

SOMMAIRE

INTRODUCTION

A- Généralités

I- Etude des salmonelles

1- Historique

2- Taxonomie

3- Habitat

4- Caractères biochimiques

5- Caractères antigéniques

6- Pouvoir pathogène

6.1. Facteurs de pathogénicité

6.2. Transmission

7- Diagnostic biologique

- diagnostic direct : Isolement des salmonelles

* Hémoculture

* coprocultures

* Autres prélèvements

- Diagnostic indirect : Le sérodiagnostic de Widal et Félix

8- Classification sérologique

9- Base du traitement

- Sensibilité aux antibiotiques

- Traitement curatif

- Traitement préventif

II- Généralités sur les antibiotiques

1- Définition

2- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action

a- Les antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

b- Les antibiotiques inhibant la synthèse protéique

c- Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

d- Antibiotiques agissant sur les membranes

e- Antibiotiques agissant par inhibition compétitive

3- acquisition de la résistance aux antibiotiques

a- Par mutation

b- Par transposition

c- Par transfert de matériel génétique

4- Acquisition de la résistance aux antibiotiques des salmonelles

5- mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques des salmonelles

a- défauts d'accumulation

. Défauts d'accumulation liés à la membrane externe : entrée insuffisante

. Défauts d'accumulation liés à la membrane cytoplasmique

b- Détoxification enzymatique de l'antibiotique

6- Evolution de la résistance aux antibiotiques

a - Sélection de la résistance

b- Diffusion de la résistance

B- Travail personnel

I- Cadre d'étude

II - Matériels et méthodes

II-1- Matériels

II-1-1- Collecte des souches

II-1-2- Réactifs et matériels de laboratoire

II-1-2- Logiciel utilisé : Whonet

II-2- Méthodes d'isolement et d'identification

II-2-1- Par coproculture

II-2-2- Par hémoculture

II-3- Méthode de réalisation de l'antibiogramme

III- Résultats

IV- Discussion

V- Conclusion

Introduction

La salmonellose est l'une des toxi-infections alimentaires les plus courantes et les plus répandues. Cette maladie est provoquée par une bactérie appelée *Salmonella*. Jusqu'en 2004, 2501 sérotypes différents de *Salmonella* ont été identifiés [24].

Bien que tous les sérotypes puissent être pathogènes pour l'homme, ils sont souvent classés en fonction de leur adaptation aux hôtes animaux. Quelques sérotypes ont un spectre d'hôtes limité (ils n'affectent qu'une ou quelques espèces animales), par exemple *Salmonella* Typhi pour les primates, *Salmonella* Dublin pour les bovins et *Salmonella choleraesuis* pour les porcs. Toutefois, la plupart des sérotypes ont un large spectre d'hôtes. Habituellement ces derniers provoquent des gastro-entérites. Ce groupe comprend en particulier *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium, les deux principaux sérotypes responsables de salmonelloses transmises de l'animal à l'homme [26].

La fièvre typhoïde est une maladie strictement humaine dont l'entité nosologique a été reconnue dès 1813 par Petit et Serres. Eberth, le premier, observa le germe responsable de cette grave infection dans la rate et les ganglions d'un malade mort de fièvre typhoïde (1880). Par la suite, on s'aperçut grâce à l'affinement des techniques d'études antigéniques que les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes n'étaient dues qu'à un petit nombre de sérotypes (*S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B* et *S. Paratyphi C*) [8].

La fièvre typhoïde reste un problème d'actualité. Certes, elle a régressé de façon spectaculaire dans les pays occidentaux, mais elle est toujours très répandue dans les pays en voie de développement où les conditions socio-économiques et le bas niveau d'hygiène favorisent cette maladie [24].

Les salmonelles sont naturellement sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif. Cependant, ces dernières années, on rencontre souvent des souches de salmonelles multirésistantes et la fréquence de la pharmacorésistance multiple a considérablement augmenté. Pire encore, certaines variantes de *Salmonella* ont développé une multirésistance qui fait partie intégrante de leur matériel génétique et sont

par conséquent susceptibles de conserver des gènes de pharmacorésistance même si l'on n'utilise plus les antibiotiques concernés, situation dans laquelle d'autres souches résistantes perdraient en règle générale leur résistance [26].

L'émergence de salmonelles pharmacorésistantes peut être liée à l'utilisation d'antibiotiques chez les animaux d'élevage. La pression sélective résultant de l'emploi d'antibiotiques est l'une des principales forces conduisant à l'apparition de cette résistance, mais d'autres facteurs doivent également être pris en compte. Certains sérotypes de salmonelles, par exemple, sont plus enclins à développer une résistance que d'autres. En outre, on observe régulièrement des variations importantes de la fréquence des sérotypes de *Salmonella* chez les animaux d'élevage et chez l'homme. On a ainsi récemment relevé la propagation à l'échelle mondiale, chez l'homme et certains animaux, d'une souche de *S. Typhimurium* multirésistante lysotype 104. Bien que la propagation de cette souche puisse avoir été facilitée par l'utilisation d'antibiotiques, on pense qu'elle résulte principalement du commerce national et international d'animaux infectés [26].

L'émergence de souches de salmonelles multirésistantes est un fait lourd de conséquences qui limite gravement les possibilités de traiter efficacement les infections humaines.

La prévention des Salmonelles est aussi très difficile du fait de la diffusion de ces bactéries chez de multiples espèces animales domestiques ou sauvages [24].

Cette prévention difficile des salmonelles et l'apparition de souches multirésistantes font de la salmonellose un véritable problème de santé publique.

L'objet de notre étude est de surveiller la résistance aux antibiotiques des souches de salmonelles isolées sur dix ans (1997 à 2007) au laboratoire de bactériologie virologie du CHU de Fann, en établissant, pour chaque souche rencontrée, un profil de résistance.

I- Etude des Salmonelles

1- Historique

Eberth en 1880 découvre l'agent responsable de la fièvre typhoïde dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky. Le genre *Salmonella* a été utilisé après que le bactériologiste américain Daniel Salmon eut isolé en 1886, avec quelques collègues, une bactérie provenant du porc (maintenant connu comme *Salmonella choleraesuis*) qui était considérée comme étant la cause de la fièvre porcine (choléra du porc). En 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de salmonelles. A ce jour on a isolé plus de 2500 sérotypes de salmonelles [25].

Depuis les premières observations rapportées par Eberth jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaires et sur le plan médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme (fièvres typhoïdes et toxi-infections alimentaires) [25].

2- Taxonomie

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

La nomenclature des salmonelles est particulièrement complexe car elle a fait l'objet de controverses et de confusions liées, principalement, à un avis de la "Commission Judiciaire". Le nouveau système (utilisation des nomenclatures validement publiées par l'opinion 80, couplée à l'interprétation taxonomique de Le Minor et Popoff (1987) et à l'interprétation taxonomique de Reeves *et al* (Nov.1989) est employé par un nombre toujours croissant de bactériologistes. Il apparaît clairement que la "Commission Judiciaire" recommande l'utilisation du nouveau système [25]. Ce nouveau système reconnaît que le genre *Salmonella* possède trois espèces :

· *Salmonella bongori*

· *Salmonella enterica* ou *Salmonella choleraesuis*.

· *Salmonella subterranea*, qui est une souche bactérienne isolée d'un sédiment acide et contaminé par des nitrates et de l'uranium.

La seconde espèce, la plus importante, comprend six sous-espèces que sont :

Ø *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*.

Ø *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*

Ø *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.

Ø *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*.

Ø *Salmonella enterica* subsp. *indica*.

Ø *Salmonella enterica* subsp. *Salamae* [25].

Dans un premier temps on a attribué un nom d'espèce aux principaux sérovars, par exemple *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*. Cependant, des études taxonomiques basées sur des critères génotypiques ont montré qu'en fait les salmonelles rencontrées en pathologie appartenaient toutes à une même espèce : *Salmonella enterica*. Le nom de l'espèce est suivi du nom du sérovar (qui commence par une majuscule et qui n'est plus en italique). Ainsi *Salmonella typhi* devient *Salmonella enterica* sérovar Typhi. Actuellement les deux modes d'écritures sont utilisés. Nous utiliseront la terminologie la plus récente, en omettant (comme c'est habituel) le nom de la sous-espèce [24].

3- Habitat

Les salmonelles sont des bactéries de l'intestin. Chez de nombreux sujets elles peuvent être présentes sans entraîner de symptômes (porteurs sains). Quelques sérovars sont spécifiquement humains : Typhi et Paratyphi. D'autres ne se rencontrent que chez l'animal, comme le sérovar Pullorum. Mais la majorité des sérovars ont un spectre d'hôte assez large et peuvent infecter aussi bien l'homme que diverses espèces animales [24].

Les salmonelles peuvent être disséminées dans l'environnement par des excréta. Si elles ne peuvent s'y multiplier de manière significative, elles peuvent y survivre, en particulier dans le sol, pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois si les conditions de température de pH et d'humidité sont favorables [16].

Les sérovars qui n'ont pas de spécificité d'hôte sont dits ubiquitaires.

S. Typhimurium est rencontré dans tous les pays. Elle est isolée chez l'homme, chez les animaux et dans l'environnement [24].

Les [vertébrés](#) aquatiques, notamment les [oiseaux](#) ([Anatidés](#)) et les [reptiles](#) ([Chéloniens](#)) sont d'importants vecteurs de salmonelles. Les [volailles](#), les [bovins](#) et les [ovins](#) étant des animaux fréquemment contaminants, les salmonelles peuvent se retrouver dans les [aliments](#), notamment les [viandes](#) et les [œufs](#) crus [30].

4- Caractères biochimiques

Ce sont des entérobactéries [bacilles](#) à [Gram négatifs](#), mobiles ([ciliature péritriche](#)), [aéro-anaérobies facultatifs](#), [oxydase](#) négative, Nitrate réductase positif, fermentative du glucose, lactose négatif H₂S positif, [uréase](#) négative, Tryptophane désaminase positif, utilisant la voie des acides mixtes, indole négatif, ne possédant pas la bêta-galactosidase [5].

5- Caractères antigéniques

Comme toutes les [Enterobacteriaceae](#), les *Salmonella* possèdent des antigènes somatiques O (situé dans la [paroi](#)). Il en existe 67, on distingue l'antigène O majeur caractérisant un groupe de *Salmonella* et l'antigène O mineur qui est accessoire. La délétion par mutation de l'antigène O entraîne une perte partielle ou totale du [pouvoir pathogène](#).

Les *Salmonella* possèdent également des antigènes flagellaires H. Ils sont présents sous deux formes différentes (phase). Soit sous les deux formes simultanément (diphase) soit sous la forme d'une seule phase (monophasique). Ces deux phases sont codées par deux [gènes](#) différents mais très voisins, ils doivent provenir de la duplication d'un même gène ancestral. Enfin, *Salmonella* ser. Typhi, *S. ser. Paratyphi C* et *S. ser. Dublin* possèdent l'antigène [capsulaire](#) de nature polysaccharidique Vi pouvant masquer l'antigène somatique O. Ce dernier est démasqué par destruction de l'antigène Vi (chauffage à 100 °C pendant 10 min) [5].

6- Pouvoir pathogène

Les salmonelloses peuvent revêtir trois aspects :

- Les formes septicémiques

Ce sont les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux sérovars Typhi et Paratyphi A, B, ou C. Ce sont des septicémies à point de départ lymphatique. Chez le nouveau-né ou le jeune enfant, d'autres sérovars comme *S. Panama* ou *S. Wien* peuvent être responsables de septicémies qui mettent en jeu le pronostic vital.

La fièvre typhoïde est fréquente dans les pays à bas niveau d'hygiène (plus de dix millions de cas par an). Après une incubation de 7 à 10 jours, elle se traduit par un syndrome infectieux sévère accompagné de troubles digestifs et d'un état d'obnubilation (typhos). En l'absence de traitement l'évolution se poursuit pendant plusieurs semaines et peut se compliquer d'hémorragies ou de perforations intestinales. La mortalité est de 10 à 20 p. 100 [24].

- Les salmonelloses purement digestives

Elles sont dues à des sérovars autres que ceux impliqués dans la fièvre typhoïde. Les sérotypes les plus fréquemment incriminés sont *S. Typhimurium*, *S. Panama*, *S. Enteritidis*, *S. Wien*, *S. Dublin*, *S. Saintpaul*, *S. Newport*, *S. Stanleyville*, *S. Havana* [8].

Les toxi-infections alimentaires à *Salmonella* surviennent 12 à 48 heures après l'ingestion de l'aliment contaminant. Elles se traduisent par de la diarrhée, des vomissements, une fièvre modérée. En règle général la guérison intervient en quelques jours. La maladie peut cependant être grave sur un

terrain fragile. La fréquence des entérites à *Salmonella* au cours du S.I.D.A. est à noter.

Les entérites à *Salmonella* s'observent principalement chez le jeune enfant. Des épidémies peuvent survenir dans des collectivités de nourrissons.

Les infections intestinales à salmonelles peuvent se présenter sous la forme de cas sporadiques ou bien d'épidémies pouvant revêtir l'aspect d'une intoxication alimentaire collective. Ces infections figurent parmi les principales causes de diarrhées d'origine bactérienne [1].

- Les formes extra-digestives

Ces formes surviennent plus volontiers chez des malades immunodéprimés. Diverses localisations secondaires peuvent s'observer : osseuses (en particulier chez les drépanocytaires), méningées (chez le nourrisson), artérielles (chez le sujet âgé). On peut également observer des cholécystites, des infections urinaires [24].

Les infections intestinales peuvent aussi être suivies parfois d'une complication aseptique, l'arthrite réactionnelle [1].

6.1- facteurs de pathogénicité

La voie naturelle d'infection à salmonelles est digestive. Les bactéries pénètrent dans la muqueuse intestinale, au niveau de l'iléon et du colon.

Sur l'iléon la pénétration se fait principalement au niveau des plaques de Peyer, à travers les cellules M. Les bactéries se multiplient dans les plaques de Peyer et dans les autres tissus lymphatiques associés au tube digestif. Elles gagnent ensuite les ganglions mésentériques. L'infection s'arrête à ce stade s'il s'agit d'une infection intestinale [21].

Lorsqu'il s'agit d'une infection systémique (comme dans le cas de la fièvre typhoïde) les bactéries migrent par voie lymphatique jusqu'au système circulatoire et vont se répandre dans l'organisme [1]. Les bactéries seront fixées par le système réticulo-endothélial principalement au niveau du foie et de la rate où leur multiplication se poursuit. À partir du foie, des bactéries gagnent les voies biliaires et pourront réensemencer l'intestin.

Pour infecter leur hôte les salmonelles utilisent différentes armes :

Adhésines

La plupart des bactéries pathogènes pénètrent dans l'organisme au niveau des muqueuses. Pour qu'elles puissent coloniser et éventuellement envahir les muqueuses, les bactéries doivent d'abord y adhérer grâce à des protéines de surfaces, appelées adhésines. Chez certaines bactéries, ces adhésines sont exprimées sur des pili.

Les salmonelles possèdent plusieurs types de fimbriae qui jouent probablement un rôle dans l'adhésion à la muqueuse intestinale [21].

Invasion des cellules épithéliales

Pour passer la muqueuse digestive, les salmonelles utilisent un groupe de gènes chromosomiques (réunis dans un îlot de pathogénicité) qui leur permettent d'envahir des cellules épithéliales. Au contact d'une cellule ces gènes sont activés. Certaines des protéines produites vont être exportées et induire au niveau de la cellule épithéliale des remaniements du cytosquelette qui aboutissent à l'ingestion de la bactérie par la cellule épithéliale. Autrement dit la bactérie transforme la cellule épithéliale en une cellule phagocytaire [21].

Survie et multiplication dans les macrophages

Une propriété importante des salmonelles est leur capacité à se multiplier dans les macrophages et éventuellement dans les cellules épithéliales. Lorsqu'elles sont phagocytées par des macrophages, les salmonelles restent dans le phagosome. Elles peuvent induire la mort du macrophage par apoptose. On connaît au moins deux groupes de gènes impliqués dans la multiplication intramacrophagique, l'un est situé sur le chromosome (dans un îlot de pathogénicité), l'autre sur un plasmide, dit plasmide de virulence, qui est présent chez tous les sérovars pathogènes, à l'exception notable du sérovar S. Typhi.

En raison de leur localisation intracellulaire les salmonelles sont peu sensibles à l'action des anticorps. L'immunité contre les infections systémiques est principalement due aux lymphocytes T CD4+. Cela explique la fréquence et le caractère persistant des infections à salmonelles chez un sujet ayant un déficit de l'immunité cellulaire (sida) [21].

6.2- Transmission

La contamination humaine se fait habituellement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Ces derniers sont le plus souvent d'origine animale (coquillages, viandes hachées, œufs).

La contamination peut aussi être d'origine humaine et liée à des manipulations par un personnel porteur de salmonelles [24].

7- diagnostic biologique

Lors d'une salmonellose, il faut toujours chercher à isoler le germe responsable. Cela permet une caractérisation précise pour une enquête épidémiologique et l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques [24].

- Diagnostic direct : Isolement de salmonella

*** Hémoculture**

Elles sont réalisées de préférence lors des ascensions thermiques. Il faut effectuer plusieurs prélèvements et à chaque fois, il est préférable de recueillir environ 10 ml de sang car le nombre de bactéries par ml est souvent faible au cours des fièvres typhoïdes [24].

La réalisation ne pose pas de problèmes techniques : les salmonelles poussent sur milieux usuels.

L'hémoculture est surtout utile lors des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes.

Pour l'ensemencement des ballons, on prélève une quantité du sang du malade égale au 1/10^e du volume du milieu de culture contenu dans le ballon.

Par la suite, les hémocultures sont placées à 37°C et sont incubées 5 à 10 jours puis sont quotidiennement examinées. Des repiquages systématiques sont effectués au troisième et au dixième jour [7].

*** Coprocultures**

Au cours des salmonelloses, l'excrétion des germes dans les selles peut être faible. De plus les salmonelles sont en nombre inférieur à des espèces commensales : *Escherichia coli* et *Proteus*.

Il faut donc, pour les isoler, utiliser à la fois des milieux d'enrichissements et des milieux sélectifs.

À la réception du prélèvement un milieu d'enrichissement et un milieu sélectif sont ensemencés [24].

Milieus d'enrichissements

Ils permettent à l'aide d'antiseptiques sélectifs inhibant les autres bactéries d'accroître la proportion de *Salmonella*. Un bouillon de Müller-Kauffmann au tétra thionate ou un bouillon au sélénite de sodium sont ensemencés et repiqués après une incubation de 18 à 37°C [8].

Milieus sélectifs

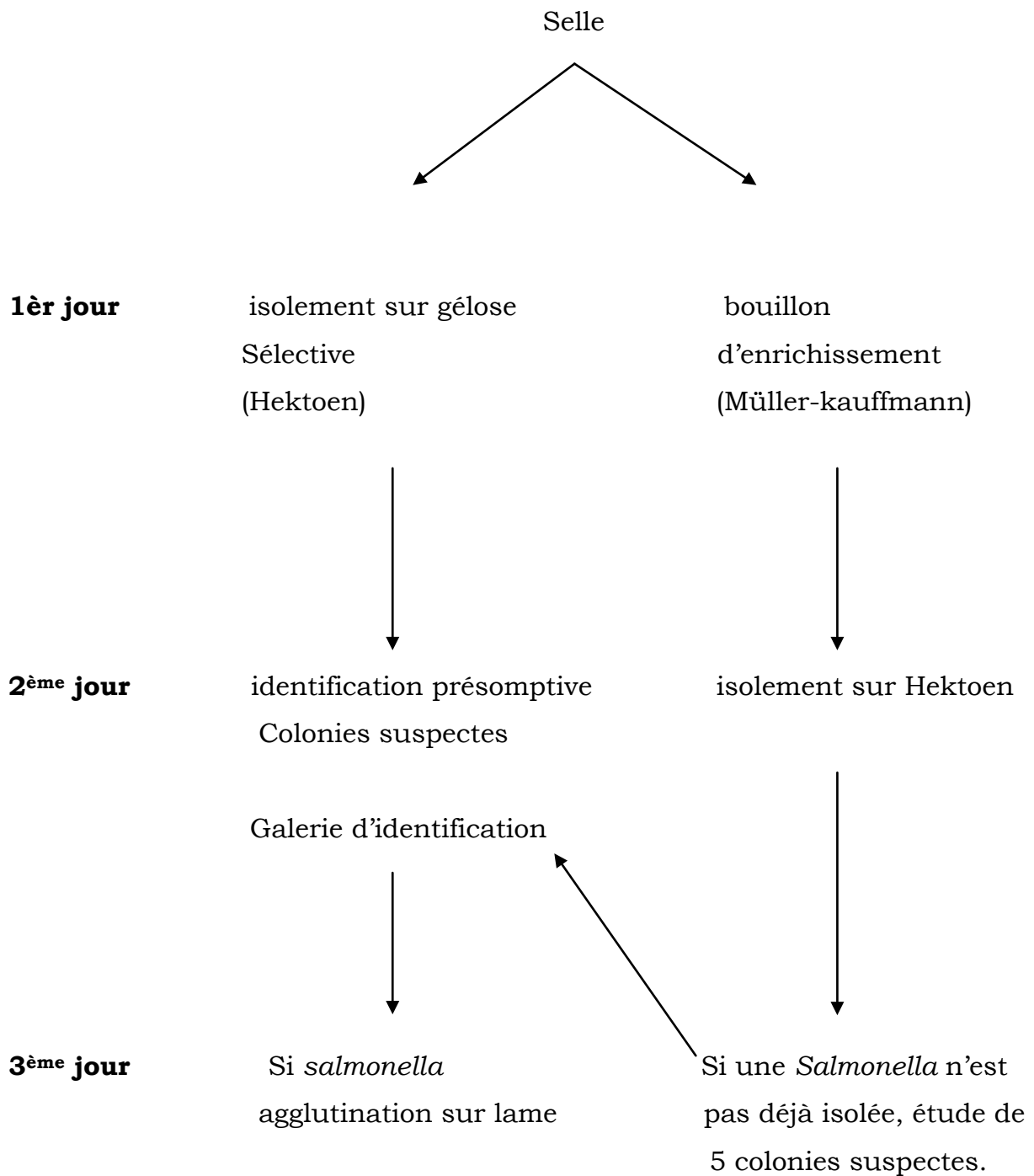
Ces milieux gélosés contiennent des antiseptiques, des sels biliaires qui empêchent la croissance de certaines espèces bactériennes et inhibent l'envahissement par les proteus.

Ils permettent de repérer les colonies suspectes par la fermentation de certains sucres (lactose) et la production d' H₂S. La gélose Hektoen est généralement préférée au milieu SS (*Salmonella-Shigella*). Des milieux utilisant des substrats chromogènes ont été développés récemment, ils permettent un repérage aisé des colonies de salmonelles.

Au deuxième jour après incubation de ces milieux à 37°C :

- le milieu d'enrichissement est repiqué sur un milieu sélectif qui sera examiné le lendemain.
- cinq colonies suspectes (lactose (-) et H₂S (+)) repérées sur le milieu sélectif ensemencé la veille, sont l'objet d'une caractérisation biochimique succincte, puis, si les caractères sont ceux d'une Salmonelle, d'une identification précise et enfin d'un sérotypage [8].

Schéma d'isolement d'une *Salmonella* par coproculture [8]



*** Autres prélèvements**

Dans la bile la recherche de *Salmonella* se fait de façon analogue à la coproculture.

Dans les autres produits pathologiques, urines, pus divers, la présence d'une *Salmonella* est généralement une découverte fortuite du laboratoire [24].

- diagnostic indirect :

Le sérodiagnostic de Widal et Félix

Il n'est utile que pour le diagnostic des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes A, B et C et sans intérêt pour les autres salmonelloses.

Lorsque le malade est vu tardivement ou s'il a bénéficié d'une antibiothérapie appliquée à l'aveugle, l'isolement de la bactérie n'est plus possible. C'est alors que le sérodiagnostic de Widal et Félix a son intérêt. Il permet de rechercher les anticorps anti-O et anti-H dans le sérum. De nombreuses causes d'erreurs existent et l'interprétation est parfois délicate. C'est pourquoi la prescription d'un sérodiagnostic de Widal et Félix doit toujours être accompagnée de celle d'une coproculture voire d'une hémoculture visant à isoler la *Salmonelle*.

Il est recommandé d'effectuer un 2^e prélèvement deux à trois semaines d'intervalle pour suivre l'évolution des taux d'anticorps [9].

8- Classification sérologique

Elle est basée sur la détermination, par agglutination sur lame, des antigènes O, H et Vi. Il existe plus de 2000 sérovars, mais avec un nombre limité de sérums agglutinants, tout laboratoire peut typer la majorité des souches de *salmonella* qu'il isole. Le typage des sérovars rares nécessite l'intervention d'un laboratoire de référence [8].

- Antigènes O

La spécificité de chacun des antigènes O répertoriés est déterminée par la structure des polysaccharides de la paroi bactérienne.

Les formes R sont des mutants non pathogènes qui ont perdu par délétion une grande partie de la chaîne polysaccharidique responsable de la spécificité O. Ces souches ne sont plus sérotypables et sont auto-agglutinables dans l'eau physiologique.

Les formes T (de transition) sont des souches rares. Elles donnent des colonies ayant l'aspect d'un S, mais elles ont perdu leur spécificité O, comme les formes R.

Les bactériophages dits convertisseurs peuvent, par lysogénie, produire des modifications de la structure antigénique O des Salmonelles. Les facteurs antigéniques qui sont liés à une conversion phagique peuvent être présents ou absents [8].

- Antigènes H

Les flagelles sont constitués d'une molécule protéique, la flagelline, dont la composition en acides aminés détermine le type antigénique H. Cette composition est codée par un gène de structure de type H1 pour la phase 1 et H₂ pour la phase 2.

Certains sérotypes sont monophasiques. Ils ne peuvent synthétiser qu'une seule spécificité de la flagelline.

La plupart des sérotypes sont diphasiques. Ils peuvent synthétiser des antigènes H soit de la phase 1, soit de la phase 2.

Les antigènes de la phase 1 sont désignés par des lettres : a, b, c, ... z. Comme l'alphabet n'y suffisait pas, les plus récemment reconnus sont désignés par un z suivi d'un nombre. Les antigènes de la phase 2 sont désignés par des chiffres [8].

- Antigène Vi

Ce polysaccharide capsulaire n'est trouvé que de façon inconstante chez trois sérotypes : S. Typhi, S. Paratyphi C, S. Dublin.

Les souches Vi positives, qui produisent une quantité importante d'antigène Vi, sont O-inagglutinables. Elles deviennent habituellement O-agglutinables après un chauffage à 100°C qui fait passer l'antigène Vi dans le surnageant [8].

- Le tableau de Kauffmann-White

Ce tableau indique pour chaque sérovar les antigènes O, Vi, et H dont la détermination est utile pour le typage sérologique. A chaque sérovar correspond une formule antigénique. Par exemple, S. Virchow : 6,7 : r : 1,2.

Dans ce tableau, les sérovats qui ont des antigènes O communs caractéristiques sont rassemblés pour former un groupe O désigné par une lettre A, B, C, D etc. Exemple : les sérovats du groupe B ont tous l'antigène O4 et ceux du groupe D, l'antigène O9.

A l'intérieur de chaque groupe O, les sérovats apparaissent d'après l'ordre alphabétique de la phase 1 de leur antigène H.

Le tableau II ne fait mention que des sérotypes les plus fréquents parmi plus de 2000 identifiés à ce jour [5].

Tableau : formules antigéniques des sérovats de *Salmonella enterica* les plus fréquemment rencontrés en France [5]

N	Sérovar	Antigène O	Antigène H	
			Phase I	Phase II
		Groupe A		
	S. Paratyphi A	1, 2, 12	a	-
		Groupe B		
13	S. Paratyphi B	1, 4, (5), 12	b	1, 2
	S. Wien	1, 4, 12, 27	b	1, w
	S. Duisburg	1, 4, 12, 27	d	e, n, z15
	S. Saint-paul	1, 4, 12	e,h	1, 2
9	S. Derby	1, 4, (5), 12,	f, g	-
15	S. Agona	1, 4, 12	f, g, s	-
1	S. Typhimurium	1, 4, (5), 12,	i	1, 2
12	S. Bredeney	1, 4, 12, 27	1, v	1, 7
7	S. Brandenburg	1, 4, 12	1, v	e, n, z15
5	S. Heidelberg	1, 4, (5), 12,	r	1, 2
	S. Coeln	4, 5, 12	y	1, 2
11	S. Indiana	1, 4, 12	z	1, 7
		Groupe C1		
	S. Ohio	6, 7	b	1, w
	S. Isangi	6, 7	d	1, 5
	S. Livingstone	6, 7	d	1, w
	S. Braenderup	6, 7	e, h	1, 2
14	S. Montevideo	6, 7	g	m,s
	S. Thompson	6, 7	k	1, 5
6	S. Infantis	6, 7	r	1, 5
4	S. Virchow	6, 7	r	1, 2
		Groupe C2		
	S. Manhattan	6, 8	d	1, 5

8	S. Newport	6, 8	e, h	1, 2
	S. Litchfield	6, 8	l, v	1, 2
	S. Bovismorbificans	6, 8	r	1, 5
3	S. Hadar	6, 8	z10	e, n, x
		Groupe D		
	S. Panama	1, 9, 12	l, v	1, 5
10	S. Typhi	9, 12, (Vi)	d	-
2	S. Enteritidis	1, 9, 12	g, m	-
	S. Dublin	1, 9, 12, (Vi)	g, p	-
	S. Gallinurium	1, 9, 12	-	-
		Groupe E		
	S. Anatum	3, 10	e, h	1, 6
	S. Meleagridis	3, 10	e, h	1, w
	S. Senftenberg	1, 3, 19	g, s, t	-
	S. London	3, 10	l, v	1, 6
	S. Give	3, 10	l, v	1, 7
		Groupe G2		
	S. Tel-el-kebir	13, 23	d	e, n, z15
	S. Kedougou	1, 13, 23	i	l, w
	S. Worthington	1, 13, 23	z	l, w

Extrait du tableau de Kauffmann-White [5]

Les facteurs entre parenthèses peuvent être absents.

Les chiffres de la colonne N correspondent à l'ordre de fréquence d'isolement des sérotypes les plus fréquents qui représentent 90,7 p. 100 des souches isolées de l'homme en France en 1997 (Centre National des *Salmonella* et *Shigella*) [5].

9- Bases du traitement

- Sensibilité aux antibiotiques

Les salmonelles responsables des fièvres typhoïdes sont très sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif, en particulier au chloramphénicol, à l'ampicilline, aux céphalosporines, aux tétracyclines et au triméthoprim-sulfaméthoxazole. Cependant, dans certains pays en voie de développement, on a décrit des souches de *S. Typhi* résistantes au chloramphénicol du fait de l'acquisition d'un plasmide de résistance.

Les souches de *Salmonella* à l'origine de toxi-infections sont beaucoup plus résistantes à plusieurs antibiotiques du fait de l'acquisition de plasmides codant pour des résistances multiples. Cela est probablement lié à l'usage très répandu des antibiotiques chez les animaux qui constituent le réservoir de ces bactéries [8].

On distingue le traitement curatif et le traitement préventif

- Traitement curatif

Chez les salmonelles les résistances acquises sont devenues fréquentes d'où la nécessité d'un antibiogramme. Toutefois les antibiotiques actifs in vitro ne sont pas toujours actifs in vivo, en raison de la localisation intracellulaire des salmonelles. Les aminosides par exemple sont inactifs in vivo.

Pour le traitement de la fièvre typhoïde, le chloramphénicol et le cotrimoxazole sont généralement actifs et utilisés actuellement surtout dans les pays en voie de développement (en raison de leur faible coût).

Pour traiter une salmonellose chez l'adulte dans les pays occidentaux, des antibiotiques appartenant au groupe des fluoroquinolones, sont considérés dans la plupart des cas comme la solution optimale [20].

Chez l'enfant gravement atteint, il est fait largement appel aux céphalosporines de troisième génération (à administrer par injection à des posologies élevées), les quinolones étant généralement déconseillées pour cette tranche d'âge. Les médicaments plus anciens, chloramphénicol, ampicilline et amoxicilline, ainsi que le triméthoprim-sulfaméthoxazole, sont utilisés occasionnellement comme solutions de remplacement.

Des rechutes à l'arrêt du médicament sont possibles.

En ce qui concerne les infections intestinales, l'indication d'un traitement antibiotique est discutée, car l'évolution sporadique est souvent bénigne et le traitement pourrait favoriser le portage. On tient compte en pratique de l'importance des signes cliniques et du terrain [24].

Le traitement des toxi-infections est donc essentiellement symptomatique, surtout basé sur réhydratation. La colistine (250000 UI/kg/jour) par voie orale est donnée si la gastro-entérite prend un tour de gravité sans dissémination hématogène. L'ampicilline ou l'amoxicilline orale est préconisée surtout lorsqu'il y a risque de dissémination sanguine. En cas de septicémies ou de localisations métastatiques, il est nécessaire d'avoir recours à l'utilisation de deux antibiotiques bactéricides (ampicilline - aminoside) par voie parentérale et de façon prolongée (trois semaines au minimum) [8].

- Traitement préventif

Il repose d'abord sur le contrôle bactériologique des eaux et des aliments, sur le contrôle des personnels de cuisine (à la recherche de porteurs sains). L'éradication des salmonelles contaminant les élevages des volailles (sérovary Enteridis) se heurte cependant à de grandes difficultés.

La fièvre typhoïde et les intoxications alimentaires collectives sont à déclaration obligatoire et font donc l'objet d'une enquête épidémiologique. Des précautions d'hygiène doivent être prises pour éviter une transmission nosocomiale.

Il existe un vaccin constitué par l'antigène Vi qui protège contre les typhoïdes dues aux sérovary Typhi et Paratyphi C. Il possède une efficacité de 60%.

Des souches vivantes atténuées (administrées per os) sont en cours d'étude [24].

II- Généralités sur les antibiotiques

1- Définition

On appelle antibiotique: "toute substance chimique produite par des micro-organismes ayant le pouvoir d'inhiber et même de détruire les bactéries et autres micro-organismes en solution diluée", les antibiotiques sont également obtenus en laboratoire par synthèse ou semi-synthèse.

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes.

Les antibiotiques semi-synthétiques sont obtenus en modifiant au laboratoire une substance produite par un micro-organisme.

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique définit son spectre. Plus un antibiotique détruit d'espèces bactériennes différentes, plus son spectre est large.

Il faut savoir que les antibiotiques n'ont aucune action sur les virus.

L'antibiotique est bactériostatique et/ou bactéricide. On définit plusieurs familles d'antibiotiques en fonction de leur nature chimique, de leur mécanisme d'action, de l'étendue de leur spectre [11].

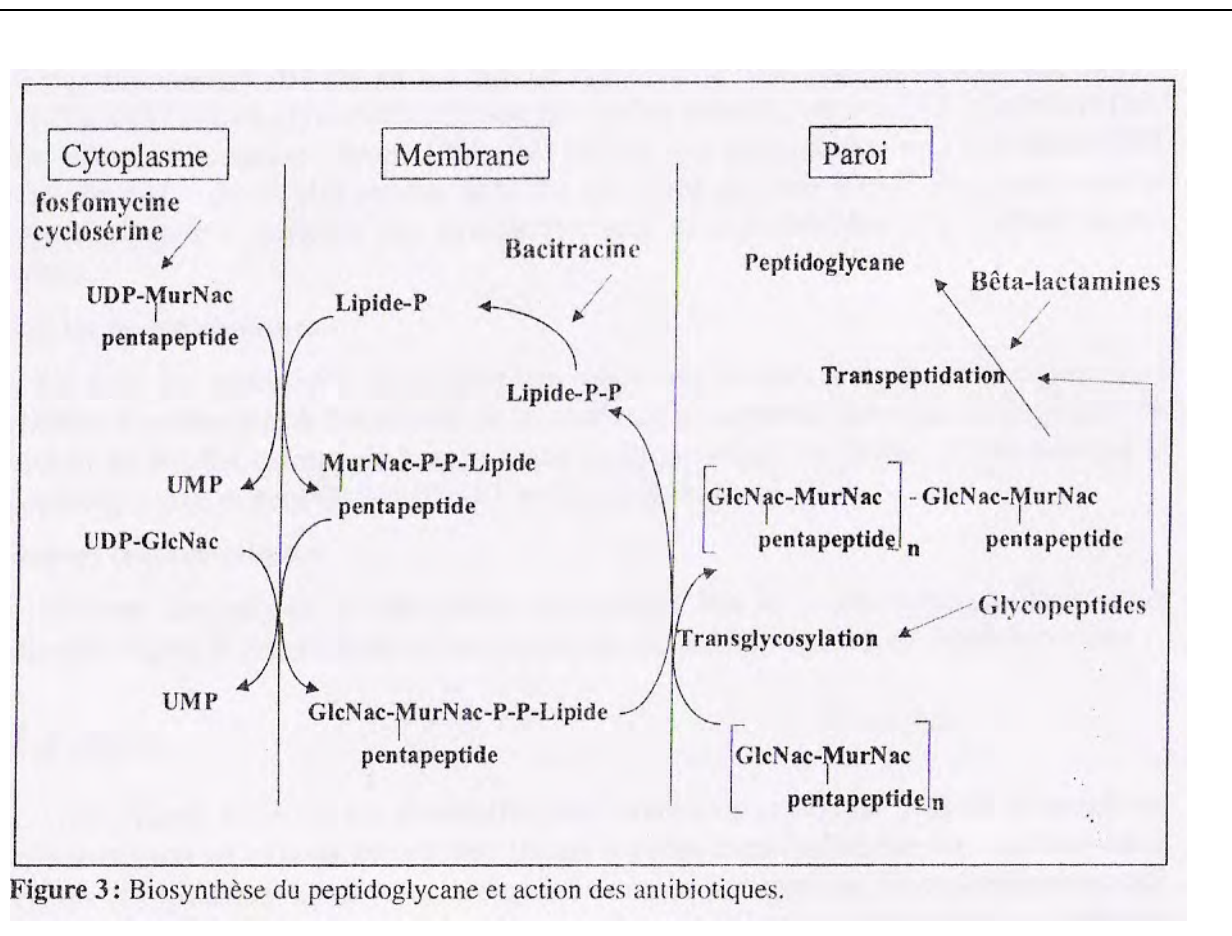
2- Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre. On distingue cinq grands modes d'action :

Action sur la synthèse du peptidoglycane, action sur la synthèse protéique, action sur les acides nucléiques, action sur les membranes cytoplasmiques, et enfin action par inhibition compétitive [11].

a- Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Le peptidoglycane est un polymère réticulé fait de chaînes polysaccharidiques reliées par des peptides. Cette molécule n'existe que chez les bactéries et assure la rigidité de la paroi. Les précurseurs du peptidoglycane sont synthétisés dans le cytoplasme et assemblés à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Lorsque les bactéries sont en phase de croissance, il existe simultanément des phénomènes de synthèse et de destruction du peptidoglycane. L'équilibre entre ces deux est rompu par les antibiotiques inhibant la synthèse du peptidoglycane. Il en résulte une altération de la paroi ayant un effet létal pour la bactérie [2].



Les antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane sont :
Les β -lactamines, les glycopeptides et la fosfomycine.

- Les β -lactamines

Elles ont en commun un noyau β -lactame et présentent une analogie structurale avec la terminaison D-ala-D-ala du précurseur du peptidoglycane [22]. Elles se fixent de manière covalente sur des protéines membranaires, appelées protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Ces protéines sont des enzymes impliquées dans la phase finale de la synthèse du peptidoglycane, c'est-à-dire à l'étape de la polymérisation à partir des sous unités faites de disaccharide-peptide.

L'activité enzymatique des PLP est inhibée par leur liaison avec les β -lactamines.

Les β -lactamines ont un effet bactéricide sur les bactéries en voie de croissance. Leur association avec un aminoside est en règle synergique. Par contre leur association avec un antibiotique bactériostatique (chloramphénicol, tétracyclines) peut avoir un effet antagoniste [11].

Il existe de nombreuses variétés de β -lactamines qui se distinguent par leur spectre d'activité et leurs propriétés pharmacologiques.

- pénicillines

Elles possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β -lactame. Elles diffèrent par la nature de leur chaîne latérale [22].

- Aminopénicillines (pénicilline A)

Les aminopénicillines ont un spectre d'activité élargi vers certains bacilles à Gram négatif (salmonelles), mais elles restent sensibles aux β -lactamases souvent présentes chez ces bactéries.

Dans ce groupe on peut citer l'ampicilline et l'amoxicilline, cette dernière bénéficie d'une meilleure absorption digestive [22].

- Carboxypénicillines

Elles ont un spectre plus élargi que celui des aminopénicillines, vers les bacilles à Gram négatif. Elles restent toutefois sensibles aux pénicillinases, mais sont moins sensibles aux céphalosporinases.

Comme exemple de carboxypénicilline, on peut citer la ticarcilline [22].

- Uréidopénicillines

Elles comprennent principalement la mezlocilline et la pipéracilline. Leur spectre est très proche de celui des carboxypénicillines [22].

- Céphalosporines

Les céphalosporines sont constituées d'un noyau β -lactame associé à un noyau de dihydrothiazine. Elles résistent à la pénicillinase des staphylocoques comme les pénicillines M, mais sont inactives sur les souches méti-R. Elles peuvent agir sur des bacilles à Gram négatif à des degrés divers.

On distingue des céphalosporines de 1^{ère} génération, de 2^e génération, de 3^e génération, et même de 4^e génération pour les plus récentes.

Les céphalosporines de 1^{ère} génération (comme la céfalotine) ont un niveau d'activité assez limité vis-à-vis des bacilles à Gram négatif, en raison de leur sensibilité aux céphalosporinases.

Les céphalosporines de 2^e et surtout de 3^e génération sont beaucoup plus actives. Parmi les céphalosporines de 2^e génération, on peut citer le céphamandole et la céfuroxime ainsi que des molécules classées parmi les céphamycines : la céfoxitine et le céfotetan. Ce dernier est classé par certains parmi les céphalosporines de 3^e génération.

Parmi les céphalosporines de 3^e génération, on peut citer le céfotaxime, la céftazidime et la céftriaxone. Leur résistance à la plupart des β -lactamases leur permet d'être très actives sur de nombreuses espèces de bacilles à Gram négatif.

Les céphalosporines les plus récentes, dites parfois de 4^e génération, (céfépime, cefpirome) se montrent plus actives vis-à-vis des souches hyperproductrices de céphalosporinases.

- Monobactames

L'aztréonam a une activité sur les bacilles à Gram négatif comparable à celle des céphalosporines de 3^e génération, mais elle est inactive sur les bactéries à Gram positif et les anaérobies.

- Carbapénèmes

C'est dans ce groupe que l'on rencontre l'imipénème qui est un dérivé de la thiénamycine. L'imipénème est très actif sur un grand nombre d'espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif. Il est résistant à la plupart des β -lactamases, y compris les β -lactamases à spectre élargi.

De très rares souches d'entérobactéries et d'Acinetobacter capables de dégrader l'imipénème ont été décrites.

Les glycopeptides

Ce groupe comprend la vancomycine et la teicoplanine.

Ils se fixent de manière non covalente sur la partie D-ala-D-ala terminale des peptides impliqués dans la phase de polymérisation du peptidoglycane. De ce fait la polymérisation est inhibée.

La fosfomycine

Elle agit à une phase précoce, intracytoplasmique, de la synthèse du peptidoglycane. Elle se fixe de manière covalente sur une enzyme impliquée dans la formation de l'acide N-acétyl-muramique qui est l'un des composants du précurseur du peptidoglycane [22].

b- Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, par différents mécanismes, l'élongation de la chaîne polypeptidique chez les bactéries.

- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome

. Aminosides (ou aminoglycosides)

Ces antibiotiques sont bactéricides et leur activité est concentration-dépendante. Ils possèdent un large spectre, mais sont inactifs sur les anaérobies et les bactéries des genres Streptococcus et entérocooccus. Ils sont inactifs sur les bactéries en situation intra cellulaire et en milieu acide. Le premier antibiotique de cette famille est la streptomycine. Les molécules les plus employées actuellement sont la gentamicine, la netilmicine, la tobramycine et l'amikacine. Ces antibiotiques se distinguent par leur capacité à résister aux différentes enzymes pouvant inactiver les aminosides.

Les aminosides ne sont guère utilisés en monothérapie. Ils sont associés le plus souvent aux β -lactamines avec lesquelles ils exercent un effet synergique [11].

. Tétracyclines

Les tétracyclines sont des antibiotiques bactériostatiques à large spectre comprenant les bactéries intracellulaires et les mycoplasmes. Chez les bactéries à Gram négatif, la traversée de la membrane externe se fait par les porines ou directement à travers la couche phospholipidique (doxycyclines, minocyclines). Le franchissement de la membrane cytoplasmique se fait par diffusion passive mais aussi grâce à un ou à des systèmes de transport actif permettant l'accumulation dans les bactéries.

Les tétracyclines se fixent sur les ribosomes au niveau du site A par liaison avec les protéines de la sous-unité 30S. Cette fixation inhibe celle de l'aminoacyl-ARNt et bloque l'étape de reconnaissance de la phase d'élongation de la chaîne peptidique [11].

- Antibiotiques se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome

. Le chloramphénicol

C'est un antibiotique à large spectre, à effet bactériostatique, doué d'une bonne diffusion.

Le chloramphénicol est très actif pour le traitement de la fièvre thyroïde. En raison de sa toxicité (risque d'aplasie médullaire), il n'est plus commercialisée en France. Un de ses dérivés, le thiamphénicol, serait moins toxique. C'est le seul produit commercialisé en France actuellement [22].

. Macrolides, lincosamides et streptogramines

Les macrolides, lincosamides et les streptogramines sont apparentés par leur spectre d'activité, leur mécanisme d'action et les mécanismes de résistance.

Les MLS ont un spectre concernant les coques, les bacilles à Gram positif et certains bacilles à Gram négatif. Cette insensibilité de la plupart des bacilles à Gram négatif est due à une absence de pénétration.

Les macrolides se fixent sur la sous-unité 50S, notamment au niveau de l'ARN ribosomal 23S, au voisinage du site P. Le mécanisme exact de leur action est mal connu : inhibition de l'élongation du peptide en cours de synthèse par blocage des étapes de transfert peptidique ou de translocation ? Fragilisation de la liaison peptidyl-ARNt-ribosome, d'où une dissociation prématurée de ce complexe au cours de la translocation ?

Les lincosamides semblent surtout inhiber la formation des liaisons peptidiques. Leur site de fixation sur la sous-unité 50S semble identique à celui des macrolides et elles sont capables de déplacer ces derniers.

Les streptogramines ou synergistines sont formées de deux composants macrocycliques A et B agissant en synergie. Chacun des composés des streptogramines, pris isolément, entraîne une bactériostase par blocage réversible de la synthèse protéique. Le mélange des deux composants inhibe la croissance à des concentrations plus faibles et entraîne une bactéricidie par blocage irréversible des synthèses protéiques [11].

c- Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

La réplication ou la transcription de l'ADN constituent une cible d'action pour des antibiotiques dont certains, comme les quinolones, sont largement utilisés en clinique.

- Quinolones

Elles inhibent des topoisomérases, enzymes intervenant dans la conformation de l'ADN, et plus particulièrement la topoisomérase II (ou ADN gyrase) et la topoisomérase IV. Elles se fixent sur le complexe formé par la topoisomérase et l'ADN.

Les quinolones de 1^{ère} génération, dont la tête de file est l'acide nalidixique, n'agit que sur les bacilles à Gram négatif et sont utilisées aussi bien dans le traitement des infections urinaires que dans les cas de salmonelloses. Les

quinolones de 2^e génération, ou fluoroquinolones, comprennent principalement la pefloxacin, l'ofloxacin et la ciprofloxacine. Elles sont beaucoup plus actives que les quinolones de 1^{ère} génération. Leur bonne diffusion leur permet d'agir aussi sur divers pathogènes intracellulaires (salmonelles).

- Nitro-imidazoles

Le métronidazole est la molécule la plus employée. Cette molécule, utilisée initialement comme antiparasitaire, libère dans les bactéries anaérobies des dérivées très réactives qui provoquent des coupures de l'ADN. Le métronidazole exerce une activité bactéricide vis-à-vis des bactéries anaérobies et microanaérophiles. Il diffuse bien et la tolérance est bonne.

- Rifamycines

Elles inhibent l'ARN polymérase ADN-dépendante en se liant à leur cible de manière covalente. Il en résulte un arrêt de la synthèse des ARN messagers. La rifamycine est douée d'une bonne diffusion dans l'organisme et dans les cellules et exerce un effet bactéricide [26].

d- Les antibiotiques agissant sur les membranes

- polymyxines

Elles se fixent sur les membranes bactériennes (en particulier la membrane externe des bactéries à Gram négatif) et les désorganisent. L'antibiotique le plus utilisé est la colistine. Elle n'agit que sur les bacilles à Gram négatif.

Par leur extrémité hydrophobe, ces antibiotiques pénètrent à l'intérieur de la membrane et s'incorporent à la couche lipidique alors que l'extrémité hydrophile reste orientée vers l'extérieur. Il en résulte une désorganisation de la structure membranaire ce qui provoque la mort de la cellule.

Les polymyxines actives sur les bactéries à Gram négatif, agissent tout d'abord sur la membrane externe entraînant des modifications morphologiques comme la formation de vésicules puis, la membrane cytoplasmique est atteinte ce qui provoque la fuite de substances intracellulaires et la mort des bactéries.

En raison de la similitude entre les membranes des cellules bactériennes et des cellules eucaryotes, les antibiotiques actifs sur la membrane sont

toxiques et seul un nombre restreint de molécules a trouvé une utilisation thérapeutique.

- Nitrofuranes

Ce sont des produits ayant un large spectre, administrés per os. La nitrofurantoïne est utilisée exclusivement dans les infections urinaires. D'autres molécules (nifuroxazide, nifurzide) ne sont pas absorbées et sont utilisées pour le traitement d'infections intestinales [22].

e- Antibiotiques agissant par inhibition compétitive

L'acide tétrahydrofolique intervient dans de nombreuses voies métaboliques et notamment dans la synthèse des purines et des pyrimidines. Chez les bactéries, sa synthèse se fait en trois étapes dont la première nécessite de l'acide para-amino-benzoïque ou PAB. La synthèse de l'acide tétrahydrofolique est inhibée par les sulfamides et le triméthoprine [11].

- Sulfamides

Les sulfamides sont des analogues de l'acide para-amino-benzoïque. Ils inhibent la synthèse des folates en inhibant la dihydroptérate synthétase. Ils ont été les premiers agents antimicrobiens utilisés. Ils sont peu employés actuellement en raison des nombreux effets secondaires et de la fréquence des souches résistantes [11].

- Triméthoprimes

Le triméthoprine inhibe la synthèse des folates en inhibant la dihydrofolate réductase. C'est un agent antibactérien à large spectre. Il est surtout utilisé en association avec un sulfamide.

Le triméthoprine et les sulfamides agissent à deux niveaux différents de la synthèse des folates ce qui leur assure un effet synergique et bactéricide. L'association des deux molécules (cotrimoxazole) est administré per os et bénéficie d'une bonne diffusion [11].

3- Acquisition de la résistance aux antibiotiques

Les bactéries peuvent acquérir une résistance aux antibiotiques le plus souvent par modification du patrimoine génétique. Ces modifications du génome peuvent relever de plusieurs mécanismes [23].

- Mutations

Le mécanisme le plus souvent en cause est la substitution d'un nucléotide par un autre, au moment de la réplication de l'ADN. Des mutations peuvent aussi être liées à des délétions ou bien à l'insertion dans un gène d'un ou de plusieurs nucléotides supplémentaires.

Les modifications du patrimoine génétique engendrées par les mutations sont rares et transmises à la descendance (transmission verticale). Certaines mutations sont réversibles (à faible fréquence).

- Transposition

La présence d'éléments génétiques transposables est très fréquente chez les bactéries. Les éléments transposables sont des séquences d'ADN de longueur variable, flanquées par des séquences répétées inversées. L'appariement de ces séquences inversées leur permet d'être excisés. Une fois excisé, l'élément transposable peut être réinséré en un site variable du chromosome bactérien (ou plasmide) sans qu'une homologie de séquence soit nécessaire. Les éléments transposables les plus simples portent le nom d'éléments IS (Insertion Sequences). Les autres sont appelés transposons et contiennent des gènes de résistance aux antibiotiques.

Le fait que de nombreux gènes de résistance aux antibiotiques soient situés sur des transposons favorisent leur diffusion. Ils peuvent ainsi passer du chromosome à un plasmide et ultérieurement à d'autres bactéries (par conjugaison). Le transfert à une autre bactérie peut également s'opérer directement s'il s'agit d'un transposon conjugatif [23].

- Transfert de matériel génétique

Du matériel génétique peut parfois être transféré d'une bactérie à une autre (transmission horizontale). Ce transfert peut s'opérer par trois mécanismes :

. Par transformation

Des fragments d'ADN bactérien (pouvant être libérés lors de la lyse bactérienne) peuvent pénétrer dans d'autres bactéries et s'intégrer par recombinaison dans leur ADN. Cependant, ce processus ne s'observe que dans certaines espèces bactériennes, appartenant notamment aux genres *Streptococcus*, *Neisseria*, *Haemophilus*.

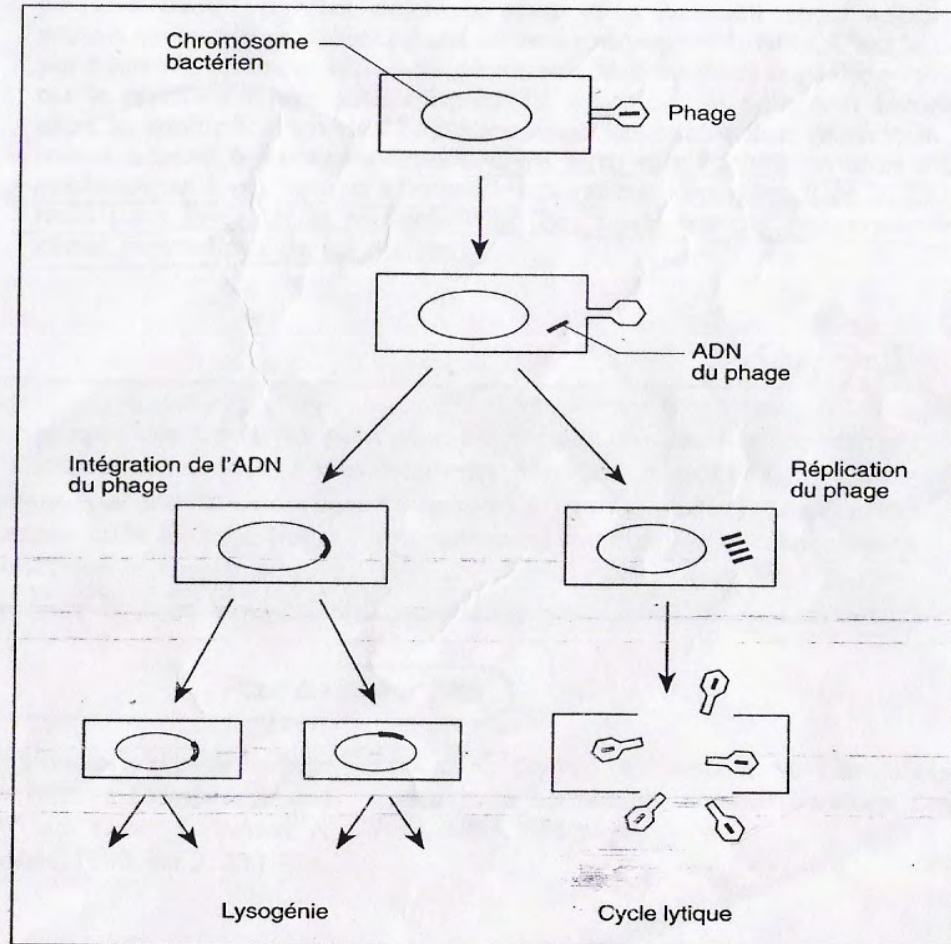
. Par transduction

Le transfert de matériel génétique fait intervenir ici des virus de bactéries, les bactériophages (ou phages). Le phage se fixe sur la bactérie et injecte son acide nucléique (le plus souvent ADN) dans la bactérie. Deux éventualités sont alors possibles.

S'il s'agit d'un phage virulent, un cycle de réplication viral va se dérouler et entraîner la lyse de la bactérie. S'il s'agit d'un phage tempéré, l'ADN du phage va s'intégrer dans le chromosome bactérien, en général au niveau du site défini, sous forme de prophage et se répliquer avec le chromosome, c'est la lysogénie.

Au cours des réplifications du prophage, des fragments d'ADN bactériens peuvent être emprisonnés par erreur dans des particules virales. Ultérieurement, ces phages vont s'introduire dans d'autres bactéries réceptrices en même temps que ces fragments : c'est la transduction [23].

4.1. Modalités d'interaction phage-bactérie. ➤



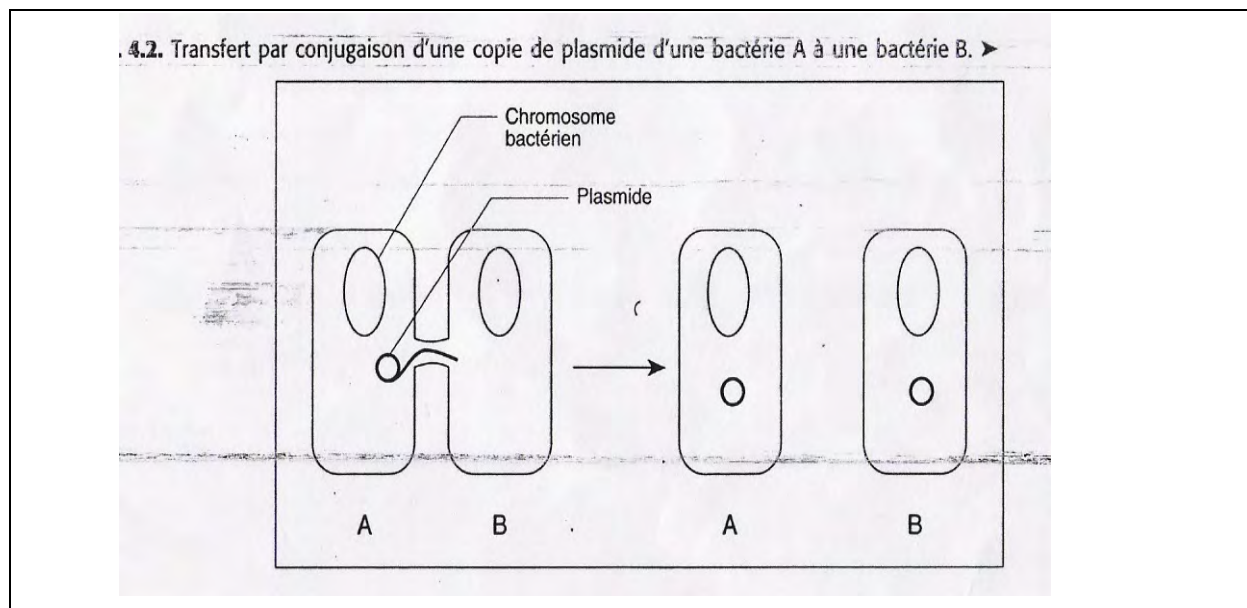
. Par conjugaison

C'est probablement le mécanisme le plus fréquent dans la nature. C'est un transfert d'ADN entre deux bactéries accolées. Le transfert se fait d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice.

4- Acquisition de la résistance aux antibiotiques des Salmonelles

Le phénomène le plus souvent en cause de la modification du patrimoine génétique des salmonelles pouvant induire des résistances aux antibiotiques est la conjugaison. Elle se fait entre une Salmonelle donatrice et une autre réceptrice.

La bactérie donatrice exprime à sa surface des structures permettant l'accolement (pili sexuels). Le transfert concerne essentiellement des plasmides. Ces molécules d'ADN circulaires, extrachromosomiques, sont de taille variable et se répliquent indépendamment du chromosome. Il en existe une grande variété et une bactérie peut en héberger plusieurs sortes. Les plasmides pouvant être transférés d'une Salmonelle à une autre sont dits conjugatifs. Pendant le processus de conjugaison, le plasmide se réplique et l'une des copies passe dans la bactérie réceptrice. Des gènes de résistance aux antibiotiques sont souvent localisés sur ces plasmides. Leur transfert par conjugaison explique le caractère épidémique que peut parfois revêtir la résistance aux antibiotiques des Salmonelles [23].

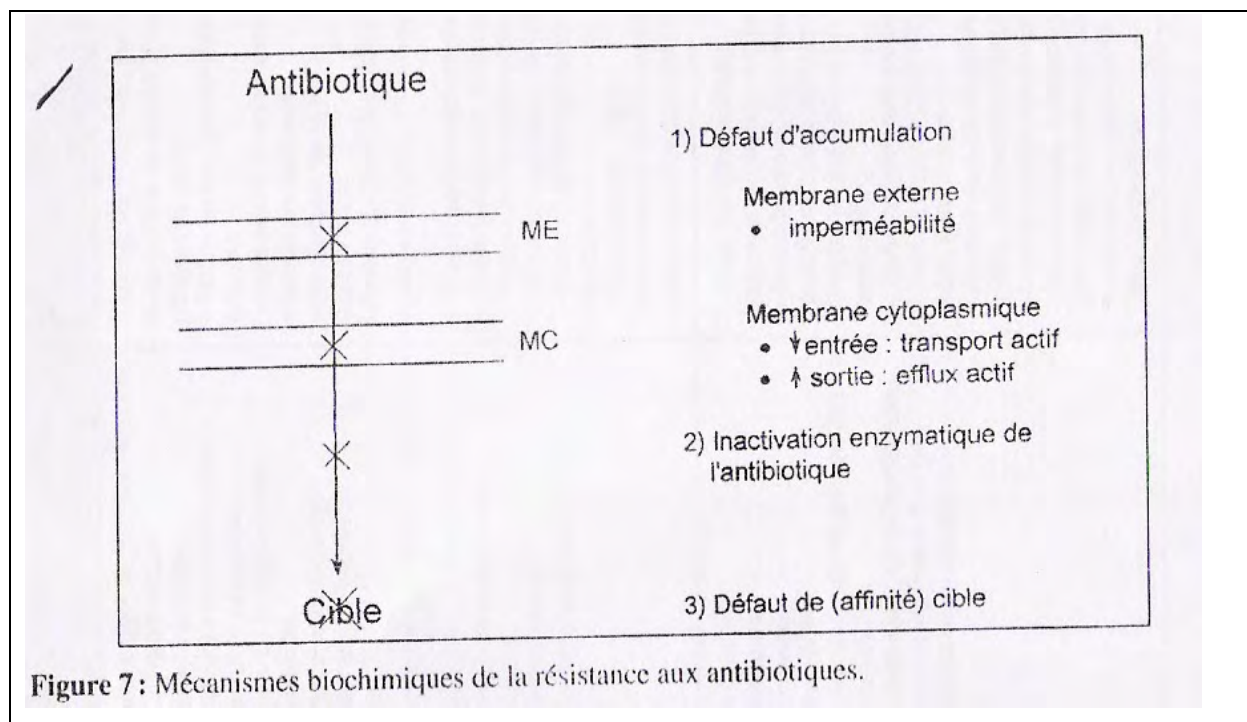


5- Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques des salmonelles

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La résistance naturelle est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique. La résistance acquise résulte d'une modification du patrimoine génétique (comme vu précédemment).

Les trois mécanismes biochimiques principaux de la résistance aux antibiotiques sont le défaut d'accumulation, la détoxification enzymatique de l'antibiotique, et l'absence de cible ou d'affinité de(s) cible(s). Ces mécanismes biochimiques sont effecteurs aussi bien des résistances naturelles que des résistances acquises.

Cependant la résistance aux antibiotiques des salmonelles est due soit à un défaut d'accumulation soit à une détoxification enzymatique [3].

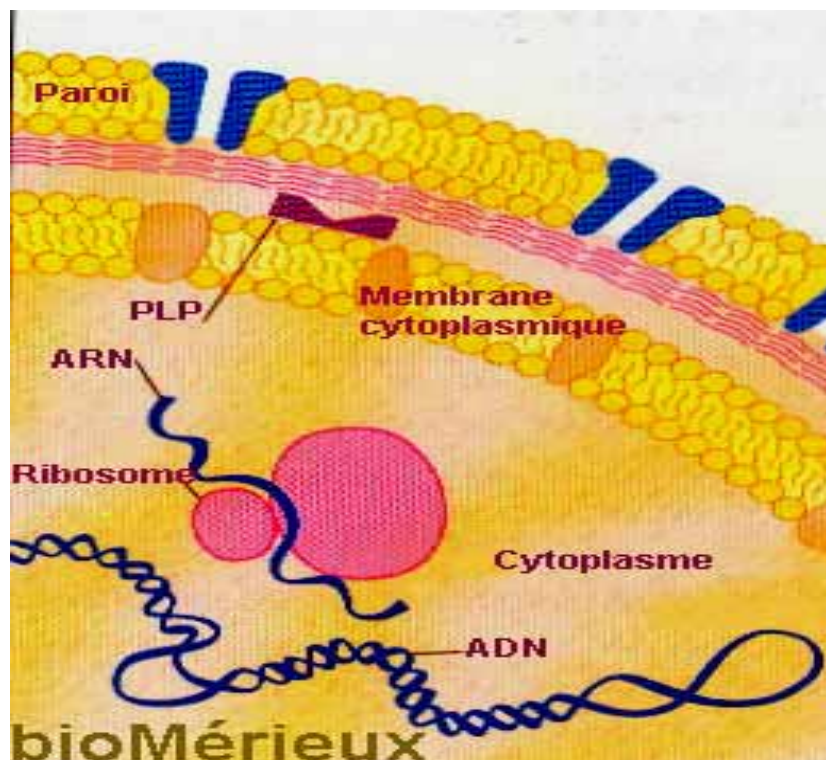


a- Défauts d'accumulation

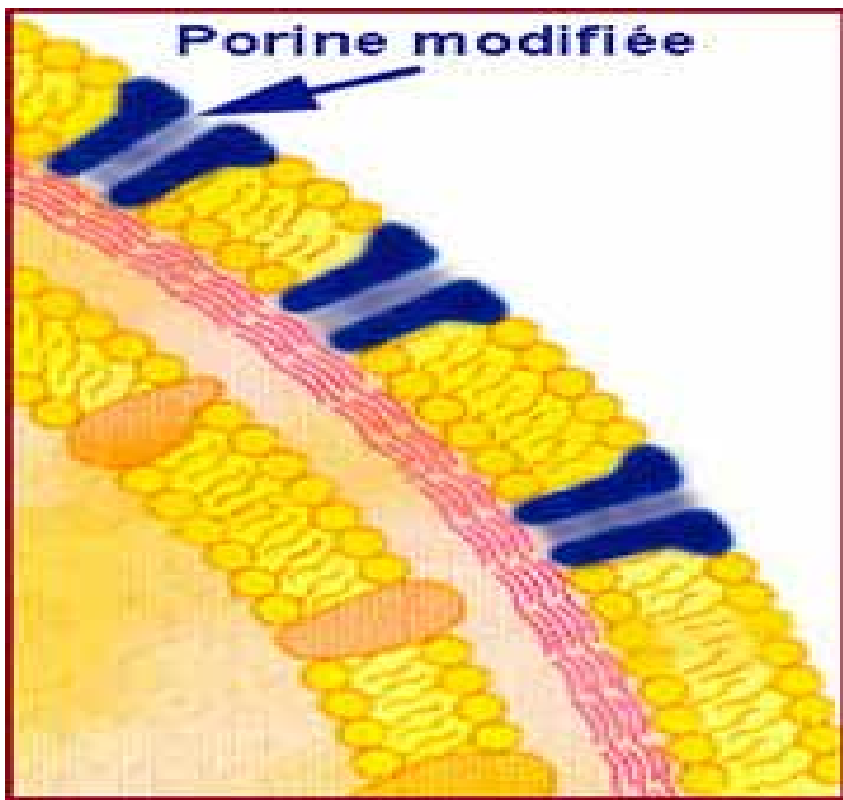
. Défauts d'accumulation liés à la membrane externe : entrée insuffisante

La résistance naturelle des Gram négatif à de nombreux antibiotiques hydrophobes (pénicillines G et M, macrolides et apparentés, glycopeptides, acides fusidique) est due, au moins en partie, à l'imperméabilité de leur membrane externe.

Il peut y avoir résistance acquise chez les Gram négatif par des mutations réduisant la quantité de porines produites, ou altérant leur conformation. Les pores permettent habituellement l'entrée passive des différents antibiotiques actifs sur la bactérie : il y a résistance croisée à des antibiotiques ou à des familles d'antibiotiques hydrophiles très différents (β -lactamines, quinolones, phénicolés, tétracyclines, sulfamides et triméthoprim) [3].



Coupe schématique de la structure normale d'une bactérie à Gram négatif [27]



**Coupe schématique d'une bactérie à Gram négatif
à porines modifiées [27]**

. Défauts d'accumulation liés à la membrane cytoplasmique

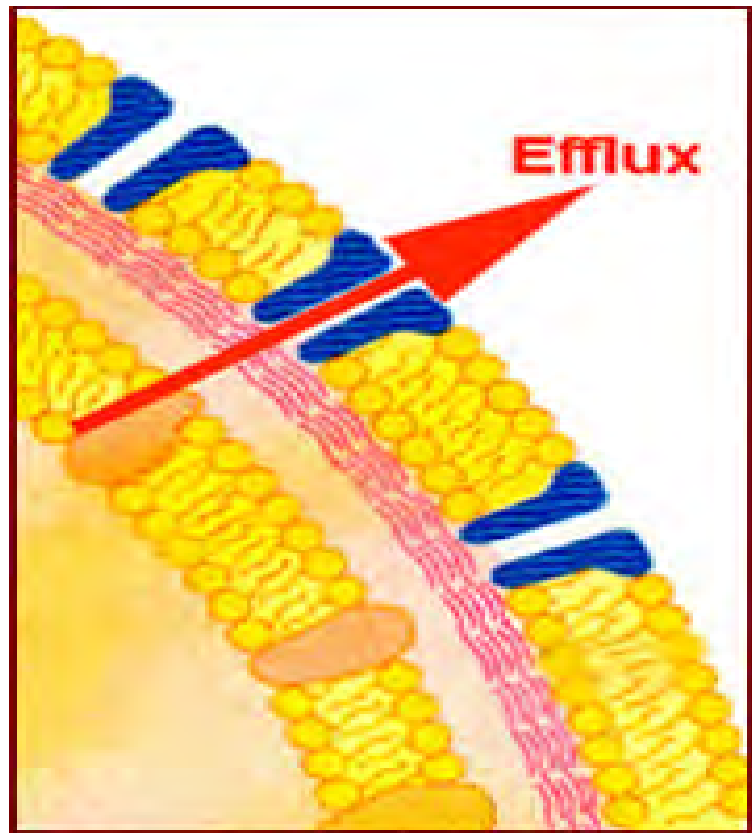
Entrée insuffisante : absence ou altération des systèmes de transport actif

L'absence de phosphorylation oxydative (EDPI) peut induire chez certaines bactéries une résistance aux antibiotiques. La résistance acquise à la fosfomycine résulte principalement de mutations altérant les systèmes de transport du glycérol phosphate et/ou des hexoses phosphates.

Sortie excessive : efflux actifs

Des systèmes d'efflux actifs peuvent refouler les antibiotiques vers l'extérieur. La plupart, sinon toutes les bactéries, possèdent à l'état naturel des pompes d'efflux multidrogues capables d'excréter des antibiotiques très variés ainsi que d'autres substances structuralement non reliées. Ces systèmes d'efflux, d'origine chromosomique, participent à la résistance naturelle. Leur expression est souvent soumise à une

régulation négative. Des mutations dans le système de régulation peuvent entraîner leur hyper expression et des multirésistances acquises [3].



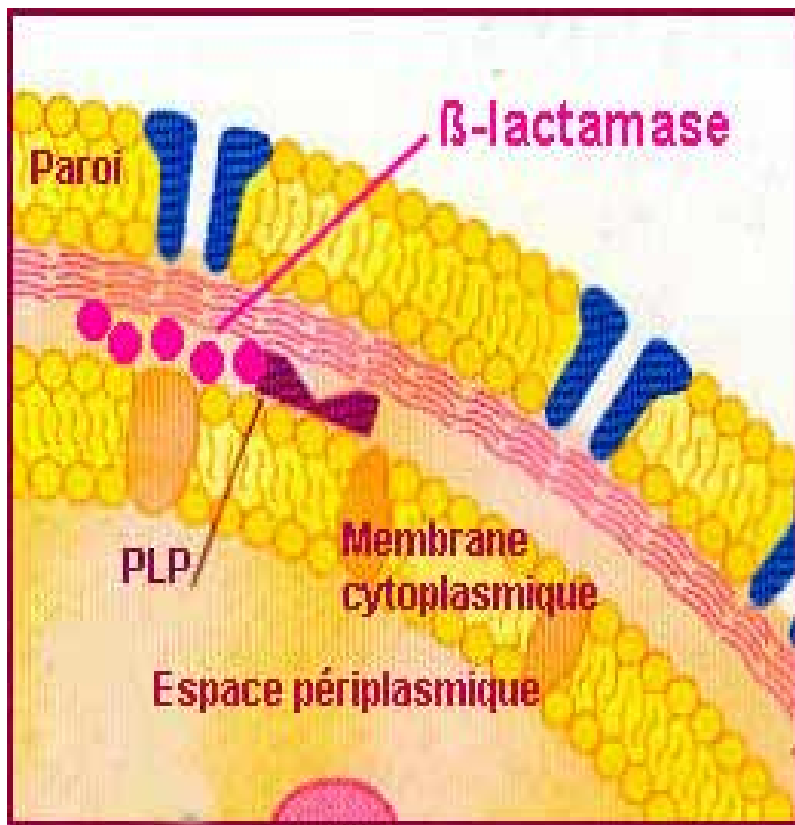
Mécanisme d'efflux actifs d'antibiotiques chez certaines bactéries [27]

b- Détoxification enzymatique de l'antibiotique

L'antibiotique peut être altéré ou détruit par des enzymes bactériennes, codées par des gènes chromosomiques (elles sont alors caractéristiques d'espèces), ou par des gènes plasmidiques et/ou transposables (elles sont alors retrouvées chez des espèces très variées). C'est probablement le mécanisme de résistance le plus fréquent, affectant la plupart des antibiotiques et des bactéries.

Les β -lactamases hydrolysent le pont β -lactame caractéristique des β -lactamines, inactivant totalement et définitivement l'antibiotique. Suivant les substrats préférentiels, on distingue schématiquement les pénicillinases et les céphalosporinases. La résistance naturelle aux β -lactamines d'un grand nombre de bacilles à Gram négatif (entérobactéries) est essentiellement due

à la production de β -lactamases chromosomiques. Plusieurs centaines de β -lactamases plasmidiques et/ou transposables ont été décrites [3].



Production d'enzymes bactériennes (β -lactamases) détruisant l'antibiotique chez certaines bactéries [27]

Au début des années 1980, des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) ont émergé. Ces enzymes dérivent pour la plupart des pénicillinases banales, TEM-1, TEM-2, et SHV-1, par des mutations sur des gènes plasmidiques, modifiant la conformation du site actif dans le sens d'une plus grande affinité pour les substrats et d'une augmentation de l'efficacité hydraulique. Les souches productrices sont résistantes à toutes les β -lactamines sauf aux céphamycines et aux carbapénèmes.

La production d'enzyme modifiant les phénicolés, les chloramphénicol-acétyl-transférases (CAT), est également le principal mécanisme de la résistance acquise à ces antimicrobiens. Il existe au moins une douzaine de CAT, généralement plasmidiques, inductibles chez les Gram positif et constitutives chez les Gram négatif [3].

6- Evolution de la résistance aux antibiotiques

a- Sélection de la résistance

Le pourcentage de souches résistantes à un antibiotique donné a souvent tendance à augmenter en fonction du temps d'utilisation de cet antibiotique. C'est le résultat de la pression de sélection des antibiotiques. En effet l'administration d'un antibiotique chez un individu entraîne la disparition ou la diminution, des bactéries sensibles à cet antibiotique et favorise de ce fait la prolifération des bactéries ayant acquis des gènes de résistance, et des espèces possédant une résistance naturelle. La résistance sélectionnée par un antibiotique peut toucher, à des degrés divers, l'ensemble de la famille d'antibiotiques correspondante. Lorsque la pression de sélection des antibiotiques diminue, on peut observer dans certains cas une diminution du pourcentage de souches résistantes. Un des mécanismes en cause est la perte progressive de gènes de résistance situés sur des éléments génétiques instables.

Lorsque le niveau de résistance acquise évolue par paliers, la pression de sélection contribue aussi à élever le niveau de résistance. L'augmentation du niveau de résistance peut relever de différents mécanismes : augmentation du nombre de copies du gène de résistance, nouvelle mutation portant sur un gène déjà modifié, ou bien acquisition d'un deuxième mécanisme de résistance vis-à-vis de l'antibiotique (par exemple diminution de la perméabilité s'ajoutant à une modification de la cible).

Lorsque plusieurs gènes de résistance sont portés par un même élément génétique (par exemple un plasmide) l'utilisation d'un antibiotique sélectionne non seulement le gène de résistance à l'antibiotique administré, mais aussi les gènes de résistance associés [24].

b- Diffusion de la résistance

Après la sélection de la résistance, divers facteurs peuvent contribuer à sa diffusion [24].

Diffusion de la résistance chez les bactéries

Chez les bactéries, les gènes de résistance sont transmis à la descendance (transmission verticale). Ils peuvent aussi être transmis, par conjugaison ou

transformation, à d'autres bactéries de la même espèce et plus rarement à des bactéries appartenant à des espèces différentes (transmission horizontale) ce qui réalise une transmission épidémique de la résistance. De nombreux gènes de résistance sont situés sur des transposons. Ce sont des éléments génétiques mobiles, pouvant se déplacer d'une région à une autre du chromosome, ou bien du chromosome vers un plasmide et inversement. Cette situation favorise encore la diffusion des gènes de résistance.

Transmission interhumaine

Les bactéries portant des gènes de résistance circulent dans la population humaine, en milieu communautaire et plus encore en milieu hospitalier. En milieu hospitalier, la situation est en effet aggravée par la forte pression de sélection des antibiotiques et par la transmission des bactéries par le personnel hospitalier, si les précautions d'hygiène ne sont pas assez strictes.

Transmission d'origine animale

Chez les animaux domestiques, les antibiotiques ne sont pas utilisés seulement à titre thérapeutique, mais aussi comme additif dans l'alimentation. Des souches résistantes, ainsi sélectionnées chez l'animal, peuvent ensuite être transmises à la population humaine [24].

B- Travail personnel

I- Cadre d'étude

L'étude est réalisée au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHUN/Fann durant la période 2006-2008. Le laboratoire se trouve au 1^{er} étage dans les locaux du service de pathologies infectieuses communément appelé maladies infectieuses.

Le laboratoire comprend :

- Une salle de réception
- Une salle de prélèvement de sang
- Une salle de prélèvement vaginal
- Une salle de stérilisation et de préparation des milieux de culture
- Le laboratoire proprement dit constitué d'une grande salle comportant six paillasse bien distinctes :

- . Une paillasse d'ABG (antibiogramme).
- . Une paillasse d'hémoculture et de LCR (liquide céphalo-rachidien).
- . Une paillasse d'ECBU (étude cytotbactériologique des urines).
- . Une paillasse de PV (prélèvement vaginal).
- . Une paillasse de coproculture et de pus.
- . Une paillasse de sérologie.

Les activités menées dans ce laboratoire sont diverses car allant du prélèvement à la réalisation de l'antibiogramme, en passant par l'isolement et l'identification des souches.

Des sujets de recherche y sont développés, et des possibilités de stage y sont également offertes.

II- Matériels et méthodes

II-1- Matériels

II-1-1- Collecte des souches bactériennes

Lors de notre étude, 163 souches de salmonelles ont été collectées en situation pathogène. Les prélèvements proviennent de malades hospitalisés dans les différents services du CHU de Fann (service de pathologies infectieuses, service de neurologie et service de pneumologie).

A ces prélèvements, s'y ajoutent ceux provenant de consultations externes à la clinique des maladies infectieuses et des autres hôpitaux et cabinets de la région.

Ces produits ont été isolés à partir de produits biologiques variés :

- Selles.
- Sang.
- LCR (liquide céphalo-rachidien).
- LP (liquide pleural).
- Pus.
- Urines.

Cependant, la découverte de salmonelles dans les urines, le LP, le LCR et dans les urines est fortuite car ces derniers ne se rencontrent pratiquement que dans les selles et le sang.

II-1-2- Réactifs et matériels de laboratoire

- Pour le prélèvement de produits pathologiques :

- . Tubes à essai.
- . Écouvillons (PV, ABG).
- . Ballons (hémoculture).
- . Pots (selles et urines).

- Pour l'isolement des salmonelles les principaux milieux utilisés sont :

Milieu gélose hektoen (HK)

La gélose Hektoen est un milieu de choix pour l'isolement des entérobactéries pathogènes.

La présence suspecte de salmonelles dans ce milieu se manifeste par la formation de colonies de couleur verdâtre à translucide présentant des centres noirs, coloration due à la formation de sulfure de fer.

Bouillon sélénite (BS)

Le bouillon sélénite est un milieu d'enrichissement qui permet l'aide d'antiseptiques sélectifs d'inhiber les autres bactéries et accroître la proportion de *Salmonella*.

Milieu Salmonelle-Shigelle (SS).

Ici les colonies suspectes sont incolores à translucides avec production d'H₂S, donc à centre noir.

- Pour l'identification des salmonelles : galerie d'identification

La galerie d'identification permet d'identifier les salmonelles sur la base de leurs caractères biochimiques. Elle comporte cinq milieux :

. Le milieu kligler-Hajna (KH) qui permet de lire :

La fermentation du glucose.

La fermentation du lactose.

La production de gaz.

. Le milieu mannitol mobilité permettant la lecture de :

L'utilisation du mannitol par le germe.

La mobilité (germe mobile ou immobile).

. Milieu citrate de Simmons.

. Milieu urée-indole qui permet de lire :

La production d'une uréase.

La production d'une tryptophane désaminase par le germe.

. Le milieu eau peptonnée simple qui permet de connaître la possession d'une tryptophanase en présence du réactif d'Erlich-Kovacks.

- Pour la réalisation de l'antibiogramme

Gélose Muller-Hinton.

Eau physiologique.

Tubes à hémolyse.

Ecouvillons.

Disques d'antibiotiques.

Distributeurs d'antibiotiques.

Pinces.

II-1-3 Logiciel utilisé : WHONET

Cette étude est réalisée à l'aide d'un logiciel, WHONET, conçu par l'organisation mondiale de la santé. Ce dernier est une application développée spécialement pour l'analyse et l'interprétation des résultats des tests obtenus dans les laboratoires de microbiologie.

Dans notre cas, il nous a permis d'exploiter les fiches d'antibiogrammes de notre étude.

Les principaux buts de ce logiciel sont :

- D'avoir une base de données des résultats des tests microbiologiques d'un laboratoire, en d'autres termes l'informatisation des fichiers du laboratoire.
- De promouvoir la collaboration et l'échange de données entre les laboratoires de microbiologie.

WHONET permet aussi entre autres de connaître la résistance d'une espèce (ou d'une souche) aux agents antimicrobiens, ainsi que les mécanismes de résistance. Enfin, il attire l'attention sur le caractère endémique d'une infection.

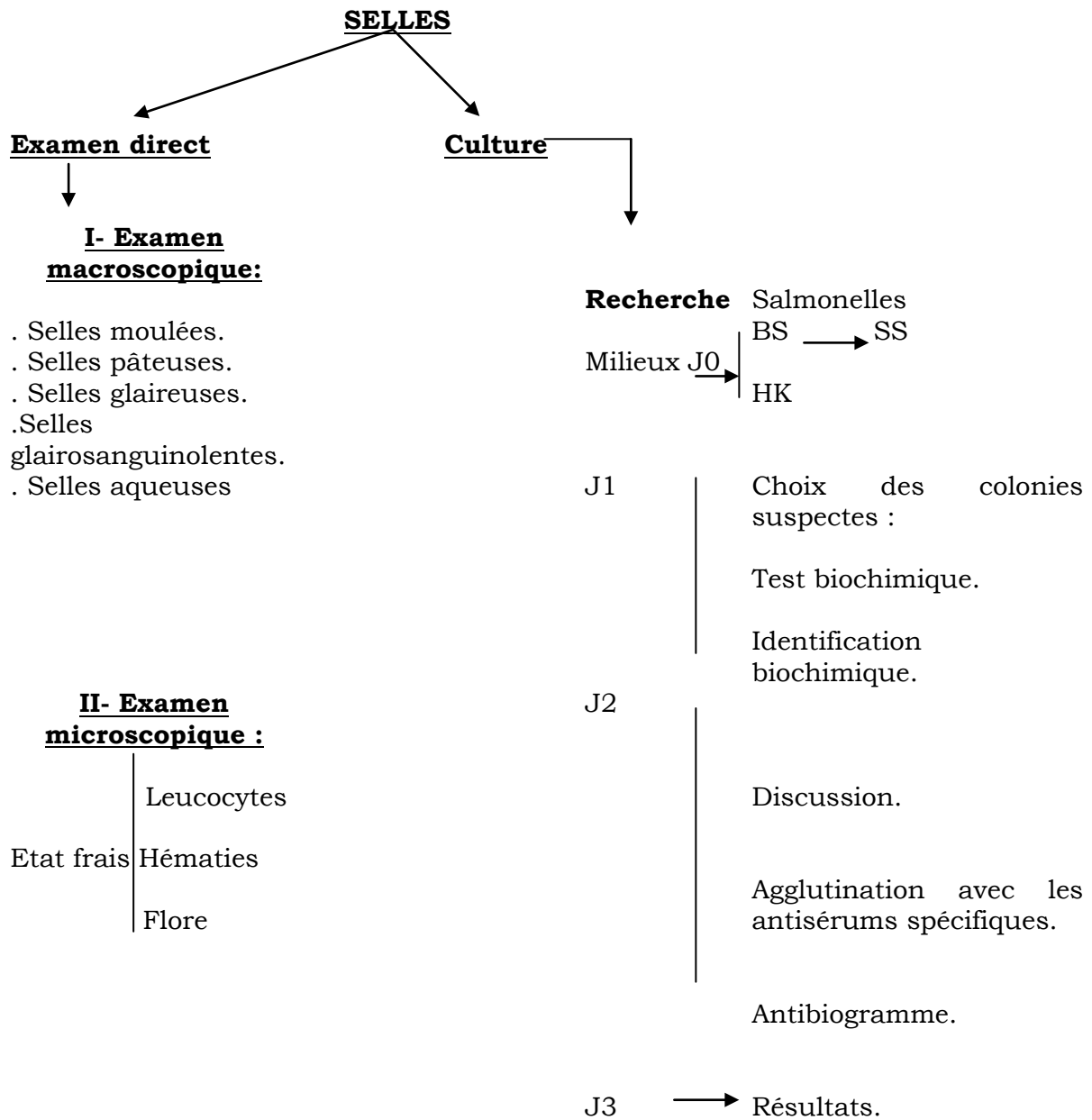
II-2- Méthodes d'isolement et d'identification

II-2-1 Par coproculture

Les produits pathologiques examinés sont les selles.

La coproculture permet le diagnostic des troubles entériques (diarrhées, dysenterie) par la recherche d'une cause bactérienne.

Les selles fraîchement émises sont recueillies dans un pot stérile.



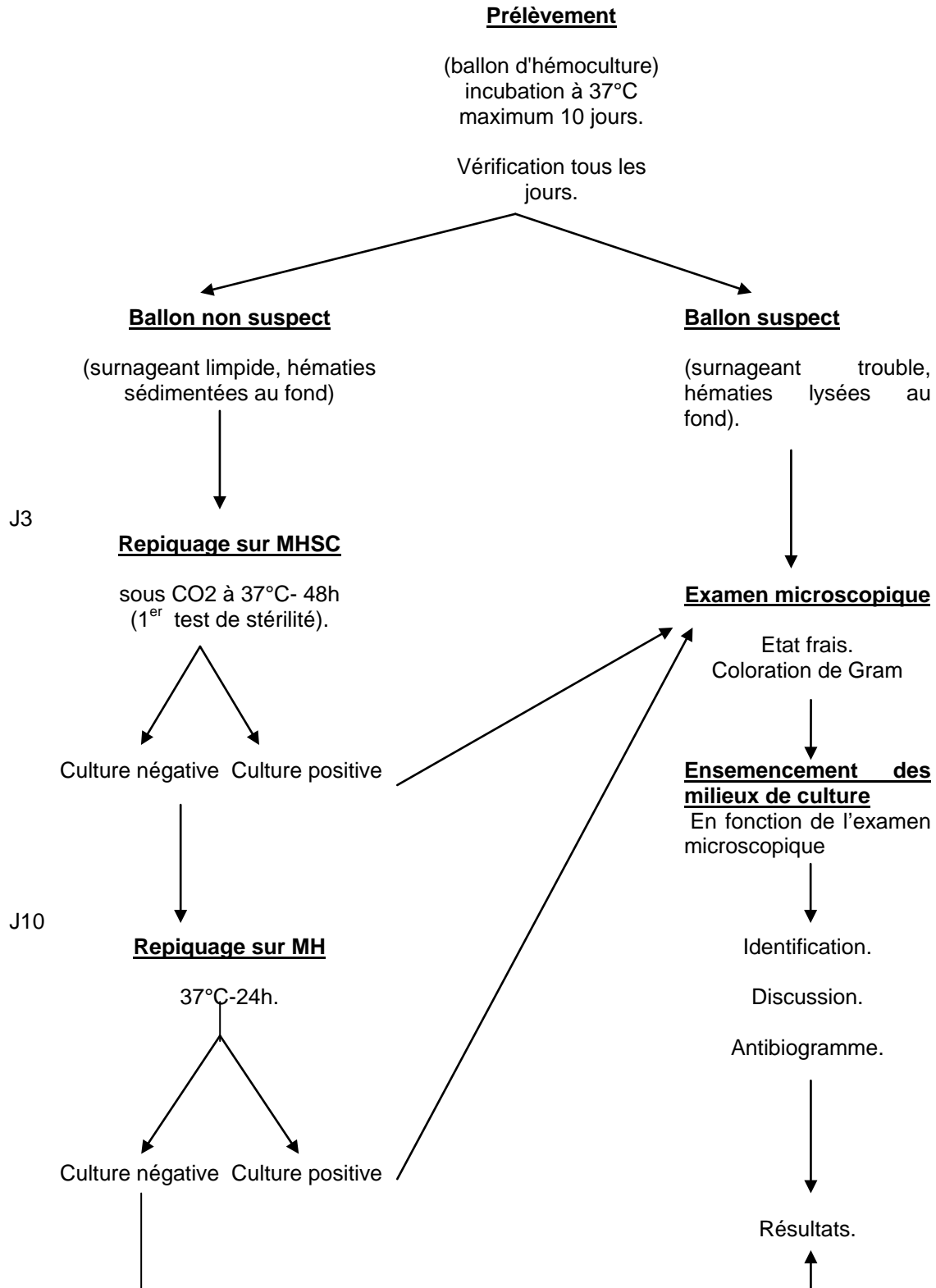
Technique de coproculture au CHNU de Fann

II-2-2 Par hémoculture

Pour l'ensemencement des ballons, on prélève une quantité du sang du malade permettant une dilution au 1/10^e avec le milieu de culture contenu dans le ballon.

Par la suite, les hémocultures sont placées à 37°C et sont incubées 5 à 10 jours et quotidiennement examinées. Des repiquages systématiques sont effectués au troisième et au dixième jour.

J0



Technique de l'hémoculture au CHNU de Fann

II-3 Méthode de réalisation de l'antibiogramme

L'antibiogramme est un test de sensibilité des bactéries vis-à-vis des antibiotiques.

De nos jours, le phénomène de la résistance bactérienne est un problème récurrent d'où la nécessité de réaliser quotidiennement l'antibiogramme.

L'antibiogramme nécessite une bonne analyse bactériologique préalable, l'utilisation d'une technique reproductible et standardisée et une interprétation des résultats. Au laboratoire de bactériologie-virologie de Fann, c'est la méthode française CASFM qui est utilisée.

- Choix des antibiotiques

Les antibiotiques testés pour les Salmonelles sont :

Amoxicilline(AMX) (25µg)	Kanamycine (KAN) (30 UI)
Amoxicilline/Acideclavulanique (AMC) (20/10µg)	Tobramycine (TOB) (10µg)
	Gentamicine (GEN) (15µg)
Ticarcilline (TIC) (75µg)	
	Amikacine (ANK) (30µg)
Pipéracilline (PIP) (75µg)	
	Netilmicine (NET) (30µg)
Céfalotine (CEP) (30µg)	
	Trimethoprine/Sulfamethoxazole (SXT) (1,25/23,75µg)
Céfoxitine (FOX) (30µg)	
Ceftriaxone (CRO) (30µg)	colistine (COL) (30µg)
Céfotaxime (CTX) (30µg)	acide nalidixique (NAL) (30µg)
Ceftazidime (CAZ) (30µg)	Pefloxacin (PEF) (5µg)
Aztréonam (ATM) (30µg)	Norfloxacin (NOR) (5µg)
Imipenem (IMP) (10µg)	Ciprofloxacine (CIP) (5µg)
Chloramphenicol (CHL) (30µg)	Nitroxoline (NTR) (20µg)

Tétracycline (TCY) (30µg)

Acide fusidique (FUS) (10µg)

Doxicycline (DOX) (30µg)

Cefepime (FEP) (30µg)

Cefixime (CFM) (10µg)

- Technique de l'antibiogramme par la méthode des disques en milieu gélosé.

. Principe

Les disques d'antibiotiques (papier buvard imprégné d'une quantité définie d'antibiotique) sont déposés en milieu gélosé avec une suspension calibrée de la bactérie à étudier.

Ainsi l'antibiotique diffuse dans le milieu, autour du disque et en profondeur, et il se forme un gradient de concentration à partir du disque.

. Zone d'inhibition

Les points où s'arrête la multiplication bactérienne correspondent à la concentration minimale inhibitrice (CMI).

On désigne par :

d la limite inférieure de la zone critique c'est-à-dire la zone en dessous de laquelle la bactérie est dite résistante.

D la limite supérieure de la zone critique, limite au-delà de laquelle, la bactérie est dite sensible.

Si $\Phi \geq D$: la bactérie est dite sensible.

Si $\Phi < d$: la bactérie est dite résistante.

Si $d \leq \Phi < D$: la bactérie est dite intermédiaire.

- Préparation de la suspension bactérienne.

Elle est réalisée après l'isolement et l'identification d'une souche de salmonelle pure.

On réalise à partir de quelques colonies identiques et bien isolées une suspension d'opacité équivalente à l'échelle de 0,5 Mac Farland dans de l'eau physiologique. Ensuite, on effectue une dilution au 1/100^e de l'inoculum.

- Ensemencement du milieu.

Ici nous avons utilisé la méthode d'ensemencement par écouvillonnage : on ensemence en stries serrées sur toute la surface du milieu à trois reprises

selon trois angles de 60°, puis on écouvillonne tout autour de la surface de la gélose.

- Application des disques.

Les disques sont soit déposés à l'aide d'un distributeur automatique, ou à l'aide d'une pince flambée.

Une distance de 15mm doit séparer un disque du bord de la boîte. Entre deux disques, il faut une distance de 30mm pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

Enfin, une fois les disques déposés, une prédiffusion de 30mn à température ambiante est nécessaire si l'ensemencement se fait par inondation.

- Incubation

Les boîtes sont ensuite portées à l'étuve à 37°C pendant 24h (les couvercles sont retournés vers le bas).

- lecture

. Vérifier la pureté de la culture.

. Mesurer les diamètres d'inhibition que l'on compare avec les données du document du CASFM.

. Interpréter en résistant, sensible ou intermédiaire.

- Lecture interprétative de l'antibiogramme.

La lecture interprétative de l'antibiogramme, fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance, conduit dans certains cas à transformer un résultat initialement catégorisé en résistant, sensible ou intermédiaire et de rectifier une identification.

. Principe.

Les résultats de l'antibiogramme ne peuvent pas être rendus au clinicien à l'état « brute ». Derrière de simples diamètres d'inhibition se cachent parfois des mécanismes de résistance et des pièges que l'œil exercé du microbiologiste doit savoir dépister.

Cette lecture constitue un exercice délicat, faisant appel à l'expérience, à la mémoire et à des qualités d'observation. Au préalable, elle nécessite d'abord une identification correcte de la bactérie à étudier.

La lecture interprétative peut se dérouler en trois étapes :

a- La 1^{ère} étape est la lecture brute d'un phénotype de résistance obtenu en testant les antibiotiques sélectionnés.

b- La 2^{ème} étape détermine le ou les mécanismes de résistance présents chez la bactérie à étudier.

c- La 3^{ème} étape, permet, à partir des mécanismes de résistance détectés, d'établir la résistance clinique prédictive de la bactérie.

Cette dernière étape intègre les résultats des études clinico-biologiques rapportés dans la littérature. Elle prédit la sensibilité et la résistance in vivo de la bactérie vis-à-vis d'un grand nombre d'antibiotiques sans qu'il soit nécessaire de les avoir testés in vitro. Elle prédit donc la réponse clinique.

III- Résultats

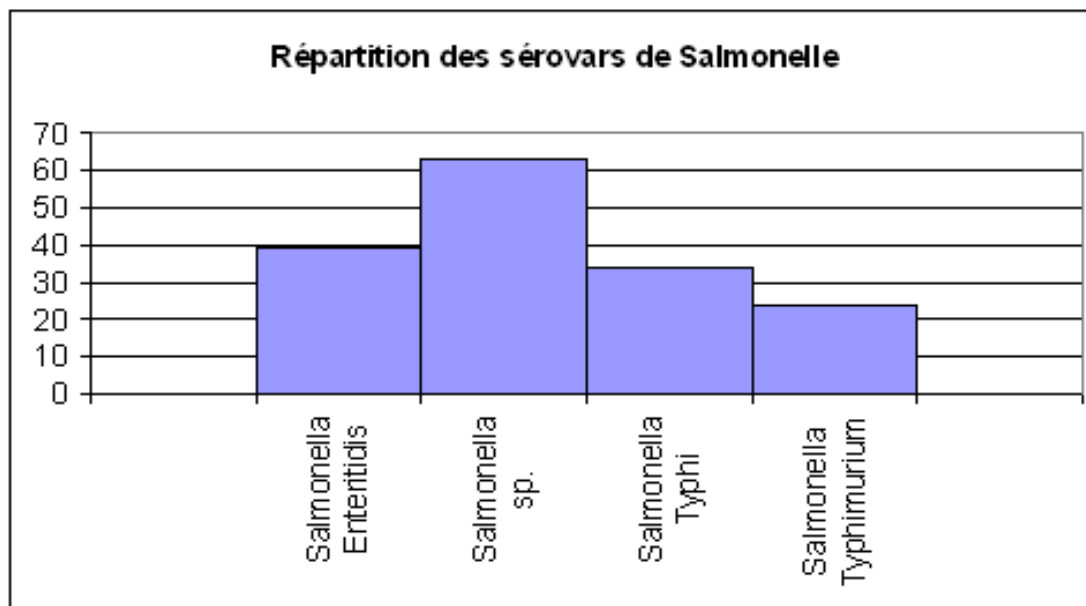
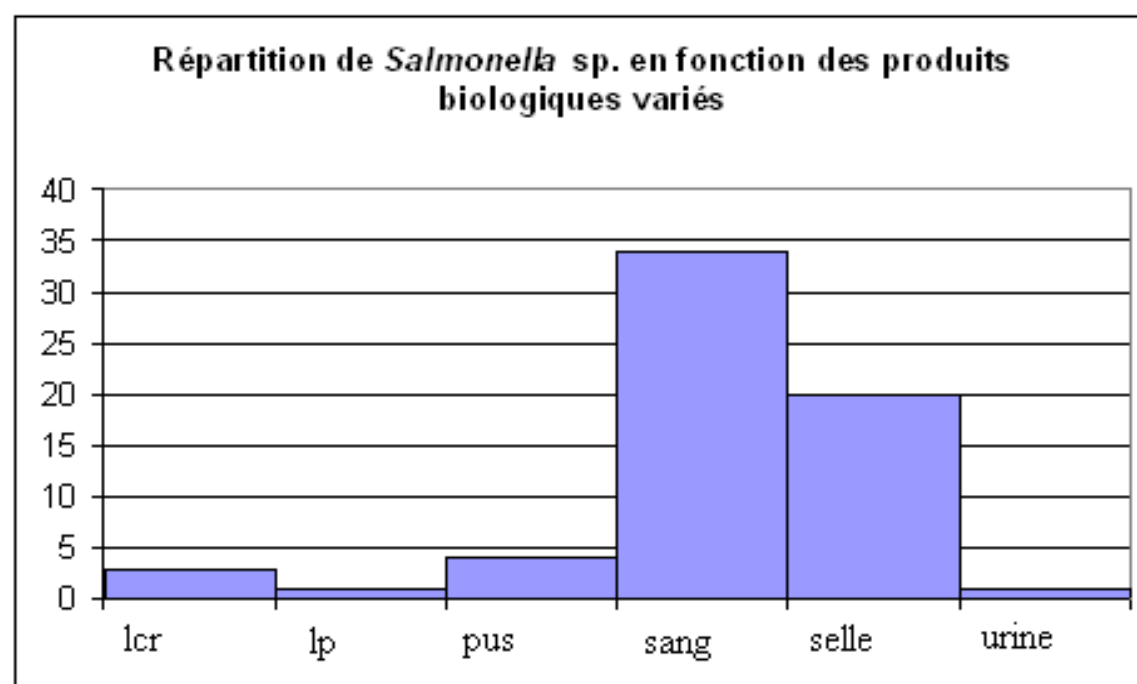
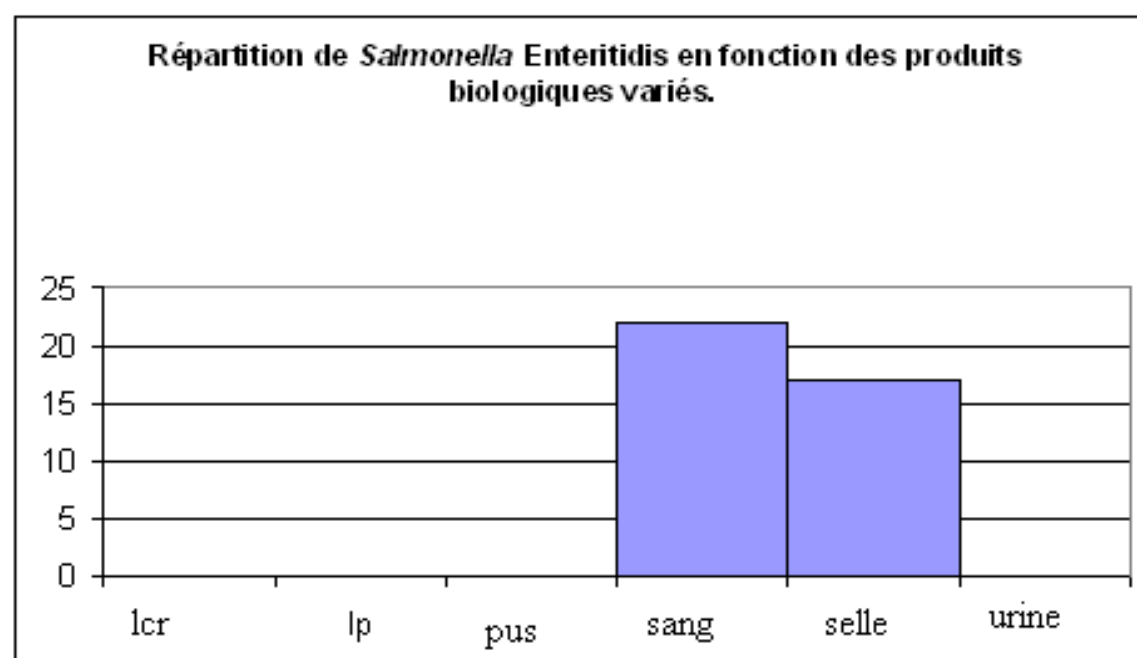


Tableau I: distribution des sérotypes obtenus en fonction des produits biologiques.

Sérotype	Nombre de souches	Nombre de patients	Lcr	Lp	pus	sang	selle	urine
<i>Salmonella</i> Enteritidis	39	39				22	17	
<i>Salmonella</i> sp.	64	63	3	1	4	34	20	1
<i>Salmonella</i> Typhi	36	34				22	12	
<i>Salmonella</i> Typhimurium	24	24			2	9	13	

Lcr = liquide céphalo-rachien

Lp = liquide pleural



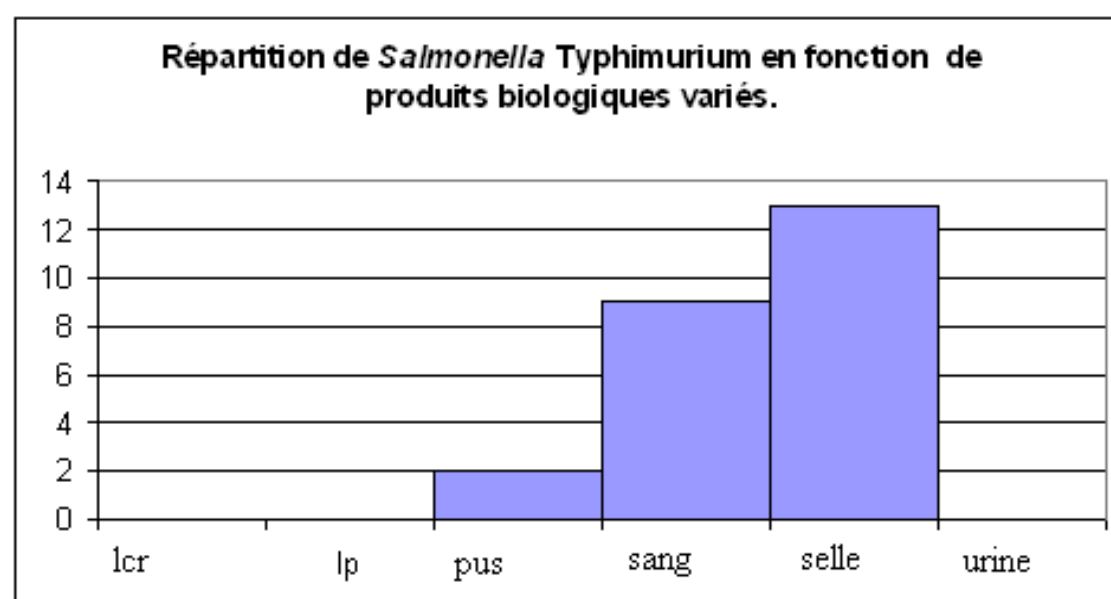
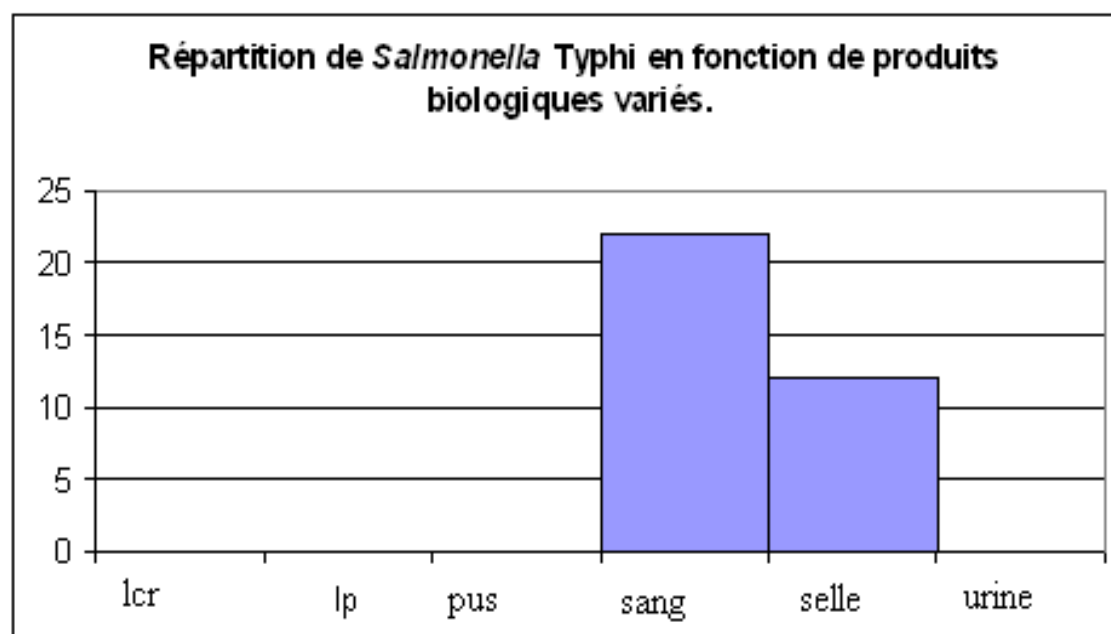


Tableau II : Résumé du nombre de souches obtenues suivant le sexe.

Sexe	Nombre de souches	Nombre de patients	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> Typhi	<i>Salmonella</i> Typhimurium
	5	5	2		1	2
F	71	69	15	30	14	10
M	87	85	22	33	19	12

Tableau III : profil de sensibilité des souches de *Salmonella* Typhi.

Nom de l'antibiotique	Nombre	R (%)	I (%)	S (%)
Amoxicilline	31	3,2	0	96,8
Amoxicilline/Acide clavulaniqu	35	5,7	0	94,3
Ticarcilline	34	2,9	0	97,1
Piperacilline	22	4,5	0	95,5
Céfalothine	34	5,9	0	94,1
Céfoxitine	32	3,1	0	96,9
Céfotaxime	27	7,4	3,7	88,9
Ceftriaxone	18	5,6	0	94,4
Ceftazidime	23	4,3	0	95,7
Aztréonam	21	4,8	0	95,2
Imipenem	23	0	0	100
Chloramphenicol	34	0	0	100
Tetracycline	12	0	0	100
Kanamycine	21	4,8	0	95,2
Tobramycine	30	3,3	0	96,7
Gentamicine	35	2,9	0	97,1
Amikacine	35	0	0	100
Netilmicine	19	0	0	100
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	33	3	0	97
Colistine	26	0	0	100
Acide nalidixique	33	3	0	97
Pefloxacin	28	0	0	100
Norfloxacin	22	4,5	0	95,5
Ciprofloxacine	23	4,3	0	95,7
Nitroxoline	2	0	100	0
Cefépime	4	0	0	100
Cefixime	2	0	0	100
Bêta-lactamase	12	0		100
BLSE	19	0		100

S = Sensible

I = Intermédiaire

R = Résistant

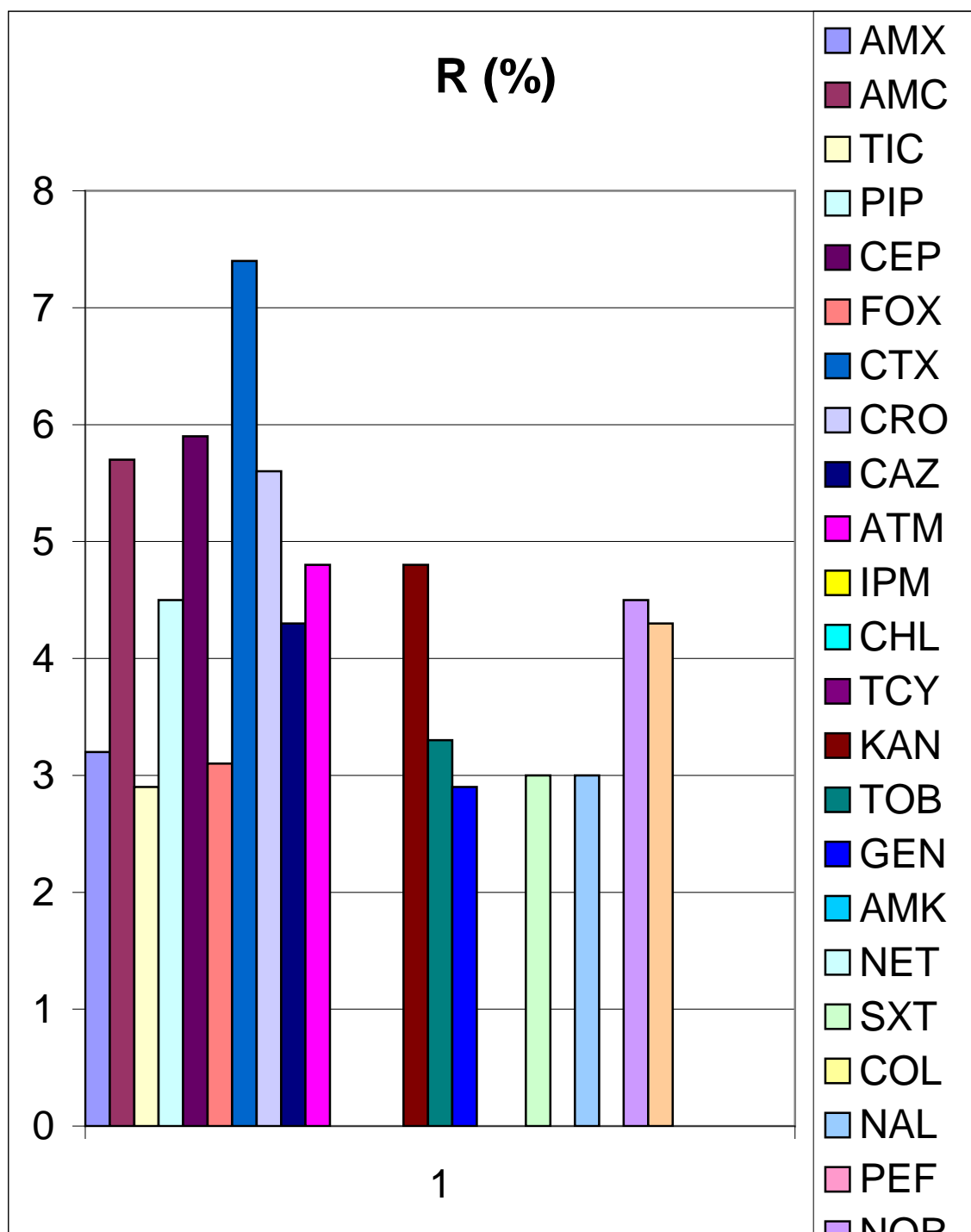


Figure 1 : Taux de résistance des antibiotiques testés chez *Salmonella* Typhi.

Tableau IV : profil de sensibilité des souches de *Salmonella* Typhimurium.

Nom de l'antibiotique	Nbre	R (%)	I (%)	S (%)
Amoxicilline	24	45,8	0	54,2
Amoxicilline/Acide clavulaniqu	25	12	20	68
Ticarcilline	25	48	0	52
Piperacilline	15	13,3	26,7	60
Céfalothine	25	0	12	88
Céfoxitine	25	0	0	100
Céfotaxime	18	0	0	100
Ceftriaxone	16	0	0	100
Ceftazidime	16	0	6,2	93,8
Aztréonam	17	0	0	100
Imipenem	19	0	0	100
Chloramphenicol	23	34,8	0	65,2
Tetracycline	6	33,3	0	66,7
Kanamycine	18	0	0	100
Tobramycine	23	4,3	0	95,7
Gentamicine	25	4	0	96
Amikacine	25	0	0	100
Netilmicine	17	0	0	100
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	22	40,9	0	59,1
Colistine	22	0	0	100
Acide nalidixique	25	0	4	96
Pefloxacin	21	0	0	100
Norfloxacin	8	0	0	100
Ciprofloxacine	19	0	0	100
Nitroxoline	3	0	100	0
Cefépime	7	0	0	100
Bêta-lactamase	6	0		100
BLSE	12	0		100

S = Sensible

I = Intermédiaire

R = Résistant

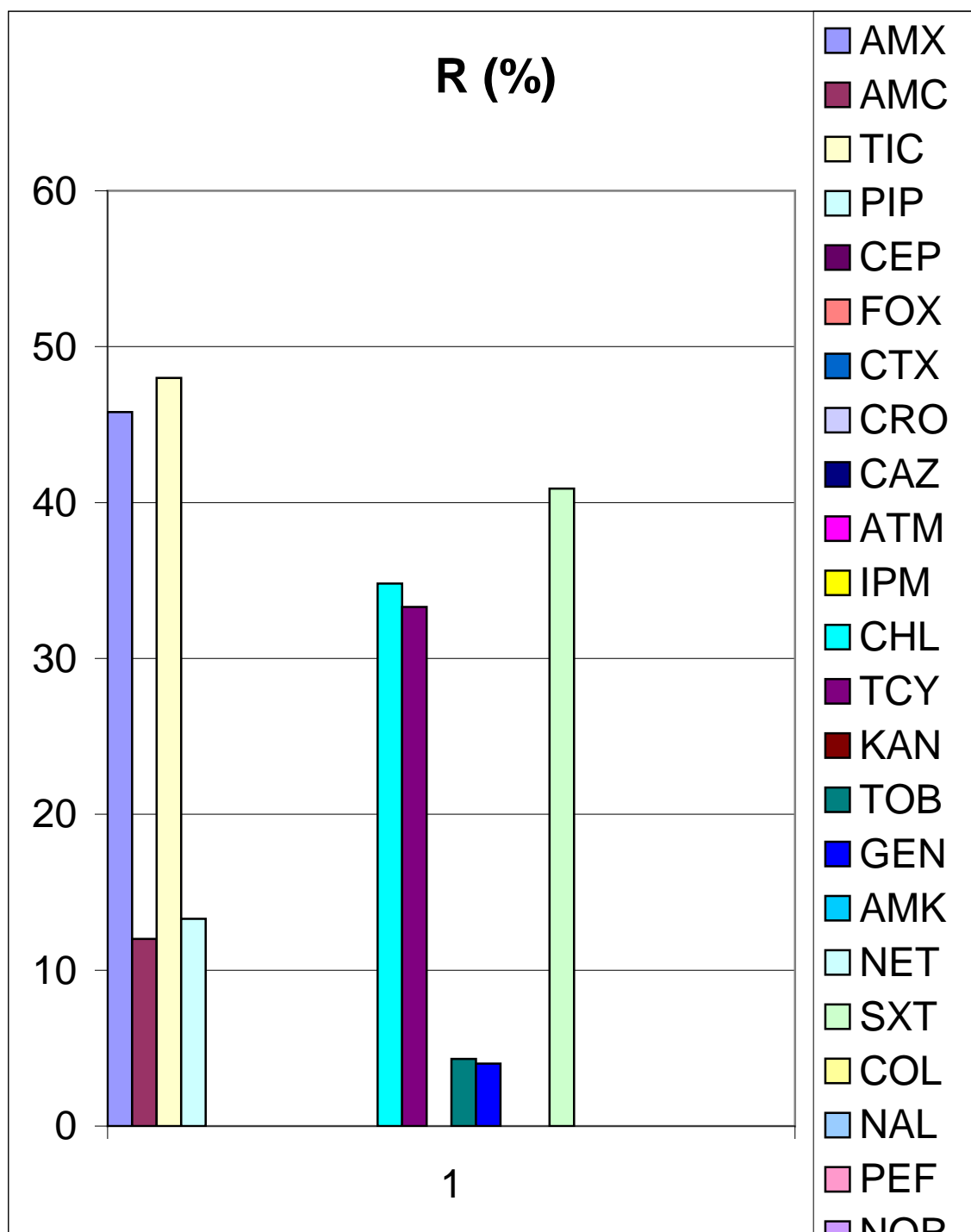


Figure 2 : taux de résistance de *Salmonella* Typhimurium.

Tableau V : profil de sensibilité des souches de *Salmonella* Enteritidis.

Nom de l'antibiotique	Nbre	R (%)	I (%)	S (%)
Amoxicilline	37	37,8	0	62,2
Amoxicilline/Acide clavulaniqu	39	12,8	12,8	74,4
Ticarcilline	39	38,5	0	61,5
Piperacilline	24	12,5	25	62,5
Céfalothine	39	7,7	10,3	82,1
Céfoxitine	38	2,6	0	97,4
Céfotaxime	23	4,3	0	95,7
Ceftriaxone	23	4,3	4,3	91,3
Ceftazidime	24	8,3	0	91,7
Aztréonam	23	8,7	4,3	87
Imipenem	24	0	0	100
Chloramphenicol	31	3,2	0	96,8
Tetracycline	15	13,3	13,3	73,3
Kanamycine	18	0	0	100
Tobramycine	33	0	0	100
Gentamicine	39	0	0	100
Amikacine	38	0	0	100
Netilmicine	23	0	0	100
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	37	27	0	73
Colistine	31	3,2	3,2	93,5
Acide nalidixique	38	28,9	2,6	68,4
Pefloxacin	34	0	2,9	97,1
Norfloxacin	21	0	0	100
Ciprofloxacine	23	0	0	100
Nitroxoline	3	0	100	0
Cefépime	11	0	0	100
Cefixime	2	0	0	100
Bêta-lactamase	7	28,6		71,4
BLSE	21	0		100

S = Sensible

I = Intermédiaire

R = Résistant

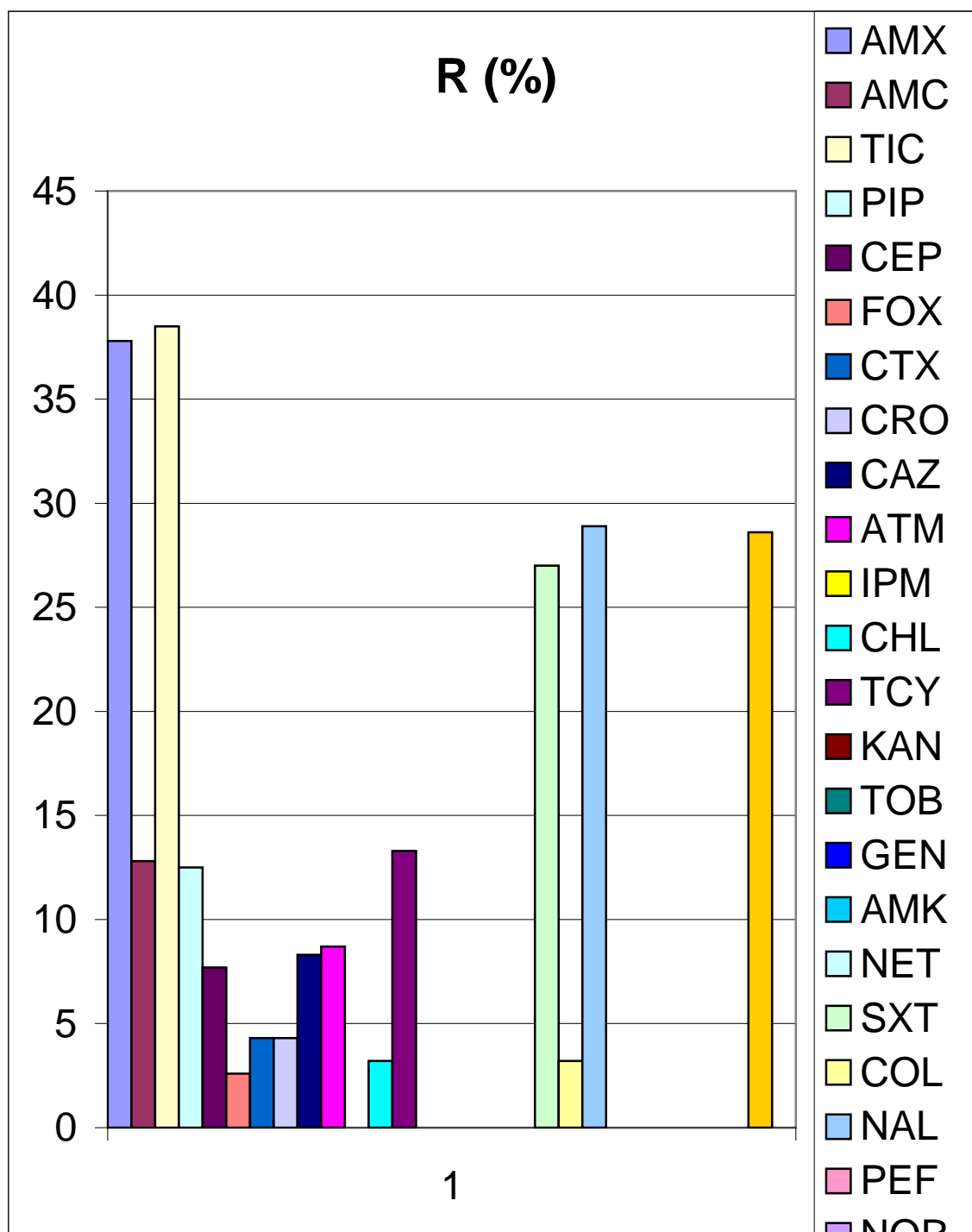


Figure 3 : taux de résistance des antibiotiques testés chez *Salmonella* Enteritidis.

Tableau VI : profil de sensibilité des souches de *Salmonella sp.*

Nom de l'antibiotique	Nbre	R (%)	I (%)	S (%)
Amoxicilline	52	40,4	1,9	57,7
Amoxicilline/Acide clavulaniqu	62	8,1	21	71
Ticarcilline	57	40,4	0	59,6
Piperacilline	45	8,9	24,4	66,7
Céfalothine	56	0	10,7	89,3
Céfoxitine	45	2,2	2,2	95,6
Céfotaxime	54	1,9	1,9	96,3
Ceftriaxone	52	0	0	100
Ceftazidime	57	1,8	0	98,2
Aztréonam	51	0	0	100
Imipenem	59	0	0	100
Chloramphenicol	61	18	3,3	78,7
Tetracycline	14	28,6	0	71,4
Doxycycline	5	40	20	40
Kanamycine	48	0	2,1	97,9
Tobramycine	51	2	0	98
Gentamicine	62	1,6	1,6	96,8
Amikacine	52	3,8	0	96,2
Netilmicine	33	0	0	100
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	58	27,6	1,7	70,7
Colistine	61	1,6	0	98,4
Acide nalidixique	54	5,6	0	94,4
Pefloxacin	29	0	0	100
Norfloxacin	44	0	0	100
Ciprofloxacine	57	0	0	100
Nitroxoline	7	14,3	57,1	28,6
Cefépime	1	0	0	100
Cefixime	4	0	0	100
Bêta-lactamase	47	4,3		95,7
BLSE	9	0		100

S = Sensible

I = Intermédiaire

R = Résistant

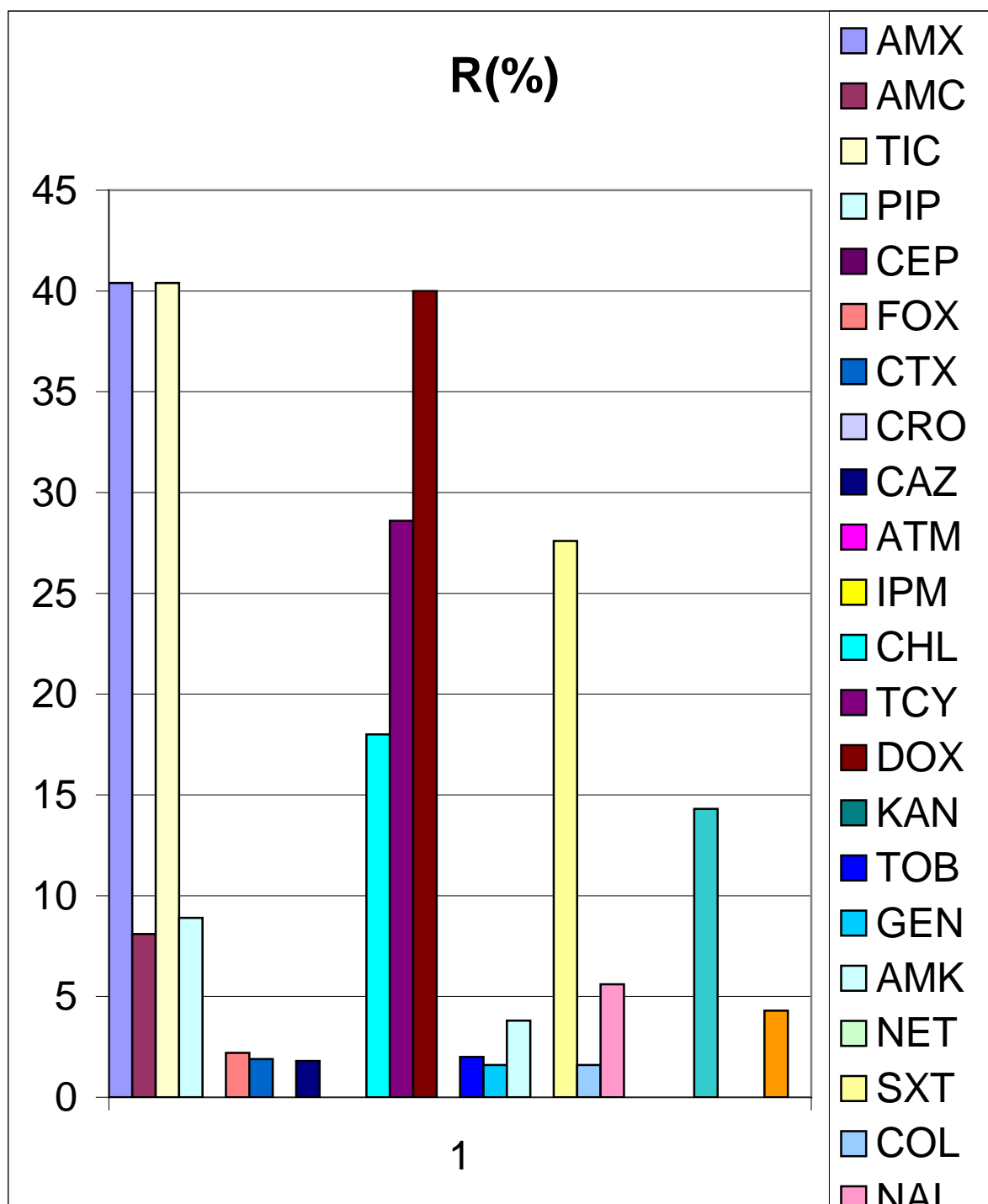


Figure 4 : taux de résistance des antibiotiques testés chez *Salmonella sp.*

IV- Discussion

L'étude a montré que les salmonelles sont présentes dans tous les produits biologiques même si elles sont beaucoup plus fréquentes dans le sang et les selles (1% dans les liquides pleuraux, 1% dans les urines, 2% dans les liquides céphalo-rachidiens, 4% dans les pus, 54% dans le sang, 39% dans les selles,). Toutefois *Salmonella* Typhi n'est rencontrée que dans ces deux derniers produits précités.

Les souches les plus fréquemment isolées dans le laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU de Fann sont *Salmonella* Enteridis (39 souches), *Salmonella* Typhi (36 souches) et *Salmonella* Typhimurium (24 souches). Les autres espèces de salmonelle font l'objet d'une détermination incomplète.

L'étude de la surveillance de la résistance aux antibiotiques des salmonelles sur dix ans (1997 à 2007) au CHNU de Fann a révélé que contrairement à ce qui est admis dans la littérature (à propos de la résistance de *Salmonella* Typhi au chloramphénicol dans certains pays en voie de développement), les souches rencontrées dans le laboratoire sont sensibles au chloramphénicol à 100%.

Cependant il est à noter, la résistance à l'acide nalidixique, quoique faible (3%), la résistance au cotrimoxazole (3%) de même qu'aux céphalosporines (5,6%).

Les tétracyclines quant à elles restent toujours actives sur *Salmonella* Typhi à 100%.

Enfin chez *Salmonella* Typhi, on a 12 souches sécrétrices de bêta-lactamase et 19 souches sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi.

En ce qui concerne les souches de Salmonelle responsables des toxi-infections, notre étude réconforte ce qui a été écrit jusqu'ici. En fait, ces souches sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques. En effet, *Salmonella* Typhimurium est résistante à 45% à l'amoxicilline, 12% à l'amoxicilline/acide clavulanique, 48% à la ticarcilline, 13,3% à la piperacilline, 34,8% au chloiramphenicol, 33,3% à la tetracycline, et 40,9% au trimethoprim/sulfamethoxazole.

Chez *Salmonella* Typhimurium, 6 souches sécrétrices de bêta-lactamase et 16 souches sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi.

Cependant il est à souligner la très forte sensibilité de *Salmonella* typhimurium aux céphalosporines et aux quinolones (100%).

La tendance à la résistance aux antibiotiques est pratiquement la même que pour *Salmonella* Enteritidis.

Ce dernier est résistant à l'amoxicilline à 37,8%, 12,8% pour l'amoxicilline/acide clavulanique, 38,5% pour la ticarcilline, 12,5% pour la tetracycline, 27% pour le trimethoprim/sulfamethoxazole et 28,9% à l'acide nalidixique.

Il faut noter que 28,6% des souches de *Salmonella* Enteritidis étudiées sont sécrétrices de bêta-lactamase et 21 d'entre elles de bêta-lactamase à spectre élargi.

Enfin, les résultats obtenus avec *Salmonella* sp. confirment la résistance aux antibiotiques des souches qui sont à l'origine des infections alimentaires. En effet, les souches de *Salmonella* sp. résistent 40,4% à l'amoxicilline, 8,1% à l'amoxicilline/acide clavulanique, 40,4% à la ticarcilline, 8,9% à la piperacilline, 28,6% au tetracycline, 27,6% au trimethoprim/sulfamethoxazole, 14,3% à la nitroxoline.

Ici, 47 souches sont sécrétrices de bêta-lactamase dont 9 de bêta-lactamase à spectre élargi.

Par ailleurs, l'étude montre que 65 souches de Salmonelles sur les 163 (soit plus du tiers) étudiées sont sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi. Ceci atteste que les salmonelles développent de plus en plus de résistance à l'encontre des bêta-lactamines.

Les souches sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi ne sont sensibles qu'à l'imipénème et à la céfoxitine molécules non encore disponibles dans notre pays.

V- Conclusion

Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont des maladies strictement humaines et sont dues à un très petit nombre de sérotypes (*Salmonella* Typhi, *Salmonella* paratyphi A, *Salmonella* paratyphi B et *Salmonella* paratyphi C).

En dehors de ces sérotypes, les autres salmonelles représentent l'une des causes majeures des gastro-entérites bactériennes.

De nos jours, pour optimiser le traitement des infections à salmonelles par les antibiotiques, l'étude de la surveillance de leur résistance aux antibiotiques est indispensable du fait de l'émergence de souches multirésistantes.

Ainsi, notre étude montre d'une part que le chloramphénicol, le cotrimoxazole, les tétracyclines, les fluoroquinolones de même que les céphalosporines restent toujours actifs sur *Salmonella* Typhi. Et donc, ces antibiotiques peuvent être utilisés dans le cadre du traitement curatif de la fièvre typhoïde.

D'autre part, les autres sérovars différents de *Salmonella* Typhi étudiés (et qui sont à l'origine des toxi-infections) sont résistants à plusieurs antibiotiques. Ceci est probablement dû à l'usage très répandu des antibiotiques chez les animaux qui constituent le réservoir de ces bactéries. Et donc pour le traitement des infections digestives à salmonelles, la réalisation de l'antibiogramme est nécessaire avant toute prescription d'antibiotiques. D'ailleurs le traitement antibiotique est discuté dans le cas des infections intestinales si l'on sait que l'évolution sporadique des salmonelles digestives est souvent bénigne et que le traitement peut favoriser le portage. Toutefois, dans le cas d'un traitement curatif on peut utiliser les antibiotiques appartenant à la famille des céphalosporines, des aminosides et des quinolones. Ces derniers sont le plus souvent très actifs. Seulement là aussi, les aminosides sont moins conseillés du fait qu'ils sont peu actifs in vivo en raison de la localisation intracellulaire des salmonelles.

Lors de cette étude un phénomène nouveau est apparu.

En effet, les salmonelles étaient jusque là sensibles aux quinolones en général et surtout à l'acide nalidixique en particulier. Seulement, l'étude révèle des souches de salmonelles présentant une résistance élevée à l'acide nalidixique. Il faudra donc suivre de très près ce phénomène afin de connaître les causes, les mécanismes et l'ampleur de cette résistance. Ceci est d'autant plus nécessaire si l'on sait que les antibiotiques de la famille des quinolones sont fortement utilisés dans la lutte contre les infections à salmonelles.

Enfin, vu la fréquence des phénomènes de résistance aux antibiotiques, une étude plus complète élargie aux autres espèces isolées dans le laboratoire devra être envisagée.

BIBLIOGRAPHIE

1. Annuaire orphanet des maladies rares. 2000. [http :
//orphanet.infobiogen.fr](http://orphanet.infobiogen.fr). Edition INSERM, Paris, p. 568.
2. Bosgirand C.. (2003a). Structures constantes et vitales des bactéries. In : Microbiologie générale et santé. Editions ESKA, Paris, p. 40-45.
3. Bosgirand C.. (2003b). Mécanismes de résistance. In : Microbiologie générale et santé. Editions ESKA, Paris, p. 291-300.
4. Avril J. L., Dabernat H., Denis F., Monteil H.. (2000a). L'expertise de l'antibiogramme. In : Bactériologie Clinique. Ellipses Edition Marketing S.A., Paris, p. 171-172.
5. Avril J. L., Dabernat H., Denis F., Monteil H.. (2000b). *Salmonella*. In : Bactériologie Clinique. Ellipses Edition Marketing S.A., Paris, p.242-249.
6. Azéle F.. 1983. Genre *Salmonella*. In : Bactériologie Médicale. Edition C. et D., Paris, p. 25₁- 25₈.
7. Bâ A.. 2007. Prévalence des bactéries multirésistantes isolées au CHU de Fann de janvier 2002 à décembre 2006. Thèse de pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie, 60 p.
8. Berche P., Gaillard J.L., Simonet M.. 1988. *Salmonella*. In : Bactériologie : Bactéries des Infections Humaines. Flammarion, Paris, p. 77-92.
9. Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Varges R.. (1987a) Genre *Salmonella*. In : Bactériologie médicale : techniques usuelles. Edition SIMEP-SA, Paris, 2^e tirage, p.126-130.
10. Carbonnelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon G., Varges R.. (1987b) Technique de diffusion en gélose méthode des disques. In : Bactériologie

11. Euzéby, J. P.. 2005. Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale. France. <http://www.bacteriologie.net> .
12. Euzéby, J. P.. 2005. Dictionnaire de Bactériologie vétérinaire. France. <http://www.bacdico.net> .
13. EL Hadj, M. M.. 1996. Sensibilité des bacilles à Gram négatif au CHU de Fann. Thèse de pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie. 145 p.
14. Le Minor L., Veron M.. (1982a). Antibiotiques. In : Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Sciences, Paris, p. 195-203.
15. Le Minor L., Veron M.. (1982b). Entérobactéries. In : Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Sciences, Paris, p. 240-246.
16. Le Minor L., Veron M.. (1982c). *Salmonella*. In : Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine Sciences, Paris, p. 259-276.
17. Lilian E. Hawker and Alan H. Linton. (1971a). Partial genetic transfer. In : Micro-organisms function, form and environment. Edward Arnold (Publishers) ltd, USA, p. 113-120.
18. Lilian E. Hawker and Alan H. Linton. (1971b). Antibiotics. In : Micro-organisms function, form and environment. Edward Arnold (Publishers) ltd, USA, p. 113-120.
19. Murray P. R., Jobaron E., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover J. C.. (2003a). Description of the genus. In : Manual of Clinical Microbiology. Edition ASM Press, Washington, 8^e édition, volume 1, p. 663-664.

20. Murray P. R., Jobaron E., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., Tenover F. C., Tenover J. C. (2003b). Antimicrobial susceptibilities. In : Manual of Clinical Microbiology. Edition ASM press, Washington, 8^e édition, volume 1, p. 667.
21. Nauciel C.. (2000a). Facteurs de pathogénicité. In : Bactériologie médicale : connaissances et pratiques. Masson, Paris, p. 28.
22. Nauciel C.. (2000b). Principales familles d'antibiotiques et leur mode d'action. In : Bactériologie médicale : connaissances et pratiques. Masson, Paris, p. 55-63.
23. Nauciel C.. (2000c). Mécanismes de résistance aux antibiotiques. In : Bactériologie médicale : connaissances et pratiques. Masson, Paris, p.65-71.
24. Nauciel C.. (2000d). Chapitre *Salmonella*. In : Bactériologie médicale : connaissances et pratiques. Masson, Paris, p. 133-139.
25. Navoun S.. 2005. Thermorésistance de trois sérotypes de *Salmonella* dans l'œuf et les gésiers de poulets. Mémoire. Université Cocody d'Abidjan, Côte d'Ivoire. <http://www.memoireonline.com/11/06/280/>.
26. OMS.2005.Aide-mémoire N°139. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/fr/> -35k.
27. Philippon, A.2005. Cours de Bactériologie Générale, France. <http://www.microbes-edu.org/etudiant/etudiants.html>.
28. Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N., Balbastre C.. 1983. *Salmonella*. In : Bactériologie médicale et vétérinaire systématique bactérienne. Doin éditeurs, Paris, 2^e édition 3^e tirage, p. 121-126.
29. Soumaré Y. R.. 1989. Profil antibiotique des bactéries isolées au labo de bactériologie-virologie du CHU de Fann (études sur deux ans 1987 à

1988). Thèse de pharmacie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté de médecine de pharmacie et d'odontostomatologie. 202 p.

30. Velonakis E. N., Markogiannakis A., Kondili L., Mahera Z., Dedouli E., Karaitianou A., Vakalis N., Bethimouti K.. 2001. Evolution de la résistance aux antibiotiques chez les salmonelles non typhiques en Grèce de 1990 à 1997. <http://www.eurosurveillance.Org/em/V06n07/0607-222> ; asp. Grèce.

Titre : Surveillance de la Résistance aux Antibiotiques des Salmonelles sur Dix ans (1997 à 2007) au CHNU de Fann.

Prénom et Nom du candidat : Babacar NGOM

Nature du mémoire : Diplôme d'Études Approfondies de Biologie Animale

Président : Bhen Sikina TOGUEBAYE (Professeur, UCAD, FST)
Jury : Karamoko DIARRA (Maître de conférence, UCAD, FST)
Ngor FAYE (Maître de conférence, UCAD, FST)
Ahmad Iyane SOW (Professeur, UCAD, FMPOS)

Soutenu le : 07 Août 2008

Résumé :

Chez l'homme les salmonelles sont responsables des toxi-infections alimentaires les plus courantes et les plus répandues. Elles sont aussi responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes. Pour traiter les infections à salmonelles on fait recours aux antibiotiques.

En effet, les salmonelles sont naturellement sensibles à la plupart des antibiotiques actifs sur les bactéries à Gram négatif. Cependant, ces dernières années, on rencontre souvent des souches de salmonelles multirésistantes d'où la nécessité aujourd'hui d'effectuer des études de surveillance de la résistance aux antibiotiques des salmonelles afin d'optimiser le traitement par ces derniers.

Une étude de la résistance aux antibiotiques de 163 souches de salmonelles collectées en situation pathogène est réalisée dans le laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHNU de Fann.

Les souches les plus fréquemment isolées dans ce laboratoire sont *Salmonella* Enteritidis (39 souches), *Salmonella* Typhi (36 souches) et *Salmonella* Typhimurium (24 souches). Les autres espèces de salmonelle font l'objet d'une détermination incomplète.

Cette étude a montré d'une part que, contrairement à la littérature, *Salmonella* Typhi est sensible au chloramphénicol à 100 %, 97 % au cotrimoxazole, 100 % aux tétracyclines et 94,4 % aux céphalosporines. Et donc, ces antibiotiques peuvent être utilisés dans le cadre du traitement curatif de la fièvre typhoïde.

D'autre part, les autres sérovars qui sont à l'origine de toxi-infections alimentaires sont résistants à plusieurs antibiotiques (*Salmonella* Typhimurium est résistant à 45 % à l'amoxicilline, 48 % à la ticarcilline. *Salmonella* Enteritidis résiste à 40,4 % à l'amoxicilline et à la ticarcilline et à 28,6 % aux tétracyclines et enfin *Salmonella* sp. résiste à 28,9 % à l'acide nalidixique). Et par conséquent, pour le traitement des infections digestives à salmonelles, la réalisation de l'antibiogramme demeure une nécessité avant toute prescription d'antibiotiques.

Durant notre étude, un phénomène nouveau est apparu.

En effet, les salmonelles étaient jusque là sensibles aux quinolones en général et surtout à l'acide nalidixique en particulier. Seulement, l'étude révèle des souches de salmonelles présentant une résistance élevée à l'acide nalidixique (28,9 %). Il faudra donc suivre de très près ce phénomène afin de connaître les causes, les mécanismes et l'ampleur de cette résistance. Ceci est d'autant plus nécessaire si l'on sait que les antibiotiques de la famille des quinolones sont fortement utilisés dans la lutte contre les infections à salmonelles.

Enfin, vu la fréquence des phénomènes de résistance aux antibiotiques, une étude plus complète élargie aux autres espèces isolées dans le laboratoire devra être envisagée.

Mots clés : salmonelles, résistance, antibiotiques.