

Sommaire

AVANT –PROPOS :	i
DEDICACES.....	ii
TIAC : Toxi-infections Alimentaires Collectives	viii
TE : Tetracycline.....	viii
UFC : unité formant une colonie	viii
Introduction.....	1
1ère partie : Revue bibliographique	3
Chapitre 1 : Revue bibliographiques sur <i>Salmonella</i> et les salmonelloses	4
I. LES SALMONELLES:	4
1. Taxonomie et nomenclature	4
2. Bactériologie de salmonelles.....	4
2.1. Caractères cultureux et morphologiques	4
2.2. Caractéristiques biochimiques	5
2.3. Mise en culture.....	6
3. Propriétés antigéniques	6
4. Epidémiologie des salmonelles	7
4.1. Réservoirs et spécificités d'hôtes	7
4.1. Modes de contamination	7
5. Méthodes de caractérisation phénotypiques et génotypiques des souches bactériennes.....	8
5.1. Marqueurs phénotypiques.....	8
5.2. Marqueurs génotypiques.....	9
II. Salmonelloses.....	10
1. Généralités	10
2. Sérotypes en cause.....	11
3. Déterminants génétiques de la virulence	11
3.1. Facteurs de virulence	11
3.2. Îlots de pathogénicité.....	12
3.3. Plasmide de virulence.....	12
III. Toxi-Infection Alimentaire Collectives à Salmonelles	12
1. Impact et importance des infections provoquées par <i>Salmonella</i>	14
Chapitre 2 : RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES.....	14
I. Antibiotiques	14
II.1. Types de résistance bactérienne	16

II.1.1. Résistance naturelle	16
II.1.2. Résistance acquise.....	16
II.2. Supports génétiques de la résistance.....	17
II.2.1. Chromosome	17
II.2.2. Plasmides.....	18
II.2.3. Transposons.....	18
II.2.4. Intégrons.....	18
II.3. Modes de transfert de la résistance bactérienne aux antibiotiques	18
II.3.1. Transfert vertical	18
II.3.2. Transfert horizontal.....	18
II.4. Différents mécanismes de la résistance bactérienne.....	19
II.4.1. Modification de la cible	19
II.4.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	20
II.4.3. Diminution de la pénétration ou augmentation de l'excrétion d'un antibiotique	22
II.5. L'émergence et la diffusion des résistances bactériennes.....	22
➤ Surveillance de la salmonellose et de l'antibiorésistance	23
I. Mesure de l'antibiorésistance et antibiogrammes	24
1. Les méthodes d'Antibiogramme :	24
1.1. Méthode par dilution	25
1.2. Méthode par diffusion.....	25
2. Cause de réalisation de l'antibiogramme.....	26
<i>2ème PARTIE : Matériel et Méthodes.....</i>	<i>27</i>
A. Matériel biologique.....	28
➤ Origine des souches.....	28
B. Méthodes utilisées	28
1. Revivification des souches de salmonelles.....	28
2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques	29
3. Tests de détection des souches BLSE (β -lactamases à spectre étendue).....	31
4. Les antibiotiques utilisés	32
5. Contrôle qualité interne de l'antibiogramme	32
<i>3ème PARTIE : Résultats et Discussion.....</i>	<i>34</i>
Résultats	35
1. Résultats de l'antibiorésistance des souches de salmonelles d'origine alimentaire isolées entre l'année 2006-2014.....	35

2. Les résultats d'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des produits alimentaires incriminés dans les TIAC entre l'année 2006 et 2014	38
3. Résultat de l'antibiogramme des souches de salmonelles isolées à partir des eaux reçues au MHA entre l'année 2006-2014.....	41
4. Résultat de l'antibiorésistance des souches de salmonelles isolées au cours des études réalisés au sein du laboratoire (MHA) entre l'année 2006-2014.....	43
4.1. L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des produits de mers	43
4.2. L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des viandes rouges et charcuteries.....	44
4.3. L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des volailles	46
I. Discussion.....	50
Conclusion.....	56
Recommandations et perspectives	57
Références bibliographiques	58
Annexes	67

Introduction

Les salmonelles sont des entérobactéries responsables des toxi-infections alimentaires les plus courantes dans le monde. Ces dernières années, les problèmes causés par les salmonelles se sont accrus avec une augmentation, de l'incidence des salmonelloses humaines, de la gravité des cas humains et l'apparition et la diffusion de souches multirésistantes (OMS, 2012).

Les salmonelles possèdent une grande variété d'hôtes et résistent bien dans l'environnement. Il existe à ce jour 2610 sérotypes connus de salmonelles (CNR *Salmonella*, 2009) et chaque année de nouveaux sérotypes sont décrits. La complexité du genre *Salmonella* et son importance croissante en santé publique en font un sujet de recherche intéressant.

La découverte des antibiotiques a permis de faire reculer considérablement la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du 20^{ème} siècle. Les fluoroquinolones, telle que la ciprofloxacine et les céphalosporines à spectre étendu sont considérés comme le traitement de choix dans les cas sévères de salmonelloses humaines. Cependant, leur utilisation massive, répétée et abusive avec d'autres agents antimicrobiens dans les denrées alimentaires destinés aux animaux (White, 1998) a conduit à l'apparition de bactéries résistantes à ces médicaments.

Cette résistance aux antibiotiques représente un danger pour la santé humaine et un réel problème de santé publique, dès lors que cette résistance est de plus en plus régulière et en augmentation (Varma et al, 2005).

En effet, ces infections dues à ces bactéries résistantes ont été associées à une augmentation du taux de morbidité et mortalité chez l'homme (Helms et al, 2002 ; Molbak, 2005). Il faut savoir, que certaines souches de *Salmonella* multi résistantes d'origine animale sont soupçonnées d'avoir acquis leurs gènes de résistance avant d'être transmises à l'homme par la voie alimentaire (Ungemach et al, 2006).

L'émergence de souches de salmonelles multi résistantes et notamment de souches résistantes aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération, est un fait lourd de conséquences qui limite gravement les possibilités de traiter efficacement les infections humaines.

L'évolution des souches résistantes aux antibiotiques d'usage courant est un problème de santé vétérinaire et de santé publique très préoccupant.

Dans sa mission de veille sanitaire et de surveillance et d'alerte, L'INH signale tout phénomène inhabituel, apparition de cas groupés, catégories d'aliments contaminés, de nouvelles souches circulantes, nouveaux modes de contamination, nouveaux serovars circulants et résistants. C'est dans ce cadre que notre travail s'intéresse pour suivre les tendances et la résistance des salmonelles reçues au laboratoire des pathogènes MHA(microbiologie et hygiène alimentaire) , avec comme objectif générale l'étude de l'antibiorésistance des salmonelles d'origine alimentaire et environnemental reçus à l'Institut National d'Hygiène entre l' année 2006 et 2014 , et comme objectifs spécifiques :

- Classer les différents profils de résistance par type de serovar.
- Suivre les tendances et la résistance spatio-temporelle des serovars de salmonelle.
- Donner le pourcentage des souches résistantes et des phénotypes ayant un intérêt à l'égard de la santé publique
- Créer et mettre à jour des bases de données à l'INH pour surveiller les nouveaux serovars de *Salmonella* résistants.

1ère partie : Revue bibliographique

Chapitre 1 : Revue bibliographiques sur *Salmonella* et les salmonelloses

I. LES SALMONELLES:

1. Taxonomie et nomenclature

Les salmonelles sont des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* et du genre *Salmonella*, nom qui honore le médecin vétérinaire Daniel Elmer Salmon. Les membres de cette famille sont des bacilles gram négatifs, anaérobies facultatifs et le plus souvent mobiles. Ils possèdent des antigènes de surface (O, H, Vi et F) à partir desquels sont déterminés les sérotypes.

Des techniques d'hybridation ADN-ADN ont permis de distinguer 3 espèces parmi le genre *Salmonella* (Popoff et al, 2004): *S. bongori* (anciennement sous-espèce V), *S. enterica* et *S. subterranea* (Shelobolina et al, 2004).

L'espèce *S. enterica* possède 5 sous espèces (Tindall et al, 2005) : *enterica* (sous-espèce I), *salamae* (sous-espèce II), *arizonae* (sous espèce IIIa), *diarizonae* (sous-espèce IIIb), *houtenae* (sous-espèce IV) et *indica* (sous-espèce VI) (Tindall et al, 2005 ; Brenner et al., 2000).

Actuellement, on compte 2610 sérotypes de *Salmonella* : *Enteritidis*, *Typhi*, *Paratyphi*, *Hadar*, *Dublin*, *Infantis*, *Gallinarum*, *Senftenberg*, etc... (Guibourdenche et al, 2010). Ils sont déterminés d'après leur structure antigénique O et H et classés selon la classification de Kauffmann-White mise à jour annuellement.

Environ 1500 sérotypes appartiennent à la sous-espèce I qui est la plus représentée et regroupe à elle seule plus de la moitié des sérotypes du genre *Salmonella* (Achtman et al, 2012). Les sérotypes de la sous-espèce I sont les seuls à avoir un nom. En général il fait référence à la localisation géographique où le sérotype a été isolé pour la première fois. Les sérotypes des autres sous-espèces sont nommés par leur formule antigénique (Brenner et al, 2000).

2. Bactériologie de salmonelles

2.1. Caractères culturels et morphologiques

Les salmonelles sont des bacilles Gram négatif, aéro-anaérobies facultatives, intracellulaires, de dimensions moyennes (0.8 mm de large sur 3.5 mm de long), généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche. Après 24 heures d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire. Elles sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides.

2.2. Caractéristiques biochimiques

L'ensemble des sous-espèces de salmonelles possèdent des caractéristiques biochimiques communes. La majorité produit des gaz en fermentant le glucose. Elles ne possèdent pas d'uréase, ce qui les différencie du genre *Proteus*. Elles ne produisent pas d'indole et elles possèdent une lysine décarboxylase. Certains caractères diffèrent d'une sous-espèce à l'autre et sont utiles pour les différencier (Tableau 1).

Tableau 1: Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous-espèces de *Salmonella* (d'après Grimont et Weill, 2007)

Espèce	<i>Salmonella enterica</i>					<i>Salmonella bongori</i>	
Sous-espèce	<i>enterica</i> (I)	<i>salamae</i> (II)	<i>arizonae</i> (IIIa)	<i>diarizonae</i> (IIIb)	<i>houtenae</i> (IV)	<i>indica</i> (VI)	(V)
Caractéristiques							
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Gélatinase	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Culture sur KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+)-tartrate	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
Gamma-glutanyltransférase	+	+	-	+	+	+	+
Béta-glucuronidase	d	d	-	+	-	d	-
Mucate	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicine	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	- (75%)	+	-	d	-
Lyse par le phage O1	+	+	-	+	-	+	d

Légende :

+ : 90 % ou plus de résultats positifs

- : 90 % ou plus de résultats négatifs

d : résultats différents suivant les sérovars de la sous-espèce considérée.

* : *typhimurium d*, *dublin* —.

La détermination des caractéristiques biochimiques par des tests après mise en culture des bactéries permet d'identifier le genre bactérien. Pour les salmonelles, on peut à l'aide de tests biochimiques aller jusqu'à l'identification de la sous-espèce. Il existe des galeries prêtes à l'emploi permettant de réaliser rapidement de nombreux tests biochimiques et d'arriver à différencier ainsi certaines sous-espèces de *Salmonella*.

Toutefois, les critères biochimiques ne permettent pas d'identification plus précise et aujourd'hui c'est à l'aide des caractères antigéniques que sont différenciés plus de 2610 sérovars dont 1400 appartiennent à la sous-espèce *Salmonella enterica* (Leader et al, 2009).

2.3. Mise en culture

Les salmonelles poussent sur de nombreux milieux de culture : Xylose-Lysine-Désoxycholate (XLD), chromagar, Hektoen, (CNR *Salmonella*, 2009). Les salmonelles peuvent être isolées en utilisant des techniques variées qui incluent un pré-enrichissement pour revivifier les salmonelles, des milieux d'enrichissement contenant des substances inhibitrices pour éliminer la flore compétitive, et des géloses pour l'isolement sélectif afin de différencier les salmonelles des autres entérobactéries (Ammar, et *al*, 2009). Elles sont couramment recherchées dans les aliments dans le cadre des enquêtes épidémiologiques autour des TIAC et des contrôles de qualités des filières alimentaires.

3. Propriétés antigéniques

Le sérotypage est la méthode de référence pour le typage des salmonelles. Elle utilise pour cela les propriétés antigéniques des bactéries : à l'aide d'antisérums polyclonaux de lapin, les antigènes O, H et Vi sont identifiés.

❖ Antigènes somatique O

L'antigène de paroi O dit somatique est présent dans la paroi des salmonelles au niveau du LPS. Il participe au pouvoir pathogène de la bactérie. Encore notée AgO, c'est une endotoxine thermostable responsable de la plus ou moins grande gravité des symptômes.

- Les antigènes majeurs qui permettent de classer les sérotypes en groupe O
- les antigènes O accessoires qui sont toujours liés à un antigène majeur.

❖ Antigènes flagellaires H

Ils sont notés Ag H, thermolabiles et ne sont présents que sur les formes mobiles. Les antigènes flagellaires, comme leur nom l'indique, sont portés par les flagelles des bactéries. Ces structures permettant la mobilité de la bactérie. Ces polymères de flagelline permettent l'agglutination rapide et l'immobilisation des bactéries avec de 46 à 114 formes antigéniques (Grimont et Weill, 2007).

❖ Antigènes d'enveloppe Vi

Le seul antigène capsulaire connu chez *Salmonella* est l'antigène Vi. Ses formules simplifiées trouvées dans le tableau de Kauffmann-White (Popoff et Le Minor, 1997). L'antigène Vi, d'intérêt diagnostique, masque l'antigène O, rendant les bactéries « O-inagglutinables ». Par chauffage de la suspension bactérienne à 100°C pendant 10 min, l'antigène Vi est solubilisé et l'antigène O devient accessible aux agglutinines.

❖ Ag K

Ag capsulaire ou Ag de surface est généralement constitué d'une couche externe de polysaccharides (Liverlli et *al*, 2007).

❖ Schéma de Kauffmann-White

Le schéma de Kauffmann-White regroupe les formules antigéniques des différents sérovars. Dans l'ordre des colonnes, sont reportés le nom de la sous-espèce, puis le numéro des antigènes O, ensuite les antigènes H et enfin s'il existe l'antigène Vi (Grimont et Weill, 2007).

4. Epidémiologie des salmonelles

4.1. Réservoirs et spécificités d'hôtes

D'un point de vue épidémiologique, les sérovars de *Salmonella* peuvent être classés selon l'espèce animale cible et le degré de pathogénéicité de ces sérovars (Kingsley et Bäumler, 2000 ; Korsak, 2004), en deux catégories écologiques. Un premier groupe de sérotypes particulièrement pathogènes pour l'homme (responsables de la fièvre typhoïde et paratyphoïde) n'est exclusivement isolé que chez l'homme (Bäumler et *al*, 1996 ; Hu et Kopecko, 2003) et un deuxième est constitué par toute une série de sérotypes qui sont spécifiques aux espèces animales. Enfin, la majorité des salmonelles sont ubiquistes. Leur ubiquité se traduit par un large spectre de réservoirs : humains (Todd et *al*, 2008), animaux, et mammifères (Dechet et *al*, 2006 ; Swanson et *al*, 2007), reptiles (Woodward et *al*, 1997 ; De Jong et *al*, 2005), crustacés (Butt et *al*, 2004). Elles franchissent la barrière d'espèce et peuvent se transmettre de l'animal à l'homme et réciproquement.

4.1. Modes de contamination

La plupart du temps, les salmonelloses non-typhiques ont pour origine une contamination par les aliments. Il s'agit d'une des principales zoonoses bactériennes d'origine alimentaire. Les viandes, les charcuteries, les volailles, les oeufs, les produits à base d'oeufs, les produits laitiers, les poissons et les fruits de mer sont souvent en cause (InVS, 2003 ; ANSES, 2011).

Mais la contamination peut aussi avoir pour origine des produits alimentaires d'origine non animale, de l'eau contaminée ou le contact avec des personnes ou des animaux infectés. La production de masse de produits alimentaires et leur distribution à grande échelle favorise la dissémination des salmonelles et l'apparition d'épidémies de grandes ampleur comme celle qui a eu lieu aux États-Unis en 2010 (Sánchez-vargas et *al*, 2011).

5. Méthodes de caractérisation phénotypiques et génotypiques des souches bactériennes

Les bactéries pathogènes d'origine alimentaire sont une des causes majeures de morbidité et de mortalité dans le monde (Bouzidi, 2013). Leur impact significatif tant sur la santé humaine, que sur l'aspect économique, a nécessité la mise en place et le développement des outils pour leur typage. Ceci s'est défini par l'apparition de marqueurs épidémiologiques permettant ainsi le repérage et le suivi des souches bactériennes au cours du temps, mais aussi de relier les foyers d'infections après consommation d'aliments contaminés avec les sources de contamination (Bouzidi, 2013).

5.1. Marqueurs phénotypiques

Les méthodes phénotypiques étudient les propriétés exprimées par les bactéries (Weill, 2008 ; Foley *et al*, 2009).

5.1.1. Sérotype

Le sérotypage est la méthode de référence de typage des salmonelles. Il dépend de réactions d'agglutination avec des antisérums spécifiques pour le lipopolysaccharide O et l'antigène flagellaire H. La classification des salmonelles en sérotypes est basée sur la combinaison de deux antigènes de surface (Achtman *et al*, 2012). Pour pouvoir réaliser complètement le sérotypage sur l'ensemble des souches de *Salmonella*, environ 200 antisérums sont nécessaires. La structure antigénique des salmonelles sert à identifier le sérotype en utilisant le schéma de White-Kauffmann-Le Minor. Ce schéma est un inventaire de la diversité antigénique des salmonelles pour les antigènes O et H (Freney *et al*, 1994b). De nombreux sérotypes ne seraient donc pas uniformes (Achtman *et al*, 2012).

5.1.2. Biotype

Le biotypage présente la pierre angulaire de la détection microbiologique des espèces bactériennes. Il est souvent utilisé pour classer les souches selon des profils biochimiques, morphologiques ou aux tolérances environnementales. Le biotypage est souvent employé pour aider à déterminer les espèces bactériennes. Chez *Salmonella*, la présence fréquente de la gélatinase, la bétaglucuronidase ou la fermentation du dulcitol et du lactose permettent de subdiviser l'espèce *enterica* en six sous-espèces. Il est facile maintenant de coder les caractères biochimiques en utilisant des galeries API 20E (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

5.1.3. Lysotypie

La lysotypie appelée aussi typage par phage, consiste à étudier les profils de sensibilité ou de résistance d'une bactérie à l'égard d'un large spectre de lyse par des bactériophages sélectionnés, afin de déterminer un maximum de discrimination entre les souches d'une même espèce. C'est historiquement la première méthode utilisée pour le sous-typage des salmonelles. Les souches sont sous typée en fonction de leur sensibilité à des suspensions de bactériophages (Fabre et *al*, 2012).

5.1.4. bactériocinotypie

La bactériocinotypie est aussi appelée la pyocinotypie, repose sur la recherche de la production de bactériocines ou de la sensibilité aux bactériocines. Elle est très peu utilisée en épidémiologie.

5.1.5. L'antibiotypie

L'antibiotypie est basée sur l'étude de la sensibilité des souches à un panel d'antibiotiques. L'utilisation de l'antibiogramme dans le typage épidémiologique des salmonelles est basée sur l'évaluation *in vitro* des profils de sensibilité ou de résistance à des agents antimicrobiens. L'antibiogramme est exécuté selon différents modèles, la méthode de diffusion en disque sur gélose ou par la méthode de microdilution qui apporte une mesure quantitative de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Elle est fréquemment réalisée dans un but thérapeutique, mais également utilisée dans le cadre d'études épidémiologiques (Kariuki, Gilks et *al*. 1999; Harbottle, White et *al*. 2006).

5.2. Marqueurs génotypiques

Les méthodes génotypiques permettent de différencier les isolats au niveau du génome et leurs analyses génomiques donnent une meilleure compréhension des relations entre les souches des différents sérovars, en détectant ainsi le degré de parenté génétique entre les différentes souches (Chan et *al*, 2003).

5.2.1. Marqueurs liés à l'ADN plasmidique:

Les salmonelles possèdent des plasmides de tailles allant de 1 à 200 kb. Il s'agit en fait d'analyser le nombre et la taille de ces plasmides par électrophorèse en gel d'agarose ou alors de comparer leurs profils de restriction, ce qui accroît le pouvoir discriminant entre les plasmides de tailles similaires et permet de mesurer les liens de parenté entre les souches concernées (Elgroud et *al*, 2009).

5.2.2. Marqueurs liés à l'ADN chromosomique

Les techniques de typage liées à l'ADN génomique sont nombreuses et fondées sur la restriction ou l'amplification (Elgroud, 2009).

❖ **Profils de restriction de l'ADN génomique:(Restriction Fragment Length Polymorphism.)**

- **Électrophorèse en champ pulsé ou Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)**
: méthode de référence ou « gold standard » pour sous-typer les salmonelles. Il s'agit de l'analyse des fragments d'ADN de haut poids moléculaire obtenus après digestion avec des enzymes de restriction. Même si c'est une méthode couramment utilisée, la PGFE a des limites : elle n'est pas automatisée et il faut attendre environ 10 jours pour en avoir les résultats (Fabre et al, 2012).

❖ **Profils d'amplification de l'ADN génomique:**

La technique repose sur la réaction de polymérisation en chaîne ou PCR (Polymerase chain Reaction), qui permet l'amplification in vitro de séquences d'ADN par synthèse enzymatique (Elgroud et al, 2009).

5.2.3. Marqueurs liés aux gènes

L'amplification spécifique grâce à la PCR a permis d'étudier le gène ou un fragment de gène, qu'il soit codé par un plasmide ou par un chromosome (Elgroud et al, 2009).

II. Salmonelloses

1. Généralités

La salmonellose est l'une des maladies bactériennes d'origine alimentaire la plus répandue dans le monde (OMS, 2013). Il existe plusieurs formes cliniques de salmonellose humaine.

En général, la maladie chez l'homme fait suite à une infection subclinique d'animaux entraînant une contamination de la viande, des oeufs, des carcasses lors de l'abattage (Rasschaert et al, 2008) , ou une contamination secondaire des fruits et des légumes dont les plantes ont été fertilisés par des matières fécales animales ou irrigués avec des eaux usées (OIE, 2008, OMS, 2013). Tandis que les salmonelloses humaines non typhiques sont considérées comme des maladies zoonotiques.

Certains individus ne présentent aucun symptôme, restent porteurs sains de *Salmonella* et vont favoriser la transmission interhumaine alors qu'ils ingèrent de grandes quantité de salmonelles (plus de 1 million) alors que d'autres tombent malades après l'ingestion de quelques dizaines de salmonelles seulement (Teunis et al, 2010).

Les salmonelles colonisent l'intestin grêle et entrent dans les cellules épithéliales. Elles possèdent de nombreux facteurs de virulence qui modifient les fonctions cellulaires pour assurer leur survie à l'intérieur des cellules. C'est cette capacité à survivre dans le milieu intra-

cellulaire qui est à l'origine de leur pathogénicité. En fonction des types cellulaires qu'elles peuvent coloniser, les différentes souches de salmonelles provoquent différents symptômes d'intensité variable (Sánchez-Vargas et *al.*, 2011).

Les salmonelloses peuvent être responsables chez l'homme, selon le sérotype en cause et l'état physiologique de l'hôte, d'une simple diarrhée accompagnée ou non de fièvre ou d'une infection généralisée parfois mortelle ou à la simple infection inapparente. En effet, les salmonelloses sont la première cause de toxi-infection alimentaire dans les pays industrialisés et particulièrement en France (Moury 2005), où 14 235 souches de salmonelles ont été recensées par le réseau *Salmonella* de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (A.F.S.S.A.) durant l'année 2004.

2. Sérotypes en cause

Il existe deux catégories de salmonelles pathogènes pour l'Homme : les typhiques et les non typhiques. Elles appartiennent toutes les deux à l'espèce *Salmonella enterica* et à la sous espèce *enterica*. Ce qui les différencie est le sérotype et la maladie associée.

Les salmonelles typhiques sont les sérotypes Typhi et Paratyphi A, B et C. Elles sont responsables des fièvres typhoïde et paratyphoïde dont les symptômes principaux sont la fièvre, la torpeur, une leucopénie, une bradycardie, une splénomégalie, une roséole abdominale et à partir de la troisième semaine une diarrhée éventuellement hémorragique. Le traitement antibiotique est obligatoire (Kayser et *al.*, 2008). Le sérotype Typhi est spécifique de l'Homme tandis que les sérotypes Paratyphi peuvent être retrouvés dans d'autres espèces : par exemple *Paratyphi B* est fréquent chez les bovins.

Les salmonelles non-typhiques ou entériques sont responsables des toxi-infections alimentaires. De nombreux sérotypes sont en cause, les plus courants chez l'Homme sont *Enteritidis* et *Typhimurium*.

Certains sérotypes sont donc plus enclins à provoquer des infections extra-digestives. Ainsi, quelques sérotypes de la sous-espèce I (*Dublin*, *Choleraesuis*) et les sérotypes des sous-espèces II, IIIa, IIIb et IV sont plus souvent responsables d'infections extra-digestives que les autres. Ils sont plus souvent retrouvés dans le sang, les urines, l'appareil respiratoire, les plaies, les abcès et le liquide céphalorachidien (Abbott et *al.*, 2012).

3. Déterminants génétiques de la virulence

3.1. Facteurs de virulence

La virulence constitue l'aptitude relative d'une bactérie à induire l'apparition d'une pathologie infectieuse. Les facteurs de virulence sont des produits nécessaires aux microorganismes pour

provoquer une maladie. Les caractéristiques essentielles de la pathogénie des salmonelles sont leur capacité à entrer dans les cellules-hôtes et à y demeurer comme parasite intracellulaire facultatif (Millemann et *al*, 1998).

Les salmonelles peuvent synthétiser au moins deux types de toxines : une cytotoxine et une entérotoxine. Une activité cytotoxine a été mise en évidence dans les lysats de *S.choleraesuis*, *S.enteritidis*, *S.typhi* et *S.typhimurium*. Cette cytotoxine est thermolabile. Elle inhibe la synthèse des protéines chez les cellules Vero, Hella et chez les cellules isolées de l'épithélium intestinal du lapin. Elles possèdent également une activité hémolytique pour les globules rouges du mouton. Elle est associée à la membrane externe des *Salmonella* et est codée par le gène *cyx*. Cette cytotoxine est capable de chélater les ions Ca^{++} et Mg^{++} . Cette chélation avec la membrane des cellules de la muqueuse intestinales change probablement la structure de la membrane cellulaire, permettant l'introduction de la bactérie dans la cellule hôte et une fuite sélective de molécules. Cet effet est réversible et non létale

3.2. Îlots de pathogénicité

Les étapes essentielles de la pathogénie sont sous la dépendance de facteurs de virulence codés par des gènes organisés en blocs sur le chromosome, qualifiés « d'îlots de pathogénicité » ou SPI (*Salmonella* Pathogenicity Island) et constituant une des caractéristiques essentielles de la virulence des salmonelles (Millemann et *al*, 1998, Van Asten et *al*, 2005).

3.3. Plasmide de virulence

Salmonella dispose d'autres facteurs de virulence qui ne sont pas localisés dans des SPI. Ils peuvent être observés sur des supports génétiques mobiles comme des plasmides. Le plasmide de virulence de *Salmonella*, composé de cinq gènes (*spvRABCD*), potentialise la propagation systémique de l'agent pathogène et l'aide à se répliquer dans les sites extra-intestinaux (Zou et *al*, 2012).

III. Toxi-Infection Alimentaire Collectives à Salmonelles

Les Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) sont des infections aiguës d'intoxication consécutive à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou par leurs toxines. Un foyer de TIAC est défini par l'apparition d'au moins deux cas groupés d'une

symptomatologie similaire, en générale digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire (Buisson et Teyssou, 2002).

TIAC au Maroc

Au Maroc, selon le bilan des TIAC notifiées en 2010, 5,2% des cas confirmés sont dus à des salmonelles avec un taux de létalité de 0,06% (Delma ,2010).

TIAC dans les pays du Maghreb :

En Tunisie, les 121 foyers de TIAC déclarés de Janvier 2010 à Novembre 2011, ont fait état de 1244 victimes (source : DHMPE-MSP). Les agents impliqués dans les TIAC dans les pays du Maghreb sont *Salmonella* ssp, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Clostridium Perfringens* (Aoued et al., 2010 ; Mouffok, 2011) .

En France, Entre 2001 et 2004, les salmonelles étaient responsables de 60% des cas de TIAC (Brisabois et al, 2006). 65% des TIAC sont attribués à *Salmonella*. En 2009, les œufs et les produits à base de œufs représentent un pourcentage important des aliments incriminés lors des foyers de salmonelloses (figure 1)

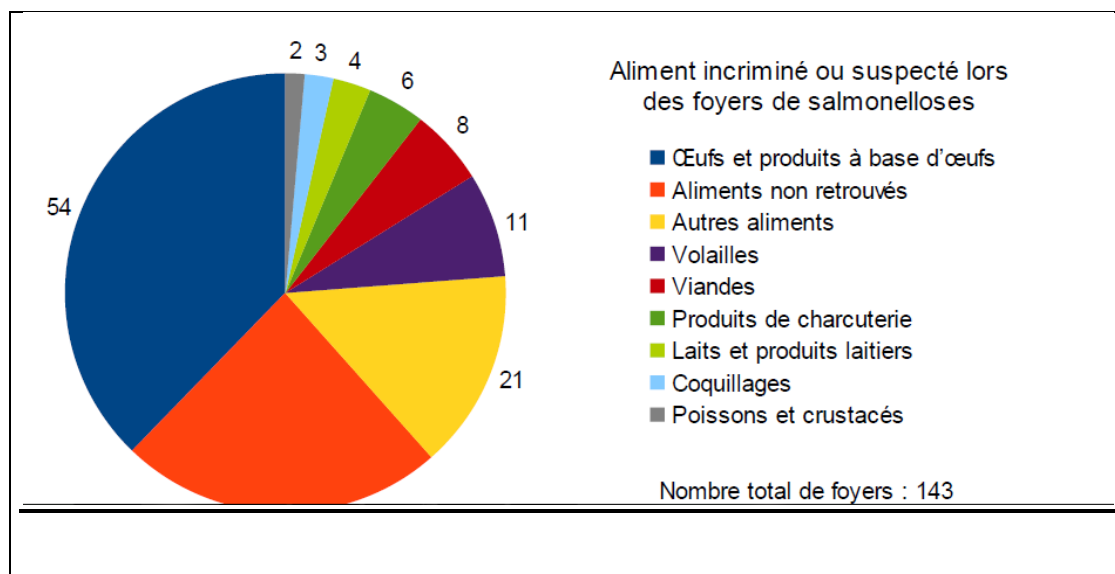


Figure 1 : Distribution du nombre de foyer de TIAC causés par *Salmonella* (étiologie confirmée ou suspectée) en France en 2009 selon le type d'aliment incriminé ou suspecté (d'après InVS, 2011a).

En Europe : Les récentes différents de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) sur les zoonoses indiquent que *Salmonella* représente la deuxième maladie d'origine alimentaire après *Campylobacter* en Europe (Anonymous, 2009) et plus de 150 000 cas confirmés sont enregistrés annuellement (Anonymous 2009b).

En l'année 2000, le nombre d'intoxications s'est élevé à 2 millions (près de 3.400 pour 100.000 habitants), les bactéries impliquées furent: *Campylobacter jejuni* (77,3%), *Salmonella* (20,9%), *Escherichia Coli* O 157 : H7 (1,4%) et toutes les autres (<0,1%).

1. Impact et importance des infections provoquées par *Salmonella*

➤ Enjeu économique

Les infections humaines à *Salmonella* ont également un impact économique considérable notamment en termes de perte de productivité liée aux absences temporaires au travail.

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). Pour l'année 2008, le coût estimé de ces infections était de 2.6 milliards de dollars américains (USDA, 2009). 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 de 24 euros par cas à 3,8 millions pour un décès. Pour l'année 2007, l'EFSA a rapporté 151 995 cas confirmés de salmonellose humaine dans l'Union Européenne (EFSA, 2009).

Chapitre 2 : RESISTANCE BACTERIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

I. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques originellement produites par des micro-organismes. De nos jours, ils sont aussi obtenus par synthèse ou semi-synthèse. A faible concentration, ces molécules peuvent inhiber la croissance, voire même détruire, des bactéries (Collectif, 2008).

Leur propriété bactéricide ou bactériostatique avait conduit à imaginer que ces molécules conféraient un avantage évolutif aux bactéries qui les produisaient par rapport aux autres bactéries. En effet, l'hypothèse concernant le rôle de ces molécules était qu'elles servaient à tuer ou empêcher la croissance des bactéries en concurrence pour une niche écologique ou

encore qu'elles permettaient aux bactéries de se défendre contre leurs prédateurs (cytotoxicité des antibiotiques contre les protistes) (Linares *et al*, 2006; Aminov, 2009). Leur importance est capitale dans la lutte contre les maladies infectieuses. Ces molécules sont employées dans de nombreux domaines comme principal moyen de lutte contre les infections bactériennes. Elles sont utilisées en médecine humaine mais également en médecine vétérinaire, que ce soit dans les élevages d'animaux de production ou pour soigner les animaux de compagnie.

Les antibiotiques sont la seconde classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. Ils représentent environ 20% du volume des produits pharmaceutiques vétérinaires utilisés (Toutain, 2007).

La résistance aux antibiotiques est due à des gènes susceptibles d'être exprimés dans n'importe quelles bactéries. Cette notion est illustrée par le terme « résistome » qui définit l'ensemble des gènes de résistance aux antibiotiques qui peuvent être retrouvés aussi bien chez les bactéries de l'environnement que chez les bactéries pathogènes.

Le résistome des bactéries se serait construit au fil de l'évolution de ces bactéries, avant même l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine (Aminov et Mackie, 2007). Ce résistome pourrait donc être un réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques à l'origine des problèmes de résistance rencontrés chez les bactéries pathogènes.

II. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques peut être inhérente à une espèce ou un genre bactérien, où peut être acquise par certaines souches chez une espèce habituellement sensible à l'antibiotique considéré.

En effet, ces dernières années, en réponse à la sélection des antibiotiques, les bactéries ont développés, tant sur le plan biochimique que génétique, de nombreux mécanismes de résistance à ces molécules (Bouzidi *et al*, 2013).

Aujourd'hui, l'antibiorésistance est devenue un problème de plus en plus présent tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Ce phénomène a été reconnu comme étant un problème émergent de santé publique. En effet, la plus grande préoccupation actuelle de la communauté scientifique est que l'ensemble des gènes de résistance augmentent et que ceux-ci se retrouvent sur des plasmides ou d'autres éléments mobiles qui permettent leur dispersion (Helmuth, 2000). Par ailleurs, cette émergence est largement suivie de lourdes conséquences humaines et socioéconomiques (Pena *et al*, 2008).

La résistance aux antibiotiques est une réponse physiologique des bactéries à tout usage d'antibiotique. Il est aussi important de noter que les gènes de résistance préexistaient à la découverte des antibiotiques (D'Costa et *al*, 2011).

II.1. Types de résistance bactérienne

II.1.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou la résistance intrinsèque est une caractéristique propre à une espèce bactérienne sur laquelle l'antibiotique est inactif par défaut de cible ou d'accès à la cible. Ceci peut être dû à l'absence de la cible (l'absence de paroi chez les mycoplasmes rendant les bêta-lactamines inactives vis à vis de ces bactéries) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique.

Pour la Société Française de Microbiologie (SFM), la résistance naturelle se traduit par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) supérieures à la concentration critique supérieure des tests de sensibilité pour l'antibiotique concerné.

Cette caractéristique est partagée par toutes les souches bactériennes d'une espèce ou d'un genre bactérien. Ainsi, elle définit le spectre d'activité naturelle des différentes familles et sous-familles d'antibiotiques. Par exemple, la pénicilline G est naturellement active sur des cocci Gram-positifs, sur les bacilles Gram-positifs anaérobies mais elle est inactive sur les bactéries Gram-négatives. (Guérin-Faublée, 2010 ; Scott, 2009).

Salmonella a des résistances naturelles aux classes d'antimicrobiens suivantes : les polypeptides (bacitracine), les lincosamides (clindamycine), les macrolides (érythromycine) (Schwartz et *al*, 2006), les streptogramines (quinupristine/dalfopristin) et les glycopeptides (vancomycine) (Guardabassi et Kruse, 2008). Généralement le support de cette résistance est chromosomique.

II.1.2. Résistance acquise

La résistance acquise concerne une proportion variable de souches appartenant à une même espèce. Elle est imprévisible sur le plan individuel. Une fois cette résistance acquise, elle peut diffuser rapidement dans une population surtout par la transmission horizontale d'éléments mobiles. Les mécanismes d'acquisition et de transmission de cette résistance sont les suivants (Guérin-Faublée, 2010 ; Scott, 2009) :

❖ Résistance par mutation chromosomique

Cette acquisition peut avoir un support chromosomique (mutation) ou plasmidique (acquisition d'un élément mobile porteur de la résistance). Suite à cette modification

spontanée, la bactérie peut alors échapper à l'action de l'antibiotique (Guérin-Faublée, 2010 ; Scott, 2009).

Des phénomènes de tolérance sont aussi décrits, notamment chez des streptocoques pour les antibiotiques de la famille des β -lactamines. Ainsi, suite à une mutation, l'antibiotique perd son effet bactéricide mais conserve son effet bactériostatique (Guérin-Faublée, 2010).

On distingue 2 types de résistance acquise :

➤ **Résistance croisée :**

La résistance croisée correspond à un seul mécanisme de résistance et entraîne la résistance à tous les antibiotiques d'une même famille. Parmi les nombreux cas de résistances croisées, des mutations dans les topoisomérases type II, gyrase ou topoisomérases IV induisent la résistance à l'ensemble des fluoroquinolones.

➤ **Co-résistance :**

La co-résistance, plusieurs mécanismes de résistance sont associés chez la même bactérie, parfois stabilisés par intégration dans le chromosome. Chacun des mécanismes confère par résistance croisée la résistance à un groupe d'antibiotique conférant à la bactérie un large spectre de résistance (Soussy et al, 2007).

❖ **Résistance par acquisition d'ADN exogène**

Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les gènes de résistance aux antibiotiques, pour la plupart chromosomiques, proviennent généralement de microorganismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés.

II.2. Supports génétiques de la résistance

Les entérobactéries sont particulièrement efficaces pour échanger de l'information génétique et la résistance aux antibiotiques de ces espèces est souvent due à l'acquisition de gènes étrangers. Ces gènes ont été capturés à partir du chromosome d'espèces différentes. Ces mobilisations impliquent deux types différents d'éléments génétiques mobiles. Ceux qui sont capables de transférer ou de capter des gènes entre les molécules d'ADN tels d'insertion, les transposons, ou les cassettes des intégrons, et ceux qui permettent le transfert d'ADN entre cellules, tels que les plasmides conjugatifs et mobilisables ou les éléments intégratifs conjugatifs (ICE).

II.2.1. Chromosome

La résistance chromosomique, événement rare, apparaît spontanément après une mutation dans le chromosome. L'antibiotique n'est pas l'agent mutagène mais il sélectionne les

mutants devenus résistants. Cette résistance est confinée verticalement à l'espèce chez laquelle elle apparaît.

II.2.2. Plasmides

Les plasmides sont des molécules d'ADN extra-chromosomiques, capables de répllication autonome dans les bactéries. Ce sont des vecteurs de mobilité pour les transposons et les intégrons, ils diffusent souvent des gènes qui confèrent aux bactéries certaines caractéristiques telles que la résistance, la virulence, la capacité de métaboliser des substances rares, et la persistance dans des conditions extrêmes (Beceiro et *al*, 2013). Ils peuvent porter également des gènes de transfert permettant le passage du plasmide d'une bactérie à une autre de la même espèce ou d'espèces différentes.

II.2.3. Transposons

Un transposon est une séquence d'ADN capable de se déplacer et de se multiplier de manière autonome dans un génome. Il peut donc s'intégrer au chromosome de la bactérie et permet la dissémination des gènes de résistance (Ploy et *al*, 2005),.

II.2.4. Intégrons

L'intégron est une structure portée par des plasmides, des transposons rarement sur le chromosome des bactéries. Les intégrons constituent un système de capture, d'expression et de dissémination de gènes sous forme de cassettes. Ils sont impliqués dans la dissémination de la multirésistance des bactéries aux antibiotiques (Ploy et *al*, 2005).

II.3. Modes de transfert de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Les mécanismes de transfert d'ADN entre espèces bactériennes permettent la propagation de gènes de résistance aux antibiotiques.

II.3.1. Transfert vertical

Le système de transfert vertical transmet l'acquisition de nouvelles résistances à la descendance suite aux divisions cellulaires.

II.3.2. Transfert horizontal

Le transfert horizontal de gènes est un processus par lequel des fragments d'ADN et des éléments génétiques mobiles peuvent être transférés entre les bactéries de même ou de différentes espèces. Ce type de transfert de résistance concerne souvent plusieurs familles d'antibiotiques simultanément (Davison et *al*, 2000 ; Collectif, 2008). Le transfert horizontal des éléments génétiques contribue à la propagation des gènes de résistance par trois mécanismes principaux.

❖ Conjugaison

La conjugaison est la méthode de transmission la plus fréquente. Ce transfert nécessite un contact physique entre deux bactéries. Un pont cytoplasmique se met alors en place et les bactéries peuvent échanger leur plasmide porteur de résistance (Ferron, 1994 ; Collectif, 2008)

❖ transduction

La transduction est un processus par lequel le matériel génétique peut être transféré d'une espèce à une autre via des bactériophages (Schwartz *et al*, 2006). En se répliquant, le phage intègre une partie du génome bactérien. En quittant la cellule, il emporte des gènes bactériens supplémentaires qui pourront être transférés dans une autre bactérie.

❖ transformation

Enfin, la transformation est un processus au cours duquel la bactérie acquiert et incorpore de l'ADN exogène présent dans son environnement. L'ADN d'une bactérie, une fois capté, permet l'expression de ses gènes par la nouvelle bactérie.

II.4. Différents mécanismes de la résistance bactérienne

Trois mécanismes fondamentaux confèrent aux bactéries une résistance aux antibiotiques. Ils sont présentés dans la Figure 1.

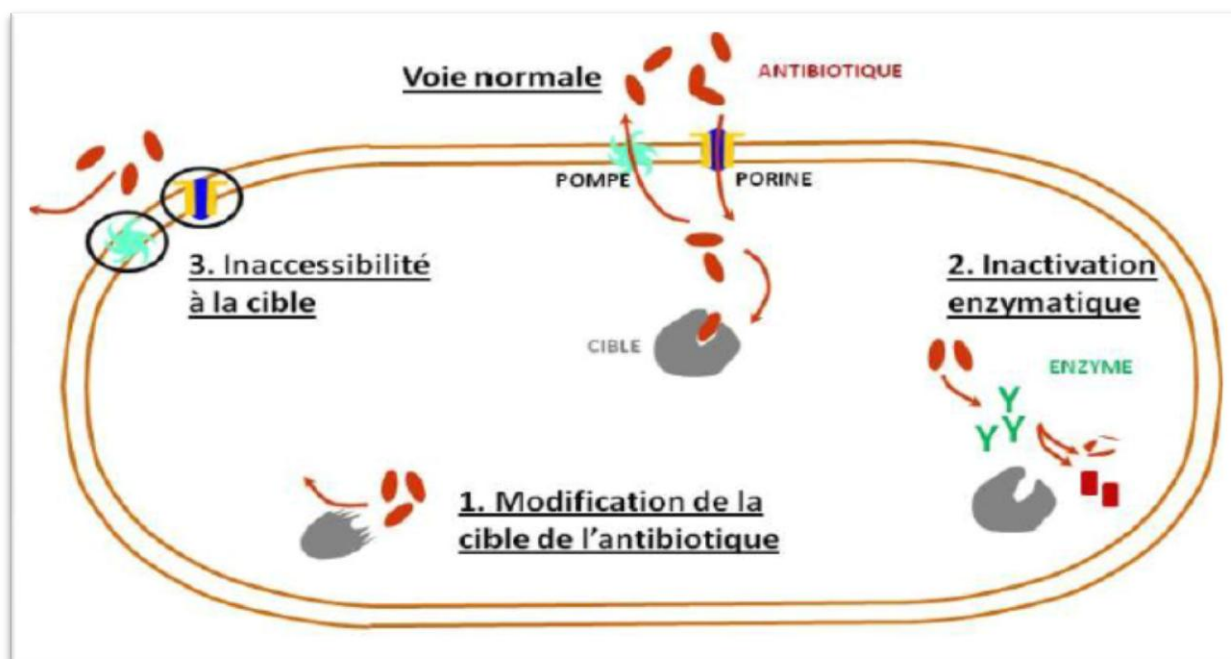


Figure 2 : Mécanismes d'acquisition de la résistance bactérienne (Millemann, 2010)

II.4.1. Modification de la cible

Tout d'abord, une bactérie peut modifier la cible de l'antibiotique. Ce changement peut porter sur la structure même de la cible ou sur le développement d'une voie métabolique alternative.

La modification de la cible est une stratégie utilisée contre toutes les familles d'antibiotiques. Ce mécanisme est bien développé par les bactéries Gram négatif qui grâce à des modifications dans les cibles primaires et secondaires parviennent à développer des hauts niveaux de résistance.

Pour toutes les molécules d'une même famille ayant, en général, la même cible, la résistance est souvent croisée. Néanmoins, d'un point de vue clinique, certaines molécules dans une famille donnée peuvent conserver une efficacité car les augmentations de CMI ne sont pas toutes proportionnelles (Guérin-Faublée, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009).

II.4.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Les bactéries peuvent aussi utiliser l'inactivation enzymatique *via* la production d'enzymes détruisant ou modifiant l'antibiotique. Ce dernier ne peut plus se fixer sur sa cible. Cette modification enzymatique est un des mécanismes de résistance aux β -lactamines, macrolides, aminosides et chloramphénicol. Une résistance croisée apparaît avec ce type de mécanisme mais elle est moins élevée qu'avec le phénomène de modification de la cible de l'antibiotique (Guérin Faublée, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009).

Chez les entérobactéries, la production de β -lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux β -lactamines (Livermore. 2003).

❖ Les β -lactamases

➤ Définition

Les β -lactamases ont été identifiées en 1940 par Abraham et Chain, qui ont mis en évidence une enzyme capable d'empêcher l'action de la pénicilline chez *E. coli* ; ils la nommèrent pénicillinase.

Les β -lactamases sont des enzymes hydrolysant les β -lactamines en ouvrant le cycle bêtalactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif.

La présence de ce type de mécanisme de résistance au sein de souches pathogènes fait peser un risque majeur d'inadéquation thérapeutique et donc d'échec thérapeutique (Schwaber et Carmeli. 2007), et est également un facteur de diffusion.

➤ Mode d'action:

Les β -lactamases catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse du pont amide de l'anneau β -lactame des pénicillines, des céphalosporines, des monobactames et des carbapénèmes ; pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (Figure 5). Ainsi, les pénicillines sont dégradées en acide pénicilloïque et les céphalosporines en acide céphalosporoïque.

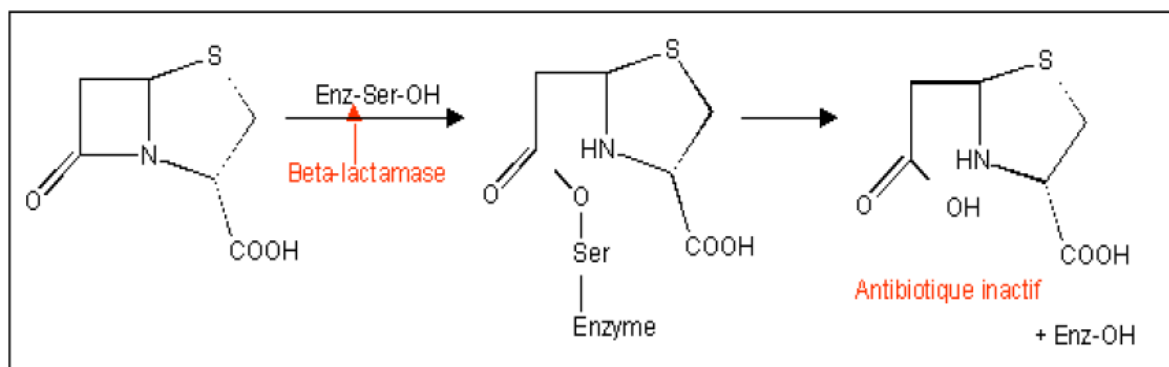


Figure 3 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle β -lactame

(Barrial et Scotet, 2006).

❖ β -lactamases à spectre étendu (BLSE) :

➤ Définition :

Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne (Knothe et al, 1983). Il n'y a pas de consensus concernant la définition de β -lactamases à spectre étendu (BLSE).

Classiquement, les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou cefpirome) et l'aztréonam. Elles sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam) (Livermore, 1995).

➤ Classification

Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes (Paterson et Bonomo, 2005). Les deux schémas les plus utilisés pour la classification des BLSE sont celui d'Ambler qui est fondé sur l'homologie de séquence des acides aminés et de Bush-Jacoby-Medeiros qui est fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes.

La classification d'Ambler divise les β -lactamases en quatre groupes (de A à D). Les groupes A, C et D contiennent des β -lactamases avec la sérine dans son site actif. Les BLSE appartiennent soit au groupe A (types TEM, SHV, CTX-M) soit en plus petit nombre au groupe D (type OXA). Les β -lactamases du groupe C sont des céphalosporinases (type AmpC) mais non BLSE. Le groupe B contient des enzymes comportant deux atomes de zinc au site actif. Elles sont désignées comme mé- tallo- β -lactamases et peuvent hydrolyser les carbapénèmes (Nordmann, 2002).

La classification de Bush et al, est fondée sur les caractéristiques physicochimiques des enzymes comme leur point isoélectrique, poids moléculaire, substrat d'activité et profil d'inhibition.

➤ **Méthode de détection**

La démonstration phénotypique de la présence de BLSE consiste à mettre en évidence la présence d'une synergie entre une C3G ou C4G et l'acide clavulanique. La confirmation doit être réalisée avec un minimum de deux substrats (ceftazidime et céfotaxime) par les méthodes de synergie. D'autres méthodes de confirmation non phénotypiques consistent en la focalisation isoélectrique (qui permet la caractérisation des enzymes par son point isoélectrique) et des méthodes moléculaires pour la détection des gènes codant pour la BLSE (fondée sur la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) ou le séquençage du gène).

II.4.3. Diminution de la pénétration ou augmentation de l'excrétion d'un antibiotique

Les bactéries développent aussi des mécanismes actifs de rejet des antibiotiques *via* des pompes membranaires. Ce type de résistance concerne plusieurs familles d'antibiotiques dont les β lactamines, les tétracyclines, les macrolides et les fluoroquinolones (Guérin-Faublée, 2010 ; Collectif, 2008 ; Scott, 2009).

II.5. L'émergence et la diffusion des résistances bactériennes

L'augmentation des résistances bactériennes est étroitement connectée au taux d'utilisation des antibiotiques (Vandaële, 2012 ; Van Den Bogaard et Stobberingh, 2000). Comme le signale Eric Vandaële : « *Ce sont bien les usages antibiotiques, bons ou mauvais, qui sont les (seuls) responsables de la sélection de la souche qui mute vers la résistance* ».

Les premières résistances chez des salmonelles d'origine animale ont été observées au milieu du 20ème siècle. Elles seraient apparues notamment suite à l'utilisation d'antibiotiques dans les élevages d'animaux.

L'administration de doses concentrations subthérapeutiques d'antibiotiques dans le but de stimuler la croissance des animaux d'élevage (antibiotiques « promoteurs de croissance ») aux États-Unis est en particulier mise en cause (Weill, 2008). Mais d'une manière plus générale la mauvaise utilisation des antibiotiques sur des animaux destinés à la consommation humaine peut sélectionner des résistances chez les bactéries. Au fil des ans, différents mécanismes de résistance à toutes les familles d'antibiotiques utilisées contre les entérobactéries ont émergé chez les salmonelles.

Plusieurs études démontrent que l'arrêt de l'utilisation d'un antibiotique entraîne une diminution des résistances. Néanmoins, cette diminution ne se traduit jamais en disparition

totale. Ce phénomène est assez lent, quelques mois voire quelques années. Il faut aussi tenir compte des résistances croisées et des co-résistances pour analyser la diminution des résistances. En effet, si d'autres antibiotiques sélectionnent toujours les mêmes résistances, l'effet sera masqué (French, 2010 ; Neely et Holder, 1999 ; Vandaële, 2012).

Les scientifiques ont aussi démontré qu'une mauvaise utilisation des antibiotiques accélère le développement des résistances. Par « mauvaise utilisation », il est entendu : spectre non adapté à la bactérie visée, traitement arrêté trop tôt ou trop peu dosé (Neely et Holder, 1999 ; Vandaële, 2012).

L'acquisition d'une résistance est stimulée par la pression antibiotique dans l'environnement. (Gillespie, 2001). Le maintien des résistances est aussi régulé par cette pression.

➤ **Surveillance de la salmonellose et de l'antibiorésistance**

La résistance aux antibiotiques devient un problème quotidien de santé publique. La difficulté provient en grande partie de l'abus d'antibiotique. Dans de nombreux pays d'Afrique, les antibiotiques vendus sur le comptoir, sont largement utilisés dans l'industrie de la volaille pour réduire la mortalité et accroître la productivité (Schwarz et *al*, 2001). Les tétracyclines et les sulfamides, relativement peu coûteux, sont les antibiotiques les plus utilisés (Alameddji et *al* 2008).

Cependant, le recours aux antibiotiques en médecine vétérinaire et pour les besoins de l'élevage peuvent se répercuter sur la santé humaine en cas de développement de bactéries résistantes chez les animaux et de transfert éventuel à l'homme par la chaîne alimentaire ou l'environnement. En effet, la flore intestinale des animaux destinés à la consommation humaine, y compris les volailles, constitue le réservoir probable de souches antibiorésistantes particulières. Les résistances peuvent donc passer de l'animal à l'homme par transmission de bactéries antibiorésistantes, ou par transfert de gènes de résistance dans le tube digestif humain après ingestion de produits contaminés. L'antibiorésistance de *Salmonella* est devenue ainsi une préoccupation sérieuse qui menace la capacité de traiter des infections chez les humains et les animaux. La surveillance de l'antibiorésistance des salmonelles est réalisée en France par le CNR *Salmonella* (Weill, 2008 ; CNR *Salmonella*, 2009). Cette surveillance au laboratoire permet une identification rapide des cas et un suivi de l'émergence de la pharmaco-résistance au sein de la population. Il est important de détecter l'apparition de nouveaux profils de résistance et de surveiller l'impact des interventions visant à réduire au minimum la propagation de cette résistance.

Pour éviter la propagation de telles souches multirésistantes, plusieurs programmes de surveillance des antibiorésistances chez les bactéries commensales et zoonotiques des animaux de production sont en place.

La lutte contre l'émergence des antibiorésistances nécessite une compréhension de leurs mécanismes et des phénomènes moléculaires impliqués dans la dissémination des gènes correspondants.

Chapitre 3 : Evaluation de l'antibiorésistance

I. Mesure de l'antibiorésistance et antibiogrammes

Les salmonelles sont naturellement sensibles à tous les antibiotiques actifs sur les entérobactéries (Weill, 2008).

Toutefois, l'acquisition de résistance à ces antibiotiques représente un problème d'actualité chez certaines souches des salmonelles. Par conséquent, afin d'éviter l'échec thérapeutique, il est indispensables de détecter l'existence des phénotypes de résistances développés par les Salmonelles. Pour le choix d'un traitement adéquat et pour un intérêt épidémiologique, l'antibiothérapie doit être appuyée sur les résultats de l'antibiogramme.

1. Les méthodes d'Antibiogramme :

L'antibiogramme est une technique simplifiée d'appréciation de l'activité bactériostatique des antibiotiques sur une souche bactérienne.

L'antibiogramme est un test qui permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne in vitro. Il renseigne, par conséquent, sur la sensibilité des germes vis – à vis des agents anti –infectieux. Les résultats de l'antibiogramme engagent pleinement la responsabilité du biologiste.

En effet, sa décision suppose que la souche isolée est responsable du processus infectieux et incite le clinicien à la mise en route d'une antibiothérapie donnée.

Cette mise au point sera axée sur le choix de la méthode adéquate pour le test de l'antibiogramme. La lecture interprétative des résultats et les limites de l'antibiogramme.

Les méthodes d'antibiogrammes sont habituellement classées en méthode « standard » et méthode automatisée.

Actuellement, il existe 2 grandes familles de tests pour étudier l'effet bactériostatique :

- ceux utilisant une méthode quantitative aboutissant à un résultat chiffré correspondant à une CMI : tests par dilution,

- ceux utilisant une méthode qualitative permettant de classer les bactéries en sensible(S), intermédiaire(I) ou résistante(R) : tests par diffusion.

Toutes ces méthodes doivent suivre des règles de standardisation rigoureuses pour pouvoir être reproductibles, interprétables et comparables au sein du laboratoire.

1.1. Méthode par dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques (Burnichon et Texier, 2003). De plus, les résultats peuvent être donnés sous forme de CMI et/ou sous forme de classification S/I/R. Ces techniques de dilution, sur milieu solide ou en milieu liquide, sont les méthodes de référence.

1.1.1. Méthode par dilutions successives en milieu solide.

Cette méthode consiste en l'ensemencement de géloses contenant des concentrations décroissantes en antibiotique. On recherche la plus faible concentration pour laquelle il y a inhibition macroscopique de la pousse bactérienne. Une fois l'inoculum absorbé par la gélose, les milieux sont incubés à 35°C pendant 16 à 20 heures à atmosphère normale. On recherche enfin la plus faible concentration pour laquelle la pousse est inhibée macroscopiquement : on obtient alors la CMI. C'est une méthode de référence du fait de sa standardisation et qui permet d'évaluer les performances des autres tests mais sa mise en œuvre nécessite des moyens en temps et en personnels qui limitent son champ d'application.

1.1.2. Méthodes par dilutions successives en milieu liquide

L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

1.2. Méthode par diffusion

➤ Principe

Des disques de papier buvard, imprégnés d'antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance de migration par rapport au disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe (Euzeby, 2010). La méthode de diffusion est utilisée par le laboratoire de diagnostic et permet

la mesure des diamètres d'inhibition qui peuvent être comparés au seuil critique utilisé pour le classement des bactéries (sensible intermédiaire ou résistante).

- Les souches catégorisées (S) : sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit.
- Les souches catégorisées (R) : sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.
- Les souches catégorisées (I) : sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus in vitro ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique (Vuke-Weledji et al, 2014).

2. Cause de réalisation de l'antibiogramme

L'antibiogramme qui s'applique dans le domaine médical et alimentaire a pour but :

- tester la sensibilité d'un germe vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (Vuke-Weledji et al, 2014).
- La surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne qui orientera ultérieurement l'antibiothérapie probabiliste.
- La comparaison des phénotypes de résistance des souches présumés responsable de l'infection.

2ème PARTIE :
Matériel et
Méthodes

A. Matériel biologique

- 194 souches de salmonelles, stockées entre l'année 2010 et 2014 à l'Institut National d'Hygiène, au Département de Microbiologie et Hygiène Alimentaire (MHA), ont fait l'objet de notre étude pratique de la sensibilité aux antibiotiques.

- 299 de salmonelles, stockées depuis 2006 au MHA et étudiées pour leur profil de résistance dans un autre travail, ont fait l'objet d'une évaluation de leurs profils de sensibilité aux antibiotiques.

➤ Origine des souches

- ❖ La majorité de ces souches sont d'origine alimentaire identifiées et confirmées au département MHA et isolées de différents catégories d'aliments diversifiées (viande hachée, Poisson haché, charcuterie, poulet, Dinde...etc) ou de l'environnement (eau de puits, eau de fontaine, eau usée, déchets hospitaliers...)
- ❖ Soit des souches envoyées par les laboratoires régionaux de diagnostic épidémiologique du Ministère de la Santé pour confirmation et sérotypage dans le cadre des investigations des toxi-infections alimentaires.
- ❖ Soit des souches de salmonelles isolées au cours des études de recherches et de surveillance, établies selon l'approche d'évaluation des risques sanitaires liés aux denrées alimentaires, développées au laboratoire dans le cadre du suivi de certaines filaires à risque (dindes, poulet, viandes rouges, moules), et ceci en collaboration avec les Universités, ONSSA, INRA,....

Les souches sont accompagnées d'une fiche contenant les informations nécessaires pour la surveillance épidémiologique (lieu, date, l'aliment incriminé...) dont les données pouvant être exploitées du point de vue statistique et épidémiologique.

Les milieux de culture utilisés au cours de manipulation et leurs méthodes de préparation sont présentés dans l'annexe 1.

B. Méthodes utilisées

1. Revivification des souches de salmonelles

Les souches de salmonelles stockées au niveau du laboratoire des pathogènes du Département de Microbiologie d'eau et d'Hygiène alimentaire (MHA) ont été revivifiées en suivant les étapes suivantes :

- Enrichissement des souches dans un bouillon BHI (Brain Heart Infusion) puis incubation à 37°C pendant 18h.

- Isolement dans un milieu gélosé chromagar de Salmonelle et sur milieu Hektoen afin d'avoir des souches pures de salmonelles.
- 2^{ème} isolement sur un milieu gélosé Muller Hinton (MH) afin de réaliser l'antibiogramme.

2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La partie pratique de l'antibiogramme a concerné les souches stockées à l'INH entre l'année 2010 et 2014, qui ont été revivifiées pour étudier leur sensibilité vis-à-vis de 16 antibiotiques.

La discussion des résultats a concerné toutes les souches stockées depuis l'année 2006, en se référant sur la base de données de l'antibiogramme des souches existantes.

Notre travail a concerné aussi la mise à jour de la base de données déjà établie au laboratoire des pathogènes MHA, et que nous avons classée par sérotype et profils de résistances.

2.1.Méthode d'antibiogramme

Le test de sensibilité aux antibiotiques a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton Agar (Bio-Rad, France), selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2009).

Les boîtes de gélose Mueller Hinton sontensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne correspondant à 0.5 Mac Farland et les disques d'antibiotiques y sont déposés sur la gélose.

Les boîtes sont ensuite, incubées pendant 18 à 24 h à 37°C.

Les différents diamètres des zones d'inhibition obtenues autour des disques d'antibiotiques sont mesurés et l'interprétation en Sensible (S) Intermédiaire (I) ou Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par (CLSI, 2009).

2.2.Technique:

a. Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5

0,5 mL d'une solution à 0,048 mol/L de BaCl₂ (1,175% p/v BaCl₂·2H₂O) est ajoutée à 99,5 mL d'une solution 0,18 mol/L (0,36 N) de H₂SO₄ (1% v/v) et le tout est agité vigoureusement. La densité de la suspension est vérifiée à l'aide d'un spectrophotomètre avec un faisceau de 1 cm et des cuvettes assorties. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13. La suspension est distribuée dans des tubes de même taille que ceux utilisés pour ajuster l'inoculum. Ces tubes sont conservés à température ambiante et à l'abri de la lumière

Pour notre cas, la solution Mc Farland 0,5 a été commercialisée

b. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de salmonelles (18-24 h) sur milieu gélosé Mueller-Hinton, une suspension bactérien est préparée dans 9 ml de solution saline (0,9 % NaCl), la densité de la suspension doit être équivalente au standard McFarland 0,5 ($\sim 10^8$ UFC/ml), une dilution au 1/10 dans l'eau physiologique (0,9 %NaCl) est préparée et bien homogénéisé

c. Ensemencement

Afin d'éviter les chocs thermiques, les boites sont placés au moins 15 min à température ambiante avant ensemencement. Ces boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton gélosé doit être sécher avant de procéder à l'ensemencement. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage, l'écouvillon stérile est bien imbibé en l'immergeant dans la suspension bactérienne et ajusté à la concentration recommandée, on essore soigneusement l'écouvillon contre la paroi du tube. La gélose Mueller Hinton est ensemencée en frottant en lignes parallèle et serrées l'écouvillon sur l'ensemble de la surface. La boite est ensemencée dans les trois direction en tournant d'environ 60° et on recommence l'ensemencement en frottant l'écouvillon. Enfin l'ensemencement est terminé en passant l'écouvillon sur les bords de la gélose.

d. Application des disques

Après séchage, a les disques sont appliqués à la surface du milieu ensemencé ou un distributeur de disque et sont pressé légèrement. Le délai d'application des disques est de l'ordre de 15 min après l'ensemencement. Les centre des disques doivent être éloigné les un des autre d'au moins 30 mm pour empêcher le chevauchement des zones d'inhibition, et doit être positionné à au moins 10 mm du bord de la boite.

e. Incubation

Il est recommandé de procéder avant l'incubation, à une pré-diffusion des antibiotiques dans la gélose pendant 15-30 minutes à température ambiante. Les boîtes de Pétri doivent être incubées dans un délai de 16 à 18 h à 37°C (au maximum 24 h) en raison de l'importance de la température d'incubation comme facteur de sélectivité de la méthode.

f. Lecture des boîtes

Après 18-24 h d'incubation à 35-37°C la lecture interprétative de l'antibiogramme, fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance. Elle se fait en mesurant la zone d'inhibition de chaque antibiotique et en se référant aux recommandations de (CLSI, 2009) pour interpréter la sensibilité ou la résistance de chaque antibiotique.

3. Tests de détection des souches BLSE (β -lactamases à spectre étendue)

Les BLSE sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A (À l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, céphalosporines de première, deuxième, troisième et quatrième génération (céfépime ou ceftiofame) et l'aztréonam, elles sont inhibées in vitro par les inhibiteurs des β lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam).

Les souches BLSE sont mises en évidence par la recherche d'une synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de troisième génération selon la technique suivante :

3.1.Principe du test de la synergie :

Le test de synergie permet la détection de β -lactamases à spectre étendue chez les Salmonelles. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par la méthode des disques, qui consiste à rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de β -lactamase (AMC : Amoxicilline + acide clavulanique) et les disques de céphalosporines de troisième génération (cefotaxime, ceftazidime et céfépime) et l'aztréonam. Cette image dite en "bouchon de champagne".

3.2.Technique:

La recherche de β -lactamase à spectre étendue est faite dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis en disposant les disques d'ATB: un disque d'Amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10) et les disques de C3G (CTX 30 μ g, FEP 30 μ g, CAZ 30 μ g) et l'aztréonam (ATM 30 μ g) à une distance de 20 à 30 mm sur les boîtes de Pétri (Figure N°5).

Incubation pendant 18 heures à 37°C $\pm$ 1°C.

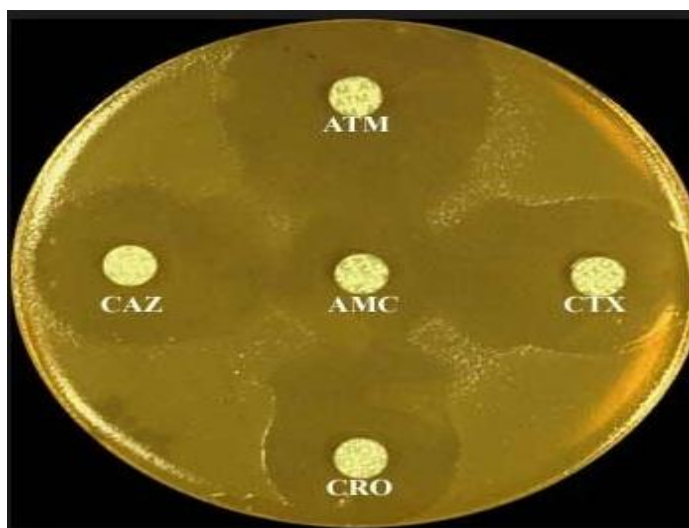


Figure 4 : Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de synergie.

3.3.Lecture

La production des enzymes BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et les C3G.

Schéma d'antibiogrammes est illustré dans l'annexe 3

4. Les antibiotiques utilisés

Le choix des antibiotiques a été orienté selon leur utilisation dans l'antibiothérapie humaine et vétérinaire contre les salmonelloses et selon les recommandations de l'OMS. Lors de cette étude nous avons utilisé les disques d'Oxoid (Dardilly Cedex, France) (Tableau 3).

5. Contrôle qualité interne de l'antibiogramme

Un contrôle qualité interne a été réalisé en utilisant la souche de référence *Escherchia coli* ATCC 25922. L'obtention des zones d'inhibition dont les diamètres sont incluses dans les limites acceptables des diamètres d'inhibition obtenue par diffusion sur milieu gélosé de MH pour cette souche de référence, établies par CLSI indique la validité des résultats obtenus pour chaque souche de Salmonelles testée dans les mêmes conditions qu'E.coli. Les valeurs limites établis par CLSI en 2009 pour *E.coli* ATCC 25922 sont représentées dans le tableau 3.

Tableau 2: Diamètre critique des antibiotiques à tester sur les Entérobactéries entre autre les salmonelles et les limites acceptable pour *E.coli* ATCC 25922 (CLSI, 2009).

Antibiotique	Code du disque	Charge du disque µg	Diamètre critique définis pour les Entérobactéries (mm)			Limite acceptable pour <i>E.coli</i> ATCC 25922
			R	I	S	
Ampiciline	AMP	10	≤13	14-16	≥17	16-22
Amoxicilline	AMC	20/10	≤13	14-17	≥18	18-24
Céfotaxime	CTX	30	≤14	15-22	≥23	19-35
Céftriaxone	CRO	30	≤13	14-20	≥21	29-35
Céftazidime	CAZ	30	≤14	15-17	≥18	25-32
Gentamicine	CN	10	≤12	13-14	≥15	19-26
Streptomycine	S	10 ≤	≤11	12-14	≥15	13-15
Chloramphénicole	C	30	≤12	13-17	≥18	21-27
Tetracycline	TE	30	≤14	15-18	≥19	18-25
Triméthoprim	W	5	≤10	11-15	≥16	21-28
Sulfaméthoxazol/Triméthoprim	SXT	23.7/1.25	≤10	11-15	≥16	23-29
Acide Nalidixique	NA	30	≤13	14-18	≥19	22-28
Ciprofloxacine	CIP	5	≤15	16-20	≥21	30-40
Spéctinomycène	SH	5		18		18
Cefiofur	EFT	10	≤ 25	26-31	≥ 32	26-31
Imipénème	IPM	30	13	14-15	16	16-22

3^{ème} PARTIE :
Résultats et
Discussion

Résultats

Le traitement des résultats de la sensibilité aux antibiotiques a porté sur toute la collection de 299 souches de *Salmonelles* qui ont été stockées à l'Institut National d'Hygiène, au Département de Microbiologie et Hygiène Alimentaire (MHA) entre l'année 2006 et 2014.

1. Résultats de l'antibiorésistance des souches de salmonelles d'origine alimentaire isolées entre l'année 2006-2014

Un total de 124 souches de *Salmonella enterica* a été isolé à partir de différents produits alimentaires reçus au laboratoire (MHA) entre l'année 2006- 2014.

L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des aliments est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé en testant 16 antibiotiques mais l'interprétation des résultats est focalisée principalement sur les résultats des antibiotiques qui ont un intérêt thérapeutique, l'antibiothérapie humaine et vétérinaire contre les salmonelloses.

Ces antibiotiques sont les suivants : Ampicilline (10), Amoxicilline + acide clavulanique (20/10), ceftazidime (30), Cefotaxime (30), Céftriaxone (30), Chloramphenicol (30), Triméthoprim/ Sulphaméthoxazole (1,25/23,75), Streptomycine (10), (300), Tétracycline (30), Ciprofloxacine (5) et Acide nalidixique (30).

Les résultats de pourcentage de la résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques testés, isolées à partir des produits alimentaires est présenté dans la figure 3

Tableau 3 : Pourcentage de la résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques testés isolées à partir des produits alimentaires entre l'année 2006-2014

	Année							Total %
	2006	2009	2010	2011	2012	2013	2014	
Antibiotiques								
NA	20,51	13,63	61,53	23,07	25	33,33	30,47	25,20
TE	20,51	18,18	35,71	19,23	25	33,33	15,38	28,58
AMP	35,89	9,09	7,69	3,84	25	33,33	15,38	19,34
AMC	20,51	4,45	7,69	38,46	0	0	7,69	17,07
CAZ	0	0	2,22	0	0	0	4,54	1,61
CRO	0	0	2,22	0	0	0	4,54	1,61
CTX	0	0	0	0	0	0	0	0
CIP	5,2	9,09	7,69	15,38	0	0	7,69	6,50
S	0	18,18	28,57	19,23	0	0	23,07	8,94
C	2,56	0	7,69	0	0	0	0	1,62
SXT	7,69	9,09	28,57	11,53	0	0	23,07	8,06

Cip (Ciprofloxacin), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acid. Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (Nalidixique), Te (Tétracycline), C (Chloramphénicol), Sxt (Sulfaméthoxazole-Triméthoprime), S (Streptomycine),

D'après ces résultats on remarque que 54,83 % (68/124) des souches de salmonelles analysées étaient sensibles à tous les antibiotiques testés, 45,16% (56/124) présentaient une résistance à au moins un antibiotique, tandis que 33,06% (41/124) sont multirésistantes (résistantes à au moins 3 antibiotiques).

L'antibiorésistance des souches de salmonelles (n = 124) a révélé que le pourcentage le plus élevé a été observé pour la tétracycline (28,58%), suivi de l'acide nalidixique (25,20%), l'Ampicilline (19,34%), l'AMC (17,07%), alors que la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération, Streptomycine et Sulphoxazole/triméthoprime reste faible tandis qu'aucune souche de salmonelle n'a été résistante aux chloramphénicol depuis 2011.

Mais on peut noter que dans notre collection on a un pourcentage respectivement de 2,2 % et 4,5% pour les années 2010 et 2014 de souches qui ont été résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération, qui représente l'antibiotique de choix pour les salmonelloses chez l'adulte. D'après le test de sensibilité aux antibiotiques, on a pu dégager les profils de résistances par sérovar trouvé (Tableau 4).

On remarque une diminution de la résistance au ciprofloxacine passant de 15, 38% en 2011 à 7,69 % en 2014. Ceci peut être expliqué par le respect de la réglementation en vigueur de l'utilisation des antibiotiques dans les différentes filières animales qui interdisent l'utilisation abusive de certains antibiotiques comme facteur de croissance et comme traitement prophylactique.

Tableau 4 : Profils de résistance de *Salmonella enterica* (n=124) isolés à partir des produits alimentaires entre l'année 2006-2014

Sérotypes	profils de résistance	MDR	Souches multirésistantes
<i>S.entéritidis</i>	Na, S, Te, Sxt (4)		*
	Na, Te, Sxt (3)		*
	Amp, Te, Na,		*
	Na, Te, Amp, Sxt		*
	Amp, Amc, Sxt, C	MDR	*
	Na, S, C		*
	Amp, na, Sxt		*
	Sxt, Na, Amp (2)		*
	S		
	Na, te		
	S(2)		
	Na (5)		
	Amp		
<i>S.typhimurium</i>	S, Amp, Na		*
	S, C, Na, Amp		*
	Amc, C, Amp		*
<i>S.kentucky</i>	Na, Sxt (2)		*
	Cip,s, Na, Te, Amp, Amc		*
	Cip, Na, Cro, Caz		*
	Cip, Amp, Amc, TE		*

<i>S.groupe II</i>	Na, Te, S, Amp		*
	Na, Te, Cro, Caz		
	Amp, Amc		
	Na		
<i>S.istanbul</i>	Amp, Amc, Na, Te		*
<i>S.sanktmark</i>	Na Sxt Cip Te		*
<i>S.sanktmark</i>	Amp, Amc, Na		*
<i>S.avonmouth</i>	Amp, Amc, Na		*
<i>S.tounouma</i>	Amp, Te, Cip, Sxt, Na, S		*
<i>S.autre sérotype</i>	AMC(7), AMP(4)		*

Cip (Ciprofloxacin), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicillin + acide Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tétracycline), C (Chloramphénicol), Sxt (Sulfaméthoxazole-Triméthoprime), S (Streptomycine),

On remarque que la résistance aux antibiotiques a été identifiée principalement chez *Salmonella Enteritidis* suivis de *Salmonella Kentucky*, *Salmonella groupe II* et *Salmonella typhimurium* alors que les autres sérotypes présentent une résistance faible vis-à-vis des antibiotiques étudiés.

Un total de 59,37% souches de *Salmonella enteritidis* se sont révélées résistantes à l'acide nalidixique, 28,12% à la tétracycline et 31,25% à la Sulfaméthoxazole-Triméthoprime alors que 37,5 pour cent des *Salmonella Kentucky* sont résistantes à la ciprofloxacin, Ampicilline et l'acide nalidixique avec 1,61% (2/124) souche productrice de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) représentées par *Salmonella Kentucky* et *Salmonella enteritidis*.

Un total de 124 souches de salmonelle répartie en 9 sérotypes, 32 phénotypes de résistance ont été trouvés. Seulement une souche de *Salmonella enteritidis* s'est révélé MDR (résistante à la fois aux chloramphénicol, ampicilline et Sulfaméthoxazole-Triméthoprime).

2. Les résultats d'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des produits alimentaires incriminés dans les TIAC entre l'année 2006 et 2014

Dans le cadre des investigations des toxi-infections alimentaires, un total de 31 TIAC due à *Salmonella* a été confirmé à l'INH entre 2006 et 2014, avec 15 souches de *Salmonella*

enteritidis et 7 souches de *Salmonella typhi* qui ont été isolées à partir des aliments et des eaux entre l'année 2006- 2014.

L'étude de la sensibilité de ces souches de salmonelles aux antibiotiques a révélé que 37 % (11/31) des souches de salmonelles sont sensibles à tous les antibiotiques testés et 63,33% (19/31) des souches de salmonelles résistantes au moins à un antibiotique. Le taux de la résistance des serovars de salmonelles est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Taux de résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques

ATB	Sérotype						Total
	Enteritidis n=15	Typhi n=7	Groupe II n=3	Saintpaul n=1	Malmoe n=1	Rawach n=1	
AMP	0	28,57	33,33	0	100	100	16,66
AMC	20	42,85	0	0	0	0	19,35
TE	6,66	0	33,33	0	0	0	6,66
NA	53,33	0	33,33	100	100	0	36,66
CIP	0	0	0	0	0	0	0
CRO	0	14,28	0	0	0	0	3,33
CTX	0	0	0	0	0	0	0
CAZ	0	14,28	0	0	0	0	3,33
S		14,28	33,33	0	0	0	6,66
C	0	0	0	0	0	0	0
SXT	0	0	0	0	0	0	0

ATB (Antibiotique), Cip (Ciprofloxacin), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acid. Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycine),

On remarque qu'aucune souche de salmonelles n'a été résistante aux chloromphenicol et aux Cefotaxime tandis qu'une souche de *Salmonella typhi* a montrée une résistance à la Ceftazidime et aux Ceftriaxone.

D'après les résultats du test de sensibilité aux antibiotiques, on a pu lister les phénotypes de résistance par sérovars trouvés (Tableau 6).

Tableau 6 : Profils de résistance de *Salmonella enterica* (n=31) isolées à partir des produits alimentaires incriminés dans les TIAC entre l'année 2006 et 2014

Sérotypes	Profils de résistance	MDR	Souches multirésistantes
<i>S.enteritidis</i>	Amc, s Amc, Te NA (7)		
<i>S.typhi</i>	S, CAZ, Cro Amp, Amc		*
<i>S.groupe II</i>	Amp, Na, Te		*
<i>S.saintpaul</i>	Na		
<i>S.rawach</i>	Amc, Amp		
<i>S.malmoe</i>	Amp, Na		

Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acid. Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicole), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprine), S (Streptomycine), *(Souches multirésistantes).

D'après 31 souches de salmonelles on a listé 8 profils de résistance avec la dominance de la résistance à l'acide nalidixique chez *Salmonella enteritidis* tandis que *Salmonella winneba* et *Salmonella kentucky* sont sensibles à tous les antibiotiques testés alors que 7 % (2/31) souches sont multirésistantes.

2.1. Pourcentage des aliments contaminé par les salmonelles résistantes

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont des accidents aigus d'intoxication consécutifs à l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries dont le pourcentage des aliments contaminées par les salmonelles résistant est illustré dans la figure suivante.

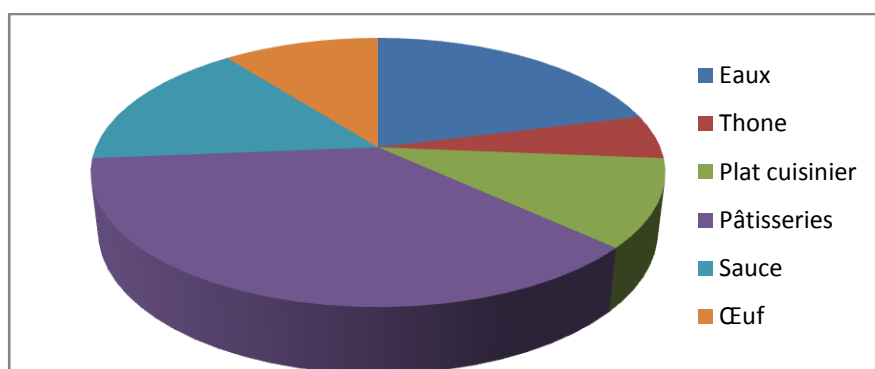


Figure 5 : Pourcentages des aliments contaminés par les salmonelles résistantes

On remarque que les eaux et surtout les eaux de puits non traitées, ainsi que les pâtisseries qui sont généralement préparés à base d'œufs, sont les plus incriminés et source de salmonelles résistantes à au moins un antibiotique

3. Résultat de l'antibiogramme des souches de salmonelles isolées à partir des eaux reçues au MHA entre l'année 2006-2014.

Un total de 27 souches de *Salmonella enterica* ont été isolées à partir des échantillons d'eaux reçues au laboratoire de microbiologie d'eau et d'aliments entre l'année 2006- 2014.

L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles aux antibiotiques testés a révélé que 52% (14/27) des souches sont sensibles à tous les antibiotiques testés, 48,14% (13/27) des souches résistantes à au moins un antibiotique alors que 19% (5/27) des souches sont multirésistantes (résistants au 3 ou plusieurs antibiotiques). Le taux de la résistance des serovars de salmonelles est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Taux de résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques testés isolées à l'INH entre l'année 2006-2014

	Sérotype										Total
	T (n=7)	W (n=3)	K (n=2)	G (n=3)	M (n=1)	B (n=1)	P (n=1)	C (n=1)	S (n=1)	R (n=1)	
ATB											
Amp	28,57	33,33	50	0	100	100	0	0	0	100	22,22
Amc	42,85	0	50	0	0	0	0	100	0	100	18,51
Caz	14,28	0	0	0	0	0	0	0	100	0	7,40
Ctx	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,7
Cro	14,28	0	0	0	0	0	0	0	100	0	7,4
Te	0	0	50	0	100	100	0	0	0	0	11,11
Na	0	33,33	100	50	0	100	0	0	100	0	22,22
Cip	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	7,4
Sxt	0	33,33	0	0	0	0	0	0	0	0	3,7
S	14,28	0	0	0	0	100	100	0	0	0	11,11
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

T (Typhi), W (Winneba), K (Kéntucky), M (Muenster), B(Branderbrg), P(Paratyphi B), C (Chester), S(Schwarzengrund), R(Rawach), Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acid. Clavulanique), Amp

(Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycine).

Aucune souche de salmonelle n'a été résistante aux chloromphénicol.

La résistance à l'Ampicilline et l'acide nalidixique est presque commun entre les sérovars trouvés dans les échantillons d'eaux analysés.

100% (n=2) des *Salmonella kentucky* présentent une résistance au ciprofloxacine alors que la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération a été révélée chez la *Salmonella typhi* et *rawach*.

D'après les résultats de la sensibilité des souches de salmonelles aux antibiotiques, on remarque que les sérotype S.Togo, S.Tanger, S.Assine et autre sérotype ne montrent pas de résistance, les profils de résistances et le nombre des MDR des souches de salmonelles résistantes sont représentés dans le tableau suivant (tableau 7)

Tableau 8 : Profils de résistance de *Salmonella enterica* (n=27) isolées à partir des eaux entre l'année 2006-2014

<u>Sérotype</u>	<u>Profile de résistance</u>	<u>MDR</u>	<u>Souches multirésistances</u>
<i>S.muenesrt</i>	S, Amp		
<i>S.brandenburg</i>	Te, Amp, S, Cip, Na		*
<i>S.kentucky</i>	Na, Cip, Te, Amp, Amc		*
	Na, Cip		
<i>S.schwarzengrund</i>	Na		
<i>S.groupe II</i>	Na, CAZ		
<i>S.typhi</i>	Amc, Amp		
	Amc		
	S, Ctx, CAZ		*
<i>S.rawash</i>	Amp, Amc, Cro, Caz		*
<i>S.winneba</i>	Sxt, Na, Amp		*

ATB (Antibiotique), Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acid. Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycine), * = Souches multirésistantes, MDR(Multidrug Resistance).

4. Résultat de l'antibiorésistance des souches de salmonelles isolées au cours des études réalisés au sein du laboratoire (MHA) entre l'année 2006-2014

Des souches de salmonelles sont isolées au cours des études de recherches et de surveillance, établies selon l'approche d'évaluation des risques sanitaires liés aux denrées alimentaires, développées au laboratoire dans le cadre du suivi de certaines filières à risque (dindes, poulet, viandes rouges, moules), et ceci en collaboration avec les Universités, ONSSA, INRA. Les volets de recherche sont focalisés principalement sur les secteurs suivants :

- Secteur halieutique
- Secteur de volaille
- Secteur de viande et charcuterie

4.1. L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des produits de mers

Un total de 65 souches de salmonelles ont été isolées à partir de divers produits de pêche (huître, moule vernis...) au cours des études de recherches. Le test de sensibilité des souches de salmonelles aux antibiotiques montre les résultats suivants :

77 (51/65) des souches de salmonelles isolées sont sensibles à tous les antibiotiques testés et 23,07% (14/65) sont résistantes au moins à un antibiotique.

Le taux de résistance des salmonelles isolées à partir des produits de pêches est illustré dans la figure suivantes :

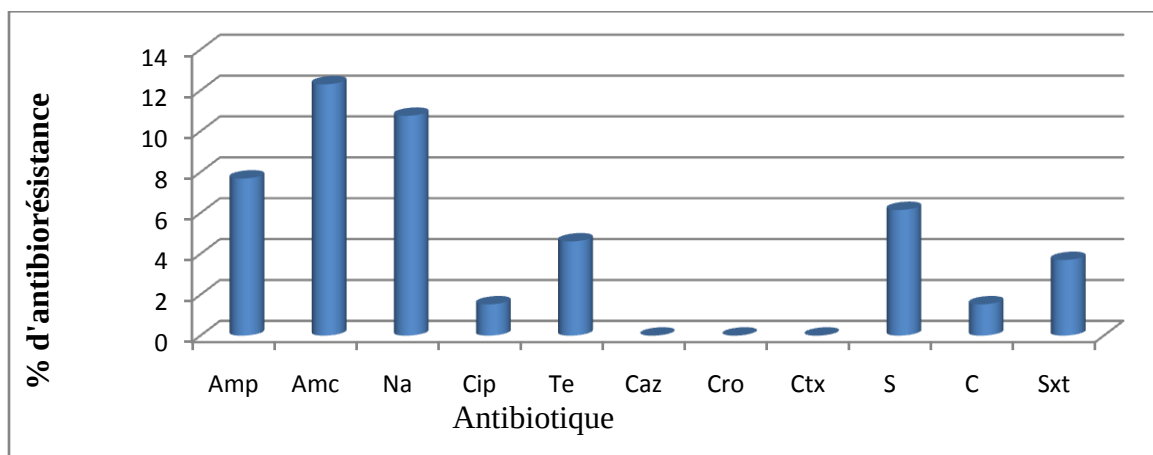


Figure 6 : Taux de résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques testés

Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acide Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycine),

D'après les résultats d'antibiorésistance on remarque qu'aucune souche de salmonelle n'a été résistante aux céphalosporines de 3^{ème} génération, une souche de *Salmonella djugu* est

résistante au ciprofloxacine alors que la résistance aux autres antibiotiques est presque commune entre les autres sérovars trouvés.

D'après les résultats de la sensibilité des souches de salmonelles aux antibiotiques, on observe que (79,31%) *Salmonella chester*, *Salmonella. Salmonella dortmund* et *Salmonella braenderup* sont sensibles à tous les antibiotiques testés tandis que les 7 sérovars résistants présentent les profils de résistances suivants (Tableau 11).

Tableau 9 : Profils de résistances de *Salmonella enterica* (n=65) isolés à partir des produits de pêches entre l'année 2006-2014

<u>Sérovar</u>	<u>Profile de résistance</u>	<u>MDR</u>	<u>Souches multirésistances</u>
<i>S.djugu</i>	Amp, Amc, Cip, Te,		*
<i>S.lamberhurst</i>	Amp, S, Amc, Na		*
<i>S.lamberhurst</i>	Amp, Amc, Na		*
<i>S.calabar</i>	Amc, C, Te, Sxt, NA	MDR	*
<i>S.lamberhurst</i>	Amp, NA		
<i>S.anatum</i>	Amp, NA		
<i>S.papuana</i>	Amc, NA		
<i>S.kentucky</i>	Te, Sxt		
<i>S.chester</i>	Amc (3)		
	S(3)		

Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acide Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acid acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycin), MDR (multi drug), * = Souches multirésistances

Une souche de salmonelle a été révélée MDR et représentée par le sérovar *S.calabar* tandis que 6,15 % (4/65) sont multirésistantes.

4.2. L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des viandes rouges et charcuteries

Un total de 15 souches de salmonelles ont été isolées à partir de viande et des produits de charcuteries (cacher, saucisse).

Les résultats ont montrés que 13 % (2/15) des souches de salmonelles sont sensibles à tous les antibiotiques testés, 87% (13/15) sont résistantes au moins à un antibiotique. Le taux de la résistance des serovars de salmonelles est illustré dans la figure suivante :

Tableau 10 : Taux de résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques testés isolées à l'INH entre l'année 2006-2014

ATB	Sérovars									Total
	B n=3	G.II n=1	E n=1	L	T n=2	K n=1	C n=1	P n=1	S n=2	
NA	100	100	100	0	50	0	0	100	50	53,3
TE	100	0	0	0	50	0	0	100	0	40
AMP	100	0	0	0	100	100	100	0	0	46,66
AMC	33,33	0	0	0	0	0	100	0	0	13,33
CAZ	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
CRO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CTX	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0
CIP	100	50	0	0	50	0	0	0	0	26,66
S	33,33	0	0	100	0	0	0	100	0	20
C	0	0	0	0	50	100	0	100	0	6,66
SXT	0	0	0	100	50	100	0	0	0	20

ATB (Antibiotique), B(Bonariensis), G.II(Salmonelladu groupe II), E(Enteritidis), L(Lomalinda), T(Typhimirium), K(Kentucky), C(chincol), P(paratyphi A), S(Suberu), Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acide Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicole), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprine), S (Streptomycine).

D'après le test de synergie on remarque que une souche de *Salmonella kentucky* productrice de beta lactamase à spectre étendue est résistante à la fois aux Ceftazidime et aux Ceftriaxone. La résistance à l'acide nalidixique est de l'ordre de 53,3%, 46,66 % à l'ampiciline et 26,66% au ciprofloxacine.

Les résultats d'antibiogramme des salmonelles aux antibiotiques ONT permis de lister les profils de résistances trouvés chez les 15 souches de salmonelles isolées (Tableau 11).

Tableau 11 : Profils de résistances de *Salmonella enterica* (n=65) isolé à partir des viandes rouges et charcuteries entre l'année 2006-2014

sérotyp	profile de résistance	MDR	
<i>S.Bonariensis</i>	Cip, Amp, Na, Te, Amc		*
	Cip, Amp, Na, Te		*
<i>S.Lomalinda</i>	Sxt,S		*
	Cip,Amp,Na,Te,S		*
<i>S.du groupe II</i>	Na, Cip		
<i>S.du groupe II</i>	Na		
<i>S.Typhimirium</i>	Amp, Cip, C, SXT,Te, Na	MDR	*
<i>S.Typhimirium</i>	Na, Te		
<i>S.Kentucky</i>	C, Amp, Sxt	MDR	*
<i>S.chincol</i>	Amp, Amc		
<i>S.Suberu</i>	Te, Na, S, Sxt		*
<i>S.paratyphi A</i>	Te, Na, S, Sxt		*
<i>S.Enteritidis</i>	Na		

ATB (Antibiotique), Cip (Ciprofloxacine), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acide Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicole), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprine), S (Streptomycine),

Les 15 souches de salmonelles ont montrés au total 9 profils d'antibiorésistance dont 13,4 % des souches de salmonelles isolées sont des MDR et présenté par le sérotype Typhimirium et Kentucky tandis que 53,4 % (8/15) des souches de salmonelles sont multirésistantes.

4.3. L'étude de la sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des volailles

Un total de 68 souches de salmonelles ont été isolées à partir de poulet et de dinde.

Les résultats montrent que 25 % (17/68) des souches de salmonelles isolées sont sensibles à tous les antibiotiques testés, 75% (51/68) sont résistantes au moins à un antibiotique. Le taux de la résistance des serovars de salmonelles est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Taux de résistance des souches de salmonelles aux antibiotiques testés entre l'année 2006-2014

	Sérovars						Total%
	K n=27	E n=4	T n=3	P n=7	S n=6	M n=6	
ATB							
NA	77,77	50	0	14,28	16,66	5	47,69
TE	22,22	25	66,7	71,42	50	50	26,68
AMP	44,44	0	33,33	42,85	0	16,66	25
AMC	29,62	0	33,33	0	0	16,66	14,70
CAZ	0	0	0	0	0	0	0
CRO	0	0	0	0	0	0	0
CTX	0	0	0	0	0	0	0
CIP	100	0	0	0	0	16,66	41,17
S	66,66	0	0	42,85	16,66	16,66	33,82
C	3,7	0	0	0	0	0	1,47
SXT	3,7	0	0	14,28	50	0	7,35

ATB (Antibiotique), K(Kentucky), E(Enteritidis), T(Typhimurium), P(Parkroyal), S (Saintpaul), M (Munester)Cip (Ciprofloxacin), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acide Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycine).

D'après ces résultats, on remarque une haute résistance chez *Salmonella kentucky* à la ciprofloxacin de l'ordre de 100%(27/27), à l'acide nalidixique de l'ordre de 77,77% (21/27) et à la Streptomycine de l'ordre de 66,66% (18/27). Aucune souche de salmonelle n'a été résistante aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

Les phénotypes de résistances trouvés chez souches isolées sont les suivants (Tableau 13):

Tableau 14: Profils de résistances de *Salmonella enterica* (n=68) isolées à partir des volailles (viande de poulet) entre l'année 2006-2014

Sérotype	phénotype de résistance	MDR	Souches multirésistances
<i>S.kentucky</i>	Cip, Te, C, Amc,Amp, Sxt	MDR	*
	cip, Te, C, Amc,Amp(2)		*
	Cip, Na, Amc, S,Amp		*
	Cip, Na, Amc, ,Amp(3)		*
	Cip, Na, S, Amc(2)		*
	Cip, Na,S, Amp		*
	Cip,Te, S, Sxt		*
	Cip, Na, S,		*
	Cip, Na, S (5)		*
	Cip, Te, Na(2)		*
	Cip, Na, Amp		*
	Cip, Sxt, S		*
	Cip, Amc, AMP(2)		*
	Cip, Te,S		*
	Cip, Amp		
	Cip(2)		
<i>S.enteritidis</i>	Na(2)		
	Te		
<i>S.typhimurium</i>	Amp,Amc		
<i>Saintpaul</i>	Te, Sxt		
	Te, Sxt,S		*
	Te		
	Na		
	Sxt		
<i>S.parkroyal</i>	Cip, Na, S, Amp		*
	Cip,Na, s		*
	Na, S		
	Te, Amp		
	Te(2)		
<i>S.munester</i>	Cip, Te, S, Amp		*
	Amp,Te		

(Antibiotique), Cip (Ciprofloxacin), Caz (Ceftazidime), Ctx (Cefotaxime), Cro (Ceftriaxone), Amc (amoxicilline + acid. Clavulanique), Amp (Ampicilline), Na (acide nalidixique), Te (Tetracycline), C (Chloramphenicol), Sxt (Sulfamethoxazole-Trimethoprim), S (Streptomycine) MDR (Multidrug Resistance).

Un total de 68 souches de salmonelles réparties en 7 serovar, avec 31 phénotypes de résistances ; une dominance du phénotype (Cip, Na, S) a été observé pour le sérovar de *Salmonella Kentucky*.

Seulement une souche de *Salmonella kentucky* s'est révélée MDR, résistante à la fois aux chloramphénicol, ampicilline et Sulfamethoxazole-Trimethoprim qui sont des antibiotiques de choix pour le traitement des salmonelloses. Alors que 26,5 % (18/86) sont des souches multirésistantes.

I. Discussion

Les maladies d'origine alimentaire causées par les salmonelles représentent un problème majeur de santé publique dans le monde entier.

La résistance aux antibiotiques représente un danger pour la santé humaine et un réel problème de santé publique, dès lors que cette résistance est de plus en plus régulière et en augmentation (Varma *et al*, 2005).

L'analyse des souches de salmonelles isolées à partir de viande de dinde a montré différents sérotypes dont *Salmonella Kentucky* était le plus répandu 40% (27/68). Ces résultats sont proches de ceux signalés dans d'autres études qui montrent un taux important d'isolation de *Salmonella kentycky* de l'ordre de (33,8%) (El Allaoui *et al*, 2014).

Dans notre collection nous avons trouvé un taux de résistance qui est de l'ordre de 100% (27/27) pour les fluoroquinolones chez *Salmonella Kentucky* isolés à partir de viande de dinde. La présence des souches résistantes aux fluoroquinolones est assez inquiétante, car ces antibiotiques représentent le traitement de choix pour les infections graves à salmonelle chez l'adulte (Bouchrif *et al*, 2008). cet résultats sont similaire à ceux d'une étude qui a montré une résistance aux ciprofolxacin de l'ordre de 100% (21/21) (El Allaoui *et al*, 2014).

Les souches de salmonelles isolées à partir de viande de dinde ont révélés une résistance à l'acide nalidixique de l'ordre de 40% (32/68) dont le sérovars Kentucky est le plus résistant ave un pourcentage de 77,77% (21/68), ces résultats sont en accord avec d'autres études qui ont souligné l'augmentation de la résistance à l'acide nalidixique de l'ordre de 44.3% (Van *et al*, 2007; Kwai *et Shabnam*, 2011). Cette résistance peut être expliquée d'une part par les mutations chromosomiques dans le gène codant pour l'ADN gyrase (Cloeckaert *et Schwarz*, 2001) et d'autre part par à l'utilisation massive des quinolones dans les élevages aviaires (Usera *et al*, 2002).

Ces taux de résistance utilisés dans notre étude sont en accord avec d'autres études qui ont souligné l'augmentation de la résistance à la ciprofloxacin (Cailhol *et al*, 2006 ; Cui *et al*, 2008; Lecoanet, 1992; Yang *et al*, 2010) et à l'acide nalidixique cette qui est réspictivement de l'ordre de 35% et 44,3% (Van *et al*, 2007) (Kwai *et Shabnam*, 2011).

Au Maroc, une évaluation de la sensibilité des souches de salmonelles d'origine alimentaire a montré des taux de résistance très élevés aux quinolones chez *Salmonella* sérovar Kentucky (Bouchrif et al, 2009).

Récemment, des études ont rapporté l'émergence du sérotype Kentucky résistant aux fluoroquinolones à travers plusieurs pays tels que la France (Weil et al, 2006), Belgique (Collard et al, 2007), Ethiopie (Aragaw et al, 2007; Molla et al, 2006), Maroc (Bouchrif et al, 2008) et Slovénie (Majtán et al, 2006).

L'enquête épidémiologique de l'institut Pasteur a montré l'isolement de ce clone de *S. Kentucky* résistante à la ciprofloxacine chez les volailles dans trois pays d'Afrique (Ethiopie, Maroc, et le Togo) (Le Hello et al, 2011), suggérant ainsi la volaille comme vecteur important de la dissémination de ce clone.

Dans notre étude, 28,58% des souches de salmonelles isolées à partir des produits alimentaires sont résistantes à la tétracycline qui sont des anciennes molécules largement utilisées et cette résistance a été rapportée dans plusieurs travaux concernant les volailles et les produits avicoles (Manie et al, 1998 ; Nayak et al, 2004 ; Elgroud et al, 2009).

La contamination de viande de poulet par des souches de salmonelle résistantes aux antibiotiques est un problème sérieux pour la santé publique et la sécurité alimentaire.

La résistance aux chloramphénicoles est très réduite qui est de l'ordre de 1,62 % chez les souches isolées à partir des denrées alimentaires. Cette résistance n'a pas été montrée depuis 2011, ceci peut être expliqué par le respect de la réglementation en vigueur de l'utilisation des antibiotiques dans les différentes filières animales qui interdisent l'utilisation abusive de certains antibiotiques comme facteur de croissance et comme traitement prophylactique.

D'après nos résultats on a révélé la résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération. Les souches résistantes sont isolées à partir des produits alimentaires et des eaux au cours des analyses de recherche. Cette résistance est respectivement de l'ordre de 1,66% et 3,33%. La résistance des salmonelles à ces antibiotiques est très inquiétante car ils sont le traitement de choix pour des infections graves de salmonelloses.

L'expansion de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième et quatrième générations (C3G/C4G) constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibiorésistance humaine et animale. Cette résistance est principalement assurée par la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et - dans une moindre mesure en Europe - de céphalosporinases plasmidiques (AmpC).

Ces enzymes confèrent une résistance élevée à la plupart des bêta-lactamines thérapeutiques (à l'exception notable des carbapénèmes chez l'Homme), et leurs gènes, principalement localisés sur des plasmides, diffusent très facilement entre bactéries.

La sélection de ces gènes est sans doute très largement à mettre en regard avec l'usage des C3G/C4G en médecine humaine et vétérinaire, même si leur co-sélection par d'autres antibiotiques (tétracyclines ou sulfamides chez l'animal) est probablement aussi une réalité.

La résistance aux C3G/ C4G chez *Salmonella* reste un enjeu majeur de santé publique. Ce point est d'autant plus vrai que le traitement des salmonelloses humaines sévères n'est principalement fondé que sur deux antibiotiques (C3G et fluoroquinolones). En fin, il est clair qu'une diminution de l'usage des C3G/C4G chez l'animal constitue l'un des leviers importants pour réduire la prévalence de ces enzymes

Dans notre étude on a trouvés des souches multirésistantes, l'augmentation de ces souches multirésistantes et leurs extensions mondiales depuis 1990 deviennent une préoccupation première des responsables des établissements de la santé publique.

❖ les résultats de TIAC

l'eau constitue à l'heure actuelle la source naturelle la plus indispensable mais aussi la plus menacée par les activités humaines (Afri-Mehennaoui *et al*, 2009). Les *Salmonelles* sont des agents étiologiques de la salmonellose humaine d'origine alimentaire, et pourtant, certains sérotypes sont les agents de maladies graves comme la fièvre typhoïde et paratyphoïde (Levantesi *et al*, 2012).

Les eaux de surface sont particulièrement exposées à la pollution due aux effluents industriels, urbains et agricoles. Ces effluents contiennent généralement un mélange de bactéries non pathogènes et pathogènes et sont responsables de plusieurs maladies humaines (Mansilh *et al*, 2010).

Au Maroc, comme dans les pays en voie de développement les maladies d'origine hydrique sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé des populations (Bou Saab *et al*, 2007).

Lors de cette étude on remarque la contamination des échantillons d'eaux analysées par *Salmonella typhi* avec un pourcentage de l'ordre de 25% et les *Salmonella typhi* reste les premiers agents bactériens responsables des Toxi-infection Collectives au Maroc.

Ces TIAC représentent une lourde charge économique pour la santé publique au Maroc.

La contamination des eaux par *Salmonella typhi* est expliquée par l'intermédiaire d'objets souillés par les selles d'un porteur ou d'un malade atteint de fièvre typhoïde ou de gastro-entérite à *Salmonella typhi*.

La souche de *Salmonella typhi* isolé à partir des eaux a montré une résistance à l'ampicilline et au Streptomycine, ces résultats ont été signalés dans de nombreux pays en développement, en particulier le Pakistan (Karamat *et al*, 1990,. Mandal *et al*, 1990) et l'Inde (Threlfall *et al*, 1991 ; Anand *et al*, 1990 ; Prakash *et al*, 1992).

Une autre étude menée sur l'antibiorésistance des souches de *Salmonella* isolées des eaux de surface a montré une résistance de *Salmonella typhi* aux ciprofloxacine et l'acide nalidixiques, alors que notre étude montre une sensibilité à ces 2 antibiotiques.

L'émergence récente explosive dans les pays en développement de souches de *S. typhi* résistantes à l'ampicilline et ATriméthoprine et Streptomycine a provoqué de nombreux problèmes en santé publique.

La plupart des épidémies de fièvre typhoïde déclarées au Maroc étaient liées à la qualité des eaux de puits non traitées destinées à la consommation humaine.

Cette forte contamination des eaux de puits par *S.typhi* au Maroc oblige les autorités sanitaires d'améliorer les systèmes de traitement des eaux destinées à la consommation humaine afin de diminuer les risques de fièvre typhoïde sur les consommateurs.

On remarque que le sérovar *S.enteritidis* est le sérovar le plus incriminé dans TIAC avec un pourcentage de 55% (17/31), suivi par le sérovar *S.typhi* avec un pourcentage de 23% (7/31).

La prévalence accrue de *S. enteritidis* dans les toxi-infections alimentaires collective (TIAC) diagnostiqués à l'INH, permet de déduire que ce sérotype semble constituer une menace suffisante pour inciter les autorités sanitaires à se pencher sur la connaissance de l'épidémiologie de cette bactérie aussi bien dans les cas sporadiques que dans les cas des toxi-infections alimentaires collectives.

Les produits de charcuterie véhiculent toujours un grand nombre de sérovars dont Typhimurium et Derby représentent respectivement 31,3 % et 15,3 % des souches isolées.

Notre étude a montré une proportion élevée de l'ordre de (53,4 %) des souches de salmonelles isolées à partir des viandes rouges qui se sont révélées résistantes à au moins 3 antibiotiques. Cela peut poser des difficultés dans le traitement des cas cliniques humains et d'autres maladies bactériennes. Ceci est corrélé avec plusieurs études réalisées au Maroc (. Ammari *et al*, 2009), (Le Hello *et al*, 2013).

Dans notre étude une souche de *Salmonella typhimurium* isolé à partir des viande rouge a été révélé MDR résistante à la fois à l'Ampéciline, au chloromphénicol et Sulfamethoxazole-Trimethoprim alors que dans une autre étude menée par Bouchrif *et al*, il a révélé que Cinq souches de *S. Typhimurium* isolées à partir d'échantillons de viande de bœuf sont MDR résistante (Bouchrif *et al*, 2009).

Au cours des dernières années, la résistance aux antibiotiques chez *Salmonella*, en particulier les souches (MDR) est devenue un enjeu majeur de santé publique.

L'apparition de *S. Typhimurium* multirésistante est très répandue en Europe occidentale et orientale, en Amérique du Nord et le Moyen-Orient. Sa présence et sa propagation soulignent l'importance des programmes de surveillance et de contrôle solides au Maroc.

Lors des analyses des produits de mer, on remarque une contamination par différents sérovars avec la prédominance de *S. chester* 36,14 % (30/83) qui est un sérovar rare.

En effet en 2010 selon le CDC *salmonella chester* a causé une TIAC internationale, Quarante-quatre personnes infectées par la souche épidémique ont été signalés dans 18 États.

La présence de *Salmonella* dans les produits de mer est due à la contamination des eaux par les matières fécales qui peut survenir lors de l'épandage du fumier contenant des matières fécales humaines (surtout dans les pays en voie de développement) ou animales (plus fréquent dans les pays industrialisés).

Le test de sensibilité des souches de salmonelles isolées à partir des produits de mer a montré des taux de résistance à l'acide nalidixique de l'ordre de (11%), à la tetracycline (4%), streptomycine (6%) et Sulfamethoxazole-Trimethoprim (6%). Nos résultats présentent des taux faibles de résistance par rapport à une étude menée par (Ibrahimi et al, 2013) qui a pour but d'étudier la prévalence et l'antibiorésistance des salmonelles isolés à partir des poissons, les crevettes, le homard et le crabe (Ebrahimi et al, 2011), cette étude montrent une résistance à l'acide nalidixique de l'ordre (47,4%), suivie par la résistance à la tetracycline (36,8%), de la streptomycine (15,8%), de Sulfamethoxazole-Trimethoprim (15,8%), et la ciprofloxacine (5,3%).

Une souche de *Salmonella calabar* isolé à partir des produits de mer est MDR et la plupart des infections à *Salmonella* MDR sont acquies en mangeant des aliments contaminés d'origine animale (White et al, 2001).

L'utilisation excessive d'antibiotiques dans l'aquaculture peut être un facteur important de l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques dans les fruits de mer (Cabello, 2006). Plusieurs études ont montré la présence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries de fruits de mer produits ou exportés vers les pays développés où l'utilisation abusive d'antibiotiques est signalé (Zhao et al., 2003; Sapkota et al., 2008).

Ceci est particulièrement important à l'Est de l'Asie et au Sud-Est, où la grande majorité de la production et de la consommation est basé sur les produits de mers.

Cette augmentation exige une surveillance épidémiologique au Maroc, un respecter des bonnes pratiques de soins et l'application des mesures standards et complémentaires d'hygiène comme base essentielle et primordiale de toute stratégie de lutte contre ce fléau mondial

Conclusion

En conclusion, les résultats trouvés dans le cadre de cette étude ont montré une fréquence important des souches avec une résistance multiple aux antibiotiques, en particulier à l'acide nalidixique, tétracycline, ampicilline et à ceux utilisés dans le traitement des infections humaines à *Salmonella*, chlorompphénicoles, Sulfamethoxazole-Trimethoprim et ampicilline qui permet de prévoir les types de transfert de la contamination et le facteur de résistance entre les bactéries.

Les études épidémiologiques ont montré l'émergence de la résistance aux quinolones de *Salmonella* au Maroc. Il est donc le temps de donner plus d'importance à la sécurité alimentaire et de rationaliser l'utilisation des fluoroquinolones dans la pratique vétérinaire et médicale, de limiter l'émergence de mutants résistants aux quinolones.

L'émergence des souches bêta-lactamase à spectre étendue parmi nos souches de *salmonella* isolées, mais aussi sa présence démontrée dans d'autres régions du pays est une préoccupation de santé publique au Maroc, cela pourrait indiquer la dissémination de ces groupes à travers le pays, et qui pourrait devenir endémique. A l'avenir la mise en œuvre d'une politique stricte de contrôle d'usage abusive et excessive des antibiotiques en médecine animale notamment comme facteurs de croissance, en agriculture , en aquaculture, et en médecine humaine ainsi des enquêtes de sensibilisation auprès de la communauté est de rigueur afin d'éviter la diffusion de ces souches multi résistantes.

Recommandations et perspectives

- ❖ une politique plus prudente en antibiothérapie médicale et vétérinaire pour contenir l'antibiorésistance:
- ❖ l'établissement de systèmes de surveillance de la résistance et de l'utilisation d'agents antimicrobiens.
- ❖ d'instituer des systèmes probants de surveillance de la résistance des salmonelles humaines et non humaines à l'échelon national et maghrébin.
- ❖ Le renforcement des mesures de contrôle des salmonelloses principalement le secteur des viandes.
- ❖ la formation du personnel de la santé à une utilisation rationnelle des antibiotiques.
- ❖ la promotion de projets de recherches d'alternatives thérapeutiques.
- ❖ Contrôler l'utilisation des antibiotiques en réglementant l'usage des antibiotiques susceptibles d'être résistants chez l'Homme, en éduquant et sensibilisant les éleveurs sur les dangers que représentent les résistances aux antibiotiques.

A l'avenir, il serait intéressant d'utiliser des techniques de génotypage des souches pour suivre l'évolution des souches résistantes responsables de la typhoïde et de salmonelloses chez l'homme et l'animal, différencier les souches de même sérotype et identifier l'origine d'une contamination.

Références bibliographiques

- ✓ **Aragaw K., Molla B., Muckle A., Cole L, Wilkie E, et Poppe C. (2007).** The characterization of *Salmonella* serovars isolated from apparently healthy slaughtered pigs at Addis Ababa abattoir, Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, 82, 252–261.
- ✓ **Barrial K., et Scotet J. (2006).** Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. Perspective d'évolution. *Tigaud de bactériologie*, 3-10.
- ✓ **Bäumler A.J, Tsolis R.M, et Heffron F. (1996).** Contribution of fimbrial operons to attachment to and invasion of epithelial cell lines by *Salmonella Typhimurium*. *Infect Immun*, 64:1862-1865
- ✓ **Beceiro A.M, Tomás, et Bou G. (2013).** Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world. *Clin Microbiol Rev.* 26(2): p. 185-230.
- ✓ **Bou Saab H, Nassif N, El Samrani A.G, Rosette D.S, Medawar N. (2007).** suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière NAHR IBRAHIM, LIBAN). *Revue des Sciences de l'Eau*, 20(4) : 341-352.
- ✓ **Bouchrif B, Karraouan B, Ennaji M. M, Timinouni M. (2008).** Quinolones-resistant *Salmonella* spp. in Casablanca - Morocco. *Med Mal Infect*, 38, 615-6.
- ✓ **Bouchrif B, Le Hello S, Pardos M, Karraouan B, Perrier J.D.G.C, Ennaji M.M, Timinouni M., WEILL F.X. (2009):** Ceftazidime-Resistant *Salmonella enterica*, Morocco. *Emerging Inf Dis*, 15, 1693-1694.
- ✓ **Bouchrif B, Paglietti B, Murgia M, Piana A, Cohen N, Ennaji M, Rubino S, Timinoni M. (2009).** Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco. *J infect Dev cties*, 3 : 35-40
- ✓ **Bouzidi N. (2013).** l'épidémiologie des infections des élevages de poules pondeuses des régions d'annaba et el-tarf par les salmonelles : sous-typage moléculaire et mécanismes de résistance aux antibiotiques des souches isolées. p. 54.
- ✓ **Brenner F.W, Villar R.G, Angulo F.J, Tauxe R, Swaminathan B. (2000).** *Salmonella* Nomenclature. *Journal of Clinical Microbiologie*, 38(7), 2465-2467.
- ✓ **Brisabois A, Danan C, Fremy S, Granier S, Moury F, Oudardt C, Piquet C, Pires-Gomes. C. (2006).** Inventaire réseau *Salmonella*. Sérotypage et sensibilité aux antibiotiques. *Maisons-Alfort : AFSSA*, 113p.
- ✓ **Buisson Y. et Teyssou R. (2002).** Les toxi-infections alimentaires collectives. *Revue française des laboratoires*. 348, 61-66.

- ✓ **Burnichon N, Texier A. (2003).** l'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques pp 8-10.
- ✓ **Butt A. A, Aldridge K.E, et al. 2004.** Infections related to the ingestion of seafood Part I: Viral and bacterial infections. *Lancet Infectious Diseases*, 4(4): 201-212.
- ✓ **Cabello F.C. (2006).** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol*, 8, 1137-1144
- ✓ **Cailhol J, Lailier R, Bouvet P, Vieille S.L, Gauchard F, Sanders P et Brisabois A. (2006).** Trends in antimicrobial resistance phenotypes in non-typhoid *Salmonella* from human and poultry origins in France. *Epidemiology and Infection*, (134): 171-178.
- ✓ **Chan K., Baker S, Kim C.C, Detweiler C.S, Dougan G, et Falkow S. (2003).** Genomic comparison of *Salmonella enterica* serovars and *Salmonella bongori* by use of an *S. enterica* serovar Typhimurium DNA microarray. *J Bacteriol*, 185:553-563.
- ✓ **CloECKaert A, et Schwartz S. (2001).** Molecular characterization, spread and evolution of multidrug resistance in *Salmonella typhimurium* DT104. *Vet Res*, 32 (3-4): 301-10.
- ✓ **CNR *Salmonella* (2009).** Institut Pasteur Centre National de Référence *Salmonella* : rapport d'activité annuel 2009. [en-ligne]. Paris, Institut Pasteur, 71p. [<http://www.pasteur.fr/ip/resource/filecenter/document/01s-00004f-0re/ra-cnr-salm2009.pdf>] (consulté le 1er février 2012).
- ✓ **Collectif. (2008).** Résistance des micro-organismes aux agents antibactériens. In Le Manuel Vétérinaire Merck. 3rd ed française, Edition d'Après, Paris, 2053–2054.
- ✓ **Cui S, Li J, Sun Z, Hu C, Jin S, Guo Y, Ran L et Ma Y.(2008).** Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium, China. *Emerging infection Disease.*, 14 (3): 493-495.
- ✓ **Davison H.C, Low J.C, Woolhouse M. E. J. (2000).** What is antibiotic resistance and how can we measure it. *Trends Microbiol*, 8(12), 554–559.
- ✓ **D'Costa V.M, K.M, McGrann D.W, Hughes, et Wright G.D. (2011).** Sampling the antibiotic resistome. *Science* 311: 374-377.
- ✓ **De Jong B, Andersson Y, et al. (2005).** "Effect of regulation and education on reptile associated salmonellosis. *Emerging Infectious Diseases*, 11(3): 398-403.
- ✓ **Dechet A.M, Scallan E, Gensheimer K., Hoekstra R, Gunderman-King J, Lockett J, Wrigley D, Chege W, et Sobel J. (2006).** Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium definitive type 104 infection linked to commercial ground beef, northeastern United States, 2003-2004. *Clin. Infect. Dis*, 42: 747-752

- ✓ **Delma G. (2010).** Surveillance des toxico-infections alimentaires collectives-données de déclaration obligatoire.
- ✓ **Ebrahim Rahimi et Amir Shakirien. (2011).** Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fish, shrimp, lobster, and crab in Iran. *Comp Clin Pathol* 22 :59-62
- ✓ **EFSA (European Food Safety Authority). (2009a).** Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs in the EU, 2008, Part A: *Salmonella* prevalence estimates. *EFSA Journal*, 7(12): 93 pp.
- ✓ **Elgroud et al. (2009).** Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine : Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE.p. 56
- ✓ **Elgroud R, Zerdouni, F, Benazzouz M, Bouzitouna-Bentchouala C, Granier S. A, Frémy, S, et al. (2009).** Characteristics of *Salmonella* contamination of broilers and slaughterhouses in the region of Constantine (Algeria). *Zoonoses and Public Health*, 10, 1863–2387.
- ✓ **European Centre for Disease prevention and Control. (2010).** Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. P 181.
- ✓ **Euzeby J.P. (2010).** Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire (en ligne). Mise à jour le 27 AVRIL 2009. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/index.html> (consulté le 17/04/ 2010).
- ✓ **Fabre L, Zhang J, Guigon G, Le Hello S, Guibert V, Accou-Demartin M et al. (2012).** CRISPR typing and subtyping for improved laboratory garin et al, surveillance of *Salmonella* infections. *Plos One*, 7(5), 1-20
- ✓ **French G. L. (2010).** The continuing crisis in antibiotic resistance. *Int. J.Antimicrob. Ag.*, 36-S3, S3–S7.
- ✓ **Ferron A. (1994).** Chapitre 76 : La résistance des bactéries aux antibiotiques. In *Bactériologie médicale*. 15th ed, Ed. C. et R., Paris, 12 pages.
- ✓ **Foley S.L, Lynne A.M, et al. (2009).** Molecular typing methodologies for microbial source tracking and epidemiological investigations of Gram-negative bacterial foodborne pathogens *Infection, Genetics and Evolution*, 9(4): 430-440.
- ✓ **Frenzen P.D, Riggs T.L, et al. (1999).** *Salmonella* Cost Estimate Updated Using FoodNet Data. *Food.Review*, 22 (2): 10-15.
- ✓ **Gillespies H. (2001).** Antibiotic resistance in the absence of selective pressure. *Int. J.Antimicrob. Ag.* 17, 171–176.

- ✓ **Grimont P.A.D, Weill F.X. (2007).** Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella*. 9ème édition. Paris, Institut Pasteur, Centre collaborateur OMS de référence et de recherche sur les *Salmonella*, 166p.
- ✓ **Grimont A.D.G, et Weill F.X. (2007).** Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th ed. Paris, WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Paris, Institut Pasteur, 166 p.
- ✓ **Grimont P.A.D, et Weill F.X. (2007).** Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. World Health Organization, Geneva, Switzerland
- ✓ **Guardabassi L, et Kruse H. (2008).** Principles of prudent and rational use of antimicrobials in animals, p. 1-12. In L. Guardabassi, L.B. Jensen, and H. Kruse (ed.), Guide to Antimicrobial Use in Animals. Blackwell Publishing, Ames.
- ✓ **Guerin-Fauble V. (2010).** Les mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques. In : Journées nationales GTV, Lille, 26-28 mai 2010, SNGTV, Paris, 93-101.
- ✓ **Guibourdenche M. (2010).** Rapport d'activité. Centre Collaborateur OMS, pour la référence et la recherche des salmonelles. Institut Pasteur de Paris. Résultats non publiés.
- ✓ **Harbottle H, White D.G, et al. (2006).** "Comparison of multilocus sequence typing, pulsedfield gel electrophoresis, and antimicrobial susceptibility typing for characterization of *Salmonella enterica* serotype Newport isolates. *J Clin Microbiol*, 44(7): 2449-57.
- ✓ **Helms M, Vastrup P, Gerner-Smidt P, et K. Molbak. (2002).** Excess mortality associated with antimicrobial drug-resistant *Salmonella Typhimurium*. *Emerg Infect Dis*, 8: 490-495.
- ✓ **Helmuth R. (2000).** Antibiotic resistance in *Salmonella*, p. 89-106. In A, Wray, C. Wray (ed.), *Salmonella* in domestic animals. CABI Publishing, New York.
- ✓ **Hu L, Kopecko D. (2003).** Typhoid *Salmonella*. In: Miliotis N, Bier J (Eds), International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekkers: New York, 151-165.
- ✓ **InVS. (2003).** Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. [en-ligne]. Saint-Maurice, Institut de Veille Sanitaire, 192p.
- ✓ **InVS (2011a).** Surveillance des toxi-infections alimentaires collectives. Données de la déclaration obligatoire, 2009. Saint-Maurice, Institut de Veille Sanitaire, 6p. (consulté le 8 juillet 2012).

- ✓ **Karamat K.A. (1990).** Multiple drug resistant *Salmonella typhi* and ciprofloxacin. In: Proceedings of the 2nd Western Pacific Congress on Infectious Diseases and Chemotherapy. Jakarta, Indonesia, Western Pacific Society of Chemotherapy, 480.
- ✓ **Kariuki S, Gilks C, et al. (1999).** "Analysis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium by phage typing, antimicrobial susceptibility and pulsed-field gel electrophoresis." *Journal of Medical Microbiology*, 48(11): 1037-1042.
- ✓ **Kingsley R.A, et Bäumler A.J. (2000).** Host adaptation and the emergence of infectious disease: the *Salmonella* paradigm. *Mol. Microbiol*, 36: 1006-1014
- ✓ **Korsak N, Clinquart A, Daube G. (2004).** "*Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique". *Les annales de médecine vétérinaire*, 148(4): 174-193.
- ✓ **Kwai L.T, et Shabnam M. (2011)** .Antimicrobial resistant genes associated with *Salmonella* from retail meats and street foods. *Food Research International*, (44): 2641-2646.
- ✓ **Le Hello S, Hendriksen R.S, Doublet B, Fisher I, Nielsen E.M, et al. (2013).** International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin. *J Infect Dis*, 204: 675–684.
- ✓ **Leader B.T, Frye J.G, Hu J, Fedorka-Cray P.J et Boyle D.S. (2009).** High-throughput molecular determination of *Salmonella enterica* serovars by use of multiplex PCR and capillary electrophoresis analysis. *J Clin Microbiol*, 47, 1290-9.
- ✓ **Lecoanet J. (1992).** Colibacilloses aviaires. Manuel de pathologie aviaire, éd .Maison Alfort, : 237 - 240.
- ✓ **Linares J.F, Gustafsson F, Baquero et Martinez J. L. (2006).** Antibiotics as intermicrobial
- ✓ **Levantesi C, Bonadonna L., Briancesco R, Grohmann E, Toze S, Tandoi V. (2012).** *Salmonella* in surface and drinking water; occurrence and water-mediated transmission. *Food Research International*, 45(2): 587-602.
- ✓ **Livermore D.M. (1995).** "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *Clin Microbiol Rev*, 8(4): 557-584.
- ✓ **Livermore D.M. (2003).** "Bacterial Resistance: Origins, Epidemiology, and Impact," An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 36(1): 11–23.

- ✓ **Livrelli V, Boonet R, Joly B, Darfeuille-Michaud A. (2007).** *Escherichia coli* et autre *Escherichia* ,*Shigella*. In Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P, Précis de bactériologie clinique. Edition ESKA, 989-1004.
- ✓ **Majtan V, Majtan T, Szaboova M et Majtanova L. (2006).** *Salmonella enterica* serovar Kentucky: antimicrobial resistance and molecular analysis of clinical isolates from the Slovak Republic. *Japanese journal of infectious diseases*, 59: 358- 62
- ✓ **Mandal B.K. (1990).** Treatment of multiresistant typhoid fever [letter], 336:1383.
- ✓ **Manie T, Khan S, Brozel V.S, Veith W.J, et Gouws P.A. (1998).** Antimicrobial resistance of bacteria isolated from slaughtered and retail chickens in South Africa. *Letter Applied Microbiology*, 26: 253–258.
- ✓ **Mansilh C.R, Coelho C.A, Reinas A, Moutinho A, Ferreira S, Pizarro C, Tavares A. (2010).** *Salmonella*: the forgotten pathogen: health hazards of compliance with European Bathing Water Legislation. *Marine Pollution Bulletin*, 60: 819–826.
- ✓ **Millemann, Y. (1998).** Pathogenic power of *Salmonellae*: virulence factors and study models. *Vet Res*, 29(5): p. 385-407.
- ✓ **Molbak K. (2005).** "Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens." *Clin Infect Dis*, 41 (11): 1613-20.
- ✓ **Molla B, Berhanu A, Muckle A, Cole L, Wilkie E, Kleer J, et al. (2006).** Multidrug resistance and distribution of *Salmonella* serovars in slaughtered pigs. *Journal of Veterinary Medicine, B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, B53, 28–33.
- ✓ **Mouffok F. (2011).** Situation en matière de TIA en Algérie de 2010 à 2011. 2eme congrès Maghrébin sur les TIA, Tunis le 14-15 décembre, 2011.
- ✓ **Moury,F. (2005).** Epidémiologie-surveillance des salmonelles d'origine non humaine. Données récentes du réseau *Salmonella*. *Froid et denrées périssables*, n° 1053: 47-52.
- ✓ **Nayak R, Stewart T, Wang R.F, Lin J, Cerniglia C.E, Kenney P.B. (2004).** Genetic diversity and virulence gene determinants of antibiotic-resistant *Salmonella* isolated from preharvest turkey production sources. *Int. J. Food Microbiol*, 91: 51–62.
- ✓ **Neely A.N, et Holderia. (1999).** Antimicrobial resistance. *Burns*, (25), 17–24
- ✓ **Nordmann P, Poirel L. (2002).** Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect*. 8:321–31.
- ✓ **OIE. (2008).** *Salmonellosis*, in *Manuel terrestre de l'OIE*.. p. 1387-1405.

- ✓ OMS. (2012). Site de l'Organisation Mondiale de la Santé. Salmonelles multi-résistantes. Aide-mémoire n°139.
- ✓ OMS. (2013). Infections à *Salmonella* (non typhiques).
- ✓ Peña C, Gudiol C, Calatayud L, Tubau F, Domínguez M, Pujol M, Ariza J, et Gudiol F. (2008). Infections due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamase among hospitalised patients: factors influencing mortality. *J Hosp Infect*, 68:116-122
- ✓ Ploy M, et al. (2005). Les intégrons en tant que support génétique de résistance aux antibiotiques. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 20(6): p. 343–352.
- ✓ Popoff M. Y, Bockemuhl J, et Gheesling L.L. (2004). Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. *J. Res Microbiol*, 155: 568-570.
- ✓ Popoff, M.Y et Le Minor, L. (1997). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 7th revision. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur, Paris, 1997
- ✓ Prakash K, Pillai P.K. (1992). Multidrug-resistant *Salmonella typhi* in India. *Alliance for the Prudent Use of Antibiotics Newsletter*, 10:1-3.
- ✓ Rasschaert G, et al. (2008). Contamination of carcasses with *Salmonella* during poultry slaughter. *J Food Prot*, 71(1): p. 146-52.
- ✓ Sánchez-Vargas F.M, Abu-El-Haija M.A, Gómez-Duarte O.G. (2011). *Salmonella* infections: an update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 9(6), 263-277
- ✓ Schwaber M.J, et Carmeli Y. (2007). Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, 60: 913-920.
- ✓ Schwartz S, Cloeckaert A, et Roberts M.C. (2006). Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents, p. 73-98. In F. M.
- ✓ Schwarz S, et Chaslus-Dancla. (1991). Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res*, 199. 32(3-4): p. 201-25.
- ✓ Scott, G. (2009). Antibiotic resistance. *Medicine*, 37(10), 551–556.
- ✓ Shelobolina E.S, Sullivan S.A., O'Neill K.R, Nevin K.P. et Lovley D.R. (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. nov. *Appl Environ Microbio*, 70, 2959-2965.
- ✓ Soussy C. J. (2010). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

- ✓ **Swanson S. J, Snider C, et al. (2007).** "Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium associated with pet rodents." *N Engl J Med*, 356(1): 21-8.
- ✓ **Tindall B.J, Grimont P.A.D, Garrity G.M, Euzéby J.P. (2005).** Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 521–524.
- ✓ **Todd E. C, Greig J.D, et al. (2008).** "Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 5. Sources of contamination and pathogen excretion from infected persons." *J Food Prot*, 71(12): 2582-95.
- ✓ **Toutain P.L.** Le médicament vétérinaire et le médicament humain : similitudes, différences et enjeux de santé publique. In *Congrès de physiologie, pharmacologie et thérapeutique*.
- ✓ **Teunis P.F.M, Kasuga F, Fazil A., Ogden I.D, Rotariu O, Strachan N.J.C. (2010).** Dose–response modeling of *Salmonella* using outbreak data. *Int. J. Food Microbiol.* 144, 243–249
- ✓ **Threlfall E.J, Rowe B, Ward L.R. (1991).** Occurrence and treatment of multiresistant *Salmonella typhi*. *Public Health Laboratory Service Microbiology Digest*; 8:56-9.
- ✓ **United States Department of Agriculture; Economic Research Service. (2009).** The Economics of Food, Farming, Natural Resources, and Rural America. *Data sets: Foodborne illness cost calculator*, Retrieved October 23
- ✓ **Ungemach F.R, Müller-Bahrddt D, et Abraham,G. (2006).** Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in *veterinary medicine*. *International Journal of Medical Microbiology*, 296, S2,33-38.
- ✓ **Usera M.A, Aladuena A, Gonzalez R, De la Fuente M, Garcia-Pena J, Frias N, et Echeita M.A. (2002).** Antibiotic resistance of *Salmonella spp.* from animal sources in Spain in 1996 and 2000. *J. Food. Prot*, 65: 768-773.
- ✓ **Van Asten A.J, et J.E. van Dijk. (2005).** Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella spp.* *FEMS Immunol Med Microbiol.* 44(3): p. 251-9.
- ✓ **Van Belkum, A., Tassios, P.T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N.K., Fussing, V., Green, J., Feil, E., Gerner-Smidt, P., Brisse, S., Struelens, M. (2007).** Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clin. Microbiol. Infect*, 13 (Suppl. 3), 1–46.
- ✓ **Van Den Bogaard A.E, et Stobberingh E. E. (2000).** Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *Int. J.Atmicro.Ag*, 14, 327–335.

- ✓ **Vandaele E. (2012).** Le lien entre l'usage d'antibiotiques et l'antibiorésistance est-il établi? *Point Vet.*, 331, 8–9
- ✓ **Varma J.K., Greene K.D, Ovitt J, Barrett T.J, Medalla F, Angulo F.J. (2005).** Hospitalization and antimicrobial resistance in *Salmonella* outbreaks, 1984-2002. *Emerging infectious diseases*, 11, 943-946.
- ✓ **Vuke-Weledji. (2014).** infections et colonisations urinaires a enterocoque a l'hmi mohammed v de rabat .p. 11.
- ✓ **Wang A, Yang Y, Lu Q , Wang Y, Chen Y, Deng L, Ding H, Deng Q, Wang L, Ang Chen X. (2008).** Occurance of qnr-positive clinical isolates in Klebsiella pneumoniae producing ESBLE or Amp pC-type β -lactamase from five pediatric hospitals in China. *FEMS. Microbiology. Letters*. 283 :112-116.
- ✓ **Weill F. X. (2008).** "*Salmonella* : épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques." *Revue Francophone des Laboratoires*, 400: 37-47.
- ✓ **Weill F.X, Bertrand S, Guesnier F, Baucheron S, Grimont P.A.D, Cloeckaert A. (2006).** Ciprofloxacin-resistant *Salmonella Kentucky* in Travelers. *Emerg Infect Dis* 12, 1611–1612.
- ✓ **White W. (1998).** Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science*, 279: 996–7.
- ✓ **Woodward D. L, Khakhria R. (1997).** "Human salmonellosis associated with exotic pets." *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11): 2786-2790.
- ✓ **Yang B, Dong Qu, Zhang X, Shen J, Cui S, Shi Y, Xi M, Sheng M, Zhi S et Meng J. (2010) .** Prevalence and characterization of *Salmonella* Serovars in retail meats of market place in Shaanxi, China. *International Journal of Food Microbiology*, (141):63-72.
- ✓ **Zou M, S. Keelara, et S. Thakur. (2012).** Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from humans by antimicrobial resistance, virulence genes, and pulsed-field gel electrophoresis. *Foodborne Pathog Dis* 9 (3): p. 232-8.

Annexes

Annexe 1 :

✓ Composition et préparation des milieux de culture et des réactifs:

1. Muller Hinton :

a. Composition :

Peptones-----	3,0g
Hydrolysate de caséine-----	17,5g
Agar-----	15g
Ca ²⁺ -----	20 - 25 mg/l
Mg ²⁺ -----	10 - 12,5 mg/l
pH final-----	7,4 ± 0,2

b. Préparation :

Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.

Mettre 35 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau fraîchement distillée.

Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Stériliser à l'autoclave à 121°C ± 1°C pendant 15 minutes.

Répartir dans des boîtes de pétri stériles.

L'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4 mm. Sécher les boîtes 30 min à 37°C. Le volume de Mueller-Hinton permettant d'obtenir exactement une épaisseur de 4 mm est de 25 ml pour une boîte de 90 mm, de 60 ml pour une boîte carrée de 120 mm, de 70 ml pour une boîte ronde de 150 mm.

2. Bouillon cœur-cerveille (BHI, Brain Heart Infusion) :

a. Composition :

Infusion de cerveau-----	12,5g
Infusion de cœur de bœuf-----	5,0g
Protéose-peptone-----	10,0g
Glucose-----	2,0g
Chlorure de sodium-----	5,0g
Phosphate disodique-----	2,5g

Eau-----1000ml

b. Préparation :

Dissoudre les composants dans l'eau, en chauffant si nécessaire.

Si nécessaire, ajuster le pH, de sorte qu'après stérilisation, il corresponde à une valeur de $7,4 \pm 0,2$ à 25°C.

Transférer le milieu de culture en volume de 5 ml dans des tubes d'une capacité nominale de 15 ml.

Stériliser par autoclave(6,2) à 121°C pendant 15 min.

Conserver dans l'obscurité à 5°C (6,3) pendant 2 mois maximum.

3. Gélose au stock :

a. Composition :

Peptone-----10,0 g

Extrait de viande-----5,0 g

Chlorure de sodium-----5,0 g

Agar-----10,0 g

pH-----7,3

Annexe 2

Méthode d'antibiogramme

