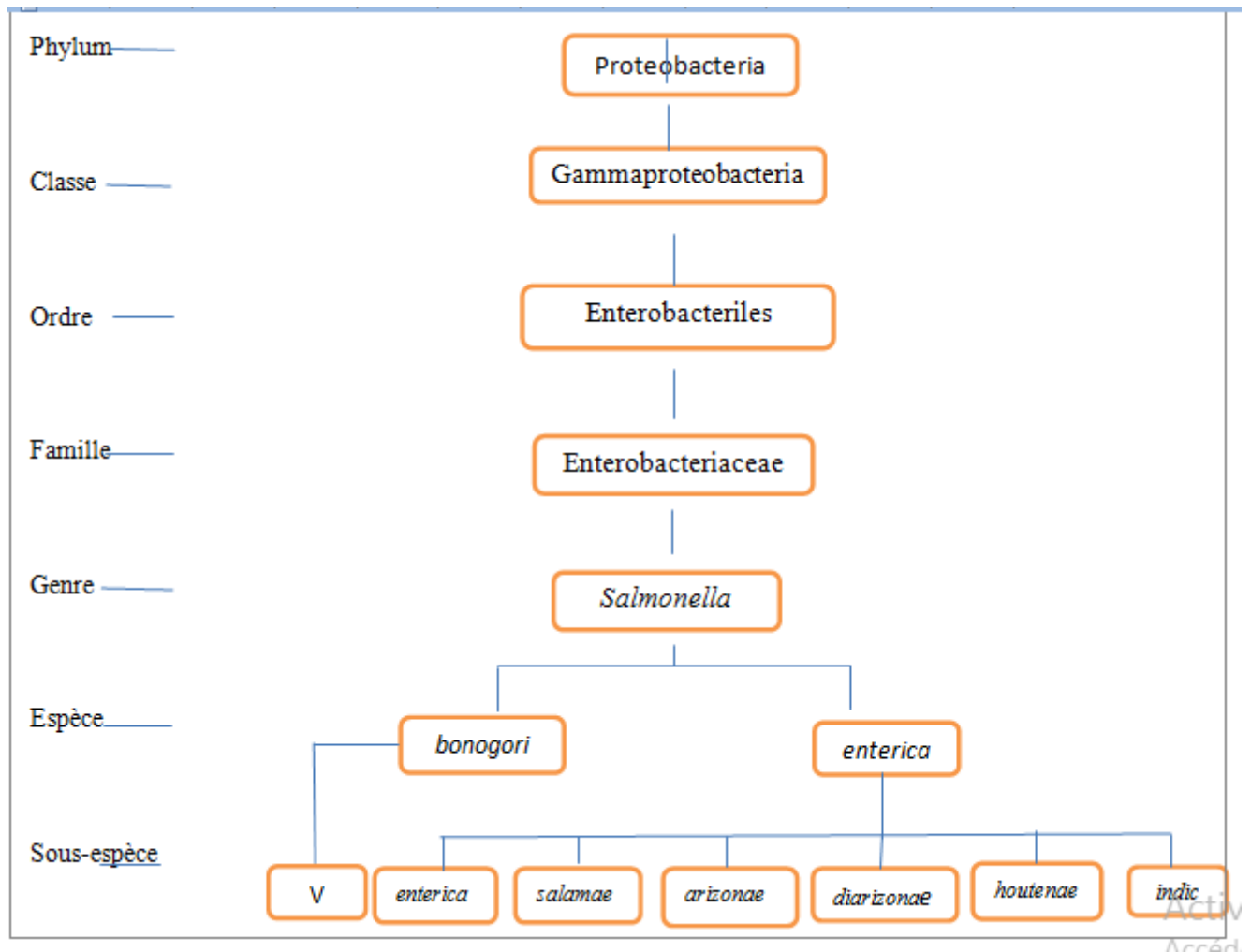
# Généralités sur les salmonelles



**Figure01:** Répartition mondiale des sérotypes de *Salmonella* par matrice

Les sérovars de l'espèce *S. enterica* sont différenciés grâce à leurs formules antigéniques d'antigène somatique O et l'antigène flagellaire (antigène H) suivant un schéma appelé schéma de white-kauffmann-Le Minor, établi depuis 1934 (Grimont, 2014). Les salmonelles ont été classées cliniquement comme invasives (typhoïdales) ou non invasives (salmonelles non typhoïdes) selon l'hôte infestée et les symptômes enregistrés chez l'humain (Johnson et al., 1975)

# Généralités sur les salmonelles

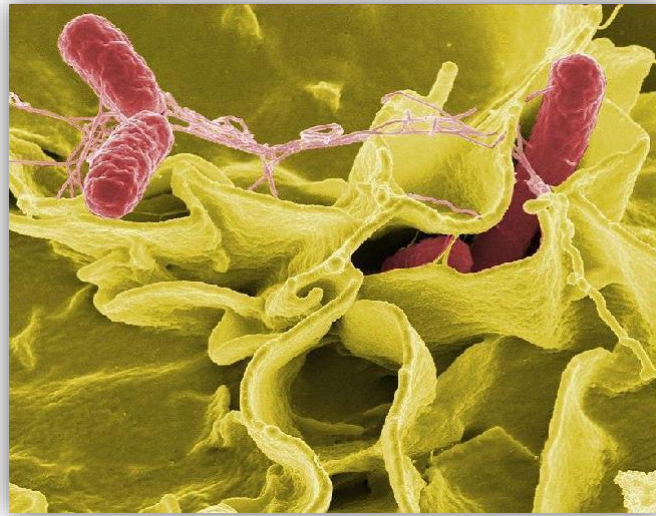


**Figure 02:** Classification des salmonelles (Grimont et *al.*, 2000).

## 1.3. Caractéristiques bactériologiques

### 1.3.1. Caractères morphologiques

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif (figure 03), de 2.0 et 5.0  $\mu\text{m}$  de longueur sur 0,7 à 1,5  $\mu\text{m}$  de largeur (Korsak et *al.*, 2004; Moreno et *al.*, 2009). Non sporulées (Jawetz et *al.*, 1973), et mobiles grâce à une ciliature péritriche à l'exception de sérovars aviaires: *S. Gallinarum* et *S. Pullorum*.



**Figure 03 :** Caractère morphologique d'une salmonelle (Montville et *al.*, 2008).

### 1.3.2. Caractères cultureux

Les *Salmonelles* sont aéro-anaérobies facultatives et chimiotrophes. Pouvant se développer sur divers milieux de culture, y compris les géloses nutritives, les géloses sélectives telles que la gélose de *Salmonella Shigella* (SS) et la gélose xylose-lysine-désoxycholate (XLD).

Après 24 heures d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire dont le pH est compris entre 6,5 et 7,5, les colonies obtenues ont un diamètre de 2 à 4 mm, circulaires blanchâtres, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides, généralement lisses, rarement rugueuses (Bakhrouf et *al.*, 1992).

### 1.3.3. Caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques qui permettent d'identifier et de différencier entre les espèces de *Salmonella* sont l'absence d'uréase, de tryptophane désaminase et également l'absence de production d'indole et d'acétoïne, la présence d'une thiosulfate réductase, la décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine et la capacité de croître sur milieu au citrate de Simmons (Humbert et *al.*, 1998 ; Popff et Le Minor, 2005).

Elles peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, et fermentent le glucose par mais pas le lactose ni le saccharose (Grimont et *al.*, 2000), elles produisent du gaz à partir du

# Généralités sur les salmonelles

Glucose (sauf *Salmonella Typhi*), et réduisent les nitrites en nitrates. Ne possède pas d'oxydase (Korsak et al., 2004).

Les caractères utilisés comme clés de différenciations entre les sous espèces sont regroupés dans le Tableau II.

**Tableau II:** Caractères biochimiques différentiels entre les sous-espèces (Le Minor et Popoff, 1987 ; Reeves et al., 1989)

Espèce	<i>S.enterica</i>					
	<i>Enterica</i>	<i>Salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>Indica</i>
<b>Caractère dulcitol</b>	+	+	-	-	-	D
<b>ONPG</b>	-	-	+	+	-	D
<b>Malonate</b>	-	+	+	+	-	-
<b>Gélatinase</b>	-	+	+	+	+	+
<b>Sorbitol</b>	+	+	+	+	+	-
<b>Culture sur KCN</b>	-	-	-	-	+	-
<b>L(+)-tartrate(a)</b>	+	-(a)	-(a)	-(a)	-(a)	-(a)
<b>Galacturonate</b>	-	+	-	+	+	+
<b>Glutamyltransférase</b>	+	+	-	+	+	+
<b>Glucuronidase</b>	D	D	-	+	-	D
<b>Mucate</b>	+	+	+	-(70%)	-	+
<b>Salicine</b>	-	-	-	-	-	+
<b>Lactose</b>	-	-	-(75%)	+(75%)	-	D
<b>Lyse par le phage O1</b>	+	+	-	+	-	+

(a)=d-tartrate,

(+)= 90% ou plus de résultats positifs,

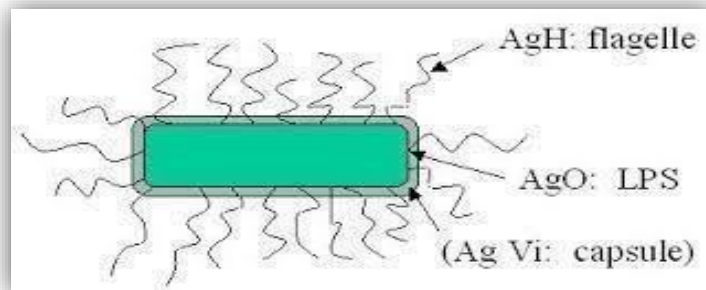
(-)=90% ou plus de résultats négatifs,

D= résultats différents suivant les sérovars.

## 1.3.4. Caractères antigéniques

# Généralités sur les salmonelles

Comme toutes les entérobactéries, les salmonelles possèdent trois types d'antigènes présentant un intérêt diagnostique (Dumas, 1958). L'antigène somatique (O), l'antigène flagellaire (H), l'antigène de virulence (Vi) (Figure 04).



**Figure04:** Structure antigénique d'une salmonelle (Gledel et Corbion, 1991).

## 1.3.4.1. Antigènes somatique:(antigènes O)

Les antigènes somatiques composants de la membrane externe de la paroi bactérienne, et sont de nature lipopolysaccharidique, et représentent l'endotoxine de la bactérie. Ils sont alcoolostables, thermostable mais sensibles au formol (Humbert, 1998).

Les antigènes O sont constitués de trois éléments :

- Le lipide A à effets toxiques, Le core et des chaînes spécifiques polysaccharidiques (Gledel et Corbion, 1991).

L'agglutination obtenue avec les sérums anti O, s'effectue par les parois, elle est lente, granulaire et difficile à dissocier (Gledel et *al.*, 1990 ; 1991).

## 1.3.4.2. Antigène flagellaire (antigène H)

Les antigènes H sont un ensemble de sous-unités de flagelline, qui présentent une composition en acides aminés constante.

- Est thermolabile, détruit par la chaleur à 100°C et par l'action de l'alcool.
- La flagelline dépend de 2 gènes de structure correspondant à la phase 1 et à la phase 2 (expression permet de les classer en mono ou di-phasiques).
- La majorité des salmonelles sont diphasique.

# Généralités sur les salmonelles

---

### 1.3.4.3. Antigène de virulence (Vi)

Antigène de l'enveloppe, identifié chez trois sérovars: *Salmonella* Typhi, Paratyphi et Dublin (Virlogeux et al., 1997). Mais toutes les souches de ces trois sérovars ne possèdent pas cet antigène (Virlogeux et al., 1997).

### 1.3.4.4. Organisation de schéma de White-Kauffmann-Le Minor (WKL)

. Ce schéma est organisé sous forme d'une liste à 4 colonnes (tableau III) :

- **Colonne I** : concerne les types : Le type est désigné par un nom ou un chiffre romain et est rapporté en fonction des cas.

Le nom du sérovars s'il appartient à la sous-espèce *S. Enterica* ;

-Pour les autres sous-espèces de *S. enterica*, la sous-espèce à laquelle appartient le sérovars est indiquée par le symbole suivant : II, IIIa, IIIb

- Pour les sérotypes appartenant à *S. bongori*, le symbole « V »

- **Colonne II** : Les nombres correspondant au facteur de l'antigène O et Peut-être. À l'antigène Vi. O:4 (B); O:18(K). (Le Minor et Verson, 1989).
- **Colonnes III et VI** : sont réservées aux facteurs de l'antigène H (phases 1 et 2).

Le nombre de sérotypes de *Salmonella* reflète la diversité antigénique de la paroi et du flagelle de ce genre, il existe de nombreux facteurs antigéniques O et H, mais seuls ceux qui ont une importance dans le diagnostic sont inclus dans le schéma (Brisabois, 2001 ; Bouvet, 2002). Les facteurs O accessoires associés à la dégradation sont soulignés (O:6, 7, 14) (Gledel, 1996 ; Le Minor et Richars, 1993).

Lorsque seul un nombre limité de sérotypes était connu, les facteurs de l'antigène H pour la première phase (phase 1) appelés spécifiques, sont codés avec des lettres, tandis que les facteurs de l'antigène H pour la deuxième phase (phase2), appelés non spécifiques, sont codés avec des chiffres (Gledel, 1996 ; Le Minor et Richars, 1993).



# Généralités sur les salmonelles

---

**Tableau III:** Présentation des différentes colonnes du schéma de White-Kauffmann-LeMinor (OMS, 2007).

Sérotype	Antigène Somatique O	Antigène Flagellaire H	
		Phase 01	Phase 02
Typhimurium	1,4,5,12:	i:	1,2
Derby	1,4,[5],12	f.g	[1,2]
Enteritidis	1,9,12	Gm	[1,7]

## 2. Epidémiologie

L'OMS déclare le danger éminent causé par les Salmonelles, et qui ne cesse de s'élever, et ce à travers les calculs sur le nombre de malades et de personnes décédés suite à cette infection principalement par *Samonella* Typhi contractée par la chaîne alimentaire et transmises surtout par les volailles et les œufs contaminés s'élève an après an dans le monde.

### 2.1. Réservoir

Les salmonelles sont des bactéries qui peuvent être retrouvées dans divers réservoirs naturels et environnements (Bouzoubaa et *al.*, 1992).

Le réservoir naturel des salmonelles est très large et s'étend à tout le monde animal, elles sont essentiellement parasites du tube digestif des vertébrés (Bouzoubaa et *al.*, 1992).

#### ▪ Animaux

Les vaches, les moutons, les animaux volants (les oiseaux) et même les reptiles ainsi qu'un vaste éventail d'espèces animales peuvent être infectés par des Salmonelles. Ces animaux présentant des symptômes de la maladie, ou dans le cas pire ne montrant aucun symptôme peuvent transmettre l'infection au milieu extérieur et resteront une source de contamination par des germes pouvant persister pendant longtemps surtout lorsqu'ils trouvent un terrain favorable (Chambron et *al.*, 1971).

#### ▪ Êtres humains

Les humains peuvent également être porteurs de salmonelles, soit en tant que porteur asymptomatique, soit lorsqu'ils souffrent d'une infection symptomatique telle que la maladie de la salmonellose, elles peuvent être présentes dans les selles des personnes infectées et être transmises à d'autres personnes ou bien contaminer l'environnement (Msela et Hakem, 2021).

#### ▪ Aliments

Les salmonelles peuvent contaminer divers aliments d'origine animale et végétale tels que les viandes (en particulier la volaille et le bœuf), les œufs, le lait, les fruits et les légumes crus (Martelet et *al.*, 1990).

#### ▪ Environnement

Les salmonelles peuvent survivre dans divers environnements tels que l'eau, le sol, les surfaces et les équipements contaminés et leur survie est possible pendant plusieurs semaines à plusieurs mois si les conditions sont favorables (Sahlstrom et *al.*, 2006).

## 2.2. Modalités d'infection des poulets de chair

La source principale est l'animal malade ou porteur qui excrète les bactéries, que ce soit en couvoir, en élevage ou en abattoir, par transmission vertical de la mère à l'œuf; transmission horizontal entre les poulets eux même ou contamination de l'environnement. Les Salmonelles résistent à l'extérieur dans les milieux terrestres et aquatiques, le sol et les surfaces de travail (Boubendir, 2019).

### 2.2.1. Dans l'élevage

Les poulets de chair d'élevage peuvent être infectés de différentes manières, Voici quelques modalités courantes d'infection dans l'élevage de poulets :

- **Personnel et matériel d'élevage**

Les personnes intervenant dans la garde et l'entretien du bâtiment d'élevage, les véhicules, l'infrastructure elle-même, le gros (incubateurs, cages) et petit matériel (mangeoires, abreuvoirs), et les surfaces contribuent tous à l'infection (Van immerseel et *al.*, 2005).

De plus, certaines pratiques d'élevage ont un impact direct ou indirect sur l'infection à *Salmonella* chez les poulets de chairs, principalement l'usage des antimicrobiens contribue dans la propagation d'espèces bactériennes résistantes et transmises à l'homme par contact direct ou via la chaîne alimentaire (Copes et *al.*, 2000 ; Millet et *al.*, 2006).

- **Contact avec des surfaces contaminées**

Les surfaces contaminées dans l'environnement des poulets, telles que les mangeoires, les abreuvoirs, les litières et les équipements d'élevage.

- **Le sol**

Le sol contaminé est un moyen de propagation de *Sal* dans le bâtiment, surtout que ces bactéries peuvent tenir beaucoup dans un environnement sec. Par contre le sol humide serait un moyen favorable pour réduire le nombre des Sals (ICMSF, 1998 ; Carlier et *al.*, 2001).

## ▪ Alimentation

L'alimentation est un vecteur important de *Salmonella*, certains aliments contenant des ingrédients tels que de la farine d'os, de la viande ou du poisson des tourteaux de soja et des tourteaux de tournesol (sous-produits de l'extraction de l'huile de tournesol) (Carlier et *al.*, 2001 ; Van Immerseel et *al.*, 2005).

## ▪ Eau

Il est largement reconnu que l'eau provenant de réseaux de distribution publics ou de sources privées est souvent un vecteur de paratyphoïde (d'autres infections à salmonelles).

Il est difficile d'évaluer la nature de la propagation de ces germes, En effet, les salmonelles sont plus souvent retrouvées dans les sédiments de cette eau que dans l'eau elle-même (Villate, 2001 ; Carlier et *al.*, 2001 ; Van Immerseel et *al.*, 2005).

## ▪ Nuisibles

La présence de rongeurs, d'oiseaux sauvages et d'insectes est souvent la principale source de contamination des aliments, les rongeurs pouvant être porteurs à long terme de divers sérotypes, en particulier de *S. Enteritidis*. Les insectes ne semblent jouer qu'un rôle de vecteur passif (Carlier et *al.*, 2001).

### 2.2.2. Dans les abattoirs

Certaines étapes de l'abattage entraînent des inter-contaminations entre les lots, notamment par les ustensiles, le personnel et les équipements d'abattage. Les salmonelles présentes dans le tube digestif, peuvent polluer les carcasses si leur intégrité n'est pas respectée (Rostagno et *al.*, 2006). Les salmonelles peuvent être apportées par l'environnement à toutes les phases de l'abattage (Villate, 2001).

Le processus d'abattage des poulets comporte un certain nombre d'étapes, dont certaines peuvent entraîner une contamination des produits à base de viande par les salmonelles. Les étapes de **l'échaudage**, de **la plumaison**, de **l'éviscération** et du **refroidissement** semblent toute fois être plus critiques en ce sens (El-Aziz, 2013 ; Rivera-Perez, 2014).

- **Contamination croisée**

Au cours du traitement des poulets dans un abattoir, par contact physique des carcasses avec l'environnement contaminé de l'usine lors de leur traitement (Trampel, 2000 ; Lillard, 1990).

- **Equipements contaminés**

Les équipements utilisés dans l'abattoir, tels que les couteaux, les surfaces de travail, peuvent être contaminés par des agents pathogènes et être transmis aux poulets de chair (32) . (Van immerseel et *al.*, 2005).

- **Transport**

Pendant le transport, les poulets de chair sont confrontés à des conditions stressantes comme l'entassement, les variations de température et à la privation d'eau et d'aliments. (Rasschaert, 2007 ;Mainali et *al.*, 2009), les caisses de transport contaminées sont également mentionnées (Ridley et *al.*,2011).

- **Personnel et matériel d'abattage**

La salmonelle peut se transférer aux poulets de chair lors de la manipulation, si les bonnes pratiques d'hygiène ne sont pas suivies (Van immerseel et *al.*, 2005).

- **Contamination par l'eau**

L'eau utilisée dans les abattoirs pour l'élevage des carcasses et d'autres opérations peut si impropre ou mal traitée contribuer à la contamination (Villate, 2001 ; Carlier et *al.*, 2001).

- **Gestion des déchets**

Une bonne gestion serait un moyen de contrôle du risque lié aux pathogènes en général et dans tous les territoires (Ridley et *al.*, 2011).

## 2.2.3. Dans les boucheries

Des facteurs communs avec les autres étapes ainsi que d'autres pourraient être associés au risque dans les établissements de vente.

- **Equipements et surfaces**

Lors de la manipulation ou du découpage du poulet cru, les équipements et les surfaces ne sont pas correctement nettoyés ou désinfectés (Van immerseel et *al.*, 2005).

- **Personnel et matériel**

Les personnes qui manipulent les poulets sans respect de normes d'hygiène dans les boucheries peuvent également jouer un rôle dans la transmission de l'infection (Van immerseel et *al.*, 2005).

- **Transport ou stockage inadéquat**

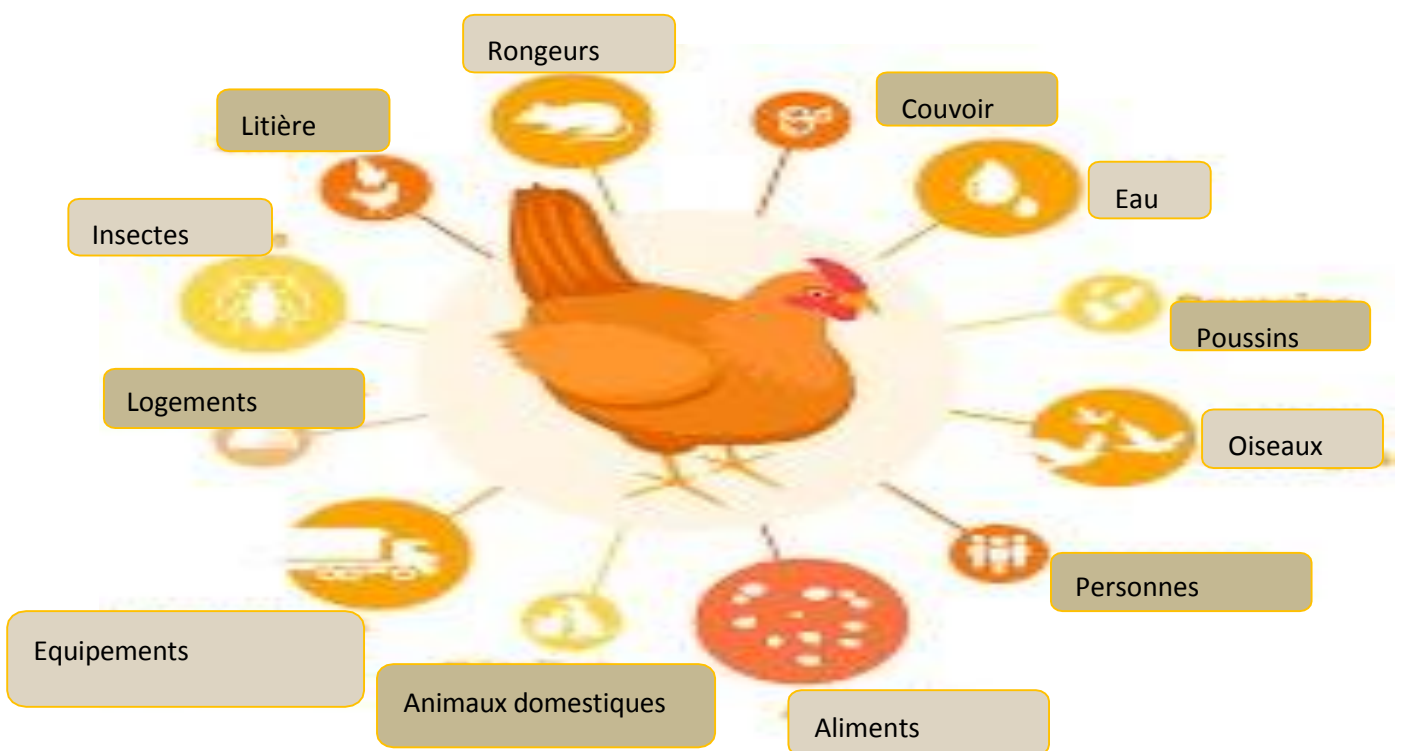
Le respect de la chaîne de froid tout au long du processus de production, du transport et jusqu'au consommateur est important (Rasschaert, 2007 ; Mainali et *al.*, 2009). Une bonne ventilation est aussi importante pour éliminer les odeurs indésirables et réduire l'humidité (López-Gálvez et *al.*, 2018).

## 2.3. Dose infectieuse

La dose infectieuse varie selon le serotype de *Salmonella*. L'OMS estime que la dose qui pose problème chez 50% des consommateurs est d'environ  $10^3$  bactéries, cette dose serait plus basse chez la moitié des individus exposés soit moins de cent germes pour Typhimurium et Enteritidis quel que soit l'état sanitaire de la personne exposée. Et pour développer la fièvre typhoïde, la dose infectieuse est d'environ  $10^5$  bacilles en cas d'ingestion (D'Aoust, 1989).

## 2.4. Modes de transmission à l'homme

La transmission (Figure 05) des Salmonelles peut se faire par consommation de nourriture infestée, ou par des excréments d'animaux sains ou malades. Les personnes à risques seraient ceux en contact avec les animaux ou manipulant une alimentation contaminée (éleveurs, maquignons, et médecins de santé animale, ces individus deviennent à leurs tours des porteurs de Salmonelle, et provoquent la propagation dans l'environnement (Weill, 2008). La transmission interhumaine par voie oro-fécale est aussi possible (OMS, 2018 ; Meena et *al.*, 2019).



**Figure 05:** Transmission inter-espèces, équipements et aliments des souches de salmonelles (Weill, 2008).

## 3. Symptômes

Il existe trois types de symptômes de la salmonellose :

### 3.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (La fièvre entérique)

Les sérovars de *Salmonella*, incriminés sont Typhi, ParatyphiA, ParatyphiB et ParatyphiC (Korsak et *al.*, 2004).

Les symptômes apparaissent après une période d'incubation de 10 à 15 jours, avec une durée de 1 à 7 jours (D'Aoust, 1989).

Les signes cliniques peuvent aller d'une légère fièvre avec céphalées à un état dépressif et diarrhéique avec sang ou constipation (Daoust, 1989).

La fièvre typhoïde est considérée comme maladie strictement humaine (Foley et *al.*, 2013), touchant près de 20 millions individus chaque année (OMS, 2019).

### 3.2. Gastro-entérites

Causées par les *salmonelles* ubiquistes présentes chez l'animal et l'homme avec une courte période d'incubation mais variant selon la dose ingérée et l'état général de l'individu en question. Les manifestations cliniques se rapprochent de ceux de la fièvre typhique et apparaissent environ une journée après la contamination (Newton et *al.*, 2020).

Chez l'adulte qui a des conditions physiques normales, la gastro-entérite disparaît sans traitement au bout de quelques jours généralement, avec une simple thérapie hydrique (Bäumler et *al.*, 1998).

### 3.3. Toxi-infections alimentaires collectives

L'ingestion au même temps de produits alimentaires contenant un grand nombre de Salmonelles « Mineures » (*Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enterocolitica) peut entraîner une série de gastro-entérites en cascade qui imitent un véritable empoisonnement, connue sous le nom toxi-infection alimentaire collective (TIAC), avec une période d'incubation de 10 à 18 heures et les troubles durent en général de 2 à 5 jours (Zoubar, 2011).



## 3.4. Complications

La gravité de l'infection humaine à *Salmonella* dépend principalement de l'hôte et du sérotype. (Mouttotou et *al.*, 2017 ; OMS, 2018).

La salmonellose peut entraîner une déshydratation, et autres infections secondaires des articulations, des os, des poumons, de l'endocarde et même l'appareil urinaire et aussi d'ordre systémique pouvant aller à des manifestations hémorragiques généralisées (Hohmann, 2001 ; Hanes, 2003).

Certaines personnes présentent un risque plus élevé de complications ou d'infections invasives (OMS, 2018) :

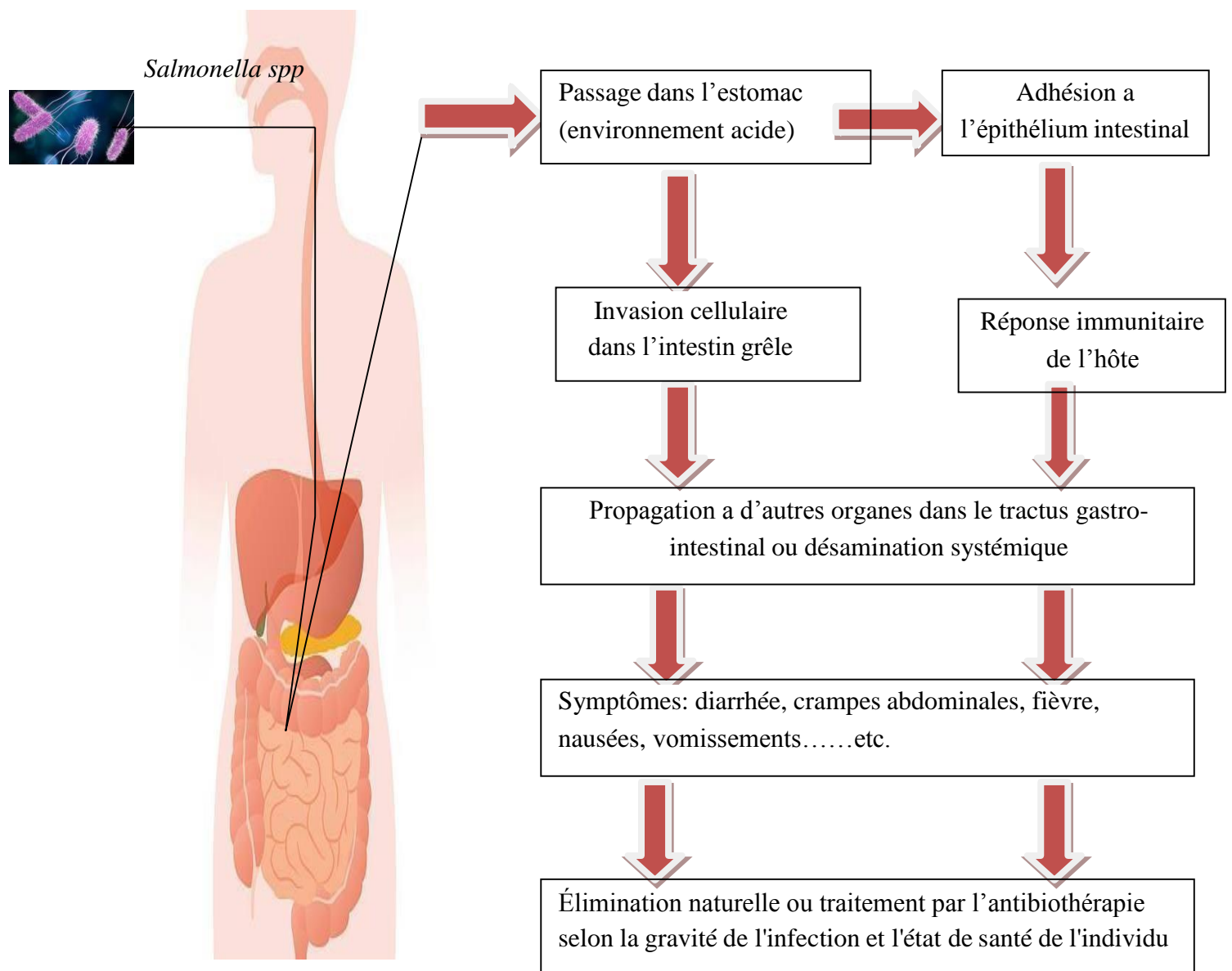
- Les jeunes enfants ;
- Les femmes enceintes ;
- Les personnes âgées ;
- Personnes ayant des problèmes de santé ;
- Les personnes souffrant de maladies gastro-intestinales chroniques.

## 4. Pouvoir pathogène

Lorsque la salmonelle est ingérée par voie orale, elle survit à l'acidité de l'estomac et atteint l'intestin grêle, où elle se fixe aux cellules de l'épithélium intestinal, en particulier aux cellules M dans les plaques de Peyer.

Les bactéries sont alors internalisées dans les cellules épithéliales où elles se stabilisent et se multiplient dans les vacuoles. Une fois l'épithélium franchi, deux possibilités s'offrent :

- a. Les sérotypes de *Salmonella* responsables de maladies systémiques (*Salmonella* Typhi) entrent d'une part dans les macrophages intestinaux et se propagent à d'autres organes du corps.
- b. Par ailleurs, les sérotypes de *Salmonella* non-typiques qui causent des gastroentérites (*S. Typhimurium*) provoquent une inflammation locale précoce (Sévellec, 2018).



**Figure 06:** Représentations schématique des différentes étapes de l'infection orale par *Salmonella* (Sévellec, 2018).

# Méthode de détection et identification des salmonelles

---

## 5. Méthodes de détection et identification des salmonelles

### 5.1. Méthode microbiologique

L'identification classique des salmonelles repose sur la méthode décrite dans le manuel terrestre par l'OIE (Organisation mondiale de santé animale), chapitre 3.10.07 Version 2022, et qui comporte plusieurs étapes.

Le **pré-enrichissement** c'est l'étape qui permet aux salmonelles de se multiplier afin de faciliter leur détection ultérieure. (Soumet, 1995).

L'**enrichissement sélectif** qui suit cette étape permet aux Salmonelles de prendre le dessus, et d'arrêter la flore adverse, en utilisant des milieux divers (Rapport Vassiliadis (MRVS), permettant une meilleure récupération des germes par rapport aux autres bouillons d'enrichissement sélectif conventionnels, leurs permettant de mieux croître en utilisant la peptone (Chaiba et Filali, 2016), et une bonne sélectivité par ajout de la molécule novobiocine (Geay, 2003).

En outre, sa formule semi-solide signifie que pendant la période d'incubation, permet l'élaboration d'une auréole de croissance (Smedt et Bolderdijk 1987 ; Worcman-Barnink et *al.*, 2001).

Pour l'**isolement**, il existe plusieurs milieux tels que XLD (Xylose Lysine Deoxycholate agar), BIS (Bismuth Sulphite agar), Bismuth sulfite (La gélose de Wilson-blair modifiée) (León-Velarde, 2012), BGS (Brilliant Green Sulfa Agar) et la gélose Salmonella-Shigella (SS). Le milieu XLD est utilisé pour la fermentation de la xylose et la décarboxylation de la Lysine en cadavérine. Le milieu BGS a une couleur verte brillante, est un inhibiteur des bactéries à Gram-positif et de la plupart des bacilles à Gram-négatif (Depraz, 2012).

# Méthode de détection et identification des salmonelles

---

## 5.2. Méthodes phénotypiques

### 5.2.1. Sérotypie

Technique classique de caractérisation primaire privilégiée pour les Salmonelles induisant une réaction anticorps/antigènes de surface bactériens (Su et Chiu, 2007 ; Yu et *al.*, 2013).

Il s'agit d'une technique immunologique qui établit des liaisons entre les antigènes et les anticorps, cela conduit à la formation d'agglomérats relativement visibles à l'œil nu. Le schéma utilisé dans le monde entier pour l'identification sérologique des salmonelles est le schéma de Kaufman- White-Lee Minor (Ryan et *al.*, 2017).

La caractérisation du phénotype que le sérotypage peut également réaliser est la méthode des puces à anticorps développée par Cai et *al.*, (2005) adapté au système WKL. Des puces en Super Epoxy® sur lesquelles sont projetées les anticorps ont été utilisées, tandis que les isolats à examiner sont fluorescents, elle offre une très grande sensibilité de la caractérisation, et un temps d'analyse réduit, les antigènes O et H sont identifiés simultanément (Wattiau et *al.*, 2011).

### 5.2.2. Antibiotypie

Méthode basée sur l'identification du profil antibiotype ou des souches par leur sensibilité à une série d'antibiotiques. Il s'agit d'un outil essentiel pour la surveillance épidémiologique pour la détection précoce de nouvelles résistances à des antibiotiques, m'approche peut être quantitative ou qualitative (Hawkey et *al.*, 2019).

### 5.2.3. Lysotypie

Méthode qui permet de distinguer différentes souches appartenant au même sérotype. Les phages types sont identifiés sur la base de la capacité à lyser la souche analysée (Single ton et Dusart, 2005). Cette technique de base est facile à mettre en œuvre et ne nécessite qu'un équipement de laboratoire classique (Ray et Bhunia, 2013).

# Méthode de détection et identification des salmonelles

---

## 5.3. Méthodes génotypiques

### 5.3.1. Multi locus sequence typing (MLST)

Le principe du typage MLST consiste à amplifier un certain nombre de séquences de gènes de codant pour des molécules protéiques induisant des polymorphismes stables dans le temps. Ainsi, les séquences des gènes étudiés sont relativement conservées entre les souches (Blanchard *et al.*, 2018). Le temps d'analyse est plus court, la prédiction du sérum est plus précise et le partage et la comparaison des résultats obtenus sont facilités (Wang *et al.*, 2015).

### 5.3.2. Méthode basé sur l'électrophorèse

Electrophorèse en champs pulse, méthode normalisée la plus discriminante pour le typage des Salmonelles. L'ADN chromosomique subit d'une digestion par l'enzyme de restriction (XbaI ou SpeI) (Sahlstrom *et al.*, 2006) qui coupent l'ADN a des sites spécifiques pour obtenir des fragments. Les fragments d'ADN résulte sont séparé sur un gel d'agarose par un champ électrique pulsés pour obtenir un schéma des bandes qui ont résultent ensuite pour analyser par le logiciel (Magdeldin, 2012).

## 6. Résistance aux antibiotiques des salmonelles

La salmonelle est une bactérie qui peut développer une résistance aux antibiotiques. Ce qui rend le traitement plus difficile (Bäumler *et al.*, 1998). Cette résistance peut résulter de divers mécanismes ; **mutation génétique ou acquisition d'un matériel génétique exogène gènes** (Le Hello, 2016 ; Sévellec, 2018).

Les sérovars de *Salmonella* jouent un rôle majeur dans la résistance, et sont résistants aux quinolones, céphalosporines et fluoroquinolones (Le Hello, 2014), principalement Typhimurium et Enteritidis à plusieurs familles d'antibiotiques notamment les bêta-lactamines, les macrolides, les cyclines et même à divers associations. Les sérovars Newport, Dublin et Heidelberg sont aussi résistants à divers groupes d'antimicrobiens (Obadia, 2007).

# Traitement et prévention des salmonelles

---

## 7. Traitement des infections à *Salmonella*

Le traitement repose souvent sur la réhydratation et dans certains cas sur l'administration d'antibiotiques.

Les infections intestinales sont traitées avec des solutés administrés par voie orale ou intraveineuse (Bégué et Castello-Herbreteau, 2001).

Dans certains cas, notamment, les infections systémiques (bactériémie), il est recommandé d'utiliser une antibiothérapie basée sur la ciprofloxacine et l'azithromycine pendant plusieurs jours (Gendrel et Cohen, 2008).

Lors d'abcès, ou d'infection de l'aorte, d'une valve cardiaque, un traitement chirurgical avec des antibiotiques pendant plusieurs semaines à plusieurs mois est préconisé (Gendrel et Cohen, 2008).

## 8. Prévention des infections à *Salmonella*

Il peut être difficile de prévenir la salmonellose puisque les aliments contaminés ont une apparence, une odeur et un goût normaux (Sánchez-Vargas et *al.*, 2011), et en absence de vaccin pour prévenir la salmonellose, mais il existe des vaccins contre la fièvre typhoïde (Tran, 2010). La prévention de salmonellose implique généralement des mesures d'hygiène strictes lors de manipulation, préparation et consommation des aliments. (Tran, 2010).

## OBJECTIFS

**Les objectifs de la présente partie sont :**

- Rechercher et d'isoler des salmonelles dans les abattoirs de poulet de chair dans les wilayas d'Alger et Bouira pour évaluer la santé de l'animal.
- Rechercher et d'isoler des salmonelles dans les boucheries à partir de denrées alimentaires destinées directement au consommateur pour évaluer l'hygiène alimentaire.
- Caractériser phénotypiquement les isolats de *Salmonella* par tests biochimiques et sérotypage.
- Etudier la sensibilité aux antibiotiques et déterminer le profil d'antibiorésistance de souches isolées.



## 1. Matériel et méthodes

La recherche a été effectuée dans le laboratoire de l'institut national de la médecine vétérinaire (INMV) d'El-Harrach, il s'agit d'un établissement public sous. Ce laboratoire accrédité selon les exigences de la norme ISO/CEI1725, version 2017 par l'organisme accréditeur algérien «ALGERAC », et offre une gamme d'essais dans le respect des méthodes référencées basées sur les normes de l'office international des épizooties (OIE) et l'organisation internationale de standardisation (ISO) et du codex alimentaire.

### 1.1. Matériel

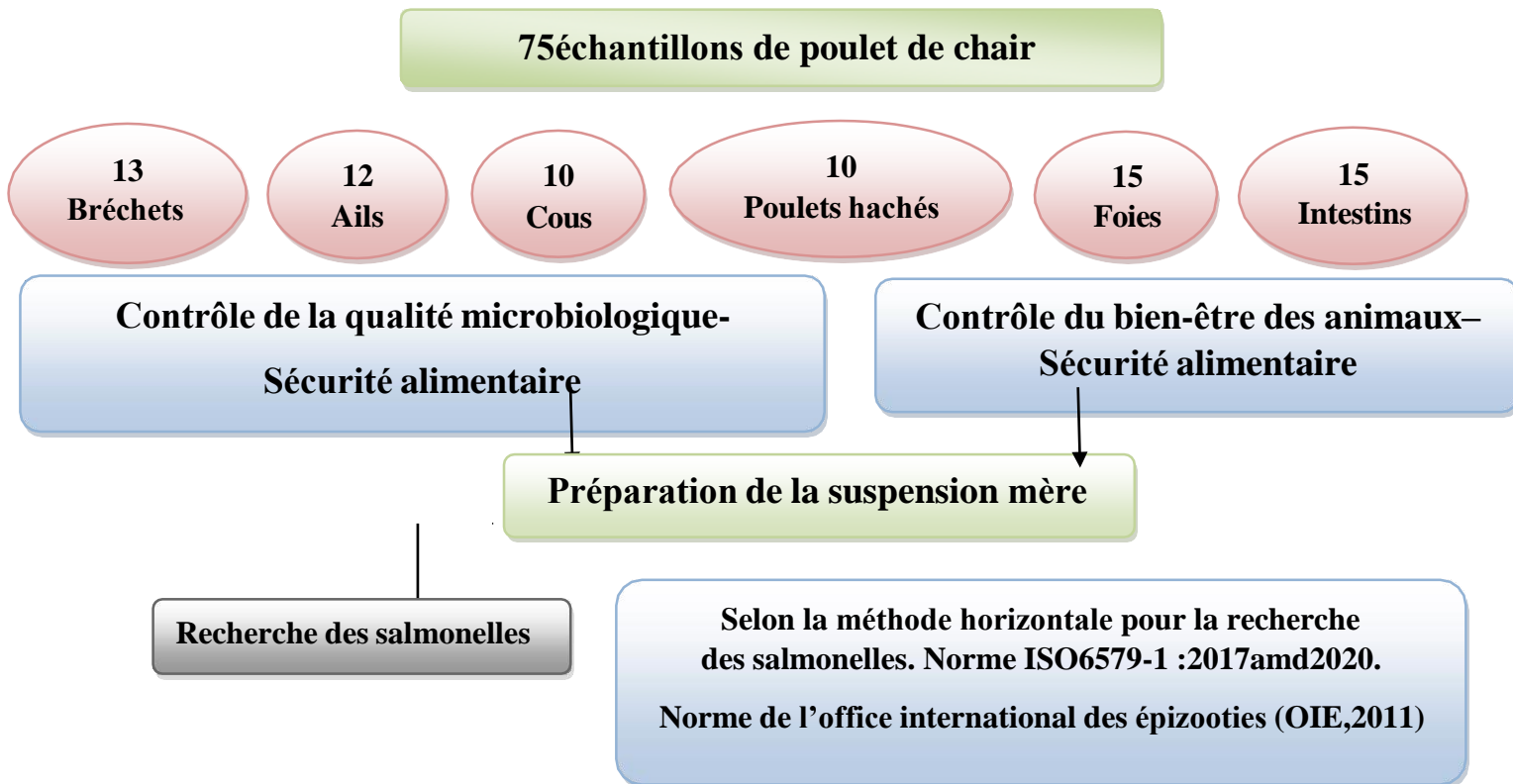
Le matériel usuel de laboratoire de microbiologie ainsi que les milieux de culture et réactifs spécifiques à la recherche de salmonelle est mentionné dans un tableau dans l'annexe

La composition des milieux de cultures est mentionnée dans l'annexe 1.

### 1.2. Méthodes

La méthode globale utilisée au cours de notre expérimentation de l'échantillonnage à la détermination du sérotype et du résistotype est mentionnée dans la figure 07.

# Matériel et méthodes



**Figure07:** Schéma global d'isolement et de caractérisation phénotypique des salmonelles.

## 1.2.1. Echantillonnage

Un total de 75 échantillons sont répartis comme suit: 15 foies, 15 intestins, 13 bréchets, 12 ails, 10 cous, 10 poulets hachés ont été prélevés dans le but de rechercher la présence ou l'absence des germes pathogènes de type *Salmonella*. Les échantillons ont été prélevés d'une façon aseptique au moyen d'un bistouri stérile et désinfecté à l'alcool et la flamme à chaque fois. Nous avons prélevé environ 10 g (foie et intestin) et 25g (bréchet, cou, poulet haché et ail) (figures 8 et 9) puis déposé dans des flacons stériles.



**Figure8:** Prélèvement de foie et d'intestin.



**Figure9:** Prélèvements de : bréchet, cou, poulet haché et ail.

Tous les échantillons portent une fiche de renseignement distinguant plusieurs coordonnées : l'heure et la date du prélèvement, le lieu, la température du jour. Et ont été transportés dans une glacière et traités au laboratoire le jour du prélèvement.

## 1.2.2. Méthode de recherche des salmonelles

L'analyse microbiologique pour la recherche de *Salmonella* a été faite selon la méthode décrite dans le manuel terrestre WOAHA (world organisation of animal health) et la norme ISO. Et cela en 04 étapes principales ; un pré-enrichissement qui permet de récupérer les bactéries ayant subi un stress, puis un enrichissement sélectif, favorisant la multiplication des salmonelles par rapport à la flore compétitrice, suivi d'un isolement sur des milieux sélectifs spécifiques et d'une identification biochimique. Par la suite, un sérotypage et un antibiogramme.

### 1.2.2.1. Préparation de suspension mère (Pré enrichissement)

La suspension mère est préparée pour les échantillons solides, et permet de récupérer les microorganismes contenus dans la prise d'essai selon la norme ISO 6887-1.

Elle est préparée en prélevant de la profondeur et de la surface 10g (foie et intestin) et 25g (bréchet, cou poulet hachée et ails), les échantillons de poulet sont coupés et pesés et placés dans des sachets stomacher stériles, avec un volume de 90 ml pour les 10g et 225ml pour les 25g d'EPT à raison de 1 volume/9 volumes. Les sachets sont par la suite mis dans un homogénéisateur péristaltique pour obtenir une répartition uniforme des microorganismes. Cette étape est nécessaire pour maximiser la détection par des milieux sélectifs tels que l'eau peptonée tamponnée qu'il permet d'augmenter le nombre de salmonelles qui sont sensibles et stressées dans les conditions défavorables.

La prise d'essai des solutions mères (figure 10) obtenue sont incubée à 37° C pendant 16-20 heures.



**Figure10** : Etapes de préparation de la suspension mère.

## 1.2.2.2. Enrichissement

- A l'aide d'une micropipette, inoculer 100 microlitre de bouillon de suspension déjà incubée dans la boîte qui contient le milieu MSRV (rapport vasiliadis modifié semi solide), et déposer 3 gouttes d'environ 30 microlitre chacune sous forme de triangle (figure 11). Incuber à 42°C pendant 16-20heures.
- A l'aide d'une micropipette, inoculer 1 ml de la suspension mère dans 9 ml de bouillon sélénite (BS) (figure 12) et incuber à 37°C pendant 16-20 heures.



**Figure11:** Enrichissement milieux MSRV.



**Figure12:** Enrichissement bouillon sélénite.

- Le milieu MSRV et le bouillons sélénite sont des milieux d'enrichissements sélectif pour la recherche des salmonelles dans les contenus caecaux de poulet de chair.
- A partir de la solution mère, deux prélèvements de bouillon sont effectués (figure 15) en transférant 0,1 ml dans un tube contenant 10ml de bouillon RVS, et 1 ml dans un tube contenant 10ml de bouillon MKTTn additionné de 0.2 ml d'iodure d'iode au moment de la manipulation. Le bouillon RVS est incubé à 42°C et le bouillon MKTTn à 37°C pendant 18-24h (les bouillons MKTTn et RVS sont des milieux d'enrichissement sélectif pour la recherche des salmonelles dans les aliments).



**Figure13:** Bouillons RVS et MKTTn d'enrichissement

### 1.2.2.3. Isolement

A partir des cultures obtenues dans les milieux d'enrichissements (sélénite, RVS, MKTTn et MSRv), deux géloses sélectifs XLD (figure 14) et hektoen (figure15) sont ensemencées et mises en incubation à 37 C pendant 24 h



**Figure14:** Ensemencement sur hektoen.



**Figure15 :** Ensemencement sur XLD.

### 1.2.2.4. Identification

Après 24 heures d'incubation, les colonies isolées sur les géloses et présentant les caractéristiques macroscopiques présomptives des salmonelles (figure 19) (colonies verdâtre ou bleuâtre à centre noire sur hektoen et colonies incolores à centre noir sur XLD), ont été soumises à une identification phénotypique.

**Préparer la suspension bactérienne :** avec une pipette Pasteur prendre une ou quelques colonies bactériennes isolées à partir de l'hécto et les mettre dans un tube contenant de l'eau physiologique stérile.

## a. Coloration de Gram

### Principe

Test permettant de distinguer deux groupes de bactéries : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Les bactéries à Gram positif retiennent le pigment violet de la gentiane. Les bactéries Gram-négatif, en revanche, peuvent être décolorées à l'alcool et colorées en rose avec de la safranine (Berraho, 2009).

### Mode opératoire

- **Préparation de l'échantillon :** Utiliser une tige de bois pour obtenir une petite quantité de culture bactérienne. Étendre une fine couche d'échantillon sur lame de verre propre et sec.
- **Fixation de l'échantillon :** Passer rapidement l'échantillon du bec Bunsen deux ou trois fois (fixation par la chaleur) ou fixer avec un fixateur chimique (alcool méthylique) pendant une minute.
- **Coloration par Cristal violet :** Couvrir la lame avec du cristal violet et laisser agir pendant 1 minute. Rincer doucement la lame avec de l'eau distillée pour éliminer l'excès de couleur.
- **Coloration par lugol:** Recouvrir la lame d'une solution d'iode de Lugol et laisser agir pendant 1 minute.

## Matériel et méthodes

- **Décoloration** : Décolorer la préparation en la lavant avec de l'alcool (éthanol ou acétone) pendant 10 à 30 secondes.
- **Coloration par fuchsine basique** : Appliquer la Safranine ou fuchsine basique sur la lame et laisser agir pendant 1 minute. Rincer avec de l'eau distillée avec papier buvard.
- **Observation microscopique** : Les lames ont été examinées au microscope optique, d'abord avec un objectif 10x pour détecter les bactéries, puis avec un objectif à immersion 100x pour voir les détails de la coloration.

### b. Identification par galerie biochimique classique

Les caractères biochimiques recherchés et les méthodes d'analyse sont détaillés dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Analyse à travers la galerie biochimique classique (Le Minor, Léon, 1993).

Caractères biochimiques	Protocole	Expression
O.N.P.G	Ce test permet de rechercher la présence de l'enzyme $\beta$ -galactosidase. Mettre 1 ml de la suspension bactérienne dans un tube stérile, puis déposer un disque ONPG, et incubé pendant 18 heures à 37 °C.	■
LDC/LDA	Ce test permet l'étude de l'érosion compositionnelle en conditions aérobies et anaérobies. Avec une pipette pasteur prélever une aliquote de la suspension bactérienne, puis l'ensemencer sur les milieux avec des stries serrées et une Pique centrale, incubé pendant 18-20h à 37C.	+
Urée Indole	Test permettant d'identifier des agents pathogènes, en particulier des bactéries de la famille des Enterobacteriaceae, par la détection d'une uréase, qui induit une réaction d'acidification dans le milieu. Une colonie isolée prélevée sur gélose hektoen est ensemencée dans un tube contenant le milieu urée indole, puis incubé 18h-20h à 37°C. Après incubation, ajouter le réactif du Kovacs pour observer la	■



## Matériel et méthodes

	Formation éventuelle d'un anneau rouge.	
Citrate de Simmons	Le principe est que certains micro-organismes sont capables de se développer avec le citrate comme source d'énergie et carbone. Avec une pipette pasteur, prélever une aliquote de la suspension bactérienne, puis l'ensemencer sur le milieu avec des stries serrées, et incubé 18h-20h à 37°C.	+/-
Mannitol-mobilité	Ce milieu permet l'identification présomptive des entérobactéries sur la base de la fermentation du mannitol, de la motilité et de la réduction du nitrate en nitrite. Avec une pipette pasteur, faire une piqure centrale dans le milieu coulé en tube à partir de la suspension bactérienne, et incubé 18h-20h à 37°C.	+
VP	Ce test permet de mettre en évidence la production d'acétoïne à partir du glucose. Sur un milieu Clark et lubs, ajouter une aliquote de la suspension bactérienne et incubé à 37°C pendant 18-20h. Après incubation, ajouter les réactifs VP1 et VP2 et observer le changement de couleur.	-
Fermentation des sucres milieu KIA	Ce milieu permet d'étudier la fermentation sucres (glucose, lactose), et de noter la production ou non d'H <sub>2</sub> S et ou de gaz à partir du glucose. La technique consiste à ensemencer le milieu avec la suspension bactérienne en appliquant des stries serrées puis piqure centrale, et incubé 18h -20h à 37°C.	<b>Glucose:+</b>
		<b>Lactose:-</b>
		<b>H<sub>2</sub>S:+/-</b>
Catalase	La catalase est un catalyseur biologique qui peut accélérer la réaction de destruction du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ). Diluez quelques colonies suspectes avec une goutte de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> sur une lame. Lorsque la réaction est positive, des bulles apparaissent.	+
Oxydase	Ce test consiste à démontrer la capacité des bactéries à oxyder la forme réduite incolore du dérivé N-méthyl de l'acide téréphtalique en une forme oxydée rose-violette. Les colonies pures sont placées sur un disque d'oxydase immergé dans une goutte d'eau distillée stérile, après 30 secondes, apparition de couleur violette, indiquant la présence d'oxydase.	-

## c. Identification par la galerie Api 20<sup>E</sup>

Le système d'identification Api20<sup>E</sup> (figure16) permet l'identification en courte durée et présente plusieurs avantages :

- Fiabilité : méthode standardisée associant les tests de référence et les conditions opératoires optimales pour plusieurs groupes bactériens.
- Simplicité d'utilisation et efficacité : en une seule étape.
- Conditionnement adapté à la fréquence de ces bactéries (coffret de 25 tests).



**Figure 16** : La galerie Api20<sup>E</sup> avant l'incubation.

### Principe

La galerie Api 20E permettant l'identification des espèces appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et autres bacilles à Gram négatif, est composée de deux entités comprenant chacune 10 tests miniaturisés munis de substrats déshydratés. Ils détectent généralement une activité enzymatique, principalement liée à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés par les organismes inoculé (F. Hernández *et al*,2011).

### Mode opératoire

Les étapes suivantes sont réalisées conformément à la notice du fabricant (F. Hernández *et al*,2011).

#### ▪ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure sur milieu hektoen, des colonies sont prélevées puis transférées dans un tube à essai avec de l'eau physiologique stérile 0,85% jusqu'à l'obtention d'une

# Matériel et méthodes

Suspension bactérienne homogène d'opacité égale à 0,5 McFarland, au moyen d'un spectrophotomètre.

## ▪ Inoculation de la galerie

La suspension bactérienne préparée a été introduite dans chacun des 20 microtubes à l'aide d'une pipette pasteur munie d'une poire. Les microtubes des tests CIT, VP et GEL ont été remplis par l'inoculum jusqu'à la cupule alors que les microtubes correspondant aux tests : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et UREE, les cupules ont été remplies par l'huile de vaseline pour assurer la condition d'anaérobiose.

## ▪ Incubation de la galerie

La galerie API20E est incubée à 37°C pendant 18-24h.

Avant d'entamer la lecture de la galerie, il est nécessaire de rajouter les réactifs suivants : Perchlorure de Fer (TDA), réactif de Kovacs (IND), réactif de KOH et d' $\alpha$ -naphthol (VP1 et VP2), réactif de Griess et poudre zinc (NIT 1 et NIT 2).

## ▪ Lecture et interprétation

La lecture des réactions (positives ou négatives) se fait en fonction des variations des couleurs (figure 17), les résultats sont interprétés à l'aide d'un tableau de lecture trouvé dans le guide de la galerie établi par les fournisseurs, et l'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique ou le logiciel d'identification APIWEB™ (Biomérieux). Les tests sont regroupés en triplets (groupe de 3 microtubes). Une réaction négative vaut toujours 0 point tandis qu'une réaction positive vaut 1, 2 ou 4 points selon la position de microtube dans le triplet. On additionne à l'intérieur de chaque triplet les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient enfin un code de sept chiffres qui correspond à l'identification de la souche.

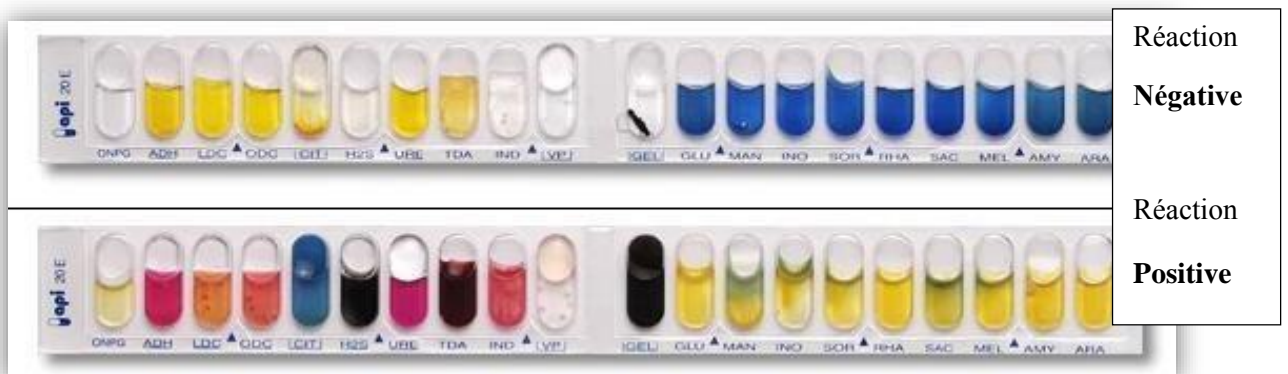


Figure 17: Lecture de la galerie Api20<sup>E</sup>.

## 1.2.2.5. Sérotypage

Selon la norme OMS adoptée par l'institut Pasteur basée sur le tableau de white Kaufman–le minor (2007) 9<sup>ème</sup> génération, un sérotypage est effectué systématiquement, dès que l'identification biochimique révèle la présence du genre *Salmonella*.

### Principe

Le test repose sur la mise en évidence d'une réaction spécifique entre un antigène porté par les micro-organismes testés et un anticorps présent dans le sérum testé (figure18).



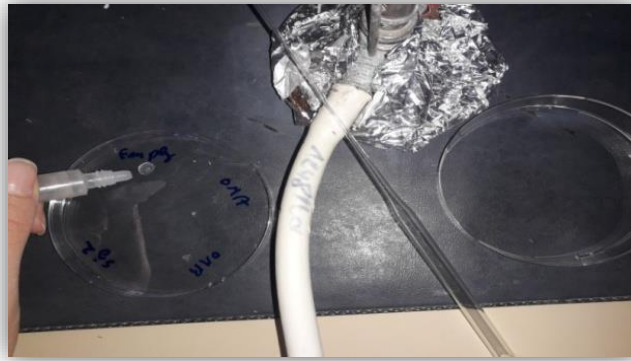
**Figure18** : Matériel et réactifs utilisés dans le sérotypage

### Mode opératoire

**a/ 1<sup>ère</sup> étape** : Tester l'agglutination de la souche avec l'eau physiologique pour révéler si la souche est auto agglutinable ou non afin de poursuivre le sérotypage.

**b/ 2<sup>ème</sup>étape** : Détermination du groupe par identification des antigènes O (figure 19). Tester d'abord les antisérums O mélanges : OMA et OMB, si agglutination dans OMA (ce n'est pas nécessaire de tester OMB).

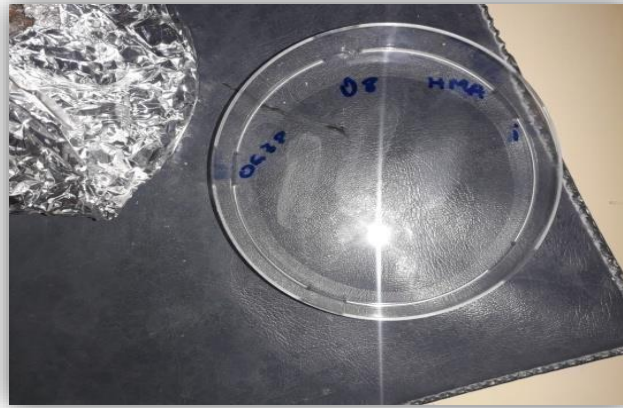
- S'il Ya une agglutination dans OMA et OMB au même temps, il faut voir la vitesse d'agglutination.



**Figure19** :Test des antigènes O.

- Si l'agglutination est présente dans OMA, faut confirmer que cette souche appartient à l'un des groupes O: 2 (A), O :4 (B), O :9 (D), O :3(E), O :21 (L).
- Si absence d'agglutination dans OMA, faut passer pour tester OMB: si il Ya une agglutination avec OMB on peut dire que la souche appartient à l'un des groupes O :8 (C), O :11 (F), O :13 (G), O :6,14 (H).
  - Ensuite tester les antisérums divalent ou mono divalent par ordre des groupes.
  - Si il y'a agglutination dans OMA:
    - ✚ Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O:4(B), donc tester l'antisérum O 4,5.
    - ✚ En l'absence d'agglutination, rechercher l'antigène majeur du groupe O:9 avec l'antisérum O9.
    - ✚ En l'absence d'agglutination, rechercher l'antigène majeur du groupe O : 3,10 avec l'antisérum O : 3, 10,15.
    - ✚ En l'absence d'agglutination, rechercher l'antigène majeur du groupe O:2(A) avec l'antisérum O1, 2.
  - Si agglutination dans OMB : Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O :8 (C2-C3) en testant l'agglutination dans le sérum O8 Puis, si nécessaire, tester le groupe O :7 (C1) avec le sérum O7.

**c/ 3<sup>ème</sup> étape** : Détermination du sérotype par identification des antigènes H (HMA et HMB) (figure 20).



**Figure20:** Test des antigènes H.

### 1.2.3. Réalisation des antibiogrammes

#### Principe

L'antibiogramme est un test microbiologique qui évalue la résistance acquise d'une souche bactérienne aux antibiotiques, auxquels elle est naturellement sensible et qui pourraient donc théoriquement être utilisés pour la traiter.

La détermination de la sensibilité des salmonelles aux antibiotiques été réalisée par la méthode de diffusion des disques d'antibiotiques sur le milieu gélosé Mueller Hinton selon la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale « médecine humaine et vétérinaire» (OMS, 2011).

#### Mode opératoire

- A partir d'une culture pure obtenue sur gélose nutritive, incubée à 37°C pendant 24h, une colonie isolée est prélevée, à partir de laquelle une suspension bactérienne est réalisée dans de l'eau physiologique stérile dont l'opacité optique est mesurée à l'aide d'un densitomètre jusqu'à obtention d'une valeur de 0,5 MCF (figure 21).
- Les boîtes contenant la gélose Mueller Hinton pré coulée sontensemencées par la suspension bactérienne jusqu'à couverture complète du milieu.
- Les disques d'antibiotique sont déposés sur les boîtes inoculés (figure22).
- Incubation à 37C° pendant 18-24h.



**Figure 21:** Mesure de l'opacité de la suspension bactérienne par densitomètre.



**Figure 22:** Dépôt des disques d'antibiotiques sur milieu Mueller Hinton.

Les disques utilisés, l'abréviation ainsi que les charges sont représentés dans le tableau V.

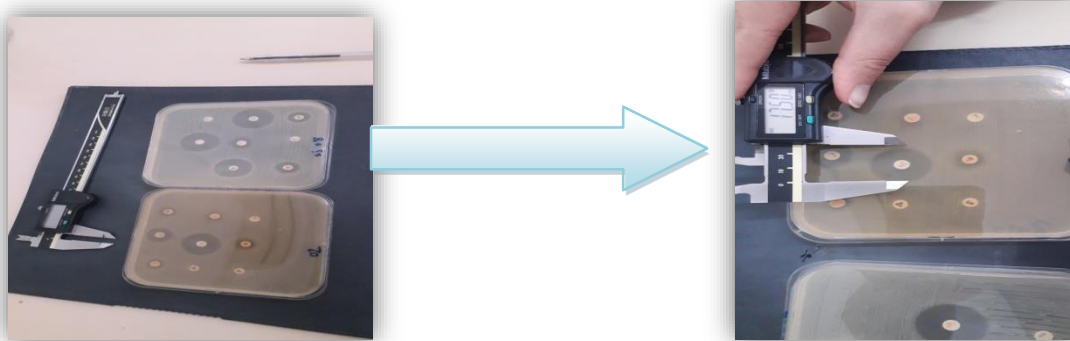
# Matériel et méthodes

**Tableau V:** Les disques d'antibiotiques utilisés, l'abréviation, ainsi que leurs charges.

Nom d'antibiotique	Abréviation	Charge du disque
Ciprofloxacine	CIP	5 $\mu$ g
Moxifloxacine	MXF	5 $\mu$ g
Amoxicilline	AM	30 $\mu$ g
Tétracycline	TET	10 $\mu$ g
Sulfaméthoxadole	SMX	25 $\mu$ g
Colistine	CS	50 $\mu$ g
Ampicilline	AMC	10 $\mu$ g
Céfotaxime	TAX	5 $\mu$ g
Gentamicine	GM	10 $\mu$ g

## Lecture

Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque d'antibiotique est mesuré (figure 23), la mesure est ensuite interprétée pour déterminer la résistance ou la sensibilité vis-à-vis de chacun des antibiotiques testés.



**Figure 23:** Mesure de diamètre de la zone d'inhibition.



# Résultats et discussion

## 2. Résultats et discussion

Après pré-enrichissement et enrichissement, les échantillons ont été isolés sur des milieux sélectifs (hektoen et XLD) (figure24).

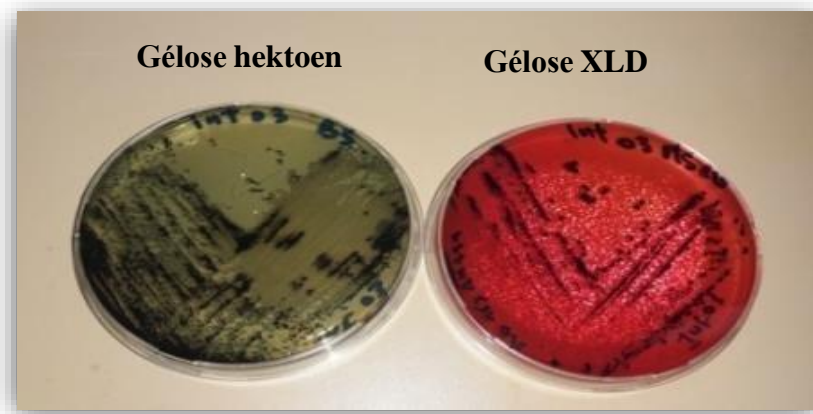
### 2.1. Aspect des cultures

#### a/Sur milieu hektoen

Nous avons noté la présence de colonies vertes à centre noire, indiquant qu'elles ne fermentent pas les sucres inclus dans ce milieu, et produisent le sulfure d'hydrogène ( $H_2S$ ) par la réduction du citrate ferrique ammoniacal (ce caractère permet de suspecter la présence d'une *Salmonella*).

#### b/Sur milieu XLD

Nous avons noté la présence de colonies rouges liées à la fermentation de xylose ; et présentant un centre noir lié à la production de  $H_2S$ .



**Figure 24 :** Aspect des colonies suspectes *Salmonella* sur gélose hektoen et XLD.

### 2.2. Identification phénotypique des isolats

Les caractères biochimiques de salmonelle sont motionnés dans le tableau VI.

# Résultats et discussion

**Tableau VI** : Caractères phénotypiques qualifiant le genre *Salmonella*

Paramètre	Résultat	Expression
Coloration de Gram	Bacille à Gram négatif	Bâtonnets colorés en rose
Test Catalase	+	Des bulles d'aires apparaissent
Test Oxydase	-	Couleur violette
Glucose	+	Culot vire au jaune
Lactose	-	La couleur reste inchangée
H <sub>2</sub> S	+/-	Noircissement au milieu (présence de quelques bulles « gaz »)
Urée	-	Pas de virage de couleur; Milieu clair (jaune)
Indole	-	Pas de virage de couleur
Citrate de Simmons	+/-	Virage de l'indicateur de pH au bleu: donc c'est l'alcalinisation du milieu
Mannitol mobilité	+	Les bacilles qui sont mobiles diffusent a partir de la ligne d'ensemencement qui créent un trouble du milieu
ONPG	-	Virage vers le jaune
LDC	+	Virage vers le violet

L'identification phénotypique basée sur les tests biochimiques classiques (figures25) ainsi que les galeries API (figure 26) à révélé que 27 isolats appartiennent au genre *Salmonella*.

# Résultats et discussion

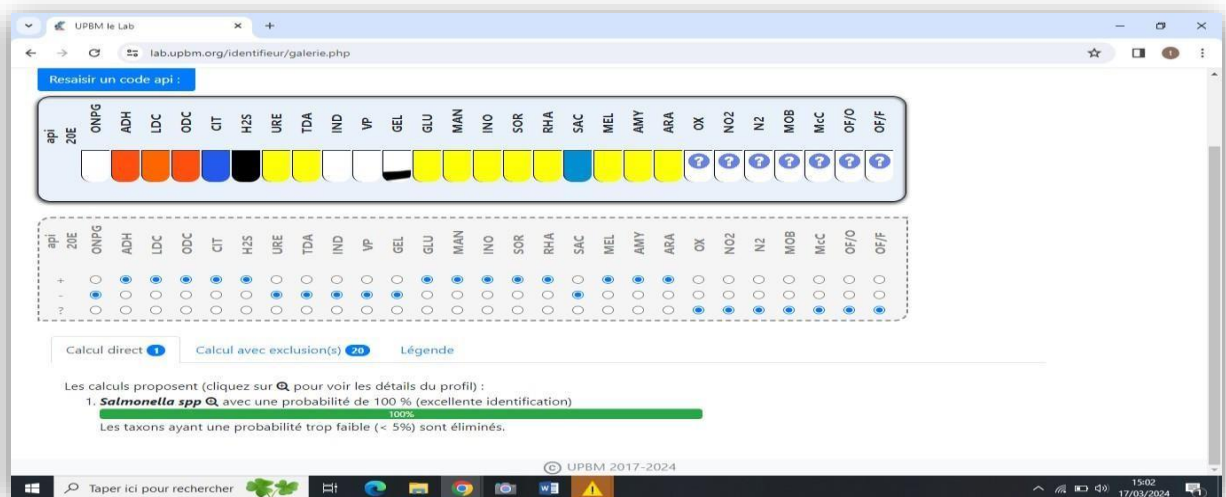


Présence de salmonelle



Absence de salmonelle

**Figure 25:** Résultat de l'identification par la galerie biochimique classique d'un isolat appartenant à salmonelle.



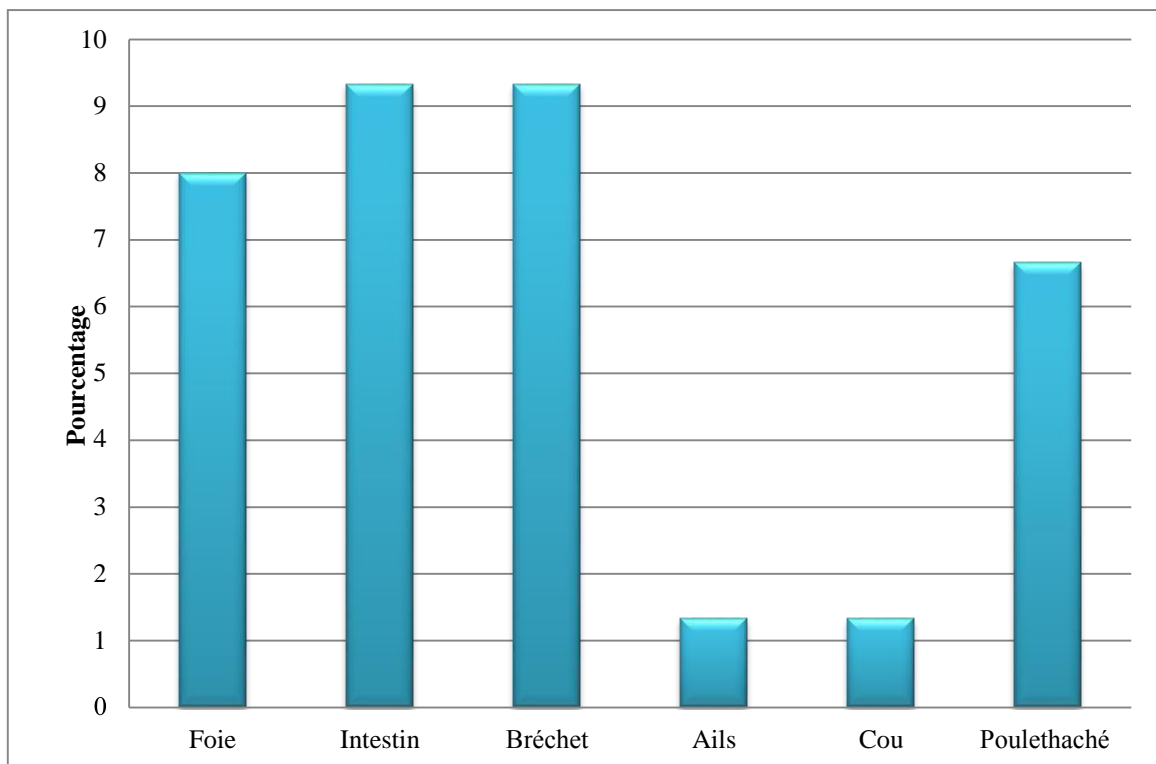
# Résultats et discussion

**Figure 26:** Résultat et interprétation de l'identification par la galerie API20<sup>E</sup> d'un isolat appartenant à salmonelle.

## 2.3. Taux d'isolement global des salmonelles

Sur un nombre total de 75 échantillons testés, *Salmonella* a été isolée sur 27 échantillons correspondant à un pourcentage global de 36 %, réparti comme suit (figure 27):

- 8% des souches provenant de foies,
- 9.33% des souches provenant d'intestins,
- 9.33% des souches provenant de bréchets,
- 1.33% des souches provenant d'aïls,
- 1.33% des souches provenant de cous,
- 6.66% souches provenant de poulets hachés.



**Figure 27 :** Pourcentage des résultats positifs pour chaque type d'échantillon.

De nombreuses études ont confirmé la contamination du poulet de chair par *Salmonella* à travers le territoire national, dont la fréquence varie d'une région à une autre.

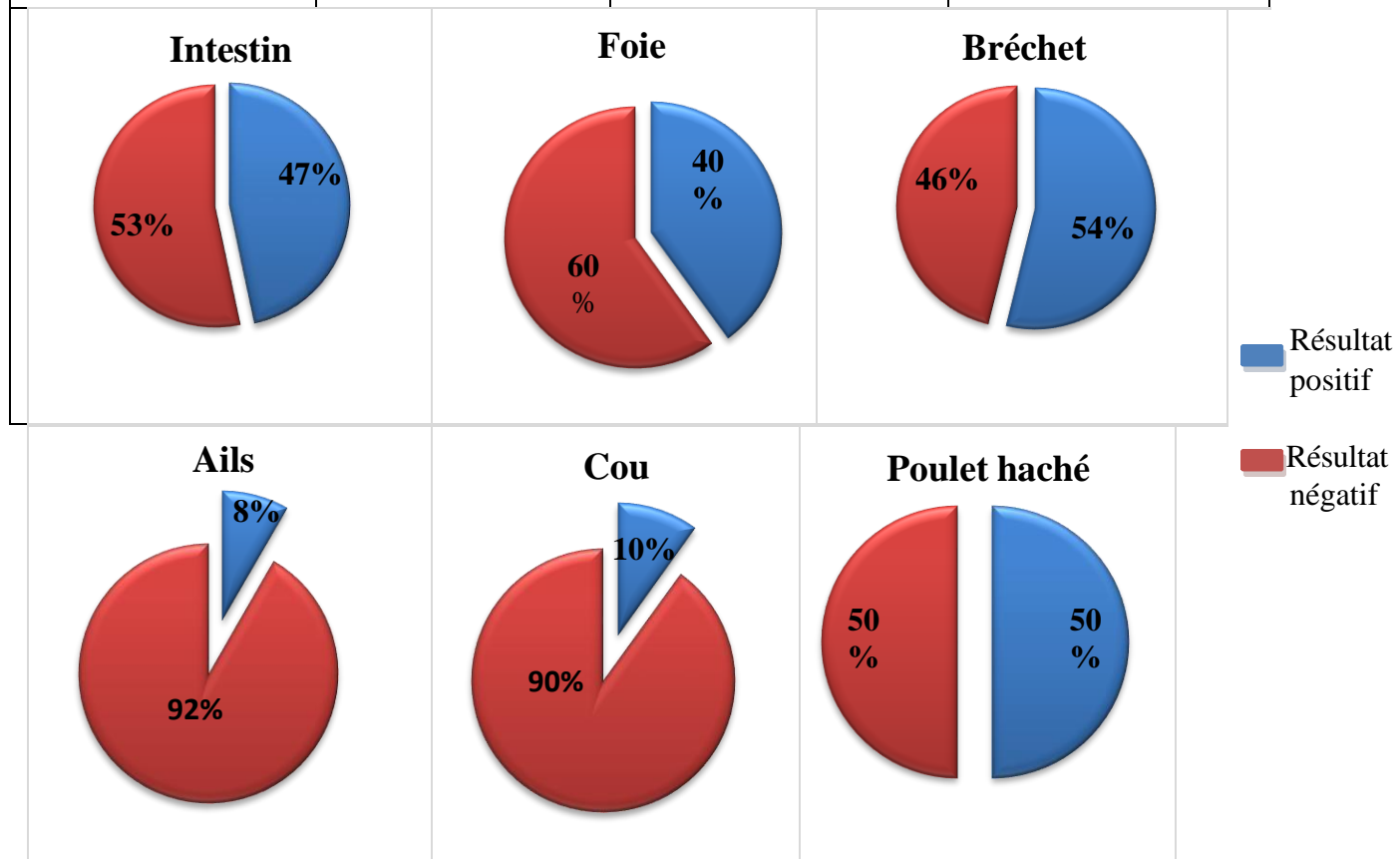
# Résultats et discussion

## 2.4. Taux d'isolement des salmonelles par type d'échantillon

Sur un total de 75 échantillons de poulet chair divisés en 15 foies, 15 intestins, 13 bréchets, 12 ails, 10 cous et 10 poulets hachés, les résultats positifs sont présentés dans le tableau VII et (figure 28).

**Tableau VII :** Fréquence des isolats de salmonelles par type d'échantillon.

Type d'échantillon	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs	Pourcentage De résultats positifs
Foie	15	06	40%
Intestin	15	07	46.66%
Bréchet	13	07	53.84%
Ails	12	01	8.33%
Cou	10	01	10%
Poulet haché	10	05	50%



# Résultats et discussion

**Figure 28 :** Pourcentage des échantillons positifs et négatif par catégorie de produit.

La recherche de *Salmonella spp* au cours de cette étude a porté sur plusieurs points (établissements d'abattage et boucherie) de poulet de chair répartis sur 2 wilayas Alger et Bouira. *Salmonella spp* à été détectée dans les deux wilayas et à partir de tous les échantillons avec des taux d'isolement variables de 8 à 54%.

## 2.5. Taux d'isolement des échantillons par wilaya

Les échantillons de foies et d'intestins ont été prélevés dans 10 établissement d'abattage (5 situés à Bouira et 5 à Alger), les échantillons de bréchet, ail, cou et poulet hachée ont été prélevés dans 20 boucheries (10 à Bouira et 10 à Alger) (tableau VIII).

**Tableau VIII :** distribution des prélèvements dans les wilayas de Bouira et Alger

Point de collecte	Wilaya		
	Type d'échantillon	Bouira	Alger
10 établissements d'abattage	Foie	07	08
	Intestin	07	08
	<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>16</b>
20 boucheries	Bréchet	07	06
	Ail	06	06
	Cou	05	05
	Poulet haché	05	05
	<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>22</b>

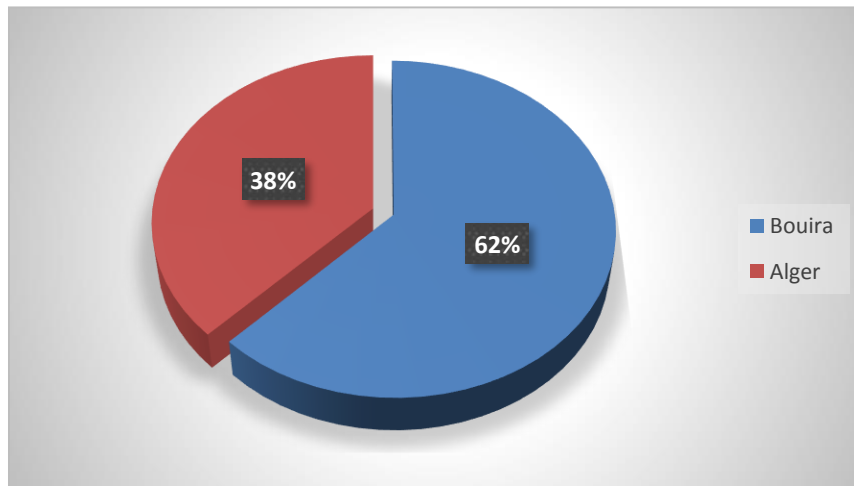
**Tableau IX:** Nombre d'échantillons positifs dans les deux wilayas.

Wilayas		Bouira	Alger
Echantillon			
Foie		04	02
Intestin		03	03
Bréchet		04	03

# Résultats et discussion

Ail	01	00
Cou	01	00
Poulet Haché	02	02
Total	17	10

Les prévalences obtenues au terme de notre enquête nous ont permis de faire une comparaison montrant que la contamination est plus élevée à Bouira par rapport à Alger (Tableau IX); soit un pourcentage de 62% d'isolats positifs pour les échantillons issus de Bouira, contre un pourcentage de 38% pour les échantillons issus d'Alger (figure 29).



**Figure29:** Pourcentage des résultats positif issus de Bouira et d'Alger.

D'après l'enquête menée auprès des abattoirs et points de vente inspectés, ces prévalences relativement élevées par rapport à littérature seront liées aux mauvaises conditions d'hygiène et à la difficulté d'application des plans de lutte contre les contaminations et les infections par *Salmonella*.

## 5.6. Sérotypage des souches confirmées phénotypiquement

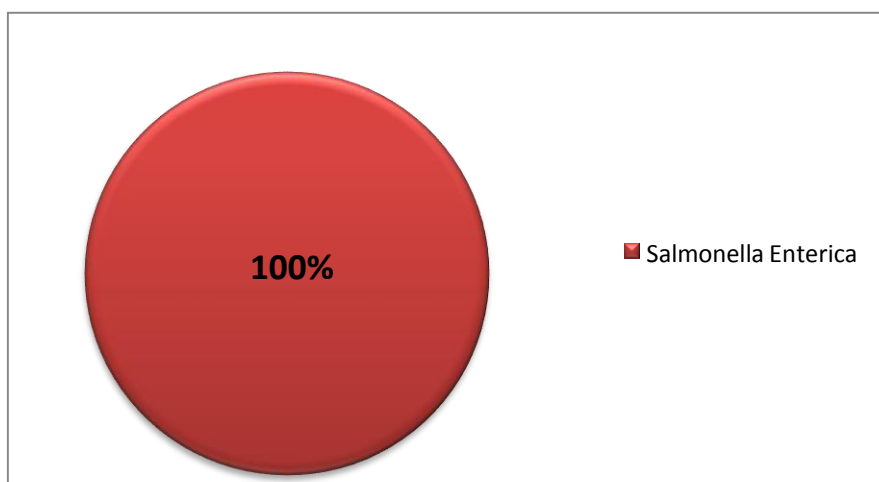
Après la confirmation de la présence de salmonelle dans les échantillons, l'identification du sérotype est obligatoire pour L'identification des antigènes O et H a permis de déterminer

## Résultats et discussion

---

sa formule antigénique complète et donc son groupe et éventuellement son espèce sur la base du schéma de White- Kauffmann-Le Minor (Griment et Weill, 2007).

Les résultats du sérotypage montrent que tous les sérovars obtenus appartiennent à l'espèce *Salmonella enterica* (figure30).



**Figure 30:** Répartition des résultats positifs par espèce.

Deux exemples des étapes de sérotypage pour les sérovars *Salmonella* Enteritidis (figure 34) et *Salmonella* Kentucky (figure 31).



# Résultats et discussion

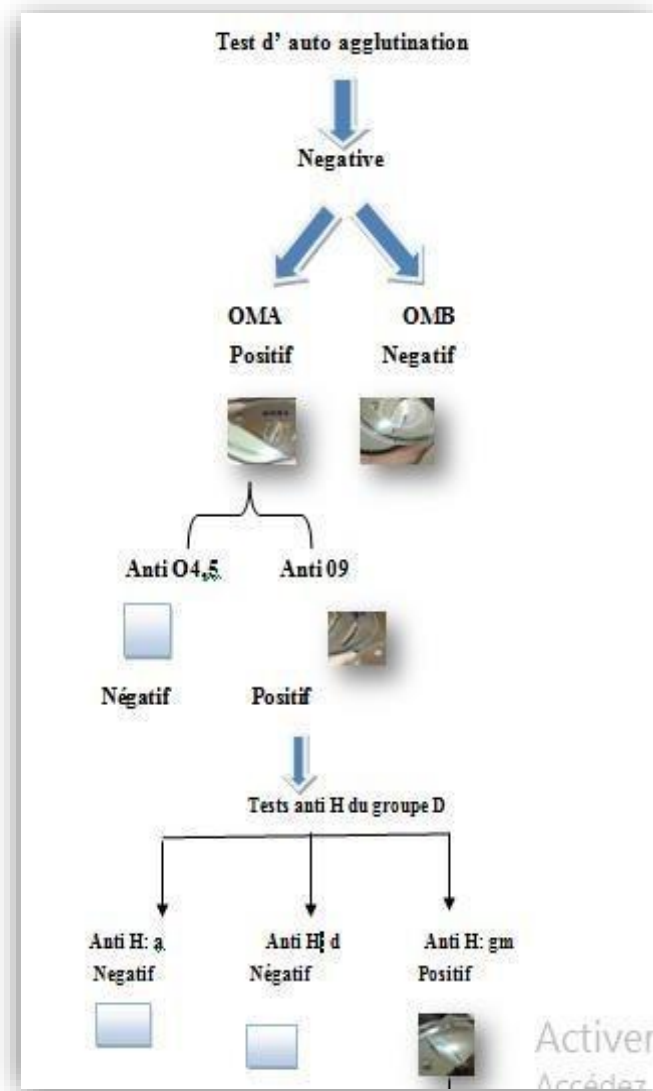
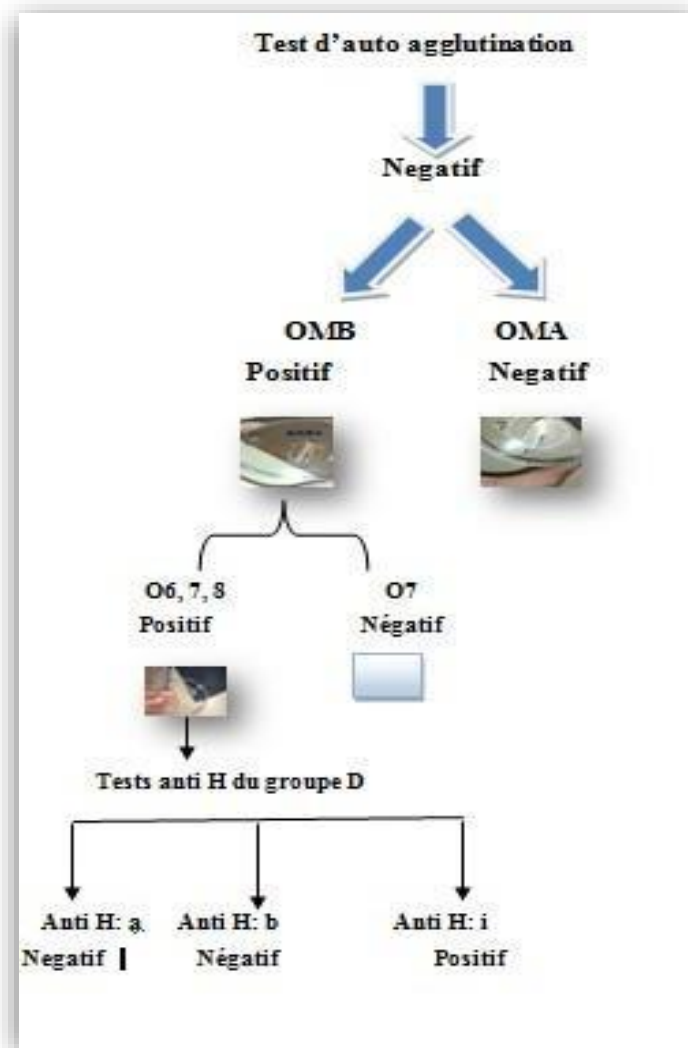


Figure 31: Schéma d'identification de *Salmonella* Enteritidis.

# Résultats et discussion

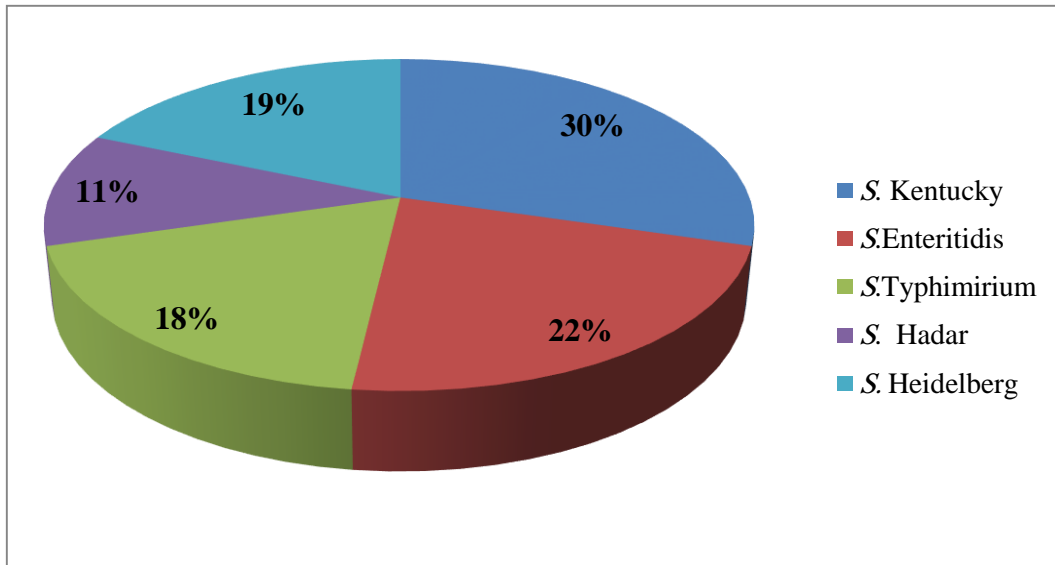


**Figure 32:** Identification de *Salmonella* Kentucky.

27 souches de *Salmonella* appartenant à 5 différents sérotype (figure 33), ont été isolées à partir des élevages, abattoirs et points de vente de poulet de chair dans notre étude. La distribution des sérotypes est comme suit :

- *S. Kentucky* a été identifié 8 fois.
- *S. Enteritidis* a été identifié 6 fois.
- *S. Typhimurium* a été identifié 5 fois.
- *S. Haddar* a été identifié 3 fois.
- *S. Heidelberg* a été identifié 5 fois.

# Résultats et discussion



**Figure 33:** Pourcentage de chacun des sérotypes identifiés.

Les salmonelles constituent l'une des principales causes de maladies diarrhéiques dans le monde. Les deux principales espèces de salmonelles transmises de l'homme à l'animal dans la plupart des régions du monde sont *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium. Ces sérotypes provoquent généralement des maladies gastro-entériques (OMS, 2020).

La salmonellose est la deuxième zoonose la plus fréquemment signalée dans l'Union européenne (UE) et représente un problème majeur de santé publique selon les rapports annuels 2018 et 2019 de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA, 2020).

En 2018, au total, 154 cas de salmonellose (150 cas confirmés avec un taux d'incidence de 11,3 pour 100 000 habitants) ont été recensés dans l'UE, le taux de notification était presque au même niveau, avec 20,1 cas pour 100 000 habitants (Boivin et al., 2022). Les deux sérotypes les plus fréquemment signalés isolés chez l'homme étaient *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* et représentaient 70,4 % de tous les cas humains confirmés dans l'UE (Boivin and Mayeur, 2022).

La salmonelle est considérée comme étant l'une des 5 bactéries pathogènes les plus répandues dans les produits alimentaires en Chine (Paudel et al., 2018). En 2017, environ 20% des infections d'origine alimentaire sont causés par *Salmonella* Enteritidis. Cependant, *Salmonella* Typhimurium représentait environ 18% du total (Mesbahi et al., 2022).

# Résultats et discussion

*S. Enteritidis* est le sérotype le plus courant avec un pourcentage de 50 % et *S. Typhimurium* avec environ 20% de cas, cependant, les sérovars *S. Heidelberg* environ 10% et *S. Kentucky* sont les plus dominantes au Canada et au Ghana (Sivara malingam et al., 2013; Andoh et al., 2016).

Une étude menée en 2018, en Egypte montre que *S. Hadar* a été identifié dans 6% des cas confirmés, cela suggère que la présence de ces sérotypes est importante mais reste moins fréquente que celle d'autres sérotypes tels que *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* (Awad et al., 2020).

En Algérie, une étude menée dans la période allant de 2008 à 2013 a montré que *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* sont les sérotypes les plus courants avec un pourcentage de 50% et 20% tandis que *S. Kentucky* représentait environ 15% (Elgroud, et al., 2014).

En 2019, une étude a montré la présence de *Salmonella Typhimurium* et *Salmonella Enteritidis* de la région est de l'Algérie est élevé, cependant les multiculteurs de poulets de chairs sont montrés plus affectés par les salmonelles ce qui découvre un taux de 14.5% assez élevé de même que pour les établissements d'abattages avec une prévalence de 4% (Awad et al., 2020).

## 2.7. Résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées de *Salmonella* a révélé l'existence de souches sensibles et d'autres résistantes aux différents antibiotiques testés, et ce à travers la mesure des zones d'inhibition éventuellement présentes (figure 34).



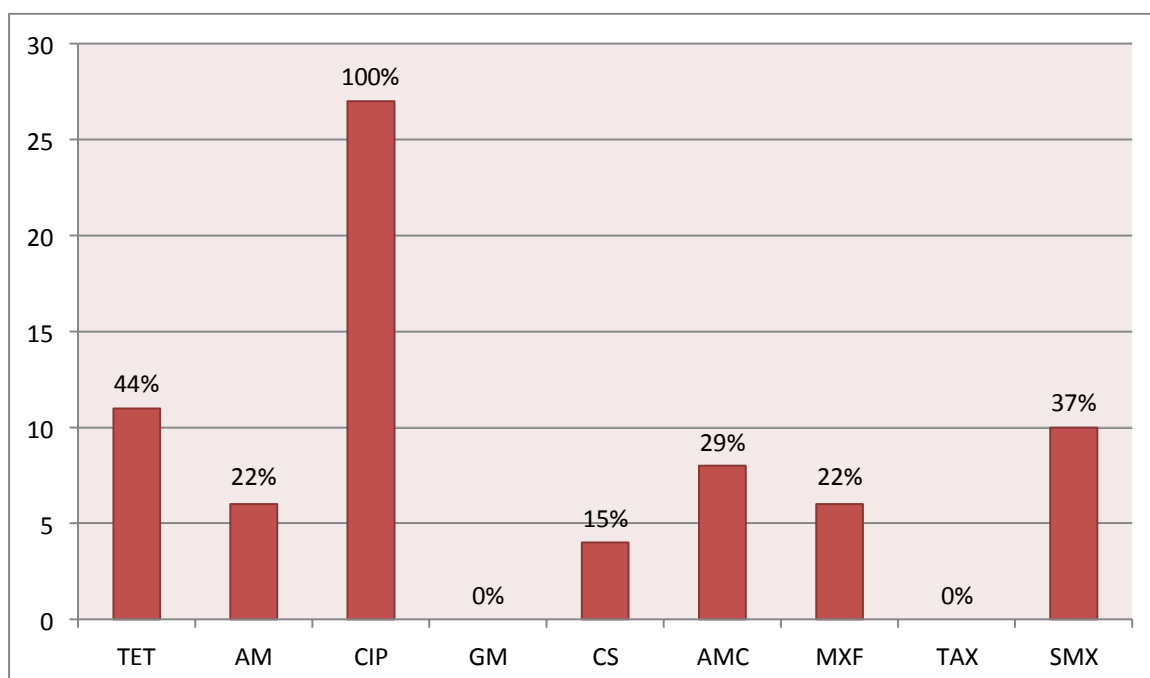
**Figure34** : AntibioGramme de quelques souches isolées.

# Résultats et discussion

## 2.7.1. Taux de résistance globale

Les résultats de l'antibiogramme ont révélé que tous les isolats de *salmonella* obtenus étaient résistants à au moins un antibiotique parmi les testés (figure 35).

- Toutes les souches (27) étaient résistantes à la ciprofloxacine (100%).
- 6 souches étaient résistantes à la moxifloxacine (22.22%).
- 8 souches étaient résistantes à l'amoxicilline (29%)
- 11 souches étaient résistantes à la tétracycline (44%)
- 10 souches étaient résistantes à la sulfaméthoxadole (37%)
- 4 souches étaient résistantes à colistine (15%)
- 6 souches étaient résistantes à l'ampicilline (22%)
- Toutes les souches étaient sensibles au céfotaxime et à la gentamicine.



**Figure 35 :** Antibiorésistance globale des souches isolées de salmonelle.

La résistance à la ciprofloxacine a été rapporté chez toutes les souches de notre étude, dans une étude précédente dans la région de Constantine, 51,11% et 26,6% des isolats aviaires été résistante à la ciprofloxacine et au céfotaxime (Djeffal *et al.*, 2017).

Un déclin de la résistance aux tétracyclines et à l'ampicilline chez les salmonelles d'origine humaine a été observé dans plusieurs pays européens, entre 2016 et 2020 ; ce déclin était particulièrement évident chez *Salmonella* Typhimurium (ECDC, 2020).

# Résultats et discussion

---

15% des souches isolées au cours de cette étude ont présenté une résistance à la colistine, cette résistance a été rapportée dans d'autres régions, en effet, la prévalence de salmonelle résistante à la colistine était élevée en Asie Portugal et l'Italie (Figueiredo *et al.*, 2015; Carnevali *et al.*, 2016). D'après l'OMS (2017), la colistine est l'un des agents antimicrobiens qui ont une importance critique chez l'homme d'après son efficacité contre les bactéries à Gram négatif multi résistantes.

En 2018, une étude menée dans les régions d'Europe et Asie sur la résistance des salmonelle à la ciprofloxacine étaient environ 12-15%, d'autre étude en 2015 a montré une résistance croissante dans les *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* en Asie de Sud Est, cependant la moxifloxacine a un mécanisme de résistance similaire a la ciprofloxacine par contre est souvent observé chez les salmonelles (Tran Dien, 2018) .

En 2017, une étude montre que l'amoxiciline à un taux plus élevés dans les pays de développement environ 25-30%, d'autre part la résistance des salmonelles à la tétracycline était plus de 50% d'après une étude menée en Afrique et en Asie de Sud (CDC, 2018)

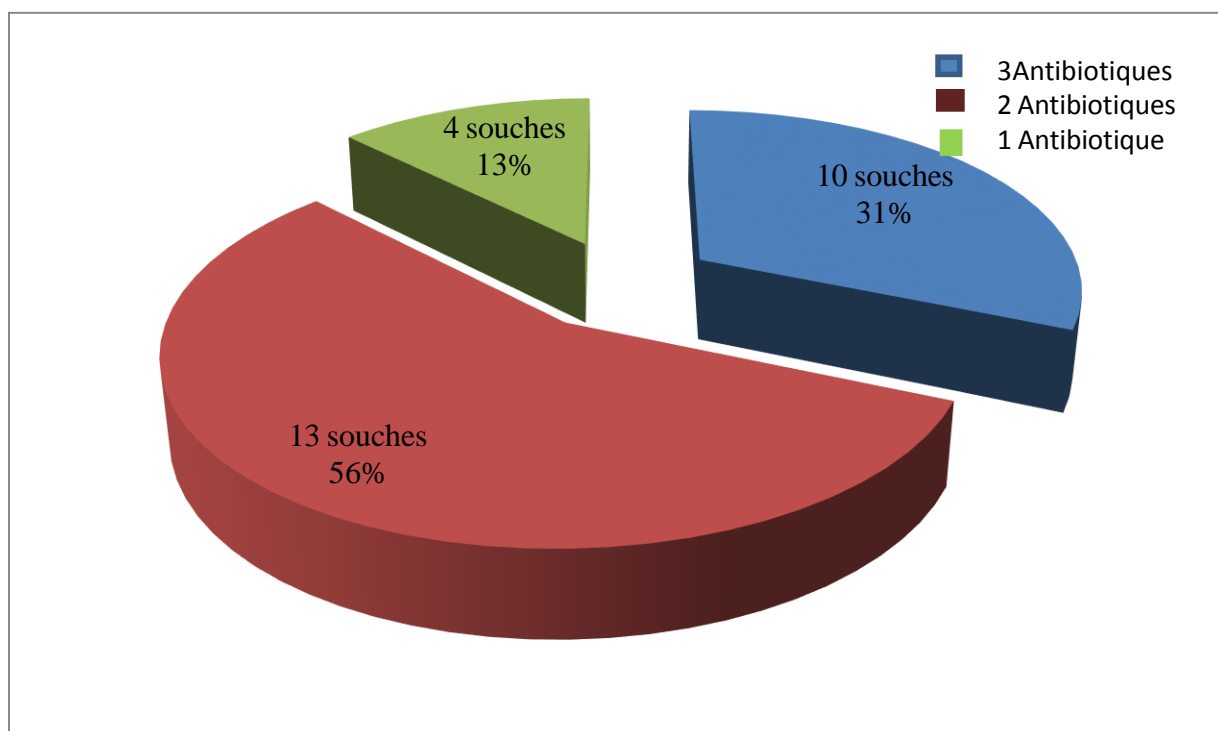
Une étude menée en Algérie en 2015-2018 a révélé que près de 10 à 15 % des isolats étaient résistants à la ciprofloxacine, et environ 5 à 10 % des isolats étaient résistants à la gentamicine, ça reste relativement faible et gérable, mais ça nécessite une surveillance continue (Boutaiba Benklaouz, 2023).

## 2.7.2. Taux de résistances associées

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées dans les différents points a révélé l'existence de souches bactériennes multirésistantes. En effet, la majorité des souches étaient résistantes simultanément à deux ou trois antibiotiques testés (figure 36).

- 10 souches étaient résistantes à 3 antibiotiques différents
- 13 souches étaient résistantes à 2 antibiotiques différents
- 04 souches étaient résistantes à 1 antibiotique différent

## Résultats et discussion



**Figure 36:** Taux de résistance des souches à 1, 2 et 3 antibiotiques.

### 2.7.3. Profils de résistance des souches isolées

Cette étude a permis ainsi l'établissement de 10 profils de résistance différents pour les souches de *Salmonella* isolées (tableau X).

**Tableau X:** Profils de résistances aux antibiotiques et sérotypes

Sérotype	Total	Profil de résistance	Nombre de souches
<i>S. Kentucky</i>	N=8	TET-CIP-SMX	5
		AM-CS-AMC	3
<i>S. Enteritidis</i>	N=6	AM-CS	2
		CIP-AM	2
		CIP-MXF	2
<i>S. Typhimurium</i>	N=5	TET-AMC	3
		CIP-SMX-AM	2
<i>S. Hadar</i>	N=3	TET	2
		CIP-MXF	1

# Résultats et discussion

S. Heidelberg	N=5	TET	2
		MXF-CIP	3

- **S. Kentucky:** pour les 8 souches, 2 profils de résistance comportant 3 antibiotiques différents ont été établis (figure 41):
  - 5 souches présentaient le profil [Tétracycline, Ciprofloxacine, Sulfaméthaxadole].
  - 3 souches présentaient le profil [Ampicilline, Colistine, Amoxiciline].
- **S. Enteritidis:** pour 6 souches, 3 profils de résistance comportant 2 antibiotiques différents ont été établis :
  - 2 souches présentaient le profil [Amoxiciline, Colistine]
  - 2 souches présentaient le profil [Ciprofloxacine, Amoxiciline].
  - 2 souches présentaient le profil [Ciprofloxacine, Moxifloxacine].
- **S. Typhimurium:** pour 5 souches, 2 profils de résistance comportant 2 à 3 antibiotiques différents ont été établis :
  - 3 souches présentaient le profil [Tétracycline, Ampicilline]
  - 2 souches présentaient le profil [Ciprofloxacine, Sulfaméthaxadole, Amoxiciline].
- **S. Hadar:** pour 3 souches, 2 profils de résistance comportant 1 à 2 antibiotiques différents ont été établis :
  - 2 souches présentaient le profil [Tétracycline].
  - 1 souche présentait le profil [Ciprofloxacine, Moxifloxacine]
- **S. Heidelberg:** pour 5 souches, 2 profils de résistance comportant 1 à 2 antibiotiques différents ont été établis :
  - 2 souches présentaient le profil [Tétracycline].
  - 3 souches présentaient le profil [Moxifloxacine, Ciprofloxacine].



# Résultats et discussion

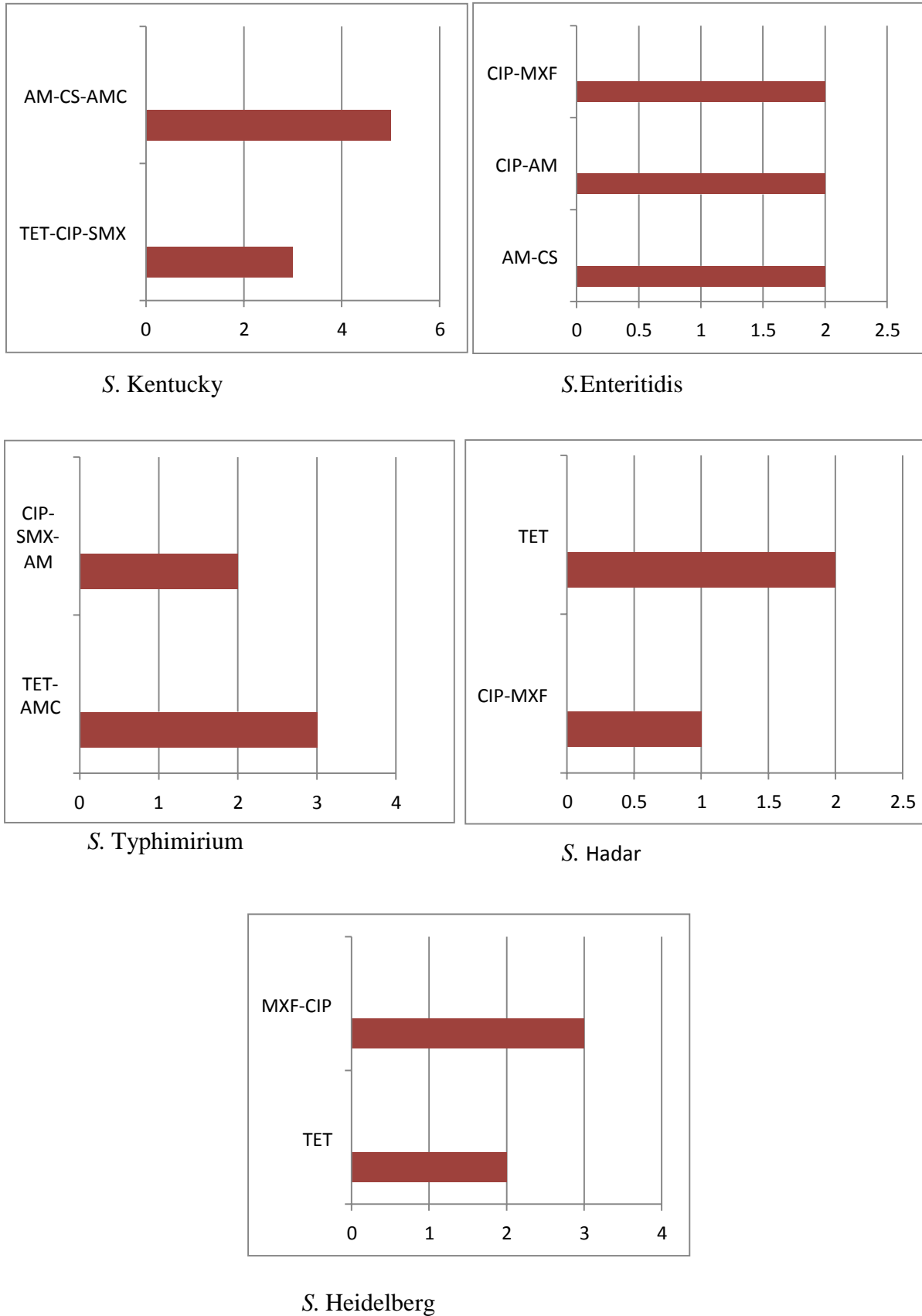


Figure 37 : Profils de résistances aux antibiotiques pour chaque sérotypes

# Résultats et discussion

---

Parmi les 8 souches de *S. Kentucky*, 5 étaient résistantes à 3 antibiotiques [Tétracycline, Ciprofloxacine, Sulfaméthaxadole] et 3 souches à 3 antibiotiques différents [Ampicilline, Colistine, Amoxiciline].

6 souches de *S. Enteritidis* ont été isolées, parmi celles-ci 2 souches étaient résistantes à 2 antibiotiques [Amoxiciline, Colistine], 2 souches à [Ciprofloxacine, Amoxiciline]. et d'autre 2 souches étaient résistantes à [Ciprofloxacine, Moxifloxacine]. 3 souches de *S. Typhimurium* sur 5 montrèrent une résistance à 2 antibiotiques [Tétracycline, Ampicilline] et les 2 d'autres souches sont résistantes à 3 antibiotiques [Ciprofloxacine, Sulfaméthaxadole, Amoxiciline].

Une souche de *S. Hadar* était résistante à 2 antibiotiques [Ciprofloxacine, Moxifloxacine] et 2 souches résistent à un seule antibiotique [Tétracycline].

2 souches de *S. Heidelberg* étaient résistantes à un antibiotique [Tétracycline] et 3 souches à 2 antibiotiques [Moxifloxacine, Ciprofloxacine].

- La résistance des salmonelles aux antibiotiques peut être associée à un transfert horizontal des gènes de résistance que l'on trouve généralement sur les éléments génétiques, ou à la propagation clonale de sérovars résistants aux médicaments antimicrobiens qui sont particulièrement efficaces (McDermott, Zhao et Tate, 2018).

Cette résistance observée chez *Salmonella* met en évidence l'utilisation excessive et inappropriée des antibiotiques sur le terrain. Il est donc nécessaire de surveiller l'utilisation des antibiotiques dans les élevages en tant que facteurs de croissance, mesures prophylactiques ou thérapeutiques, ainsi la surveillance de l'évolution de cette résistance d'une façon coordonnée chez l'homme et l'animal (Anukam et Reid, 2007).

Les antibiotiques sont utilisés pour améliorer la conversion des aliments, la santé des oiseaux et le taux de croissance, augmentant à la fois la production et la rentabilité de la production avicole commerciale traditionnelle (Gadde *et al.*, 2017 ; Lourenco *et al.*, 2019).

Et selon la définition adoptée aujourd'hui par la FAO et l'OMS, les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui procurent des bénéfices à l'hôte lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates (Anukam et Reid, 2007).

## Conclusion

Les salmonelles sont responsables de nombreuses pathologies infectieuses, et engendrant même des épidémies, l'isolement et l'identification des salmonelles dans les abattoirs et les points de vente revêtent une importance cruciale pour garantir la sécurité alimentaire. La résistance aux médicaments antibactériens constitue une préoccupation qui existe à l'échelle mondiale et elle a un effet considérable sur la santé animale et humaine, Cette situation peut être due aux conditions d'élevage et d'abattage.

L'objectif de notre étude consiste à isoler et caractériser phénotypiquement des souches de *Salmonella* dans certains élevages, abattoirs, et des points de vente de poulet de chair dans les wilayas de Bouira et Alger par des méthodes standardisées ISO, la caractérisation des isolats a été réalisée par des méthodes bactériologiques et biochimiques, et ensuite confirmés par un sérotypage dans un premier temps. Puis déterminer le profil de résistance de chaque souche.

Au cours de cette étude, nous avons pu identifier 27 souches de *Salmonella* à partir de 75 échantillons (foie, intestin, bréchet, cou, ails et poulet haché), avec établissement de 05 sérotypes différents, le plus commun était *Salmonella* Kentucky recensé 08 Fois.

En termes d'antibiotypie, les isolats de *Salmonella* étaient souvent résistants au moins à un antibiotique, principalement la tétracycline, la ciprofloxacine et la moxifloxacine, en plus de résistances associées à 2 et 3 antibiotiques différents. Plusieurs profils de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence, le plus dominant était [TET-CIP-SMX] présent dans 16 % des souches.

Ces résultats indiquent que les salmonelles représentent un réel problème de santé publique, des liens épidémiologiques à différents niveaux de la filière volaille et chez les consommateurs sont probables par transmission de germes zoonotiques résistants majeurs en santé humaine via la chaîne alimentaire.

Plus de recherches pourront affiner ces résultats permettant de déterminer la prévalence nationale, et essayer d'établir avec précision les modalités de contamination de l'homme et le transfert de la résistance aux antibiotiques

Enfin, il est nécessaire d'envisager d'installer des programmes de surveillance

## Conclusion

---

Nationaux de ces infections chez l'homme et l'animal, pour envisager par la suite d'entreprendre un plan de lutte efficace, rapide et durable.

### Référence Bibliographique

Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Montiel H, (1992). Bactériologie clinique, 2ème édition Paris. P 168-171.

Awad, A. *et al.* (2020) ‘Phenotypes, antibacterial-resistant profile, and virulence-associated genes of Salmonella serovars isolated from retail chicken meat in Egypt’, *Veterinary World*, 13(3), pp. 440–445. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.440-445>.

Bakhrouf, A., Jeddi, M. and Gauthier, M.J. (1992) ‘Modification des caractères culturels et biochimiques du Salmonella paratyphi B après incubation dans l’eau de mer’, *Canadian Journal of Microbiology*, 38(8), pp. 871–874. Available at: <https://doi.org/10.1139/m92-142>.

Bäumler, A.J. *et al.* (1998) ‘Evolution of Host Adaptation in *Salmonella enterica*’, *Infection and Immunity*, 66(10), pp. 4579–4587. Available at: <https://doi.org/10.1128/iai.66.10.4579-4587.1998>.

Bégué, P. and Castello-Herbreteau, B. (2001) ‘Infections graves chez l’enfant drépanocytaire : aspects cliniques et prévention’, *Archives de Pédiatrie*, 8, pp. 732–741. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(01\)80189-5](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(01)80189-5).

Blanchard, A.M. *et al.* (2018) ‘The Applied Development of a Tiered Multilocus Sequence Typing (MLST) Scheme for *Dichelobacter nodosus*’, *Frontiers in Microbiology*, 9, p. 551. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00551>.

Boubendir, S. (2019) ‘Étude de la contamination des carcasses de poulets de chair par Salmonella aux différentes étapes du procédé d’abattage et dans l’environnement de deux abattoirs au Québec’. Available at: <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/22610> (Accessed: 22 May 2024).

Boutaiba Benklaouz, M. (2023) *Caractérisation des souches d’entérobactéries multirésistantes d’origine aviaire au niveau de l’ouest Algérien*. Thesis. Université IBN KHALDOUN- Tiaret. Available at: <http://dspace.univ-tiaret.dz:80/handle/123456789/10057> (Accessed: 5 June 2024).

Bouzoubaa, K., Lemainguer, K. and Bell, J.G. (1992) ‘Village chickens as a reservoir of *Salmonella pullorum* and *Salmonella gallinarum* in Morocco’, *Preventive Veterinary Medicine*, 12(1), pp. 95–100. Available at: [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(92\)90072-N](https://doi.org/10.1016/0167-5877(92)90072-N).

## Référence Bibliographique

---

Boivin, G. and Mayeur, C. (2022) 'Les normes, face cachée de l'alimentation dans la mondialisation', in *Le Déméter 2022*. IRIS éditions (Hors collection), pp. 85–103. Available at: <https://www.cairn.info/le-demeter-2022--0011662118-p-85.htm> (Accessed: 9 June 2024).

Brisabois A, 2001. Interest et limites des techniques de caractérisation de *Salmonella*. *Epidémiologie et Santé Animale* 39:31-42

Cai, H.Y. *et al.* (2005) 'Development of a novel protein microarray method for serotyping *Salmonella enterica* strains', *Journal of Clinical Microbiology*, 43(7), pp. 3427–3430. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3427-3430.2005>.

Carlier,V. et Lagrange,P. 2001. *Salmonella*, service d'information alimentaire,H.C.S. International.Paris. pp: 84

CDC - Surveillance Data (2018)

CDC, 2020. Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*.

Chaiba, A. and Filali, F.R. (2016) 'Prévalence de la contamination par *Salmonella* des élevages de poulet de chair au Maroc', *Cahiers Agricultures*, 25(3), p. 35007. Available at: <https://doi.org/10.1051/cagri/2016017>.

Chambron, J. *et al.* (1971) 'Les salmonelloses au Sénégal : importance des rapaces anthropophiles de la région du Cap Vert en tant que réservoir de Salmonelles', *Revue d'Elevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux* [Preprint]. Available at: <https://agritrop.cirad.fr/484053/> (Accessed: 22 May 2024).

Dedet, J.-P. (2007) *La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes*. Dunod.

Degeye, J.-N. *et al.* (2003) *Stratégies de prévention et de surveillance de Salmonella dans la filière porcine : 1. guide de bonnes pratiques destiné aux fabricants d'aliments, aux éleveurs, engraisseurs, transporteurs, abattoirs et professionnels de la viande*. Les éditions de l'Université de Liège, Liège, Belgium. Available at: <https://orbi.uliege.be/handle/2268/6900> (Accessed: 22 May 2024).

## Référence Bibliographique

---

Depraz, S. (2012) *Détection et typage de salmonelles dans les élevages familiaux de volailles et porcs dans la région « Libertador General Bernardo O Higgins » au Chili*. other. Available at: <https://oatao.univ-toulouse.fr/8814/> (Accessed: 22 May 2024).

Dubois-Brissonnet, F. and Guillier, L. (2020) 'Les maladies microbiennes d'origine alimentaire', *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 55(1), pp. 30–38. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2019.12.001>.

Duvivier, L. and Vété, U. de L.> M. méd (2022) 'L'alimentation canine à base de viande crue : un risque de salmonellose pour l'Homme et pour l'animal ?' Available at: <https://matheo.uliege.be/handle/2268.2/14974> (Accessed: 22 May 2024).

D'Aoust J-Y, 1989. *Salmonella*. In Doyle MP. Bacterial foodborns pathogens. Merceel Dekker edition, New York, 328-445.

Felin E. *Ph.D. Thesis*. University of Helsinki; Helsinki, Finland: Jun 14, 2019. [(accessed on 3 August 2021)]. Towards Risk-Based Meat Inspection—Prerequisites of Risk-Based Meat Inspection of Pigs in Finland. Available online: <https://helda.helsinki.fi/handle/10138/300891> [Google Scholar]

Geay, A. (2003) 'Techniques de dénombrement des salmonelles dans les sédiments'. Available at: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00412/52313/> (Accessed: 22 May 2024).

Gendrel, D. and Cohen, R. (2008) 'Diarrhées bactériennes et antibiotiques : les recommandations européennes', *Archives de Pédiatrie*, 15, pp. S93–S96. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(08\)74223-4](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(08)74223-4).

Ghafir, Y. and Daube, G. (2007) 'Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale.', *Annales de Médecine Vétérinaire*, 151. Available at: <https://orbi.uliege.be/handle/2268/499> (Accessed: 23 May 2024).

Graziani, C. *et al.* (2013) 'Distribution of *Salmonella enterica* isolates from human cases in Italy, 1980 to 2011', *Eurosurveillance*, 18(27), p. 20519. Available at: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2013.18.27.20519>.

Grimont, P.A.D., Grimont, F. et Bouvet, P. 2000. Molecular basis of the diversity in the genus *Salmonella*. In: *Salmonella in domestic animals*. Wray et col. CABI Publishing, British Library, London, U.K.: 1-1

Hawkey, J. *et al.* (2019) 'Global phylogenomics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198', *Microbial Genomics*, 5(7), p. e000269. Available at: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000269>.

Hohmann EL, 2001. Non typhoidal Salmonellosis. *Clinical Infectious Diseases* 32(2):263-269. DOI :10.1016/j.fm.2010.11.003

Humbert,F. 1998. Les Salmonelloses. dans Manuel de Bactériologie Alimentaire,ed. Polytechnica. Paris.

ICMSF: 1998. ( International commission on microbiological specifications for foods). Poultry and poultry products. *Microorganisms in foods*.6. Microbial ecology of food commodities.Blackie academic & professional edition: 76-129.-

Johnson, R. *et al.* (1975) 'Numerical Taxonomy Study of the Enterobacteriaceae', *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 25(1), pp. 12–37. Available at: <https://doi.org/10.1099/00207713-25-1-12>.

Kimura,A.C., Reddy,V., Marcus,R., Cieslak,P.R., Mohle-Boetani, J.C., Kassenborg, H.D.,Segler,S.D., Hardnett,F.P., Barrett,T. et Swerdlow,D.L. 2004. Chicken consumption is anewly identified risk factor for sporadic *Salmonella enterica* serotype Enteritidis infections in the United States : a case control study in FoodNet sites. *Clin. Infect. Dis.*,38: 244-252  
Korsak N, Clinquart A , Daube G , 2004. *Salmonella spp.* Dans les denrées alimentaires d'origines animale : un réel problème de santé publique ? *Revue de Médecine Vétérinaire* 148 :174-193.

KORSAK N., JACOB B., GROVEN B., ETIENNE G., CHINA B., GHAFIR Y., DAUBE G. *Salmonella* contamination of pigs and pork in an integrated pig production system. *J. Food Prot.*, 2003, 66, 1126-1133.

Le Hello, S. (2014) ' *Salmonella* : une bactérie multi-résistante aux antibiotiques dans nos assiettes', *Journal des Anti-infectieux*, 16(4), pp. 192–198. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2014.10.004>.

Le Hello, S. (2016) *Structure génétique, phylogéographie et dynamique évolutive de la population de Salmonella enterica sérotype Kentucky ST198 résistante aux antibiotiques.*



## Référence Bibliographique

---

These de doctorat. Paris, Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France. Available at: <https://theses.fr/2016IAVF0012> (Accessed: 22 May 2024).

Le Minor, L. and Bockemühl, J. (1984) 'Supplément No XXVII (1983) au schéma de Kauffmann-White', *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie*, 135(1, Supplement B), pp. 45–51. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0769-2609\(84\)80042-3](https://doi.org/10.1016/S0769-2609(84)80042-3).

Le Minor Léon (1993) *Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries / Léon Le Minor, ... Claude Richard, ...* Paris: Institut Pasteur (Commission des laboratoires de référence et d'expertise de l'Institut Pasteur).

Li, G. *et al.* (2019) 'Biosensing multiplexer based on immunochromatographic assay for rapid and high-throughput classification of *Salmonella* serogroups', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 282, pp. 317–321. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.11.081>.

Liesegang, A. and H. Tschäpe. 2002. Modified pulsed-field gel electrophoresis method for DNAdegradation-sensitive *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* strains. *Int. J. Med. Microbiol.* 291:645-648.

López-Gálvez, F., Gil, M.I. and Allende, A. (2018) 'Impact of relative humidity, inoculum carrier and size, and native microbiota on *Salmonella* ser. Typhimurium survival in baby lettuce', *Food Microbiology*, 70, pp. 155–161. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.09.014>.

Magdeldin, S. (2012) *Gel Electrophoresis: Principles and Basics*. BoD – Books on Demand.

Martel, J.-L. *et al.* (1990) 'A propos d'un foyer de salmonellose humaine et bovine à *Salmonella typhimurium*. Une anthroozoonose par contact direct', *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 143(4), pp. 415–423. Available at: <https://doi.org/10.4267/2042/64388>.

McDermott, P.F., Zhao, S. and Tate, H. (2018) 'Antimicrobial Resistance in Nontyphoidal *Salmonella*', *Microbiology Spectrum*, 6(4). Available at: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0014-2017>.

Minor, L.L. and Véron, M. (1989) *Bactériologie médicale*. Sciences Flammarion.

## Référence Bibliographique

---

Mesbahi, H., Hadjadj, S. and Mébarkia, C. (2022) *Prévalence des infections à Salmonella spp. chez l'espèce ovine et des autres espèces*. Thesis. Université Larbi Tébessi - Tébessa. Available at: <http://dspace.univ-tebessa.dz:8080/xmlui/handle/123456789/http://localhost:8080/jspui/handle/123456789/4767> (Accessed: 5 June 2024).

Mouttotou N, Ahmad S, Kamran Z, Koutoulis KC, 2017. Prevalence, risks and antibiotic resistance of *Salmonella* in poultry production chain. In: Current topics in *Salmonella* and Salmonellosis edited by M.

Msela, A. and Hakem, A. (Dir) (2021) *Étude du portage des salmonelles dans les selles d'origine bovine (prévalence et facteurs de risque) et leurs impacts sur la santé humaine*. Thesis. École Nationale Supérieure Vétérinaire. Available at: <http://archive.ensv.dz:8080/jspui/handle/123456789/2149> (Accessed: 22 May 2024).

Newton, K. *et al.* (2020) 'Field investigations of multidrug-resistant *Salmonella* *Infantis* epidemic strain incursions into broiler flocks in England and Wales', *Avian Pathology* [Preprint]. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03079457.2020.1809634> (Accessed: 22 May 2024).

Obadia, B. (2007) *Molecular Characterization of Multidrug Resistant Salmonella enterica (French)*.

OIE (Organisation mondiale de santé animale), chapitre 3.10.07 Version 2022

OMS, 2018. Infection a *Salmonella* (non typhique).

OMS (organisation mondiale la santé) institut pasteur ; selon le tableau de whiteKaufman –le minor 2007 9 éme génération

Paudel, S. *et al.* (2014) 'Pathogenesis of *Gallibacterium anatis* in a natural infection model fulfils Koch's postulates: 1. Folliculitis and drop in egg production are the predominant effects in specific pathogen free layers', *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A*, 43(5), pp. 443–449. Available at: <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.955782>.

## Référence Bibliographique

---

Rasschaert G, Houf K , De Zutter L, 2007. Impact of the slaughter line contamination on the presence of Salmonella on boiler carcasses. *Journal of Applied Microbiology* 103:33:341. DOI:10.1111/j.1365-2672.2006.03248.x.

Ray, B. and Bhunia, A. (2013) *Fundamental Food Microbiology, Fifth Edition*. CRC Press.

Ryan, M.P., O'Dwyer, J. and Adley, C.C. (2017) 'Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*', *BioMed Research International*, 2017, p. e3782182. Available at: <https://doi.org/10.1155/2017/3782182>.

Sánchez-Vargas, F.M., Abu-El-Haija, M.A. and Gómez-Duarte, O.G. (2011) 'Salmonella infections: An update on epidemiology, management, and prevention', *Travel Medicine and Infectious Disease*, 9(6), pp. 263–277. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2011.11.001>.

Sanou, I. *et al.* (2002) 'Méningites à *Salmonelles* : à propos de 11 cas colligés au centre hospitalier national Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou (Burkina Faso)', *Médecine et Maladies Infectieuses*, 32(8), pp. 427–431. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(02\)00395-5](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(02)00395-5).

Sep-Hieng, H. *et al.* (1991) 'Un foyer épidémique à *Salmonella bovis morbificans* à Granville (Manche) et sa prévention', *Médecine et Maladies Infectieuses*, 21(5), pp. 332–333. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(05\)80949-7](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(05)80949-7).

Sévellec, Y. (2018) *Diversité génomique de Salmonella Derby en France*. phdthesis. Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France. Available at: <https://pastel.hal.science/tel-03392473> (Accessed: 22 May 2024).

Singleton, P. and Dusart, J. (2005) *Bactériologie: Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies ; Cours*. 6e édition. Dunod.

Soumet, C. (1995) *Évaluation de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection rapide de Salmonella dans les viandes de volailles et produits carnés*. These de doctorat. Compiègne. Available at: <https://theses.fr/1995COMP803> (Accessed: 22 May 2024).

## Référence Bibliographique

---

Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale « médecine humain et vétérinaire » document édité avec collaboration de l'OMS) 6ème édition

Tran, T.Q.L. (2010) 'Étude de l'efficacité de la vaccination à *Salmonella Enteritidis* chez la poule pondeuse et de la protection contre l'infection'. Available at: <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/handle/1866/3931> (Accessed: 22 May 2024).

Terviseamet Salmonelloos Eestis 2019. Available online: [https://www.terviseamet.ee/sites/default/files/Nakkushaigused/Haigestumine/salmo\\_kamp/salmonelloos\\_2019\\_veebile.pdf](https://www.terviseamet.ee/sites/default/files/Nakkushaigused/Haigestumine/salmo_kamp/salmonelloos_2019_veebile.pdf)

*Statistiques sanitaires mondiales 2007*. Available at: <https://www.who.int/fr/publications-detail/9789241563406> (Accessed: 20 May 2024).

Tran Dien, A. (2018) *Génomique épidémiologique de Salmonella*. These de doctorat. Paris, Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France. Available at: <https://theses.fr/2018IAVF0001> (Accessed: 5 June 2024).

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

Villate, D. 2001. *Maladies des volailles*. 2eme édition France agricole. Paris.

Virlogeux, I. *et al.* (1997) 'Contributions de l'antigène Vi à la virulence de *Salmonella typhi*', *Médecine et Maladies Infectieuses*, 27(3), pp. 288–293. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0399-077X\(97\)80168-0](https://doi.org/10.1016/S0399-077X(97)80168-0).

Wang, P. *et al.* (2015) 'Serotypes, Antibiotic Susceptibilities, and Multi-Locus Sequence Type Profiles of *Streptococcus agalactiae* Isolates Circulating in Beijing, China', *PLOS ONE*, 10(3), p. e0120035. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120035>.

Wattiau, P., Boland, C. and Bertrand, S. (2011) 'Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Subtyping: Gold Standards and Alternatives', *Applied and Environmental Microbiology*, 77(22), pp. 7877–7885. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.05527-11>.

## Référence Bibliographique

---

Weill, F.-X. (2008) 'Salmonella: épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques', *Revue Francophone des Laboratoires*, 2008(400), pp. 37–47. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(08\)80099-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(08)80099-8).

Van Winsen, R.L. *et al.* (2001) 'Monitoring of transmission of *Salmonella enterica* serovars in pigs using bacteriological and serological detection methods', *Veterinary Microbiology*, 80(3), pp. 267–274. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00313-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00313-3).

Willey JM, Sherwood LM , Woolverton CJ, 2018. Microbiologie de Prescott. 5ème édition de Boeck Supérieur s.a. louvain-la-Neuve, Bruxelles, 980p. ISBN:987-3694. DOI :10.1128/aem.69.7.3687-3694.2003.

## Matériel

Le matériel usuel de laboratoire de microbiologie ainsi que les milieux de culture et réactifs spécifiques à la recherche de salmonelle

Consommable	Appareillage	Réactifs	Milieux de Culture
Flacons stériles, Pincette, Bistouri, Boîtes de pétrie, Eprouvette, Pipette Pasteur, Anse de platine, Sachets stomacher	Bec benzène, Etuve réglable à 37°C et à 42°C, Homogénéisateur péristaltique, Balance.	Eau peptone tamponnée (EPT), Bouillons sélénite (BS), Bouillon RVS, Bouillon MKTTn, Milieu KIA, Urée indole, KOVACS, Mannitol mobilité, Nitrate, Gélose au 3sucres (TSI), ONPG, LDC et LDA. Clarke et Lubs, VP1 et VP2, Citrates de Simmons, OMA et OMB, Disques d'antibiotiques (ciprofloxacine, moxifloxacine, l'amoxicilline, tétracycline, sulfaméthoxadole, colistine, ampicilline, Céfotaxime et gentamicine)	Milieu MSRV, Milieu, XLD, hektoen, Gélose nutritive, Mueller Hinton.

## Composition de milieux de cultures

### XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate)

- Extrait de levure = 3 g
- L-Lysine = 5 g

- Xylose = 3,75 g
- Lactose = 7,5 g
- Saccharose = 7,5 g
- Désoxycholate de sodium = 2,5g
- Citrate de fer-ammonium = 0,8 g
- Thiosulfate de sodium = 6,8 g
- Chlorure de sodium = 5 g
- Agar = 15 g
- Rouge de phénol = 0,08g
- Eau distillée = 1 litre

### **GELOSE HEKTOEN**

- Peptone = 12,00 g
- Chlorure de sodium = 5,00 g
- Extrait de levure = 3,00 g
- Thiosulfate de sodium = 5,00g
- Sels biliaires N° 3 = 9,00 g
- Citrate ferrique ammoniacal = 1,50 g
- Lactose 12,00 = g
- Bleu de bromothymol = 0,065 g
- Saccharose = 12,00 g
- Fuchsine acide = 0,10 g
- Salicine = 2,00 g
- Agar = 14,00 g

### **Muller Hinton**

- infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- peptone de caséine : 17,5 g
- amidon de maïs : 1,5 g
- agar : 17,0 g
- pH = 7,4

### **M S R V (Rappaport Vassiliadis semi-solide modifié)**

- Tryptose = 4.59 g
- Hydrolysate de caséine = 4,59 g
- Chlorure de sodium = 7,34 g
- Hydrogénophosphate de potassium = 1,47 g
- Chlorure de magnésium (anhydre) = 10,93 g
- Vert malachite = 0,037 g
- Agar = 2,70 g
- pH = 5.2 g
- 

### **Bouillon sélénite**

- Tryptone 5 g.
- Lactose 4 g.
- **Sélénite** 4 g.
- Hydrogénosélénite de sodium 4,0 g.
- Eau distillée (quantité suffisante pour 1 L)

### **MULLER-KAUFFMANN Tétrathionate Novobiocine (MKTTn)**

- Tryptone =8,6 g
- Extrait de viande = 4,3 g
- Sels biliaires = 4,78 g
- Chlorure de sodium = 2,6 g –
- Carbonate de calcium = 38,7 g –
- Thiosulfate de sodium anhydre = 30,45 g –



- Vert brillant = 9,6 mg
- Iode = 4,0 g
- Iodure de potassium = 5,0 g
- Novobiocine = 40 mg

## **Bouillon Rappaport Vassiliadis Soja (RVS)**

- Peptone papainique de soja = 4,50 g
- Chlorure de sodium = 7,20 g
- Phosphate monopotassique = 1,26 g
- Phosphate dipotassique = 0,18 g
- Chlorure de magnésium anhydre = 13,40 g
- Vert malachite (oxalate) = 36,0 mg
- pH final à 25°C = 5,2 ± 0,2

## **Milieu Kligler Hajna (KIA)**

- Peptone = 15 g
- Extrait de viande = 3g
- Extrait de levure = 3g
- Peptone pepsique de viande = 5g
- Glucose = 1g
- Lactose = 10g
- Rouge de phénol 25 mg
- Chlorure de sodium = 5g
- Sulfate ferreux = 0,2g
- Thiosulfate de sodium = 0,3 g
- Agar-agar 11g
- pH = 7,5

