

LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SALMONELLA DANS LES EAUX DE RIVIERES DE SETIF

Reçu le 14/10/2000 – Accepté le 02/04/2001

Résumé

La détection des *Salmonella* à partir des eaux des Oueds Bousselam et Bouaroua de Sétif et l'évaluation de leur antibiorésistance sont tentées. La méthode de numération suivie est celle du NPP utilisant l'eau peptonée tamponnée à 36°C/16 à 24 h pour le pré-enrichissement et le milieu Rappaport à 43°C/48 h pour l'enrichissement sélectif. L'isolement est effectué sur les milieux Brilliant Green Agar (BGA) et Hektoen additionné de novobiocine. Les eaux des deux oueds sont très chargées en *Salmonella* dans leur partie urbaine. Ce nombre chute significativement dans la partie en aval de l'Oued Bousselam pour s'annuler à l'entrée du Barrage de Ain Zada. Parmi les 20 sérotypes détectés, *S. Hadar*, Paratyphi B, Infantis et Liverpool sont largement prédominants. Cinq semblent spécifiques à la région de Sétif: *S. Adabraka*, Aequatoria, Kedougou, Liverpool et Obogu.

L'antibiogramme de 95 souches de *Salmonella* vis-à-vis de 16 antibiotiques réalisé par la méthode de diffusion sur disques a révélé que 90 % des souches sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. La résistance à un seul antibiotique (tétracycline, sulfamides) est la plus élevée (56,84%). Elle concerne *S. Hadar*, Paratyphi B, Liverpool, Infantis et Ohio. La multirésistance à 2 ou plusieurs antibiotiques atteint 33,68%. Les souches, dans leur totalité, sont sensibles à la fosfomycine.

Mots clés: *Salmonella*, Eaux de rivières, Sérotypes, Antibiorésistance.

Abstract

The detection of *Salmonella* in the water of Sétif rivers, Bousselam and Bouaroua, was undertaken and the resistance of those bacteria to antibiotics was examined. The Most Probable Number method was used with buffered peptone water as pre-enrichment medium at 36°C/16 to 24h, followed by a selective enrichment in Rappaport medium at 43°C/48h. The Brilliant Green Agar (BGA) and Hektoen enteric agar supplemented with novobiocine were used as selective media. The level of *Salmonella* in the water of the two rivers is high in their urban areas. This level decreased significantly in the downstream of the Bousselam river and the bacteria was absent in the entry of Ain Zada barrage. Among twenty different *Salmonella* serotypes detected, the most frequent serotypes were *S. Hadar*, Paratyphi B, Infantis and Liverpool. Five of them seem to be specific to the water of Sétif rivers: *S. Adabraka*, Aequatoria, Kedougou, Liverpool and Obogu.

The antibiogram of 95 *Salmonella* strains towards 16 antibiotics using the disc diffusion method showed that more than 90% of strains were resistant to one or more antibiotics. The resistance to one antibiotic (tetracycline, sulfamides) was the highest (56,84%) and the serotypes included were: *S. Hadar*, Paratyphi B, Liverpool, Infantis and Ohio. The multiply-resistance to two or more antibiotics reached 33,68%. All *Salmonella* strains were sensitive to fosfomycine.

Key words: *Salmonella*, Rivers water, Serotypes, Resistance to antibiotics.

H. CHERIF
A. SILINI
M. GHOU

Laboratoire d'Ecologie
Microbienne
Faculté des Sciences
Université Ferhat Abbas
Sétif, Algérie

ملخص

تم في هذه الدراسة عد وتعريف أنواع *Salmonella* ومقاومتها للمضادات الحيوية، بمياه واد بوسلام وبوعروة بسطيف. استعملت طريقة العدد الأكثر احتمالاً (NPP) في وسط الماء البيبتوني المنظم (36°C/16-24س). بينما استعمل وسط Rappaport للتقوية الانتخائية (43°C/48س). لقد عزلت أنواع *Salmonella* على وسط الأجار الأخضر اللامع (Brilliant Green Agar) ووسط Hektoen المضاف إليه novobiocine. وأظهرت النتائج أن كلا الواديين محملين بأنواع *Salmonella* خاصة بالأجزاء الحضرية. انخفض عدد البكتيريا بنهاية مجرى واد بوسلام ولم يتم الكشف عن وجود *Salmonella* بمدخل الوادي لسد عين زادة.

ومن بين 20 نمطا سيرولوجيا مكتشفا، كانت الأنماط الأكثر سيادة: *S. Hadar*، Paratyphi B، Infantis و Liverpool. يبدو أن 5 أنواع سيرولوجية نوعية لمنطقة سطيف: *S. Adabraka*، *S. Aequatoria*، *S. Obogu* و Liverpool، Kedougou.

لقد بين إختبار مقاومة المضادات الحيوية ل 95 عزلة من *Salmonella* اتجاه 16 مضادا حيويا باستعمال طريقة الانتشار على الأقراص، أن أكثر من 90 % من العزلات مقاومة لمضاد حيوي واحد أو أكثر. كانت المقاومة لمضاد حيوي واحد (tétracycline, sulfamides) الأكثر انتشارا (56,84%). تعلق الأمر خاصة ب: *S. Hadar*، Paratyphi B، Liverpool، Infantis و Ohio. بلغت المقاومة المتعددة لمضادين حيويين أو أكثر نسبة 33,68 % . كما أظهرت النتائج أن كل العزلات حساسة للـ fosfomycine.

الكلمات المفتاحية: *Salmonella*، مياه الأنهار، نمط سيرولوجي، مقاومة للمضادات الحيوية.

La pollution des eaux par les bactéries pathogènes représente un véritable danger pour la santé publique. Les infections bactériennes les plus communes liées à l'eau sont celles provoquées par des agents pathogènes rejetés par l'homme et les animaux à sang chaud [13]. Les *Salmonella* sont parmi les bactéries pathogènes les plus fréquemment retrouvées dans les eaux polluées [44]. Selon plusieurs auteurs, la recherche directe des *Salmonella* est préférable à celle d'un témoin de contamination [3, 16], la survie des *Salmonella* dans les eaux naturelles étant plus longue que celle des coliformes [42].

L'isolement des *Salmonella* à partir d'eaux polluées est relativement délicat et nécessite plusieurs étapes dont certains paramètres (milieu de culture, température et durée d'incubation) ne font pas l'unanimité [18]. (i) un pré-enrichissement sur eau peptonée tamponnée (36°C/24 h) [17]. (ii) un enrichissement sur milieu Rappaport et Rappaport-Vassiliadis [47]. (iii) une étape d'isolement nécessitant des milieux sélectifs et différentiels tels les milieux Brilliant Green Agar (BGA), Hektoen, Désoxycholate Citrate Lactose (DCL), *Salmonella Shigella* (SS)...[18].

Par ailleurs, l'existence dans les eaux naturelles de bactéries d'origine fécale possédant un matériel génétique codant la résistance aux antibiotiques est largement documentée [33, 35]. Le transfert du matériel génétique se fait par des mécanismes de conjugaison et de transduction [6]. Peu d'informations sont disponibles sur la résistance d'espèces de *Salmonella* isolées du milieu aquatique [41].

La présente étude a pour objet la détection et l'isolement de souches de *Salmonella* à partir de cours d'eau de la région de Sétif et l'évaluation de leur antibiorésistance.

MATERIEL ET METHODES

Prélèvements

L'étude est réalisée sur les deux oueds de Sétif: Bousselam et Bouaroua, réceptacles majeurs des eaux usées urbaines, industrielles et agricoles et pourvoyeurs en eau du barrage de Aïn Zada qui alimente en eau potable plusieurs villes de la région de Sétif.

Quatre stations de prélèvement sont retenues (Fig. 1):

- St1, sur l'Oued Bouaroua. Les eaux sont constituées essentiellement d'effluents urbains provenant d'une grande partie de la ville de Sétif.
- St2, sur l'Oued Bousselam, recueille les eaux usées urbaines, industrielles et agro-alimentaires de la partie Ouest de la ville.
- St3, sur l'Oued Bousselam, est située à 25 km en aval de la ville.
- St4, à l'entrée du barrage de Aïn Zada, permet l'évaluation de la qualité des eaux avant leur traitement.

Les prélèvements se sont déroulés sur une période de 6 mois et treize échantillons ont été effectués. La température de l'eau est relevée à chaque fois.

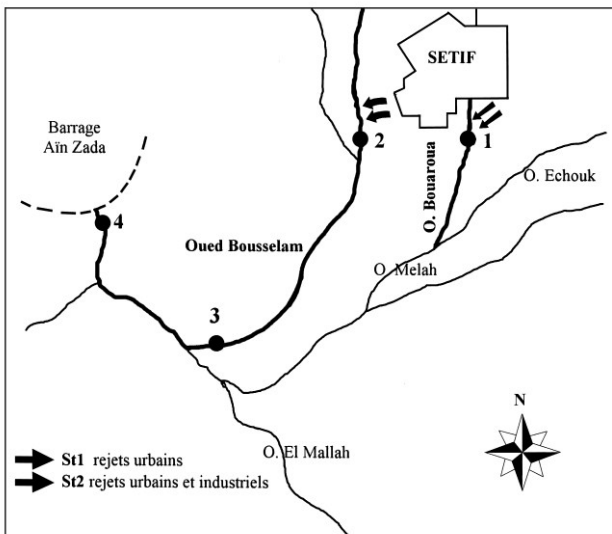


Figure 1: Localisation des stations de prélèvement.

Isolement et dénombrement des *Salmonella*

Les *Salmonella* sont dénombrées par la méthode du NPP selon le schéma décrit par Morinigo *et al.* [40]. 5 séries de tubes de NPP contenant 10 ml d'eau peptonée tamponnée (E.P.T.) utilisée comme milieu de pré-enrichissement [17] sont inoculées par 10-, 1-, 0,1-, 0,01- et 0,001 ml de l'échantillon et sont incubés à 36°C/16 h à 24 h. De chaque tube d'E.P.T., est inoculé dans un rapport de 1:100 le milieu d'enrichissement Rappaport (Merck). Après incubation à 43°C/48 h, une ϕ se de chaque tube de Rappaport estensemencée sur milieux B.G.A. (Institut

Pasteur Production) et Hektoen (Merck) additionné de novobiocine (15 mg/l) [25]. Les colonies caractéristiques sont identifiées par les galeries API 20E (Biomérieux) et par les tests sérologiques selon le schéma de Kauffmann-White [30]. S'agissant du dénombrement bactérien, chaque tube de Rappaport, où la présence de *Salmonella* est préalablement confirmée biochimiquement et sérologiquement, sera considéré comme positif. Le nombre de *Salmonella* (NPP/100 ml) est obtenu à l'aide des tables conventionnelles du NPP [7].

Isolement des coliformes fécaux

Les numérations des coliformes fécaux sont effectuées dans le but d'établir leur éventuelle relation avec les *Salmonella*. L'isolement des coliformes fécaux est réalisé sur milieu de Drigalski (Merck) incubé à 42°C/24 h en utilisant la méthode par étalement ou filtration sur membrane selon la turbidité des eaux.

Résistance des *Salmonella* aux antibiotiques

95 souches de *Salmonella* isolées sont testées sur 16 antibiotiques appartenant à 8 familles différentes: Amoxicilline AMX (25 μ g), Ampicilline AM (10 μ g), Ticarcilline TIC (75 μ g); Céfalotine CF(30 μ g), Céfamandole MA (30 μ g), Céfotaxime CTX (30 μ g); Gentamycine GM (15 μ g), Kanamycine K (30UI), Néomycine N(30UI), Streptomycine S (10 μ g); Sulfamides SSS (300 μ g), Triméthoprime + Sulfaméthoxazole SXT (25 μ g); Acide nalidixique NA (30 μ g); Chloramphénicol C (30 μ g); Fosfomycine FOS (50 μ g); Tétracycline TE (30UI). L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion des disques sur milieu Mueller-Hinton (Merck) à 37°C/18 h.

Analyse statistique

Trois méthodes statistiques sont employées:

- L'analyse de la variance par la méthode de Fischer-Snedecor évalue l'effet du milieu d'isolement et de la température de l'eau sur l'efficacité de la récupération des *Salmonella*.
- La détermination de la régression linéaire estime la corrélation *Salmonella*/coliformes fécaux.
- Le test du χ^2 détermine la relation entre la station de prélèvement et la résistance des *Salmonella* à un antibiotique donné.

RESULTATS

Effets du milieu d'isolement et de la température de l'eau sur les numérations des *Salmonella*

L'analyse de la variance (Tab.1) atteste que le milieu d'isolement a des effets significatifs sur les numérations. Le milieu Hektoen, additionné de novobiocine, permet une récupération optimale à partir de la quasi-totalité des échantillons (Tab.2). En outre, les numérations de *Salmonella* sont meilleures quand la température initiale de l'eau est comprise entre 20 et 25°C, plutôt qu'entre 15 et 20°C. Les numérations sont importantes au niveau des St1

Source de variation	d.d.I	M.C	F-Snedecor	Probabilité
Station	2	1,743743	13,331	0,002***
Température de l'eau	5	0,510534	3,903	0,04**
Milieu d'isolement	1	1,019259	7,793	0,02**
Résiduelle	9	0,130800		

Tableau 1:
Analyse de la variance des effets de la température de l'eau et du milieu d'isolement sur les numérations des *Salmonella*.

d.d.I : degré de liberté - M.C : moyenne des carrés.

** : effet significatif - *** : effet très significatif.

Température de l'eau	Stations de prélèvements								Total	
	1		2		3		4		BGA	Hek
	BGA	Hek	BGA	Hek	BGA	Hek	BGA	Hek		
15-20°C	12	129	2	7	0	0	0	0	14	136
20-25°C	47	114	51	317	4	4	0	0	102	435
Total	59	243	53	324	4	4	0	0	116	571

Tableau 2:
Effets de la température de l'eau et du milieu d'isolement (BGA ou Hektoen) sur les numérations des *Salmonella* (NPP/100 ml).

Sérogroupe	Nombre de souches	Fréquence (%)
A	1	1,05
B	17	17,89
C C1	29	30,52
C C2	23	24,21
D D1	2	2,10
E E1	6	6,31
E E4	14	14,73
G	2	2,10
Autoagglutinable	1	1,05
Total	95	100,00

Tableau 3:
Fréquence des sérotypes.

Sérotype	Nombre de souches			Total du nombre de souches	Fréquence (%)
	St 1	St 2	St 3		
S. Hadar	6	13	/	19	20,00
S. Infantis	10	4	/	14	14,73
S. Paratyphi B	1	13	/	14	14,73
S. Liverpool	/	13	/	13	13,68
S. Ohio	6	/	/	6	6,31
S. Virchow	1	3	/	4	4,21
S. Adabraka	1	2	/	3	3,15
S. Anatum	3	/	/	3	3,15
S. Heidelberg	/	/	3	3	3,15
S. Newport	/	3	/	3	3,15
S. Enteritidis	/	/	2	2	2,10
S. Kedougou	2	/	/	2	2,10
S. Obogu	2	/	/	2	2,10
S. Aequatoria	1	/	/	1	1,05
S. Bovis morbificans	1	/	/	1	1,05
S. M'bandaka	/	/	1	1	1,05
S. Oranienburg	1	/	/	1	1,05
S. Paratyphi A	1	/	/	1	1,05
S. Senftenberg	1	/	/	1	1,05
S. autoagglutinable	1	/	/	1	1,05
Total	38	51	6	95	100,00

Tableau 4:
Nature et fréquence des sérotypes.

et 2, faibles ou nulles aux St3 et 4 (Tab.2). La fréquence d'isolement est de 100 % dans les St1 et 2, de 75 % dans la St3, et nulle dans la St4.

Nature et fréquence des sérotypes

95 souches de *Salmonella* ont été isolées à partir des différentes stations. L'identification sérologique a permis de dégager 8 sérogroupes comportant 20 sérotypes (Tab.3). Le sérotype C est le plus important et représente 54,73 % des souches isolées. E et B existent à des fréquences comprises entre 17,89 et 24,21 %. G, D et A existent à des taux inférieurs à 3 %. Les sérotypes Hadar, Infantis, Paratyphi B, Liverpool et Ohio représentent la majorité des souches isolées (> 70%). Les 15 autres sérotypes représentent le 1/3 des souches isolées et sont représentés par un nombre très limité de souches (1 à 4) (Tab. 4). Le nombre de sérotypes par station de prélèvement est élevé à la St1, moyen à la St2 et faible à la St3 (Tab. 5). Les sérotypes sont, en règle générale, spécifiques à une seule station; seuls 5 d'entre eux sont retrouvés simultanément dans des stations différentes. Infantis est omniprésent à la St1, Paratyphi B et Hadar sont prédominants à la St2. Trois sérotypes sont retrouvés spécifiquement à la St3 (Enteritidis, Heidelberg et M'bandaka). De plus, des températures supérieures à 20°C semblent favoriser la diversité des sérotypes (Tab.5).

Evaluation de la corrélation entre *Salmonella*/coliformes fécaux

Les St1 et 2 sont riches en coliformes fécaux (10^8 UFC/100 ml). Les numérations diminuent d'une manière significative et atteignent respectivement $5,6 \cdot 10^2$ UFC/100 ml à la St3 et 450 UFC/100 ml à la St4 (Tab.6).

L'analyse statistique montre une corrélation positive ($r = 0,82$) et significative ($p = 0,0006$) quand le taux des coliformes fécaux est supérieur à 100 UFC/100 ml (Tab.7).

Résistance aux antibiotiques

Parmi les souches testées (95), aucune n'est résistante à la fosfomycine. La résistance à la tétracycline, aux sulfamides et à la streptomycine est la plus élevée. En revanche, la résistance aux autres antibiotiques est faible et ne dépasse guère 13 % des souches. Le test du χ^2 révèle que le taux de résistance aux antibiotiques (NA, CF, CTX, FOS, GM, S, TE) sont analogues au niveau des 3 stations alors que des différences significatives sont notées pour les autres antibiotiques (Tab. 8). La résistance à un seul antibiotique est la plus élevée (57 %). La multirésistance impliquant 2 antibiotiques est de 15 % et celle impliquant 3 antibiotiques est réduite. Le nombre total de souches multirésistantes varie de 1 à 5. La résistance à 2 ou plusieurs antibiotiques (en % cumulé) est égale à 33,68 %. De plus, les taux de multirésistance sont plus diversifiés à la St1 (Tab. 9). Les sérotypes impliqués dans la résistance à 1 et à 2 antibiotiques sont surtout Hadar, Infantis, Paratyphi B, Liverpool et Ohio (Tab. 10). Le sérotype Infantis mérite une attention particulière: plusieurs de ces souches présentent une multirésistance et celle-ci peut atteindre 9 antibiotiques. Les sérotypes Heidelberg, et M'bandaka, d'une part, et Paratyphi A et Senftenberg, d'autre part, sont

respectivement résistantes à 9, 11 et 13 antibiotiques. Les souches sensibles à tous les antibiotiques testés sont au nombre de 9 (Liverpool n = 4, Hadar n = 2, Infantis n = 2 et Paratyphi B n = 1) (Tab. 10). 18 modèles de multirésistance existent (Tab. 11). Hormis la fosfomycine, l'ensemble des antibiotiques est impliqué. La résistance à la seule tétracycline prédomine. 3 modèles de résistance différents à 2 antibiotiques sont constatés: TE-S, TE-SSS, TE-C. La résistance à 3 antibiotiques donne les combinaisons suivantes TE-SSS-SXT et TE-NA-SSS. Les pénicillines sont impliquées lorsque le niveau de résistance atteint 5 antibiotiques et plus. Les céphalosporines de 3^{ème} génération (CTX, MA) sont incluses dans les modèles de résistance à 13 antibiotiques. De plus la tétracycline, les sulfamides et la streptomycine sont impliqués dans toutes les résistances.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les numérations et les fréquences d'isolement sont élevées dans les eaux des deux oueds dans leur partie urbaine (St1 et 2). Des résultats comparables sont rapportés par plusieurs auteurs [36, 39]. Ce constat est la conséquence de divers rejets de la ville de Sétif. Les rejets d'origine domestique constitue une source importante de *Salmonella*. En effet, la fréquence d'isolement des *Salmonella* est liée à l'étendue de l'infection chez l'homme et chez les animaux porteurs sains ou malades [37]. De plus les eaux usées hospitalières, bien que moins importantes, contribuent probablement à la contamination. Les effluents d'abattoirs méritent aussi une attention particulière. Ils peuvent constituer une source non négligeable de *Salmonella* [27]. Au contraire, les numérations des *Salmonella* indiquent de faibles taux à la St3 et une absence totale de ces bactéries à l'entrée du barrage (St4). Ceci serait la conséquence du phénomène d'auto-épuration, ou de l'effet du stress environnemental. De plus, la méthode d'isolement utilisée ne permet pas la détection des cellules stressées (état viable mais non cultivable) [15, 28]. Certains auteurs estiment au contraire que les *Salmonella* sont particulièrement résistantes dans les eaux naturelles peu polluées et peuvent y persister pendant de longues périodes [48]. Toutefois, les conditions climatiques locales et les facteurs environnementaux ne sont pas les mêmes (faible profondeur des eaux, débit faible et irrégulier, rayonnement solaire important, etc.). Ainsi, l'absence totale des *Salmonella* à l'entrée du barrage constitue un bon indice quant à l'utilisation de ses eaux si les autres critères de microbiologie sont respectés. Des valeurs de température comprises entre 20 et 25°C favorisent la récupération des *Salmonella*. L'importance de la température de l'eau dans la survie des *Salmonella* lors de l'échantillonnage a été soulignée par de nombreux auteurs [20,26]. Toutefois, d'autres facteurs peuvent intervenir influençant la survie de ces bactéries dans les eaux [3]. Le milieu Hektoen, additionné de novobiocine, s'est avéré plus efficace que le milieu BGA et donne une meilleure caractérisation des colonies [3, 5].

Les sérotypes identifiés appartiennent essentiellement aux sérogroupes B, C et E. Ces résultats sont à rapprocher de ceux d'autres auteurs [4, 36]. Par contre, ceux relatifs à

Stations	Prélèvements					
	I		II		III	
	Sérotypes	nb	Sérotypes	nb	Sérotypes	nb
St.1	16°C		21°C		16°C	
	Infantis	7	Infantis	2	Hadar	6
	Obogu	1	Ohio	6	Anatum	3
	Oranienburg	1	Paratyphi A	1	Kedougou	2
St.2	15°C		21°C		22°C	
	Paratyphi B	1	Paratyphi B	7	Paratyphi B	5
	Hadar	1	Infantis	2	Hadar	5
	Newport	1	Hadar	7	Liverpool	2
			Newport	2	Infantis	2
			Liverpool	11	Vichow	2
			Adabraka	2		
		Virchow	1			
St.3	20°C		21°C		25°C	
N.D		Heidelberg	2	Enteritidis	2	
				Heidelberg	1	
				M'bandaka	1	
St.4	N.D		N.D		N.D	

Tableau 5:
Nombre (nb) de sérotypes par échantillon.
N.D: non détecté.

Stations	Prélèvements				Numérations moyennes
	I	II	III	IV	
St.1	4,1.10 ⁶ (16°C)	8,5.10 ⁸ (21°C)	2,3.10 ⁸ (24°C)	2,4.10 ⁹ (16°C)	8,7.10 ⁸
St.2	2,8.10 ⁶ (15°C)	3,2.10 ⁸ (21°C)	2,6.10 ⁷ (22°C)	-	1,2.10 ⁸
St.3	3.10 ¹ (20°C)	5.10 ² (21°C)	1,7.10 ⁴ (25°C)	-	5,6.10 ²
St.4	5.10 ⁰ (21°C)	5.10 ¹ (24°C)	8.10 ¹ (26°C)	-	4,5.10 ¹

Tableau 6:
Numérations (UFC/100 ml) des coliformes fécaux (Drigalski / 42°C).

	Intervalle de concentration en UFC/100 ml	Nombre d'échantillons	Coefficient de corrélation	Pente (b)	Probabilité
coliformes fécaux	> 10 ²	9	0,82	0,122	0,0006

Tableau 7:
Analyse statistique de la corrélation linéaire entre les *Salmonella* et les coliformes fécaux.
Droite de régression: $y = a + bx = 0,055 + 0,122x$.
Coefficient de corrélation = 0,82**.
** : très significatif.

Antibiotiques	Nombre de souches par station			Total	Probabilité p=0,01
	St 1 38	St 2 51	St 3 6		
	Nombre de souches résistantes (%)				
Acide nalidixique (NA)	3(7,89)	1(1,96)	0(0)	4(4,21)	NS
Amoxicilline (AMX)	6(15,78)	3(5,88)	3(50)	12(12,63)	
Ampicilline (AM)	6(15,78)	3(5,88)	3(50)	12(12,63)	
Céfalotine (CF)	4(10,52)	1(1,96)	1(16,66)	6(6,31)	NS
Céfamandole (MA)	2(5,26)	0(0)	3(50)	5(5,26)	
Céfotaxime (CTX)	2(5,26)	0(0)	0(0)	2(2,10)	NS
Chloramphénicol (C)	5(13,15)	0(0)	3(50)	8(8,42)	
Fosfomycine (FOS)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	NS
Gentamycine (GM)	2(5,26)	1(1,96)	1(16,66)	4(4,21)	NS
Kanamycine (K)	4(10,52)	0(0)	2(33,33)	6(6,31)	
Néomycine (N)	4(10,52)	0(0)	2(33,33)	6(6,31)	
Streptomycine (S)	5(13,15)	10(19,6)	3(50)	18(18,94)	NS
Sulfamides (SSS)	10(26,31)	11(21,56)	5(83,33)	26(27,36)	
Tétracycline (TE)	32(84,21)	38(74,50)	6(100)	76(80)	NS
Ticarclilline (TIC)	6(15,78)	5(5,88)	3(50)	12(12,63)	
Trimétho-sulfa (SXT)	5(13,15)	5(5,88)	3(50)	11(11,57)	

Tableau 8:
Nombre de souches de *Salmonella* antibiotorésistantes selon le lieu l'échantillonnage.
NS : non significatif.

Nombre d'antibiotiques	Nombre de souches par station			
	St 1 38	St 2 51	St 3 6	Total 95
	Nombre de souches	Résistantes à X	Antibiotiques (%)	
1	24 (63,15)	29 (56,86)	1 (16,66)	54 (56,84)
2	5 (13,15)	10 (19,6)	-	15 (15,78)
3	1 (2,63)	2 (3,92)	-	3 (3,15)
4	-	-	2 (33,33)	2 (2,10)
5	-	2 (3,92)	-	2 (2,10)
7	1 (2,63)	-	-	1 (1,05)
8	1 (2,63)	-	-	1 (1,05)
9	2 (5,26)	1 (1,96)	2 (33,33)	5 (5,26)
11	-	-	1 (16,66)	1 (1,05)
13	2 (5,26)	-	-	2 (2,10)

Tableau 9: Nombre de souches de *Salmonella* possédant différents modèles d'antibiorésistance selon le lieu d'échantillonnage.

Sérotypes	Hadar n=19	Infantis n=14	Paratyphi B n=14	Liverpool n=13	Ohio n=6
Antibiotiques					
TE	10	5	5	7	5
SSS	1		3		
NA		1			
TE-S	5	1		2	
TE-SSS		1	2		1
TE-C		1			
TE-SSS-SXT			1		
TE-NA-SSS			1		
TE-S-AMX-TIC-AM	1		1		
TE-SSS-AMX-TIC-SXT-AM-CF		1			
TE-SSS-S-SXT-AMX-TIC-AM-CF		1			
TE-AMX-TIC-SXT-S-GM-SSS-CF-AM		1			
Souches sensibles aux antibiotiques testés	2	2	1	4	

Tableau 10: Modèles de multirésistance des sérotypes prédominants.

Nombre d'antibiotiques impliqués	Multirésistance (en % de souches)
1	TE (48,42) SSS (5,26) NA (3,15)
2	TE-S (8,42) TE-SSS (6,31) TE-C (1,05)
3	TE-SSS-SXT (2,10) TE-NA-SSS (1,05)
4	TE-K-N-SSS (2,10)
5	TE-S-AMX-TIC-AM (2,10)
7	TE-SSS-AMX-TIC-SXT-AM-CF (1,05)
8	TE-SSS-S-SXT-AMX-TIC-AM-CF (1,05)
9	AMX-TIC-SXT-K-S-SSS-N-AM-C (2,10) TE-AMX-TIC-SXT-S-GM-SSS-CF-AM (1,05) TE-AMX-TIC-SXT-S-MA-SSS-AM-C (2,10)
11	TE-AMX-TIC-SXT-S-MA-GM-SSS-CF-AM-C (1,05)
13	TE-AMX-TIC-K-S-MA-CTX-N-GM-SSS-CF-AM-C (1,05) TE-AMX-TIC-SXT-K-MA-CTX-N-GM-SSS-CF-AM-C (1,05)

Tableau 11: Modèles de multirésistance des souches de *Salmonella*.

la fréquence et à la diversité des sérotypes différent [3,4,15, 21,48]. Toutefois, sur les 20 sérotypes isolés, 5 semblent spécifiques des eaux polluées de la région de Sétif (*S. Adabraka*, *Aequatoria*, *Kedougou*, *Liverpool* et *Obogu*). Les autres sérotypes sont comparables à ceux trouvés dans les eaux de différentes parties du monde; ils sont ubiquistes et ont une grande capacité de persister dans les eaux [45]. La fréquence et la diversité des sérotypes varient à la fois selon le site d'échantillonnage et la période de prélèvement et sont d'autant plus importantes que le niveau de contamination est élevé (St1 et St2) [3,4,18]. Elles seraient à la fois la conséquence d'apports massifs à ces bactéries et le reflet de l'extension de l'infection humaine et/ou animale [21]. Le nombre de sérotypes à la St3 est faible; la spécificité des espèces isolées (*Enteritidis*, *Heidelberg*) laisse plutôt supposer une contamination d'origine animale (volailles) [14, 34]. La température de l'eau agit aussi bien sur les numérations que sur la diversité des sérotypes [22].

L'évaluation des coliformes fécaux dans les eaux des deux oueds constitue un bon indicateur du degré de la pollution bactériologique, de la présence et de l'importance des *Salmonella*. Une corrélation entre présence et importance des *Salmonella* et celles des coliformes fécaux existe: elle indique clairement une augmentation parallèle entre les deux groupes bactériens [10,21, 43].

Les résultats de l'antibiorésistance attestent qu'un taux > 90% des souches de *Salmonella* sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques. Ils sont comparables à ceux rapportés par Morinigo *et al.* en 1990 [41] dans les eaux naturelles polluées en Espagne. La multirésistance (à 2 ou plusieurs antibiotiques) est importante. Goyal *et al.* [23] rapportent des taux voisins alors que Alcaide et Garay [2] et Morinigo *et al.* [41] mentionnent des taux inférieurs.

Cette multirésistance varie aussi selon la nature de l'échantillon [6, 19]. La résistance à la tétracycline, aux sulfamides et à la streptomycine est élevée et comparable à celle rapportée par Morinigo *et al.* [41]: la conséquence serait l'usage courant et abusif de ces antibiotiques en médecine humaine et animale [14,31,46]. La résistance aux autres antibiotiques est faible sinon nulle: la sensibilité extrême à la fosfomycine est identique à celle obtenue par Cisse *et al.* [12] sur des souches cliniques. Pour les autres antibiotiques, des taux similaires sont retrouvés dans différents environnements [14,31,36,38,41]. Toutefois, si ces antibiotiques restent actifs, ce serait la conséquence de leur non-utilisation dans les thérapeutiques humaine et animale. La multirésistance à 5 antibiotiques et plus, impliquant les pénicillines et la céfalotine, serait due à la présence d'une β -lactamase inhibant les pénicillines et à une β -lactamase à spectre élargi, efficace contre pratiquement toutes les β -lactamines [11,29,32]. La présence de souches sensibles au sein d'un même sérotype ou possédant des résistances multiples (ex. *S. Infantis*) atteste de la perte ou de l'acquisition de plasmide de résistance [1, 9]. La résistance à 2 ou plusieurs antibiotiques est importante. Ce taux pourrait traduire l'existence d'une pression de sélection s'exerçant au niveau des flores intestinales suite à l'utilisation d'antibiotiques [24]. L'existence habituelle de teneurs élevées en matières organiques et en bactéries dans l'environnement aquatique favoriserait l'émergence de résistance et les transferts génétiques entre les espèces de *Salmonella* ou entre *Salmonella* et d'autres bactéries autochtones résistantes [2, 6, 35]. Selon certains auteurs, les eaux de surface favorisent une pression de sélection plus importante que celle existant dans les eaux usées [8]. Ceci expliquerait les taux élevés de multirésistance dans la partie en aval de l'Oued Bousselem (St3) et supposerait l'existence de facteurs de survie ou d'évolution favorable chez les bactéries porteuses de plasmides.

Au terme de cette étude, quatre constatations majeures émergent:

1 – Les milieux Rappaport pour l'enrichissement et Hektoen pour l'isolement, et les conditions d'incubation suivies, favorisent la détection et les numérations des *Salmonella* dans les eaux fortement polluées.

2 – La charge en *Salmonella* des eaux des deux Oueds est élevée dans leur partie urbaine. Au contraire, les numérations indiquent de faibles niveaux de pollution dans la partie en aval de l'Oued Bousselem et une absence totale des *Salmonella* à l'entrée du barrage de Aïn Zada, conséquence de l'auto-épuration.

Une corrélation entre coliformes fécaux et *Salmonella* existe, essentiellement lorsque leur charge est ≥ 100 UFC/100 ml.

3 – Les 20 sérotypes détectés prédominent dans la zone urbaine et 5 d'entre eux semblent spécifiques à la région de Sétif: *S. Adabraka*, *Aequatoria*, *Obogu*, *Liverpool* et *Kedougou*.

4 – La résistance des *Salmonella* à un ou plusieurs antibiotiques est considérable (>90%). Elle implique la tétracycline, les sulfamides et la streptomycine. La multirésistance à 2 ou plusieurs antibiotiques est

remarquable (33,68%). Les autres antibiotiques testés ont une activité inhibitrice élevée et la fosfomycine montre une efficacité totale. Les souches sensibles (nb=9) à tous les antibiotiques existent cependant. Elles appartiennent aux sérotypes *Liverpool*, *Hadar*, *Infantis* et *Paratyphi B*.

REFERENCES

- [1]- Abraham A., Papa A., Soultous N., Ambrosiadis I. and Antoniadis A., "Antibiotic resistance of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. isolates from traditionally made fresh sausages in Greece", *J. of Food Protection*, Vol. 61, (1998), pp. 1378-1380.
- [2]- Alcaide E. and Garay E., "R- plamid transfer in *Salmonella* spp. isolated from wastewater and sewage-contaminated surface water", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 48, (1984), pp. 435-438.
- [3]- Alcaide E., Martinez J.P. and Garay E., "Comparative study of *Salmonella* isolation from sewage contaminated natural waters", *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 56, (1984), pp. 365-371.
- [4]- Alonso J.L., Alonso M.A., Usera M.A. and Echeita A., "The occurrence of *Salmonella* serotypes in marine recreational waters of Valencia", *Spain. Microbiologia SEM*, Vol. 8, (1992 a), pp. 44-48.
- [5]- Alonso J.L., Botella M.S, Amoros I. and Rambach A., "*Salmonella* detection marine waters using a short standard method", *Water Res.*, Vol. 26, (1992 b), pp. 973-978.
- [6]- Anderson E.S., Humphreys G.O. and Wellshaw G.A., "The molecular relatedness of R-factors in *enterobacteria* of human and animal origin", *J. General Microbiol.*, Vol. 91, (1975), pp. 376-382.
- [7]- Anonyme, "Standard methods for the examination of wastewater", 16th ed. American Public Health Association, Inc. Washington, D.C., (1985).
- [8]- Bell J.B., MacCrae W.R. and Elliot G.E., "Incidence of R factors in coliform, fecal coliform, and *Salmonella* populations of the Red River in Canada", *App. Environ. Microbiol.*, Vol. 40, (1980), pp. 486-491.
- [9]- Borrego J.J., Castro D., Jimenez-Notario M., Luque A., Martinez-Manzanares E., Rodriguez-Avial C. and Picazo J.J., "Comparison of epidemiological markers of *Salmonella* strains isolated from different sources in Spain", *J. Clin. Microbiol.*, Vol. 30, (1992), pp. 3058-3064.
- [10]- Burton G.A., Gunnison Jr. D. and Lanza G.R., "Survival of pathogenic bacteria in various freshwater sediments", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 53, (1987), pp. 633-638.
- [11]- Charrel J., Mallet M.N., Bollet C. et De Micco P.H., "Mécanismes de résistance aux antibiotiques", pp. 240-241, *In* Manuel de bactériologie clinique, Maloine (ed.), Paris, (1992).
- [12]- Cisse M.F., Sow A.I., Dieye-Sarr E., Boye C.S., Gaye-Diallo A., Diop D., Mboup S. et Samb A., "Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées en milieu pédiatrique dakarois. Recherche de β -lactamase et de plasmides", *Bull., Soc. Patho. Ex.*, Vol. 86, (1993), pp. 43-47.
- [13]- Colwell R., "Human pathogens in the aquatic environment. Aquatic", *Microbiol. Ecology. Proceeding of the A.S.M. conference*, (1979), pp. 337-344.
- [14]- D'Aoust J.Y., Sewell A.M., Daley E. and Greco P., "Antibiotic resistance of agricultural and foodborne *Salmonella* isolates in Canada, 1986-1989", *J. Food Prot.*, Vol. 55, (1992), pp. 428-434.
- [15]- Desmont C., Minet J., Colwell R. and Cormier M., "Fluorescent-antibody method useful for detection of viable but nonculturable *Salmonella* spp. in chlorinated

- wastewater", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 56, (1990), pp. 1448-1452.
- [16]- Dutka B.J., "Coliforms are an inadequate index of water quality", *J. Environ. Health*, Vol. 36, (1973), pp. 39-46.
- [17]- Edel W. and Kampelmacher E.H., "Comparative studies on the isolation of sublethally injured *Salmonellae* in nine European Laboratories", *Bull., World Health Organization*, Vol. 48, (1973), pp. 167-174.
- [18]- Fricker C.R., "The isolation of *Salmonella* and *Campylobacter*", *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 63, (1987), pp. 99-126.
- [19]- Gauthier M.J., Cauvin F. and Breittmayer J.P., "Influence of salts and temperature on the transfer of mercury resistance from a marine *Pseudomonas* to *Escherichia coli*", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 50, (1985), pp. 38-40.
- [20]- Geldreich E.E., "Applying bacteriological parameters to recreational water quality", *J. American Water Works Assoc.*, Vol. 62, (1970), pp. 113-120.
- [21]- Geldreich E.E., "Bacterial populations and indicator concepts in feces, sewage, stormwater and solid wastes", *In* Indicators of viruses in water and food. G. Berg (ed.). Ann. Arbor. Science Michigan, (1978), pp.51-97.
- [22]- Geldreich E.E., "Coliforms non compliance night mares in water supply distribution systems", *In* water quality : a realistic perspective. American Water Works Association (ed.) Michigan. Water Pollut. Control Association, (1990), pp.55-74.
- [23]- Goyal S.M., Gerba C.P. and Melnick J.L., "Transferable drug resistance in bacteria of coastal canal water and sediment", *Water Res.*, Vol. 13, (1979), pp. 349-356.
- [24]- Grabow W.O.K., Prozesky O.W. and Smith L.S., "Drug resistant coliforms call for review of water quality standards", *Water Res.*, Vol. 8, (1974), pp. 1-9.
- [25]- Hoben D.A., Ashton D.H. et Peterson A.C., "Some observations on the incorporation of novobiocin into Hektoen enteric agar for improved *Salmonella* isolation", *Appl. Microbiol.*, Vol 26, (1973), pp. 126-127.
- [26]- Jentsch F. and Gaertner H., "Chimical parameters in coastal waters in correlation with microbiological parameters. Zentralblatt für Bakteriologie, parasitenkunde infektionskrankheiten und hygiene", *I. Abt. Orig. B.*, Vol. 167, (1978), pp. 115-129.
- [27]- Jones F. and Watkins J., "The water cycle as a source of pathogens", *J. Appl. Bacteriol. Sym. Suppl.*, (1985), pp. 27S-36S.
- [28]- Kogure K., Simidu U. and Taga N., "A tentative direct microscopy method for counting living marine bacteria", *Can. J. Microbiol.*, Vol. 25, (1979), pp. 415-420.
- [29]- Leegaard T.M., Van Gestel M.H., Petit P.L.C. et Van De Klundert J.A.M., "Antibiotic resistance mechanisms in *Salmonella* species causing bacteraemia in Malawi and Kenya", *APMIS* 104, (1996), pp. 302-306.
- [30]- Le Minor L., "Genus III *Salmonella* Lignères", 1900, pp. 427-458. *In* Bergey's manual of systematic bacteriology, vol.1. (ed.) Kreig, N.R. et J.G. Holt Williams et Wilkins Co., Baltimore, (1984).
- [31]- Limpitakis N., Abraham A., Kansouzidou A., Daniilidis V.D. and Genigeorgis C., "Antibiotic sensitivity profile of *Salmonella* isolated from two slaughterhouses and human clinical cases", *Antimicrobial Resistance*, (1999), pp.257-260.
- [32]- Ling J.M., Zhou G.M., Woo T.H.S. and French G.L., "Antimicrobial susceptibilities and B-lactamase production of Hong Kong isolates of gastroenteric *Salmonellae* and *Salmonella typhi*.", *J. Antimicrob. Chemother*, Vol. 28, (1991), pp. 877-885.
- [33]- Luque A., Morinigo M.A., Rodriguez-Avial C., Picazo J.J. and Borrego J.J., "Microbial drug resistance and the presence of plasmids in *Salmonella* strains isolated from different sources", *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, Vol. 12, (1994), pp. 187-192.
- [34]- Mac Donald K.L., Cohen N.L., Hargrett-Bean N.T., Wells J.G., Puhf N.D., Collin S.F. and Blake P.A., "Changes in antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from humans in the United States", *J. American Med. Assoc.*, Vol. 258, (1987), pp. 1496-1499.
- [35]- Mach P.A. et Grimes D.J., "R-plasmid transfer in a wastewater treatment plant", *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 44, (1982), pp. 1395-1403.
- [36]- Mered B., "Les salmonelloses en Algérie", Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Université de Lille, France, (1974).
- [37]- Meybeck M., Chapman D.V. and Helmer R., "Pathogens in freshwater quality", *In* Global freshwater quality. World Health Organisation and the United Nations Environment Programme (ed.). Basil Blackwell, Inc. Cambridge, Massachusetts 02142, USA. (1990), p. 59-78.
- [38]- Mirelis B., Llovet T., Munoz C., Navarro F. and Prats G., "Resistance of *Salmonella* and *Campylobacter* species to antimicrobial agents", *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, Vol 18, (1999).
- [39]- Mizon F., "Les plasmides de résistance aux antibiotiques chez les *Salmonella*. Ecologie et intérêt épidémiologique à propos de *S. panama*", Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Lille, (1974).
- [40]- Morinigo M.A., Borrego J.J. and Romero P., "Comparative study of different methods for detection and enumeration of *Salmonella* spp. in natural waters", *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 61, (1986), pp. 169-176.
- [41]- Morinigo M.A., Cornax R., Castro D., Jimenez-Notaro M., Romero P. and Borrego J.J., "Antibiotic resistance of *Salmonella* strains isolated from natural polluted waters", *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 68, (1990a), pp. 297-302.
- [42]- Morinigo M.A., Cornax R., Castro D., Martinez-Manzanares E. and Borrego J.J., "Viability of *Salmonella* spp and indicator microorganisms in seawater using membrane diffusion chambers", *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 57, (1990 b), pp. 109-117.
- [43]- Morinigo M.A., Cornax R., Munoz M.A., Romero P. and Borrego J.J., "Relationships between *Salmonella* spp and indicator microorganisms in polluted natural waters", *Water Res.*, Vol. 24, (1990 c), pp. 117-120.
- [44]- Morinigo M.A., Munoz M.A., Cornax R., Castro D. and Borrego J.J., "Evaluation of different enrichment media for the isolation of *Salmonella* from polluted seawater samples", *J. Microbiol. Methods*, Vol 11, (1990 d), pp. 43-49.
- [45]- Murray C.J., "*Salmonellae* in the environment", *Rev. Sci. Tech. Int. Epiz.*, Vol.10, (1991), pp. 765-785.
- [46]- Tassios P.T., Chadjichristodoulou C., Lambiri M., Kansouzidou-Kanakoudi A., Sarandopoulou Z., Kourea-Kremastinou J., Tzouveleki L.S. and Legakis N.J., "Molecular typing of multidrug-resistant *Salmonella* Blockley outbreak isolates from Greece", *Past Issue* (2000), Vol. 6.
- [47]- Vassiliadis P., "The Rappaport-Vassiliadis enrichment media for the isolation of *Salmonellae*: an overview", *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 54, (1983), pp. 69-76.
- [48]- Venkateswaran K., Takai T., Navarro I.M., Nakano H., Hashimoto H. and Siebeling R.J., "Ecology of *Vibrio cholerae* non-O1 and *Salmonella* spp and role of zooplankton in their seasonal distribution in fukuyama coastal waters, Japan", *J. Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 55, (1989), pp. 1591-1598. □