

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Thème

**Étude de la prévalence de *Salmonella enterica* chez
les bovins de la région de Khenchela par des
méthodes bactériologiques**

Présenté par : ADAMI Ahmed

Devant le jury composé de :

Présidente	<i>Dr. MILLA AMEL</i>	M. C. A	ENSV
Promotrice	<i>Dr. HEZIL DJAMILA</i>	M. A. B	ENSV
Co-promotrice	<i>Dr. GHALMI Farida</i>	M. C. A	ENSV
Examinatrice	<i>Dr. BOULBINA IBTISSEM</i>	M. A. A	FNSV
Examinatrice	<i>Dr. ZENAD WAHIBA</i>	M. A. A	ENSV

Promotion 2015-2016

Remerciements

Au terme de ce travail, je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la patience et la santé afin d'achever ce modeste travail dans les meilleurs conditions.

Mes sincères remerciements vont avant tout à ma promotrice, Le Dr. HEZIL DJAMILA, pour avoir accepté de m'encadrer dans une ambiance si amicale ainsi que l'aide précieuse qu'elle m'a prodigué et l'immense patience dont elle a fait preuve avec moi.

Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements à Dr. GHALMI Farida pour ses conseils pertinents.

Je remercie Dr. MILLA AMEL de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidente du jury.

Mes vifs remerciements à Dr. BOULBINA IBTISSEM de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre du jury.

Mes sincères remerciements sont destinés à Dr. ZENADE WAHIBA pour avoir accepté de jurer ce modeste travail.

Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements à Dr. ZAIDI SARA pour ses conseils pertinents.

Je remercie vivement :

Dr. vétérinaire BOUCHARB DALILA pour leur aide et encouragement.

AMMI Ahmed le technicien de laboratoire de parasitologie.

LOUISA la technicienne du laboratoire de HIDA O.

En fin, tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin, que ce soit par leur amitié, leurs conseils ou leur soutien moral, trouveront dans ces quelques lignes l'expression de mes remerciements les plus vifs.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui ont œuvrés pour ma réussite, de par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et leurs précieux conseils.

Recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A mon frère Ibrahim et mes sœurs, pour leurs encouragements.

Un grand merci à Adel, Amine, Hichem.

A tous mes amis pour le soutien qu'ils m'ont toujours apporté, je n'oublie jamais leur encouragement

Résumé

La salmonellose est une maladie infectieuse inoculable et contagieuse due à une entérobactérie ubiquitaire du genre *Salmonella*. Il s'agit d'une des causes principales de toxi-infection d'origine alimentaire chez l'homme dans les pays développés.

Chez les bovins, des nombreux sérotypes de *Salmonella enterica* sont responsables de manifestations cliniques très variées pouvant causer des pertes économiques considérables.

Cette étude a été réalisée dans différentes exploitations bovines de la région de Khenchela, entre Novembre 2015 et janvier 2016. La prévalence a été établie d'une part après analyse bactériologique de 50 prélèvements de matières fécales de bovins appartenant à 07 fermes différentes. Tous les résultats obtenus par analyse bactériologiques selon la méthode de référence NF U 47-100 se sont révélés totalement négatifs pour tous les échantillons étudiés.

La salmonellose bovine est une maladie à évolutions grave. Elle est cependant mal connue et très rarement recherchée sur le terrain. Pourtant les conséquences de l'apparition d'un foyer peuvent être très lourdes sur le plan économique

Mots clés : Vaches, Matières fécales, *Salmonella* spp, Prévalence.

Abstract

Salmonellosis is an inoculable and contagious infectious disease caused by ubiquitous enterobacteria of the genus *Salmonella*. It is a leading cause of food borne infection in humans in developed countries.

In cattle, many serotypes of *Salmonella enterica* are responsible for very different clinical manifestations can cause considerable economic losses.

This study was performed in different cattle farms in the Khenchela region, between November 2015 and January 2016. The prevalence was established firstly after bacteriological analysis of 50 samples of feces of cattle belonging to 07 different farms. All the results obtained by bacteriological analysis according to NF U 47-100 reference method proved totally negative for all the samples studied.

Salmonellosis is a disease with serious developments. It is, however poorly known and rarely sought on the ground. Yet the consequences of an outbreak can be very heavy economic

Keywords: Cows, feces, *Salmonella* spp, Prevalence

ملخص

السالمونيلا مرض جرثومي معد يسبب هجسمن العصيات المعوية متواجدة في كل مكان من جنس السالمونيلا. وهو السبب الرئيسي لتسمم الغذائي عن طريق الأغذية عند البشر في البلدان المتقدمة.

عند الأبقار، العديد من الأنماط المصلية من السالمونيلا المعوية مسؤولة عن مظاهر سريرية مختلفة جدا يمكن أن تسبب خسائر اقتصادية كبيرة.

هذه الدراسة أجريت في مزارع الماشية مختلفة في منطقة خنشلة، بين نوفمبر 2015 ويناير 2016. وقد أنشئت انتشار المرض بعد التحليل البكتريولوجي من 50 عينة من براز البقر ينتمون إلى 07 مزارع مختلفة. أثبتت كل النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق التحليل البكتريولوجي وفقا للطريقة NF U 47-100 إشارة سلبية تماما لجميع العينات المدروسة.

سالمونيلا الأبقار مرض مع تطورات خطيرة، ومع ذلك فهو غير معروف ونادرا ما يبحث عنه في الميدان مع إن النتائج المترتبة على ظهوره يمكن أن تكون ثقيلة جدا اقتصاديا.

كلمات البحث: الأبقار، البراز، السالمونيلا، انتشار

Sommaire :

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION01

PARTIE 1: RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1: GENERALITE SUR LE GENRE SALMONELLA02

I TAXONOMIE ET EVOLUTION DE LA SALMONELLA02

II CRITERES BACTERIOLOGIQUES02

II.1 MORPHOLOGIE02

II.2 CULTURE02

II.3 CARACTERES BIOCHIMIQUES03

III STRUCTURE ANTEGENIQUE ET FACTEURS DE VIRULENCE04

III.1 ANTIGENE DE LA PAROI OU ANTIGENE O04

III.2 L'ANTIGENE D'ENVELOPPE (VI)04

III.3 ANTIGENE FLAGELLAIRE OU H04

IV PHYSIOLOGIE DES SALMONELLES05

IV.1 TEMPERATURE (T°)05

IV.2 POTENTIEL D'HYDROGENE (PH)05

IV.3 ACTIVITE DE L'EAU (AW).....05

IV.4 LES RADIATIONS05

CHAPITRE 2: LES SALMONELLOSES BOVINES05

I PATHOGENIE06

II SYMPTOMATOLOGIE DE LA SALMONELLOSE BOVINE08

II.1 PRINCIPALES FORMES CLINIQUES08

II.1.1. FORME DIGESTIVE08

II.1.2. FORME GENITALE09

II.1.3. FORME SEPTICEMIQUE09

II.1.4. FORME RESPIRATOIRE09

II.2 AUTRES FORMES09

II.3 PORTAGE ASYMPTOMATIQUE10

III. TABLEAU LESIONNEL CHEZ LES BOVINS10

III.1 FORME DIGESTIVE10

III.1.1. EVOLUTION AIGUE	10
III.1.2. EVOLUTION CHRONIQUE	10
III.2 FORME GENITALE	11
III.3 FORME SEPTICEMIQUE	11
III.4 FORME RESPIRATOIRE	11
III.5 AUTRE FORME	11
IV. DIAGNOSTIQUE	11
IV.1. DIAGNOSTIQUE CLINIQUE	11
IV.2. DIAGNOSTIQUE DIFFERENTIEL	12
IV.2.1. CHEZ LE VEAU	12
IV.2.2. CHEZ L'ADULTE	12
IV.3. DIAGNOSTIQUE LABORATOIRE	13
IV.3.1. PRELEVEMENTS	13
IV.3.2. DIAGNOSTIQUE BACTERIOLOGIQUE	13
IV.3.2.1. LA PREMIER ETAPE	14
IV.3.2.2. LA DEUXIEME ETAPE	14
IV.3.2.3. TROISIEME ETAPE	14
IV.3.2.4. ETAPE DE CONFIRMATION	16
IV.3.2.4.1. IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE	16
IV.3.2.4.2. IDENTIFICATION SEROLOGIQUE	16
IV.3.2.5. NOUVELLES TECHNIQUE DE DETECTION DE SALMONELLA SPP DANS LES MATIERES FECALES BOVINE	16
IV.3.3. AUTRES METHODES DE DIAGNOSTIQUE	17
IV.3.3.1. METHODE IMMUNOLOGIQUES	17
IV.3.3.2. METHODE MOLECULAIRES	17
IV.3.3.3. METHODE GENOTYPIQUE	18
V MESURES PROPHYLACTIQUE	18
V.1 . PROPHYLAXIE SANITAIRE	18
V.1.1. HYGIENE DU LOGEMENT	18
V.1.2. HYGIENE DE L'ABREUVEMENT	19
V.1.3. HYGIENE DE L'ALIMENTATION	19
V.1.4. HYGIENE DE VELAGE ET DE TRAITE	19
V.1.5. MAITRISE DES DEJECTIONS	20
V.1.6. MAITRISE DES FACTEURS DE RISQUE RELATIFS AUX BOVINS ...	20
V.2 . PROPHYLAXIE MEDICALE	21

V.2.1. VACCINATION	21
V.2.2.METAPHYLAXIE	22

PARTIE 2: PARTIE EXPERIMENTALE

I MATRIEL ET METHODE	23
I.1 OBJECTIFS	23
I.2 ECHANTILLONNAGE	23
I.2.1. LIEUX DES PRELEVEMENTS ET PLANS D'ECHANTILLONNAGES ...	23
I.2.2. QUESTIONNAIRE EPIDEMIOLOGIQUE	23
I.2.3. NATURE DU PRELEVEMENT	24
I.3 ISOLEMENT ET CARACTERISATION DES SOUCHES DE SALMONELLA DANS LES MATIERES FECALES	24
I.3.1. MATERIEL UTILISE ET MILIEUX DE CULTURE	24
I.3.2. METHODE D'IDENTIFICATION	24
I.3.2.1. METHODE DE REFERENCE NF U 47-100	26
1) PRE-ENRICHISSEMENT EN MILIEUX NON SELECTIFS LIQUIDE...	26
2) ENRICHISSEMENT EN MILIEUX SELECTIFS LIQUIDE ET SEMI SOLIDE	26
a) LE MILIEU MSRV	26
b) LE MILIEU MKTT	27
3) ISOLEMENT	27
a) ISOLEMENT SUR MILIEU MSRV	27
b) ISOLEMENT SUR MILIEU MKTTN	27
c) PURIFICATION SUE GELOSE NUTRITIVE	27
II RESULTAS ET DISCUSSION	28
III CONCLUSION ET RECOMMANDATION	30

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Diagramme d'analyse selon la méthode de référence NF U 47-100 P 26
- Figure 2** : Préparation du milieu MSR/V (photo personnelle). P 27
- Figure 3** : Zone de migration de *Salmonella* spp. sur milieu MSR/V (photo personnelle). P 27

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1** : Principaux caractères biochimiques des *Salmonella* (Tortora et al ., 2003) P 03
- Tableau 2** : Les types de Prélèvements à effectuer pour le diagnostic de salmonellose P 13
- Tableau 3** : Milieux sélectifs proposés (Caron et Menard, 1997). P 15
- Tableau 4** : Nombre des vaches prélevé dans chaque ferme P 23

LISTE DES ABREVIATIONS

% : pour cent.

µl: Microlitre.

µm: micromètre.

Ac: Acide.

AC: Anticorps.

ADH : Arginine Dihydrolase

Ag: Antigen.

AGV :AcidesGras Volatiles.

API: Analytical Profile Index.

APP :AcidePhénylePyruvique

AW: Activity of the Water.

C°:Degré Celisius.

CD4+ : Cluster de Différenciation 4+.

CD8+ : Cluster de Différenciation 8+.

DC: Ornithine-Décarboxylase.

EPT: Eau PeptonnéeTamponnée.

g : gramme.

GN : Gélose Nutritive.

H: Heure.

H2S :Sulfured'Hydrogène.

HK: Hektoen.

INMV:Institut National de la Médecine Vétérinaire d'Algérie.

ISO: International Organization for Standardization.

KCN : cyanure de potassium

Kg:Kilogramme.

L:Litre.

LDC :Lysine Décarboxylase

LPS : LipoPoly Saccharides.

MKTT: Bouillon de Muller-Kauffmann au Tétrathionate

MI: Milliliters.

Mm : Minute.

MSRV: Modified Semi-solid Rappaport.

Nacl: Chlorure de sodium.

Nm: Nanomètre.

ODC : Ornithine Décaroxylase

OIE : Office International des Epizooties.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PDA : Phénylanine Désaminase

PH: Potentiel d'Hydrogène.

PP : Pourcentage de Positivité.

RM : Rouge Méthyle

RV : Rappaport –Vassiliadis.

S: Second.

SFB: Selenite Freaser Broth.

SPI: Salmonella Pathogenicity Islands.

TDA : Trlyptophane Désaminase

TSI : Iron Sugar Triple.

TTSS : Système de Sécrétion de Type 3.

UFC: Unité Formant Colonie.

VCS: Vacuole Contenant des Salmonella.

VP : Vosage-Proskauer

XLD : Xylose Lysine Désoxycholate

INTRODUCTION

Chez les bovins, la salmonellose est une maladie zoonotique causée par plusieurs sérovars de *Salmonella enterica* pouvant causer des pertes économiques considérables.

De par sa large dissémination dans l'environnement, sa prévalence dans la chaîne alimentaire globale, sa virulence et son adaptabilité, *Salmonella enterica* est le germe le plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine et animale (**Tindall et al.,2005**). Il a un impact considérable en médecine, en santé publique et sur l'économie mondiale (**Miller et al .,2000**).Actuellement, plus de 2600 sérotypes (sérovars) de *Salmonella enterica* sont décrits (**Nataro et al ., 2007**).

La plupart des salmonelles sont localisées dans les voies gastro-intestinales des mammifères domestiques ou sauvages, ainsi que chez les reptiles, les oiseaux et les insectes. Certains sérotypes de *S. enterica*, comme Typhi, sont surtout adaptés à l'homme et n'ont pas d'autre hôte connu (**Allerberger et al ., 2002**).

Les bovins sont le principal réservoir de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérotype Dublin (*Salmonella* Dublin) qui est considérée comme la cause la plus courante d'infection à salmonelles chez cette espèce animale, avec *S. Typhimurium* (**Vaillant et al ., 1996 ;Khaschabi et al., 2002**). Le bétail infecté est une source de contamination pour les humains, généralement par la consommation de viande de bœuf et de lait de vache.

Ainsi, les conséquences des infections à *Salmonella* sont traduites notamment en un sur plus de travail et des coûts en soins vétérinaires plus élevés (**Hinton ,1974;Peters, 1985**).

Les travaux concernant la salmonellose bovine en Algérie sont rares. C'est la cause pour laquelle nous nous intéressés vers ce sujet.

Notre travail porte sur déterminer la prévalence des espèces de Salmonelles par isolement et identification biochimique à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région de Khenchela.

PARTIE 1:RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE1: GENRALITES SUR LE GENRE SALMONELLA

I. TAXONOMIE ET EVOLUTION DE LA NOMENCLATURE

Le genre Salmonella appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Découvert par Théobald Smith (1859-1934) en 1885, il a été nommé ainsi en l'honneur du Dr américain Daniel Elmer Salmon (1850-1914).

Suite notamment à des techniques d'hybridation ADN-ADN, le genre Salmonella a été divisé en 2 espèces distinctes : *S. enterica* et *S. bongori*(**Popoff et al., 2004; Reeves et al., 1989**).

La première espèce est elle-même subdivisée en 6 sous-espèces : *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica*. Au sein de chaque sous-espèce, on distingue des sérotypes, résultant de différentes combinaisons des antigènes somatiques O de nature polysaccharidique, des antigènes flagellaires H de nature protéique et, enfin, capsulaires (Vi). Le type de classement en fonction des antigènes O et H porte le nom de schéma de Kauffmann-White(**Tindall et al.,2005**). A l'heure actuelle, plus de 2.500 sérotypes sont reconnus officiellement.

Les noms des sérotypes doivent être écrits en caractères pleins (non italiques) avec une majuscule : *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* sérotype Typhimurium. Toutefois, les simplifications suivantes sont admises : *Salmonella Typhimurium* ou *S. Typhimurium*. (**Brenner et al., 2000**)

II. CRITERES BACTERIOLOGIQUES

II.1. Morphologie

Les salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae. En microscope optique, elles apparaissent comme des bâtonnets à gram négatif de 0.3 µm à 1 µm de large et long de 1 à 6 µm (**Berche et al., 1988**), mobiles grâce à une ciliature péritriche (à l'exception du sérovar *Gallinarum pullorum*)(**Colin, 2002**)

II.2. Culture

Les salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobie et hygrophiles. En effet les salmonelles cultivent sur milieux ordinaire à base d'extraits de viande. à un PH voisine de la neutralité et a une température optimal de croissance de 37⁰ C, les colonies sont généralement

rondes, lisses (smooth ;S) à bords réguliers et ont un diamètre de 2 à 3 mm .les salmonelles donnent des cultures homogènes après repiquage en bouillon .il arrive exceptionnellement que des cultures de salmonelles soient isolées sous forme rugueuse (ou rough :R). La plupart des salmonelles sont capables de cultiver sur milieu minimum, sans facteur de croissance. Quand elles sont adaptées à un hôte pour lequel elles ont un pouvoir pathogène manifeste, elles peuvent exiger un ou plusieurs facteurs de croissance pour cultiver (**Bertrand, 2003**).

II.3. Caractères biochimiques

Les caractères d'identification sont essentiellement biochimiques et utilisent des tests qui étudient le métabolisme protéique (présence d'uréase, production d'indole , dégradation du tryptophane) ou la fermentation des sucres , la capacité d'utiliser le citrate , la présence d'enzymes (décarboxylases , désaminases) la production d'hydrogène sulfure ou la formation de gaz (**Canadian Food Inspection Agency .,1998**) . Voir tableau 01.

Tableau 1 : Principaux caractères biochimiques des *Salmonella* (**Tortora et al ., 2003**)

Tests	Resultant	Tests	Résultat
Mobilité	+	Ornithine	+
Lactose	-	Mannitol	+
ONPG	-	Malonate	-
Uréase	-	Rhamnose	+
Indole	-	Arabinose	+
VP	-	LDC	+
RM	+	ODC	+
H₂S	+	ADH	-
Citrate	+	TDA, PDA	-
Gélatinase	-	APP	-
Saccharose	-	KCN	-

III. STRUCTURE ANTIGENIQUE ET FACTEURS DE VIRULENCE :

Les salmonelles comme toutes les entérobactéries, peuvent posséder trois types d'antigènes d'intérêt diagnostique (**Le Minor et Veron .,1989**). Ces antigènes permettent de classer ces bactéries entypes sérologique sous sérotypes. (Il existe de nombreux sérotypes des *Salmonella*, qui peuvent être différenciés sur la base de la composition du lipopolysaccharides (antigènes somatiques O) et des antigènes flagellaires H)(**Berche et al., 1988**).

III.1. Antigène de la paroi ou antigène O:

Les antigènes O (somatiques), au nombre de 67, ont la structure polysidique (correspondant aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides LPS). Ces antigènes sont thermostables (2 h à 100 °C), alcoolostables ; ils constituent l'endotoxine des *Salmonella*. Et on les détermine par agglutination sur lame à l'aide d'immuns sérums spécifiques.(**Le Minor et Veron .,1989**)

Les facteurs O peuvent être classés en :

- Facteurs O majeurs : caractérisent un groupe des salmonelles : ainsi l'antigène O : 4 définit le groupe B.
- Facteur O accessoires (mineurs) : leur sont associés mais n'ont guère d'importance diagnostique.(**Carbonelle et al ., 1987**)

III.2. L'antigène d'enveloppe(Vi) :

L'antigène Vi, est situé à la périphérie du corps bactérien. Il n'existe que chez trois sérotypes : *S.typhi* (bacille d'Eberth), *S.paratyphi C* et *S. dublin*. (**Guiraud, 1998**)

III.3. Antigène flagellaire ou H :

L'antigène H, situé au niveau des flagelles .Les flagelles représentent de longs filaments hélicoïdaux implantés dans la membrane bactérienne permettant à *Salmonella* de se déplacer vers la barrière épithéliale dans l'intestin. Cette motilité contribue à l'invasion des cellules non phagocytaires en médiant un contact étroit entre la bactérie et la cellule ciblée. La flagelline de *Salmonella* stimule la sécrétion de cytokines pro inflammatoires dans l'épithélium intestinal, mais y inhibe également l'apoptose. Dans les macrophages, la flagelline est transférée vers le cytoplasme par l'entremise du SST3-1, menant à l'induction de l'inflammasome et de la caspase-1 provoquant une mort cellulaire nommée « pyroptose ». Cependant, les données

recueillies in vivo montrent que le rôle de la flagelline dans la virulence de la bactérie demeure accessoire et dépend du modèle d'infection adopté.(Sabbagh, 2013)

IV. PHYSIOLOGIE DES SALMONELLES

IV.1. Température (T °)

Les salmonelles se multiplient de 7 à 41 °C et sont détruites par des températures de l'ordre de 65/70 °C appliqués durant 5 à 15 minutes . (PLYM-FORSHELL et EKESBO ,1993) ont observé que S.Typhimurium et S. Dublin survivaient au moins 35 jours dans le fumier des bovins, mais pas plus de 24 heures dans une cuve à fermentation à 55 °C.

Il y a un arrêt de la croissance pour des températures inférieures à 5,2°C. La congélation et la décongélation peuvent détruire une partie des salmonelles présentes dans les aliments mais la congélation ne doit pas être considérée comme un vrai moyen d'assainissement. Si les bactéries sont en nombre suffisant, elles peuvent être détectées après congélation.(Danielset al ., 1993).

IV.2. Potentiel d'hydrogène (pH)

Les salmonelles se multiplient entre 4,5 et 9,0 mais supportent des PH plus acide

IV.3. Activité de l'eau (Aw)

Les valeurs optimales pour leur croissance sont comprises entre 0,945 et 0,999 mais elles peuvent survivre dans des produits déshydratés tels que les farines.

IV.4. Les radiations :

Les salmonelles sont inactivées par la lumière et les rayons ionisants. Ces derniers peuvent être utilisés pour l'assainissement des aliments

CHAPITRE2: LES SALMONELLOSES BOVINES

I. PATHOGENIE

La pathophysiologie de la salmonellose est plutôt complexe. La nature et la gravité de la maladie suite à l'infection dépendent de la combinaison spécifique hôte-sérotype, de la virulence de l'agent pathogène, ainsi que de l'âge et du statut immunitaire de l'animal. La dose infectieuse pour les bovins adultes en bonne santé est d'environ 10^9 - 10^{11} salmonelles (**House et Smith, 2004**). Le terme « salmonellose » regroupe tout un éventail de manifestations de la maladie.

Les salmonelles sont des organismes invasifs qui peuvent pénétrer les muqueuses oculaire, orale, nasale ou intestinale (**Smith, 2002**). Cependant, la majorité des infections se font par voie orale. Suite à l'ingestion, la bactérie doit d'abord résister au contenu du rumen puis au pH de la caillette avant de pouvoir pénétrer la muqueuse intestinale. La concentration élevée en acides gras volatils (AGV) du rumen des bovins à partir de six semaines d'âge, est suffisante pour inhiber les salmonelles (**Chambers et Lysons, 1979**). De plus, un pH de 4,8 ou moins dans la caillette est bactéricide pour la plupart des salmonelles (**Rings, 1985**). Les jeunes veaux sont donc plus susceptibles aux infections par *Salmonella* spp. Entre autres parce qu'ils n'ont pas un pH aussi bas que celui des adultes dans la caillette, et leur rumen est immature. Comme la concentration en AGV du rumen ainsi que le pH du rumen et de la caillette varient en fonction de l'ingestion (ou non) d'aliments ou de lait, l'effet protecteur des AGV et de l'acidité du système gastro-intestinal contre les salmonelles est variable. Ainsi, chez les veaux non sevrés, le pH de la caillette est très bas dans la période préprandiale (pH <2,0) mais l'ingestion de lait fait rapidement augmenter le pH à environ 6,0. Après l'ingestion de 2 L de lait, le pH de la caillette reste constant pour un maximum de 2 heures, puis diminue progressivement pour revenir aux valeurs préprandiales en 7 à 9 heures (**Constable et al., 2006**).

Chez les bovins adultes, toute perturbation du processus normal de fermentation avec production de lactates dans le rumen, entre autres lors d'acidose, favorise la multiplication des salmonelles en utilisant ces substrats (**Chambers et Lysons, 1979**). De plus, l'anorexie étant associée à de faibles concentrations en AGV et à un pH ruminal élevé, cela permet aux salmonelles de persister ou même de se multiplier lors d'anorexie complète ou partielle (**Brownlie et Grau, 1967**).

Lorsque la bactérie se rend jusqu'à l'iléon distal et au caecum, elle en colonise la muqueuse puis se réplique dans la sous-muqueuse et les plaques de Peyer. Chez les jeunes animaux et

les adultes dont le système immunitaire est affaibli, l'infection peut s'étendre au-delà des nœuds lymphatiques mésentériques, s'établir dans les cellules réticuloendothéliales du foie et finalement causer une infection systémique (**Radostits et al., 2007**). *Salmonella* peut alors être retrouvée dans de nombreux organes, tissus et sécrétions incluant les reins, la rate, la vésicule biliaire, la salive, le lait et les fèces (**Rings, 1985**). Ce type d'infection systémique est cependant beaucoup plus fréquent lors d'une infection à *S. Dublin* que lors d'une infection causée par *S. Typhimurium* ou tout autre sérotype. (**House et al., 1993 ; Santos et al., 2001 ; Smith et coll., 1989 ; Wray et Sojka, 1978**). Chez les veaux, *S. Dublin* tend également à se localiser dans les méninges, les os, les articulations ou les poumons (**Gitter et al., 1978 ; Rings, 1985**).

Les mécanismes plus précis de la pathogénie des salmonelles, dont nous ne traiterons pas en détail ici, sont beaucoup mieux connus chez le veau que chez le bovin adulte. En effet, *S. Typhimurium* étant un agent pathogène naturel des bovins, et causant une condition pathologique et des signes cliniques similaires à ceux décrits chez l'humain, le veau a souvent servi de modèle expérimental pour l'entérococolite humaine (**Santos et al., 2001 ; Tsolis et al., 1999 ; Zhang et al., 2003**) ou bovine (**Hall et al., 1979**). Malgré cela, les mécanismes par lesquels les salmonelles causent de la diarrhée n'ont pas encore été complètement élucidés. Des études *in vitro* ont montré chez *S. Typhimurium* la translocation de protéines du système de sécrétion de type III (SSTT). Ces protéines, dans le modèle d'entérococolite à *S. Typhimurium* chez le veau, sont nécessaires pour provoquer l'infiltration de neutrophiles, probablement en induisant la production de chémokines dans le tissu iléal. La réponse inflammatoire aiguë qui s'en suit est associée à une augmentation de la perméabilité vasculaire se traduisant par un œdème de la muqueuse. En outre, l'afflux de neutrophiles est associé à une nécrose de la muqueuse iléale supérieure. L'augmentation de perméabilité de l'épithélium intestinal conduit à des fuites de fluides extravasculaires et à la transmigration massive de neutrophiles dans la lumière intestinale. Cela suggère que la perte de liquides observée lors d'entérococolite à *S. Typhimurium* est due au moins en partie à un mécanisme inflammatoire, qui pourrait même jouer un rôle plus important que la production de toxines. (**Rings, 1985 ; Santos et al., 2001 ; Smith et al., 1979 ; Wray et Davies, 2000 ; Zhang et al., 2003**)

II. SYMPTOMATOLOGIE DE LA SALMONELLOSE BOVINE

La salmonellose bovine se caractérise par un grand polymorphisme. L'expression clinique et la gravité des symptômes diffèrent essentiellement selon les conditions d'élevage et le sérovar contaminant.

II.1. Principales formes cliniques

II.1.1. Forme digestive

Très fréquente, cette forme se traduit surtout par l'émission d'une diarrhée sanglante. *S. Typhimurium* est généralement isolé (**Martel, 1997**).

Les veaux atteints sont généralement âgés d'une semaine à trois mois (**Rings, 1985**). Le tableau clinique typique comporte une hyperthermie (41°C), une perte de l'appétit, une diarrhée jaune à brunâtre. Les selles sont liquides, nauséabondes et peuvent contenir du mucus, du sang et des fragments de muqueuse. Cette diarrhée s'accompagne d'épreintes ténues et de coliques abdominales. Les veaux se déshydratent rapidement. Dans un élevage, la morbidité atteint les 80 % et la mortalité avoisine les 20% (jusqu'à 50-60%). La morbidité et la mortalité sont proportionnelles à l'âge (**wray et Sojka, 1977**). Là encore, le caractère très contagieux de la maladie doit être souligné, particulièrement dans les élevages intensifs de veaux.

En cas de salmonellose chronique, les symptômes sont peu caractéristiques : le veau est maigre, prostré, avec une diarrhée avec une consistance jaunâtre rappelant le « mastic ». Des complications, essentiellement articulaires sont parfois observées. Les veaux atteints ne finissent pas tous par décéder, mais ils deviennent de véritables « non valeurs économiques ».

Les adultes, essentiellement des vaches laitières hautes productrices, présentent avant même les signes digestifs de l'hyperthermie (41°C), une diminution de l'appétit et de la rumination. La diarrhée est profuse et fait suite à une incubation d'un à quatre jours après l'exposition. Des coliques et une dysenterie sévère sont en général observées avec *S. Dublin* et *S. Typhimurium*. L'entérite salmonellique est toujours accompagnée d'une baisse de la sécrétion lactée. Le taux de morbidité peut atteindre 25% et la mortalité est élevée en l'absence de traitement (**Martel et Savey, 1992**).

II.1.2. Forme génitale

Cette forme est essentiellement liée à l'infection par *Salmonella* Dublin. Ce sérovar entraîne des avortements survenant entre le 124^{ème} et le 270^{ème} jour de gestation et plus généralement entre le 160 et le 180^{ème} jour (Foley et Schlafer, 1994). Ils sont généralement suivis de rétention placentaire. Dans 90% des cas (Martel et Pardon, 1980), l'expulsion du fœtus n'est pas précédée ni accompagnée de symptômes visibles chez la mère. Il n'y a pas d'augmentation de l'infertilité ni de l'anoestrus et la mortalité est quasiment nulle. Depuis une dizaine d'années, *S. Montevideo* induit des avortements chez la brebis (Lax et al., 1995).

II.1.3. Forme septicémique

Plus rares, les septicémies salmonelliques se développent habituellement dans les élevages industriels (veaux de boucherie) et sont liées au stress de l'allaitement. Cette forme est moins fréquemment rencontrée chez les adultes, hormis les vaches laitières hautes productrices ou les animaux dont le système immunitaire est affaibli. Les veaux atteints de septicémie salmonellique sont généralement âgés d'une semaine à sept mois avec un pic d'incidence chez les veaux d'un mois.

II.1.4. Forme respiratoire

Cette forme est très fréquente dans les grandes collectivités (nurseries, ateliers d'engraissement). L'atteinte de l'appareil respiratoire se traduit par de la dyspnée, de la polypnée, une toux sèche et quinteuse, un jetage séreux puis muqueux. Elle ne présente pas de particularités cliniques par rapport aux autres broncho-pneumonies bactériennes des bovins mais elle évolue généralement de façon plus défavorable. Les pneumonies salmonelliques sont très contagieuses. En l'absence de traitement, la maladie évolue rapidement vers la mort chez les plus jeunes animaux.

Chez le veau, les formes respiratoires sont souvent accompagnées de diarrhée. On parle de syndrome « pneumo-entérite » (Martel, 1985).

II.2. Autres formes

D'autres localisations sont plus rarement observées (Martel, 2001): arthrite, méningoencéphalite, ostéite, gangrène des extrémités, uvéite, mammite, complication de césarienne (péritonite, abcès de paroi).

II.3. Portage asymptomatique

Il est difficile de formuler des hypothèses sur l'origine du portage : soit il persiste après les cas cliniques, soit il les précède. On ne connaît précisément ni les facteurs bactériens ni ceux liés à l'hôte qui évitent que le portage provoque la maladie. Le porteur présente un danger dans la transmission de l'infection au sein de l'élevage. (Vallet et Marly, 1997)

III. TABLEAU LESIONNEL CHEZ LES BOVINS

Les lésions sont peu spécifiques mais elles fournissent une orientation dans un contexte clinique et épidémiologique particulier. L'examen nécropsique devra être accompagné des prélèvements et d'analyses de laboratoire afin de confirmer l'hypothèse de salmonellose.

III.1. Forme digestive

Les lésions diffèrent selon le mode aiguë ou chronique de la maladie (Caron et Menard, 1997).

III.1.1. Evolution aiguë

Chez le veau comme chez l'adulte, on observe une entérite catarrhale à hémorragique avec hypertrophie et hémorragie des ganglions mésentériques et hémorragies des séreuses.

L'estomac et l'intestin grêle sont souvent épargnés, l'inflammation commençant au niveau de l'iléon et du colon. Le contenu intestinal est fluide, malodorant, plus ou moins mélangé à du sang. La muqueuse est épaissie, hémorragique et souvent couverte par un exsudat rouge, jaune ou gris. Elle présente aussi fréquemment des ulcères et une hypertrophie des plaques de Peyer est notée. Les nœuds lymphatiques mésentériques et iléo-caecaux sont deux à trois fois plus gros que la normale (Millemann et al., sous presse)

Le foie, la rate et les reins peuvent présenter des foyers nécrotiques plus caractéristiques, submiliaires, parfois en profondeur, mais difficiles à observer. La vésicule biliaire est distendue, épaissie et présente des pétéchies.

III.1.2. Evolution chronique

La muqueuse congestionnée est recouverte par un exsudat fibrineux qui coagule à sa surface donnant des fausses membranes ou « omelettes fibrineuses ». Ces dépôts fibrineux peuvent être très abondants et très adhérents, et ils recouvrent des lésions ulcéro-nécrotiques de la muqueuse (Santos et al., 2001).

III.2. Forme génitale

La forme génitale se traduit par des inflammations peu spécifiques du placenta, avec parfois une nécrose ou des hémorragies des cotylédons. Le fœtus peut également présenter des lésions : œdème sous-cutané, congestion, nécrose du foie et des poumons (**Caron et Menard, 1997**).

III.3. Forme septicémique

La carcasse est congestionnée (**Radostitsetal., 2000**) De nombreux organes présentent de multiples lésions hémorragiques : pétéchies sous-muqueuse et sous séreuses, ecchymoses sur la plèvre, l'endocarde, les reins, les méninges. La rate est congestionnée. Les cavités pleurale et abdominale contiennent des épanchements. L'ensemble de ces lésions correspond à un phénomène de coagulation intraveineuse disséminée provoqué par les toxines salmonelliques.

III.4. Forme respiratoire

Elle engendre des lésions non spécifiques de broncho-pneumonie avec atteinte des lobes apicaux, cardiaques ou diaphragmatiques, plus ou moins associées à de la pleurésie et de l'emphysème. Exceptionnellement, des atteintes des voies respiratoires supérieures ont été signalées (**Caron et Menard, 1997**).

III.5. Autres formes

En cas d'arthrite salmonellique, le liquide synovial est jaune foncé et floconneux (**Caron et Menard, 1997**). Lors de forme nerveuse, on relève l'existence d'une méningo-encéphalomyélite granulomateuse (**Laval, 1981**).

IV. DIAGNOSTIC

IV.1. Diagnostic clinique

La suspicion clinique sera émise à partir de l'examen de l'animal : diarrhée, hyperthermie et abattement pour les formes digestives, avortements chez les adultes, symptômes respiratoires chez les veaux. Il convient de prendre en compte les données épidémiologiques de l'affection : grande contagion, type d'animaux touchés (veaux de boucherie, vaches laitières hautes productrices) ainsi que la forte mortalité en l'absence de traitement.

IV.2. Diagnostic différentiel

IV.2.1. Chez le veau (Caron et Menard, 1997)

- **Salmonellose digestive**

Le diagnostic différentiel comprend toutes les causes de diarrhée chez le veau :

- infection virale (rotavirus, coronavirus, maladie des muqueuses),
- bactérienne (colibacillose),
- parasitaire (cryptosporidiose, coccidiose).

- **Salmonellose pulmonaire**

Les formes respiratoires n'ont pas de caractères particuliers sur le plan clinique et tous les agents de broncho-pneumonie enzootiques sont à considérer : mycoplasmes, pasteurelles, IBR, BVD.

IV.2.2. Chez l'adulte

- **Entérites salmonelliques**

Différentes causes de diarrhée doivent être envisagées :

- infection bactérienne (paratuberculose, colibacillose, entérotoxémie),
- virale (maladie des muqueuses),
- parasitaire (strongylose, coccidiose, babésiose),
- intoxication (fougère aigle, glands, mercuriale).

- **Avortements**

Les causes d'avortement sont nombreuses :

- infection bactérienne (*Brucella*, *Listeria*, *Chlamydia*, *Coxiella burnetii*, Mycoplasme, *Haemophilus*, *Actinomyces pyogenes*, leptospire),
- virale (BVD, IBR),
- parasitaire (néosporose, toxoplasmose),
- mycosique (aspergillose),
- cause alimentaire (carence en vitamine A, mycotoxines, phytoestrogènes),
- origine iatrogène (corticoïdes, prostaglandines...)

IV.3. Diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de salmonellose ne pourra être établi qu'après confirmation par des examens de laboratoire.

IV.3.1. Prélèvements

Ils sont résumés dans le tableau (**Caron et Menard, 1997**).

Tableau 2: Les types de Prélèvements à effectuer pour le diagnostic de salmonellose.

Symptômes	Sur animal vivant	Sur cadavre
Septicémie	Sang, urine, fèces , lait	Sang, rate, foie , poumons, os long
Pneumonie	Sang, écouvillon nasal	Sang, rate , lésions pulmonaires
Entérite	Sang, fèces , lait	Contenu intestinal du grêle, ganglions mésentériques et hépatiques, intestin, foie
Avortement	Sang, écouvillon vaginal	idem entérite, utérus , ganglions rétromammaires, fœtus et enveloppes

(Les prélèvements de choix sont indiqués en **caractère gras**).

IV.3.2. Diagnostic bactériologique

Les micro-organismes pathogènes dans l'environnement ou bien dans les matières fécales sont généralement présents en petit nombre par rapport à une flore bactérienne nombreuse et variée. Donc pour isoler les bactéries l'analyse microbiologique nécessite quatre étapes :

Pré-enrichissement, enrichissement, isolement, identification, successives ce qui entraîne un temps de réponse relativement important :

IV.3.2.1. La première étape :

Consiste en une revivification grâce à la réalisation d'une suspension mère de pré-enrichissement, dans laquelle l'échantillon est généralement dilué au dixième (ex 50 g des fèces dans 225 ml de diluant). Le diluant est généralement constitué par de l'eau peptonnée tamponnée (EPT).

IV.3.2.2. La deuxième étape

Consiste en un enrichissement des salmonelles par l'utilisation de milieux dits « sélectifs », dont les formulations ont été spécialement mises au point pour favoriser la multiplication de celles-ci au détriment de la flore compétitrice.

Trois types de milieux d'enrichissement peuvent être utilisés :

- ✓ Müller-Kaufman tétrathionate (MKTT) à 42°C.
- ✓ Sélénite-cystine (SC) à 37°C.
- ✓ Rappaport-Vassiliadis (RV) à 42°C.

IV.3.2.3. La troisième étape :

Les méthodes prévoient ensuite un isolement, qui consiste en un étalement sur boîtes de pétri, contenant également des milieux sélectifs. Cela permet de visualiser les colonies caractéristiques, dont le nombre aura été considérablement augmenté durant les phases précédentes. Ces milieux doivent permettre au personnel de laboratoire une distinction facile entre salmonelles et non-salmonelles.

Une trentaine de milieux gélosés d'isolement sont proposés sur le marché et une dizaine seulement permettent une culture différentielle de *Salmonella*. Ces milieux empêchent l'envahissement de la surface gélosée par des *Proteus*, limitent le développement de la plupart des bactéries autres que les *Salmonella* (**Pardon et Sanchis, 1988**).

En santé animale, 4 géloses d'isolement sont proposées. Le tableau 3 présente les propriétés de ces milieux sélectifs (**Caron et Menard, 1997**).

Tableau 3: Milieux sélectifs proposés (Caron et Menard, 1997).

Milieux d'isolement sélectifs solide	Principe du milieu	utilisation	Aspect des colonies de Salmonella	Remarques
Milieu Salmonella Shigella (S. S.)	-Formation d'acide à partir du Lactose avec révélation du pH acide par virage du rouge neutre colorant en rouge les colonies fermentant le lactose. -La production d'hydrogène Sulfuré à partir de thiosulfate de Sodium qui, en présence de citrate Ferrique produit un précipité noir	37°C de 18 à 24 heures	Colonies beiges à centre noir pour les souches H₂S⁺	Certaines colonies de Proteus et de Citrobacter ont un aspect macroscopique identique.
Milieu de Rambach	- Formation d'acide à partir du propylène glycol pour la plupart des Salmonella - Révélation de la présence d'une β-galactosidase par un indicateur coloré pour les Proteus et les membres de la famille des Enterobacteriaceae autres que les Salmonella (couleur incolore, bleue à violette)	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies rouge Fuchsia (certaines Souches de Salmonella peuvent apparaître incolores)	Certaines souches de Citrobacterfreundii ont des colonies de couleur fuchsia.
Milieu SMID	- Formation d'acide à partir du glucuronate de sodium pour les Salmonella. - Révélation de la présence d'une β-galactosidase par un indicateur coloré pour les membres de la famille des Enterobacteriaceae qui possèdent cette enzyme.	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies roses (certaines colonies peuvent apparaître incolores, violacé) bleu	Certaines souches d'E. coli β galactosidase – du genre Morganella ou Shigella peuvent être de couleur rose.
Milieu XLT4	- Formation d'acide lors de l'utilisation des sucres contenus dans le milieu. - Décarboxylation de la lysine en cadavérine. - Production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium en présence de citrate ferrique ammoniacal.	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies jaunes rosées à rouges avec un centre noir (sans centre noir pour les Salmonella H ₂ S ⁻)	Milieu très sélectif vis-à-vis des souches de Salmonella Certaines souches de Citrobacter peuvent avoir le même aspect

IV.3.2.4. L' étape de confirmation

Elle suit l'isolement, consiste en la sélection d'une ou plusieurs colonies caractéristiques en vue de leur purification suite à l'identification biochimique et l'identification sérologique.

IV.3.2.4.1. Identification biochimique

Peut être effectuée grâce à des galeries en tubes ou des systèmes d'identification standardisés du type galerie API 20E, ID 32E ou RAPID ID 32E, avec l'utilisation éventuelle d'un automate de lecture optique des cupules.

IV.3.2.4.2. Identification sérologique

L'identification sérologique repose sur la recherche des antigènes Vi (somatiques d'enveloppe), O (somatiques) et H (flagellaires) des Salmonella et sur l'application du schéma de Kauffmann White. Elle est effectuée par des agglutinations sur lames avec les sérums appropriés à partir de souches bactériennes identifiées comme appartenant à Salmonella. La présence de deux sérovars différents sur un même prélèvement n'est pas rare.

IV.3.2.5. Nouvelles techniques de détection de Salmonella spp dans les matières fécales bovines (Méthodes de référence).

La norme **NF U 47-100 (juillet 2007)**: recherche par isolement et identification de tout sérovars ou sérovars (S) spécifié (S) de salmonelles dans l'environnement des productions animales.

Une des premières voies d'amélioration a résidé dans l'utilisation de milieux semi-solides, exploitant la propriété de mobilité de la plupart des salmonelles. De Smedt et collaborateurs (1986) ont montré une meilleure performance avec le milieu semi solide appelé «modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis» (MSRV) par rapport à un enrichissement classique avec le milieu tétrathionate.

Outre le fait de pouvoir disposer de résultats négatifs au bout de 48 h, le MSRV permet la détection d'un petit nombre de salmonelles présentes dans l'échantillon parmi une flore compétitrice importante (de l'ordre de 10 UFC2 / 25 g) (**De Smedt et Bolderdijk, 1987**)

L'ISO «International Standard Organisation» a proposé également la norme ISO 6579 destiné à mettre au point des méthodes applicables aux échantillons prélevés dans les exploitations.

Ce projet prévoit l'utilisation de MSR/V comme milieu d'enrichissement pour *Salmonella* (ISO 6579).

Récemment, une nouvelle formule a été proposée, dérivée du MSR/V ; il s'agit du Diasalm. Son efficacité a été plusieurs fois comparée par rapport au milieu classique RV, et la comparaison s'est révélée en faveur du Diasalm (Landman et al., 1996).

IV.3.3. Autres méthodes de diagnostic

Plusieurs méthodes alternatives à la culture ont été développées ou sont en développement pour la détection de salmonella.

IV.3.3.1. Méthodes immunologiques :

- **Radio ImmunoAssay, RIA :** Technique rarement utilisée en microbiologie alimentaire (Jay, 2005) car l'Ag est couplé à un isotope (¹²⁵I essentiellement) (Humber et Lahellec, 1991).
- **Immunofluorescence :** Un composé fluorescent tel que l'isothiocyanate de fluorescéine peut être fixé sur les anticorps anti-*Salmonella*. Lorsque les cellules bactériennes sont mises au contact de ces anticorps fluorescents, ces derniers se fixent sur la paroi ou les flagelles qui, à l'examen microscopique en UV, apparaissent fluorescentes (Cuq, 1993; Humber et Lahellec, 1991).
- **D'autre méthode sérologique :** Plusieurs méthodes sont évoquées pour la réalisation du diagnostic sérologique des infections salmonelliques (agglutination rapide sur lame, agglutination lente en tube ou en microplaque, ELISA). En ce qui concerne les espèces bovines et ovines, l'épreuve de séroagglutination lente est la méthode à laquelle on fait appel à la recherche des anticorps spécifiques des *Salmonelles* (Caron et al., 1997).

IV.3.3.2. Méthodes moléculaires :

- **Electrophorèse des protéines :** technique de séparation des protéines cellulaires (enzymes) selon le poids moléculaire et la charge électrique (Bouvet, 2002) ; ce qui reflète indirectement l'expression du génome. L'analyse des électrophorégrammes obtenus par des logiciels issus de la micro-informatique permet une identification précise (Cuq, 1993).

IV.3.3.3. Méthodes génotypiques :

- **Méthodes basées sur la restriction enzymatique ou REA** (Restriction Enzyme Analysis) :

L'ADN, essentiellement chromosomal, des souches recherchées subit une digestion par une endonucléase appropriée de restriction qui clive l'ADN en des séquences nucléotidiques spécifiques (8 ; les fragments produits sont séparés par électrophorèse en gel d'agarose ; le ribotypage (Restriction Fragment Length Polymorphisms, RFLP) et l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) constituent les deux plus importantes techniques (**Brisabois, 2001**).

- **Méthodes basées sur l'amplification ou PCR** (Polymérase Chaîne Reaction):

Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) (**Lan et Reeves, 2007**). Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) et l'hybridation ADN/ADN ou hybridation ADN/ARN ribosomaux sont des techniques rapides couplées à la PCR, largement utilisées pour la détection et l'identification des micro-organismes dans les aliments (**Jay, 2005**).

V. MESURES PROPHYLACTIQUES

V.1. Prophylaxie sanitaire

Lors d'un cas de salmonellose déclaré, des mesures, renforcées, garantissent une meilleure maîtrise de l'évolution de la maladie au sein de l'élevage et diminuent les risques de contagion au voisinage. (**Martel, 1985**) recommande de poursuivre l'isolement des malades et des convalescents pendant au moins deux semaines après la fin des cas cliniques.

V.1.1. Hygiène du logement

Il est tout d'abord nécessaire de séparer les différentes espèces présentes dans l'élevage et si possible, les animaux d'âge différents. Les volailles ainsi que les chiens et les chats ne doivent pas avoir accès au bâtiment d'élevage. Le sol doit être paillé et raclé régulièrement et suffisamment.

En présence de cas cliniques de salmonellose, des pédiluves seront placés aux endroits stratégiques. Il est apparu également que les élevages dépourvus de pédiluve pour les visiteurs étaient trois fois plus infectés que les autres (**Davidson et Sayers, 2005**).

Pour éviter la dissémination au sein de l'élevage, les bâtiments confinés sont à exclure, il est indispensable d'organiser une infirmerie séparée du reste de l'élevage et des boxes de vêlage **(Evans et Davies, 1996)**.

V.1.2. Hygiène de l'abreuvement

L'eau est un élément fréquemment suspecté comme source de contamination du troupeau.

Une analyse bactériologique de l'eau, au minimum annuelle, permet de s'assurer que l'eau mise à la disposition des animaux est exempte de germes de contamination fécale **(Martel, 1993)**.

Dans le cas où les animaux s'abreuvent à un ruisseau, il est nécessaire de vérifier l'absence de pollution en amont du point d'abreuvement par des effluents d'élevage, des stations d'épuration, d'industries agro-alimentaires, des écoulements issus de décharges de déchets organiques. L'accès à des mares difficiles à surveiller et représentant souvent de véritables milieux de survie et de multiplication des salmonelles doit être proscrit.

L'eau des abreuvoirs doit être propre : ces derniers doivent être disposés de manière à ne pas être souillés par les matières fécales.

V.1.3. Hygiène de l'alimentation

Afin de limiter une éventuelle origine alimentaire de contamination et de dissémination, il paraît judicieux de nettoyer l'auge, d'éviter les contaminations podales humaines par traversée des cornadis ou le désilages manuel du silo, de protéger les aliments des souillures des bovins, des rongeurs, des oiseaux... tant au niveau du stockage que de la distribution.

La résistance des salmonelles peut atteindre trente jours à un an au pâturage en fonction des conditions climatiques, de la concentration initiale en bactéries, de la présence de matières organiques. La maîtrise du risque de salmonelles au pâturage est liée à l'application de bonnes pratiques d'élevage notamment la gestion des effluents et la pratique de l'épandage **(Camart-Perie, 2006)**.

V.1.4. Hygiène du vêlage et de la traite

Une hygiène stricte de la traite doit être réalisée, étant donné que les trayons peuvent être souillés facilement par les déjections **(Vallet et Marly, 1995)**. Il convient de redoubler les efforts concernant la préparation de la mamelle, la détection de mammites et l'hygiène post-traite. En cas de contamination du troupeau, il convient d'avertir la laiterie et de déconseiller sa distribution aux veaux.

Que ce soit dans les élevages « sains » ou dans les élevages atteints de salmonellose, le vêlage correspond à une période à haut risque en termes d'excrétion salmonellique. De plus, le veau est très sensible à la contamination jusque l'âge de six semaines (**Martel, 1985**). Il faut donc recommander la réalisation du vêlage dans des locaux spécifiques et séparer les veaux de leur mère dès que possible dans la mesure où la prise de colostrum a été correctement assurée. En élevage laitier contaminé, le veau nouveau-né sera retiré à sa mère malade le plus rapidement possible et sera nourri avec du colostrum et du lait provenant d'une vache saine. En élevage allaitant, une surveillance accrue des veaux issus de mères excrétrices doit suppléer à l'impossibilité de séparer les animaux (**Camart-Perie, 2006**).

V.1.5. Maîtrise des déjections

Les déjections bovines représentent une des sources de contamination les plus importantes en cas de foyer de salmonellose (**Buret, 1997**). Le lieu de stockage doit être suffisamment étanche afin d'éviter de polluer l'environnement ou l'aliment. En cas de lisiers fortement contaminés, l'utilisation de cyanamide calcique (0,4% poids/volume) ou d'urée (0,6% poids/volume) permet de réduire expérimentalement la contamination mais il est conseillé de préférer l'exclusion des lisiers issus d'exploitations touchées par des cas de salmonellose (**Marly, 1995**).

Les circonstances d'épandage influent sur la dispersion et l'entraînement des salmonelles par ruissellement : faute d'enfouissement, il faut éviter le brassage, l'épandage par temps de pluie et prévenir d'éventuelles stagnations (**Camart-Perie, 2006**).

V.1.6. Maîtrise des facteurs de risque relatifs aux bovins

Les transitions alimentaires doivent être correctement réalisées et l'équilibre de la ration régulièrement vérifié. Toute perturbation digestive accroît le risque de prolifération d'une population potentiellement pathogène.

Il convient également de surveiller particulièrement certaines interventions propices à déclencher un stress qui favoriserait l'excrétion de salmonelles : transport, changement de pâture, vaccination... (**Morisse et Cotte, 1994**). Toute affection, quelle qu'elle soit, doit être prévenue ou traitée.

L'introduction de tout nouvel animal doit être précédée d'un isolement de quelques jours visant à s'assurer de son bon état général. Il est également souhaitable d'imposer cette quarantaine à l'ensemble des animaux après un transport (**Martel, 1985**). Le contrôle

bactériologique des nouveaux entrants pourrait être un moyen relativement efficace chez les adultes mais n'est pas mis en place sur le terrain. Que ce soit chez le veau ou chez l'adulte, ni la coproculture (les veaux sont souvent des excréteurs intermittents) ni les épreuves sérologiques ne paraissent suffisamment efficaces.

V.2. Prophylaxie médicale

Deux mesures sont actuellement employées en prophylaxie médicale dans les troupeaux présentant des cas de salmonelloses cliniques : la vaccination et la métaphylaxie à base d'un antibiotique.

V.2.1. Vaccination

Les vaccins tués (salmonelles entières ou extraits) sont connus depuis longtemps pour conférer une protection correcte chez l'animal de laboratoire, quoique de courte durée. Ils diminuent la colonisation intestinale, l'excrétion fécale et la dissémination systémique (**Mastroeni et al., 2001**). L'administration par voie parentérale de bactéries tuées conduit à une réponse humorale systémique. De plus, ce sont des vaccins faciles et rapides à produire et peu coûteux (**Wallis, 2001**). Par contre, trois grands problèmes se posent vis à vis de ce type de vaccins : les bactéries injectées ne portent que des antigènes générés *in vitro*, ils n'induisent pas de réponse de type cellulaire, importante surtout pour la protection à long terme (**Mastroeni et Menager, 2003**).

L'utilisation de souches atténuées permettrait de contourner ces difficultés car elles stimuleraient les réponses humorales et cellulaires (**Mastroeni et al., 2001**). Cependant, cette utilisation de souches pose un problème de santé publique : elles conservent une virulence résiduelle dangereuse pour l'hôte (surtout s'il est immunodéprimé) et la contamination de la chaîne alimentaire et donc de l'homme est possible (**Wallis, 2001**).

Desjouis et ses collaborateurs (1997) privilégient trois catégories d'animaux pour la vaccination : immunisation active des animaux devant être introduits dans un lot où a sévi la salmonellose sous forme clinique, immunisation passive des veaux viable colostrum par vaccination des mères, immunisation active des veaux issus de mères non vaccinées ou vaccinées (primovaccination alors effectuée à partir de la troisième semaine d'âge).

Il convient d'ajouter à la liste la vaccination des autres animaux susceptibles de déclencher la maladie à savoir les génisses et vaches gestantes dans le cadre d'une prévention contre une salmonellose post-vêlage.

V.2.2. Métaphylaxie

L'idée de traiter systématiquement l'ensemble du troupeau en présence de cas cliniques de salmonellose s'est développée ces dernières années. Les opinions concernant l'efficacité d'une telle pratique sont très variables : cette pratique serait plutôt à réserver dans les troupeaux laitiers où l'évolution est dramatique. De la colistine sera distribuée dans l'eau de boisson à raison de 150 000 UI/Kg toutes les 24 heures. En élevage allaitant, une métaphylaxie est rarement nécessaire pour les adultes (**Desjouis et al., 1997**).

PARTIE 2: PARTIE EXPERIMANATALE

I. MATERIELS ET METHODE

I.1. Objectifs

L'objectif de notre travail est de déterminer la prévalence des espèces de Salmonelles par isolement et identification biochimique à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région de Khenchela.

I.2. Échantillonnage

I.2.1. Lieux des prélèvements et plan d'échantillonnage

Nous avons réalisé nos prélèvements dans différentes régions de la wilaya de Khenchela. À partir de chaque ferme, des vaches ont été sélectionnées au hasard (malade ou en bonne santé, gestante ou non, de différents âge et race).

TABLEAU 04 : Nombre des vaches prélevé dans chaque ferme

N°de la ferme	Nombre des vaches dans la ferme	Nombre des vaches prélevé
01	12	10
02	07	06
03	06	06
04	35	10
05	04	04
06	05	05
07	09	09

I.2.2. Questionnaire épidémiologique

Un questionnaire épidémiologique a été remplie a partir des informations fournée par l'éleveur afin de déterminer s'il ya des signes cliniques observés au préalable ou durant les prélèvements.

Le questionnaire comporte des éléments en relation avec les fermes visitées (type de stabulation, type de production, nombre de bovins.....) et les animaux prélevés (**voir annexe I**).

I.2.3. Nature du prélèvement

Nous avons récolté 50 excréments (issus de différentes fermes de la région de kenchela. Ces prélèvements ont été obtenus à partir du rectum puis conservé dans des pots stériles d'une contenance de 100 ml.

Les prélèvements ont été conservés au frais dans une glacière afin de préserver au mieux la charge bactérienne initiale puis directement acheminés au laboratoire de Microbiologie de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach (ENSV).

I.3. Isolement et caractérisation des souches de *Salmonella* dans les matières fécales :

I.3.1. Matériel utilisé et Milieux de culture

Les milieux, les solutions, les tampons, les réactifs et le matériel utilisés sont détaillés en **annexe II**.

I.3.2. Méthodes d'identification

Pour l'isolement des salmonelles, nous avons utilisé une méthode de référence :

- Cette méthode repose sur l'application de la norme **NF U 47-100**. Cette technique est une méthode de recherche par isolement et identification de tout sérovar(s) spécifié (s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales. Cette méthode nécessite l'utilisation de deux milieux d'enrichissement sélectifs. Il s'agit du milieu semi solide de Rappaport-Vassiliadis (MSRV) et du milieu liquide bouillon au tétrathionate Müller – Kauffmann (MKTT). Par la suite, un ensemencement est effectué sur deux différents milieux sélectifs, l'un obligatoirement le milieu XLD et le second est au choix. (**Voir figure 1**)

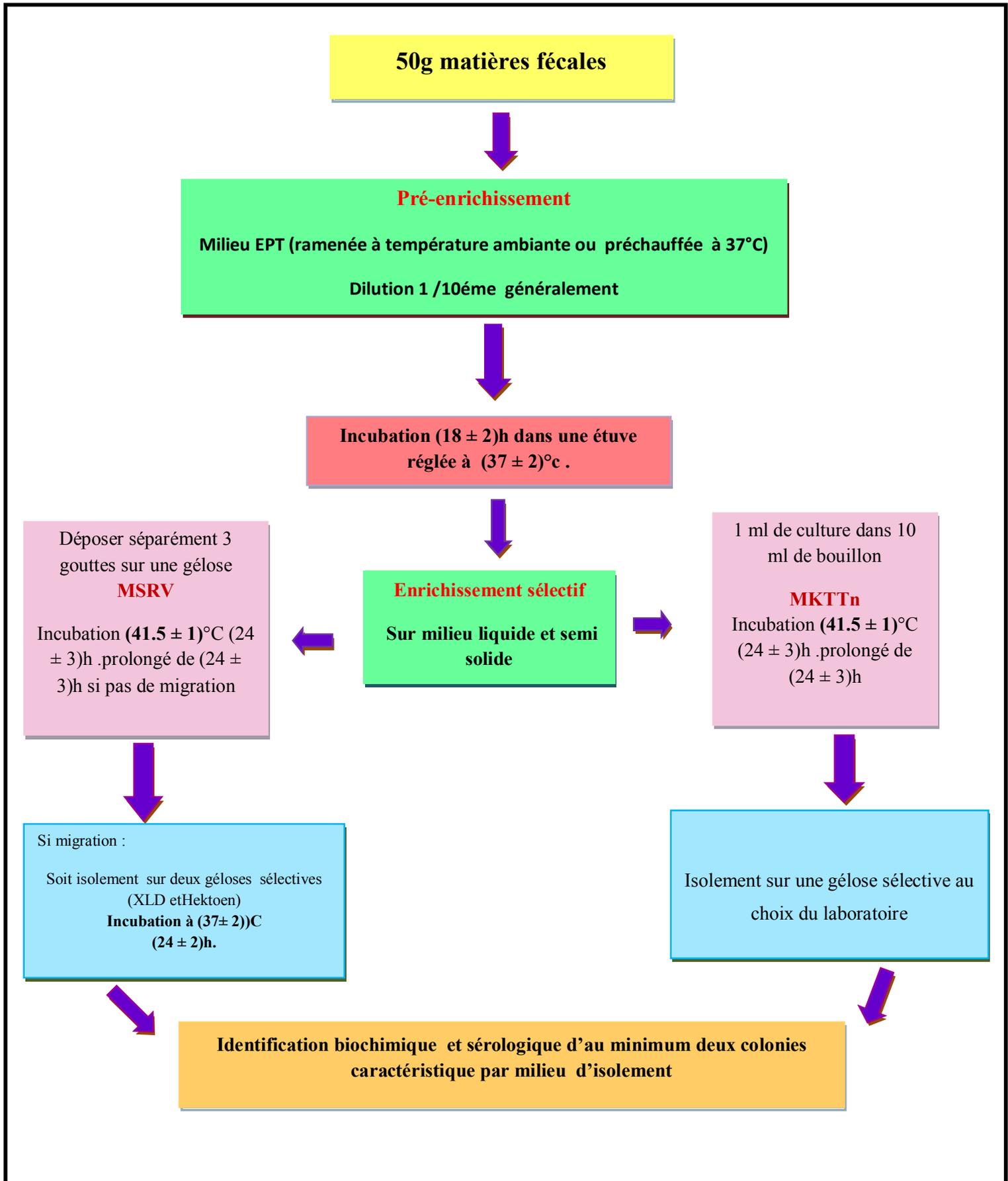


Figure 1 : Diagramme d'analyse selon la méthode de référence NF U 47-100

I.3.2.1. Méthode de Référence NF U 47-100 :

1) Pré-enrichissement en milieux non sélectifs liquides :

Cette étape est basée sur l'utilisation de milieu pré-enrichissement c'est le milieu eau peptonnée tamponnée (EPT).

2) Enrichissement en milieux sélectifs liquides et semi solides :

Cette étape permet la croissance et la sélection de bactéries du genre *Salmonella*. Deux milieux sont utilisés :

a) le milieu MSRV

Transférer trois gouttes (soit au total environ 0,1ml) du bouillon du pré-enrichissement puis les inoculer sur les boîtes de gélose semi solide du milieu msrv (modified semi-solid rapport-vassiliadis) (bio rad, france), le milieu est additionné d'une solution de novobiocine à 2% (2 ml de la novobiocine est rajoutée dans 1000 ml d'eau avant de couler les boîtes de pétri pour inhiber les cultures de bactéries gram positif (**voir figure 2**), les boîtes sont incubées à $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1$, pendant 24 h, couvercle en haut.

Les boîtes du milieu MSRV sont examinées après $24\text{h} \pm 3\text{h}$. Si la migration est supérieure à 20mm du point d'inoculation (**Voir figure 3**), un inoculum est prélevé à la périphérie de la zone de migration puis ensemencé sur le milieu Hektoen et le milieu XLD par une technique d'isolement appropriée.



Figure 2 : Préparation du milieu MSRV (photo personnelle).



Figure 3 : Zone de migration de *Salmonella* spp. sur milieu MSRV (photo personnelle).

b) Le milieu MKTT

On transfère 1ml du bouillon de pré-enrichissement dans un tube de 10 ml de Bouillon au tétrathionate Müller –Kauffmann (**MKTT**) puis incubé à $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1$, pendant $24 \text{ h} \pm 3\text{h}$.

3) Isolement

a) Isolement sur milieu MSRV

A partir de la culture obtenue en enrichissement, si une migration est observée sur la boîte de MSRV, un isolement est effectué sur deux milieux gélosés : le milieu **Hektoen (HK)** et le milieu **gélose xylose lysine désoxycholate(XLD)**.

Les boîtes de milieux gélosés ainsiensemencées seront incubées durant 24-48h dans une étuve réglée à 37°C , avec une première lecture après 18-24h.

- Le milieu sélectif XLD :

Les Salmonelles fermentent le xylose puis décarboxylase la lysine, ce qui alcalinise le milieu et donne des colonies caractéristique de salmonelles qui ont un centre noir. Ces colonies sont entourées d'un halo clair rouge transparent dû à un changement de couleur de l'indicateur de PH.

- Le milieu Hektoen HK :

Les caractéristiques de Salmonella sur la gélose Hektoen sont : colonies brillantes de couleurs bleus verdâtres à centre noire et de forme bombée.

b) Isolement sur le milieu le MKTTn

A partir de la culture obtenue en milieu MKTTn. Un isolement est effectué sur milieu gélosé, c'est le milieu Hektoen. Les boîtes de milieux gélosés ainsiensemencées, seront incubées durant 24-48h dans une étuve réglée à 37°C , avec une première lecture après 18-24h.

c) Purification sur gélose nutritive

Cinq colonies typiques de Salmonella sont prélevées à partir de chaque boîte de milieu sélectif (XLD et Hektoen) puis purifiées sur gélose nutritive (GN). Après incubation à 37°C pendant 18-24h. La confirmation des colonies suspectes a été réalisée à la fois sur gélose **TSI** ; et sur galerie **API 20E**.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

Le but de notre travail est de déterminer la prévalence des espèces de Salmonelles par isolement et identification biochimique à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région de Khenchela.

Chez les bovins, la salmonellose est une maladie zoonotique causée par plusieurs sérovars de *Salmonella enterica* pouvant causer des pertes économiques considérables.

L'homme s'infecte en consommant de la viande ou des sous-produits laitiers infectés qui seront à l'origine de graves problèmes de santé ou parfois entraînant même la mort.

Le but de notre travail est de déterminer la prévalence des espèces de Salmonelles par isolement et identification biochimique à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région de Khenchela.

Des échantillons de matières fécales de 50 vaches provenant de 07 fermes ont été analysés pour rechercher le germe *Salmonella* par une méthode de référence **NF U 47- 100 (Afnor, 2007)**.

L'utilisation de la technique de référence (**NF U 47-100**) a montré un taux de prévalence de **0%** sur un total de 50 vaches qui ont été prélevées.

Plusieurs études ont été effectuées dans différentes régions du monde utilisant aussi la culture bactérienne comme méthode de diagnostic pour rechercher les salmonelles dans les matières fécales des vaches afin d'étudier le portage et l'excrétion chez cette espèce animale. Les résultats obtenus sont très variés. Adésiny et collaborateurs, ont montré un résultat proche à celui obtenu dans notre étude, avec un taux d'excrétion de **0,9%** sur un nombre de prélèvement de 333 vaches laitières au cours d'une étude effectuée sur plusieurs entéropathogènes en Espagne (**Adésiny et al., 1996**). En Angleterre, un taux de **1,4%** a été obtenu au cours d'une étude effectuée en 2003, sur plusieurs espèces animales y compris les bovins (**Milnes et al ., 2009**).

En revanche toujours et afin de déterminer le statut des vaches laitières vis-à-vis des Salmonelles, d'autres enquêtes épidémiologiques réalisées en L'Algérie ont noté des résultats légèrement supérieurs. C'est le cas de l'étude effectuée par Hezil et collaborateurs dans la wilaya d'Alger qui ont montré un taux de 7,6% (**Hezil et al., 2014**). Aux États-Unis, une étude effectuée par Huston et collaborateurs (2002) a montré un résultat similaire à cette dernière étude avec un taux d'excrétion de 6% chez des vaches laitières et celui là a été constaté dans l'État d'Ohio des USA. Warnick et collaborateurs dans le Michigan, le Minnesota, le Wisconsin et l'état de New York ont rapporté un taux de 9,3% (**Warnick et al., 2003**). Callaway et collaborateurs ont trouvé un taux d'isolement de 9,96% sur un échantillon de 960 vaches (**Callaway et al., 2005**) et Kevin et collaborateurs ont montré une prévalence de 10,1% (558/5797 vaches) (**Kevin et al., 2010**). Les prévalences supérieures à celle obtenue dans notre étude peuvent s'expliquer par le nombre de prélèvement qui est beaucoup plus élevé dans les autres études ; par l'excrétion intermittente des salmonelles dans les matières fécales. La région peut aussi influencer la fréquence d'isolement d'une étude à une autre. Ou par des erreurs commises au laboratoire (contamination des milieux de culture, incubation, conservation et manipulation). En effet, plusieurs chercheurs ont confirmé cette hypothèse (**Gallaway et al., 2005**). À titre d'exemple, on estime que 27 à 31% des troupeaux laitiers à travers les États-Unis sont colonisés par des Salmonelles, l'une des plus graves bactéries pathogènes, responsable d'infections d'origine alimentaires aux États-Unis (**Gallaway et al., 2005**).

Une étude réalisée au Nouveau-Mexique et au Texas sur une période de deux années où 1560 matières fécales ont été prélevées et analysées, le taux de Salmonelles isolées a atteint 25,19% (393/1560) (**Edrington et al., 2004**).

Dans une étude effectuée au Burkina-Faso, Kagambèga et collaborateurs (2013) ont obtenu une prévalence de 52% sur un échantillon de 383 vaches. Ces résultats sont largement supérieurs aux nôtres, cependant, leur prévalence est à mettre en relation avec la méthode de diagnostic utilisée qui était la PCR. En effet, les méthodes moléculaires sont connues pour leur très grandes sensibilité et spécificité pouvant détecter le pathogène même dans des prélèvements faiblement contaminés .

III. CONCLUSION ET RECOMMANDATION

Cette étude est la deuxième investigation du statut bactériologique vis-à-vis de *Salmonella enterica* et bovins en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la Wilaya de Khenchela.

Dans ce travail, nous avons mené une étude sur 50 prélèvements des matières fécales.

Tous les résultats obtenus par analyse bactériologiques selon la méthode de référence NF U 47-100 se sont révélés totalement négatifs pour tous les échantillons étudiés (une prévalence de 0%).

• Recommandations

- Les bovins porteurs asymptomatiques peuvent également excréter des salmonelles
- Au-delà des pertes occasionnées par les salmonelloses en élevage et de leur influence sur l'hygiène et la santé publique, il serait nécessaire d'avoir une meilleure connaissance de l'incidence de cette maladie qu'elle soit animale ou humaine.
- Une surveillance constante à travers l'installation de nombreux réseaux de surveillance doit être mise en place pour suivre en permanence l'incidence des salmonelles et son évolution chez l'homme et dans les élevages bovins.

Références bibliographique

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR. Norme NF U47-100 Méthodes d'analyse en santé animale - Recherche par l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales. Paris, 2007.
- AMELIE CAMART-PERIE thèse(2006)SALMONELLA, SALMONELLOSES BOVINES : ETAT DES LIEUX, EPIDEMIOLOGIE EN France , page 89- 90 .
- ANDERSON M., BLANCHARD P. The clinical syndromes caused by *Salmonella* infection. *Vet. Med.*, 1989, 816-819.
- BERCHE, P., GAILLARD, J. L., SIMONET, M. (1988) bactériologie : les bactéries des infections humaines. Flammarion Edition, Paris, 1^è Edition. 2^è tirage. P. 78-91.
- BERTRAND, ROBERT BONHOMME (2003)thèse étude de la contamination des milieux internes de l'œuf par salmonella sérotypeEnteritidis , école national vétérinaire d' Alfort P 14.
- BRENNER, F. W., VILLAR, R. G., ANGULO, F. J., TAUXE, R., AND SWAMINATHAN, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol*38, 2465-2467.
- BRISABOIS A. Intérêts et limites des techniques de caractérisation des *Salmonella*, *Épidémiologie et Santé Animale*, 39, 2001, 31-42.
- BROWNLIE L.E. et F.H. GRAU. Effect of food intake on growth and survival of *Salmonellas* and *Escherichia coli* in the bovine rumen. *J Gen Microbiol*1967; 46:125-134.
- BURET Y, Conduite à tenir hors thérapeutique dans un élevage présentant une expression clinique de salmonellose, *Bull. GTV*, 1997, 2, 75-81.
- CALLAWAY T.R., KEEN J.E., EDRINGTON T.S., BAUMGARD L.H., SPICER L., FONDA E.S., GRISWOLD K.E., OVERTON T.R., VANAMBURGH M.E., ANDERSON R.C., GENOVESE K.J., POOLE T.L., HARVEY R.B. NISBET D.J. Fecal Prevalence and Diversity of *Salmonella* Species in Lactating Dairy Cattle in Four States. *J Dairy Sci.*, 2005, 88(10), p: 3603-3608.
- CAMART-PERIE A. SALMONELLA, SALMONELLOSES BOVINES : ETAT DES LIEUX, EPIDEMIOLOGIE EN France. Thèse en vue d'obtention du diplôme de docteur vétérinaire. ENV Alfort. 2006, 130p.
- CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY. (1998) Fiche technique santé. Sécurité. Agent infectieux. Ottawa (Canada): Canadian food inspection agency.
- CARBONELLE, B., DENIS, F., PINON, G., VARGUE, R. (1987) Bactériologie médicale techniques usuelles. SIMEP Edition, Paris 2^è tirage, p.62.128.
- CARON B, MENARD M-F, Les salmonelloses bovines: lésions et diagnostic de laboratoire, *Bull. GTV*, 1997, 2, 53-65.
- CHAMBERS P.G. ET R.J. LYSONS. The inhibitory effect of bovine rumen fluid on *Salmonella typhimurium*. *Res Vet Sci* 1979; 26(3):273-276.

- COLIN, M. (2002) *Salmonella* spp. Fiche microbiologique de l'AFSSA(en ligne). Maisson-Alfort : Agence française de sécurité Sanitaire des aliments. P 6.
- CONSTABLE P.D., T. WITTEK, A.F. AHMED, T.S. MARSHALL, I. SENET M. NOURI. Abomasal pH and emptying rate in the calf and dairy cow and the effect of commonly 113 administered therapeutic agents. Proceedings of the XXIV World Buiatrics Congress, Nice, France. 2006. Available at <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/constable.pdf?LA=1>
- CUQ J. L. « Les méthodes modernes d'analyse rapide en microbiologie alimentaire agro-alimentaire », Le point international, Centre de veille international de l'agro-alimentaire, 1993, 76p.
- DANIELS EK, WOOLLEN NE, FRYDA-BRADLEY SJ, KEEN J, *Salmonella* viability in frozen bovine feces, 1993, *Bov. Pract.*, 27, 166-167.
- DAVIDSON H.C., SAYERS A.R. *Salmonella* on dairy farms in England and Wales : risk factors associated with the *Salmonella* status of farms, *Indian Journal of Medicine and Microbiology*, 2005, 23, 204-205.
- DAVIDSON HC, SMITH RP, PASCOE SJS, DAVIES RH, WEAVER JP, KIDD SA, EVANS SJ, *Salmonella* on dairyfarms in England and Wales:prevalence, incidence and geographical distribution of differentserovars, *Vet. Record*, 2005, 157(22), 703-711.
- DE SMEDT J.M., BOLDERDIJK R.F., RAPPOLD H.F., LAUTENSCHLAEGER D. Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on a Modified Semi-solide Rappaport-Vassiliadis medium, *J. Food Prot.*, 1986, 49, p : 510-514.
- DESJOUIS G, SPENNICK H, MARTEL JL, Diagnostic et traitement des salmonelloses cliniques des bovins, *Bull. GTV*, 1997, 2, 67-72.
- EDRINGTON T.S., SCHULTZ C.L., BISCHOFF K.M., CALLAWAY T.R., LOOPER M.L., GENOVESE K.J., JUNG Y.S., MCREYNOLDS J.L., ANDERSON R.C., NISBET D.J. Antimicrobial resistance and serotype prevalence of *Salmonella* isolated from dairy cattle in the southwestern United States. *Microb Drug Resist.* 2004, 10(1), p: 51-6.
- EVANS S, DAVIS R, Case control study of multiple-resistant *Salmonella* typhimurium DT104 infection of cattle in Great Britain, *Vet. Record*, 1996, 139, (23), 557-558.
- FOLEY GL, SCHLAFER DH, Bacterialendotoxemia and reproductive effects in ruminants, *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.*, 1994, 10(3), 491-501.
- GITTER M., C. WRAY, C. RICHARDSON ET R.T. PEPPER. Chronic *Salmonella* *Dublin* infection in calves. *Br Vet J* 1978; 134(2):113-121.
- GUIRAUD, J.P. (1998) Microbiologie alimentaire. DUNOD Edition, Paris, 2è Edition.

- Hall G.A., P.W. Jones, K.R. Parsons, N. Chanter et M.M. Aitken. Studies of the virulence of *Salmonella Dublin* in experimental infections of cattle and rats. *Br Vet J* 1979; 135(3):243-248.
- HEZIL DJ. GHALMI F. BENSEGHIR.H; Étude de la prévalence de *Salmonella enterica* et de *Salmonella enterica* serovar Dublin chez les bovins de la région d'Alger par des méthodes bactériologiques et immunologiques ; thèse de magister Ecole Nationale Supérieur Vétérinaire ; 2014.
- HINTON M. *Salmonella* Dublin abortion in cattle: studies on the clinical aspects of the condition. *Br. Vet. J* 1974; **130**: 556-63.
- HOUSE J.K., B.P. SMITH, G.W. DILLINGET L.D. Roden. Enzyme-linked immunosorbent assay for serologic detection of *Salmonella Dublin* carriers on a large dairy. *Am J Vet Res* 1993; 54(9):1391-1399.
- HOUSE, J.K. ET B.P. SMITH. Profitable Strategies to Control Salmonellosis in Dairy Cattle. Proceedings of the 23rd World Buiatrics Congress, Québec, Canada. 2004. Available at <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2004/WBC2004-Housesimple.pdf>
- HUMBERT F., LAHELLEC C. «Applications microbiologiques de l'immunologie » In « Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires : Le contrôle microbiologique » (Bourgeois. C. M., Leveau. J. Y.), Éditions Lavoisier - Tec & Doc, Paris, 1991, 454, 82-91.
- ISO (International Standard Organization) Amendment to ISO 6579: 2002, Annex D (Normative), "Detection of *Salmonella* spp." In "animal faeces and in samples of the primary production stage", Working document, (25 October 2004).
- JAY J.M., LOESSNER M.J., GOLDEN D.A. Modern Food Microbiology, Seventh Edition, Food Science Text Series, Springer Edition, USA, 2005, 790p.
- KAGAMBÈGA A., LIENEMANN T., AULU L., TRAORÉ A.S., BARRO N., SIITONEN A., HAUKKA K. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. *BMC Microbiol.* 2013, 13-253.
- KHASCHABI D., LIESEGANG A., PRAGER R., GLAWISCHNIG W., TSCHÄPE H. *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Serovar Dublin. *Wien Tierärztl Mschr* 2002; **89**: 58-62.
- LAN R., REEVES, P.R. "Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis of *Salmonella enteric*" In " Methods in molecular biology, vol. 394, *Salmonella: Methods and protocols*" (Schatten, H., Eisenstark, A.), Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, 2007, 363, 119-132.

- LANDMAN W., HARTMAN E., DOORNENBAL P. “Salmonella-isola tieuit pluimveemonsters: verge lijking diagnostic semi-solid salmonella (Diasalm) en rappaport Vassiliadis bouillon (RV) Detection of Salmonella spp.” In “poultry samples: Comparison between Diagnostic Semisolid Agar (Diasalm) and Rappaport Vassiliadis broth (RV)”, De Ware(n)-Chemicus”, 1996, 26, 234-237.
- LAVAL A, Aspects actuels de la salmonellose bovine, *Point Vet.*, 1981, 54, 61-63.
- LAX AJ, BARROW PA, JONES PW, WALLIS TS, Current perspectives in salmonellosis, *Br. Vet. J.*, 1995, 151, 351-377.
- LE MINOR, L., VERON, M. (1989) Bactériologie médicale. Les entérobactéries : *Salmonella*. Flammarion. Médecine. Sciences Edition, Paris, 2è Edition. p. 411-427.
- MARLY J, Evolution et maîtrise des contaminations des lisiers bovins par les salmonelles, *Renc. Rech. Ruminants*, 1995, 2, 307-310.
- MARTEL J-L, Bactériologie et épidémiologie des salmonelloses bovines en France, *Bull. GTV*, 1997, 2, 17-23
- MARTEL J-L, Forme respiratoire des salmonelloses bovines, *Rec. Med. Vet.*, 1985, 161, 1153-1156.
- MARTEL J-L, L'infection salmonellique des bovins, *Epidemiol. Sant. Anim.*, 1985, 7, 71-80.
- MARTEL J-L, Les salmonelles agents pathogènes des bovins : diagnostic, traitement, prophylaxie, *Point Vet.*, 1993, 25, 93-99.
- MARTEL J-L, Les salmonelloses chez les ruminants, *Point Vet*, 2001, 221, 30-34.
- MARTEL J-L, PARDON P, Les avortements salmonelliques des bovins, *Bull. GTV*, 1980, 2, 57-64.
- MARTEL J-L, Prophylaxie sanitaire de la salmonellose bovine : action sur les animaux, *Epidemiol. Sante Anim.*, 1985, 7, 93-104.
- MARTEL J-L, SAVEY M, Salmonellose des ruminants et santé humaine, *Point Vet.*, 1992, 145, 13-18.
- MASTROENI P, CHABALGOITY JA, DUNSTAN SJ, MASKELL DJ, DOUGAN G, *Salmonella*: immune responses and vaccines, *Vet. J.*, 2001, 161(2), 132-164.
- MASTROENI P, MENAGER N, Development of acquired immunity to *Salmonella*, *J. Med. Microbiol.*, 2003, 52, 453-459.
- MILLEMANN Y, EVANS S, COOK A, SISCHO B, CHAZEL M, BURET Y, Salmonellosis, In: *Infectious and parasitic disease of livestock*, Lavoisier, Paris, sous presse.

- MILLER S.-I., PEGUES D.-A. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. pp. 2344-63.
- MILNES A.S., SAYERS A.R., STEWART I., CLIFTON-HADLEY F.A., DAVIES R.H., NEWELL D.G., COOK A.J., EVANS S.J., SMITH R.P., PAIBA G.A. Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic *E. coli*, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in cattle, sheep and pigs at slaughter. *Epidemiol Infect.* 2009, 137(8), 1135-1148.
- MORISSE JP, COTTE J-P, Evaluation of some risk factors in bovine salmonellosis, *Vet. Res.*, 1994, 25, 185-191.
- NATARO J.P., BOPP C.A., FIELDS P.I., KAPER J.B., STROCKBINE N.A. *Escherichia*, *Shigella* and *salmonella*. In : Murray P.R.; E.J Baron, J.H. Jorgensen et coll.; eds. Manual of clinical microbiology. 9 th ed. Washington: ASM Press, 2007, 670-687.
- PARDON P., SANCHIS R. Les salmonelloses. In : FASSI-FEHRI, M. Les maladies infectieuses du mouton. Tome I. Actes Editions. 1988, 162-194.
- PETERS, A.R. An Estimation of the Economic-Impact of An Outbreak of *Salmonella*-PETRIE L. Diagnostic Différentiel de la diarrhée chez les bovins adultes. *Point vét.* 1985, 23, 69-77
- PLYM-FORSHELL L, EKESBO I, Survival of *Salmonella* in composted and not composted solid animal manures, *J. Vet. Med. B.*, 1993, 40, 654-658.
- POPOFF, M.Y., BOCKEMUHL, J. AND GHEESLING, L.L. (2004). Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* 155, 568-570.
- RADOSTITS O.M., C.C. GAY, K.W. HINCHCLIFFET P.D. CONSTABLE. *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed. New York:Elsevier Saunders, 2007.
- RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW, Diseases caused by *Salmonella* spp., In: *Veterinary Medicine, a textbook for the disease of cattle, sheep, pigs, goats and horses*, 9 th edition. WB Saunders, London, 2000, 809-826
- REEVES, M.W., EVINS, G.M., HEIBA, A.A., PLIKAYTIS, B.D. AND FARMER, J.J., 3rd (1989). Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other *Salmonellae* as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *J Clin Microbiol* 27, 313-320.
- Rings D.M. Salmonellosis in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1985; 1(3), 529-539

- SANTOS R.L., S. ZHANG, R.M. TSOLIS, R.A. KINGSLEY, L.G. ADAMS ET A.J. BAUMLER. Animal models of *Salmonella* infections: enteritis versus typhoid fever. *Microbes Infect* 2001; 3(14-15):1335-1344
- SEBASTIEN SABBAGH .,(2013)these Identification et caractérisation de gènes chez *Salmonella enterica* sérovar Typhi impliqués dans l'interaction avec les macrophages humains,54 .
- SMITH B.P. Salmonellosis in ruminants. In: Smith BP, ed. *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2002; pp.775-779.
- SMITH B.P., D.G. Oliver, P. Singh, G. Dilling, P.A. Martin, B.P. Ram, L.S. Jang, N. Sharkov et J.S. Orsborn. Detection of *Salmonella dublin* mammary gland infection in carrier cows, using an enzyme-linked immunosorbent assay for antibody in milk or serum. *Am J Vet Res* 1989; 50(8):1352-1360.
- SMITH B.P., F. Habasha, M. Reina-Guerra et A.J. Hardy. Bovine salmonellosis: experimental production and characterization of the disease in calves, using oral challenge with *Salmonella typhimurium*. *Am J Vet Res* 1979; 40(11):1510-1513.
- TINDALL, B. J., Grimont, P. A., Garrity, G. M., and Euzéby, J. P. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *Int J SystEvolMicrobiol* 55, 521-524.
- TORTORA, G. J., Funke, B.R ., Martin, L. (2003) Introduction à la microbiologie. RENOUVEAU REDAGOGIQUE Edition, Paris
- TSOLIS R.M., L.G. Adams, T.A. Ficht et A.J. Baumler. Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infect Immun* 1999;67(9):4879-4885.
- VAILLANT V., HAEGHEBAERT S., DESENCLOS J.-C., BOUVET P., GRIMONT F., GRIMONT P.-A., BURNENS A.-P.. Outbreak of *Salmonella Dublin* infection in France, November-December 1995. *Eurosurveillance* 1996; 1:1-3
- VALLET A, MARLY J, Evolution et maîtrise des contaminations des lisiers bovins par les salmonelles. Journées Renc. Rech. Ruminants – INRA, institut de l'élevage, 1995.
- VALLET A, MARLY J, Prévention du risque salmonellose: maîtrise des effluents contenant des déjections bovines, *Bull. GTV*, 1997, 2, 81-90.
- WALLIS TS, *Salmonella* pathogenesis and immunity: we need effective multivalent vaccines, *Vet. J.*, 2001, 161(2), 104-106.
- WARNICK L.D., KANEENE J.B., RUEGG P.L., WELLS S.J., FOSSLER C., HALBERT L. ET CAMPBELL A. Evaluation of herd sampling for *Salmonella* isolation on midwest and northeast US dairy farms. *Prev Vet Med.*, 2003, 60(3), p: 195-206.

- WRAY C, SOJKA WJ, Reviews of the progress of dairyscience: bovine salmonellosis, *J. Dairy, Res.*, 1977, 44(2), 383-425.
- WRAY C. et R.H. Davies. *Salmonella* Infections in Cattle. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp.169-190.
- WRAY C. et W.J. Sojka. Experimental *Salmonella typhimurium* infection in calves. *ResVetSci*1978; 25(2):139-143.
- ZHANG S., R.A. Kingsley, R.L. Santos, H. Andrews-Polymeris, M. Raffatellu, J.Figueiredo, J. Nunes, R.M. Tsolis, L.G. Adams et A.J. Baumler. Molecular pathogenesis of *Salmonella enteric* serotype typhimurium-induced diarrhea. *Infect Immun* 2003; 71(1):1-12.

Annexes

ANNEXE I

Questionnaire épidémiologie

Questionnaire à l'intention des éleveurs

Date :

Wilaya :

Commune :

N° de la ferme :

Nom d'éleveur:..... Adresse.....

N° tél :

Nom du vétérinaire traitant adresse :

Espace :

Bovin Ovin Caprin

• Type d'exploitation :

Laitière Viandeuse Mixte

• Type d'élevage :

Extensif Semi-extensif Intensif

• Type d'alimentation ?

• Condition de stockage des aliments ?

• Alimentation propres de toute matière fécale ?

Oui Non

• L'hygiène

Bonne Moyen Mauvais

• Origine de l'eau de boisson :

Réseau Reserve en surface Puits ou forages

Fiche de renseignement sur la vache prélevée

Effectif total des vaches.....

Nombre des vaches prélevées.....

1. Identification de l'animal :

Numéro d'identification Race.....

Sexe.....Age.....

• Origine :

Né a la ferme Importé Acheté

• BCS :..... T° rectale.....

• Gestante ?

Oui Non

• Si gestante :

Primipare Multipare

• Avortement :

A déjà avorté Jamais avorté

• Stade de gestation où a eu avortement :

Entre 1-3 mois.

Entre 3-6 mois.

Entre 6-9 mois.

• A l'avortement y ' a eu rétention placentaire :

Oui Non

• A la mise bas :

Vélage normale Dystocie Métrite

• Le veau né :

Normale immature Autre (précisé).

2. Symptômes présents au moment du prélèvement :

- Hyperthermie Abattement Anorexie
 Baisse de la production laitière mammites
 Problème digestive Autre Aucun

- S'il y a des problèmes digestifs :

- Nature des matières fécales :

- Molles diarrhée

- Si diarrhée :

- Liquide mucoïde liquide mucoïde+ sang Liquide profuse
 Liquide sanglante liquide huileuse.

- L'animal -a- elle eu des antécédent pathologies ?

- Oui Non

- Si oui : lesquels ?.....

Traitements:.....

- Pathologie actuelle ?

Traitements

ANNEXE II

Matériel d'analyses microbiologiques, milieux de culture, additifs et réactifs

Matériel :

- Balance électronique
- Becs Bunsen
- Flacons stériles
- Pipettes Pasteur
- Agitateur à tubes ou Vortex
- Portoirs
- Incubateurs réglés à 37°C, 42°C
- Anse de platine
- Boîtes de Pétri
- Réfrigérateur
- Micropipettes

Milieux de culture, additifs et réactifs

- Eau physiologique.
- Eau distillée stérile.
- Eau péptonée tamponnée
- Gélose XLD.
- Bouillon KMTT
- Milieu semi solide MSRV

Quelques compositions des milieux

Eau peptonnée tamponnée

Peptone de viande ou de caséine	1	g
Clorure de sodium	4,3	g
Phosphate iodique	7,2	g
Phosphate monopotassique	3,5	g
Eau disillée stérile	1000	ml

Gélose XLD

Extrait autolytique de levure	3	g
L-Lysine	5	g
Lactose	7,5	g
Saccharose	7,5	g
Xylose	3,5	g
Désoxycholate de sodium	2,5	g
Chlorure de sodium	5	g
Thiosulfate de sodium	6,8	g
Citrate ferrique ammoniacal	0,8	g
Rouge de phénol	80	mg
Agar agar bactériologique	13,5	g

Gélose Hektoen

Peptone pepsique de viande	12	g
Extrait autolytique de levure	3	g
Lactose	12	g
Saccharose	12	g
Salicine	2	g
Sels biliaires	9	g
Chlorure de sodium	5	g
Thiosulfate de sodium	5	g
Citrate ferrique ammoniacal	1,5	g
Bleu de bromothymol	65	mg
Fuchsine acide	40	mg
Agar agr bactériologique	13,5	g

Gélose nutritive

Tryptone	5	g
Extrait de viande	1	g
Extrait de levure	2	g
Chlorure de sodium	5	g
Agar agar bactériologique	12	g

Bouillon au tétrathionate (Müler-Kauffmann)

Extrait de viande	4,3	g
Digestat enzymatique de caséine	8,6	g
Chlorure de sodium	2,6	g
Carbonate de calcium	38,7	g
Thiosulfate de sodium pentahydraté	47,8	g
Sels biliaires vert brillant	4,78	g
	9,6	mg
Eau	1000	ml

Annexe III

Tableau: Prévalence de *Salmonella*.spp dans les matières fécales des bovins (personnelle).

Animal	Pays	La méthode utilisée	Nombre de prélèvements (Matières Fécales)	Prévalence <i>salmonella</i> .spp	Références
Bovine	USA (Californie)	Culture	/	16%	Pacer et al., 1989
Vache	Espagne	Culture	333	0,9%	Adésiny et al., 1996
Vache	USA	Culture	/	5,4%	Wells et al., 2001
Vache	USA	Culture	/	6%	Huston et al., 2002
Vache	USA	Culture	4049	9,3%	Warnick et al., 2003
Vache	USA	Culture	/	4,8%	Fosseler et al., 2004
Bovine	USA	Culture	1560	393 (25,19 %)	Edrington et al., 2004
Vache	USA	Culture	960	93 (9.96 %)	Callaway et al., 2005
Vache	Angleterre	Culture	/	1,4%	Milnes et al., 2009
Vache	USA	culture	5795	588 (10,1%)	Cummings et al., 2010
Vache	Burkina-Faso	PCR	304	52%	Kagambèga et al., 2013
Vache	Algérie	culture	184	7.6%	Hezil et al ., 2014