

Antibiorésistance des souches de *Salmonella enteritidis* isolées dans la zone Rabat-Casablanca à partir de l'œuf de consommation, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses

Omar ELARED¹, Abdelkader AMARA^{2a}, Mohamed FAID³,
Moulay Ahmed ALAOUI⁴ & El Hassane TAHRI¹

(Reçu le 30/01/2001 ; Accepté le 27/02/2001)

المقاومة الحيوية لسلمونيلا أنيريتيديس المعزولة من بيض المائدة وعلف وروث الدجاج البياض بالمغرب

تم عزل سبعة وخمسون بكتيريا سلمونيلا أنيريتيديس من بيض المائدة وعلف وروث الدجاج البياض في الفترة ما بين 1996 و 1997. أظهر تحليل نتائج المقاومة الحيوية نسبيا ضعيفة نسبيا فيما يخص الكوليسيتين (10,52%) و الجونتمسين (8,77%). أما تركيبة تريميتوبريم - سولفميتوكساسول فقد أظهرت مفعولها على جل البكتيريات (نسبة المقاومة 3,51%). تبين كذلك أن مجموع البكتيريات بقي حساسا بالنسبة لـ : فلوميكين، أنروفلوكساسين، أموكسيسيلين، دوكسيسيكلين، سيفترياكسون وفلورفينيكول. تم من خلال هذه الدراسة كذلك الكشف عن ثلاثة أنواع مضادات حيوية Antibiotypes : cl. GM. SXT (%3,51) و cl. GM. (%5,26) . cl (%1,75).

الكلمات المفتاحية : المقاومة الحيوية - سلمونيلا أنيريتيديس - بيض - علف - روث - دجاج بياض

Antibiorésistance des souches de *Salmonella enteritidis* isolées dans la zone Rabat-Casablanca à partir de l'œuf de consommation, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses

Cinquante-sept isolats de *Salmonella enteritidis* ont été isolés à partir de l'œuf de consommation, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses durant la période 1996-1997. L'analyse de l'antibiogramme, établi vis-à-vis de ces souches, a montré des taux de résistance relativement faibles pour la colistine (Cl) (10,52%) et la gentamicine (GM) (8,77%). L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT) s'est montrée active sur la majorité des souches (taux de résistance = 3,51%). L'ensemble des isolats est resté sensible à la fluméquine, l'enrofloxacin, l'amoxicilline, la doxycycline, la ceftriaxone et la florphenicol. Trois antibiotypes ont été identifiés : Cl (1,75%), Cl-GM (5,26%) et Cl-GM-SXT (3,51%).

Mots clés : Antibiorésistance - *Salmonella enteritidis* - œufs - Aliment - Fientes - Poules pondeuses

Antibioresistance of *Salmonella enteritidis* strains isolated in Rabat-Casablanca aerea from table eggs, feed and droppings of laying hens

Fifty seven isolates of *Salmonella enteritidis* were isolated from table eggs, feed and droppings of laying hens during 1996-1997. Strains antibiograms analysis showed relatively low levels of resistance to colistin (Cl) (10,52%) and gentamicin (GM) (8,77%). Trimethoprim+sulfamethoxazole (SXT) was active on the majority of the strains (levels of resistance = 3,51%). All the isolates remained sensitive to flumequine, enrofloxacin, amoxicilline, doxycycline, ceftriaxone and florphenicol. Three antibiotypes were identified : Cl (1,75%), Cl-GM (5,26%) and Cl-GM-SXT (3,51%).

Key words : Antibioresistance - *Salmonella enteritidis* - Eggs - Feed - Droppings - Laying hens

¹ Département de Biologie, Laboratoire de Microbiologie et de Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences Ben M'Sik : B.P. 7 955 Ben M'Sik Casablanca, Maroc

² Département de Pathologie Aviaire, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6 202, Instituts-10101, Rabat, Maroc

³ Département de Microbiologie Alimentaire et de Biotechnologie, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6 202 -Instituts 10101, Rabat, Maroc

⁴ Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Ibn Sina C.H.U., Rabat-Salé, Maroc

^a Auteur correspondant, e-mail : a.amara@iav.ac.ma

INTRODUCTION

Le coût socio-économique des salmonelloses est considérable (Bouvet, 1994). De grands efforts sont déployés dans le but d'éradiquer ou d'au moins réduire l'incidence des salmonelles dans la filière avicole, leur réservoir privilégié, en introduisant la microflore compétitive ou en traitant de façon rigoureuse les aliments destinés aux volailles (Bailey, 1989). Le contrôle des salmonelles dans cette filière est également achevé par l'administration des agents antibactériens, le plus souvent dans l'eau de boisson (Goodnough & Johnson, 1991). Toutefois, la prescription inappropriée de ces médicaments (Zouhdi *et al.*, 1995) serait responsable d'une évolution de la résistance bactérienne, liée à la pression sélective par ces molécules (Nordmann *et al.*, 1987). D'où la nécessité d'une surveillance régulière de cette évolution afin de permettre un meilleur usage des antibiotiques (Benouda *et al.*, 1998).

L'importance des profils d'antibiorésistance des salmonelles mineures, y compris *Salmonella enteritidis*, établis en médecine humaine et vétérinaire se justifie par le caractère ubiquitaire de ces microorganismes (Humbert, 1992) et l'intercontamination homme- volaille (Lahellec *et al.*, 1992 ; Gast & Beard, 1993). En fait, les salmonelles mineures sont caractérisées par leur épidémiologie particulière (leur réservoir s'étend à tout le règne animal) et par leur fréquente multirésistance aux antibiotiques (Benbachir & Mdaghri, 1983) qui engendrent des difficultés thérapeutiques.

Ce travail vise à faire le point sur la résistance aux antibactériens des souches de *Salmonella enteritidis* isolées de l'œuf de consommation, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Origine des cultures

Des souches de *Salmonella enteritidis* ont été isolées durant la période (1996-1997) des œufs (coquille et jaune), de l'aliment et des fientes de poules pondeuses (écouvillons cloacaux). Les œufs ont été collectés des différents points de vente et de fermes d'élevage de poules pondeuses répartis dans l'axe Rabat-Casablanca. Un total de 57 souches a été isolé à partir de 150 échantillons d'œufs (750 œufs analysés) et de 50 autres échantillons d'aliment et de fientes. Le

pourcentage des souches selon leurs origines est représenté dans le tableau 1.

Tableau 1. Pourcentage des souches *Salmonella enteritidis* isolées selon leurs origines (le nombre total des souches est 57)

Origine	Pourcentage de <i>Salmonella enteritidis</i>
Œufs	78,94
Aliment	15,78
Fientes	5,26

2. Isolement

Les souches ont été isolées sur la gélose *Salmonella-Shigella* (Oxoïd) et la gélose au vert brillant (Oxoïd) après enrichissement dans les bouillons au tétrathionate et au sélénite (Institut Pasteur au Maroc). Les isolats ont été identifiés à l'aide d'une galerie biochimique classique (Kligler, urée-indole, citrate de Simmons, lysine décarboxylase et mannitol-mobilité).

3. Sérotypage

Après leur purification sur milieu gélosé TSA (Tryptone soya agar, Bio-Mérieux), ces souches ont été sérotypées (Sanofi-Pasteur). Le sérotypage consiste en une agglutination sur lame. Une culture pure issue de chaque échantillon est testée vis-à-vis d'une batterie d'antisérums (Sanofi Diagnostics Pasteur) polyvalents (OMA, OMB), somatiques du groupe (majeurs et accessoires) et flagellaires. Une fois les groupes antigéniques déterminés, on se réfère au schéma de Kauffmann-White pour déterminer le sérotype exact.

4. Antibiogramme

La sensibilité des souches aux différents agents antibactériens a été déterminée par la technique de diffusion sur gélose Mueller-Hinton (Institut Pasteur) selon la méthode recommandée par l'Institut Pasteur, France (Anonyme, 1993). Les disques contenant une quantité diffusible de 10 µg de gentamicine (GM), 25 µg d'amoxicilline (AML), 30 µg de fluméquine (AR), 50 µg de colistine (Cl), 30 mcg de ceftriaxone (CRO), 30 µg de doxycycline (D), 1,25 µg de triméthoprime + 23,75 µg de sulfaméthoxazole (SXT), 30 µg de florphénicol (FFC) et 5 µg d'enrofloxacin (ENR) ont été déposés dans les boîtes inoculées. Après 24 h d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition ont été mesurées et interprétées selon les normes indiquées par l'Institut Pasteur.

RÉSULTATS

Les fréquences de la résistance des isolats de *Salmonella enteritidis* vis-à-vis de chaque antibiotique testé sont représentées sur le tableau 2. Des fréquences relativement faibles sont enregistrées pour la colistine (10,52%) et la gentamicine (8,77%). L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole correspond à un faible taux de résistance (3,51%). Le reste des antibiotiques testés s'est montré actif sur la totalité des souches étudiées.

Tableau 2. Antibiorésistance des souches *Salmonella enteritidis* isolées des œufs, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses, dans la zone Rabat-Casablanca durant la période 1996-1997 (n=57)

Antibiotiques	Charges	Souches résistantes	
		Nombre*	%
Colistine	50 µg	6	10,52
Gentamicine	10 µg	5	8,77
Triméthoprime-sulfaméthoxazole	1,25 µg + 23,75 µg	2	3,51
Florphénicol	30 mcg	0	0
Amoxicilline	25 µg	0	0
Fluméquine	30 µg	0	0
Doxycycline	30 µg	0	0
Enrofloxacin	5 mcg	0	0
Ceftriaxone	30 mcg	0	0

* nombre total des souches

Le pourcentage des isolats résistants à au moins un antibiotique est relativement faible (10,52%). Un total de 1,75% d'isolats est résistant à un seul antibiotique. 5,26% des isolats sont résistants à 2 antibiotiques et 3,51% à 3 antibiotiques.

On en déduit alors la présence de 3 antibiotypes parmi les souches étudiées. Le plus fréquent est celui qui correspond à deux antibiotiques (colistine et gentamicine), le moins fréquent est celui formé par un seul antibiotique (colistine) (Tableau 3).

Tableau 3. Différents antibiotypes de *Salmonella enteritidis* isolés dans la zone Rabat-Casablanca durant la période 1996-1997

Antibiotypes	Nombre de souches	Pourcentage
CL	1	1,75
CL-GM	3	5,26
CL-GM-SXT	2	3,51

CL : Colistine ; GM : Gentamicine ; SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole

DISCUSSION

Les fréquences de résistance à la colistine sont de 10,52% et celles à la gentamicine sont de 8,77%. Les études effectuées sur les salmonelles mineures d'origine humaine ont révélé un taux de résistance à la colistine seulement de 3,7% (Benbachir & Mdaghri, 1983). Zouhdi *et al.* (1995) ont, en revanche, montré que 13,52% des salmonelles mineures sont résistantes à la colistine. Le taux de résistance relativement faible obtenu (10,52%) dans ce travail est probablement dû à la faible utilisation de la colistine chez la volaille à cause de sa toxicité et de sa faible absorption intestinale. La haute sensibilité des salmonelles mineures d'origine humaine aux aminosides comme la gentamicine est abordée par plusieurs auteurs (Boujaâfar *et al.*, 1991 ; Benhassen *et al.*, 1993 ; Cissé *et al.*, 1993). En pathologie humaine, le taux de résistance des salmonelles mineures à cet antibiotique varie de 11,8% (Benbachir & Mdaghri, 1983) à 2,32% (Zouhdi *et al.*, 1995). Le taux de résistance des souches humaines de *Salmonella enteritidis* est de 13% à cet antibiotique (Rouahi *et al.*, 1998). En effet, la gentamicine est l'un des antibiotiques les plus rarement préconisés en aviculture à cause de son mode d'administration parentérale. Ceci pourrait justifier son activité sur une fraction des souches de *Salmonella enteritidis* étudiées (8,77%).

L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole s'est avérée active sur la majorité des souches de *Salmonella enteritidis* et la fréquence de résistance a été de 3,51%. À l'opposé, d'autres auteurs ont montré une grande résistance des salmonelles mineures à cette association d'antibiotiques (Benbachir & Mdaghri, 1983 ; Benhassen *et al.*, 1993 ; Zouhdi *et al.*, 1995).

Les souches étudiées sont sensibles à la fluméquine, l'enrofloxacin, l'amoxicilline, la doxycycline, le ceftriaxone et le florphénicol (Tableau 2). L'activité des trois derniers antibiotiques est en concordance avec les études de Rouahi *et al.* (1998). Ces auteurs ont utilisé la tétracycline au lieu de la doxycycline. Les résultats de la sensibilité des mêmes souches face à l'amoxicilline et les céphalosporines de troisième génération sont similaires à ceux qui sont rapportés par Cissé *et al.* (1993).

L'absence d'une résistance plasmidique aux quinolones (Nordmann *et al.*, 1987) et la grande efficacité des nouvelles quinolones dans le traitement des salmonelloses humaines (Biron *et*

al., 1990) pourrait expliquer l'activité de la fluméquine sur nos souches de *Salmonella enteritidis*.

Un pourcentage de 5,26% des souches résistantes à deux antibiotiques est obtenu. Alors que 3,51% des souches sont résistantes à trois antibiotiques (Tableau 3). Nombre d'auteurs ont rapporté la multirésistance des salmonelles mineures (Berche *et al.*, 1988 ; Boujaâfar *et al.*, 1993). Dans le domaine zootechnique, en l'occurrence avicole, ce phénomène est favorisé par l'usage inapproprié des antibiotiques (Acha & Szyfres, 1987 ; Amara *et al.*, 1995).

La présence d'un nombre relativement faible d'antibiotypes (Tableau 3) est en faveur d'une homogénéité de la série étudiée. En effet, d'après des observations effectuées sur le terrain la circulation des souches bactériennes entre élevages est évidente vu leur concentration dans un espace assez restreint (axe Rabat-Casablanca). La méconnaissance de l'application correcte de la prophylaxie sanitaire auprès des éleveurs pourrait également contribuer à cette circulation.

À l'issue de ces résultats, l'émergence dans les élevages avicoles de souches *Salmonella enteritidis* résistantes aux antibiotiques, produits intensivement utilisés en aviculture, nécessite une surveillance régulière et étroite de ce phénomène. En effet, cette émergence, non contrôlée, pourrait compliquer l'épidémiologie des salmonelloses humaines et engendrer, par conséquent, des difficultés thérapeutiques. Une rationalisation de l'utilisation avicole des antibiotiques est également préconisée.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Acha P.N. & Szyfres B. (1987) Salmonellosis. Zoonoses and Communicable diseases common to man and animals. 2nd Ed. Washington D.C. Pan American Health Organization : 147-155
- Amara A., Ziani Z. & Bouzoubaa K. (1995) Antibiorésistance of *E. coli* strians isolated in Morocco from Chickens with colibacillosis. *Vet. Microb.* 43 : 325-330
- Anonyme (1993) Technique des disques par diffusion en gélose. Antibiogramme Pasteur. Sanofi-Diagnostics Pasteur, France
- Bailey J.S. (1989) Integrated colonization control of *Salmonella* in Poultry. *Poult. Sc.* 67. : 928-932
- Benbachir M. & Mdaghri N. (1983) Sérotypes et antibiotypes de salmonelles mineures isolées en 3 ans au C.H.U. de Casablanca. *Rev. Maroc. Méd. Santé.* 5 (3) : 23-27
- Benhassen A., Bejaoui M., Lakhoua M.R. & Ben Redjeb S. (1993) Profil épidémiologique de la résistance de 153 souches de *Salmonella* (*S. typhi* exclues) isolées en milieu pédiatrique tunisien de 1985 à 1990. *Pathol. Biol.* 41 (8) : 706-712
- Benouda A., Sayrh O., Hajjam Z. & Alaoui M.A. (1998) État actuel de la résistance aux antibiotiques des principaux germes pathogènes isolés à l'hôpital Ibn Sina (C.H.U. Rabat-Salé). *Rev. Maroc. Biol. Infect. Tome (IV)* 1 : 27-31
- Berche P, Gaillard J.L. & Simonet M. (1988) Les salmonelles. Bactériologie : Les bactéries des infections humaines. Médecine-Sciences. Flammarion. Paris, pp. 575-591
- Biron F., Boibieux A., Tigaud S. & Peyramond D. (1990) Traitement des salmonelloses et shigelloses par les nouvelles Quinolones. *Pathol. Biol.* 38 (9) : 894-898
- Boujaâfar N., Zambardi G., Renaud F. & Freney J. (1991) Bactériologie Médicale Pratique : *Salmonella*. *Lyon pharmaceutique.* 42 (4) : 327-337
- Bouvet P. (1994) Actualités sur le diagnostic des salmonelloses : aspects épidémiologiques. *Spectra Biol.* 94 (2) : 43-48
- Cissé M.F., Sow A.I., Diège-Sarr E., Boye C.S., Gaye - Diallo A., Diop D., Mboup S. & Samb A. (1993) Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées en milieu pédiatrique Dakkarois. *Bulletin de la société de pathologie exotique* 86 : 43-47
- Gast R.K. & Beard C.W. (1993) Research to understand and control *Salmonella enteritidis* in chickens and Eggs. *Poul. Sc.* 72 : 1157-1163
- Goodnough M.C. & Johnson E.A. (1991) Control of *Salmonella enteritidis* infections in poultry by polymyxin B and Trimethoprim. *Applied and environmental Microbiol.* 3 : 785-788
- Humbert F. (1992) Salmonelles et filières avicoles : aspects épidémiologiques et incidences sur la santé publique. *Le Point Vétérinaire.* 145 : 19-26
- Lahellec C., Corbion B. & Fremy S. (1992) Les salmonelles chez les animaux. *Med. Mal. Infect.* 22. Spécial : 258-263
- Nordmann P., Trieu-Cuot P. & Courvalin P. (1987) Résistance bactérienne aux antibiotiques : Mutations chromosomiques ou acquisition de gènes ? *La lettre de l'infectiologue* (II) 16 : 491-497
- Rouahi N., Zouhdi M., Benabderrazzak F., Boudhan A., Hmid K., Drissi L., Zidouh A., Benkaddour K., Mahjour J., El Yachiwi M. & Alaoui M.A. (1998) Analyse des données des trois dernières années sur les salmonelloses au Maroc. (1995-1997). *Rev. Maroc. Biol. Infect.* Tome (IV) 1 : 3-10
- Zouhdi M., Benouda A., Alaoui M.A. & Hassar M. (1995) Sensibilité à 10 antibiotiques des *Salmonella* mineures au Maroc entre 1980-1991. *Rev. Maroc. Biol. Infect.* Tome (I) 2 : 25-30