

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid  
Ibn Badis Mostaganem  
Faculté des sciences de  
la Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة  
و الحياة

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études  
Présenté par

M<sup>lles</sup> KERSANI Mansouria Wissam et BENNACEUR Nesrine Fatima Zohra

Pour l'Obtention du Diplôme de

**MASTER EN MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE**

Thème

**LA RECHERCHE DES SALMONELLES DANS LES  
ELEVAGES DE POULET DE CHAIR DANS LA WILAYA DE  
MOSTAGANEM**

Soutenu le 17/09/2020

Devant le Jury :

<b>NEBBACHE Salim</b>	MCB	<b>Président</b>	Université de Mostaganem
<b>CHAALEL ABDELMALEK</b>	MCA	<b>Examineur</b>	Université de Mostaganem
<b>BENBOUZIANE Bouasria</b>	MCA	<b>Promoteur</b>	Université de Mostaganem
<b>KEBIR Ahmed</b>	MAA	<b>Co-encadreur</b>	Laboratoire Vétérinaire Régional de Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire Vétérinaire Régional de Hassi-mamèche -Mostaganem

Année universitaire 2019/2020

## Remerciement

On profite de ce mémoire, pour exprimer nos vifs remerciements à toute personne contribuant de près ou de loin à l'élaboration de cet humble travail.

On remercie le directeur M. Kebir de nous avoir acceptées entant que stagiaires au sein du Laboratoire Vétérinaire Régional de Mostaganem.

Un merci bien particulier adressé également notre encadreur de stage Mr Benbouziane pour ses remarques, ses directives et l'intérêt qu'elle porte à ses étudiants. On tient à lui exprimer nos sincères remerciements pour son suivi, ses orientations et son encadrement pendant celui-ci.

Nous remercions les membres du jury qui ont bien voulu accepter de juger notre modeste travail et de nous honorer : Président : Mr. NEBBACHE S et Examineurs : Mr. CHAALEL A

Aussi, on présente notre reconnaissance à toute personnel travaillant dans le Laboratoire Vétérinaire Régional de Mostaganem qui nous a accueilli, conseillé et soutenu le long de ce stage.

Que tous ceux qui ont contribué à mener à bien ce stage trouvent ici l'expression de notre parfaite considération

## Résumé

L'évolution des maladies infectieuses d'origine alimentaire dans le monde et en particulier en Algérie, semble être liée à la présence de microorganismes dans les aliments et constituent pourtant le problème de santé publique représentant ainsi une source de souffrances humaines. Le présent travail porte sur l'estimation de la contamination de la filière avicole par la Salmonella, l'une des causes de toxi-infections alimentaires bactériennes en Algérie et plus particulièrement celles à déclaration obligatoire. Depuis, des clones multi-résistants ont émergé et leur impact sur la santé humaine en termes de morbidité et de mortalité a été documenté. Ce travail réalisé à l'ouest d'Algérie dans la wilaya de Mostaganem. Pour réaliser cette étude, plusieurs échantillons de poulet chair ont été prélevés à partir d'un site d'élevage étatique dans la wilaya de Mostaganem. et ont été soumis à la recherche de la contamination par les salmonelles. Les recherches réalisées ont démontré la présence de salmonelles dans certains échantillons, les sérotypes détectés chez le poulet chair sont *S.lindenburg*, *S.infantis*, *S.spp* et pour le poussin chair le serovar identifié est :*Salmonella enteritidis*, les résultats ont montré la résistance aux antibiotiques pour l'espèce qui explique l'utilisation anarchique des antibiotiques. La contamination des élevages avicole par les salmonelles met en évidence la nécessité de prendre au sérieux la surveillance du secteur avicole, ainsi de bien appliquer et respecter les conditions et les normes d'élevages et les bonnes pratiques de la sécurité sanitaire et hygiénique.

**Mots clés** : Filière avicole ; Salmonella ; Toxi-infection ; Serotype ; Résistance aux antibiotiques

## **ABSTRACT:**

The evolution of infectious diseases of food origin in the world and in particular in Algeria seems to be related to the presence of microorganisms in food and constitute nevertheless the problem of public health thus representing a source of human suffering. The present work deals with the estimation of the contamination of the poultry sector by Salmonella, one of the causes of bacterial food poisoning in Algeria and more particularly those with obligatory declaration. Since then, multi-resistant clones have emerged and their impact on human health in terms of morbidity and mortality has been documented. This work done in western Algeria in the wilaya of Mostaganem To carry out this study, several samples of broiler chickens were taken from a state breeding site in the wilaya of Mostaganem. and were tested for Salmonella contamination. The research carried out demonstrated the presence of salmonella in some samples, serotypes detected in broiler chickens are *S.lindenburg*, *S. infantis*, *S.spp* and for broiler chicks the identified serovar is: *Salmonella enteritidis*, the results showed resistance to antibiotics for the species which explains the uncontrolled use of antibiotics. The contamination of poultry farms by salmonella highlights the need to takemonitoring of the poultry sector, so to properly apply and respect the conditions andbreeding standards and good practice in health and hygiene safety.

**Key words:** Poultry sector; Salmonella; Toxi-infection; Serotype; Antibiotic resistance.

## ملخص

تطور الأمراض المعدية المتنقلة عن طريق الاغذية في العالم، وخاصة في الجزائر، يبدو أن لها صلة بتواجد الكائنات الحية الدقيقة في الاغذية والتي تشكل بالطبع معضلة في الصحة العامة وبالتالي تمثل مصدرا للمعاناة البشرية. يركز هذا العمل على تقدير العدوى في قطاع الدواجن بالسالمونيلا، أحد أسباب التسمم الغذائي الجرثومي في الجزائر وخاصة تلك اللازم الابلاغ عنها. ومنذ ذلك الحين، ظهرت مستنسخات متعددة المقاومة حيث تم توثيق تأثيرها على صحة الإنسان من حيث الاعتلال والوفيات. تم هذا العمل في غرب الجزائر بولاية مستغانم.

من أجل جراء هذه الدراسة، تم أخذ عدة عينات من لحوم الدجاج من موقع وطني لتربية الدواجن في ولاية مستغانم وتم اختبار تلوث السالمونيلا. حيث أظهرت الابحاث التي أجريت وجود السالمونيلا في بعض العينات لحوم الدجاج. الانماط المصلية التي تم العثور عليها في لحوم الدجاج هي سالمونيلا انترتديس.

وأظهرت النتائج كذلك وجود مقاومة للمضادات الحيوية لكلى النوعين والذي يفسر بالاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية. عدوى مزارع الدواجن بالسالمونيلا يسلط الضوء على الزامية الاخذ على محمل الجد مراقبة قطاع الدواجن وذلك بالتطبيق والاحترام الجيد للشروط والمعايير والممارسات الزراعية الجيدة للسالمية الصحية

**الكلمات المفتاحية:** قطاع الدواجن، السالمونيلا، التسمم الغذائي، المصلي، مقاومة المضادات الحيوية



## Tables des métiers

<b>Chapitre 1 : Généralité sur les <i>Salmonelles</i> .....</b>	<b>1</b>
<b>.1 Introduction :.....</b>	<b>1.</b>
<b>2 Historique et taxonomie des salmonelles :.....</b>	<b>1</b>
<b>2.1 Taxonomie : .....</b>	<b>2</b>
<b>3 Caractéristiques .....</b>	<b>4</b>
<b>3.1 Caractéristique morphologique :.....</b>	<b>4</b>
<b>3.2 Caractères biochimiques des <i>Salmonella</i> .....</b>	<b>5</b>
<b>3.3 Les caractères de la famille du genre <i>Salmonella</i> .....</b>	<b>5</b>
<b>3.4 les caractères différentiels du genre <i>Salmonella</i> : .....</b>	<b>5</b>
<b>3.5 Caractéristiques antigéniques : .....</b>	<b>6</b>
<b>3.5.1 Antigène somatique O (Ag O) : .....</b>	<b>6</b>
<b>3.5.2 Antigène flagellaire (Ag H) :.....</b>	<b>6</b>
<b>3.5.3 L'antigène de virulence (Ag Vi) : .....</b>	<b>6</b>
<b>4 Facteur de virulence : .....</b>	<b>7</b>
<b>4.1 Pouvoir pathogène et immunologique des salmonelles : .....</b>	<b>8</b>
<b>5 Salmonelles et Poulet : .....</b>	<b>8</b>
<b>6 L'origine exacte de la contamination des volailles par les salmonelles est encore mal connue mais l'on pense qu'elle serait liée à leur alimentation, à l'eau de boisson et à l'environnement:.....</b>	<b>8</b>
<b>CHAPITRE II : CONTAMINATION DES ELEVAGES AVICOLES .....</b>	<b>9</b>
<b>1 Contamination des volailles : .....</b>	<b>9</b>

<b>1.1</b>	<b>Sources de contamination de la filière avicole :</b>	<b>9</b>
1.1.1	Personnel et matériel d'élevage :	9
1.1.2	La litière :	10
1.1.3	L'alimentation :	10
1.1.4	Lieux d'élevages :	10
1.1.5	Transport :	10
1.1.6	La volaille elle-même :	10
<b>1.2</b>	<b>Les nuisibles :</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>Transmission des salmonelles à l'homme :</b>	<b>11</b>
<b>3</b>	<b>Dynamique de la contamination humaine :</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>Enjeux socio-économiques :</b>	<b>12</b>
<b>5</b>	<b>Enjeux commerciaux :</b>	<b>12</b>
<b>6</b>	<b>Antibiorésistance des salmonelles :</b>	<b>13</b>
<b>7</b>	<b>Lutte contre les salmonelles :</b>	<b>13</b>
7.1	Élevages.....	13
7.2	Abattage .....	13
7.3	Distribution.....	13
7.4	Consommation.....	14
	<b>Partie expérimentale.....</b>	<b>17</b>
<b>1</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>17</b>
1.1	Référence normative.....	17
<b>2</b>	<b>MATERIEL ET METHODE .....</b>	<b>17</b>
2.1	Prélèvements.....	17

2.2	Prélèvement aviaire dans l'entreprise d'élevage.....	17
2.3	Prélèvements sérologiques.....	18
2.4	Prélèvements d'organes après l'abattage dans LVRM.....	18
3	Examen post et ante mortem .....	18
3.1	Examen ante mortem.....	18
3.2	Autopsie et examen post-mortem .....	18
4	Méthodes analytiques pour la recherche de Salmonellose aviaire .....	20
4.1	Test sérologique de Widal et Félix.....	20
4.1.1	Le diagnostic .....	20
4.1.2	Epreuve au Sp (antigène Salmonella) :.....	20
4.2	Bactériologiques :.....	21
4.2.1	Pré –enrichissement.....	21
4.2.2	Prélèvement de surface : .....	21
4.2.2.1	Incubation .....	23
4.2.3	Enrichissement.....	23
4.2.3.1	Incubation des milieux d'enrichissement :.....	24
4.2.4	Isolement sélectif.....	24
4.2.4.1	Isolement du Rappaport-Vassiliadis: .....	24
4.2.4.2	Isolement du bouillon SFB: .....	24
4.2.5	Purification de colonies isolées : .....	25
4.2.6	Identification .....	26
4.2.6.1	Choix de colonie pour l'identification .....	26
4.3	Identification biochimique .....	26
4.4	Galerie Classique: .....	27
4.4.1	Le milieu TSI (Triple sugar iron) : .....	27
4.4.2	Le milieu urée Indole : .....	28

4.4.3	Citrate de simmons :.....	28
4.4.4	Les milieux LDC/ ODC/ ADH :.....	29
4.4.5	O.N.P.G : .....	30
4.5	Identification sérologique :.....	30
4.5.1	Sérotypage :.....	30
4.6	Technique: .....	31
4.6.1	1ère étape : .....	31
4.6.2	2ème étape :.....	31
4.6.3	3ème étape :.....	31
4.6.4	4ème étape :.....	33
1	Chapitre résultats et discussions .....	35
2	Prélèvement .....	36
3	Transport et réception des animaux :.....	37
4	Appréciation de la conformité de l'abattage dans le LVRM.....	37
5	Fonctionnement .....	37
6	Inspection sanitaire .....	37
7	Résultat de l'inspection post-mortem .....	41
7.1	Cœur.....	43
7.2	Rates .....	43
8	Test sérologique de Widal et Félix.....	44
9	Bactériologie .....	44
10	Isolement .....	45
10.1	Litière bâtiment n°4 :.....	45

10.1.1	Lecture : .....	45
	colonies translucides sur fond rouge-orange avec ou sans centre noir : .....	45
10.2	Bâtiment 1,2,3,5,6 : .....	46
11	Résultats de la galerie biochimique : .....	46
12	Sérotypage des souches de salmonelles : .....	48
13	Antibiogramme : .....	49
13.1	Interprétation des résultats de l'antibiogramme : .....	51
	Conclusion.....	52
	Référence bibliographique .....	53
	Annexes .....	58

## Liste des figures :

- Figure1 : classification des Salmonelles.
- Figure2 : structures antigéniques d'une Salmonelle.
- Figure3 : examen *post-mortem* des sujets après l'abattage.
- Figure4 : prélèvements des organes ; foie, rate, os.
- Figure5 : agitation
- Figure6 : homogénéisation par l'appareil Stomacher.
- Figure7 : sachet Stomacher.
- Figure8 : pré-enrichissement.
- Figure9 : ensemencement sur gélose XLD.
- Figure10 : purification des colonies suspectées.
- Figure11 : milieu TSI-H<sub>2</sub>S (original).
- Figure12 : milieu urée indole (original).
- Figure13 : milieu citrate de simmons (original).
- Figure14 : milieu LDC/ODC/ADH/témoin.
- Figure15 : disque O.N.P.G (original).
- Figure16 : les antigènes O : OMA et OMB.
- Figure17 : échantillons recus et analysées du mois de mars dans le LVRM de Mostaganem.
- Figure18 : inspection *ante-mortem*
- Figure19 : fracture ouverte et fracture non ouverte.
- Figure20 : carcasse et masse musculaire.
- Figure21 : résultats examen *ante-mortem* des organes intérieurs.
- Figure22 : présence de Salmonelle.
- Figure23 : galerie classique.
- Figure24 : résultats du sérotypage.
- Figure25 : antibiogramme des *Salmonella entiridis*.

### **Liste des tableaux :**

Tableau 01 : caractéristiques biochimiques communes aux Salmonelles.

Tableau 02 : échantillons reçus et analysés par le LVRM de Mostaganem.

Tableau 03 : inspection *ante-mortem*.

Tableau 04 : fracture ouverte et fracture non ouverte.

Tableau 05 : appareil respiratoire et appareil digestif.

Tableau 06 : carcasse et masse musculaire.

Tableau 07 : résultats d'examen *ante-mortem* des organes intérieurs.

Tableau 08 : résultats du test sérologique des échantillons.

Tableau 09 : résultats de la galerie classiques.

Tableau 10 : résultats de la résistance des souches de Salmonelles isolées chez le poulet de chair.

## **CHAPITRE I GENERALITES SUR LES SALMONELLES :**

### **1 Introduction :**

L'évolution des maladies d'origine alimentaire infectieuse dans le monde et en particulier en Algérie, semble être liée à la présence de microorganismes dans les aliments. Ces maladies constituent pourtant le problème de santé publique le plus répandu dans le monde et génèrent un fardeau social et économique représentant ainsi une source de souffrances humaines.

La salmonellose est une maladie due à une infection alimentaire par un bacille à Gram - de genre *Salmonella*, naturellement présente dans l'intestin des animaux en particulier chez les volailles et le porc, et chez certains animaux à sang froid. C'est une bactérie qui représente la première cause d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) (Colin P. et al, 1992). Malgré l'augmentation de la prévention contre la transmission de ces maladies par les denrées alimentaires, l'importance de la salubrité des aliments n'est pas appréciée à sa juste valeur en Algérie. Ainsi il est important d'utiliser des moyens sur l'identification de germe *Salmonella* et *Listeria* et en particulier l'espèce *L. monocytigenes*, afin de pouvoir les détecter dans les produits alimentaires.

### **2 Historique et taxonomie des salmonelles :**

Eberth en 1880 découvre l'agent responsable de la fièvre typhoïde dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky. Le genre *Salmonella* a été utilisé après que le bactériologiste américain Daniel Salmon eut isolé en 1886 (Encyclopédie ENCARTA 2004), avec quelques collègues, une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella Choleraesuis*) qui était considérée comme étant la cause de la fièvre porcine (choléra du porc). En 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de salmonelles. A ce jour on a isolé plus de 2500 sérotypes de salmonelles.

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

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

## 2.1 Taxonomie :

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

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

La nomenclature des salmonelles est particulièrement complexe car elle a fait l'objet de controverses et de confusions liées, principalement, à un avis de la « Commission Judiciaire ». Le nouveau système (utilisation des nomenclatures validement publiées par l'opinion 80, couplée à l'interprétation taxonomique de (Le Minor and Popoff, 1987) et à l'interprétation

taxonomique de (Reeves *et al.*, Nov.1989) est employé par un nombre toujours croissant de bactériologistes. Il apparaît clairement que la « Commission Judiciaire » recommande l'utilisation du nouveau système. Ce nouveau système reconnaît que le genre *Salmonella* possède trois espèces :

- *Salmonella bongori*
- *Salmonella enterica* ou *Salmonella choleraesuis*.
- *Salmonella subterranea* (Shelobolina *et al.*, Nov 2004), qui est une souche bactérienne isolée d'un sédiment acide et contaminé par des nitrates et de l'uranium.

La seconde espèce la plus importante comprend six sous-espèces que sont (Grimont *et al.*, 2000) :

- *Salmonella enterica subsp. arizonae*.
- *Salmonella enterica subsp. Diarizonae*
- *Salmonella enterica subsp. enterica*.
- *Salmonella enterica subsp. houtenae*.
- *Salmonella enterica subsp. indica*.
- *Salmonella enterica subsp. salamae*.

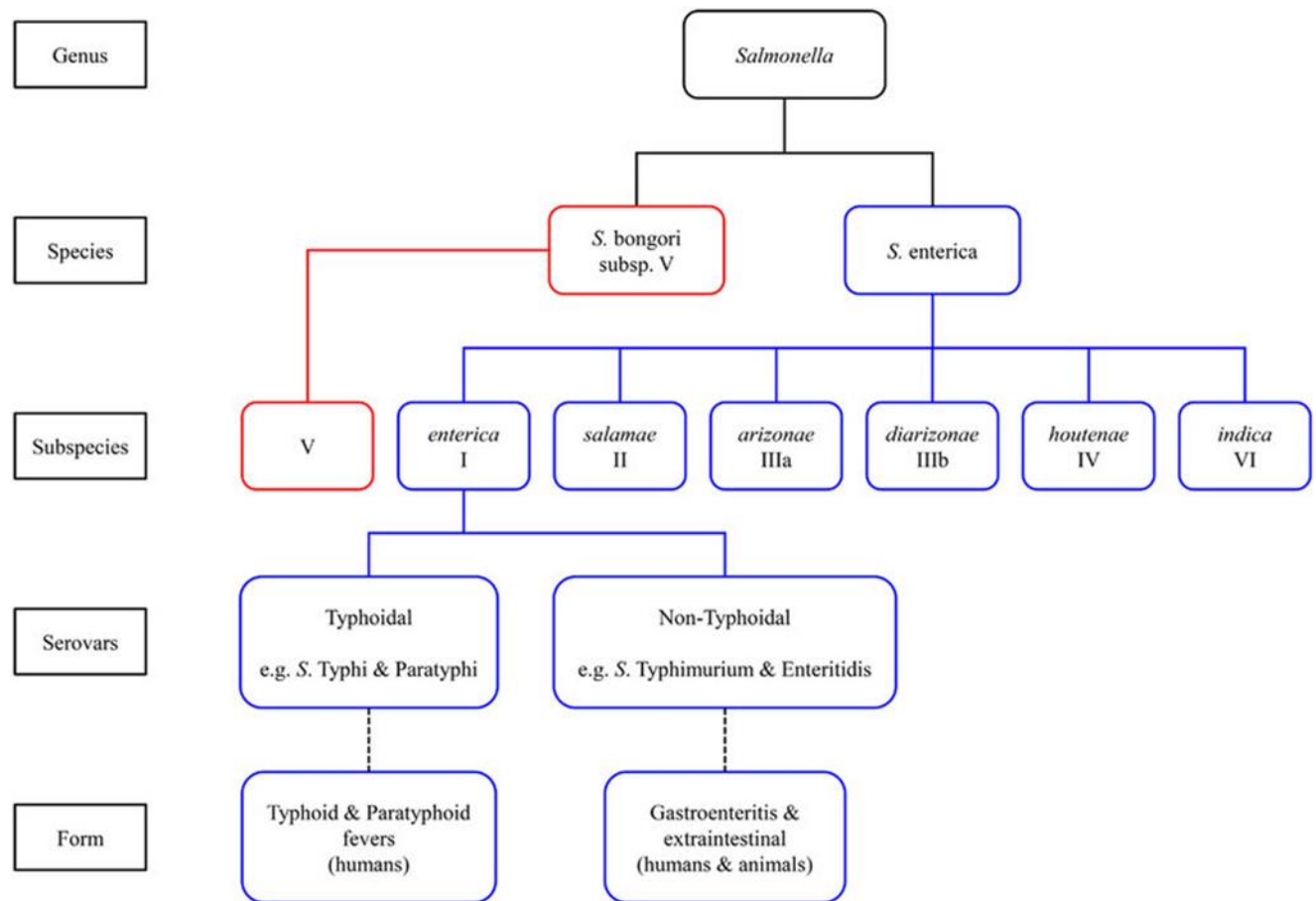


Figure 1: Classification des salmonelles

### 3 Caractéristiques

#### 3.1 Caractéristique morphologique :

Les salmonelles sont des entérobactéries, ont une paroi épaisse de 8 à 12 nm, Gram négatif mobiles grâce à leurs flagelles péritriche (à l'exception de *S. Gallinarum* qui n'en possède pas), L'élément le plus important qui constitue la membrane des bactéries à Gram -, est un lipide complexe ; lipopolysaccharide (LPS) qui sont des complexes macromoléculaires toxiques présents dans la membrane externe. (Avril *et al.*, 1992). Ce sont des bactéries mésophiles leur développement est optimal pour des températures de 35 à 37 °C, et un pH de 6,5 à 7,5 (Robinson *et al.*, 2000). Elles sont capables de survivre dans un intervalle de températures (-20 à 60 °C) et de pH (4,1 à 9), ainsi ce sont des bactéries extrêmement résistantes aux conditions environnementales même difficiles (congélation) et expliquent leur caractère ubiquiste, ces bactéries sont assez sensibles à NaCl. (wray *et al.*, 2000).

### **3.2 Caractères biochimiques des *Salmonella***

Les caractères permettant l'identification biochimique des salmonelles sont l'absence d'uréase, de tryptophane désaminase, mais également l'absence de production d'indole et d'acétone. Les salmonelles réduisent les nitrates en nitrites, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, et fermentent le glucose avec ou sans production du gaz. Cependant elles ne fermentent ni le lactose ni le saccharose. Elles produisent aussi H<sub>2</sub>S à partir du thiosulfate et la réaction au test à l'oxydase est toujours négative (Korsak et al., 2004).

---

### **3.3 Les caractères de la famille du genre *Salmonella***

Huit principaux caractères déterminent la famille d'Enterobacteriaceae : ces sont des bacilles à coloration de Gram négatif. Souvent mobiles grâce à leur ciliature péritriche (rarement immobiles), non sporulés. Ils cultivent sur les milieux ordinaires, ont un caractère aéroanaérobies facultatifs, ils sont capables de fermenter le glucose avec ou sans production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites. Ces germes ne possèdent pas de cytochrome oxydase (Hanes, 2003 ; ICMSF., 1996). Ils possèdent une catalase. Certaines souches n'obéissent pas à tous ces caractères, c'est le cas de : *Erwinia* qui ne réduit pas les nitrates, de *Shigella dysenteriae* sérotype 1 (SD1) qui ne possède pas de catalase, de *Salmonella galinarum* - *pullorum* qui est immobile.

---

### **3.4 Les caractères différentiels du genre *Salmonella* :**

Les principaux caractères biochimiques permettant l'identification du genre *Salmonella* (Humbert et al, 1998) sont : L'absence d'une uréase active, de tryptophane ou de phénylalanine désaminase. L'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif). La production d'hydrogène sulfureux à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase). La décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine. La pousse fréquente sur le milieu au citrate de Simmons. L'absence de fermentation du lactose, (Grimont et al, 2000).

---

### **3.5 Caractéristiques antigéniques :**

Chez Les *Salmonelles* on distingue trois types d'antigènes présentant un intérêt diagnostic (Dumas, (1958), Si lue N, (2007))

---

#### **3.5.1 Antigène somatique O (Ag O) :**

L'antigène 1O est un antigène de la paroi. Les antigènes O sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS). L'antigène O possède des propriétés immunisantes, c'est un complexe contenant une protéine, un polysaccharide et un composé phospholipidique. On distingue 67 facteurs O selon la nature des sucres entrant dans la constitution des unités oligosaccharidiques du polysaccharide (Humbert et al, 1998). Les antigènes O sont formés d'une fraction lipidique appelée lipide A qui est responsable des effets toxiques, du core ou partie basale et du polysaccharide support de la spécificité (Gledel and Corbion, 1991) Les antigènes sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires. Les facteurs majeurs sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O : 4, tyvélose pour O : 9) (Humbert et al., 1998). L'antigène somatique est stable ; il résiste à l'alcool et au phénol pendant deux heures et demi à la température de 100 °C (Dumas, 1958).

---

#### **3.5.2 Antigène flagellaire (Ag H) :**

C'est un polymère de flagelline (protéine de structure des flagelles). Cet antigène est thermolabile, détruit par la chaleur à 100 °C, par l'action de l'alcool et par les ferments protéolytiques. Il résiste au formol et perd son agglutinabilité par les anticorps en présence d'alcool et d'acide phénique. Son développement optimum s'obtient sur les milieux liquides après un séjour de 8 heures à 37 °C (Dumas, 1958). La grande majorité des sérovars possèdent deux systèmes génétiques et peut exprimer alternativement deux spécificités différentes pour leur antigène flagellaire. On dit que les antigènes flagellaires de *Salmonella* sont diphasiques (Humbert et al., 1998).

---

#### **3.5.3 L'antigène de virulence (Ag Vi) :**

C'est un antigène de l'enveloppe, il a été identifié chez trois types de sérovars : Typhi, Paratyphi C et Dublin mais toutes les souches de ces sérovars ne possèdent pas forcément cet antigène (Humbert et al., 1998). Cet antigène est considéré comme un antigène de surface

(Dumas, 1958), il est distinct de l'antigène somatique et de l'antigène flagellaire. L'antigène Vi rend les germes inagglutinables par les anticorps O quand il est abondant. Il ne se développe pas si les cultures sont effectuées au-dessous de 25 °C et au-dessus de 40 °C. Un chauffage à 100 °C pendant dix minutes le détruit et les germes deviennent agglutinables par les anticorps O. Il est de nature glucidolipidopolypeptidique.

A côté de ces antigènes il existe dans le genre *Salmonella*, des structures protéiques de surface : les pilis qui se différencient en pilis communs (intervenant dans l'hémagglutination mannose dépendante) et en pilis sexuels (intervenant dans la conjugaison bactérienne) et dont la présence est codée par des plasmides (Gledel and Corbion, 1991).

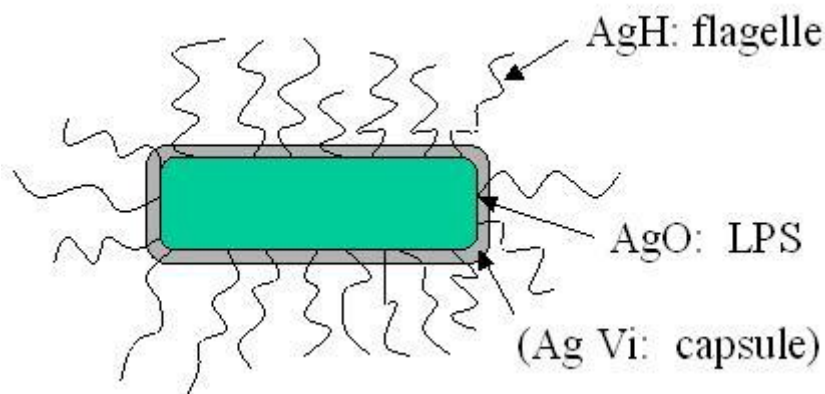


Figure 2 : Structure antigénique d'une Salmonelle (Gledel and Corbion, 1991).

---

#### 4 Facteur de virulence :

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

#### **4.1 Pouvoir pathogène et immunologique des salmonelles :**

Chez la volaille le serovars Gallinarum et pullorum représentent un véritable fléau. Une résistance acquise apparaît après une infection salmonellique chez la plupart des espèces animales. Les caractéristiques de l'immunité induite par les salmonelles sont assez mal connues (Toko, 2010).

#### **5 Salmonelles et Poulet :**

Le poulet, la dinde, le porc, le boeuf, les autres viandes et volailles constituent des sources importantes de protéine et d'autres nutriments. Malheureusement, ces aliments comme les oeufs, le lait cru et tous les aliments crus d'origine animale peuvent aussi transporter la *Salmonella* et d'autres bactéries. La bonne nouvelle est que ces bactéries ne causent pas forcément de maladies. Parmi les sérotypes les plus fréquemment incriminés lors des toxico-infections à salmonelles *Salmonella Enteritidis*, Hadar et Virchow sont considérés comme assez typiques de la filière aviaire. Quoique moins spécifique des volailles, le sérotype *Typhimurium* est aussi très fréquemment rencontré dans les élevages de poulets, de dindes et de canards (Rajashekra et al., 2000). Le fort taux d'infection salmonellique des oiseaux d'élevage est la cause de la fréquente contamination des produits avicoles par les salmonelles (Bornert, 2000)

#### **6 L'origine exacte de la contamination des volailles par les salmonelles est encore mal connue mais l'on pense qu'elle serait liée à leur alimentation, à l'eau de boisson et à l'environnement :**

Au cours des deux dernières décennies, *Salmonella enteritidis* est devenu l'une des principales causes d'infection humaine, les œufs de poule étant l'une des sources majeures du pathogène. Ce fait est attribué à la capacité inhabituelle de ce sérovar à coloniser le tissu ovarien des poules et à être présent dans le contenu des œufs en coquille intacts (FSIS, janvier 1988.). Le poulet est le principal type de volaille consommé dans de nombreux pays à un pourcentage élevé. Ces poulets sont colonisés par des salmonelles durant la croissance, la peau et la chair des carcasses sont fréquemment contaminées par le pathogène pendant l'abattage et la transformation.

## CHAPITRE II : CONTAMINATION DES ELEVAGES AVICOLES

### 1 Contamination des volailles :

Depuis longtemps, il est connu que la volaille peut héberger de nombreux sérotypes de *Salmonella*. Cependant, l'émergence du sérotype *Enteritidis*, principalement parce qu'il est facilement transmissible à l'homme chez qui il peut causer des symptômes Cliniques d'une grande sévérité a fortement attiré l'attention sur cette problématique. *Salmonella enteritidis* a une affinité particulière pour le tractus génital de la volaille. L'émergence du sérotype *Enteritidis* dans l'industrie avicole a eu lieu dans tous les pays occidentaux entre 1965 et 1980 (Rabsch et al., 2000). En 20 ans, *Salmonella enteritidis* est devenu le sérotype le plus commun chez la volaille (Poppe, 2000). Ces dernières années, on note heureusement dans la plupart des pays une décroissance du nombre de souches de *Salmonella* isolées chez la volaille. Cette tendance générale varie néanmoins suivant le niveau de la chaîne de production. Les données présentées ci-après pour ces différents niveaux doivent être interprétées avec prudence puisque les programmes et les méthodes d'échantillonnage et d'isolement peuvent varier d'un pays à l'autre.

#### 1.1 Sources de contamination de la filière avicole :

L'une des formes les plus intensives d'élevage animal est l'élevage de poulets. Les conditions d'élevage sont facilement conductrices à des infections par les pathogènes opportunistes. Le risque de contamination par des pathogènes potentiels est omniprésent au niveau de toutes les étapes de la chaîne de production avicole (Ayachi et al., 2009) (figure 4). 2.1 L'eau : Les divers sources d'eaux de boisson et qui sont rarement contrôlées, parfois même à l'intérieur de l'élevage. Souvent les salmonelles sont retrouvées dans les sédiments de cette eau qu'en elle-même (Lebrazi, 2011).

##### 1.1.1 Personnel et matériel d'élevage:

Le personnel, les bâtiments, camions de transport, système d'aération, les ustensiles, mangeoires, abreuvoirs, incubateurs, cages, sols, murs, sont des sources de contamination (Van immerseel et al., 2005).

### **1.1.2 La litière:**

La qualité de la litière peut influencer sur la santé des animaux et servir comme moyen de contamination ou vecteur si le lieu de stockage est exposé aux déjections d'animaux tel que les rongeurs et les oiseaux (Leon et al., 2015)

### **1.1.3 L'alimentation :**

Certains aliments contenant les farines d'os, de viande ou de poisson, et d'oiseaux jouent un rôle important pour véhiculer les salmonelles ou même pendant le stockage (Leon et al., 2015). 2.5 Lieux d'élevages : Ils sont souvent implantés dans des lieux qui prédisposent à la contamination comme des usines d'aliments, des abattoirs, ou autres élevages (Lebrazi, 2011). 2.6 Transport : Conditions d'hygiène et de désinfection des moyens de transport ainsi que les caisses de livraisons (Elgroud, 2009)

### **1.1.4 Lieux d'élevages :**

Ils sont souvent implantés dans des lieux qui prédisposent à la contamination comme des usines d'aliments, des abattoirs, ou autres élevages (Lebrazi, 2011).

### **1.1.5 Transport :**

Conditions d'hygiène et de désinfection des moyens de transport ainsi que les caisses de livraisons (Elgroud, 2009).

### **1.1.6 La volaille elle-même :**

Les filières avicoles peuvent s'infecter par voie verticale et la voie horizontale. La transmission verticale ou trans-ovarienne et donc la contamination de l'œuf fécondé, lors du passage de la bactérie des parentales aux poussins. La voie horizontale de transmission est tout aussi importante surtout que plusieurs facteurs peuvent intervenir. Tout d'abord, la persistance de l'infection dans les bâtiments d'élevage et dans les couvoirs joue certainement un grand rôle (Gradel et Rattenborg, 2003). Les rongeurs peuvent être porteurs de l'infection et contaminer les bâtiments et les aliments (Garber et al., 2003). 2.8 Les nuisibles : Les rongeurs sont considérés comme un réel danger pour les élevages et les fermes et surtout ceux qui utilisent des stocks d'aliments et de ses dérivés, ils amplifient aussi le nombre des agents

pathogènes (Ayachi, 2010). 2.9 Traitement antibiotique : La mise en place d'un traitement antibiotique au démarrage qui peut ralentir la maturité de la flore digestive du poussin (Elgroud, 2009).

## **1.2 Les nuisibles :**

Les rongeurs sont considérés comme un réel danger pour les élevages et les fermes et surtout ceux qui utilisent des stocks d'aliments et de ses dérivés, ils amplifient aussi le nombre des agents pathogènes (Ayachi, 2010). 2.9 Traitement antibiotique : La mise en place d'un traitement antibiotique au démarrage qui peut ralentir la maturité de la flore digestive du poussin (Elgroud, 2009)

## **2 Transmission des salmonelles à l'homme :**

Les salmonelles sont à l'origine soit d'infections en apparence isolées, dites sporadiques, les plus nombreuses, soit de phénomènes épidémiques : cas groupés ou foyers appelés encore toxi-infections alimentaires collectives (Tauxe, 1997). La source principale de contamination par les salmonelles est l'animal malade ou porteur sain qui excrète les bactéries (couver, abattoir, élevage), donc la propagation se fait les excréments ou par les œufs infectés (bouzidi, 2013). Différents facteurs jouent sur la contamination humaine : la dose ingérée (Bollaerts, et al., 2008), susceptibilité de la personne (degré d'immunité) (Flint et al., 2005), mais également virulence et pathogénicité de la souche ingérée qui dépend notamment du sérotype (Jones, et al., 2008). *Salmonella* est un danger en constante évolution, doté d'une forte capacité adaptative. Dans les dernières années, deux phénomènes majeurs illustrent cela (Velge, et al., 2005).

En 2015 (OMS) près de 32000 morts par an en Afrique à cause des salmonelles non typhique d'origine alimentaire et transmises surtout par les volailles et les œufs contaminés.

## **3 Dynamique de la contamination humaine :**

Plusieurs facteurs sont responsables sur la contamination humaine : dose ingérée (Bollaerts, et al., 2008), susceptibilité de la personne (degré d'immunité) (Flint et al., 2005), aussi la virulence et pathogénicité de la souche ingérée qui dépend du sérotype (Foley and Lynne,

2008). Tous les aliments ne vont pas avoir le même pouvoir à véhiculer les salmonelles ; celle-ci varie selon leurs propriétés physico-chimiques, selon le processus de fabrication mais aussi selon le mode de consommation (D'Aoust, 1989).

#### **4 Enjeux socio-économiques :**

La salmonellose est une maladie à forte incidence, responsable d'une morbidité importante. Ainsi, son importance économique est-elle considérable notamment en termes de perte de productivité liée aux arrêts maladie. Ainsi, des études américaines intégrant à la fois les coûts médicaux et les pertes de productivité estiment le coût annuel lié aux infections à salmonelles non typhiques entre 500 millions et 3,5 milliards de dollars par an (Frenzen et al., 1999). En Australie, chaque année, 1,2 millions de visites chez un médecin, 300 000 prescriptions d'antibiotiques et 2,1 millions de jours de congé maladie sont associés aux TIAC, dont les salmonelloses, pour un coût annuel de 1,2 milliards de dollars (Kirk et al. 2008). En Europe, les coûts annuels liés aux salmonelloses d'origine alimentaire sont estimés entre 560 millions et 2,8 milliards d'euros. Ces estimations sont basées sur un coût par cas de 24 euros à 3,8 millions pour un décès (Anonymous, 2001).

#### **5 Enjeux commerciaux :**

Les critères de contamination microbiologique peuvent donner lieu à des restrictions concernant les importations. Ainsi, la Commission Européenne a mis en place une politique de lutte contre les agents zoonotiques, dont Salmonella, qui lui permettra d'exiger des pays tiers qu'ils fournissent des denrées présentant des garanties sanitaires équivalentes à celles exigées dans l'Union Européenne (Beloil, 2007). Des interventions de grande ampleur et dans plusieurs filières (poule pondeuse, poulet de chair et porc) ont été mises en place afin d'éradiquer le risque domestique de salmonelles (Wegener et al. 2003). Les enjeux commerciaux relatifs à la problématique salmonelles sont importants : image des filières, contraintes à l'export, coût des mesures préventives. En effet, les mesures à mettre en place tout au long de la chaîne alimentaire, de l'élevage à la distribution afin de limiter le risque Des salmonelles (dépistage, gestion des porteurs, mesures d'hygiène, autocontrôles...) ont un coût qui se répercute sur le prix de production (Wegener et al. 2003).

## **6 Antibiorésistance des salmonelles :**

La résistance antimicrobienne est l'un des problèmes majeurs de santé en médecine humaine et animale (Guillot, 1989). Elle est aussi reconnue par l'O.M.S., comme un problème émergent de santé publique, depuis, le phénomène est d'autant plus important qu'il concerne des germes pathogènes pouvant être transmis à l'homme (Madec, 2012). La résistance aux antimicrobiens peut être le résultat d'une résistance intrinsèque ou acquise. La résistance intrinsèque est une résistance naturellement présente chez tous les isolats et est habituellement chromosomique, alors que la résistance acquise est généralement obtenue par une mutation au niveau des gènes du chromosome ou par acquisition d'éléments génétiques mobiles comme les plasmides, transposons et intégrons (Moreno et al., 2009).

## **7 Lutte contre les salmonelles :**

### **7.1 Élevages**

Afin de réduire le niveau de contamination des élevages, C'est-à-dire le portage de *Salmonella* par les volailles. Cela peut reposer sur une démarche d'assainissement des élevages situés en amont des filières organisées, par l'abattage systématique et incinération des sujets contaminés afin de limiter toute contamination des autres élevages, et contrôler la contamination des aliments. Le nettoyage et la désinfection des bâtiments suivis du vide sanitaire entre bandes. (Denagamage et al., 2007).

### **7.2 Abattage**

A ce stade, installer le système HACCP qui permet de détecter et contrôler d'éventuelles contaminations en combinaison avec les bonnes pratiques d'hygiène (Edel, 1994). En ce qui concerne spécifiquement l'abattoir, agir au niveau de l'ordre d'abattage en traitant les animaux contaminés en dernier, peut permettre de limiter les contaminations croisées (Wegener et al., 2003).

### **7.3 Distribution**

Il est possible d'évoquer ici deux points importants : le respect de la chaîne du froid qui permet de limiter le développement de *Salmonella* en cas de contamination des aliments et la

mise en application des bonnes pratiques d'hygiène. Enfin, il convient de noter l'initiative danoise qui consiste à labelliser les produits issus d'élevages indemnes « Salmonella free » (Wegener et al., 2003).

#### **7.4 Consommation**

Les aliments jouent un rôle important comme véhicules des souches de Salmonella, notamment ceux qui proviennent des élevages avicoles donc il est essentiel d'éduquer les populations aux bonnes pratiques d'hygiène et de préparation des aliments (Kohl et Rietberg, 2002).

## **Objectif du travail**

L'objectif de ce travail consiste à étudier un germe pathogène Salmonella en tant que contaminant alimentaire, aboutissant chez l'homme la maladie salmonellose.

Le genre salmonella est responsable de trois pathologies ; les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, les gastro-entérites et les toxi-infections alimentaires collectives.

Cette étude se base sur la recherche de ce germe dans les aliments. Après son isolement sur des milieux sélectifs, cette souche sera par la suite identifiée par : la caractérisation biochimique par les tests classiques d'identification tel que la galerie Classique.

# MATERIEL ET METHODES

## 1 Introduction

La bibliographie souligne que le poulet de chair constitue un des sources les plus importantes de salmonellose humaine d'origine alimentaire. La présence de *Salmonella* a été en effet mise en évidence à tous les maillons de la filière aviaire, ce qui constitue un risque pour la sécurité alimentaire.

L'étude a été réalisée au niveau du Laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM), sur une durée de 15 jours. Conformément aux deux méthodes de référence normalisées (100 et 101) par : - AFNOR (Agence Française de Normalisation) par décision du Directeur Général d'AFNOR le 03 Octobre 2007 pour prendre effet le 03 novembre 2007. Remplace la norme homologuée NF U 47-101, de Février 2005.

### 1.1 Référence normative

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à la recherche de *Salmonella sp* :

NF U 47-100 - De Juillet 2007 *respectivement relatives a l'isolement et a l'identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales.*

NF U 47-101 DE Novembre 2007 *respectivement relatives a l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux.*

## 2 MATERIEL ET METHODE

### 2.1 Prélèvements

La réception reçoit les échantillons accompagnés d'une demande : c'est la fiche d'analyse bactériologique/sérologique et fiche d'autopsie en Annexe A et d'examen post-mortem qui contient les renseignements relatifs à la demande, le matériels utilisés dans le prélèvement est en Annexe B.

### 2.2 Prélèvement aviaire dans l'entreprise d'élevage

Le LVRM reçoit les prélèvements d'origine aviaire par le biais de l'inspection vétérinaire de la wilaya de Mostaganem, pour un diagnostic précis le service de pathologie du LVRM.

Les prélèvements ont été réalisés dans une entreprise d'élevage de poulet dans la wilaya de Mostaganem sur de 06 bâtiments (de 01 à 06) sur 60 sujets (10 poulets dans chaque bâtiment), puis sur le mur, la litière et la chaîne.

### **2.3 Prélèvements sérologiques**

Les prélèvements de sérum se font par un prélèvement biologique du sang dans un tube sec afin d'obtenir un sérum de bonne qualité débarrassée de ces cellules et des protéines de la coagulation. Par contre, il contient essentiellement les protéines qui sont des anticorps, albumines... etc., divers ions (sodium, chlorure..etc.) et les hormones.

### **2.4 Prélèvements d'organes après l'abattage dans LVRM**

LVRM exige recevoir les animaux vivants pour procéder à l'examen ante-mortem et à l'autopsie.

## **3 Examen post et ante mortem**

### **3.1 Examen ante mortem**

L'inspection ante mortem c'est de vérifier la santé des sujets prélevés par les inspecteurs vétérinaires de LVRM ; le poulet arrive vivant ça va permettre de voir l'état des sujets sains pour un simple contrôle (ou des sujets malades pour recherche de différentes pathologies qui doivent par contre être ramenés au laboratoire dans la phase symptomatique), comme celles qui sont accidentés ou représentent les signes cliniques d'une maladie infectieuse généralisée. Ainsi, le transport doit être dans des camions protégés, taux de chargements des cages (10 à 12 sujets/cage) et vérifier aussi que l'abattage est immédiat après la réception.

### **3.2 Autopsie et examen post-mortem**

L'autopsie s'effectue dans des conditions d'asepsie pour éviter toutes sortes de contaminations donc il est recommandé de mouiller le plumage à l'aide d'une solution désinfectante, afin de limiter la dispersion de poussière et de plumes contaminées.

Les prélèvements se sont effectués sur 10 sujets dans chaque des 06 bâtiments de l'entreprise d'élevage. Le poulet doit être placé sur le dos, les pattes dirigées vers l'opérateur (figure 03). Après déboitement des articulations coxo-fémorales, la peau de l'abdomen est incisée et rabattue. L'examen des muscles pectoraux superficiels permet de rechercher la présence d'une

diminution de la masse musculaire, d'une pâleur (anémie), d'hémorragies, de congestion ou de meurtrissures.



**Figure 3 examen post-mortem de sujets après l'abattage**

Les organes prélevés sont : la rate, le foie et l'os (figure2) à l'aide de l'utilisation d'un ciseau robuste (ciseau à volaille). Le choix de ces organes est lorsque la *Salmonella Sp* se transmet à l'animal, une fois infectée, la *Salmonella sp* prolifère dans les macrophages et se propage par voie sanguine jusqu'à la moelle osseuse, le foie et la rate (voir figure 4)



**Figure 4 prélèvements des organes : foie, rate et l'os**

L'acheminement des organes prélevés doit se faire dans un délai court pratiquement en fin d'autopsie pour éviter toute modification.

#### 4 Méthodes analytiques pour la recherche de Salmonellose aviaire

L'identification est réalisée au moyen de tests classiques utilisés en microbiologie pour le diagnostic des espèces bactériennes et cela selon la norme française NF U 47-100. Ces techniques ont également l'avantage de pouvoir réaliser un antibiogramme (permettant de savoir quel antibiotique sera efficace contre la bactérie).

##### 4.1 Test sérologique de Widal et Félix

Le diagnostic sérologique de Widal et Félix permet de diagnostiquer les **fièvres typhoïdes et paratyphoïdes** causées par la bactérie du genre salmonella. Il repose sur la détection dans le sang d'anticorps dirigés contre ces bactéries. Peu fiable et ne permettant qu'un diagnostic tardif (il ne peut être réalisé juste après l'infection car les anticorps recherchés mettent un certain temps à apparaître).

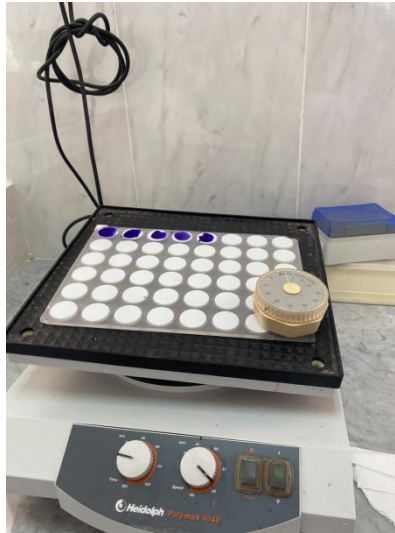
##### 4.1.1 Le diagnostic

Le diagnostic est alors réalisé par culture de la bactérie à partir de prélèvements sanguins, par le sérodiagnostic de Widal et Félix. Celui-ci permet de mettre en évidence les anticorps spécifiques de cette infection et d'identifier l'espèce en cause par agglutination, appareillage, verrerie et produits en Annexe C.

##### 4.1.2 Epreuve au Sp (antigène *Salmonella*):

Après l'arrivée des échantillons, elles seront centrifugées pendant 5 minutes à 2500 tours/min dans la centrifugeuse. Prélèvements de sang en tube sec, puis des aliquotes de sérum sont utilisés pour réaliser les sérologies prescrites.

Déposer sur une plaque côté à côté un volume de sérum aviaire de 60 sujets chacun dans un tube sec puis prélever 30 µl en utilisant une micropipette réglée à 30 µl et SP (antigène) 30 µl. ensuite, mélanger rapidement le sérum et l'antigène, et placer la plaque pendant 3 minutes dans l'agitateur basculant selon la figure 5 ensuite l'ajout du réactif MG pour permettre de voir les résultats d'agglutination.



**Figure 5 agitation**

Tous les résultats positifs : les sérums devront être confirmés par le test d'ELISA.

#### **4.2 Bactériologiques :**

Pour isoler les bactéries, l'analyse microbiologique classique des aliments nécessite donc plusieurs étapes successives ce qui entraîne un temps de réponse relativement important (Varnam et Evans, 1996 ; Waltman, 2000)

Dans l'échantillon, les salmonelles peuvent non seulement être présentés en petit nombre par rapport à une flore bactérienne nombreuse et variée, en particulier des entérobactéries, mais aussi se trouve dans un état physiologique précaire. Leur recherche nécessite donc quatre phases successives selon la norme NF U 47-100 (juillet 2007) de AFNOR :

Cette procédure comporte les étapes suivantes : préenrichissement, enrichissement, isolement et identification, ce plan est en Annexe E. Le matériel et produits utilisés en Annexe C.

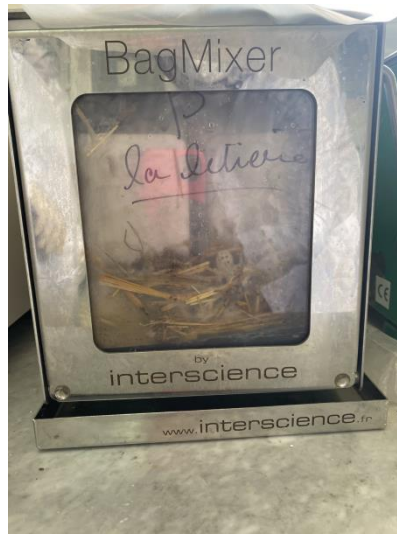
##### **4.2.1 Pré –enrichissement**

Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide : permet de multiplier et revivifier les salmonelles, mais aussi les autres types de bactéries éventuellement associés au prélèvement. Généralement l'échantillon est dilué au dixième dans l'eau peptonée tamponnée Annexe D.

##### **4.2.2 Prélèvement de surface :**

Le prélèvement a partir sur le mur on ajoute 10 ml de l'eau peptonée tamponnée dans les écouvillons, et homogénéiser avec l'agitateur.

À partir de la litière on procède à une dilution de 25 g dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée simple concentration dans le sachet stomacher, et homogénéiser avec l'appareil Stomacher figure 6.



**Figure 6 homogénéisation par l'appareil de Stomacher**

le prélèvement à partir des deux organes (foie et rate) on fait une dilution de 25 g de foie et rate (de 10 poulets dans chaque bâtiment) prélevé dans 225 ml de diluant. Le diluant est constitué par de l'eau peptonée tamponnée.

**La moelle osseuse (le tissu mou et spongieux qui se trouve à l'intérieur de l'os)** aspiration d'une quantité de cellules et de liquides de la moelle osseuse figure 7 et ainsi prélèvement d'une petite quantité de l'os et les mettre dans le sachet Stomacher.



**Figure 7 sachet de stomacher**

#### 4.2.2.1 Incubation

Comporte les pré-enrichissements homogénéisés et qui doivent être incubés à 37 °C pendant 18h.

Ensuite homogénéisation avec l'appareil Stomacher pendant 5 minutes et incubation pendant 24h à 37 °C.

#### 4.2.3 Enrichissement

Enrichissement en milieu sélectif liquide permet de multiplier sélectivement les Salmonelles. Cette phase d'enrichissement sélectif doit utiliser deux milieux d'enrichissement différents par la norme AFNOR : le milieu gélosé semi-solide de Rappaport-Vassiliadis (MSRV) Annexe D et bouillon SFB Annexe D selon la norme NF U47-100 (juillet 2007). Ce dernier milieu d'enrichissement est souvent le plus approprié pour Salmonella, étant donné son excellente sélectivité (Oboegbulem, 1993 ; Busse, 1995 ; Waltman, 2000) :

Transférer trois gouttes de chaque de subculture « préenrichissement de chaque prélèvement » (environ 1 ml) en utilisant une pipette Pasteur et ensemercer dans une boîte de milieu semi-solide de Rappaport-Vassiliadis.

Transférer trois gouttes de chaque de subculture « préenrichissement de chaque prélèvement » (environ 1 ml) par une pipette Pasteur dans un tube contenant 10 ml le bouillon de SFB (figure 8).



**Figure 8 : préenrichissement**

#### **4.2.3.1 Incubation des milieux d'enrichissement :**

Incubation du milieu Rappaport-Vassiliadis dans une étuve réglée à 41,5 °C pendant 24h, en absence de migration après 24h, prolongation d'incubation pendant encore 24h

Incubation du bouillon SFB dans une étuve de 41,5 pendant 24h.

#### **4.2.4 Isolement sélectif**

Le nombre aura été considérablement augmenté durant les phases précédentes.

Lorsque la migration sera observée dans le milieu Rappaport-Vassiliadis puisque ce milieu permet au personnel de laboratoire une distinction facile entre salmonelles et non-salmonelles.

Les milieux de cultures utilisés dans l'isolement selon la norme AFNOR juillet 2007 sont :

Deux géloses sélectives ; gélose Hektoen Annexe D, et la gélose XLD (xylose lysine désoxycholate) Annexe D ; ce milieu de culture utilise trois caractéristiques : la formation d'acide lors de l'utilisation des sucres contenus dans le milieu la décarboxylation de la lysine en cadavérisé et la production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium en présence de citrate ferrique ammoniacal.

##### **4.2.4.1 Isolement du Rappaport-Vassiliadis :**

Prélever avec une pipette Pasteur là où se trouve la zone de migration de manière à obtenir des colonies correctement isolées et ensemercer sur gélose XLD et sur Hektoen pour chaque tube d'enrichissement.

##### **4.2.4.2 Isolement du bouillon SFB :**

Prélever avec une pipette Pasteur là où se trouve la zone de migration de manière à obtenir des colonies correctement isolées et ensemercer sur gélose XLD (figure9) et sur Hektoen pour chaque tube d'enrichissement.

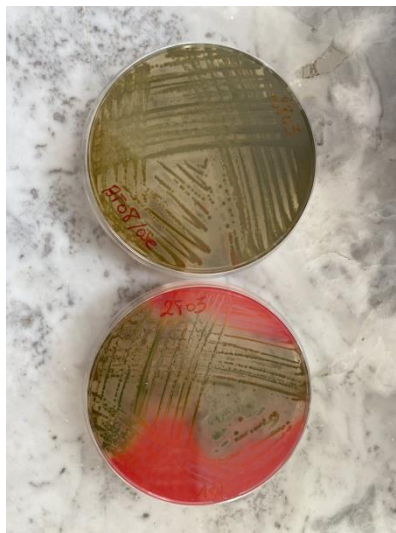


**Figure 9 : Méthode de prélèvement sur gélose XLD**

Si le premier isolement conduit à un résultat négatif vis-à-vis de *Salmonella*, procéder à un deuxième isolement des colonies suspectées, selon la norme AFNOR ; sur la gélose XLD.

#### **4.2.5 Purification de colonies isolées :**

La purification se fait sur les colonies suspectées figure 10



**Figure 10 Purification des colonies suspectées**

Ensemencement par épuisement sur gélose XLD et Hektoen, incubation 24h à 37 °C.

Si la purification n'était pas homogène (les colonies ne se ressemblent pas), il est recommandé de faire une deuxième purification voire troisième.

## 4.2.6 Identification

### 4.2.6.1 Choix de colonie pour l'identification

Sur gélose XLD, la confirmation, qui suit l'isolement, consiste en la sélection d'une ou plusieurs colonies caractéristiques en vue de leur purification. Elle est chargée sur une pointe et ensemencée en profondeur et en surface du milieu « Triple Sugar Iron » (TSI), gélose inclinée composée de citrate de fer, de lactose, saccharose et glucose (une alternative peut consister en l'utilisation d'une gélose dite de KliglerHajna). L'identité des colonies doit être confirmée en fonction de caractéristiques biochimiques.

## 4.3 Identification biochimique

Caractéristiques biochimiques communes aux salmonelles (Pilet et coll, 1997) dans le tableau 01.

Tableau01 : caractéristique biochimique des Salmonelles.

Salmonelles	Caractères biochimiques	Expression
Toutes	Uréase	-
	TDA	-
En majorité	UREE	-
	Gaz en presence de Glucose	+
	H <sub>2</sub> S	+ ou -
	L.D.C	+ sauf paratyphi A.
	O.N.P.G	- sauf arizona
	Citrate de Simmons	+
	Mannitol	+
	Mobilité	+ sauf gallinarumpullorum

L'identification par galerie biochimique se fait en ensemencement des colonies suspectes sur des milieux gélosés.

#### 4.4 Galerie Classique:

##### 4.4.1 Le milieu TSI (Triple sugar iron) :

Une colonie caractéristique du milieu d'isolation est prélevée, puis repiquée sur la gélose TSI. On ensemence la pente par une strie et le culot par une piqûre profonde à l'aide d'une anse stérile (figure 11). Puis incubé pendant 18 heures à 37 °C, les cultures typiques de salmonella dans ce milieu correspondent à une pente alcaline de coloration rouge (Lactose négatif), et un culot acide de coloration jaune (Glucose positif), avec formation des bulles d'air (Gaz positif), et avec 90 % des cas on a apparition de coloration noire du culot (H<sub>2</sub>S positif).



**Figure 11 Milieu TSI-H<sub>2</sub>S (originale)**

✓ Production de gaz :

Dans le processus fermentaire du glucose, la décarboxylation du pyruvate est à l'origine d'un dégagement de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dont la pression dans le tube décolle la gélose ; la souche est ainsi dite gaz (+). Par contre les bactéries gaz (-) ne produisent aucune trace de gaz.

✓ Production d'Hydrogène sulfuré H<sub>2</sub>S :

Elle est marquée par une coloration noire de la gélose issue de sa combinaison avec les ions ferriques. L'absence de production de H<sub>2</sub>S ne provoque pas de coloration noire du milieu

#### 4.4.2 Le milieu urée Indole :

Une souche pure prélevée sur gélose Hecktoen est ensemencée dans un tube contenant le milieu urée indole, Après incubation à 37 °C pendant 18 heures, une lecture est faite.

La couleur du milieu reste inchangée pour les souches suspectes, et sont dites uréase négative (non productrices d'uréase). Dans le cas contraire, il vire au rose. (figure 12)



**Figure 12 Milieu Urée Indole (originale)**

Pour la mise en évidence de la production d'indole, on a ajouté quelques goutte du réactif de Kovacs dans les tubes du milieu urée-indole. La dégradation du tryptophane est marquée par l'apparition d'un anneau jaune, pour les salmonelles. Dans le cas contraire, on a un anneau rouge.

Ensuite, on a ajouté quelques gouttes de TDA qui est un réactif de révélation pour étudier la réaction tryptophane désaminase.

#### 4.4.3 Citrate de Simmons :

Milieu en pente et culot à ensemencer sur la pente à l'aide d'une goutte de suspension bactérienne ou de stries à l'anse (figure 13). Incubation 18 heures pendant à 37 °C en dévissant le bouchon.



**Figure 13 Milieu Citrate de Simmons (original)**

#### 4.4.4 Les milieux LDC/ODC/ADH:

La lysine décarboxylase : LDC

L'ornithine décarboxylase : ODC

L'arginine dihydrolase : ADH Les décarboxylases bactériennes sont des enzymes qui catalysent les réactions de décarboxylation des acides aminés (figures14).



**Figure 14 Milieu LDC/ODC/ADH/Témoin**

## Matériel et méthode

Ensemencer les milieux LDC, ODC, ADH et un témoin avec une goutte de suspension bactérienne dense, recouvrir les tubes par l'huile de vaseline afin de placer les milieux en anaérobiose. Incuber 18 heures à 37 °C.

### 4.4.5 O.N.P.G:

Mettre 1 ml d'eau physiologique dans un tube stérile, puis déposer un disque ONPG, incubation pendant 18 heures à 37 °C. (figure15)



**Figure 15 Disques O.N.P.G (originale)**

## 4.5 Identification sérologique :

### 4.5.1 Sérotypage :

Un sérotypage est effectué systématiquement, dès que l'identification biochimique révèle le genre *Salmonella*, il consiste, grâce à des réactions d'agglutination active directe sur lame, à :

Identifier les antigènes O de ces bactéries afin de déterminer le groupe auquel elles appartiennent. Il nécessite :

Une culture pure de la souche de *Salmonella* sur gélose non sélective (la recherche des antigènes H nécessite une gélose coulée en pente (GNI) qui présentera une zone humide où les antigènes H sont bien exprimés : Des antisérums spécifiques obtenus par immunisation d'animaux :

- sérum anti-Vi
- sérums anti-O mélanges :

## Matériel et méthode

– OMA (anticorps des groupes O:2 (A), O:4 (B), O:9 (D), O:3 (E), O:21 (L)),

-OMB (anticorps des groupes O:8 (C), O:11 (F), O:13 (G), O:6,14 (H))

– OMC (anticorps des groupes O:16 (I), O:17 (J), O:18 (K), O:21 (L), O:28 (M), O:30 (N), O:35 (O), O:38 (P)) qui agglutinent plus de 95 % des sérotypes

- sérums anti-O mono, di ou trivalents ♣
- sérums anti-H polyvalents ou monovalents

### 4.6 Technique :

Déposer une goutte d'antisérum sur une plaque ou lame de verre parfaitement propre. Emulsionner, à la pipette ou à l'aide d'un agitateur jetable, un peu de culture bactérienne prélevée sur gélose non sélective de façon à obtenir un trouble homogène dans la goutte (pour l'identification des antigènes H, prélever l'eau de condensation présente à la base de la gélose inclinée), agiter la lame par mouvements lents et circulaires, observer l'apparition d'agglutinats : s'aider éventuellement d'un fond noir pour une meilleure visualisation des agglutinats.

#### 4.6.1 1ère 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.

#### 4.6.2 2ème étape :

Recherche de l'antigène d'enveloppe avec l'antisérum Vi

S'il n'y a pas d'agglutination, poursuivre le sérotypage.

S'il y a agglutination, on s'oriente vers les souches susceptibles de porter l'antigène Vi.

#### 4.6.3 3ème étape :

Détermination du groupe par identification des antigènes O majeurs

Tester d'abord les antisérums O mélanges : OMA et OMB. Si agglutination dans OMA (inutile de tester OMB (figure 16)



**Figure 16 Les antigènes O : OMA et OMB**

Si l'agglutination est franche) : confirmer que la 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, tester OMB : une agglutination avec OMB permet de conclure que la souche appartient à l'un des groupes O:8 (C), O:11 (F), O:13 (G), O:6,14 (H).

Tester ensuite les antisérums mono- ou divalents par ordre de fréquence des groupes. •

- Si agglutination dans OMA :

Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O:4 (B), donc tester l'antisérum O 4,5 ♣(seul antisérum commercialisé)

Puis rechercher, en l'absence d'agglutination, l'antigène majeur du groupe O:9 ♣ avec l'antisérum O9 Puis rechercher, en l'absence d'agglutination, l'antigène majeur du ♣groupe O : 3,10 avec l'antisérum O : 3, 10,15

Puis rechercher, en l'absence d'agglutination, l'antigène majeur du groupe ♣O:2 (A) avec l'antisérum O1, 2. o 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

#### **4.6.4 4ème étape :**

Détermination du sérotype par identification des antigènes H

Tester les antisérums H adaptés au groupe déterminé précédemment en testant la phase 1 puis la phase 2 (phase 1 la plus fréquente) :

- Sérums H mélanges testés en fonction des antigènes H possibles
- Puis sérums H monovalents en fonction des résultats des mélanges H et dans l'ordre de fréquence des sérovars.

Remarque : si les sérums à disposition ne permettent pas une identification complète et/ou si des difficultés d'identification subsistent, envoyer la souche au centre de référence des salmonelles à l'Institut Pasteur qui assure le suivi des salmonelloses.

### **5. Détermination de la sensibilité des Salmonelles aux antibiotiques**

#### **5.1. Antibiogramme par diffusion des disques :**

Milieu pour antibiogramme :

- Il doit être coulé en boîtes de petri sur une épaisseur de 4 mm
- Les géloses Mueller-Hinton doivent être séchées avant l'emploi

##### ❖ Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5MF ou à une densité optique de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm.

##### ❖ Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

## Matériel et méthode

- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
  - ❖ Application des disques d'antibiotiques :
    - Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm.
    - Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
      - ❖ Condition d'incubation :

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.

1.

# Résultats et discussion :

## 2 Prélèvement

L'étude s'est faite sur une période de 30 jours (mois de Mars) au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem. Au court de cette période le laboratoire a reçu 200 les échantillons (tableau 02, figure 17) pour analyse dont 60 sujets de poulets de chair venu d'un élevage ont été analysés.

Tableau 02 : échantillons reçus et analysés du LVRM du mois de Mars.

Poulets de chair	Nombre d'échantillons reçus au LVRM.	Nombre d'échantillons analysé	Pourcentage %
	200	60	30 %

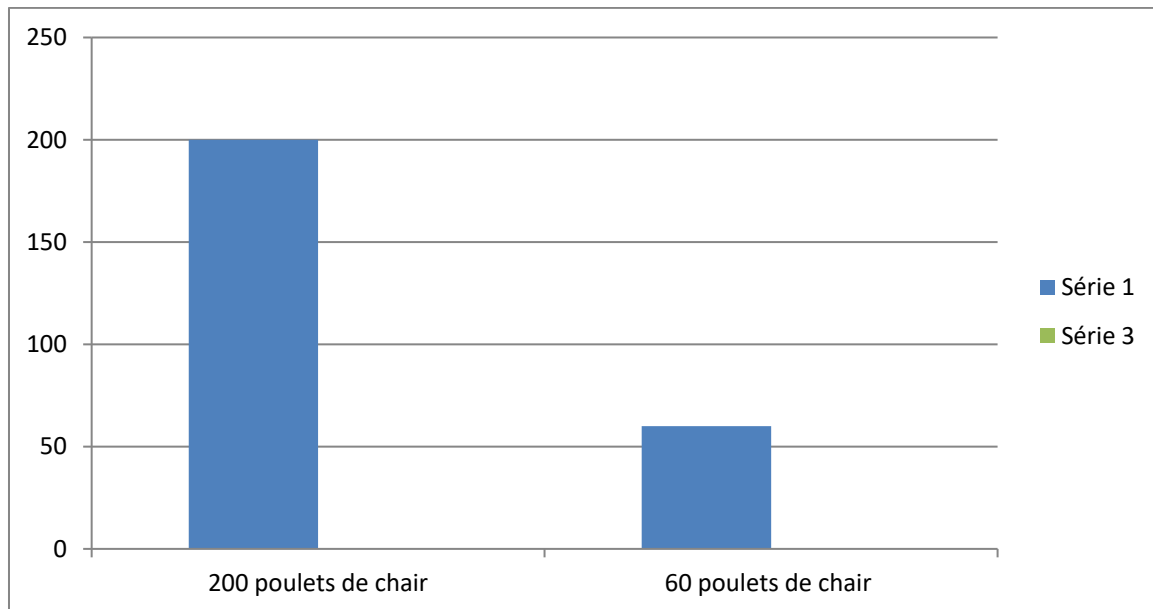


Figure 17 échantillons reçus et analysés du LVRM.

### **3 Transport et réception des animaux :**

Le transport des poulets vivants doit se faire dans des conditions favorables en dehors des états de stress ou de traumatisme, les cages doivent être bâchées en temps pluvieux ou aérées en période des chaleurs et il doit être effectué dans des véhicules fermés et équipés pendant toute la période du transport.

Selon notre enquête, le transport des volailles se fait par des camions dans des caisses en plastique très tôt le matin et pendant la journée le nombre de sujet est 10 par caisse, ce qui explique le pourcentage.

### **4 Appréciation de la conformité de l'abattage dans le LVRM**

En Algérie, l'ensemble des structures d'abattage doit être agréé comme l'exige la réglementation algérienne.

### **5 Fonctionnement**

Selon notre enquête, le fonctionnement de l'abattoir du LVRM répond aux normes Algériennes à savoir :

- Les conditions d'abattage sont pratiquement respectées sur tous les plans (signée, échaudage, plumaison...) avec un matériel adéquat chaîne d'abattage, c'est ce qui est rapporté par (Codex Alimentarius ; 2005).

- Concernant le principe de la marche en avant, l'abattoir du LVRM respecte ce principe ainsi que la séparation entre les secteurs sain et souillé.

### **6 Inspection sanitaire**

Dans notre étude, l'inspection sanitaire au niveau de l'abattoir du LVRM assurée par le vétérinaire de la subdivision.

- L'inspection sanitaire est assurée par un inspecteur vétérinaire (tonton rachid) conforme avec la réglementation.

Résultats de l'inspection ante mortem :

D'après notre étude, l'inspection sanitaire de chaque lot a été réalisée à l'arrivée des poulets, détaillés dans le tableau 03, aussi les fractures ouverte ou non ouverte (tableau 04) et enfin la vérification de l'appareil respiratoire et digestive du poulet dans le tableau 05, et cela juste avant l'abattage, mais l'inspection ne se fait pas pour les chaptels réceptionnées très tôt le matin. Cette réalité met le vétérinaire chargé du contrôle sanitaire au niveau de l'abattoir devant une situation critique, où il se base uniquement sur l'inspection post-mortem.

Tableau 03 : inspection *ante-mortem*

<b>Inspection <i>ante-mortem</i></b>	<b>Signes cliniques observés</b>	<b>Résultats</b>
<b>Comportement</b>	<b>Somnolence</b>	Aucun cas observé
	<b>Indolence</b>	21,66 % dont 13 sujets du bâtiment 4.  78,33 % cas normal.
	<b>Trouble nerveux : convulsion.</b>	Aucun cas observé
	<b>Trouble d'équilibre</b>	Aucun cas observé
	<b>Paralyse</b>	Aucun cas observé
	<b>Torticolis</b>	Aucun cas observé
	<b>Trouble de la démarche</b>	Aucun cas observé
<b>Aspect générale</b>	<b>Faiblesse généralisée</b>	21,66 % dont 13 sujets du bâtiment 4.  78,33 % cas normal.
	<b>Emaciation</b>	1,66 % (un seul cas).  98 % cas normal.
	<b>Mauvais état général (plume ébouriffés,...)</b>	Aucun cas observé
	<b>Œdème de la tête et du coup</b>	Aucun cas observé
	<b>Signes cutanés : congestion ou œdème de la crête et des barbillons.</b>	Aucun cas observé

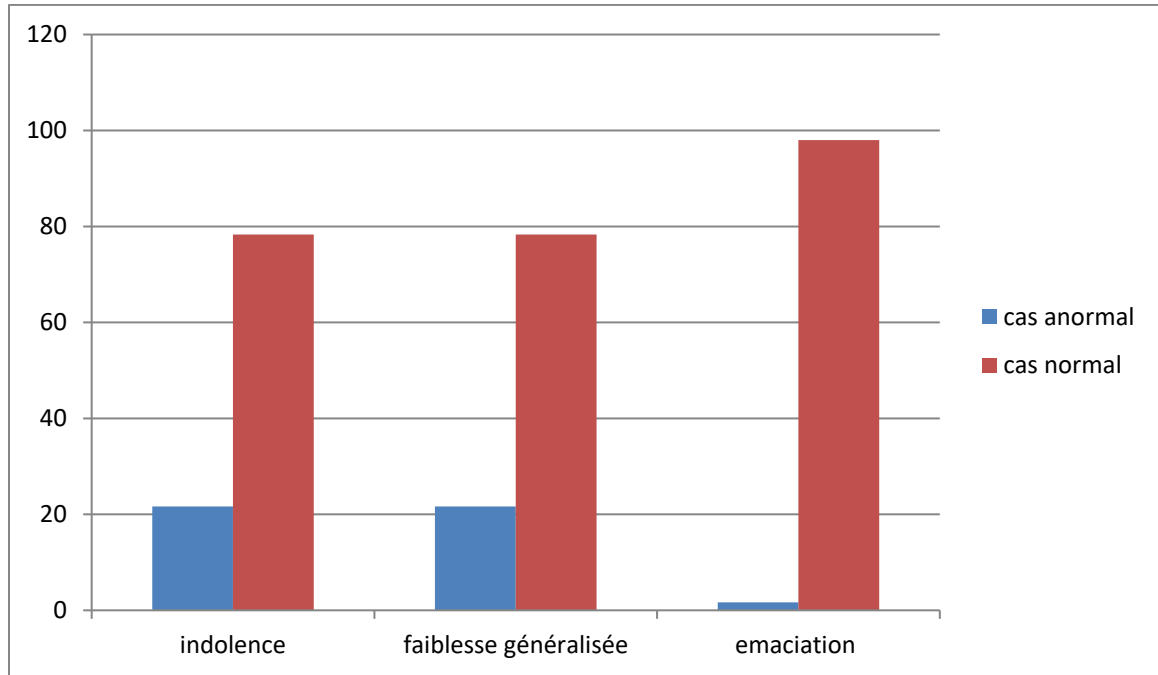


Figure 18 : inspection *ante-mortem*

Tableau 04 : fractures ouverte et non ouverte

Fracture	Signe clinique	Résultats
<b>Fracture non ouverte</b>	Rouge violacé sombre ou jaune-vert pouvant aller jusqu'au noir.	41,66 % d'anomalie de conformation possible) 25 sujets observés.
<b>Fracture ouverte</b>	Chair de couleur rouge assez sombre, associé à jaune	8,33 % d'anomalie de conformation 5 sujets

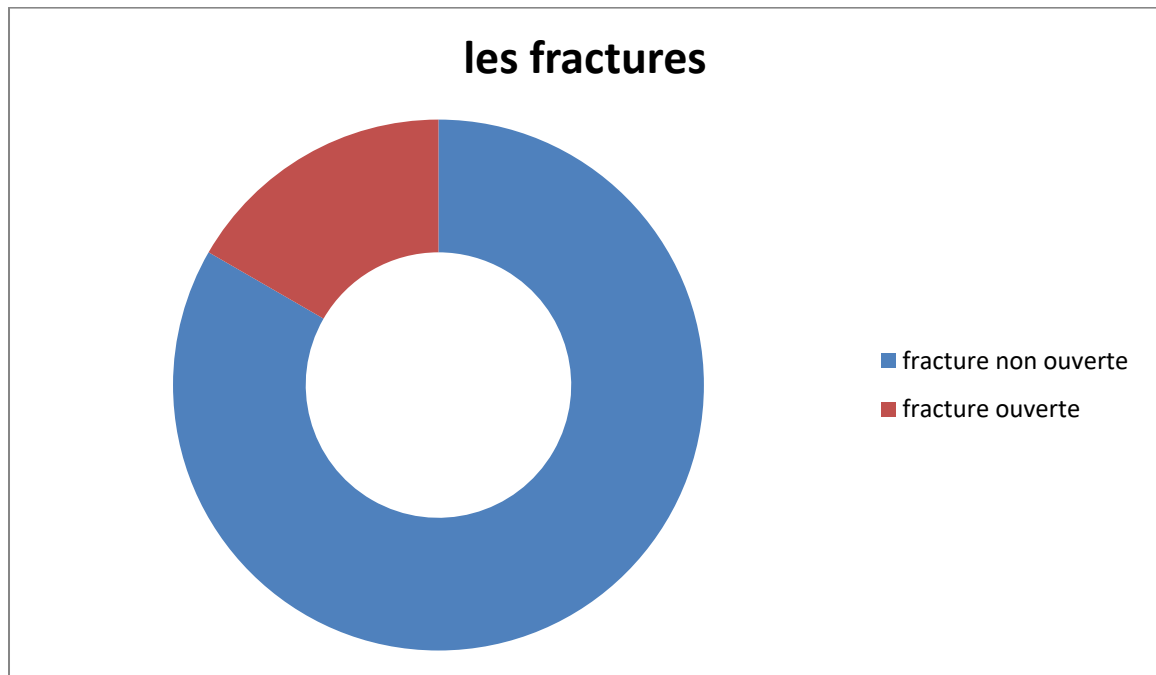


Figure 19 : fracture ouverte, fracture non ouverte

**Tableau 05 : appareil respiratoire/appareil digestive.**

<b>Inspection <i>ante-mortem</i></b>	<b>Signes cliniques observés</b>	<b>Résultats</b>
<b>Appareil respiratoire</b>	<b>Trouble respiratoire : toux, catarrhe colossal, dyspnée, râles.</b>	Aucun signe de trouble respiratoire observé.
<b>Appareil digestif</b>	<b>Diarrhée verdâtre</b>	Aucun signe observé.
	<b>Fientes éventuellement hémorragique blanchâtres</b>	

## 7 Résultat de l'inspection post-mortem

Inspection de la carcasse et de la masse musculaire dans le tableau 06 et figure 20, organes intérieurs (recherche des lésions dans : le Cœur, foie, rate...) dans le tableau 07

Tableau n° 6 : carcasse et masse musculaire.

	<b>Signes cliniques</b>	<b>Résultats</b>
<b>Carcasse</b>	<b>Carcasse</b>	16,66 % Maigre (10 sujets du bâtiment 4).  83,33 % normale (50 sujets du bâtiment 1, 2, 3, 4, 5, 6).
	<b>Couleur</b>	100 % Rosé à rouge clair uniforme.
	<b>Gras sous-cutané</b>	8.33 % absence de gras sous-cutané (5 sujets du bâtiment 4).  91,66 % présence (55 sujets du bâtiment 1, 2, 3, 4, 5, 6).
	<b>Masse musculaire</b>	8.33 % très peu diminué (5 sujets du bâtiment 4).  91,66 % normale (55 sujets du bâtiment 1, 2, 3, 4, 5, 6).
	<b>Les muscles apparaissent par transparence sous la peau</b>	Aucun cas observé.

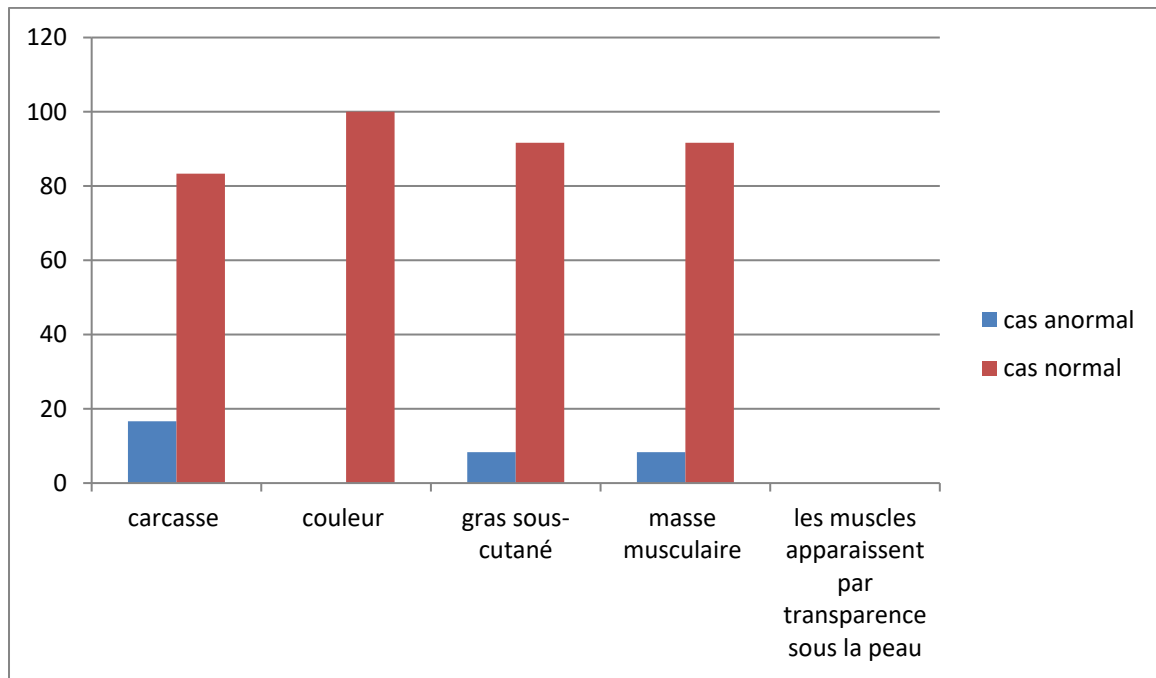


Figure 20 : carcasse et masse musculaire

Tableau n° 7 résultats examen ante-mortem des organes intérieurs

Etape de l'inspection	Principales lésions recherchées	Résultats
<b>Cœur</b>	<b>Cœur congestionné et déformé</b>	3,33 % cœur déformé dont 2 cas seulement on été observés.  96 % cas normal.
	<b>Lésions : de péricardite, cognitives ou hémorrague, d'endocardite sur le cœur.</b>	Aucun cas observé
<b>Foie</b>	<b>Congestion</b>	Aucun cas observé
	<b>Hypertrophie du foie avec dépôts fibrineux et lésions nécrotiques.</b>	Aucun cas observé.
<b>Rate</b>	<b>Congestion</b>	1,66 % cas de congestion observé (1 sujets).  98,33 % cas normal.

	<b>Hypertrophie de la rate avec depots fibrineux</b>	Aucun cas observé.
	<b>Masse</b>	18.33 % dont 11 cas. 81.66 % normal.
<b>Reins</b>	<b>Congestion et hypertrophie</b>	Aucun cas observé
	<b>Foyers hémorragique</b>	Aucun cas observé.
<b>Tractus gastro-intestinal</b>	<b>Lésions hémorragiques</b>	Aucun cas observé
	<b>Des ulcères</b>	Aucun cas observé

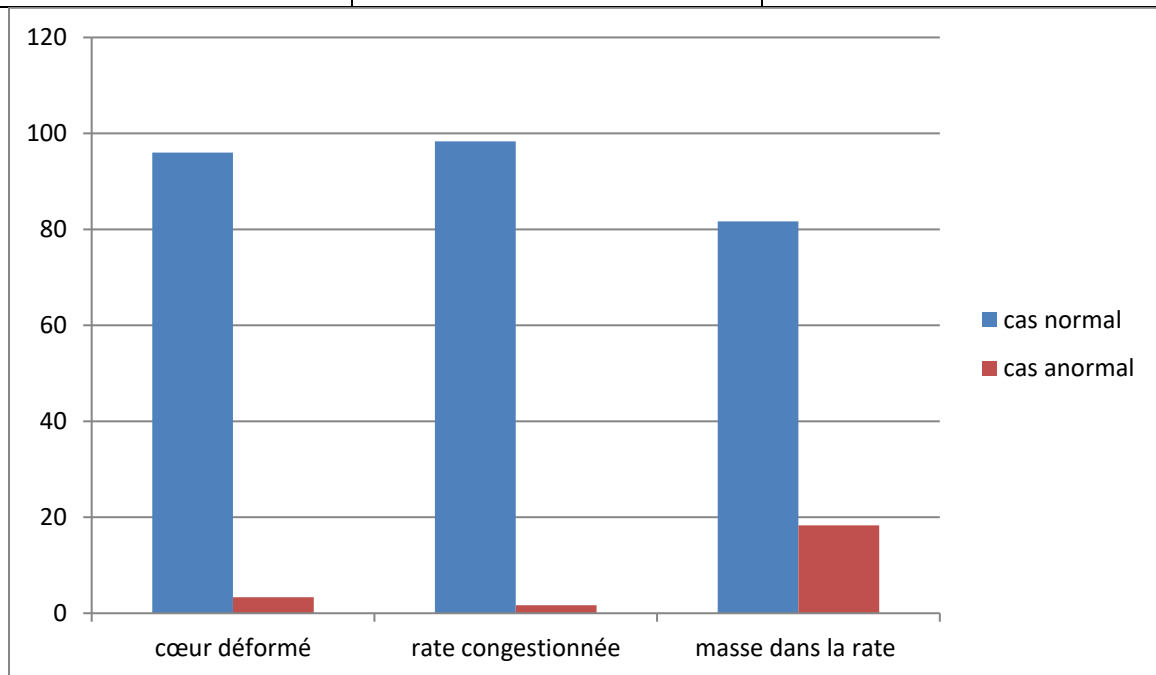


Figure 21 : résultats ante-mortem des organes intérieurs

## 7.1 Cœur

Cœur congestionné et déformé 3.3 % dont 2 cas ; c'est une cause d'une carence en oxygène, qui résulte en une augmentation marquée du nombre de globules rouges, lesquels rendent le sang plus visqueux, donc plus difficile à propulser jusqu'aux poumons, ce qui entraîne une hypertension pulmonaire.

## 7.2 Rates

Les rates présentant des défauts tels que masse, tumeur, abcès (un ou plusieurs) ne doivent pas être prélevées aux fins de consommation humaine.

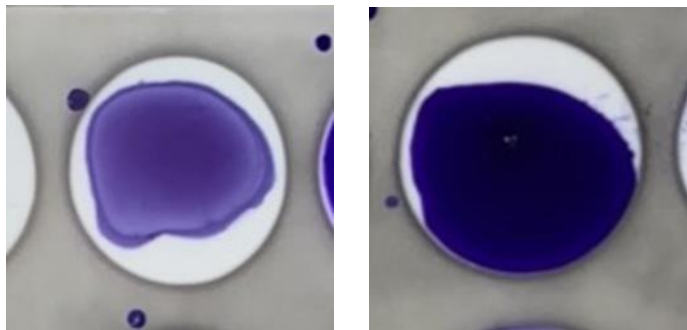
## 8 Test sérologique de Widal et Félix

Qui est une épreuve à l'antigène tamponné (ETA) C'est une méthode d'agglutination rapide sur une lame sensible et rapide au SP (antigène Salmonella). Elle permet le dépistage de pratiquement tous les cas de Salmonellose bien, qu'elle ne mette en évidence que les IgG.

En générale, la réaction antigène-anticorps est coloré, l'agglutination de l'antigène sera observer à l'œil nu indique la présence d'anticorps spécifique agglutinants.

Observation d'agglutination figure 13 dans 8 puits des sujets du bâtiment n° 4 lors de la réaction définit un résultat positif, ce qui signifie la présence d'un anticorps spécifique dans le sérum ; donc il y a la présence du Salmonella.

Pas d'agglutination dans la figure 22 donc absence d'anticorps spécifique



Tous les résultats positifs ont été confirmé par un test bactériologique

## 9 Bactériologie

Nous avons effectué des analyses bactériologiques au niveau du laboratoire régional de Tlemcen, plus exactement au niveau du service de bactériologie médicale. Les résultats obtenus ont confirmé la présence de souche salmonelles.

Sur un total de 200 échantillons poulet chair dont 6 bâtiments. Le nombre d'échantillons analysés 30 %. Les échantillons positifs est 1,66 % dont un seul cas testé positif la litière sur bouillon SFB. Les résultats sont présentés dans le tableau 08.

Tableau 08 : résultats du test sérologique des échantillons.

	<b>Bâtiment n° : 1, 2, 3, 5, 6</b>		<b>Bâtiment n° : 4</b>	
	<b>Milieux de culture Rappaport-vassiliadis</b>	<b>Bouillon SFB</b>	<b>Milieux de culture Rappaport-vassiliadis</b>	<b>Bouillon SFB</b>
<b>Mure</b>	-	-	-	-
<b>Chaine</b>	-	-	-	-
<b>Litière</b>	-	-	-	+
<b>Moelle osseuse</b>	-	-	-	-
<b>Foie</b>	-	-	-	-
<b>Rate</b>	-	-	-	-

## 10 Isolement :

Isolement présence se Salmonella sur milieu de culture XLD (ce milieu de culture utilise trois caractéristiques : la formation d'acide lors de l'utilisation des sucres contenus dans le milieu la décarboxylation de la lysine en cadavérisée et la production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium en présence de citrate ferrique ammoniacal).

### 10.1 Litière bâtiment n° 4 :

#### 10.1.1 Lecture :

colonies translucides sur fond rouge-orange avec ou sans centre noir :

Colonie rouge (pas ou peu d'acidification et LDC+ à centre noir H<sub>2</sub>S+ voire figure 22.



Figure 22 presence de Salmonella

### 10.2 Bâtiment 1, 2, 3, 5, 6 :

Résultats négatifs, dans ce cas, les colonies n'auront pas de centre noir constitué de citrate de fer et de thiosulfate de sodium sur des milieux d'isolement XLD ou sur le milieu de culture Hektoen.

### 11 Résultats de la galerie biochimique :

Par rapport à l'annexe (2), on a confirmé la présence de *Salmonella* dans les prélèvements

reçus (figure 23), les résultats sont présents dans le tableau 09 :

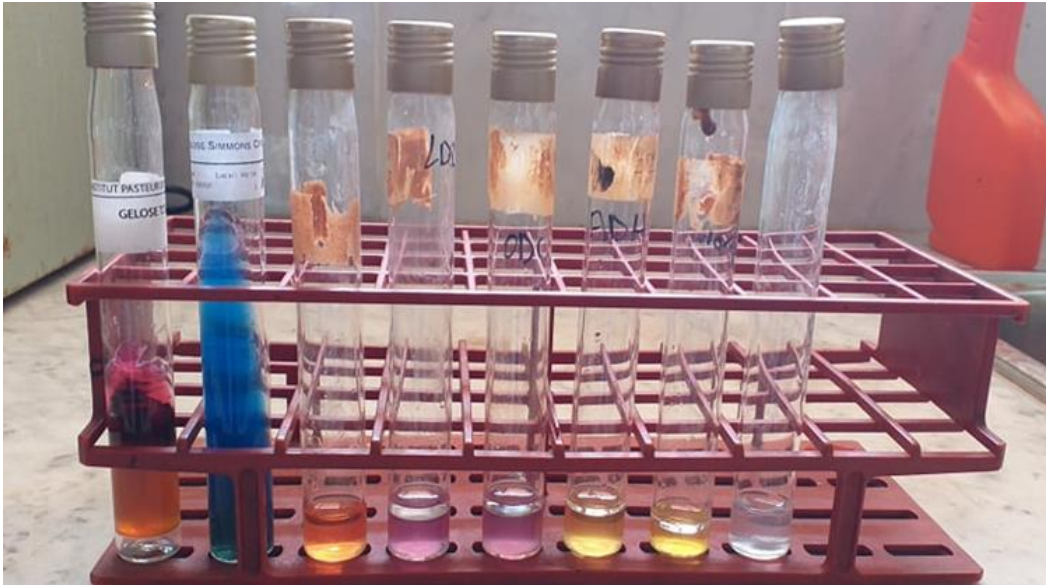


Figure 23 : la galerie classique

Tableau n° 09 : Résultats de la galerie classique :

Test	Caractères biochimiques	Observation	<i>SalmonelleSp</i>
<b>Milieu TSI</b>	Glucose	Le culot vire au jaune	+
	Saccharose	Le culot vire au jaune	+
	Lactose	La couleur reste inchangée	-
	H <sub>2</sub> S	un noircissement au milieu	+
	Gaz	Présence de quelques bulles	+
<b>O.N.P.G</b>	$\beta$ -galactosidase	Virage vers le jaune	-
<b>Urée Indole</b>	Uréase	Pas de virage de couleur	-
	Indole	Pas de virage de couleur	-
	TDA	Pas de virage de couleur	-

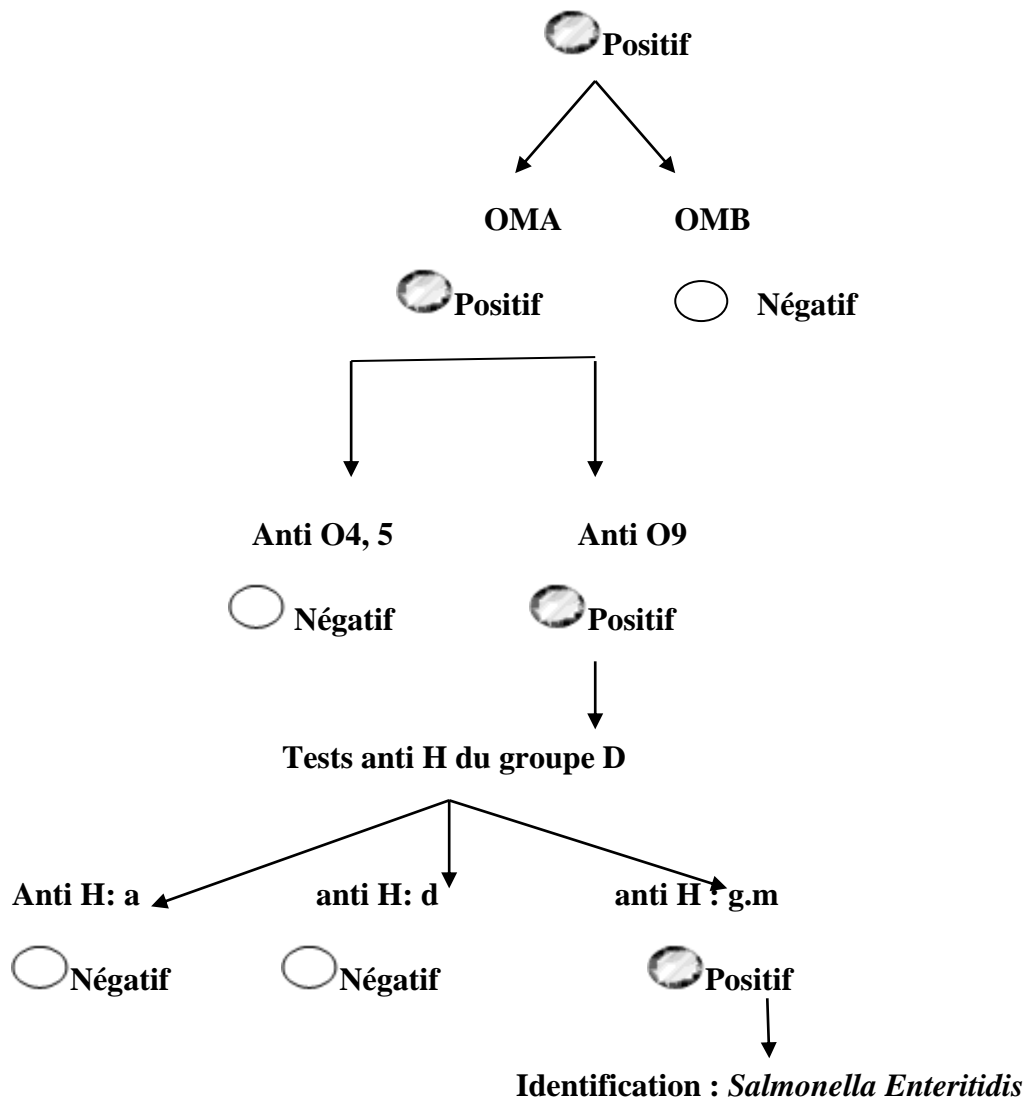
<b>LDC</b>	La lysine décarboxylase	Virage vers le violet	+
<b>ODC</b>	L'ornithine décarboxylase	Virage vers le violet	+
<b>ADH</b>	L'arginine dihydrolyase	Pas de virage de couleur	-
<b>Citrate de Simmons</b>	Citrate de Simmons	Virage vers le bleu	+

## 12 Sérotypage des souches de salmonelles :

Après avoir confirmé la présence de salmonella dans les prélèvements reçus, l'identification du sérotype de ses souches est une étape obligatoire qui nous permet d'identifier le sérovar présent (BIORAD) (Annexe 3).

Figure 24 Résultats du sérotypage :

### Test d'auto agglutination



### 13 Antibiogramme :

Nous avons effectué l'antibiogramme au niveau du LVRT, service de contrôle de l'antibiorésistance. Suivant la méthode de diffusion en milieu gélosé Muller-Hinton Agar (figure). Les disques d'antibiotiques utilisés (BIORAD) sont au nombre de 8, (voir annexe 5). Le résultat de l'antibiogramme nous permet de déterminer la résistance des souches de

salmonelles aux différents antibiotiques (figure 25) : antibiogramme de *Salmonella enteritidis* (originale)

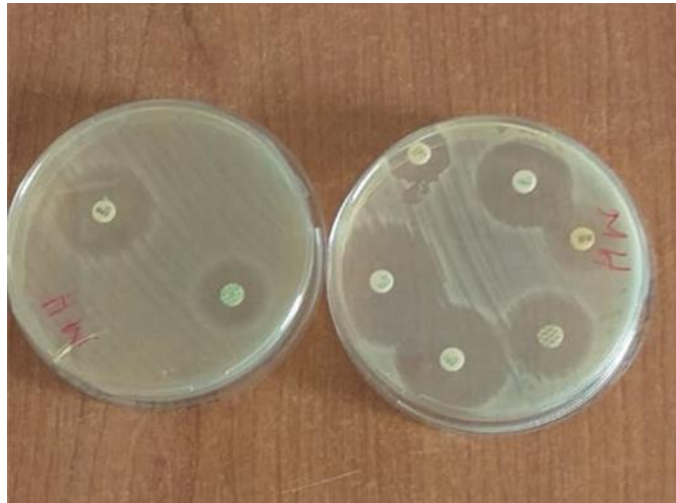


Figure 25 Antibiogramme de *Salmonella enteritidis*

Après avoir mesurer les diamètres des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne). Pour chaque souche microbienne, la sensibilité ou la résistance à un antibiotique est différente.

On remarque :

– une sensibilité de la souche *Salmonella enteritidis* pour les antibiotiques suivants :

Ampicilline (AMP), Amoxicilline+acide clavulanique (AMC), Streptomycine (STR)

– une résistance de la souche *Salmonella enteritidis* pour les antibiotiques :

Gentamycine (GMN), Tétracycline (TET), Colistine (COL), Céfotaxime (CTX)

Tableau 10 : Résultats de la résistance des souches de salmonelles isolées chez le poulet chair

Antibiotiques testés	Sérovars	
	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Salmonella spp</i>
Ampicilline (AMP)	S	S
Amoxicilline+acide clavulanique (AMC)	S	S
Gentamycine (GMN)	R	S
Tétracycline (TET)	R	S
Colistine (COL)	R	S
Chloramphénicol (CHL)	S	S
Céfotaxime (CTX)	R	S
Streptomycine (STR)	S	S

NB. S. Sensible R. Résistant I. Intermédiaire

### 13.1 Interprétation des résultats de l'antibiogramme :

La résistance constatée chez les souches de salmonelles confirme l'usage excessif et l'utilisation à tort et à travers des antibiotiques dans le terrain. On favorise l'antibiorésistance quand on administre mal les antibiotiques. De ce fait il faut bien suivre l'utilisation des antibiotiques en élevages, comme facteur de croissance, à titre préventif ou curatif, ce qui devrait permettre de promouvoir un recours raisonné de leurs utilisations, ainsi surveiller l'évolution de la résistance de façon coordonnée chez l'homme et l'animal

## Conclusion

L'étude menée sur les salmonelles aviaires isolées dans la wilaya de Mostaganem a atteint les objectifs assignés. Elle porte, à notre connaissance les premières données sur les contaminations de la filière poulet de chair par les salmonelles dans la wilaya de Mostaganem en Algérie, avec un taux peu élevé, ça ne représente pas un danger sur la communauté. Cette situation peut être due aux conditions d'élevage et d'abattage, mais aussi les pratiques de gestion et d'hygiène dans cet élevage.

On souhaite que des études d'envergure nationale puissent être effectuées pour déterminer la prévalence nationale et en fin entreprendre un plan de lutte à travers le réseau de surveillance nationale.

En général, les isolats de salmonelles étaient souvent résistants au moins à un antibiotique, mais essentiellement à la Gentamycine, Tétracycline, Colisine et Céfatoxine. Plusieurs profils de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence, suggérant des liens épidémiologiques à différents niveaux de la filière volaille et chez les consommateurs.

### Référence bibliographique

Anonymous, 2001. Rapport au parlement européen et au conseil sur les mesures à mettre en œuvre pour le contrôle et la prévention des zoonoses, Commission des communautés européennes : 78.

Avril J.L., Daberna H., Denis F., Monteil H. (2000). *Listeria*, Bactériologie clinique troisième édition., 140-150

Ayachi A., Alloui N., Kassah-laouar A., Bennoune.O. 2009. Détection de Salmonelles mineurs au niveau des couvoirs du secteur étatique et privé de la Wilaya de Batna. JRA : 413-417

Belabid, Z. 2014. 2014-2015. Contribution à l'étude de la contamination des ovoproduits par *Salmonella typhi* dans la région de Tlemcen. Master : En Alimentation et Nutrition. Faculté Des Sciences Département De Biologie. Tlemcen. Pp 1-3.

Beloel, P. A. 2007. Epidémiologie analytique de *Salmonella enterica* et *Listeria Monocytogènes* en production primaire porcine (élevages hors-sol de type naisseur engraisseur). Sciences biologiques et médicales. Bordeaux, Université de Bordeaux 2 : 355

Bollaerts, K., M. Aerts, et al. 2008. »Human salmonellosis: estimation of dose-illness from outbreak data." Risk Anal 28(2): 427-40.

Bornert, G., 2000, le poulet sans salmonelles : mythe ou réalité ? Revue Méd. Vét. 151 (12), 1083-1094.

Bouzidi, N. 2013. L'épidémiologie des infections des élevages de poules pondeuses des régions d'Annaba et El-Taraf par les Salmonelles : Sous-Typage Moléculaire et Mécanisme de Résistance aux Antibiotique des Souches Isolées. Th Doctorat : En Sciences Option : Microbiologie. Université Borj Badji Mokhtar. P. 41-97.

Brown JH, « Theobald Smith 1859-1934 », dans J Bacteriol, vol. 30, n° 1, 1935, p. 1-3 [texte intégral [archive] texte sur PMID [archive]].

BUSSE M. Media for salmonella. Int. J. Food Microbiol., 1995, 26, 117-131.

Christiane, J. ; Jean-noel, J (1999). *Microbiologie alimentaire*. 5° éd Bordeaux : Biologie Technique, 132-133.

Colin P., 1992. Salmonella et qualité des produits avicoles, 1992. In: Brugère-Picoux J., Silim A. Eds, Manuel de pathologie aviaire. Maisons-Alfort, France, Ecole nationale vétérinaire, p. 371-374.

Dumas, J., 1958, Tribu des Salmonella, In : Bactériologie Médicale. Flammarion et Cie, pp. 399-433.

Edel W., 1994. Salmonella Enteritidis eradication programme in poultry breeder flocks in The Netherlands. International Journal of Food Microbiology 21(1-2): 171-178

Elgroud, R. 2009. Contamination du poulet de chair par les Salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la Wilaya de Constantine : Caractérisation phénotypique et génotypique par ERICPCR, IS-PCR et PEGE. Th. Doctorat : En Sciences Vétérinaires Option : Biologie Animale. Université Mentouri Constantine. Pp 12-13.

Finlay B. B., Brumell, J. H. 2000. Salmonella interactions with host cells: in vitro to invivo. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 355: 623-631

Frenzen, P. D., T. L. Riggs, et al. 1999. "Salmonella Cost Estimate Updated Using FoodNet Data." FoodReview 22 (2) : 10-15.

FSIS, U., janvier 1988., Service d'inspection et de la sécurité des aliments du Département de l'Agriculture des Etats-Unis.

Gledel, J., Corbion, B. e. a., 1991, Le genre Salmonella dans le contrôle Microbiologique, 2ème édition Edition, 480 p.

GRADEL K.O., RATTENBORG E. A. 2003. questionnaire-based retrospective field study of persistence of Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium in Danish broiler houses. Prev. Vet. Med., 2003, 56, 267-284.

Grimont P.A.D., Grimont F. et Bouvet P.J.M., (2000). Salmonella .In: Freny J., Renaud F., Hansen W. et Bollet C. Précis de Bactériologie clinique. Paris : Editions ESKA. P.1 137-1156.

Grimont, P., Grimont, F., Bouvet, P., 2000, Taxonomy of the genus *Salmonella*., In: Wray C., W.A. (Ed.) *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing, Oxon, pp. 1-17.

Guillot J.F. 1989. Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. HAL. Article De synthese. (20) : 3-16.

Hanes, D., 2003, Nontyphoid *Salmonella*, Bier J. (Eds) *International Handbook of Foodborne Pathogens* Edition. MilotisN., New york, 137-149 pp.

Hu, L., Kopecko, D., 2003, typhoid salmonella., Bier J., *International Handbook of Foodborne pathogens*. Edition. Milotis N, New York, 151-165 pp.

Humbert, F., Sautra, L., Federighi, M., Jouve, J.-L., 1998, Les salmonelles, In : *Manuel de bactériologie alimentaire*

*Inter-états Des Sciences Et Médecine Vétérinaire (E.I.S.M.V)*. P. 25-30.

Jones, T. F., L. A. Ingram, et al. 2008. "Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype." *J Infect Dis* 198 (1) : 109-14.

Kirk, M. D., I. McKay, et al. 2008."Food safety: foodborne disease in Australia: theOzFoodNet experience." *Clin Infect Dis* 47 (3) : 392-400.

Kohl K. S., Rietberg K., 2002. Relationship between home food-handling practices and sporadic salmonellosis in adults in Louisiana, United States." *Epidemiology and Infection* 129(2): 267-276.

Lebrazi, S. 2011. Evaluation de la contamination de la filière avicole par *Salmonella* spp. Master. Des Sciences et Technique. Biotechnologie Microbienne. Pp 52 - 55- 78-80.

Leon, o., Hubbars, S., Mauguerand. 2015. Prévention sanitaire et vaccinale en filière aviaire. Article Le foieil. 22800 Quintin, *Bulletin Des Gtv* N° 79. P. 1-7.

Madec J. -Y. (2012). Antibiorésistance : le passage animal - Homme, mythe ou réalité, *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* no 53/Sécial Antibiotiques et Antibiorésistances. P. 50-53.

Moreno S., Andrea I., Yesim Soyer, Lorin D. Warnick, and Wiedmann M. 2009. Review: Foodborne Pathogens and Disease. Emergence, Distribution, and Molecular and Phenotypic Characteristics of *Salmonella enterica* Serotype 4,5,12:i-. V:6. P: 407-408.

OBOEGBULEM S. Comparison of two enrichment media and three selective media for isolation of salmonellae from fresh chicken carcass rinse fluids and sewer swabs. *Int. J. Food Microbiol.*, 1993, 18, 167-170.

Popoff M. Y. et Le Minor L., (2001). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 8th Edition, WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, p.22.

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

Rajashekra, G., Haverly, E., Halvorson, D., Ferris, K., Lauer, D., Nagaraja, K., 2000, Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT 104 in poultry. *J. Food Prot* 63 (2), 155-161.

Reeves, M.W., Evins, G.M., Heiba, A.A., Plikaytis, B.D., Farmer III, J.J., Nov.1989, Clonal nature of *Salmonella* Typhi and its genetic relatedness to other *Salmonella* as shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongori* comb. *J. Clin. Microbiol.* 27, 313-320.

Robinson R. K., Batt C. A., Patel P. D.(2000). *Encyclopedia of Food Microbiology*.

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

Shelobolina, E.S., Sullivan, S.A., O'Neill, K.R., Nevin, K.P., Lovley, D.R., Nov 2004, Isolation, characterization, and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. . *App*

Tauxe, R. V. 1997."Emerging Foodborne Diseases: An Evolving Public Health Challenge." *Emerging Infectious Diseases* 3(4): 425-434.

tétracycline et au sulfaméthoxazole : Th .Doctorat. Université Cheikh Anta Diop De Dakar Ecole

- Toko, M. A. 2010. Evaluation du niveau de résistance de salmonella Spp d'origine aviaire a la
- Van Immerseel, F., De Buck, J., Boyen, F., Pasmans, F., Bertrand, S., Collard, J.M., Saegerman, C., Hooyberghs, J., Haesebrouck, F., Ducatelle, R. 2005. Salmonella dans la viande de volaille et dans les œufs : Un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace : Article Originaux-Article De Synthèse. Ann. Med. Vet. 149, 34-48
- VARNAM A., EVANS M. Chapter 4 – Salmonella. In: Varnam A., Evans, M. (Eds.) Foodborne pathogens – an illustrated text 2nd ed. Manson Publishing: London, 1996, 51-86.
- Velge, P., A. Cloeckert, et al. 2005. "Emergence of Salmonella epidemics: The problems related to Salmonella enterica serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes." Veterinary Research 36(3): 267-288.
- WALTMAN W. Methods for the cultural isolation of Salmonella. In: Wray C., Wray A. (Eds.), Salmonella in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 2000, 355-372.
- Wegener, H. C., T. Hald, et al. 2003. «Salmonella control programs in Denmark.» Emerging Infectious Diseases 9(7): 774-780.
- Wray C, et al., (2000). Salmonella in domestic animals. Edition CABI publishing. Wallingford and Oxon, UK. p.463.
- Wray C, et al., 2000. Salmonella in domestic animals. Edition CABI publishing. Wallingford and Oxon, UK. p.463.



LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE RÉGIONAL DE MOSTAGANEM  
F.011-F FICHE D'AUTOPSIE ET D'EXAMEN POST-MORTEM version 01 du 14.01.19 P 1/1

RENSEIGNEMENTS GÉNÉRAUX ET LA DEMANDE			
N°Dossier	Date de réception	Heure de réception	
Echantillon	<input type="checkbox"/> Sujets vivants <input type="checkbox"/> Poussins <input type="checkbox"/> Autre	Nombre	
Espèce	<input type="checkbox"/> Bovin <input type="checkbox"/> Ovin <input type="checkbox"/> Caprin <input type="checkbox"/> Ovin <input type="checkbox"/> Canin <input type="checkbox"/> Aviaire	N°Bâtiment	
Pays	Type d'élevage <input type="checkbox"/> PC <input type="checkbox"/> PP <input type="checkbox"/> Repro <input type="checkbox"/> Dinde <input type="checkbox"/> Autre		
Wilaya	<input type="checkbox"/> Mostaganem <input type="checkbox"/> Mascara <input type="checkbox"/> Relizane <input type="checkbox"/> Tيارت <input type="checkbox"/> Cher <input type="checkbox"/> Tissemsilt <input type="checkbox"/> Autre		
Contrôle	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> à l'importation <input type="checkbox"/> à l'exportation <input type="checkbox"/> contre expertise <input type="checkbox"/> Sous-traitance		
Analyses demandées	<input type="checkbox"/> Bactériologie <input type="checkbox"/> Virologie <input type="checkbox"/> histologie <input type="checkbox"/> Parasitologie <input type="checkbox"/> Mycologie		
Maladie suspectée	<input type="checkbox"/> Salmonellose <input type="checkbox"/> Giardiose <input type="checkbox"/> Mycoplasmoses <input type="checkbox"/> Newcastle <input type="checkbox"/> Marek <input type="checkbox"/> Gumboro <input type="checkbox"/> Variole aviaire <input type="checkbox"/> Autre		
EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE			
Autopsie	le / / à _h_ par		
Examen post-mortem	le / / à _h_ par		
RESULTATS			
Localisation	Lésions macroscopiques observées		
Appareil digestif			
Appareil respiratoire			
Appareil circulatoire			
Système nerveux			
Appareil urinaire			
Appareil génital			
Organes hématopoïétiques			
Appareil locomoteur			
Autre			
Saisie et interprétation des résultats le / / à _h_ par			

## Fiche d'analyse bactériologique (service sérologie bactérienne).

LABORATOIRE VÉTÉRINAIRE RÉGIONAL DE MOSTAGANEM  
F.011-B FICHE D'ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE version 03 du 29/05/2019 P 1/2

DEMANDE ET ECHANTILLON					
N°Dossier	Date de réception	Heure de réception			
Echantillon	<input type="checkbox"/> Sang <input type="checkbox"/> Sujets <input type="checkbox"/> Poussins <input type="checkbox"/> Autre	Nombre			
Espèce	<input type="checkbox"/> Bovine <input type="checkbox"/> Ovine <input type="checkbox"/> Caprine <input type="checkbox"/> Ovine <input type="checkbox"/> Canine <input type="checkbox"/> Aviaire	N°Bâtiment			
Pays	Type d'élevage <input type="checkbox"/> Repro <input type="checkbox"/> Dinde <input type="checkbox"/> Chair <input type="checkbox"/> Ponte <input type="checkbox"/> PD <input type="checkbox"/> Autre				
Wilaya	<input type="checkbox"/> Mostaganem <input type="checkbox"/> Mascara <input type="checkbox"/> Relizane <input type="checkbox"/> Tيارت <input type="checkbox"/> Cher <input type="checkbox"/> Tissemsilt <input type="checkbox"/> Oran <input type="checkbox"/> Autre				
Contrôle	<input type="checkbox"/> Local <input type="checkbox"/> à l'importation <input type="checkbox"/> à l'exportation <input type="checkbox"/> Contre expertise <input type="checkbox"/> Sous-traitance				
Analyses demandées	<input type="checkbox"/> Bactériologie <input type="checkbox"/> Virologie <input type="checkbox"/> Histologie <input type="checkbox"/> Parasitologie <input type="checkbox"/> Mycologie				
Maladie suspectée	<input type="checkbox"/> Brucellose <input type="checkbox"/> Salmonellose <input type="checkbox"/> Mycoplasmoses <input type="checkbox"/> Autre				
EPREUVE À L'ANTIGÈNE TAMPONNÉE (EAT)					
Dépôt de l'antigène et des sérums à tester	le / / à _h_ par				
Mélange + incubation à bascule 4'	le / / à _h_ par				
Lecture	le / / à _h_ par				
TEST IMMUNE-ENZYMATIQUE INDIRECT (ELISA-i)					
Dépôt des sérums et incubation	le / / à _h_ par				
1er lavage	le / / à _h_ par				
Dépôt du conjugué et incubation	le / / à _h_ par				
2 <sup>ème</sup> lavage	le / / à _h_ par				
Dépôt de la solution de révélation et incubation	le / / à _h_ par				
Dépôt de la solution d'arrêt	le / / à _h_ par				
Lecture des microplaques plaque	le / / à _h_ par				
Validation et interprétation du test	le / / à _h_ par				
AGGLUTINATION RAPIDE SUR LAME (ARL)					
ARL SP	Dépôt de l'antigène et des sérums à tester + mélange	le / / à _h_ par			
	Lecture	le / / à _h_ par			
ARL MG	Dépôt de l'antigène et des sérums à tester + mélange	le / / à _h_ par			
	Lecture	le / / à _h_ par			
ARL MS	Dépôt de l'antigène et des sérums à tester + mélange	le / / à _h_ par			
	Lecture	le / / à _h_ par			
ARL MM	Dépôt de l'antigène et des sérums à tester + mélange	le / / à _h_ par			
	Lecture	le / / à _h_ par			
RESULTATS					
	Technique	Sérum analysé	Sérum non analysé	Sérum positif	Sérum négatif
Brucellose	EAT				
Brucellose	Elisa-i				
Salmonellose	ARL SP				
Mycoplasmoses	ARL MG				
Mycoplasmoses	ARL MS				
Mycoplasmoses	ARL MM				
Traitement des résultats le / / à _h_ par					

## **Annexe B**

### **Matériels utilisés pour le prélèvement**

**Le matériel nécessaire pour l'abattage** : gans, ciseau robuste, boîte Pétri, désinfectant, camion protégé.

**Le matériel nécessaire aux prélèvements dans l'entreprise d'élevage** : Sachets de Stomacher stériles préalablement numérotés et identifiés, les gans, écouillons stériles, pinces.

## **Annexe C**

**Appareillage, verrerie et produits en sérologie bactérienne** Pipette automatique réglable, minuteur, embouts de pipette à usage unique, une plaque, agitateur, centrifugeuse. Produits : SP (antigène spécifique pour la détection de Salmonella sp dans le sérum).

**Appareillage, verrerie et produits du service bactériologie** Le matériel est constitué essentiellement par le matériel conventionnel d'un service de bactériologie alimentaire, essentiellement : Etuves, vortex, agitateur chauffant, réfrigérateur, stomacher et sachets de stomacher standard, bec bunsen et divers consommables.

Milieux de culture : Eau peptonée tamponnée (TSE), gélose Hektoen, additif Hektoen, gélose SFB double concentration, disque de SDB, milieu de culture XLD.

Pour la confirmation biochimique : Galeries classique.

## Annexe D

### Eau peptonée tamponnée (EPT)

Composants	g/l
Chlorure de sodium	5,0 g
Phosphate disodique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	3,5 g
Phosphate monopotassique (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,5 g
Eau distillée	1000,0 ml
Peptone	10,0 g

#### Préparation :

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant. Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 25 °C. Stériliser pendant 15 minutes dans un autoclave réglé à 121 °C.

#### La gélose XLD :

##### Composition du milieu

Composant de la gélose XLD	g/l
Extrait de levure	3.0 g
Chlorure de sodium NaCl	5.0 g
Xylose	3.75 g
Lactose	7.5 g
Saccharose	7.5 g
Hydrochlorure de sodium	6.8 g
Citrate ferrique ammoniacal	0.8 g
Rouge de phénol	0.08 g
Désoxycholate de sodium	1.0 g

Agar-agar	18 g
Eau	1000 ml

### Préparation

Dissoudre les composants déshydratés dans l'eau en portant à ébullition.

### Milieu semi-solide de Rappaport-Vassiladis

Composants	g/l
Eau	1 000 ml
Peptone	4,5 g
Phosphate monopotassique	1,44 g
Chlorure de magnésium, 6H <sub>2</sub> O	13,58 g
Chlorure de sodium	7,2 g
Vert de malachite	0,036 g

Préparation :

Dissoudre les composants dans l'eau en portant à ébullition.

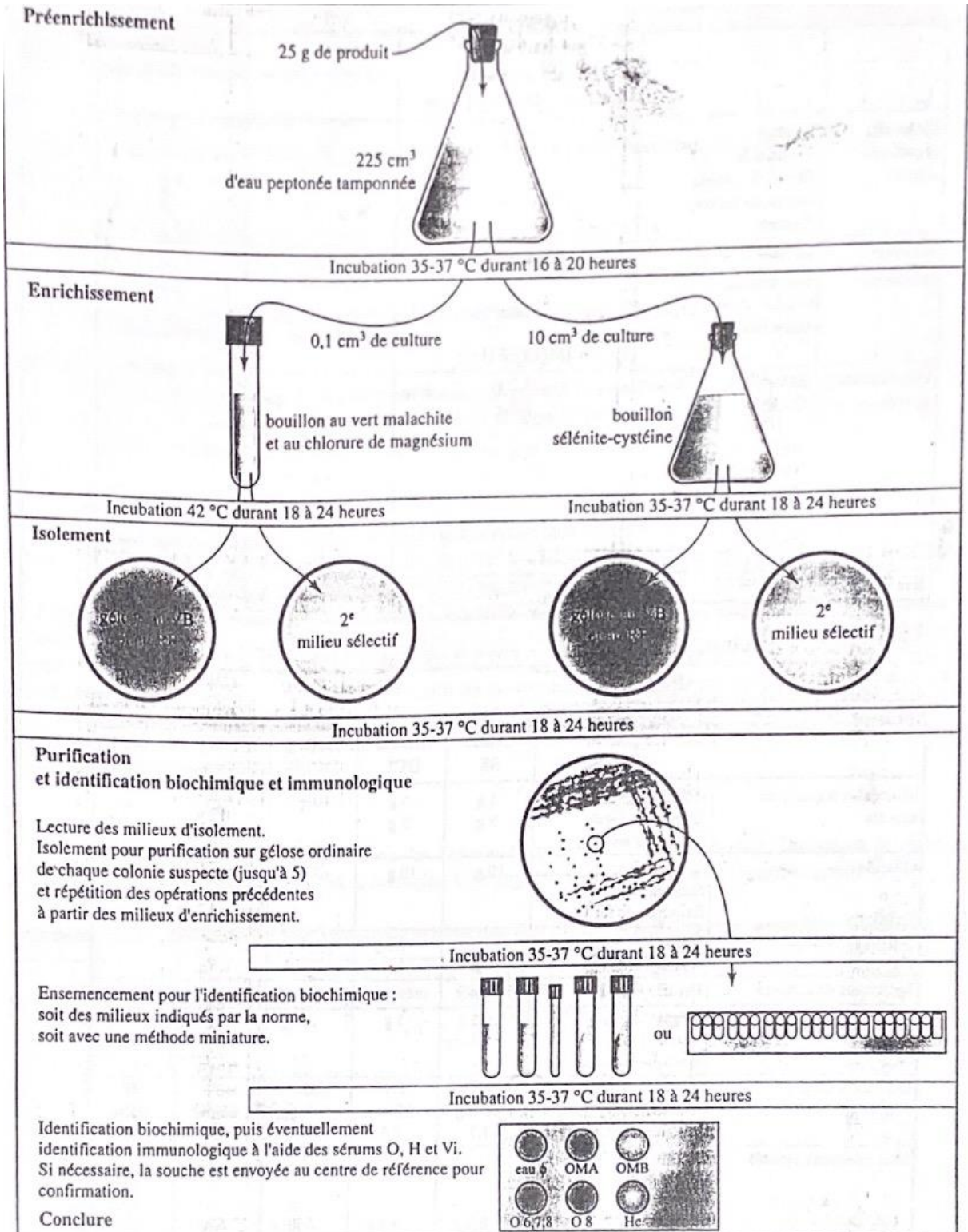
### Gélose Hektoen

Composants	g/l
Peptone pepsique de viande	12 g
Extrait autolytique de levure	3 g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Salicine	2 g
Sels biliaires	9g
NaCl	5g

Thiosulfate de sodium	5 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5g
Bleu de bromothymol	65 mg
Fuchsine acide	40 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g
Eau	1 000 ml

## Annexe E

Le plan d'étude selon la norme AFNOR



(Christiane et al., 1999).

## Annexe F

Caractères	% de +
Formation d'acide à partir du glucose en TSI .....	100
Formation de gaz en TSI .....	91,9
Lactose TSI .....	0,8
Saccharose TSI .....	0,5
Sulfure d'hydrogène TSI .....	91,6
Uréase (Christensen) .....	0
Lysine décarboxylase .....	94,6
$\beta$ -galactosidase .....	1,5
VP .....	0
Indole .....	1,1
TDA (PDA) .....	0
Malonate .....	0 - 20
Gélatinase .....	0
Mannitol .....	98
Mobilité .....	96
Culture en KCN .....	0

Remarque  
*Salmonella Arizonae* est ONPG+ à 98 % et parfois lactose+.  
Le caractère gélatinase est parfois donné positif pour les *Salmonella* mais reste à 0 % en API-20 E.

(Christiane et al., 1999).

## ANNEXE 5

Table de lecture : valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour  
Entérobactéries (en médecine vétérinaire)

Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)			Commentaires
		R	I	S	
Ampicilline (AMP)	10 µg	≤13	14-16	≥17	La réponse pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline + acide clavulanique* (AMC)	20/10 µg	≤13	14-17	≥18	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX ou TIO, une image de synergie indique la présence d'une BLSE, après confirmation, la souche BLSE + doit être rendue résistante à toutes les beta lactamases (sans tenir compte des valeurs critiques).

Cefalotine (CEF)	30 µg		15-17	≥18	La réponse à la cefalotine est valable pour toutes les céphalosporines de génération I.
Céftiofur bovins (XNL)	30 µg		18-20	≥21	
Néomycine/kanamycine (NEO)	30 µg	≤13	14-17	≥18	La réponse pour la néomycine est valable pour la kanamycine
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole (SXT)	1.25/23.75 µg	≤10	11-15	≥16	La valeur ≤2/38 peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire
Tétracycline (TET)	30 µg	≤14	15-18	≥19	Le test de sensibilité à la TET est valable pour tester la sensibilité aux Doxycycline et Chlorotétracycline, et Oxytétracycline. les organismes sensibles à la TET sont aussi considérés comme sensible à la doxy, mais autres organismes classés comme intermédiaire ou résistants à la TET peuvent être sensibles à la doxy ou à la minocycline ou aux deux.

Acide nalidixique/ Fluméquine (NAL)	30 µg	≤13	14-18	≥19	La réponse pour l'acide nalidixique est valable pour la flumequine
Colistine (COL)	10 µg	≤10	-	≥11	
Nitrofurantoïne** (FTN)	300 µg	≤14	15-16	≥17	
Chloramphénicol** (CHL)	30 µg	≤12	13-17	≥18	

Remarque :

\*Antibiotique testé seulement pour la recherche des betas lactamases.

\*\* Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiosurveillance. (INSTITUT PASTEUR, 2011).

