

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الربيع بوشامة
الجزائر



Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire – Rabie Bouchama, Alger

THESE

"Salmonella spp. chez les ovins et bovins dans les abattoirs d'Alger : prévalence, caractérisation phénotypique et génotypique des souches isolées"

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-sciences
en Sciences Vétérinaires**

Par :

Dr. Siham NOUICHI

Soutenue le: **13/01/2021**

Devant le Jury composé de:

Président	Karima Thamina BOUKHORS	Professeur	ESNV- Alger
Directeur de thèse	Taha Mossadak HAMDI	Professeur	ESNV- Alger
Examineur	Rachid ELGROUD	Professeur	U. Mentouri- Constantine 1
Examineur	Abderrahmane HOUICHER	Professeur	U. Amar Télidji- Laghouat
Examineur	Leila BOUAYAD	MCA	ESNV- Alger
Examineur	Abdelkader BENSID	MCA	U. Ziane Achour- Djelfa

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الربيع بوشامة
الجزائر



Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire – Rabie Bouchama, Alger

THESE

"Salmonella spp. chez les ovins et bovins dans les abattoirs d'Alger : prévalence, caractérisation phénotypique et génotypique des souches isolées"

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-sciences
en Sciences Vétérinaires**

Par :

Dr. Siham NOUICHI

Soutenue le: **13/01/2021**

Devant le Jury composé de:

Président	Karima Thamina BOUKHORS	Professeur	ESNV- Alger
Directeur de thèse	Taha Mossadak HAMDI	Professeur	ESNV- Alger
Examineur	Rachid ELGROUD	Professeur	U. Mentouri- Constantine 1
Examineur	Abderrahmane HOUICHER	Professeur	U. Amar Télidji- Laghouat
Examineur	Leila BOUAYAD	MCA	ESNV- Alger
Examineur	Abdelkader BENSID	MCA	U. Ziane Achour- Djelfa

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je dois remercier « **ALLAH** » le tout puissant de m'avoir donné le courage ainsi que la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier particulièrement mon Directeur de thèse, le Professeur **Taha Mossadak Hamdi**, pour son aide, sa patience, sa disponibilité, ainsi que ses encouragements, tout en me laissant beaucoup d'autonomie, et je le remercie pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée.

Je tiens tout particulièrement à remercier les membres du jury :

- Professeur **Boukhors Karima Thamina** qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse. Hommage respectueux.
- Les Professeurs **Elgroud Rachid** et **Houicher Abderrahmane**, ainsi que les Docteurs **Bouayad Leila** et **Bensid Abdelkader** qui m'ont fait l'honneur et le privilège de juger mes travaux et participer au jury de notre thèse.

Mes remerciements vont également au Professeur **Ouar Mounira** Chef du laboratoire des Entérobactéries et autres bactéries apparentées à l'Institut Pasteur d'Algérie et Mme **Belkader Chafika**, pour leur coopération manifestée durant la réalisation de ce projet.

Je tiens à remercier vivement le professeur **Lieven De Zutter** de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Gand, Belgique, de m'avoir accueilli dans son laboratoire, conseillé, soutenu et offert les conditions à la réalisation de ce travail. Il est de même pour toute l'équipe du laboratoire (**Sandra Vangeenberghe**, **Martine Boonnaert**, **Carine Van Lancker** et **Jeroen Vandenheuvel**), sans oublier **Sophie Bertrand** de l'Institut Scientifique de Santé Publique (ISP) de Belgique et **Christian Vinueza** de l'Equateur pour leur aide précieuse.

La réussite de ce travail ne saurait être possible sans le grand apport du Professeur **Mehmet Elmali** et Docteur **Hayrye Yesim Can** de la Faculté de Médecine Vétérinaire, Université Mustefa Kemal, Hatay, Turquie. Je les remercie de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce projet au sein de leurs équipes, en m'offrant toutes les conditions, pour leurs conseils précieux et leurs orientations scientifiques.

Je tiens à adresser mes vifs remerciements au Professeur **Ibrahim Kurtul**, Doyen de la Faculté Vétérinaire de Hatay qui m'a accueillie comme doctorante et m'a offert les meilleures des conditions.

Je souhaite remercier toutes les personnes qui ont rendu mon séjour à Hatay, Turquie, plus agréable: Docteur **Yasar Ergun** et son épouse **Nuray, Fayza, Lutfi, Berna**, ainsi que le Docteur **Aziz** et son épouse **Yasimine**.

A la mémoire du Docteur **Zafer Cantekin**, un nom dont les étudiants et tous ceux qui ont travaillé avec lui vont se rappeler pour le reste de leurs vies. Sa bonté et sa sagesse resteront gravées dans ma mémoire. J'aurais tant voulu qu'il assiste à l'aboutissement de ce long parcours mais Dieu en a décidé autrement. Merci est un mot trop banal pour lui exprimer mon respect et ma gratitude. Que Dieu ait son âme et l'accueille dans son vaste paradis.

Un merci tout particulier à Mr **Salhi Abderrezak** docteur vétérinaire exerçant à titre privé à la commune d'Oued El Athmania (W. de Mila), et à Mme **Zenia Safia** de l'ENSV d'Alger pour la précieuse aide qu'ils m'ont apportée.

Mes remerciements vont également à tous les vétérinaires et le personnel des abattoirs d'El-Harrach et ceux d'Hussein-Dey, ainsi qu'à tous ceux et celles qui m'ont aidée et encouragée de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail. Il me serait difficile de les citer tous. Qu'ils trouvent ici, l'expression de ma reconnaissance.

DÉDICACES

Je dédie ce modeste travail :

A Mes parents :

***Ma Mère**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

***Mon père**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mes sentiments les plus forts, mon profond respect et ma plus grande gratitude. Que Dieu vous bénisse et vous prête bonne santé et longue vie.

*A mes frères **Sofiane, Adem, Souleimane et Salah Eddine***

*A mes sœurs **Amina, Asma, et Aicha***

*A mes belles- sœurs **Fatima et Sara***

*A mes nièces **Tasnim, Ayat Errahmene, et Nour Elyakine***

*A mes neveux **Mohamed Iyad, Abderrahmene et Anas- Nouh***

*A ma grand-mère, mes oncles et tantes surtout **Farida « Hamida »** à qui je dédie ce travail en réponse à l'affection qu'elle a toujours eu à mon égard.*

*A toutes mes amies **Lynda, Hayet, Souhila, Faiza, Farida, Saléha et Ratiba.***

A mes collègues de l'ENSV d'Alger et du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, Mila.

A toutes les personnes qui me sont chères.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
REMERCIEMENTS.....	ii
DÉDICACES.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
ملخص.....	xv
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Généralités sur le genre <i>Salmonella</i>	4
1.1.Historique.....	4
1.2.Taxonomie et nomenclature.....	4
1.3.Caractéristiques biologiques.....	7
1.3.1. Caractères généraux.....	7
1.3.2. Caractères biochimiques.....	7
1.3.3. Caractères antigéniques.....	9
1.3.3.1.Antigènes somatiques O.....	9
1.3.3.2.Antigènes flagellaires H.....	10
1.3.3.3.Antigènes d'enveloppe (antigènes capsulaires Vi).....	10
1.3.4. Caractères culturaux.....	11
1.4.Schéma de Kauffmann-White : classification des sérovars.....	13
1.5.Habitat, réservoir et mode de transmission.....	14
2. Pathologies associées à <i>Salmonella</i>	15
2.1.Salmonelloses humaines.....	15
2.1.1. Fièvre entérique.....	15
2.1.1.1.Incidence et répartition.....	15
2.1.1.2.Modes de transmission.....	16
2.1.1.3.Étude clinique.....	16
2.1.2. Gastro-entérites et TIAC à <i>Salmonella</i>	17
2.1.2.1.Incidence et répartition.....	17
2.1.2.2.Sérovars incriminés.....	19
2.1.2.3.Transmission et facteurs de risque.....	21
2.1.2.4.Étude clinique.....	22
2.2.Salmonelloses animales.....	23
2.2.1. Salmonelloses bovines.....	25
2.2.2. Salmonelloses ovines.....	26
2.2.3. Salmonelloses aviaires.....	26

3. Pouvoir pathogène.....	27
3.1.Pathogénie.....	28
3.2.Facteurs de virulence chez <i>Salmonella</i>	31
3.2.1. <i>Salmonella</i> Pathogenicity Islands (SPI).....	32
3.2.2. Fimbriae ou pili.....	35
3.2.3. Flagelles.....	36
3.2.4. Lipopolysaccharides (LPS).....	36
3.2.5. Plasmides de virulence	37
3.2.6. Antigène Capsulaire (Vi).....	38
4. Méthodes de détection et de caractérisation des salmonelles	38
4.1.Méthodes conventionnelles.....	39
4.1.1. Norme ISO 6579.....	40
4.1.2. Norme AFNOR V08-052	40
4.2.Méthodes altératives et complémentaires	41
4.2.1. Méthodes phénotypiques	41
4.2.1.1.Biotypie.....	41
4.2.1.2.Sérotypage par la méthode d'agglutination sur lame.....	41
4.2.1.3.Antibiotypie.....	42
4.2.1.4.Lysotypie.....	42
4.2.2. Méthodes immunologiques et moléculaires.....	43
4.2.2.1.Méthodes immunologiques.....	43
4.2.2.2.PCR (Polymerase Chain Reaction).....	44
4.2.2.3.PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis).....	46
4.2.2.4.MLST (Multi Locus Sequence Typing).....	47
4.2.2.5.MLVA (Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis).....	48
5. Résistance aux antibiotiques dans le genre <i>Salmonella</i>	49
5.1.Résistance aux aminosides	52
5.2.Résistance aux quinolones / fluoroquinolones.....	53
5.3.Résistance aux bêta-lactamines.....	54
5.4.Résistance aux tétracyclines.....	55
5.5.Résistance aux sulfamides (sulfonamides et triméthoprim).....	55
5.6.Résistance aux phénicolés	56

ETUDE EXPÉRIMENTALE

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	57
2. MATERIEL ET METHODES.....	58
2.1.Matériel.....	59
2.1.1. Matériel utilisé.....	59
2.1.2. Echantillonnage	59
2.2.Méthodes.....	62
2.2.1. Méthode de prélèvement.....	62
2.2.2. Méthodes d'analyses.....	63
2.2.2.1.Méthode bactériologique.....	63
2.2.2.2.Identification sérologique.....	64

2.2.2.3. Etude de la sensibilité des souches de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques.....	65
2.2.2.4. Confirmation moléculaire par PCR.....	65
2.2.2.4.1. Extraction de l'ADN.....	66
2.2.2.4.2. Principe de la PCR.....	67
2.2.2.4.3. Réalisation de la PCR.....	67
2.2.2.4.4. Electrophorèse d'ADN sur gel d'agarose.....	69
2.2.2.5. Caractérisation génotypique par PFGE.....	70
2.2.2.5.1. Principe de la PFGE.....	70
2.2.2.5.2. Réalisation de la PFGE.....	70
2.2.2.5.3. Lecture du gel et interprétation des résultats.....	73
2.2.3. Analyse statistique des données.....	74
3. RÉSULTATS.....	75
3.1. Taux de contamination à <i>Salmonella</i> spp.....	75
3.2. Distribution des sérogroupes et des sérovars.....	78
3.3. Confirmation du genre <i>Salmonella</i> et du sérovar Typhimurium par PCR.....	85
3.4. Etude de la sensibilité des souches de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques.....	86
3.5. Analyse génotypique des isolats par PFGE.....	94
4. DISCUSSION.....	104
4.1. Taux de contamination à <i>Salmonella</i> spp.....	104
4.2. Distribution des sérogroupes et des sérovars.....	113
4.3. Confirmation du genre <i>Salmonella</i> et du sérovar Typhimurium par PCR.....	116
4.4. Etude de la sensibilité des souches de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques.....	119
4.5. Analyse génotypique des souches de <i>Salmonella</i> par PFGE.....	122
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	128
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	132
ANNEXE 1 : Matériel et milieux utilisés.....	161
ANNEXE 2 : Résultats détaillés de l'antibiogramme des 84 souches de <i>Salmonella</i>	164
ANNEXE 3 : Dendrogramme complet de l'ensemble des souches étudiées.....	168

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1: Schéma de la classification actuelle du genre <i>Salmonella</i>	6
Figure 2: Sources d'infection et de transmission des salmonelles	14
Figure 3: Évolution des cas de TIAC en Algérie entre 2006 et 2015.....	19
Figure 4: Répartition mondiale des 5 principaux sérovars de <i>Salmonella</i> non typhiques associés à une maladie clinique humaine de 2004 à 2016.....	20
Figure 5: Exemple schématique des facteurs de risque spécifiques de la salmonellose humaine	22
Figure 6: Attachement, colonisation, invasion, propriétés de virulence et mécanisme de défense de l'hôte contre <i>Salmonella</i>	29
Figure 7: Pathogenèse d'une infection à <i>Salmonella</i>	31
Figure 8: Facteurs de Virulence de <i>S. Typhimurium</i> et <i>S. Typhi</i>	32
Figure 9: Représentation schématique des principaux gènes portés par les SPI 1 à 5 et leurs fonctions putatives	35
Figure 10: Chronologie du développement de certaines méthodes de caractérisation de <i>Salmonella</i> spp.....	39
Figure 11: Sites de prélèvements sur les carcasses des ovins et des bovins.....	61
Figure 12: Paramètres de programmation du thermocycleur à PCR.....	69
Figure 13: Paramètres de programmation du système d'électrophorèse en champ pulsé CHEF Mapper.....	73
Figure 14: Evolution des taux de contamination à <i>Salmonella</i> durant la première période.....	77
Figure 15: Evolution des taux de contamination à <i>Salmonella</i> durant la deuxième période.....	78
Figure 16: Pourcentage de différents sérovars de <i>Salmonella</i> isolés.....	81
Figure 17: Distribution des sérovars en fonction des abattoirs.....	82
Figure 18: Distribution des sérovars en fonction de l'espèce animale.....	83
Figure 19: Distribution des sérovars en fonction du type de prélèvement.....	84

Figure 20: Visualisation de l'ADN et interprétation des résultats de confirmation du genre <i>Salmonella</i> par le gène <i>invA</i> et du sérovar <i>S. Typhimurium</i> par le gène <i>spy</i>	85
Figure 21: Sensibilité des souches de <i>Salmonella</i> spp. aux antibiotiques en fonction de la catégorie clinique.....	88
Figure 22: Photo du gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE).....	95
Figure 23: Résultats du génotypage par PFGE de l'ensemble des isolats testés.....	96
Figure 24: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Muenster</i>	98
Figure 25: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Anatum</i>	99
Figure 26: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Typhimurium</i>	99
Figure 27: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Kentucky</i>	100
Figure 28: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Infantis</i>	101
Figure 29: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Havana</i>	101
Figure 30: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Montevideo</i>	101
Figure 31: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme <i>XbaI</i> des souches de <i>S. Richmond</i>	102

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1: Identification biochimique des espèces et des sous-espèces de <i>Salmonella</i> spp.....	8
Tableau 2 : Quelques données de survie de certains sérovars de <i>Salmonella</i> dans les produits alimentaires	12
Tableau 3: Formules antigéniques de quelques sérovars de salmonelles (extrait du schéma de Kauffmann- White).....	13
Tableau 4 : Sérovars de <i>Salmonella</i> spp. les plus souvent isolés des réservoirs d'animaux dans les pays de l'Union européenne.....	24
Tableau 5 : Propriétés des amorces utilisées pour la confirmation des souches de <i>Salmonella</i> spp et du sérotype Typhimurium.....	67
Tableau 6 : Composition du mélange réactionnel de la PCR.....	68
Tableau 7: Répartition des taux de contamination à <i>Salmonella</i> dans les échantillons en fonction de l'abattoir	75
Tableau 8: Répartition des taux de contamination à <i>Salmonella</i> dans les échantillons en fonction du type de prélèvement	76
Tableau 9: Répartition des taux de contamination à <i>Salmonella</i> dans les échantillons en fonction de l'espèce animale.....	76
Tableau 10: Taux de contamination à <i>Salmonella</i> enregistrés durant la première période et analysés par mois.....	77
Tableau 11: Taux de contamination à <i>Salmonella</i> enregistrés durant la deuxième période et analysés par mois.....	78
Tableau 12: Répartition des souches de <i>Salmonella</i> spp. isolées selon les sérogroupes du schéma de Kauffmann-White.....	79
Tableau 13: Distribution globales des sérovars.....	80
Tableau 14: Distribution des sérovars en fonction des abattoirs.....	82

Tableau 15: Distribution des sérovars en fonction de l'espèce animale.....	83
Tableau 16: Distribution des sérovars en fonction du type e prélèvement.....	84
Tableau 17: Phénotypes de résistances aux antibiotiques des souches de <i>Salmonella</i> isolées.....	89
Tableau 18: Sources et profils de résistance aux antibiotiques.....	91
Tableau 19: Profils génotypiques des souches de <i>Salmonella</i> obtenus par l'analyse PFGE.....	96
Tableau 20: Evaluation de l'indice de discrimination de Simpson (D) pour les sérovars obtenus durant cette étude.....	102
Tableau 21: Résultats du génotypage des souches de <i>Salmonella</i> par PFGE en fonction de la source des prélèvements.....	103

LISTE DES ABRÉVIATIONS

°C : Degré Celsius

µg : microgramme

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFNOR: Association française de normalisation

API: Analytic Prophylactic Index

ATCC: American Type Culture Collection.

a_w : *Activity water* (Activité de l'eau)

bp: *Base pair* (Paire de bases)

Ca²⁺: Calcium

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (USA)

CFU: Colony forming unit

CHEF: Clamped Homogenous Electric Field

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

cm²: Centimètre carré

CSB: Cell Suspension Buffer

dNTP: déoxyribonucléotides triphosphate

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

EDTA: Éthylène-diamine-tétra-acétique

EFSA: European Food Safety Authority

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EPT : Eau peptonée tamponnée

g : Gramme

h: heure

IC: Intervalles de confiance

IPA : Institut Pasteur d'Algérie

ISO : International for Standardisation Organisation.

Kb: kilo paires de base = 10³ pb

LPS: Lipopolysaccharide

M : Mole

Mb: Méga paires de base = 10⁶ pb

McF: McFarland
MgCl₂: chlorure de magnésium
mL : millilitre
MLST: Multilocus Sequence Typing
MLVA: Multiple Loci VNTR Analysis
mM: millimole
NaCl: Chlorure de Sodium
OIE: World Organization of Animal Health
OMS: Organisation Mondiale de la Santé.
pb: paire de bases
PCA: Plate Count Agar
PCR: Polymerase Chain Reaction
PFGE: Pulse Field Gel Electrophoresis
pH: potential hydrogen
pmol: picomole
rpm: rotation par minute
s: seconde
SDS: Sodium Dodecyl Sulfate
SPI: *Salmonella* Pathogenicity Island
spp.: Espèces
SST3: Système de sécrétion de type III
TAE: Tris Acétate EDTA
TDA: Tryptophane désaminase
TE: Tris EDTA
TIAC: Toxi-infection alimentaire collective.
Tris HCL: Tris (hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride
TSI: Triple Sugar Iron Agar
uL: microlitre
UV: Ultraviolet
XLD: Xylose-Lysine-Désoxycholate

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail est l'étude de la présence et la caractérisation phénotypique et moléculaire des salmonelles dans les abattoirs d'Hussein Dey et ceux d'El-Harrach. Pour cela, 826 échantillons ont été prélevés à partir des carcasses et des matières fécales ovines et bovines. Les sérovars et les profils d'antibiorésistance des isolats ont été déterminés, les gènes de virulence *invA* et *spy* ont été recherchés par la technique PCR pour la confirmation du genre *Salmonella* et du sérovar Typhimurium, respectivement. Enfin, les liens génétiques entre les souches ont été démontrés par la PFGE. Un total de 84 échantillons (10,2%) a été révélé positif à la présence de *Salmonella* spp, avec une fréquence plus élevée dans les carcasses par rapport aux matières fécales. Les échantillons bovins étaient plus contaminés que les échantillons ovins. Les isolats récupérés étaient répartis en 10 sérovars différents identifiés dont *S. Muenster* étaient le prédominant. Un ensemble de 68 (80,9%) souches était résistant au moins à un antibiotique testé. La résistance à la streptomycine était la plus fréquente en enregistrant un taux de 69,1%. Une résistance à plus de 5 antibiotiques a été enregistrée chez 15 souches. Un ensemble de 17 profils de résistance a été enregistrés dont 14 profils de multirésistance, incluant le profil d'une pentarésistance de type «ACSSuT» montré par deux souches du sérovar *S. Typhimurium*. La résistance aux fluoroquinolones a caractérisé 92,3 % des isolats du sérovar *S. Kentucky*. En parallèle, le gène *invA* a été détecté dans 96,43% des souches, alors que le gène *spy* était présent dans toutes les souches appartenant au sérovar Typhimurium. D'autre part, l'analyse de l'ensemble des souches par la PFGE a permis de détecter 22 génotypes démontrant la clonalité de certains sérotypes et confirmant la diffusion et la persistance du même clone dans les établissements étudiés, d'une part, et d'autre part, l'hétérogénéité des profils d'autres sérovars laissant ainsi supposer une possible diversité des sources de contamination dans ces deux abattoirs.

Mots clés : *Salmonella*, Ovins, Bovins, Carcasses, Fèces, Antibio-résistance, PCR, PFGE.

SUMMARY

The objective of this work is the study of the presence, the phenotypic and molecular characterization of *Salmonella* in Hussein Dey and El-Harrach slaughterhouses. For this, 826 samples were taken from ovine and bovine carcasses and feces. Serovars and antimicrobial resistance profiles of the isolates were determined; virulence genes *invA* and *spy* were searched using PCR technique in order to confirm the genus *Salmonella* and of the serovar Typhimurium, respectively. Finally, the genetic links between strains were demonstrated by PFGE technique. A total of 84 samples (10.2%) were found positive for the presence of *Salmonella* spp, with a higher frequency in carcasses compared to feces. Bovine samples were more contaminated than ovine ones. Recovered isolates were distributed among 10 different identified serovars, of which *S. Muenster* was the predominant. A total of 68 (80.9%) were resistant to at least one tested antibiotic. Streptomycin resistance was most prevalent at 69.1%. Resistance to more than 5 antibiotics was recorded in 15 strains. A set of 17 resistance profiles was recorded including 14 multi-resistance profiles; including the pentarésistance profile "ACSSuT" shown by two strains from *S. Typhimurium* serovar. Resistance to fluoroquinolones characterized 92.3% of isolates from *S. Kentucky* serovar. In parallel, *invA* gene was detected in 96.43% of strains, while *spy* gene were present in all strains belonging to Typhimurium serovar. On the other hand, the analysis of all the strains by the PFGE detected 22 genotypes demonstrating the clonality of some serotypes and confirming the diffusion and persistence of the same clone in the studied establishments, and on the other hand, the heterogeneity of the profiles of other serotypes thus suggesting a possible diversity of sources of contamination in these two slaughterhouses.

Keywords: *Salmonella*, Ovine, Bovine, Carcasses, Feces, Antibiotic resistance, PCR, PFGE.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التواجد والتوصيف المظهري والجزيئي للسالمونيلا في مسلخي حسين داي والحراش. ولهذا، تم أخذ 826 عينة من ذبائح وبراز الأغنام والأبقار. تم تحديد الأنماط المصلية ودراسة مقاومة سلالات البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية. والبحث عن جيني الضراوة *Inva* و *spy* باستعمال طريقة PCR من أجل تأكيد نوع السالمونيلا ونمط Typhimurium على التوالي. وفي الأخير، تم إثبات الروابط الجينية بين السلالات بواسطة تقنية PFGE. تم العثور على ما مجموعه 84 عينة (10.2 %) إيجابية لوجود السالمونيلا، مع ارتفاع وتيرة التلوث في الذبائح مقارنة مع البراز. وكانت عينات الأبقار أكثر تلوثاً من عينات الأغنام. تم توزيع سلالات البكتيريا التي تم عزلها على 10 أنماط سيرولوجية مختلفة، كان *S. Muenster* هو النمط السائد فيها. تبين أن ما مجموعه 68 (80.9 %) من السلالات المعزولة مقاومة لمضاد حيوي واحد على الأقل تم اختباره. المقاومة للسربتوميسين كانت أكثر شيوعاً عند 69.1 %. تم تسجيل المقاومة لأكثر من 5 مضادات حيوية في 15 سلالة. وتم تسجيل مجموعة من 17 نمط مقاومة بما في ذلك 14 نمط متعددة المقاومة. بما في ذلك النمط خماسي المقاومة من نوع «ACSSuT» الذي ظهر في سلالتين اثنتين من نمط *S. Typhimurium* وميزت المقاومة للفلوروكينولونات نسبة 92.3 % من السلالات البكتيرية المعزولة من نمط *S. Kentucky*. بالتوازي مع ذلك، تم العثور على جين *invA* في 96.43 % من السلالات، في حين أن الجين *spy* كان موجودا في كل السلالات المعزولة المنتمية الى نمط Typhimurium من ناحية أخرى، كشف تحليل جميع السلالات باستعمال طريقة PFGE عن وجود 22 نوعاً من الأنماط الجينية التي تدل على أحادية التصنيف لبعض الأنماط المصلية، مما يؤكد على انتشار واستمرار تواجد نفس الصنف في المذابح المدروسة من جهة، ومن جهة أخرى، فإن عدم تجانس تصنيف الأنماط المصلية الأخرى يشير إلى احتمال تنوع مصادر التلوث في هذين المسلخين.

الكلمات المفتاحية: سالمونيلا، أغنام، أبقار، هياكل، براز، المقاومة للمضادات الحيوية، PCR، PFGE.

Introduction générale

Les toxi-infections alimentaires (TIA) ont été un problème majeur pour toutes les sociétés depuis le début de l'humanité. Les types, la gravité et l'impact de ces maladies ont changé à travers les âges et sont encore différents selon les régions, les pays et les communautés. Les TIA représentent une cause importante de morbidité et de mortalité dans le monde entier (Hald *et al.*, 2016). L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé que à travers le monde entier, 31 maladies d'origine alimentaire ont causé plus de 600 millions de malades et 420 000 décès (OMS, 2015 ; Hoffmann *et al.*, 2017).

Les TIA peuvent se manifester sous forme d'épidémies difficiles à contrôler, et figurer au rang des maladies émergentes. Les actuelles endémies et flambées épidémiques d'origine alimentaire sont un exemple de l'évolution des technologies (Doyle *et al.*, 2015). En effet, le changement du comportement du consommateur moderne au cours de ces dernières décennies (son mode de vie, ses besoins et son recours fréquent à l'alimentation moderne) multiplie les facteurs qui favorisent l'expansion de tels accidents (Schirone *et al.*, 2019). Parmi les germes retrouvés représentant un risque, on peut citer *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, et *Escherichia coli* O175 :H7, qui proviennent tous d'un réservoir animal (Narvaez- Bravo *et al.*, 2013; Hurtado *et al.*, 2017; Heredia & García, 2018).

L'investigation épidémiologique et microbiologique des infections alimentaires met en évidence que certains aliments sont associés à une contamination plus fréquente que d'autres, et par conséquent avec un risque accru de survenue de pathologie (Schirone *et al.*, 2019). Ces aliments dits «à risque» sont les denrées animales et d'origine animale contaminées: le lait et les produits laitiers, la volaille et les ovo-produits, ainsi que la viande qui, par sa forte teneur en nutriments et son activité d'eau (aw) élevée constitue un milieu favorable à la croissance des microorganismes (Beuchat *et al.*, 2013; Heredia & García, 2018). La contamination de ces aliments pourrait être liée à la présence de germes pathogènes dans la matière première et à la contamination par le matériel, l'environnement, l'homme ou par une autre denrée alimentaire (contamination croisée). Par conséquent, il convient de rester vigilant car le risque de contamination des aliments pourrait survenir à n'importe quelle étape du processus alimentaire, de la fourche à la fourchette (Djossou *et al.*, 2010).

Dans cette panoplie de toxi-infections alimentaires, les salmonelloses occupent une place prépondérante par le nombre élevé de sérovars et le nombre d'épidémies massives

provoquées dans le monde causant le plus de décès, soit 59.000 cas sur 420.000 (OMS, 2015; Petrovska *et al.*, 2016). Cependant, il est généralement difficile d'évaluer l'incidence réelle des salmonelloses dans les pays en voie de développement en raison du manque de systèmes coordonnés de surveillance épidémiologique (Prakash *et al.*, 2012 ; Favier *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2014). L'infection à *Salmonella* provoque divers syndromes de maladie allant d'une simple colonisation asymptomatique à une maladie intestinale grave engageant le pronostic vital (Henry *et al.*, 2015; Acar *et al.*, 2017). De plus, l'émergence de multiples souches de *Salmonella* résistantes aux antibiotiques a aggravé le problème (Singh & Mustapha, 2014 ; Nair *et al.*, 2018). Selon des études récentes, il y a une augmentation de la résistance aux antimicrobiens chez les isolats de *Salmonella*, en raison de l'utilisation abusive de médicaments antimicrobiens en médecine humaine et vétérinaire, provoquant une pression sélective pour la prolifération des bactéries résistantes (Prakash *et al.*, 2012; Acar *et al.*, 2017). Le profil de résistance pourrait changer en fonction du temps, du sérovar, du sous-type et de la source du micro-organisme ainsi que de la région géographique de l'isolat.

Dans le genre *Salmonella*, plus de 2600 sérovars ont été décrits. Bien que tous les sérovars puissent être potentiellement pathogènes (Eng *et al.*, 2015), la majorité des infections salmonelliques sont causées par un nombre très limité de sérovars. *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium ont été les deux sérovars les plus fréquemment signalés depuis 1993 par le CDC et l'OMS (Andino & Hanning, 2015).

Comme ces agents pathogènes sont transmis principalement par les aliments ou l'eau contaminée, la présence de souches chez les animaux destinés à l'alimentation et, finalement, dans les produits carnés crus a d'importantes implications pour la santé publique (Mughini-Gras *et al.*, 2018). La plupart des études, en particulier dans les pays industrialisés, ont impliqué des animaux de boucherie comme principaux réservoirs des salmonelles non typhiques. Cependant, les sources et la dynamique de transmission des salmonelles non typhiques en Afrique restent inconnues.

Par ailleurs, l'introduction des salmonelles dans la chaîne de la production des viandes rouges commence par l'abattoir (Kemal, 2014). Le manque d'hygiène et les contaminations croisées par l'intermédiaire de l'équipement et le personnel sont les principales causes de la propagation de *Salmonella* (Singh & Mustapha, 2014). L'éviscération et le dépouillement représentent les étapes qui contribuent le plus dans la

contamination des carcasses par les salmonelles durant le processus de la préparation des viandes dans les abattoirs (Tesson *et al.*, 2020).

Les méthodes conventionnelles de détection et de caractérisation de *Salmonella* comme le biotypage, le sérotypage et les tests de sensibilité aux antimicrobiens manquent souvent de rapidité et de discrimination et parfois les phénotypes ne sont pas stables (Karatuğ *et al.*, 2018). Ainsi, au cours des dernières années, d'autres techniques plus rapides, plus précises ou plus discriminatoires liées à l'ADN, telle que la PCR (Polymerase Chain Réaction) et l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) ont souvent été utilisées (Acar *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2019).

Des données sur la propagation et la distribution des sérovars, et de la résistance aux antimicrobiens des salmonelles non typhiques en Algérie ont été rapportées par quelques études (Elgroud *et al.*, 2009 et 2015; Ayachi *et al.*, 2010; Bounar-Kechih *et al.*, 2012; Bouzidi *et al.*, 2012; Mezali & Hamdi, 2012; Djefal *et al.*, 2017), qui ont ciblé dans leur majorité, le statut salmonellique dans la filière avicole. Cependant, les travaux nationaux concernant la contamination à *Salmonella* spp. des viandes rouges restent rares. C'est ainsi que ce travail a été initié pour contribuer à enrichir la banque de données scientifiques relative à ce problème de santé publique. Dans ce sens, le travail a été subdivisé en une partie bibliographique consacrée à des généralités sur les salmonelles et les salmonelloses, les principales techniques de détection et de caractérisation du genre *Salmonella* ainsi que la résistance des salmonelles aux antibiotiques, suivie d'une partie pratique qui comporte un travail expérimental consistant à :

- Étudier la présence des salmonelles dans les échantillons prélevés des deux grands abattoirs de la wilaya d'Alger, et les confirmer par la technique PCR.
- Déterminer les sérovars prédominants et leurs profils de résistance aux antibiotiques, ainsi que leurs profils génotypiques qui seront étudiés par la technique PFGE.

Etude bibliographique

1. Généralités sur le genre *Salmonella*

1.1. Historique

Les salmonelloses sont des anthro-po-zoonoses qui ont sévi depuis longtemps dans le monde. En effet, le premier bacille de *Salmonella* agent de la fièvre typhoïde fut observé en 1880 par Eberth dans des coupes de rate et de ganglions lymphatiques d'un malade mort de fièvre typhoïde (Marineli *et al.*, 2013; Nuccio *et al.*, 2013; Nwabor *et al.*, 2015). La culture in vitro de ce bacille fut mise au point par Gaffky en 1884 (Tessari *et al.*, 2012; Jajere, 2019). Le nom *Salmonella* vient du célèbre bactériologiste et vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon, qui en 1886, isola en collaboration avec Theobald Smith l'organisme connu actuellement comme *Salmonella* Chloeraesuis à partir des porcs (Agbaje *et al.*, 2011, Sterzenbach *et al.*, 2013; Kemal, 2014; Crump & Wain, 2017; Graziani *et al.*, 2017; Ryan *et al.*, 2017). En 1896 Widal mis en évidence la diversité antigénique des souches de *Salmonella* à l'aide d'un nouveau test qu'il a appelé sérodiagnostic de Widal (Nuccio *et al.*, 2013; Gunn *et al.*, 2014). La contamination de l'animal à l'homme fut décrite en 1925, d'autre part, White proposa, durant la même année, une classification des salmonelles sur la base des caractères antigéniques, ce travail fut poursuivi par Kauffmann (Tessari *et al.*, 2012).

1.2. Taxonomie et nomenclature

Salmonella représente certainement le genre le plus complexe et le plus vaste de la famille des *Enterobacteriaceae*, et sa nomenclature se montre plutôt compliquée et évolue continuellement. L'avènement de la taxonomie moléculaire allait donner une base objective à la classification.

Avant que la taxonomie des salmonelles ne soit établie sur des bases moléculaires, l'analyse des antigènes O et H initiée par White en 1925 et approfondie par Kauffmann en 1941, a permis l'élaboration d'une classification d'un grand nombre de sérotypes considérés à l'époque comme des espèces, et les sous-espèces connues actuellement étaient considérées comme des sous-genres désignés par des chiffres romains (Nuccio *et al.*, 2013; Sanderson & Nair, 2013; Graziani *et al.*, 2017; Ryan *et al.*, 2017; Chlebicz & Ślizewska, 2018; Jajere, 2019).

Aux alentours des années 1970, les hybridations ADN-ADN ont montré que le genre *Salmonella* n'était constitué que d'une seule espèce pour laquelle ces auteurs ont proposé

le nom de *Salmonella choleraesuis* qui est ensuite remplacée par *Salmonella enterica* à cause de la confusion due au fait que *Salmonella Choleraesuis* est aussi le nom d'un sérotype (Millemann, 1998 ; Humbert, 2005; D'Aoust & Maurer, 2007; Sanderson & Nair, 2013; Graziani *et al.*, 2017; Ryan *et al.*, 2017). Cette espèce, se subdivisait en 7 sous-espèces qui furent individualisées, dont *Salmonella bongori* qui fut ensuite élevée au rang d'espèce. Ainsi, le genre *Salmonella* comporte deux espèces, l'espèce *Salmonella bongori*, et l'espèce *Salmonella enterica*, au sein de laquelle six sous-espèces correspondant aux anciens sous-genres de la classification de Kauffmann-White furent individualisées: la sous-espèce *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) et *indica* (VI) (Delarras, 2007; Dromigny, 2011; Chen *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014; Andino & Hanning, 2015; Dekker & Frank, 2015; Nwabor *et al.*, 2015; Crump & Wain, 2017; Lamas *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020).

La sérologie, basée sur la caractérisation des antigènes somatiques (O) et flagellaires (H), permet de classer les sous-espèces en sérovars. Selon le dernier supplément du schéma White-Kauffmann-Le Minor (n° 48) établi par Issenhuth-Jeanjean *et al.* (2014), on compte présentement, plus de 2600 sérovars de *Salmonella*, dont la majorité (1586) fait partie de la sous-espèce *enterica* (figure 1).

Autrefois, les bactériologistes avaient choisi pour désigner les souches de *Salmonella* des noms évoquant le lieu géographique où la souche a été découverte pour la première fois: Panama, London, Marmande, Indiana, ou la maladie qu'elle était suspectée provoquer lors de son isolement : Typhi, Abortus ovis, ... (Grimont & Weill, 2007; Weill, 2008a; Agbaje *et al.*, 2011; Sanderson & Nair, 2013). On compte 1 475 géo-sérovars (Gossner *et al.*, 2016). Actuellement, et conformément au code international de la nomenclature bactérienne, les sérovars s'écrivent en caractères romains (et non en italique) avec la première lettre en majuscule (Issenhuth-Jeanjean *et al.*, 2014; Graziani *et al.*, 2017). Ainsi, le sérotype Typhimurium par exemple, devrait s'écrire *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhimurium. Cependant, l'usage courant préconise une forme de nomenclature abrégée pour les seuls sérovars de la sous-espèce I ; le sérovar Typhimurium s'écrit *Salmonella* Typhimurium ou *S. Typhimurium* (Agbaje *et al.*, 2011; Dromigny, 2011; Pui *et al.*, 2011; Ryan *et al.*, 2017). Les sérovars classés dans les autres sous-espèces de l'espèce *enterica* ainsi que ceux appartenant à l'espèce *bongori*, sont désignés par leurs formules antigéniques (Issenhuth-Jeanjean *et al.*, 2014; Ryan *et al.*, 2017).

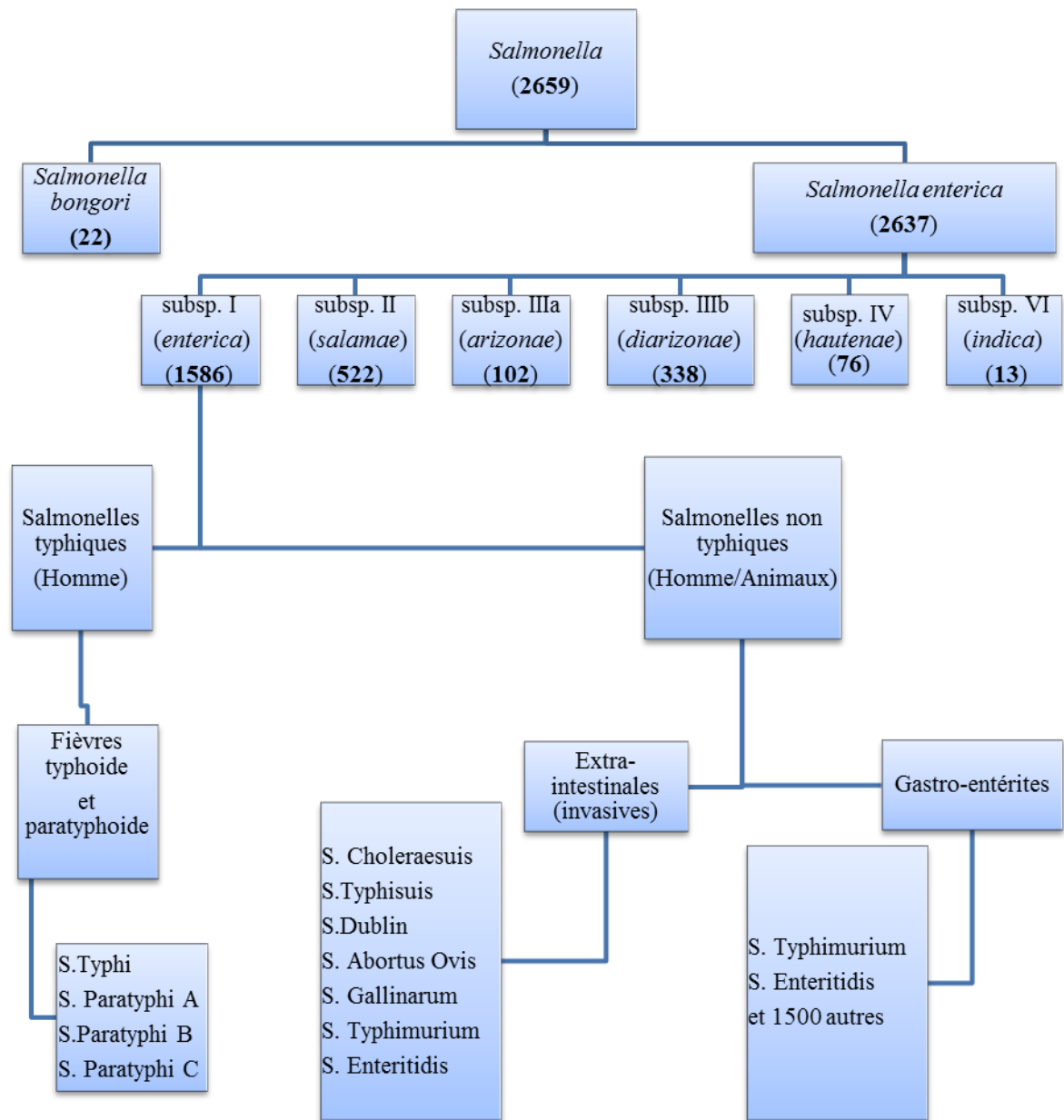


Figure 1 : Schéma de la classification actuelle du genre *Salmonella* (adaptée de Hurley et al., 2014)

1.3. Caractéristiques biologiques

1.3.1. Caractères généraux

Selon Bergey's Manuel of systematic bacteriology (Whitman, 2015), le genre *Salmonella* se définit ainsi : ce sont des bacilles de 0,7–1,5 x 2,0–5,0 µm, à Gram négatif, aéro-anaérobies facultatifs habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche, mais des mutants immobiles peuvent exister et *S. Gallinarum* est toujours immobile. Les *Salmonella* cultivent bien sur les milieux nutritifs ordinaires et donnent en 18 à 20 heures des colonies de 2-3 mm de diamètre, à l'exception de certains serovars donnant toujours des colonies naines (Abortusovis, Abortusequi, Typhisuis).

1.3.2. Caractères biochimiques

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des *Enterobacteriaceae*, elles ont en commun 7 caractères (Humbert, 2005; Kemal, 2014; Jajere, 2019) :

- Bacilles à coloration de Gram négatif
- Aéro-anaérobies facultatifs.
- Cultivant sur les milieux ordinaires.
- Fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
- Réduisant les nitrates en nitrites.
- Donnant une réaction d'oxydase négative.
- Et possédant une catalase.

Au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont (Korsak, 2004; Romane *et al.*, 2012; Andino & Hanning, 2015; Chlebic & Ślizewska, 2018; Jajere, 2019) :

- L'absence d'uréase et de tryptophane (ou phénylalanine) désaminase,
- L'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif),
- L'absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol, de l'amygdaline, de l'adonitol et du 2-cétogluconate,
- La production d'H₂S à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase),
- La décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine,
- La capacité fréquente de croître sur le milieu au citrate de Simmons en l'alcalinisant (caractère citrate positif).

Les deux espèces du genre *Salmonella* peuvent être différenciées par leurs caractères biochimiques : *Salmonella bongori* ne fermente pas le sorbitol, contrairement à *Salmonella enterica*, et à l'exception de la plupart des souches de cette dernière, *S. bongori* se cultive sur un milieu contenant du bouillon Moeller KCN.

Les six sous-espèces de l'espèce *Salmonella enterica* peuvent également être identifiées par leurs caractères biochimiques (tableau 1).

Tableau 1 : Identification biochimique des espèces et des sous-espèces de *Salmonella* spp. (Graziani *et al.*, 2017; Lamas *et al.*, 2018).

Caractères biochimiques	<i>Salmonella enterica</i>						<i>Salmonella</i>
	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	<i>bongori</i>
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	d	+
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Gélatinase	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Culture avec KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+)- tartrate ou d- tartrate	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
γ -glutamyl-transférase	+	+	-	+	+	+	+
β -glucuronidase	d	d	-	+	-	d	-
Mucate	+	+	+	-	-	+	+
Salicine	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	-	+	-	d	-
Lyse par le phage 0 :1	+	+	-	+	-	+	d

Symboles: + : 90% ou plus de réactions positives; - : 90% ou plus de réactions négatives; d : réactions variables suivants les sérovars.

Les caractères biochimiques ne permettent malheureusement pas une identification plus précise.

1.3.3. Caractères antigéniques

Comme toutes les entérobactéries, *Salmonella* peut posséder 3 types d'antigènes présentant un intérêt diagnostique.

1.3.3.1. Antigènes somatiques O

Les antigènes O sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS) qui est le composant majoritaire de la paroi représentant l'endotoxine des *Salmonella* (D'Aoust & Maurer, 2007; Graziani *et al.*, 2017; Jajere, 2019). Ainsi, la délétion par mutation de l'antigène O entraîne une perte partielle ou totale du pouvoir virulent (Ballesté-Delpierre *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2017). Il est constitué de plusieurs éléments (Kong *et al.*, 2011):

- ✓ Le lipide A : responsable du pouvoir pathogène, est vraisemblablement identique chez toutes les entérobactéries.

- ✓ Le «Core» ou noyau polysaccharidique de base dont la structure est semblable chez toutes les salmonelles.

- ✓ Une chaîne polysaccharidique support de la spécificité antigénique «O», cette chaîne est constituée des oligosaccharides dont la composition et l'ordre d'enchaînement sont responsables de la spécificité des antigènes O (Reeves *et al.*, 2013).

Il existe 67 facteurs O selon la nature des sucres entrant dans la constitution des unités oligosaccharidiques du polysaccharide (Fàbrega & Vila, 2013; Singh *et al.*, 2018), on distingue :

- Les antigènes O majeurs caractérisant un groupe de *Salmonella*, toutes les souches possédant en commun un facteur O majeur sont placées dans le même groupe (Liu *et al.*, 2014). Ainsi toutes les souches possédant le facteur O: 2 appartiennent au groupe A, celles possédant le facteur O: 4 appartiennent au groupe B, celles possédant le facteur O: 9 appartiennent au groupe D dans lequel on retrouve les sérovars Enteritidis et Dublin.

- Les antigènes O mineurs qui sont accessoires peuvent différer selon les souches appartenant à un même groupe (Grimont & Weill, 2007). Dans le tableau de Kauffmann-White les facteurs O liés à la présence d'un phage ou d'un plasmide sont soulignés, exemple : O:1, et ceux liés à la présence d'une acétylase sont placés entre crochets, exemple : O:[5].

Les anticorps anti-O agglutinent les bactéries par leurs parois en donnant un agglutinât fin et difficile à dissocier (Tessari *et al.*, 2012).

1.3.3.2. Antigènes flagellaires H

Ce sont des protéines constituées d'une seule sous-unité polymérisée, la flagélline (Weill, 2008a), dont la composition en acides aminés détermine la spécificité antigénique (Humbert, 2005; Nwabor *et al.*, 2015). Cet antigène est présent chez les bactéries mobiles, il est thermolabile, détruit par la chaleur à 100°C, par l'action de l'alcool et par les ferments protéolytiques.

L'antigène flagellaire est présent sous deux formes différentes de manière simultanée ou non sur le même individu (Jay *et al.*, 2005; Carip, 2008; Jajere, 2019). La majorité des salmonelles sont diphasiques. L'aptitude à exprimer leur antigène flagellaire sous deux spécifiées différentes est particulière aux sous-espèces *enterica*, *salamae*, *diarizonae* et *indica*. Par contre, l'antigène H des sous espèces *arizonae* et *houtenae*, de l'espèce *bongori*, ainsi qu'une minorité des sérovars de la sous espèce *enterica* est toujours monophasique (D'Aoust & Maurer, 2007; Dromigny, 2011; Kemal, 2014).

La phase 1 est exprimée par des petites lettres, et la phase 2 par des chiffres (Tessari *et al.*, 2012).

L'agglutination H est rapide, floconneuse est facilement dissociable par agitation, qui casse les flagelles (Humbert, 2005; Nwabor *et al.*, 2015).

1.3.3.3. Antigènes d'enveloppe (antigènes capsulaires Vi)

Ce sont des polysaccharides capsulaires exprimés par la très grande majorité des souches de *Salmonella* Typhi, plus rarement par des souches de *Salmonella* Paratyphi C, et exceptionnellement, par des souches de *Salmonella* Dublin (Weill, 2008a; Romane *et al.*, 2012; Gunn *et al.*, 2014; Nwabor *et al.*, 2015; Graziani *et al.*, 2017).

Chez le genre *Salmonella*, une seule spécificité antigénique est connue pour ces gènes qui est la virulence, d'où le nom Vi (Humbert, 2005; D'Aoust & Maurer, 2007; Jajere, 2019). La présence de cet antigène peut rendre les bactéries « O-inagglutinables » en masquant l'antigène O. Pour démasquer l'antigène O, il suffit de chauffer les suspensions bactériennes pendant 10 minutes à 100°C (D'Aoust & Maurer, 2007; Romane *et al.*, 2012; Nwabor *et al.*, 2015).

1.3.4. Caractères cultureux

Les salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobies et hygrophiles. Après 24 h d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire, les colonies obtenues ont un diamètre de 3 à 4 mm. Elles sont généralement lisses (smooth : S), rarement rugueuses (rough : R). Elles sont difficiles à distinguer des *E. coli* sous le microscope, ou sur un milieu nutritif ordinaire (Jay *et al.*, 2005). Les salmonelles ne sont jamais sporulées, et parfois encapsulées. Elles sont peu exigeantes et peuvent pousser facilement dans un milieu ordinaire à base d'extrait de viande. Par contre dans le cas de prélèvements polymicrobiens (matières fécales par exemple), l'utilisation de milieux sélectifs est indispensable (Yue *et al.*, 2014). Les salmonelles peuvent en outre résister aux conditions environnementales externes : 9 mois dans les sols, quelques mois dans les aliments secs non acidifiés et sur les tiges et les feuilles des végétaux ensilés, et plusieurs années dans les poussières, le duvet et les matières fécales bovines (Korsak *et al.*, 2004).

La persistance des salmonelles dans l'environnement apparaît comme un facteur épidémiologique important. Il est donc indispensable d'étudier les moyens d'affecter leur survie, en tenant compte des variations notables pouvant exister entre les différents sérovars.

- Température : les salmonelles sont des bactéries mésophiles, leur optimum de croissance est de 35°C à 37°C (Humbert, 2005; Romane *et al.*, 2012; Ryan *et al.*, 2017). Elles parviennent aussi à se développer, mais plus lentement, dans des conditions moins favorables de température (de 5 à 47°C) avec une croissance nettement ralentie pour des températures inférieures à 10°C (Carip, 2008; Pui *et al.*, 2011 ; Tessari *et al.*, 2012). Ces bactéries constituent une grande menace pour l'industrie alimentaire car elles sont capables de s'adapter à des conditions environnementales qui sont significativement différentes de leur plage de croissance normale. Certaines souches peuvent croître à 54°C, et d'autres même à 2–4°C (Nwabor *et al.*, 2015; Ryan *et al.*, 2017 ; Chlebicz & Ślizewska, 2018). N'étant pas sporogène, elle est facilement détruite par le processus de pasteurisation habituellement appliqué dans les entreprises agro-alimentaires (Humbert, 2005). Il est toutefois généralement admis que la thermorésistance des micro-organismes dépend habituellement de plusieurs facteurs : le micro-organisme, le milieu ou l'aliment dans lequel la bactérie se trouve, la durée d'exposition, le pH, le sérotype et l'activité de l'eau (Korsak *et al.*, 2004; D'Aoust & Maurer, 2007; Kemal, 2014).

• L'activité de l'eau (a_w) : les salmonelles se développent bien pour des valeurs d'activité de l'eau (a_w) oscillant entre 0,945 et 0,999 (Bell & Kyriakides, 2009). Dans les aliments, elles peuvent se multiplier jusqu'à des valeurs d' a_w de 0,93 (Pui *et al.*, 2011; Kemal, 2014 ; Nwabor *et al.*, 2015). La survie des salmonelles a été rapportée dans des produits à a_w très faibles (0,35) (tableau 2).

• pH : les salmonelles sont capables de se multiplier dans une large plage de pH allant de 4 à 9,5 avec un optimum de 6,5 à 7,5 (Pui *et al.*, 2011; Romane *et al.*, 2012; Kemal, 2014; Nwabor *et al.*, 2015; Ryan *et al.*, 2017). La sensibilité à l'acidité du milieu dépend de l'acide en cause : des épidémies alimentaires ont été rapportées à partir de produits acides comme les jus d'orange ou les mayonnaises (D'Aoust & Maurer, 2007; Carip, 2008; Bell & Kyriakides, 2009).

• Autres facteurs: l'ionisation des denrées alimentaires est un autre traitement qui peut avoir une influence sur la survie des salmonelles qui sont sensibles à un traitement de 5 à 10 KGray de rayonnements ionisants (Korsak *et al.*, 2004). Elles sont résistantes à la salaison habituelle, la concentration tolérée est de 5,5% NaCl (D'Aoust & Maurer, 2007; Carip, 2008). En revanche, les salmonelles sont sensibles aux biocides usuels: hypochlorite de sodium, dérivés iodés, ammoniums quaternaires. Leur développement est également limité par les compétitions consécutives à la croissance d'autres flores (Humbert, 2005).

Tableau 2 : Quelques données de survie de certains sérovars de *Salmonella* dans les produits alimentaires (Bell & Kyriakides, 2009)

Condition	Sérotype	Aliment	Température (°C)	Durée de survie
Température de congélation	Enteritidis	Poulet de chair	-18	4 mois
	Cholerae-suis	Bœuf haché	-18	4 mois
	Typhimurium	Chow-mein	-25	9 mois
	Enteritidis et Typhimurium	Crèmes glacées	-23	7 ans
a_w faible	Typhimurium PT10	Fromage cheddar	5	8 mois
	Typhimurium, Java et Blockley	Poudre du lait		Jusqu'à 10 mois
	Infantis et Typhimurium	Pâtes		Jusqu'à 12 mois
	Eastbourne	Chocolat au lait (a_w 0,41)		> 9 mois
	Culture de 5 sérotypes Agona, Enteritidis, Michigan, Montevideo, Typhimurium	Beurre de cacahuètes (a_w 0,2- 0,33)	5	Jusqu'à 24 semaines
			21	Jusqu'à 6 semaines

1.4. Schéma de Kauffmann-White : classification des sérovars

Ce schéma, publié pour la première fois en 1934 (Wang *et al.*, 2020), présente sous forme d'un tableau, les facteurs antigéniques identifiables par agglutination des différents sérovars de *Salmonella* (tableau 3). Il se base sur des facteurs nécessaires à une identification pratique et peu de facteurs accessoires (Delarras, 2007).

En premier, sont indiqués les facteurs O, ensuite éventuellement l'antigène Vi et enfin les deux phases de l'antigène H. On obtient pour *S. Typhimurium* : O₁, 4, [5], 12 H i : 1, 2. Le facteur O: 1 est souligné pour montrer que sa présence est liée à la lysogénisation par un phage convertisseur; O: 4 est le facteur O majeur ; O: 5 entre crochets signifie qu'il peut être absent ; O:12 est un facteur accessoire. L'antigène Vi est indiqué entre crochets car il peut être présent ou absent. L'antigène H a deux spécificités : la première i, la seconde 1,2. Le signe « - » indique que la phase considérée est absente (l'antigène H est monophasique).

Tableau 3 : Formules antigéniques de quelques sérovars de salmonelles (Extrait du schéma de Kauffmann- White)

Sérovars	Antigène O	Antigène H	
		Phase 1	Phase 2
Groupe B (O:4)			
<i>Salmonella</i> Typhimurium	<u>1</u> , 4, [5], 12	i	1, 2
<i>Salmonella</i> Saintpaul	<u>1</u> ,4, [5], 12, <u>27</u>	e, h	1, 2
Groupe C1 (O:6,7)			
<i>Salmonella</i> Infantis	6, 7, <u>14</u>	r	1, 5
<i>Salmonella</i> Montevideo	6, 7, <u>14</u>	g, m, s	-
<i>Salmonella</i> Paratyphi C	6, 7 [Vi]	c	
Groupe C2 (O:6,8)			
<i>Salmonella</i> Hadar	6, 8	z10	e, n, x
<i>Salmonella</i> Newport	6, 8, <u>20</u>	e, h	1, 2
Groupe D2 (O:9,12)			
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1, 9, 12	g, m	-
<i>Salmonella</i> Dublin	1, 9, 12	g, p	-
Groupe E1 (O:3,10)			
<i>Salmonella</i> Anatum	3, 10	e, h	1, 5
<i>Salmonella</i> Muenster	3, 10	e, h	1, 6

1.5. Habitat, réservoir et mode de transmission

Le réservoir des salmonelles est très large (figure 2). L'homme et la plupart des animaux (mammifères domestiques ou sauvages, reptiles, poissons, oiseaux) peuvent l'héberger au niveau de leurs intestins (Hoelzer *et al.*, 2011 ; Singh, 2013; Eng *et al.*, 2015; Antunes *et al.*, 2016; Graziani *et al.*, 2017), et la dissémination dans l'environnement (sol, boues, et eau) provient essentiellement des contaminations fécales (Korsak *et al.*, 2004; Romane *et al.*, 2012; Andino & Hanning, 2015 ; Cosby *et al.*, 2015).

Le rôle des porteurs sains dans la diffusion des salmonelles est déterminant, ceci est dû à l'excrétion fécale intermittente ou continue (Hoelzer *et al.*, 2011; Gunn *et al.*, 2014).

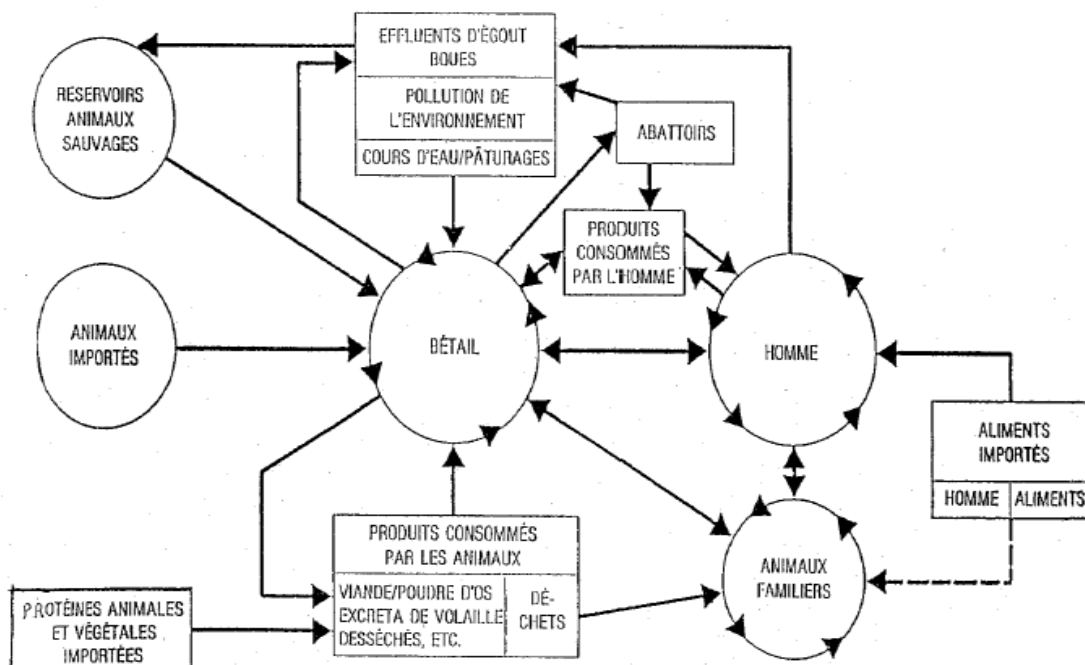


Figure 2: Sources d'infection et de transmission des salmonelles (Jones *et al.*, 2007)

Certaines salmonelles sont strictement adaptées à des espèces hôtes spécifiques, parmi celles-ci citons: *S. Typhi*, *S. Sendai*, *S. Paratyphi A*, *B* et certaines populations de *Paratyphi B* chez l'homme, *S. Abortus ovis* chez les ovins, *S. Abortus equi* chez le cheval, *S. Pullorum* et *S. Gallinarum* spécifiques de la volaille, mais la plupart des sérotypes peuvent traverser la barrière d'espèce et se retrouver chez beaucoup d'espèces animales et sont considérées comme ubiquistes (Weill, 2008a; Hoelzer *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2013; Singh, 2013; Gal-Mor *et al.*, 2014; Pal *et al.*, 2015; Andino & Hanning, 2015; Crump & Wain, 2017; Bhunia, 2018; Jajere, 2019).

2. Pathologies associées à *Salmonella*

Nous étudierons successivement les salmonelloses humaines puis animales.

2.1. Salmonelloses humaines

Parmi les maladies associées à *Salmonella* spp., deux revêtent une importance majeure et constituent des gros problèmes de santé publique dans le monde: la gastro-entérite due à des toxi-infections alimentaires, et la fièvre typhoïde (fièvre entérique).

2.1.1. Fièvre entérique

Les fièvres typhoïde et paratyphoïde sont des infections bactériennes systémiques à point de départ digestif, qui sont dues, respectivement, à *S. Typhi*, sérovar strictement humain et *S. Paratyphi* (A, B ou C), sérovar principalement humain et rarement animal (Weill, 2010; de Jong *et al.*, 2012; Ruby *et al.*, 2012; Hurley *et al.*, 2014; Crump & Wain, 2017; Palmer & Slauch, 2017; Chlebicz & Śliżewska, 2018; Wang *et al.*, 2020).

2.1.1.1. Incidence et répartition

La fièvre typhoïde touche selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 11 à 21 millions de personnes chaque année dont environ 128.000 à 161.000 décès (OMS, 2018), tandis que *S. Paratyphi* provoque une fièvre paratyphoïde avec des symptômes plus légers et un taux de mortalité moins élevé (Pui *et al.*, 2011; Waddington *et al.*, 2014; Eng *et al.*, 2015; Obaro *et al.*, 2017; Kurtz *et al.*, 2017; Gibani *et al.*, 2018; Johnson *et al.*, 2018; Jajere, 2019).

Les pays industrialisés sont peu concernés et les cas enregistrés sont généralement importés, via les voyageurs, les immigrants ou la nourriture, alors que la fièvre typhoïde est endémique dans les pays en voie de développement (l'Asie du Sud, l'Asie du Sud-Est et l'Afrique subsaharienne) et particulièrement dans les régions où les individus n'ont pas accès à une eau potable propre et à des installations sanitaires élémentaires, ce qui facilite la propagation de ces agents pathogènes par voie oro-fécale (Ruby *et al.*, 2012; Dougan & Baker, 2014; Gal-Mor *et al.*, 2014; Gunn *et al.*, 2014; Obaro *et al.*, 2017; Crump & Wain, 2017; Johnson *et al.*, 2018). Une étude récente menée par Marks *et al.* (2017) a montré que les salmonelles typhiques représentaient 24% des agents pathogènes bactériens responsables de 13 431 cas de maladies infectieuses enregistrées entre le 1er mars 2010 et le 31 janvier 2014 dans neuf pays de l'Afrique subsaharienne.

2.1.1.2. Modes de transmission

La contamination peut être interhumaine directe par l'intermédiaire des porteurs des germes, ou, dans la majorité des cas sporadiques et des épidémies, indirectes, par l'ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par des excréments des individus infectés (Weill, 2010; Marathe *et al.*, 2012 ; Nuccio *et al.*, 2013; Eng *et al.*, 2015; Obaro *et al.*, 2017; Awofisayo-Okuyelu *et al.*, 2018; Johnson *et al.*, 2018).

2.1.1.3. Étude clinique

Des doses orales de 10^3 à 10^9 bactéries viables sont nécessaires pour le développement d'une fièvre typhoïde (Barceloux, 2008; Dougan & Baker, 2014; Andino & Hanning, 2015).

La période d'incubation de la maladie se situe habituellement entre 7 et 21 jours (Marathe *et al.*, 2012; Eng *et al.*, 2015; Awofisayo-Okuyelu *et al.*, 2018), mais peut varier considérablement vers des extrêmes allant de 3 à 60 jours en fonction de l'inoculum et de l'état du système immunitaire de l'hôte (Gibani *et al.*, 2018).

Les symptômes de la maladie incluent une forte fièvre, des frissons, des malaises abdominaux, des maux de tête, une perte d'appétit, des nausées, des éruptions cutanées, des douleurs musculaires, une toux sèche et de la léthargie (Dougan & Baker, 2014; Gal-Mor *et al.*, 2014; Dekker & Frank, 2015; Awofisayo-Okuyelu *et al.*, 2018; Chlebicz & Śliżewska, 2018; Gibani *et al.*, 2018). Des complications peuvent se produire dans 10 à 15% des cas. Il s'agit principalement d'hémorragies gastro-intestinales, de perforations intestinales, de myocardites et d'encéphalopathies (Pui *et al.*, 2011 ; de Jong *et al.*, 2012; Eng *et al.*, 2015; Obaro *et al.*, 2017). La gravité de la maladie peut être augmentée par l'émergence croissante de souches multi résistantes du sérovar Typhi ce qui rend la gestion des épidémies de plus en plus complexe et difficile.

Il est intéressant de noter que 1 à 5% des personnes infectées par *S. Typhi* deviennent des porteurs chroniques asymptomatiques qui continuent d'excréter 10^6 à 10^{10} bactéries *S. Typhi* par gramme de matières fécales pendant plus de 12 mois (Dougan & Baker, 2014; Gal-Mor *et al.*, 2014; Gunn *et al.*, 2014; Waddington *et al.*, 2014; Obaro *et al.*, 2017; Kurtz *et al.*, 2017; Gibani *et al.*, 2018). Ceux-ci ont un rôle important dans la transmission de la maladie comme en témoignent les exemples célèbres du laitier N. the milkster, qui infecta entre 1893 et 1909 plus de 200 personnes en Angleterre (Weill, 2010), et celui de la première porteuse asymptomatique diagnostiquée aux États-Unis, Typhoid Mary (de son vrai nom Mary Mallon (1869-1938): elle aura été responsable de 26 à 54 cas de fièvre

typhoïde (dont 3 décès) au courant de sa carrière comme cuisinière dans la ville de New York (Marineli *et al.*, 2013; Gal-Mor *et al.*, 2014; Waddington *et al.*, 2014).

2.1.2. Gastro-entérites et TIAC à *Salmonella*

Les salmonelles non typhiques sont responsables chez l'Homme dans certaines conditions d'une infection principalement d'origine alimentaire, la salmonellose, caractérisée par des manifestations cliniques de type gastroentéritique (Kurtz *et al.*, 2017). Les gastroentérites à *Salmonella* surviennent sous forme de cas isolés (sporadiques) ou regroupés, responsables des «Toxi-infections Alimentaires Collectives» (TIAC) (Weill, 2008b), qui se définissent par la survenue au même moment, d'au moins deux cas groupés d'une symptomatologie similaire.

2.1.2.1. Incidence et répartition

Le schéma épidémiologique de la prévalence, et de l'incidence des TIAC à *Salmonella* spp diffère considérablement entre les zones géographiques en fonction du climat, de la densité de population, des migrations humaines, des pratiques agricoles, du commerce du bétail, des technologies de transformation des aliments et des habitudes de consommation.

Contrairement à la fièvre typhoïde, les salmonelloses non typhiques ou NTS (None Typhoidal Salmonellosis) sont des infections très courantes et se produisent dans le monde entier (Gal-Mor *et al.*, 2014). Malgré l'amélioration de l'hygiène et de l'assainissement, l'incidence des salmonelloses non typhiques continue d'augmenter, créant un fardeau dans les pays industrialisés et en voie de développement (Majowicz *et al.*, 2010).

En outre, l'incidence réelle des salmonelloses est difficile à évaluer par manque de systèmes de surveillance épidémiologique mis en place, qui sont particulièrement valables dans les pays développés. Cependant, la majorité des épidémiologistes s'accordent pour dire que les chiffres officiels ne représentent qu'une faible part de la réalité.

A l'échelle mondiale, *Salmonella* est responsable de 93,8 millions de cas de gastroentérites humaines et de plus de 59 000 décès par an (Gal-Mor *et al.*, 2014; Crump & Heyderman, 2015; Antunes *et al.*, 2016; Acar *et al.*, 2017; Arya *et al.*, 2017).

Aux Etats-Unis, Kemal (2014), Andino et Hanning (2015) et Pal *et al.* (2015) ont rapporté que le genre *Salmonella* est estimé être responsable annuellement d'environ deux millions de cas de toxi-infections alimentaires, et approximativement 1000 morts; avec un impact

économique annuel d'environ 2,71 milliards de dollars couvrant essentiellement les frais de 50.000 personnes hospitalisées.

A l'échelle européenne, l'incidence des maladies associées aux salmonelles non typhiques est estimée à 690 cas pour 100.000 habitants par an (Eng *et al.*, 2015). Selon le rapport annuel du Centre Européen de la prévention et du contrôle des maladies (ECDC, 2016), 91.408 cas de salmonelloses ont été signalés dans 30 pays de l'Union Européenne (EU), ce qui représente une augmentation de 19% par rapport à 2013.

Dans certaines régions du monde, essentiellement, celles présentant une forte proportion de la population mondiale (39%), telles que l'Asie du Sud et du Sud-Est, l'Amérique du Sud et l'Afrique, les données concernant les toxi-infections d'origine alimentaire sont rares, et les réservoirs de *Salmonella* et leurs voies de transmission ne sont pas bien compris à cause du manque de systèmes de surveillance épidémiologique (Majowicz *et al.* 2010; Crump & Heyderman, 2015; Arya *et al.*, 2017). Ainsi, les chiffres déclarés ne représentent qu'un faible pourcentage des cas réels. Il est donc difficile de connaître l'évolution des maladies ou d'établir des comparaisons. Les données disponibles ont montré que les chiffres sont extrêmement élevés en Asie, avec 83,4 millions de cas et 137.700 décès chaque année (Chen *et al.*, 2013).

En Afrique, les SNT invasifs sont endémiques avec des taux d'occurrence élevés chez les enfants de moins de 3 ans et chez les patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) conférant un taux de mortalité allant jusqu'à 25% (MacLennan & Levine, 2013; Eng *et al.*, 2015; Pal *et al.*, 2015). L'étude de Marks *et al.* (2017) a montré que les salmonelles non typhiques représentaient 17% des agents pathogènes bactériens impliqués dans les gastro-entérites enregistrées entre le 1er mars 2010 et le 31 janvier 2014 dans neuf pays africains.

En Algérie, à l'instar des pays en voie de développement, une faible capacité de diagnostic est observée en matière de salmonelloses humaines d'origine alimentaire, ceci contribue au manque de données disponibles. Les chiffres communiqués par le Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière représentée par l'Institut national de santé publique (INSP) ne représentent que les taux globaux des cas de TIAC enregistrés sans identifier le germe incriminé. L'évolution de ces taux entre 2006 et 2015 est rapportée dans la figure 3.

D'autre part, les données publiées dans les rapports annuels de l'Institut Pasteur d'Algérie ne reflètent pas la réalité de la situation, car, les chiffres ne concernent souvent que la wilaya d'Alger où le genre *Salmonella* représentait 54,66% des germes isolés des selles de patients souffrants de gastro-entérites durant l'année 2015. Sur le plan hygiénique, six (6) souches de salmonelles ont été isolées des 3566 analyses de différentes matrices alimentaires. Sur 1564 lots de prélèvements vivants provenant de diverses espèces animales dont 90% représentés par la filière avicole, 67 souches de *Salmonella* ont été isolées par les services de l'IPA durant l'année 2015 (IPA, 2015).

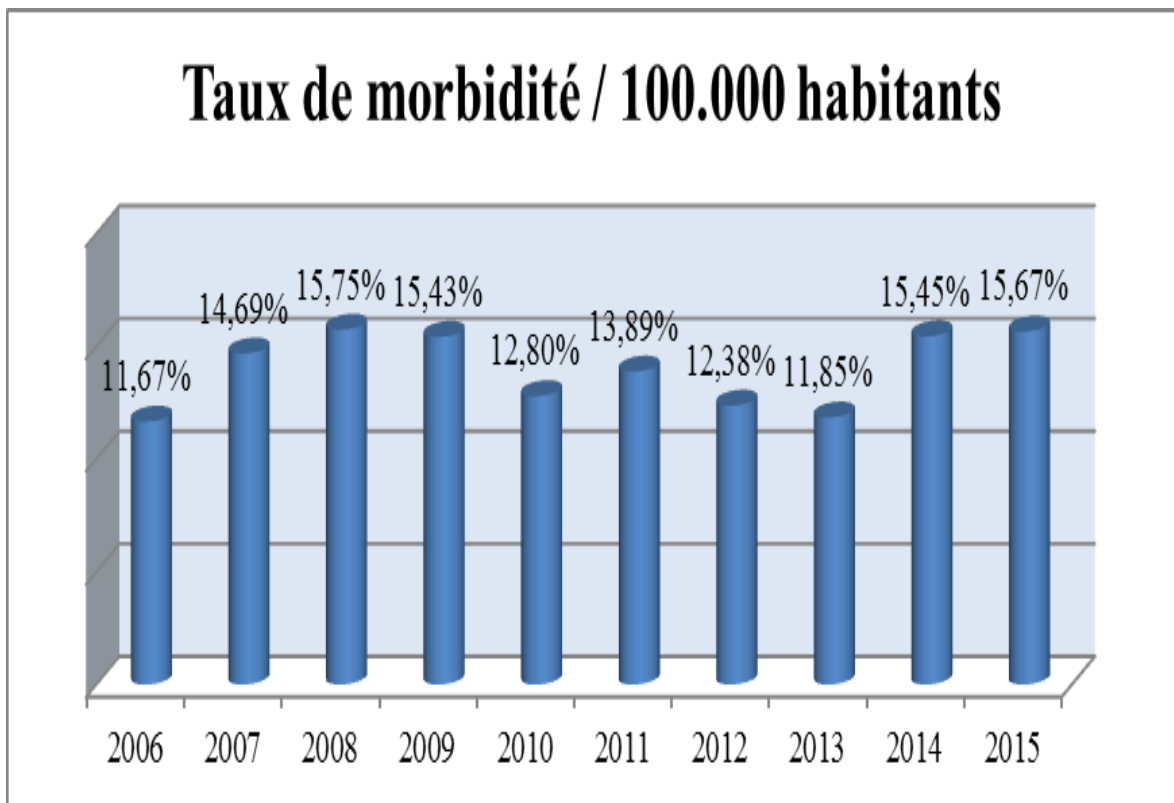


Figure 3 : Évolution des cas de TIAC en Algérie entre 2006 et 2015

(Source : Institut national de santé publique).

2.1.2.2. Sérovars incriminés

Bien que différents sérovars aient été associés aux salmonelloses, un nombre limité d'entre eux, en moyenne 200, sont isolés chaque année. Certains ont une présence permanente et dominante, tel *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, et *S. Heidelberg* (figure 4), alors que d'autres émergent et disparaissent sans explication valable (Andino & Hanning., 2015 ; Chlebicz & Ślizewska, 2018). *S. Enteritidis* était le sérovar le plus

fréquent dans l'UE (39,5% en 2013) et aux États-Unis (14,5% en 2012), suivi de *S. Typhimurium* (28,8% dans l'UE, 2013; 11,6% aux États-Unis) (Antunes *et al.*, 2016). *S. Enteritidis* était, le sérovar le plus répandu en Asie et en Amérique latine représentant respectivement 38% et 31% des isolats cliniques (Eng *et al.*, 2015). *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* suivis par *S. Kentucky* étaient les sérovars les plus isolés des denrées alimentaires dans la méta-étude récente menée par Al-Rifai *et al.* (2020) et qui a concerné l'Afrique du Nord et le Moyen Orient. En Afrique, Arya *et al.* (2017) et Marks *et al.* (2017) ont montré que *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* sont les sérovars les plus incriminés dans les salmonelloses non typhiques enregistrées. Selon les données rapportées par Eng *et al.* (2015), *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* étaient également les deux sérotypes les plus fréquents, observés respectivement dans 26% et 25% des isolats responsables des infections salmonelliques non typhiques en Afrique. D'autres sérovars, tels que *S. Dublin* et *S. Stanleyville*, étaient isolés de à partir de plusieurs cas enregistrés dans d'autres pays africains (MacLennan & Levine *et al.*, 2013).

Néanmoins, il est considéré que tous les sérovars de *Salmonella* sont potentiellement pathogènes et peuvent déterminer chez le consommateur un syndrome de gastro-entérite fébrile.

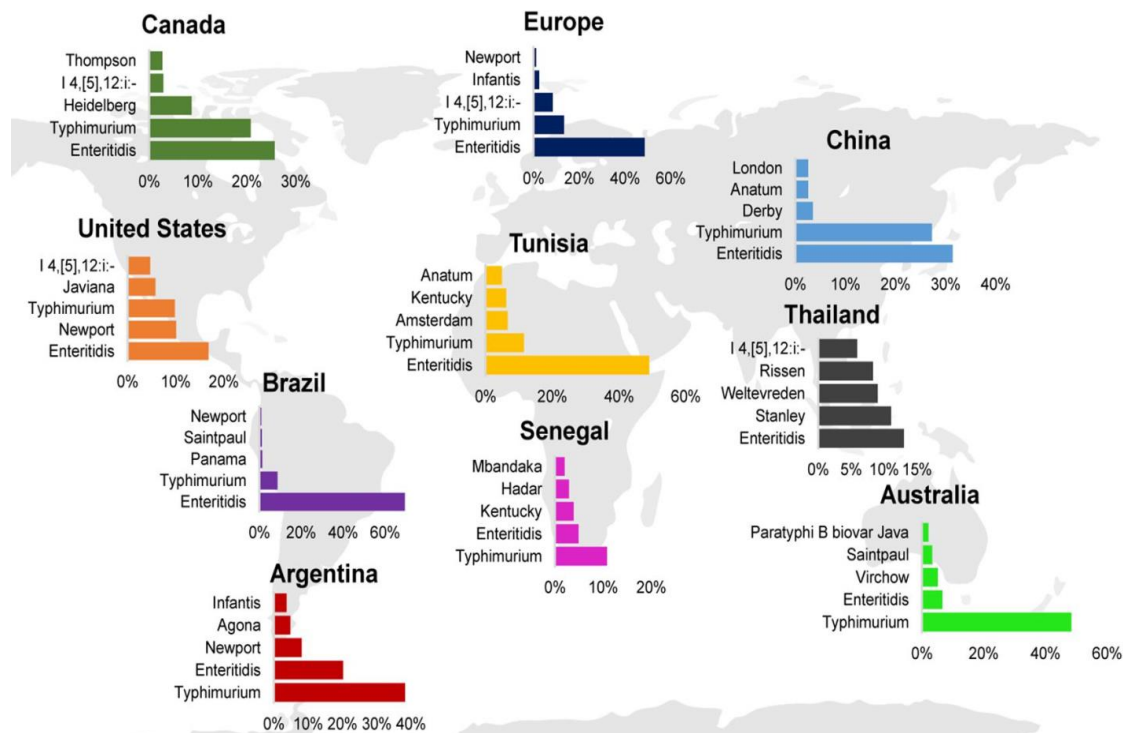


Figure 4: Répartition mondiale des 5 principaux sérovars de *Salmonella* non typhiques associés à une maladie clinique humaine de 2004 à 2016 (Cheng *et al.*, 2019)

2.1.2.3. Transmission et facteurs de risque

La transmission des salmonelles non typhiques à l'Homme se fait essentiellement par l'ingestion d'aliments contaminés, crus ou peu cuits ou recontaminés après l'étape de cuisson, et dans lesquels la bactérie a eu la possibilité de se multiplier (figure 5). La part de la transmission de l'infection, par la voie alimentaire, est estimée à 85 % (Hung *et al.*, 2017; Chlebicz & Ślizewska, 2018). Les autres voies de transmission peuvent être directes, interhumaines ou par contact avec des animaux infectés par *Salmonella* dans les maisons, les cliniques vétérinaires, les jardins zoologiques ou l'environnement contaminé (Wei *et al.*, 2014; Eng *et al.*, 2015; Mughini-Gras *et al.*, 2018; Heredia & García, 2018).

Les denrées alimentaires d'origine animale, comme les viandes de boucherie, les produits laitiers, la dinde, la volaille, les œufs et les ovoproduits sont les aliments incriminés en premier lieu (de Freitas Neto *et al.*, 2010; Hoelzer *et al.*, 2011; Pui *et al.*, 2011; Kemal, 2014; Loftus, 2014; Chen *et al.*, 2016; Crump & Wain, 2017; Chlebicz & Ślizewska, 2018; Heredia & García, 2018), mais aussi à un degré moindre, les crèmes glacées et pâtisseries, et les fruits de mer crus ou insuffisamment cuits (Nyachuba, 2010; Painter *et al.*, 2013). Récemment, de plus en plus de rapports établissent un lien entre les légumes crus et les fruits contaminés par *Salmonella* et les toxi-infections alimentaires (de Freitas Neto *et al.*, 2010; Wiedemann *et al.*, 2015; Chlebicz & Ślizewska, 2018; Cheng *et al.*, 2019).

La consommation de viande crue ou insuffisamment cuite reste un facteur de risque de la salmonellose attribuable aux différentes productions principales de viande (Kemal, 2014; Mughini-Gras *et al.*, 2018). Le processus d'abattage des animaux destinés à la consommation humaine dans les abattoirs est considéré comme l'une des principales sources de contamination des carcasses et des abats par *Salmonella* (Eng *et al.*, 2015). Les pratiques de cuisine comme par exemple la fréquence de nettoyage des surfaces ou le fait de ne pas utiliser une planche à découper pour la viande crue sont des facteurs de risque spécifiques de l'infection par les salmonelles (Nyachuba, 2010; Mughini-Gras *et al.*, 2018). Le contact avec les animaux est responsable d'un certain nombre de cas de salmonelloses humaines chaque année (de Freitas Neto *et al.*, 2010), et le risque pour la santé publique varie selon les espèces animales, le groupe d'âge, la pratique de l'élevage et l'état de santé. Certaines sous-populations humaines sont considérées plus à risque suite à des facteurs de risque biologiques ou comportementaux (Jajere, 2019).

De nombreuses infections humaines causées par contact direct avec des animaux tels que le bétail, les chevaux, les chats, les chiens etc. sont attribuées à des causes professionnelles,

à l'environnement agricole et à la contamination au niveau familial (de Freitas Neto *et al.*, 2010; Hoelzer *et al.*, 2011). L'utilisation d'antibiotiques est un facteur de risque de salmonellose associée aux bovins ainsi que l'utilisation de certains médicaments pour usage humain qui réduisent la barrière acide de l'estomac (inhibiteurs de la pompe à protons) augmentant ainsi le risque de contracter la salmonellose (Kemal, 2014; Chen *et al.*, 2016; Crump & Heyderman, 2015; Mughini-Gras *et al.*, 2018).

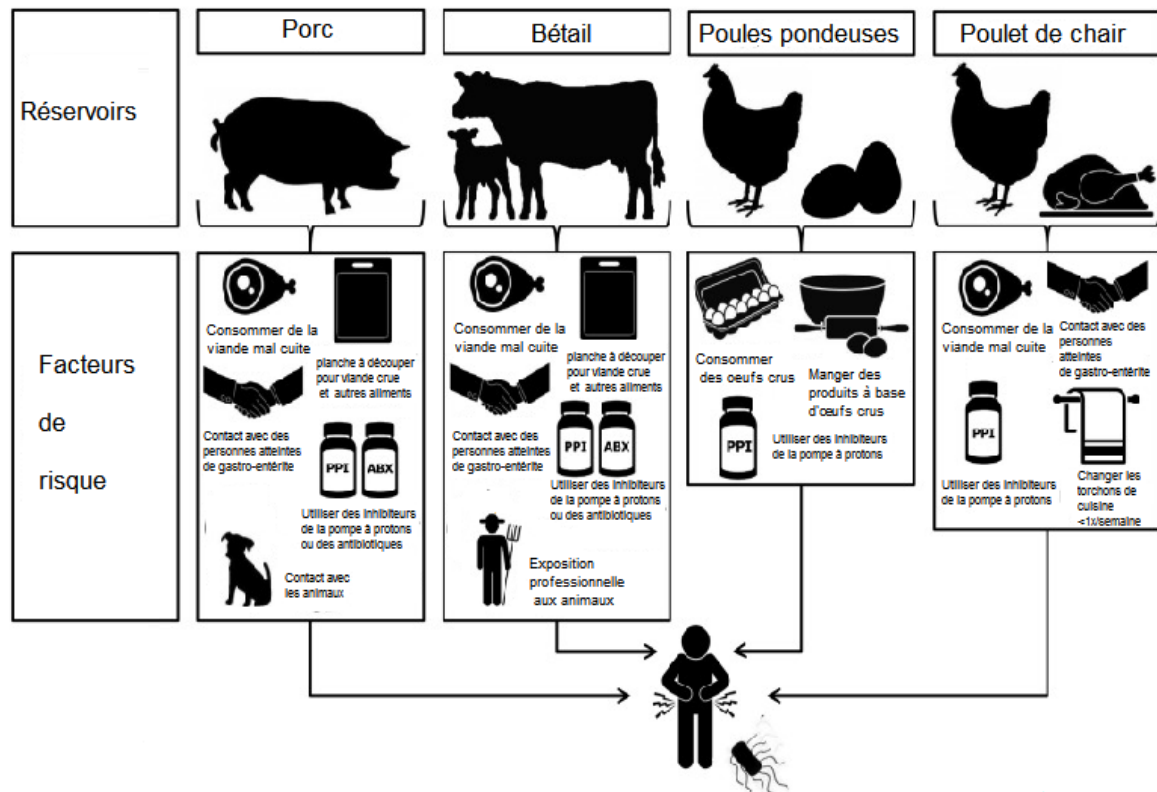


Figure 5 : Exemple schématique des facteurs de risque spécifiques de la salmonellose humaine (Mughini-Gras *et al.*, 2018)

2.1.2.4. Étude clinique

La maladie se présente sous deux aspects : épidémie dans les collectivités (TIAC), ou, cas sporadiques isolés. Les premiers signes surviennent 4 à 72 h après l'ingestion de l'aliment contaminé (Chen *et al.*, 2013; Kemal, 2014; Dekker & Frank, 2015; Kurtz *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2020). La durée d'incubation est fonction de la souche et de la dose infectante ingérée (Barceloux, 2008; Wei *et al.*, 2014; Palmer & Slauch, 2017 ; Chlebicz & Śliżewska, 2018). La symptomatologie débute par des maux de tête, des vomissements, de la fièvre (39 à 40°C), suivis par des douleurs abdominales pouvant irradier vers les cuisses,

des diarrhées nauséabondes parfois sanguinolentes, avec des frissons, faiblesse et prostration (Barceloux, 2008 ; Gal-Mor *et al.*, 2014; Andino & Hanning., 2015; Hung *et al.*, 2017; Kurtz *et al.*, 2017; Heredia & García, 2018). Une déshydratation sévère et une septicémie peuvent se manifester chez les enfants, les vieillards et les immunodéprimés (Kemal, 2014; Hung *et al.*, 2017; Palmer & Slauch, 2017).

Généralement, tout rentre dans l'ordre en 2 à 3 jours à une semaine (Gal-Mor *et al.*, 2014; Dekker & Frank, 2015), alors que l'excrétion intermittente des salmonelles pourrait durer plusieurs mois à quelques années (Loftus, 2014; Kurtz *et al.*, 2017). Les enfants sont porteurs plus longtemps que les adultes (Gunn *et al.*, 2014; Chlebicz & Śliżewska, 2018). Une étude de Yeung *et al.* (2004) suggère que l'administration d'antibiotiques prolonge l'excrétion fécale des salmonelles.

Exceptionnellement, dans les cas les plus sévères, les salmonelles pourraient envahir tout l'organisme, et déclencher une septicémie avec leucopénie, et des complications chroniques possibles d'ostéomyélites, endocardites, méningites, glomérulonéphrites, cholécystites, atteintes pulmonaires et artérielles (Biswas *et al.*, 2011 ; Loftus, 2014; Eng *et al.*, 2015; Hung *et al.*, 2017; Chlebicz & Śliżewska, 2018; Wang *et al.*, 2020).

Une petite proportion (2%) des cas pourrait évoluer vers le syndrome de Reiter caractérisé par des douleurs articulaires, irritations oculaires, urination douloureuse, et ulcères cutanés, la guérison survient généralement dans 3 à 4 mois, mais des cas chroniques sont parfois enregistrés (Barceloux, 2008; Andino & Hanning., 2015; Heredia & García, 2018).

2.2. Salmonelloses animales

Les animaux se contaminent par l'intermédiaire d'eau ou d'aliments souillés par de la terre et surtout par des déjections d'autres animaux, de leurs congénères ou des êtres humains (Cummings *et al.*, 2010a). Dans un troupeau dans lesquels des animaux sont infectés, l'excrétion fécale, généralement intermittente de la bactérie, pourrait se poursuivre pendant plusieurs années avec des pics d'excrétion en particulier autour des vêlages (Nielsen *et al.*, 2012), ces animaux sont dits animaux porteurs. Les infections à *Salmonella* provoquent le plus souvent une entérite et une diarrhée. La bactérie peut également envahir le corps pour provoquer une septicémie.

La prévalence et la distribution des sérovars de *Salmonella* parmi les animaux varie considérablement dans le temps, l'espèce, les régions géographiques, les groupes d'âge, les manifestations cliniques et les types d'élevage (Hoelzer *et al.*, 2011; Arya *et al.*, 2017).

Chlebicz et Ślizewska (2018) récapitulent dans le tableau 4 les principaux sérovars isolés des animaux dans les pays de l'EU.

Tableau 4 : Sérovars de *Salmonella* spp. les plus souvent isolés des réservoirs d'animaux dans les pays de l'Union européenne (Chlebicz & Ślizewska, 2018)

Année	Animal		
	Poulet	Bovins	Dinde
Sérovars de <i>Salmonella</i>			
2014	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>
	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Infantis</i>
	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Dublin</i>	<i>S. Derby</i>
	<i>S. Mbandaka</i>	<i>S. Mbandaka</i>	<i>S. Enteritidis</i>
	<i>S. Livingstone</i>	<i>S. Coeln</i>	<i>S. Newport</i>
	<i>S. Kedougou</i>	<i>S. Give</i>	<i>S. Hadar</i>
	<i>S. Senftenberg</i>	<i>S. Montevideo</i>	<i>S. Stanley</i>
	<i>S. Kentucky</i>	<i>S. Anatum</i>	<i>S. Saintpaul</i>
	<i>S. Typhimurium Copenhagen</i>	<i>S. Bredeney</i>	<i>S. Virchow</i>
	<i>S. Brandenburg</i>	<i>S. Typhimurium Copenhagen</i>	<i>S. Kottbus</i>
2015	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>
	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Infantis</i>
	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>
	<i>S. Derby</i>	<i>S. Dublin</i>	<i>S. Derby</i>
	<i>S. Typhimurium monophasic</i>	<i>S. Typhimurium monophasic</i>	<i>S. Typhimurium monophasic</i>
	<i>S. Livingstone</i>	<i>S. Mbandaka</i>	<i>S. Newport</i>
	<i>S. Mbandaka</i>	<i>S. Newport</i>	<i>S. Kedougou</i>
	<i>S. Cerro</i>	<i>S. Goldcoast</i>	<i>S. Branderburg</i>
	<i>S. Thompson</i>	<i>S. Brandenburg</i>	
	<i>S. Kedougou</i>		
2016	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>
	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>
	<i>S. Typhimurium monophasic</i>	<i>S. Typhimurium monophasic</i>	<i>S. Typhimurium monophasic</i>
	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Infantis</i>
	<i>S. Derby</i>	<i>S. Derby</i>	<i>S. Derby</i>

2.2.1. Salmonelloses bovines

Les infections à *Salmonella* sont une cause importante de mortalité et de morbidité chez les bovins et on trouve fréquemment des bovins infectés de manière subclinique (Chlebicz & Śliżewska, 2018). La salmonellose bovine est présente dans le monde entier et a été associée principalement aux sérovars Dublin et Typhimurium (Mohler *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2012; Kemal, 2014; Langridge *et al.*, 2015; Arya *et al.*, 2017; Demirbilek, 2017). D'autres sérovars sont associés sporadiquement aux infections bovines (Cummings *et al.*, 2010b; La Ragione *et al.*, 2013).

La maladie touche les animaux de façon isolée mais pourrait parfois prendre une forme épidémique. Les symptômes de la salmonellose chez les bovins peuvent inclure des diarrhées parfois hémorragiques accompagnées de fièvre, anorexie, déshydratation, et diminution de la production laitière (Mohler *et al.*, 2009; Cummings *et al.*, 2010a ; Costa *et al.*, 2012; Arya *et al.*, 2017; Chlebicz & Śliżewska, 2018), bien que de nombreuses infections restent asymptomatiques (Cummings *et al.*, 2010b). Des avortements peuvent également survenir, indépendamment ou non des cas de diarrhées (Costa *et al.*, 2012; La Ragione *et al.*, 2013; Andino & Hanning, 2015). Les bovins infectés par des sérovars spécifiques à l'hôte tels que *S. Dublin* continuent à excréter *Salmonella* de manière intermittente, sur des durées variables plus ou moins longues par rapport à ceux contaminés par les autres sérovars à large spectre d'hôtes (Hoelzer *et al.*, 2011; Kemal, 2014). Les bovins infectés pourraient excréter jusqu'à 10^8 CFU de *Salmonella*/ g de fèces (Barrow *et al.*, 2010; Demirbilek, 2017).

Le bétail constitue donc un important réservoir d'infections humaines. Les bovins jouent un rôle primordial en tant que source des infections d'origine alimentaire, et un nombre considérable de sérovars fréquemment isolés chez l'homme, souvent résistants aux antibiotiques, ont été isolés chez des bovins malades ou apparemment sains (Hoelzer *et al.*, 2011; Kemal, 2014). Les denrées alimentaires à base de viande bovine figurent parmi les cinq principaux produits liés aux TIAC à *Salmonella* spp. (Andino & Hanning, 2015). La contamination fécale des carcasses de bovins au moment de l'abattage serait la principale source de transmission (Cummings *et al.*, 2010a; Chlebicz & Śliżewska, 2018).

2.2.2. Salmonelloses ovines

Comparée à la salmonellose bovine, l'incidence générale de la maladie chez les ovins est faible dans la plupart des pays (Uzzau, 2013; Demirbilek, 2017).

La gravité et la manifestation clinique de l'infection à *Salmonella* chez les petits ruminants diffèrent selon le groupe d'âge et le sérovar en cause. La salmonellose entérique aiguë est fréquente chez les ovins adultes, entraînant une fièvre, une anorexie et des diarrhées, tandis que la septicémie est fréquente chez les jeunes animaux (Martín-Atance *et al.*, 2012; Chirilă *et al.*, 2017). Le portage asymptomatique et la gastro-entérite chronique ont également été décrits (Uzzau, 2013). Des cas d'avortements dus à une infection par des sérovars tels que *S. Typhimurium* ou *S. Dublin* ont été enregistrés (Hoelzer *et al.*, 2011; Martín-Atance *et al.* 2012), mais l'avortement est le plus souvent causé par *Salmonella* Abortusovis, un sérovar adapté aux ovins qui infecte aussi occasionnellement les chèvres (Valdezate *et al.*, 2007; Belloy *et al.*, 2009; Wirz-Dittus *et al.* 2010). D'autres sérovars, tels que *S. Typhimurium*, *S. Dublin* et *S. Montevideo* peuvent également provoquer des infections chez les ovins (Barrow *et al.*, 2010; Duncanson, 2012; Chirilă *et al.*, 2017).

Durant les dernières années, l'examen des ovins en bonne santé, en âge d'abattage a permis l'identification et le signalement de plusieurs espèces de *Salmonella*, en raison de problèmes de santé publique liés à l'introduction de ces sérovars dans la chaîne alimentaire humaine (Demirbilek, 2017). Ainsi, la salmonellose ovine pourrait constituer un important réservoir zoonotique d'infection humaine, et plusieurs études ont rapporté une transmission de salmonelles par le biais des aliments d'origine ovine à l'homme (Baker *et al.*, 2007; Vanselow *et al.*, 2007; Hess *et al.*, 2008; Belloy *et al.*, 2009; Uzzau, 2013).

2.2.3. Salmonelloses aviaires

Les volailles sont en général des porteurs sains (Hoelzer *et al.*, 2011; Tessari *et al.*, 2012), et l'incidence technico-économique du portage du poulet de chair semble être minime, en fait, c'est le rôle des salmonelles dans les toxi-infections alimentaires collectives qui explique leur importance dans la filière (Antunes *et al.*, 2016). Il est à noter que les pertes directes par des salmonelles en élevage aviaire sont en général mineures alors que les conséquences hygiéniques pour l'alimentation humaine et les pertes indirectes liées aux limitations commerciales qui en découlent, par leur fréquence et leur gravité, en font une zoonose majeure.

Chez la volaille, les sérovars *S. Gallinarum* et *S. Pullorum* exclusivement associés à cette filière induisent souvent une pathologie sévère, voire létale (Elgroud, 2008; de Freitas Neto *et al.*, 2010; Lutful Kabir, 2010; Langridge *et al.*, 2015; Nwabor *et al.*, 2015; Demirbilek, 2017; Chlebicz & Ślizewska, 2018; Jajere, 2019). Cependant, la plupart des sérovars peuvent infecter toute une série d'hôtes différents et causent en général des infections asymptomatiques. S'il existe de nombreux sérovars de salmonelles ubiquistes connus chez le poulet (plus de 200 ont été identifiés chez les volailles), *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Kentucky*, *S. Hadar* et *S. Heidelberg* prédominent dans les problèmes liés à la santé publique (Barrow *et al.*, 2010; Lutful Kabir, 2010; Andino & Hanning, 2015; Antunes *et al.*, 2016; Demirbilek, 2017; Chlebicz & Ślizewska, 2018).

3. Pouvoir pathogène

Les salmonelles ne créent en général des réactions cliniques que si elles sont ingérées en quantité suffisante. Chez l'homme en bonne santé, la dose infectieuse est généralement de 10^4 à 10^8 bactéries/g d'aliment (Bell & Kyriakides, 2009; Chen *et al.*, 2013). Cependant, cette notion de charge microbienne n'est pas toujours vérifiée, des toxi-infections causées par l'ingestion de très faibles doses (d'environ 10 cellules) ont été signalées (Bell & Kyriakides, 2009; Nwabor *et al.*, 2015; Antunes *et al.*, 2016), ceci est dû à plusieurs facteurs:

✓ Tenant à l'homme : la sensibilité varie avec :

- L'Age : outre les gastroentérites, des cas de septicémies sévères parfois fatales sont souvent enregistrés chez les nourrissons, les enfants en bas âge ainsi que les personnes âgées (Scallan *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2013; Eng *et al.*, 2015; Kurtz *et al.*, 2017; Palmer & Schlauch, 2017).

Le rapport de l'ECDC (2016) montre que le taux le plus élevé de cas de salmonelloses enregistrés durant l'année 2014 a été observé chez les jeunes enfants âgés de 0 à 4 ans. Ce taux était presque trois fois plus élevé que chez les enfants plus âgés et au moins six fois plus élevé que dans les autres groupes d'âge.

- L'état de santé : les malades, les convalescents, les gastrectomisés, les immunodéprimés sont les plus prédisposés (Bell & Kyriakides, 2009; Nwabor *et al.*, 2015 ; Palmer & Schlauch, 2017).

Dans ces deux cas, l'acidité gastrique est réduite, ce qui permet aux germes de franchir la barrière stomacale plus facilement et en plus grande quantité (D'Aoust & Maurer, 2007), ou de se multiplier massivement à partir d'une quantité initiale faible (Humbert., 2005).

✓ Tenant à l'aliment : il a été noté que la maladie pourrait être due à l'ingestion d'un nombre beaucoup plus faible de germes s'ils sont ingérés comme une part d'un aliment contaminé (Waterman & Small., 1998). D'autre part, de faibles doses infectieuses de 10 à 100 cellules de *S. enterica* ont été signalées lors de TIAC impliquant des aliments riches en lipides comme le chocolat, le beurre d'arachide et le salami (Barceloux, 2008; Bell & Kyriakides, 2009; Trinetta *et al.*, 2019). On pense que ce genre d'aliments joue un rôle protecteur pour le germe vis-à-vis de l'acidité gastrique, des enzymes digestives et des sels biliaires (Aviles *et al.*, 2013).

Les doses infectantes sont aussi moins élevées lorsqu'elles sont ingérées dans les liquides à cause du passage rapide par le milieu acide dans l'estomac (D'Aoust & Maurer, 2007).

✓ Tenant au germe : pour les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, quelques cellules suffisent pour déclencher l'infection, alors que la dose infectante est généralement élevée pour les toxi-infections alimentaires et varie selon le sérovar en cause (Barceloux, 2008). Les sérotypes *S. Pullorum* et *S. Gallinarum* sont considérés parmi les moins pathogènes pour l'homme, alors que le *S. Choleraesuis*, *S. Dublin*, et *S. Enteritidis* sont les plus pathogènes (Jay *et al.*, 2005; D'Aoust & Maurer, 2007).

3.1. Pathogénie

La pathogénie des infections à *Salmonella* a été particulièrement étudiée, et si des zones d'ombres subsistent encore, les grandes étapes sont désormais assez bien connues. Ces infections résultent d'une interaction complexe entre les déterminants de la virulence bactérienne et les mécanismes de défense de l'hôte (figure 6).

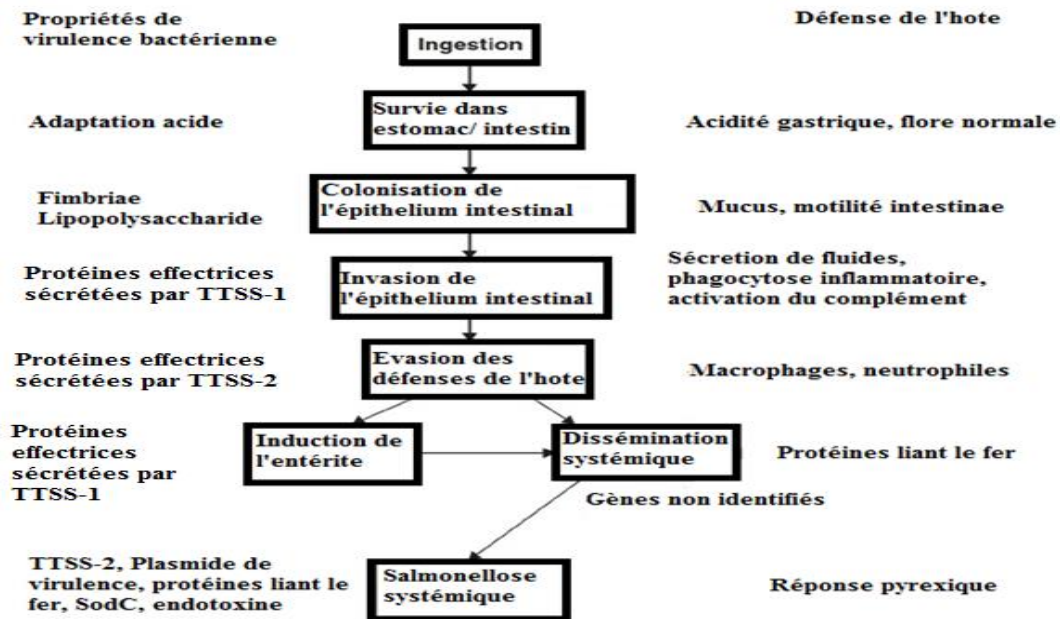


Figure 6: Attachement, colonisation, invasion, propriétés de virulence et mécanisme de défense de l'hôte contre *Salmonella* (Kemal, 2014)

Les caractéristiques essentielles de la pathogénie des salmonelles sont leur capacité à entrer dans les cellules-hôtes et à y demeurer comme parasite intracellulaire facultatif (Gog *et al.*, 2012). Dans les conditions naturelles, les salmonelles typhiques et non typhiques sont typiquement acquises par l'ingestion orale (Akyala & Alsam, 2015; Eng *et al.*, 2015; Pham & McSorley, 2015; Graziani *et al.*, 2017).

Avant de pouvoir infecter l'hôte, les cellules de *Salmonella* ingérées doivent réussir à survivre à l'action bactéricide des lactoperoxydases dans la salive et le pH acide de l'environnement gastrique, afin de pénétrer dans l'intestin grêle où se trouve également des agents enzymatiques (Singh *et al.*, 2018).

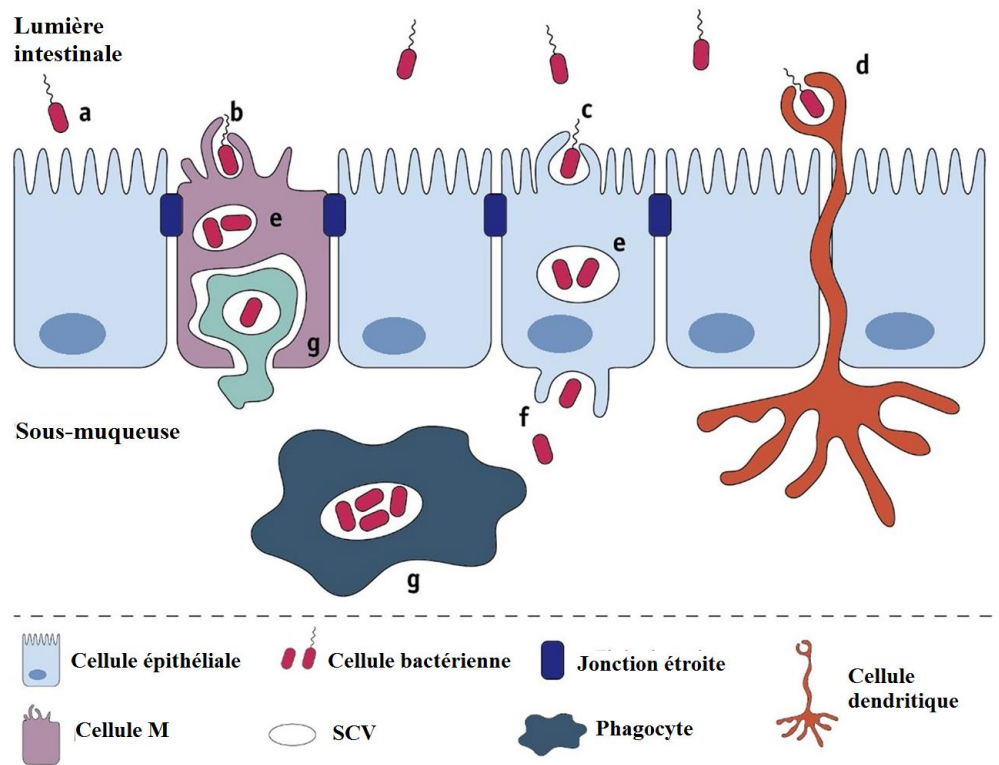
Une fois dans l'intestin grêle (figure 7), les salmonelles peuvent, le plus rapidement possible, adhérer et traverser la muqueuse intestinale au niveau des récepteurs cellulaires spécifiques, déclenchant ainsi une série de réactions aboutissant à un remaniement du cytosquelette (Hallstrom & McCormick, 2011; Velge *et al.*, 2012; Boumart *et al.*, 2014).

L'invasion de l'épithélium intestinal provoque une gastro-entérite par multiplication dans le tissu lymphoïde associé (plaques de Peyer), et la destruction de la bordure en brosse des entérocytes (D'Aoust & Maurer, 2007; La Ragione *et al.*, 2013; Eng *et al.*, 2015; Pham & McSorley, 2015). Ceci est réalisé grâce au système de sécrétion de type III (TTSS1), et

aussi aux fimbriae et/ou les adhésines non fimbriales à la surface de *Salmonella* qui peuvent également induire une fixation et une internalisation via un processus indépendant de T3SS1 (Ibarra & Steele-Mortimer, 2009; Hurley *et al.*, 2014).

La progression de la maladie vers une infection disséminée résulte de l'envahissement des ganglions mésentériques suivi par une phase de multiplication dans les macrophages et les cellules réticulo-endothéliales, induisant une réponse inflammatoire et la sécrétion d'une entérotoxine diarrhéique (Ibarra & Steele-Mortimer, 2009; Hallstrom & McCormick, 2011; Boumart, *et al.*, 2014; Akyala & Alsam, 2015; Pham & McSorley, 2015; Graziani *et al.*, 2017).

Les salmonelles, ayant la propriété de survivre dans les phagocytes, accèderont à la circulation sanguine, puis infecteront les organes secondaires du système réticulo-endothélial tels que le foie, la rate, la vésicule biliaire et la moelle osseuse (Hurley *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020).



a *Salmonella* adhère à l'épithélium intestinal et aux cellules M en utilisant de nombreux facteurs d'adhérence présents à la surface de sa cellule.

b, c Les protéines effectrices sont libérées dans l'entérocyte, ce qui provoque un remaniement du cytosquelette

d Alternativement, les cellules bactériennes peuvent être prélevées directement par les cellules dendritiques de la sous-muqueuse

e Une fois dans le cytoplasme, les cellules de *Salmonella* sont localisées dans le SCV (*Salmonella* containing vacuoles), où elles se multiplient.

f Le SCV passe par transcytose à la membrane basolatérale et se libère à la sous-muqueuse.

g Les bactéries sont internalisées dans les phagocytes, puis à nouveau localisées dans le VSC

Figure 7 : Pathogenèse d'une infection à *Salmonella* (Dos Santos *et al.*, 2018)

3.2. Facteurs de virulence chez *Salmonella*

Afin de surmonter les défenses immunitaires de l'hôte et causer une infection, *Salmonella* dispose d'un arsenal de facteurs de virulence communs à la plupart des sérovars (figure 8). Une grande portion des gènes encodant ces facteurs se trouvent au niveau des SPI (*Salmonella* pathogenicity islands), alors que d'autres se trouvent au niveau des plasmides ou ailleurs dans le chromosome bactérien (de Jong *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 2018). A ce jour, plus de 300 gènes de virulence et une vingtaine de SPI ont été décrits (Graziani *et al.*, 2017).

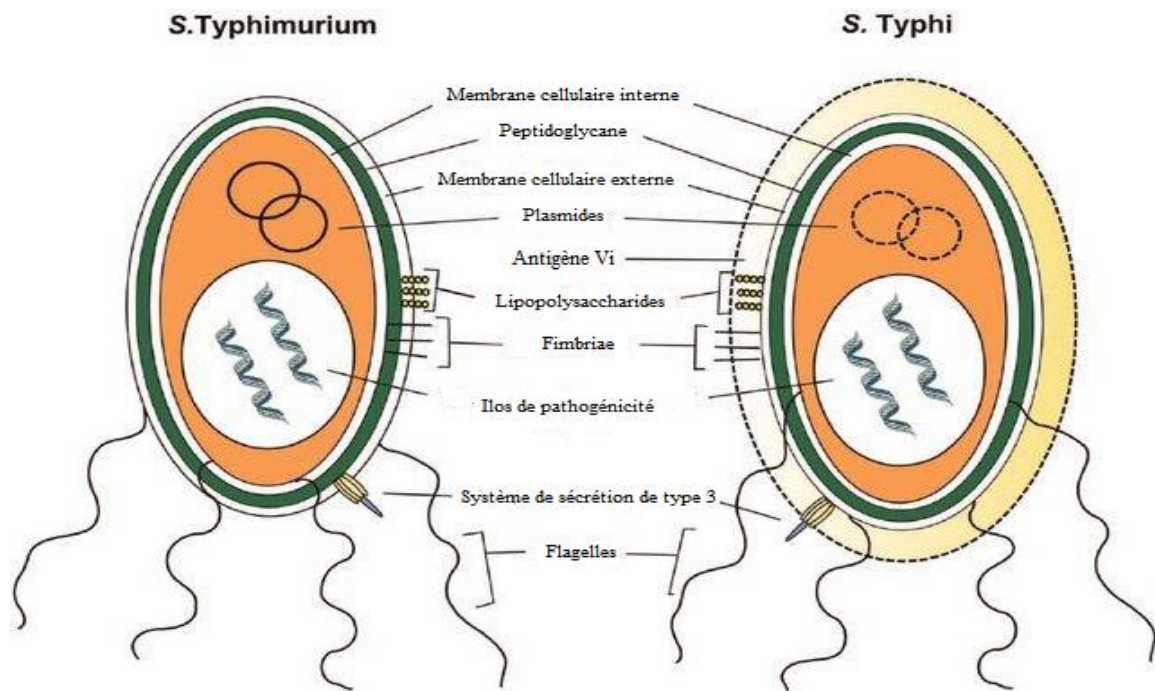


Figure 8 : Facteurs de Virulence de *S. Typhimurium* et *S. Typhi* (de Jong *et al.*, 2012)

3.2.1. *Salmonella* Pathogenicity Islands (SPI)

Les SPI sont de grandes régions d'ADN génomique (de 10 à 100 kb) caractérisées par leur absence du chromosome chez *E. coli* et un contenu en G et C qui diffère de la composition moyenne de l'ensemble du génome (qui est d'environ 52% chez *Salmonella*) (Dos Santos *et al.*, 2018). Ces SPIs, dont les variations structurales, fonctionnelles et la prévalence peuvent varier d'un sérovar à l'autre, jouent un rôle dans la spécificité de l'hôte et leur degré d'invasivité.

Les génomes des sérovars Typhimurium et Typhi possèdent 11 SPI en commun (SPI-1 à 6, 9, 11, 12, 13 et 16). Les SPI-8 et SPI-10 ont été identifiés chez *S. Typhi*. Par ailleurs, un seul SPI est retrouvé uniquement chez *S. Typhimurium*, le SPI-14, et six SPI sont présents uniquement chez *S. Typhi* (SPI-7, 8, 10, 15, 17 et 18). Récemment, le SPI-19 fut identifié chez les sérovars Dublin, Weltevreden, Agona, Gallinarum et Enteritidis (Sabbagh *et al.*, 2010), les SPI-20 et SPI-21 furent détectés chez la sous-espèce *arizonae* sérovar 62:z4,z23:- (Blondel *et al.*, 2009), le SPI-22 chez la sous-espèce *bongori* (Cheng *et al.*, 2019) et le SPI-23 chez *S. Derby* (Sévellec *et al.*, 2018).

Parmi 5 îlots majeurs (figure 9), SPI-1 et SPI-2 qui à eux deux contiennent plus de 75 gènes de virulence, demeurent les plus grandement étudiés.

• SPI-1 représente un îlot de 43 kb acquis par le transfert génétique horizontal, portant les éléments du premier système de sécrétion T3SS-1 (Boumart *et al.*, 2014; Jennings *et al.*, 2017; Yoo *et al.*, 2017; Bernal-Bayard & Ramos-Morales, 2018; dos Santos *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2019; Khajanchi *et al.*, 2019; Lou *et al.*, 2019). Ce système sécrète au moins une quinzaine d'effecteurs dans le cytosol eucaryote et déclenche une réorganisation du cytosquelette de la cellule épithéliale hôte et joue ainsi un rôle primordial dans la pénétration de *Salmonella* dans les cellules non phagocytaires (Ibarra & Steele-Mortimer, 2009; Lahiri *et al.*, 2010; Ramos-Morales, 2012; Anderson & Kendall, 2017; Viala *et al.*, 2017; Herhaus & Dikic, 2018). Par ailleurs, plusieurs effecteurs du SST3-1 participent à des événements suivant l'invasion de la cellule, dont la formation et le positionnement de la SCV (*Salmonella*-containing vacuoles) (Gog *et al.*, 2012; Ruby *et al.*, 2012; Hurley *et al.*, 2014; Arya *et al.*, 2017; Ilyas *et al.*, 2017; Dos Santos *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2018 ; Roland *et al.*, 2020). Le SPI-1 encode aussi pour les chaperons, ainsi que pour un système de captation du fer encodé par l'opéron *sitABCD*, (Song *et al.*, 2017; Lopez & Skaar, 2018; Khajanchi *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020). L'îlot SPI-1 comprend plus de 35 gènes (Viala *et al.*, 2017; Yoo *et al.*, 2017) qui peuvent être divisés en 3 opérons majeurs: les opérons *prg/org* et *inv/spa* codent pour les composants structuraux de l'appareil de sécrétion et l'opéron *sic/sip* code pour les protéines effectrices et le translocon (*SipBCD*), une structure formant des pores qui s'incruste dans la membrane de la cellule hôte permettant le passage des effecteurs vers le cytoplasme (Fàbrega & Vila, 2013; Song *et al.*, 2017; Viala *et al.*, 2017). *Salmonella bongori* et tous les sérovars de *Salmonella enterica* possèdent cet îlot de pathogénicité (Lahiri *et al.*, 2010; Ramos-Morales, 2012).

• L'îlot SPI-2 : est une séquence chromosomique de 40 kb, qui contient environ 40 gènes, regroupés en quatre opérons (Hurley *et al.*, 2014; Dos Santos *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020):

✓ Le *ssa* code pour le système de sécrétion de type 3, le T3SS-2 est structuralement proche du 1er système de sécrétion, et ressemble également à un « injectisome », traverse les membranes internes et externes de la bactérie ainsi que la membrane plasmique de la cellule hôte et garantit à la bactérie sa survie et sa prolifération dans le macrophage (Ibarra & Steele-Mortimer, 2009; Lahiri *et al.*, 2010 ; Ramos-Morales, 2012; Anderson & Kendall, 2017; Ilyas *et al.*, 2017; Jennings *et al.*, 2017; Bernal-Bayard & Ramos-Morales, 2018; Herhaus & Dikic, 2018; Cheng *et al.*, 2019; Khajanchi *et al.*, 2019 ; Roland *et al.*, 2020),

- ✓ le *ssr* code pour la régulation et la biosynthèse du système de sécrétion,
- ✓ le *ssc* code pour la sécrétion du chaperon,
- ✓ le *sse* est un codeur pour les effecteurs.

(Dos Santos *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020).

Le SPI-2 se retrouve chez tous les sérovars de *Salmonella enterica* et est absent de ceux de *Salmonella bongori* (Ramos-Morales, 2012; Bernal-Bayard & Ramos-Morales, 2018; Cheng *et al.*, 2019).

• Le SPI-3 est un locus de 17 kb qui porte 10 gènes importants qui encodent pour des protéines sans relation fonctionnelle évidente les unes avec les autres, car elles interviennent à la fois pour la survie dans les macrophages et la croissance dans des conditions pauvres en ions Mg^{+2} (Hurley *et al.*, 2014; Bhunia, 2018). Parmi ces gènes, le *mgtCB*, codant pour les protéines nécessaires à la survie dans les macrophages (Wang *et al.*, 2020). D'autre part, *MisL*, une protéine codée dans SPI-3, contribue à la colonisation intestinale et est nécessaire à la persistance intestinale à long terme et participe aux interactions *Salmonella*-hôte lors de l'infection (Fàbrega & Vila, 2013; Wiedemann *et al.*, 2015; Ilyas *et al.*, 2017; Dos Santos *et al.*, 2018).

Bien que le degré de variation séquentielle de SPI-3 soit élevé parmi les différents sérovars de *Salmonella*, la structure de SPI-3 est conservée entre *S. Typhi* et *S. Typhimurium* (Singh *et al.*, 2018)

• L'îlot SPI-4 est un locus d'environ 27 Kb de taille (Hurley *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Il ne contient que six gènes organisés en un seul opéron appelé *siiABCDEF*, il joue un rôle lors de l'interaction initiale avec l'épithélium intestinal et contribue éventuellement à la persistance de la bactérie dans les cellules hôtes (Fàbrega & Vila, 2013; Wiedemann *et al.*, 2015; Yoo *et al.*, 2017; Dos Santos *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2019; Kirchweiger *et al.*, 2019)

• SPI-5 est d'environ 7,6 Kb de taille (Singh *et al.*, 2018), et est composé de cinq gènes (*pipD*, *sigD/sopB*, *sigE/pipC*, *pipB* et *pipA*) (Dos Santos *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020). Le SPI-5 code également pour les protéines effectrices du T3SS codé par SPI-1 et SPI-2 (Hurley *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2018). Parmi les cinq protéines codées, *SopB* (*SigD* chez *S. Typhimurium*) est la mieux décrite et connue pour être transloquée par le T3SS-1 dans le cytoplasme de la cellule hôte (Dos Santos *et al.*, 2018), alors que la *pipB* codée au sein de SPI-5, aurait initialement contribué à

l'entéropathogénèse de *S. Dublin* chez les bovins (Fàbrega & Vila, 2013; Hurley *et al.*, 2014).

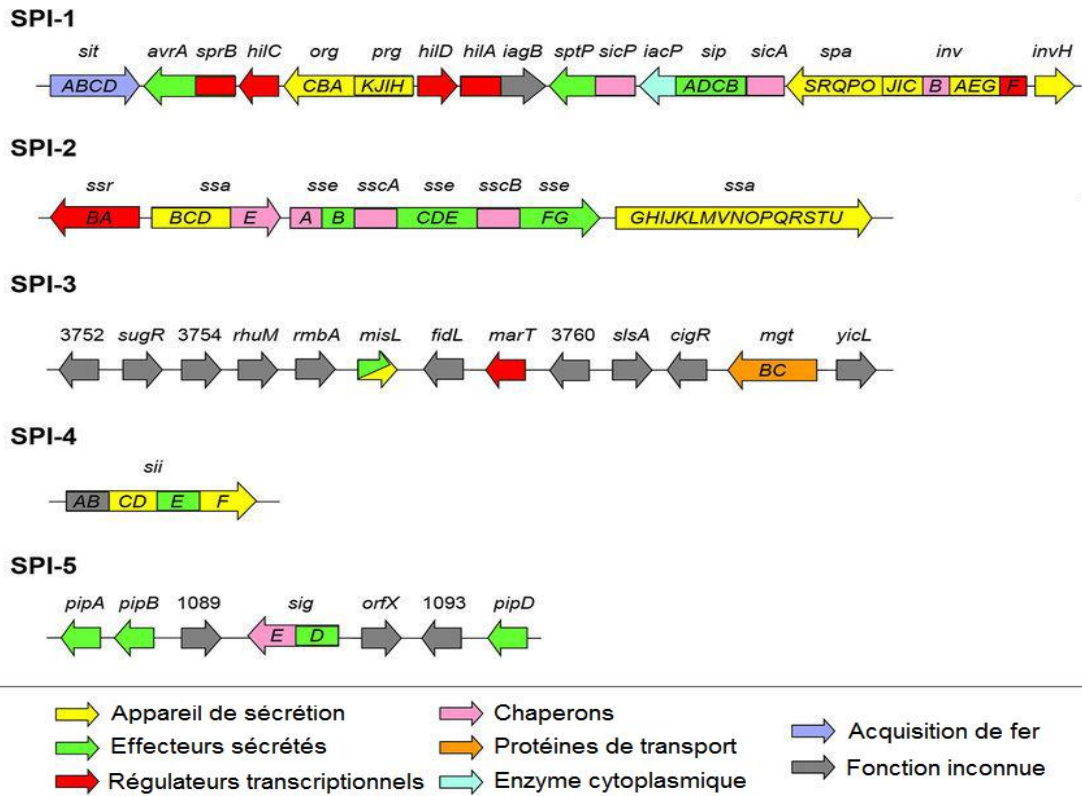


Figure 9: Représentation schématique des principaux gènes portés par les SPI 1 à 5 et leurs fonctions putatives (Fàbrega & Vila, 2013).

3.2.2. Fimbriae ou pili

Ce sont des structures à poils courts, de 2-8 nm de large et 0,5-10 µm de long, principalement composés de protéines hélicoïdales nommées fimbrines (Wiedemann *et al.*, 2015; Almeida, 2018). Ils assurent la médiation de l'adhésion des salmonelles aux cellules hôtes, aux aliments, à l'acier inoxydable, etc., et ont été impliqués dans divers autres rôles, notamment la formation de biofilms, la séroconversion, l'hémagglutination, l'invasion cellulaire et les interactions de macrophages (Jones, 2013; Jajere, 2019).

Divers types de fimbriae ont été décrits chez *S. Typhimurium* et interviennent dans l'adhésion et la formation des biofilms : Fimbriae type 1, Fimbriae en boucle (curly fimbriae), Fimbriae *Pef*, Fimbriae *Std* (Fàbrega & Vila, 2013; Wiedemann *et al.*, 2015; Johnson, 2017). Les Fimbriae Type IV ont été décrits chez *S. Heidelberg*, *S. Typhi* et *S. Paratyphi* (Sabbagh *et al.*, 2010; Karuppiah *et al.*, 2013; Dufresne & Daigle, 2017).

Les opérons putatifs qui codent pour les protéines impliquées dans la biosynthèse, la structure et l'assemblage des fimbriae sont: *agf (csg)*, *stc*, *bcf*, *fim*, *lpf*, *saf*, *stb*, *std*, *stf*, *sth*, *sti* et *stj* placés dans le chromosome et le gène *pef* qui est localisé sur un plasmide (Jones, 2013; Wiedemann *et al.*, 2015; Dufresne & Daigle, 2017; Almeida, 2018; Dos Santos *et al.*, 2018).

Ces opérons ne sont pas tous exprimés dans chaque souche de *S. enterica*, la plupart ne sont pas exprimés *in vitro*, et il est difficile de savoir lesquels sont exprimés chez les hôtes humains (Johnson, 2017).

3.2.3. Flagelles

Les flagelles constituent l'un des facteurs de virulence impliqués dans la phase initiale du processus d'infection, spécialement dans la chimiotaxie et l'attachement à la cellule (Das *et al.*, 2018). Les flagelles sont de longs appendices rotatifs, hélicoïdaux, situés à la surface des cellules bactériennes et permettent aux espèces de *Salmonella* de nager dans un milieu liquide et d'essaimer sur des surfaces solides (de Jong *et al.*, 2012; Dos Santos *et al.*, 2018).

La synthèse et les fonctions des flagelles nécessitent l'expression de plus de 50 gènes répartis sur plusieurs opérons (*flh*, *flg*, *fli*, *flj*, *mot*, *che*, *tar*, *tsr*, et *aer*) qui constituent les régulons flagellaires (Jones, 2013; Das *et al.*, 2018; Cheng *et al.*, 2019).

S. enterica exprime alternativement deux protéines filamenteuses flagellaires différentes *FljB* et *FliC*, dans un processus connu sous le nom de variation de phase flagellaire (Sabbagh *et al.*, 2010; De Maayer & Cowan, 2016; Horstmann *et al.*, 2017; Cheng *et al.*, 2019; Jajere, 2019). En fonction du gène de flagelline exprimé, *Salmonella* présente des propriétés antigéniques complètement différentes qui pourraient être avantageuses pour que ce pathogène échappe au système de défense de l'hôte (Choi *et al.*, 2017; Almeida, 2018).

3.2.4. Lipopolysaccharides (LPS)

Le lipopolysaccharide composant majeur de la membrane externe des bactéries Gram négatif, joue un rôle important dans la virulence chez les bactéries pathogènes. Le LPS permet aux salmonelles de coloniser l'intestin, et contribue à l'invasion et à la survie dans

les macrophages, ainsi, il les protège des composés toxiques tels que les antibiotiques, les sels biliaires, et les détergents (Rycroft, 2013; Wiedemann *et al.*, 2015).

Le LPS est composé de trois domaines : la région lipidique A hydrophobe interne, le noyau oligosaccharidique et la chaîne externe O polysaccharide (Rycroft, 2013; Tan & Kagan, 2014). L'antigène O est constitué de chaînes répétées de polysaccharides, de galactose, de rhamnose et de mannose.

Les études ont montré que les mutations qui causent des modifications dans la structure du LPS, en particulier le composant lipide A, représentent une stratégie de virulence commune adoptée par les bactéries pathogènes pour échapper au système immunitaire de l'hôte (Kong *et al.*, 2011; Tan & Kagan, 2014; Bernal-Bayard & Ramos-Morales, 2018).

3.2.5. Plasmides de virulence

Les plasmides virulents de *Salmonella* sont importants pour la multiplication bactérienne dans le système réticulo-endothélial de l'homme et des animaux à sang chaud (Dos Santos *et al.*, 2018).

Plusieurs sérovars appartenant à *Salmonella enterica* sont porteurs de plasmides de virulence, notamment *S. Enteritidis*, *S. Abortusovis*, *S. Dublin*, *S. Choleraesuis*, *S. Paratyphi C*, *S. Gallinarum/Pullorum*, *S. Sendai* et *S. Typhimurium* (Feng *et al.*, 2012; Fàbrega & Vila, 2013; de Moraes & Teplitski, 2015 ; Silva *et al.*, 2017; Dos Santos *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). Ces plasmides se différencient d'un sérotype à l'autre en fonction de leur taille (Silva *et al.*, 2017) allant du plus grand plasmide de *S. Sendai* (285 kb) au plus petit (50 kb) chez *S. Choleraesuis* (Feng *et al.*, 2012; De Moraes & Teplitski, 2015).

Chez *S. Typhimurium*, le plasmide de virulence nommé le pSLT, d'une taille de 95 kb, est impliqué dans l'invasion des plaques de Peyer, des ganglions lymphatiques mésentériques et de la rate (Silva *et al.*, 2017 ; Cheng *et al.*, 2019).

Les isolats porteurs du plasmide présentent toutefois généralement une virulence accrue. Le médiateur de cette virulence accrue est l'opéron *spv* (*Salmonella* plasmid virulence) déterminant de la virulence, de 7,8 kb, composé des gènes *spv A*, *B*, *C*, *D* et le gène régulateur *spvR*, désignés ensemble *spv RABCD* (Fàbrega & Vila, 2013; Nwabor *et al.*, 2015; Crump & Wain, 2017; Singh *et al.*, 2018), dont l'expression modifie le cytosquelette

de la cellule hôte et supprime la fonction des neutrophiles et des macrophages et par conséquent l'inactivation de la réponse immunitaire innée de l'hôte (De Moraes & Teplitski, 2015; Wu *et al.*, 2016; Cheng *et al.*, 2019; Gao *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019).

Le plasmide pSLT possède également un second opéron, le *pef*, qui code pour les composants des fimbriaes (Gao *et al.*, 2019).

Bien que le *spv* soit commun à tous les plasmides de virulence de *Salmonella*, des facteurs de virulence supplémentaires ou des gènes de résistance aux antimicrobiens peuvent également être codés (Cheng *et al.*, 2019).

3.2.6. Antigène Capsulaire (Vi)

L'antigène Vi est un polysaccharide capsulaire trouvé principalement chez *S. Typhi* et *S. Paratyphi C* qui ne participe pas à la colonisation bactérienne, mais il diminue la réponse inflammatoire locale et améliore la virulence systémique (Marshall & Gunn, 2015; Gibani *et al.*, 2018; Johnson *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020).

En outre, *Salmonella* possède deux systèmes de régulation appelés TCS (two-component system) qui sont des capteurs capables de détecter les variations du pH, la disponibilité des nutriments, le stress oxydatif et la présence de molécules toxiques, permettant ainsi, à la bactérie de s'adapter et de survivre dans certaines conditions drastiques (pH gastrique et l'environnement intracellulaire) (Lahiri *et al.*, 2010 ; Anderson & Kendall, 2017 ; Tiwari *et al.*, 2017).

4. Méthodes de détection et de caractérisation des salmonelles

La détection et la caractérisation des salmonelles s'inscrit dans la démarche globale de collecte de données descriptives et analytiques pour comprendre et anticiper la diffusion de ce pathogène tout au long de la chaîne alimentaire. De ce fait de nombreuses méthodes ont été développées au cours des dernières années (figure 10), se divisant en deux grands types. Les méthodes phénotypiques étudient les propriétés exprimées par les bactéries : formule antigénique, résistance aux antibiotiques, biotypie, lysotypie, profils protéiques, etc. Alors que, les méthodes moléculaires ciblent partiellement ou totalement le génome bactérien : plasmides, intégrons, îlots génomiques, chromosome, motifs nucléotidiques répétés, courtes séquences spécifiques, etc. Ces méthodes apportent des informations complémentaires sur les souches isolées. Une multitude de marqueurs génétiques conférant

un caractère particulier (virulence, résistance, réponse à un stress) ont été décrits. Nous développerons ci-dessous, les techniques phénotypiques et moléculaires les plus connues :

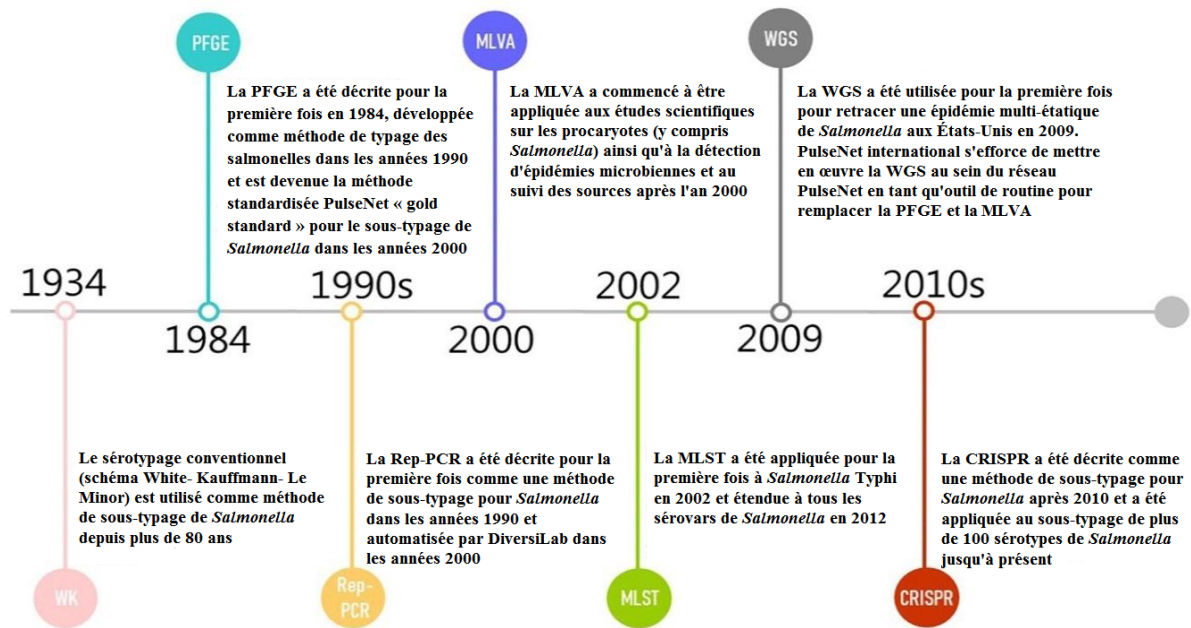


Figure 10: Chronologie du développement de certaines méthodes de caractérisation de *Salmonella* spp. (Tang et al., 2019)

4.1. Méthodes conventionnelles

Les micro-organismes pathogènes dans les aliments, dans l'environnement ou bien dans les matières fécales sont généralement présents en petit nombre et peuvent entrer en concurrence avec une flore saprophyte, abondante dans certaines matrices alimentaires. L'amplification biologique classique par la culture bactérienne est toujours la seule méthode permettant la mise en évidence en un à plusieurs jours d'une vaste gamme de bactéries en monoflore ou multiflore dans un échantillon. Elles ont néanmoins profité d'une certaine automatisation dans la mise en œuvre ou la lecture des résultats.

Pour permettre de comparer l'analyse des paramètres microbiologiques, par exemple les données de surveillance de *Salmonella* dans différents pays, des méthodes standards internationales ont été développées. À cette fin, l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO) et le Comité Européen de Normalisation (CEN) jouent un rôle important. Cependant, chaque zone de travail peut toujours avoir sa propre méthode standard pour le même paramètre.

Quoique les normes dites de routine soient relativement lentes, lourdes et coûteuses (durent plusieurs jours et exigent un personnel qualifié et beaucoup de matériel), elles demeurent toujours nécessaires pour isoler l'agent pathogène en cause (Kemal, 2014; Lee *et al.*, 2015; Bell *et al.*, 2016; Rajapaksha *et al.*, 2019).

4.1.1. Norme ISO 6579

Il s'agit d'une norme internationale qui donne les directives générales concernant les méthodes de recherche des *Salmonella* à partir des produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale (Arya *et al.*, 2017; Demirbilek, 2017; Mooijman, 2018; Mooijman *et al.*, 2019; Paniel & Noguér, 2019).

Jusqu'au 2016, il existait trois normes standards internationales pour la détection de *Salmonella* spp. :

- ISO 6785:2001 [IDF 93:2001] : pour les laits et produits laitiers — Recherche de *Salmonella* spp.

- ISO 6579:2002 : relative à la microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp.

- ISO 6579:2002/AMD 1:2007 : relative également à la microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. — Amendement 1: Annexe D: Recherche des *Salmonella* spp. dans les matières fécales des animaux et dans des échantillons environnementaux au stade de la production primaire

Des révisions périodiques systématiques de l'ISO 6579: 2002 ont eu lieu chaque cinq ans et il a été décidé non seulement d'essayer de fusionner les trois normes susmentionnées dans un seul document, mais également de réviser l'ISO 6579 sur plusieurs points techniques (Mooijman, 2018; Mooijman *et al.*, 2019). La dernière version de l'ISO 6579 a été publiée en 2017. Cette édition (ISO 6579-1: 2017) reste donc d'actualité.

Cette norme concrètement inapplicable en routine (du fait qu'elle exige deux isolements, après 24h mais aussi après 48h d'incubation; chaque prélèvement correspondra à 8 boîtes d'isolement ; 5 colonies caractéristiques sont prélevées de chaque boîte de milieu gélosé sélectif, un prélèvement correspondra donc à 40 galeries biochimiques), sera réservée aux situations de litige.

4.1.2. Norme AFNOR V08-052

C'est une copie simplifiée de la norme ISO 6579. Elle a été longtemps utilisée mais elle n'est plus valide depuis 2006.

4.2. Méthodes altératives et complémentaires

4.2.1. Méthodes phénotypiques

Elles se basent sur les caractères exprimés par les microorganismes.

4.2.1.1. Biotypie

La biotypie repose sur la mise en évidence des caractères biochimiques différentiels qui permettent de classer les souches selon leur activité métabolique (Tessari *et al.*, 2011; Krzyściak *et al.*, 2014; Ferrari *et al.*, 2017). Les tests biochimiques peuvent être réalisés en macrogalerie et en micro-galerie commercialisées tel le système miniaturisé API 20E (Analytical Profile Index, BioMérieux). Plusieurs schémas de biotypie ont été publiés pour certains sérovars, le plus connu est celui de *S. Paratyphi B* qui se distingue en 2 biotypes « d-tartrate négatif » et « d-tartrate positif » dit biotype « Java » impliqué dans des cas de TIAC (Hernández *et al.*, 2012; Toboldt *et al.*, 2013; Nwabor *et al.*, 2015; Gand *et al.*, 2019).

La biotypie est un marqueur à faible pouvoir discriminant, cependant, elle a souvent été utilisée dans les études épidémiologiques car elle est souvent stable, facile à utiliser et d'interprétation facile.

4.2.1.2. Sérotypage par la méthode d'agglutination sur lame

Cette méthode de caractérisation phénotypique est la méthode de référence mise en œuvre par les laboratoires en première intention depuis plusieurs décennies pour la différenciation des souches (Ricke *et al.*, 2018; Tegegne, 2019). Le schéma de sérotypage défini par Kauffmann et White puis revu par Le Minor, tient compte de la structure antigénique des *Salmonella* et repose essentiellement sur la mise en évidence de facteurs antigéniques et permet ainsi une classification des sérotypes en groupes antigéniques « O » : A, B, C, et au sein de chacun d'entre eux, selon les antigènes flagellaires « H » qui sont présents sous deux formes différentes (phases) (Tessari *et al.*, 2012 ; Barco *et al.*, 2013; Nwabor *et al.*, 2015; Arya *et al.*, 2017; Ferrari *et al.*, 2017; Crump & Wain, 2017; Demirbilek, 2017 ; Yachison *et al.*, 2017; Gand *et al.*, 2019). Il existe 67 antigènes O et 114 antigènes H chez le genre *Salmonella* (Wattiau *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2014). L'expression des antigènes flagellaires H1 et H2 est coordonnée via un mécanisme de variation de phase; par conséquent, les sérovars exprimant deux types de flagelline sont appelés diphasiques; ceux avec un seul type d'antigène flagellaire sont désignés monophasiques (Shi *et al.*, 2013). La plupart des isolats sont donc qualifiés de diphasiques.

Les salmonelles monophasiques ne sont pas rares; les sous-types triphasiques et quadriphasiques sont exceptionnels (Wattiau *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 2013).

Pour pouvoir réaliser complètement le sérotypage sur l'ensemble des souches de *Salmonella*, environ 150 à 200 antisérums sont nécessaires (Tegegne, 2019). Sur les deux espèces de *Salmonella*, *enterica* et *bongori*, environ 99% des sérotypes appartiennent à l'espèce *enterica* et presque 60% d'entre eux sont regroupés dans la sous-espèce *enterica* (Abatcha *et al.*, 2014a; Issenhuth-Jeanjean *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2014).

Le sérotypage est rapide, facile et simple d'utilisation. Toutefois, au quotidien, toutes les souches ne sont pas sérotypables. Les *antisera* sont coûteux et cette technique demeure réservée aux laboratoires de références.

4.2.1.3. Antibiotypie

Cette technique est basée sur l'étude de la sensibilité des souches à un panel d'antibiotiques et parfois aux antiseptiques (Barco *et al.*, 2013; Tegegne, 2019). Elle est fréquemment réalisée dans un but thérapeutique, mais également utilisée dans le cadre d'études épidémiologiques pour la différenciation des souches au sein de certains sérovars particuliers de *Salmonella* notamment *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* (Abatcha *et al.*, 2014a; Crump & Wain, 2017). Ce marqueur a très souvent été utilisé car il est vite disponible, moins coûteux, reproductible et simple à interpréter (Barco *et al.*, 2013). Cependant, son inconvénient majeur réside dans le fait que ce profil est moins stable car la résistance aux antimicrobiens est soumise à une pression sélective et est souvent associée à des éléments génétiques mobiles (Crump et Wain, 2017; Tegegne, 2019). Les souches épidémiologiquement liées peuvent avoir des profils de sensibilité antimicrobienne différents en raison de la perte de plasmides ou de l'acquisition de nouveau matériel génétique (Abatcha *et al.*, 2014a; Ferrari *et al.*, 2017). Toutefois, l'émergence des nouveaux phénotypes multi-résistants constitue fréquemment un signal d'alerte suggérant la dissémination épidémique d'un clone (Durand, 2009).

4.2.1.4. Lysotypie

Parmi les méthodes classiques de caractérisation, la lysotypie consiste en l'étude de la sensibilité ou de la résistance d'une souche à une série de bactériophages sélectionnés (Wattiau *et al.*, 2011; Barco *et al.*, 2013; Abatcha *et al.*, 2014a; Crump & Wain, 2017; Ferrari *et al.*, 2017; Tegegne, 2019). Cette méthode de typage s'est avérée être utile sur le plan épidémiologique pour la différenciation des souches bactériennes lysables par une série de phages au sein de certains sérovars de *Salmonella* (Abatcha *et al.*, 2014a).

Plusieurs systèmes de lysotypie ont été élaborés, ils visaient à étudier de façon plus précise des souches appartenant à des sérotypes revêtant des caractéristiques particulières de la pathogénicité tel *S. Typhi* (Crump & Wain, 2017), de la fréquence d'isolement (Typhimurium, Enteritidis) (Barco *et al.*, 2013; Abatcha *et al.*, 2014a), ou de la résistance aux antibiotiques exemple de *Salmonella* Typhimurium lysotype DT104 multirésistant (Barco *et al.*, 2012; Nair *et al.*, 2018). Le nombre de bactériophages utilisés ainsi que le nombre des lysotypes identifiés sont très variables d'un sérotype à l'autre, avec 34 phages et plus de 300 lysotypes différents, *S. Typhimurium* est un sérovar polymorphe (Pang *et al.*, 2012; Ferrari *et al.*, 2017; Fu *et al.*, 2017), alors qu'environ 70 lysotypes différents ont pu être identifiés chez Enteritidis (Crump & Wain, 2017).

Bien que la lysotypie des *Salmonella* utilise un matériel peu coûteux, elle nécessite une main d'œuvre bien formée et est généralement réservée aux laboratoires de références (Barco *et al.*, 2013; Abatcha *et al.*, 2014a). En outre, et en raison de l'indisponibilité de la gamme complète des phages au niveau des laboratoires, cette technique reste d'utilisation limitée (Wattiau *et al.*, 2011; Ferrari *et al.*, 2017). La conversion du phage due à plusieurs mécanismes, tels que la perte ou l'acquisition de plasmides et la mutation de gènes codant pour le lipopolysaccharide, est un autre inconvénient de la méthode observé chez des isolats de *Salmonella* (Barco *et al.*, 2012).

Enfin, ces méthodes phénotypiques ne peuvent donc servir que de signal d'alerte, leur manque de pouvoir discriminant conduit, le plus souvent, à les utiliser en association. Dans la majorité des cas, les résultats obtenus doivent être complétés par la réalisation d'un typage moléculaire.

4.2.2. Méthodes immunologiques et moléculaires

Différentes méthodes rapides avec une sensibilité et une spécificité élevées ont été développées pour surmonter les difficultés et les limites des méthodes conventionnelles de détection et d'identification d'agents pathogènes d'origine alimentaire. Les chercheurs développent encore de nouvelles méthodes avec des améliorations en terme de rapidité, de sensibilité, de spécificité et de pertinence pour l'analyse in situ (Zhao *et al.*, 2014). Les principales méthodes rapides actuellement appliquées à *Salmonella* sont :

4.2.2.1. Méthodes immunologiques

Des méthodes immunologiques ont été aussi mises en œuvre pour la détection de *Salmonella*, tel que l'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), qui est le test à base d'anticorps le plus répandu pour la détection des agents pathogènes dans les aliments

(Zhao *et al.*, 2014; Law *et al.*, 2015; Wu & Zeng, 2017). L'ELISA est une technique sensible qui requiert l'usage d'un anticorps spécifique de *Salmonella* spp. sur lequel est greffée une enzyme (Park *et al.*, 2014). Après la formation du complexe anticorps-antigène, la concentration de l'antigène et la présence de *Salmonella* peuvent être mesurées par le changement de couleur provoqué par le clivage enzymatique d'un substrat chromogène (Zhang, 2013; Lee *et al.*, 2015). De nombreux systèmes automatiques (kits) sont proposés par différentes sociétés, le plus connu est le test BIOLINE *Salmonella* ELISA pour la détection de *Salmonella* dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, dont la limite de détection est de 1 UFC / 25 g d'échantillon (Zhao *et al.*, 2014; Law *et al.*, 2015). Néanmoins, l'ELISA reste une technique à utiliser uniquement dans les pays à faible prévalence d'infection à *Salmonella* spp (Arya *et al.*, 2017).

4.2.2.2. PCR (Polymerase Chain Reaction)

Inventée en 1983 par Kary Mullis et brevetée en 1985 (Williams, 2010; Clark et Pazdernik, 2013; Mohammed *et al.*, 2015), la PCR est une technique non-culturelle, performante qui consiste en la synthèse sélective et répétée in vitro d'une petite séquence de l'acide nucléique (ADN) à partir d'une paire d'oligonucléotides synthétiques, ou amorces, chacune s'hybridant à un brin de la cible d'ADN double brin, encadrant ainsi une séquence qui va être reproduite exponentiellement (Gupta *et al.*, 2012; Hedman & Rådström, 2013; Law *et al.*, 2015). Ceci est assuré par l'action cyclique d'une ADN polymérase thermostable (*Taq polymérase*) isolée d'une bactérie thermophile (*Thermophilus aquaticus*) (Clark & Pazdernik, 2013; Mohammed *et al.*, 2015).

La PCR (réaction de polymérase en chaîne) est basée sur une répétition de cycles de changement de température. En théorie, la quantité d'ADN obtenue par PCR est de 2^n , où n représente le nombre de cycle. Trente cycles suffisent généralement pour obtenir une concentration d'ADN permettant sa visualisation sur le gel d'agarose, son clonage et son séquençage. Chaque cycle de PCR se compose de 3 étapes (Clark & Pazdernik, 2013; Zhao *et al.*, 2014; Law *et al.*, 2015; Mohammed *et al.*, 2015) :

- La dénaturation où les brins d'ADN sont séparés grâce à une augmentation de la température.
- L'hybridation où, suite à une baisse de la température, les amorces spécifiques s'hybrident sur les molécules simple brin d'ADN.
- L'élongation où les polymérases synthétisent le brin complémentaire de leur ADN. Ce brin est fabriqué à partir de dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

Les produits d'amplification par PCR sont visualisés sous forme de bandes sur gel d'électrophorèse par coloration au bromure d'éthidium (Zhao *et al.*, 2014).

Différentes techniques de PCR ont été développées, validées et standardisées selon les orientations générales et les exigences de l'ISO (ISO 20838:2006, ISO/DIS 22119, ISO 16140:2003, ISO 6579:2002, ISO 22174) (Lee *et al.*, 2015).

Parmi les nombreux gènes cibles étudiés pour la détection spécifique et sensible de toutes les souches appartenant au genre *Salmonella* dans des échantillons alimentaires et environnementaux, le gène *invA* reste la cible la plus connue (Chen *et al.*, 2010; Postollec *et al.*, 2011; Cheng *et al.*, 2015).

Plusieurs méthodes variantes de la PCR ont été développées. Ainsi, les souches de *Salmonella* ont été détectées par la PCR classique, la PCR quantitative (en temps réel) PCR (qPCR), la reverse transcriptase PCR (RT-PCR), et la multiplex PCR (mPCR) (De Boer *et al.*, 2010; Miller *et al.*, 2011; Hosseinzadeh *et al.*, 2014; Kemal, 2014; Yu *et al.*, 2016; Heymans *et al.*, 2018; Xiong *et al.*, 2018) et parfois en association avec d'autres techniques telles que la séparation immuno-magnétique (Girones *et al.* 2010; Velusamy *et al.*, 2010). La multiplex PCR est largement utilisée en agro-alimentaire pour augmenter la précision et réduire le temps d'analyse, permettant l'identification simultanée de plusieurs agents pathogènes dans un échantillon alimentaire au cours d'une seule réaction (De Boer *et al.*, 2010 ; de Freitas *et al.*, 2010; Wu & Zeng, 2017). Yu *et al.* (2016) ont développé une PCR multiplex (m-PCR) pour la détection simultanée de *Salmonella* spp., *S. aureus* et *L. monocytogenes*.

Comparées à d'autres méthodes, les méthodes basées sur la PCR ont montré une meilleure spécificité, une plus grande sensibilité, un temps d'analyse plus court ainsi qu'une meilleure précision (Wu & Zeng, 2017; Paniel & Noguer, 2019).

La limitation possible de certaines techniques basées sur la PCR réside dans la difficulté de faire la distinction entre les cellules viables et non viables, car elles contiennent toutes deux de l'ADN (Paniel & Noguer, 2019; Rajapaksha *et al.*, 2019). De plus, les méthodes basées sur la PCR conduisent souvent à des résultats faussement positifs ou faussement négatifs, induits dans certains cas par l'inhibition de la réaction d'amplification par certains composés de matrices alimentaires (lipides et protéines dans la viande et les produits laitiers, polysaccharides et polyphénols dans les légumes et les fruits), ou par la dégradation des séquences d'acide nucléique cibles dans l'échantillon (Schrader *et al.*, 2012; Hedman & Rådström, 2013; Elizaquível *et al.*, 2014; Bell *et al.*, 2016; Rajapaksha *et*

al., 2019). Une contamination croisée entre les échantillons pourrait également se produire (Wu & Zeng, 2017; Paniel & Noguér, 2019).

4.2.2.3. PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis)

Décrite en 1984 par les généticiens Charles Cantor et David Schwartz, la technique PFGE (électrophorèse en champ pulsé) est devenue l'outil de typage moléculaire le plus utilisé en épidémiologie moléculaire en raison de la stabilité des profils générés et de son pouvoir discriminatoire très élevé (Barco *et al.*, 2013; Abatcha *et al.*, 2014a; Wright *et al.*, 2015 ; Nsofor, 2016; Ferrari *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2019). La PFGE a été adoptée pour les surveillances des salmonelles dans les années 1990 (Wattiau *et al.*, 2011; Zou *et al.*, 2013 ; Arya *et al.*, 2017; Almeida, 2018). Elle est considérée comme le “gold standard” des méthodes utilisées dans les investigations épidémiologiques pour le typage moléculaire des isolats notamment les sérotypes de *Salmonella* provenant de patients humains, des animaux et des denrées alimentaires d'origine animale (Zou *et al.*, 2013; Wright *et al.*, 2015). Elle est largement utilisée par le CDC (Centers for Disease Control), qui par le biais de son réseau PulseNet International, a établi les protocoles standardisés de PFGE (PulseNet, 2017) pour les principaux pathogènes responsables des TIAC. Ce réseau maintient une base de données de profils PFGE de *Salmonella* contenant plus de 350 000 profils représentant plus de 500 sérovars (Tang *et al.*, 2019).

Le principe de la PFGE repose sur une migration, par électrophorèse dans un gel d'agarose soumis à un champ pulsé, des fragments d'ADN génomique digéré par une endonucléase de restriction (Nsofor, 2016). L'utilisation d'une enzyme reconnaissant seulement de rares sites de restriction permet d'obtenir un nombre plus limité de fragments (20-30), qui peuvent être séparés en fonction de leur taille par la technique d'électrophorèse dite CHEF (Clamped Homogenous Electric Field) (Goering, 2010; Barco *et al.*, 2013; Tang *et al.*, 2019). Le résultat est un profil de restriction définissant un pulsotype caractérisant l'isolat bactérien étudié.

Les enzymes de restriction *XbaI*, *BlnI*, *NotI*, *PacI*, *SpeI* et *SfiI* ont été généralement utilisées pour les bactéries à Gram négatif, y compris *Salmonella* (Goering, 2010; Ferrari *et al.*, 2017). L'enzyme de restriction principalement utilisée pour *Salmonella* PFGE est *XbaI* qui génère habituellement entre 11 et 17 fragments d'ADN, chacun d'une taille variant de 40 à 800 Kb (Wright *et al.*, 2015; Tang *et al.*, 2019). La combinaison de profils générés en

utilisant des enzymes de restriction supplémentaires comme *BlnI* et *CeuI* pourrait accroître le pouvoir discriminant de cette méthode pour différencier les souches de *Salmonella* très fortement apparentées (Zheng *et al.*, 2011).

Des lignes directrices générales pour déterminer la parenté génétique, et donc épidémiologique, entre les isolats analysés ont été proposées selon les critères d'interprétation publiés par Tenover *et al.* (1995). Quatre catégories de relation possible entre les souches sont ainsi définies en fonction du nombre d'événements génétiques (mutation ponctuelle, insertion ou suppression d'ADN) se traduisant par un nombre de bandes:

- ✓ souches “ indiscernables ” : pas de différence entre les bandes observées ;
- ✓ souches étroitement apparentées : deux ou trois bandes de différence ;
- ✓ souches éventuellement apparentées : quatre à six bandes de différence ;
- ✓ souches non reliées ou différentes : sept bandes différentes ou plus.

La représentation sous forme de dendrogramme permet de schématiser les liens existants entre les souches. Des coefficients permettent le calcul des pourcentages de similarités entre les souches. Quel que soit le coefficient utilisé, il est généralement admis que deux isolats peuvent être considérés comme apparentés si leur degré de similarité est supérieur à 80 %.

Les principaux avantages de cette technique sont sa reproductibilité par rapport aux autres méthodes de génotypage, et son pouvoir discriminant élevé, qui reste néanmoins, variable d'un sérovar à l'autre (Wattiau *et al.*, 2011; Deng *et al.*, 2014). C'est ainsi qu'il existe un bon polymorphisme par PFGE chez *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Mississippi*, *S. Saintpaul* et *S. Kentucky* (Shi *et al.*, 2013; Zou *et al.*, 2013; Tang *et al.*, 2019). En revanche, la difficulté à normaliser les résultats afin de permettre la comparaison intra et inter-laboratoires, et la charge de travail associée à la réalisation de cette approche sont les inconvénients majeurs de la PFGE (Wattiau *et al.*, 2011; Abatcha *et al.*, 2014a; Tegegne, 2019).

4.2.2.4. MLST (Multi Locus Sequence Typing)

La méthode de typage MLST décrite pour la première fois en 1998 (Achtman *et al.*, 2012) est utilisée dans beaucoup de domaines pour discriminer différentes souches entre elles. Elle est basée sur le séquençage de gènes de ménage (house keeping genes) ou de

virulence choisis au préalable en vue de mettre en évidence des mutations sur ces gènes (Barco *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2013 ; Almeida, 2018; Ricke *et al.*, 2018). Ensuite, une analyse de la variabilité allélique de ces gènes ou fragments de gènes est réalisée (Ben Salem *et al.*, 2012). Les polymorphismes de chacun des gènes sont répertoriés et représentés par un codage pour chaque souche, décrivant ainsi le génotype (Ferrari *et al.*, 2017).

Le schéma le plus utilisé pour le typage des isolats de *Salmonella* par MLST, ciblant sept gènes de ménages (*aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *thrA*, *sucA* et *purE*) (Wattiau *et al.*, 2011; Yun *et al.*, 2015; Ho *et al.*, 2017) a été introduit pour la première fois pour *Salmonella* Typhi en 2002 (Kidgell *et al.*, 2002), et étendu à tous les sérotypes de *Salmonella* en 2012 (Achtman *et al.*, 2012)

Les données MLST ainsi recueillies sont disponibles sur des bases de données librement accessibles via internet. Ces bases permettent la comparaison des souches entre laboratoires (Shi *et al.*, 2013; Ferrari *et al.*, 2017 ; Almeida, 2018). Actuellement, plus de 222.000 profils alléliques issus de 65.973 souches de *Salmonella* ont été établis et rapportés dans la base de données MLST publiée en ligne (Ho *et al.*, 2017). Certaines recherches suggèrent que la MLST est une excellente méthode pour devenir une référence en matière de classification de *Salmonella* et pourrait remplacer le sérotypage classique (Achtman *et al.*, 2012, Pethplerdprao *et al.*, 2017).

L'approche par MLST est souvent comparée à celle de la PFGE. Bien qu'elle possède un temps d'analyse plus court, son pouvoir discriminant est nettement moindre que celui de la PFGE (Barco *et al.*, 2013; Arya *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2019). De plus, le coût de typage des isolats par MLST est deux fois plus élevé que celui de la PFGE (Achtman *et al.*, 2012).

4.2.2.5. MLVA (Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis)

Le génotypage par MLVA repose sur l'amplification par PCR de plusieurs VNTRs (Variable Number of Tandem Repeat) dispersés à de nombreux endroits différents, dits loci, dans le génome de nombreuses bactéries (Liu *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2019). Les tailles des amplicons sont déterminées par électrophorèse capillaire, ce qui permet ensuite d'évaluer le nombre de répétitions à un locus donné (Kerouanton *et al.*, 2013; Ferrari *et al.*, 2017). Ceci conduit au développement des empreintes génétiques permettant

l'identification des bactéries (Tang *et al.*, 2019). Le résultat du typage est un code numérique incluant le nombre de motifs à chaque locus (Dimovski *et al.*, 2014).

La MLVA est une méthode de typage moléculaire à haute résolution qui a été développée pour le diagnostic de *S. Typhimurium* en 2003 par Lindstedt et ses collaborateurs, et qui s'est étendue à d'autres sérovars et pathogènes alimentaires (Dimovski *et al.*, 2014). La MLVA est le deuxième outil de génotypage majeur (après PFGE) utilisé par le réseau PulseNet dans les enquêtes sur les flambées épidémiques de *Salmonella*, en particulier en Europe (Tang *et al.*, 2019).

Le principal avantage de la MLVA est son pouvoir discriminant qui a été prouvé et vérifié dans plusieurs études comparatives entre la MLVA et d'autres techniques moléculaires telle que la PFGE (Barco *et al.*, 2013; Kerouanton *et al.*, 2013; Kjeldsen *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016; Ricke *et al.*, 2018). De plus, la MLVA peut être complètement automatisée et les données générées sont plus facilement analysées et partagées et comparées entre les laboratoires (Ferrari *et al.*, 2017).

Néanmoins, le typage des salmonelles par la MLVA a été entravé par la grande variabilité des sérovars de *Salmonella*. Malgré l'élaboration de certains protocoles MLVA caractérisant plusieurs sérovars de *Salmonella*, il a été démontré qu'un schéma MLVA efficace pour un sérovar n'est généralement pas aussi discriminant pour les autres (Wattiau *et al.*, 2011; Barco *et al.*, 2013).

5. Résistance aux antibiotiques dans le genre *Salmonella*

Compte tenu de la gravité des infections à *Salmonella* tant sur le plan vétérinaire que sur le plan hygiénique, ainsi que l'acquisition par les salmonelles de nombreuses résistances aux antibiotiques, la mise en place d'un plan de surveillance de l'émergence des souches résistantes est importante. En raison de la pression de sélection continue imposée par l'utilisation d'agents antimicrobiens, les bactéries ont développé et/ou acquis une variété très importante de gènes, de complexes de gènes ou de mutations qui leur confèrent une résistance aux antibiotiques (Michael *et al.*, 2006; Prakash *et al.*, 2012; Michael & Schwarz, 2016).

Il a été démontré que les souches de *Salmonella* isolées à partir des denrées alimentaires animales et d'origine animale, telle que la viande, la volaille, les œufs, le lait, et les fruits de mer présentent des taux élevés de résistance aux antibiotiques, comme la streptomycine,

la tétracycline et les sulfamides (Singh & Mustapha, 2014). Ces denrées alimentaires peuvent contenir et transmettre des souches de *Salmonella* présentant des gènes de résistance et des éléments génétiques mobiles, possiblement transférables par voie alimentaire à des bactéries de la flore gastro-intestinale humaine (Alexander *et al.*, 2009; Hur *et al.*, 2012 ; Marrero-Ortiz *et al.*, 2012 ; Maka *et al.*, 2015). Ceci a été prouvé par l'analyse génétique des souches bactériennes et des gènes de résistance isolés des animaux de ferme, des aliments et des sujets humains, et qui ont montré de fortes similitudes (Leverstein-Van Hall *et al.*, 2011).

L'utilisation abusive des antibiotiques dans l'alimentation des animaux destinés à la consommation humaine pour l'amélioration de la croissance ainsi que pour des raisons thérapeutiques ou prophylactiques serait à l'origine d'une nette augmentation des cas de salmonelloses humaines causées par les salmonelles multirésistantes d'origine alimentaire (Chuanchuen & Padungtod, 2009; Marshall & Levy, 2011; Pui *et al.*, 2011; Hur *et al.*, 2012; Fair & Tor, 2014). Une étude menée au Canada par Dutil *et al.* (2010) a montré qu'après le retrait volontaire des céphalosporines par l'industrie québécoise du poulet de chair en 2005, les taux de résistance de *S. Heidelberg* au ceftiofur ont considérablement diminué chez les animaux et les humains, comparativement aux taux élevés de résistance aux céphalosporines observés en 2003. Ceci justifie les réflexions conduites au niveau international (l'Organisation mondiale de la santé – OMS et l'Organisation mondiale de la santé animale - OIE), sur les actions à entreprendre concernant les problèmes de résistances, qui s'accordent sur la nécessité d'imposer les mêmes restrictions sur l'utilisation d'antibiotiques importants en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, et de mettre en place des systèmes de surveillance de l'antibio-résistance des salmonelles, notamment celles isolées des denrées alimentaires commercialisées, et des animaux sains destinés à la consommation humaine (Chuanchuen & Padungtod, 2009; Frye & Jackson, 2013).

Les premières études crédibles sur l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *Salmonella*, datent des années 1940 aux États-Unis ; elles ne concernaient que les cyclines et les phénicolés qui ont été testés sur des souches appartenant au sérovar dominant, Typhimurium, collectées à travers tout le pays (Weill, 2008b).

La résistance aux antibiotiques dans le genre *Salmonella* a d'abord été identifiée chez le sérotype Typhi vis-à-vis d'un seul antibiotique (le chloramphénicol) depuis, les années 50,

sous la forme de cas sporadiques en Angleterre puis en Inde (Weill, 2008a; Pui *et al.*, 2011). Les chercheurs ont proposé l'ampicilline et l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole comme antibiotiques alternatifs (Harish & Menezes, 2015). Cependant, des souches multirésistantes à l'ampicilline, au chloramphénicol et aux tétracyclines ont été identifiées, mais toujours à partir de cas sporadiques (Weill, 2010). Ultérieurement, la résistance à l'ampicilline, au triméthoprim-sulfaméthoxazole, aux aminoglycosides, au chloramphénicol et aux sulfamides s'est répandue dans le monde entier, liée généralement, au potentiel de ces agents pathogènes bactériens pour le transfert horizontal de la résistance induite par des plasmides, des transposons ou des cassettes de gènes dans les intégrons (Frye & Jackson, 2013). La résistance à ces antibiotiques traditionnels de première ligne définit la multirésistance aux médicaments chez *Salmonella enterica* (Pui *et al.*, 2011).

À la fin des années 1980, la prévalence des souches résistantes aux antibiotiques allait connaître un essor considérable avec l'émergence et la dissémination internationale rapide d'un clone de *S. enterica* sérovar Typhimurium, individualisé sur la base de la lysotypie (lysotype DT104) isolées initialement de mouettes et d'oiseaux exotiques au Royaume-Uni (Weill, 2008b; Ibrahim *et al.*, 2014; Economou & Gousia, 2015; Nair *et al.*, 2018). Une étude menée en 1996 par le CDC sur le Système de surveillance de la résistance de *Salmonella* aux antibiotiques, a rapporté que jusqu'à 28% des *S. Typhimurium* isolés présentaient un profil de résistance de type ACSSuT comparativement à seulement 7% en 1990 (Deekshit *et al.*, 2013). Ce clone a intégré dans son chromosome un îlot génomique de 43 kb, le *Salmonella* Genomic Island (SGI1) dont une partie porte les différents gènes impliqués dans la résistance à l'ampicilline, *bla*_{PSE-1}, à la streptomycine et à la spectinomycine, *aadA1*, au chloramphénicol, *floR*, aux sulfamides, *sul1*, et aux tétracyclines *tetG*, d'où son nom de clone « pentarésistant » caractérisé par le phénotype ACSSuTe (Weill, 2008a; Bugarel *et al.*, 2011; de Toro *et al.*, 2011; Hur *et al.*, 2012; Frye & Jackson, 2013). La source et le mécanisme par lequel *S. Typhimurium* DT104 a acquis le SGI1 pour la première fois est méconnue. Cependant, le gène *floR* (responsable de l'antibiorésistance au chloramphénicol) est apparenté au gène de résistance au chloramphénicol (*cmlA*) localisé sur un plasmide conjugatif de *Pseudomonas aeruginosa* (Hur *et al.*, 2012).

Actuellement, et en plus de la résistance aux antibiotiques couramment utilisés, comme l'ampicilline, la streptomycine, les sulfamides, le triméthoprim et la tétracycline, plusieurs cas de résistance accrue chez *Salmonella* aux bêta-lactamines, principalement causée par la

production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), y compris les céphalosporines de quatrième génération ont été signalés (Mijovic *et al.*, 2012; Prakash *et al.*, 2012; Singh & Mustapha, 2014). Ces antibiotiques ont été récemment introduits dans le traitement des cas invasifs d'infection à *Salmonella* chez les humains (Sjölund-Karlsson *et al.*, 2010). Comme pour la résistance aux céphalosporines, la résistance à la ciprofloxacine chez *Salmonella* spp. est une préoccupation croissante. Récemment, des isolats du sérovar Kentucky décrits en Europe et en Afrique ont présenté une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones (S. Kentucky CIPR) (Mulvey *et al.*, 2013). La souche S. Kentucky sequence type (ST) 198, probablement isolée pour la première fois en Égypte au début des années 1990, y a acquis étape par étape tous les déterminants de multirésistance dont la résistance à la ciprofloxacine au début des années 2000, et a ensuite rapidement diffusé dans l'ensemble du continent africain, au Moyen-Orient, dans le sous-continent indien, et enfin en Europe (Le Hello *et al.*, 2011), au Canada (Mulvey *et al.*, 2013) et aux Etats Unis (Rickert-Hartman & Folster, 2014). En Algérie 8% de ce sérotype isolé des viandes de poulet représente la cause des TIAC enregistrées en 2011 (Mouffok, 2011). Les études ont montré que la volaille était la denrée alimentaire la plus impliquée dans la transmission de la souche S. Kentucky ST 198 (Le Hello *et al.*, 2011 et 2013; Beutlich *et al.*, 2012; Wasyl & Hoszowski, 2012; Rickert-Hartman & Folster, 2014).

L'incidence croissante de la multirésistance chez les isolats de *Salmonella* vis-à-vis des antibiotiques nouvellement introduits constitue une menace sérieuse pour la santé humaine en limitant les possibilités de traitement.

Les études récentes ont montré que les sérovars enregistrant les taux les plus élevés de multirésistance sont Agona, Anatum, Choleraesuis, Derby, Dublin, Heidelberg, Kentucky, Newport, Pullorum, Schwarzengrund, Senftenberg et Typhimurium (Zhao *et al.*, 2008; Pan *et al.*, 2009; Mihaiu *et al.*, 2014).

Il existe de nombreuses familles de médicaments antimicrobiens, nous exposerons les antibiotiques les plus couramment utilisés pour lesquels *Salmonella* a développé une résistance jusqu'à ce jour, à savoir : les aminoglycosides, les bêta-lactamines, les phénicolés, les quinolones, les tétracyclines et les sulfamides.

5.1. Résistance aux aminosides

Connus également sous le nom d'aminoglycosides, ce sont des molécules antibiotiques majoritairement naturelles de la famille des actinomycètes, à large spectre

actifs et efficaces contre les bactéries Gram-négatives et certaines bactéries à Gram positif (Garneau-Tsodikova & Labby, 2016). Leur utilisation dans le traitement des infections chez les animaux destinés à l'alimentation est limitée en raison de leur nature toxique et de la persistance des résidus d'antibiotiques dans la viande (Frye & Jackson, 2013).

La majorité des aminosides ont une action bactéricide, tandis que d'autres comme la spectinomycine inhibent la croissance bactérienne (bactériostatique).

Ces molécules antibiotiques, en se fixant sur le ribosome 30S, organe cytoplasmique permettent de déchiffrer le code inscrit dans les séquences d'ARN messager, elles perturbent la traduction des codes de protéines par les ribosomes. Les erreurs de déchiffrement provoquent la production de protéines anormales, qui, en s'accumulant, provoquent la destruction des cellules (Alexander, 2009; Abatcha *et al.*, 2014b).

Chez *Salmonella*, comme chez la plupart des autres bactéries, les enzymes modificateurs d'aminoglycosides (EMA), qui catalysent l'inactivation par acétylation (aminoglycoside acétyltransférases, AACs), la phosphorylation (aminoglycoside phosphotransférases, APHs) ou l'adénylation (aminoglycoside nucléotidyl-transférases, ANTs) de la molécule, sont la principale cause de l'augmentation et de la dissémination rapide de la résistance (Michael *et al.*, 2006; Michael *et al.*, 2013; Ramirez & Tolmasky, 2017).

Les gènes codant pour ces enzymes sont généralement désignés selon deux systèmes de nomenclature différents. Les désignations d'origine sont *aadA*, *aadB*, *aacA*, *aacC* et *aphA*, B, C etc., où A, B, C etc. indiquent la position modifiée et les nombres indiquent le gène spécifique (Frye & Jackson, 2013; Michael & Schwarz, 2016).

5.2. Résistance aux quinolones / fluoroquinolones

Les quinolones sont des agents bactéricides à large spectre actifs contre de nombreuses bactéries Gram-positives et Gram-négatives qui ciblent les enzymes bactériennes essentielles ADN gyrase et ADN topoisomérase IV, impliquées dans la réplication et la réparation de l'ADN. En présence d'une quinolone, un complexe ternaire intermédiaire constitué d'un médicament, d'une enzyme et d'un brin d'ADN rompu est formé. Ces complexes bloquent la réplication de l'ADN menant à la mort cellulaire (Alexander *et al.*, 2009; Moudgal & Kaatz, 2009).

Les quinolones comptent parmi les agents antimicrobiens les plus couramment prescrits au monde. Ces agents ont subi plusieurs itérations, ou «générations», qui ont consisté en des modifications structurelles pour améliorer la puissance et le spectre d'activité (Moudgal & Kaatz, 2009; Li *et al.*, 2018).

Chez les salmonelles, des altérations mutationnelles des gènes à médiation plasmidique codant pour l'ADN gyrase (*gyrA* et *gyrB*) et/ou la topoisomérase IV (*qnr* et *d'aac(6')-Ib-cr*) dans la région déterminant la résistance aux quinolones, (QRDR), et entraînant des substitutions d'acides aminés critiques réduisent l'interaction des quinolones avec chaque enzyme (Michael *et al.*, 2006; Hur *et al.*, 2102; Rushdy *et al.*, 2013; Wong & Chen, 2013; Harish & Menezes, 2015; Michael & Schwarz, 2016).

Un autre mécanisme important de la résistance aux quinolones est la surexpression de diverses pompes à efflux (Akyala & Alsam, 2015; Li *et al.*, 2018; Nair *et al.*, 2018). De telles pompes d'efflux réduisent la concentration efficace du médicament intracellulaire à un niveau d'inhibition très bas, favorisant l'émergence de mutations basées sur la cible et une résistance de haut niveau (Alexander *et al.*, 2009; Moudgal & Kaatz, 2009 ; Rushdy *et al.*, 2013).

5.3. Résistance aux bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont une classe d'antibiotiques à majorité bactéricides c'est-à-dire qu'elles ont la capacité de détruire les bactéries. Ils comprennent des dérivés de pénicilline, des céphalosporines, des carbapénèmes et des monobactams (Queenan & Bush, 2007, Abatcha *et al.*, 2014b).

Leur mode d'action repose sur l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire de certaines bactéries (Akyala & Alsam, 2015). Une fois à l'intérieur d'une bactérie, les antibiotiques se lient à des enzymes appelées protéines de liaison aux pénicillines (PLP) (Sun *et al.*, 2014). Ils stoppent ainsi les activités de transpeptidases et les réactions de transglycosylation nécessaires à la synthèse de la paroi de la bactérie (Abatcha *et al.*, 2014b).

La résistance aux différents bêta-lactamines y compris les céphalosporines est causée principalement par l'hyperproduction de pénicillinases, et bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) capables de dégrader la structure chimique des agents antimicrobiens (Foley et Lynne, 2008; Nair *et al.*, 2018). Les BLSE rapportés chez *Salmonella* spp. incluent des dérivés de types TEM, SHV et CTX-M (Hur *et al.*, 2012), qui sont associées à des gènes portés par le chromosome ou des plasmides, parfois par des transposons ou des intégrons capables de disséminer la résistance aux antimicrobiens par transfert horizontal chez les salmonelles (Zhao *et al.*, 2009; de Toro *et al.*, 2011).

Le nombre de cas signalés dans divers sérovars de *Salmonella* productrices de BLSE a augmenté dans le monde ces dernières années, non seulement chez des isolats cliniques de *Salmonella*, mais également dans des isolats d'animaux et d'aliments (de Toro *et al.*, 2011;

Prakash *et al.*, 2012). La présence et la diffusion des gènes *bla*_{TEM} codant pour la résistance des salmonelles aux bêta-lactamines constituent un grave problème de santé publique et pourraient être responsables des échecs thérapeutiques (Bugarel *et al.*, 2011).

5.4. Résistance aux tétracyclines

Les tétracyclines ou cyclines sont des antibiotiques à large spectre, efficaces contre de nombreuses bactéries Gram positives, mais aussi contre certains autres micro-organismes : *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia* (Abatcha *et al.*, 2014b). Elles agissent par l'inhibition de la synthèse des protéines en se liant à la sous-unité ribosomale 30S et inhibant la fixation de l'aminoacyl-ARNt au complexe ARNm-ribosome (Alexander *et al.*, 2009 ; Dean *et al.*, 2018).

Bien que plus de 35 gènes de résistance à la tétracycline aient été décrits, des séquences de seulement six d'entre eux *tet*(A), *tet*(B), *tet*(C), *tet*(D), *tet*(G) et *tet*(L) ont été rapportées pour les souches de *Salmonella* (Roberts et Schwarz, 2016; Dean *et al.*, 2018). Ces gènes codent pour une protéine d'efflux actif associée à la membrane constituée de 12 segments transmembranaires qui peuvent exporter la tétracycline, l'oxytétracycline, la chlortétracycline et la doxycycline (Alexander *et al.*, 2009; Roberts & Schwarz, 2016). Le gène *tet*(G) a été détecté exclusivement en tant que composant de l'îlot génomique *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1) qui a été détecté initialement dans *S. Typhimurium* DT104, mais plus tard également dans d'autres sérovars, comme *S. Agona*, *S. Albany*, *S. Paratyphi B* et *S. Newport* (Michael *et al.*, 2006).

5.5. Résistance aux sulfamides (sulfonamides et triméthoprine)

Les sulfamides sont une classe d'antibiotiques bactériostatiques dont le mode d'action est l'inhibition compétitive des enzymes impliquées dans la synthèse de l'acide tétrahydrofolique. Les sulfonamides inhibent la dihydroptéroate synthase (DHPS), tandis que le triméthoprine inhibe la dihydrofolate réductase (DHFR) (Alexander *et al.*, 2009; Abatcha *et al.*, 2014b).

Trois gènes de résistance aux sulfonamides, *sul1*, *sul2* et *sul3*, qui codent tous pour des dihydroptéroate synthases résistantes aux sulfonamidés, ont été identifiés et tous ont été retrouvés chez *Salmonella* sur des plasmides transférables portant d'autres gènes de résistance (Maka *et al.*, 2015).

Le gène *sul1* fait partie du segment 3'-conservé (3'-CS) des intégrons de classe 1 (Cain *et al.*, 2010). Il a été hébergé par un large éventail de sérovars de *Salmonella* tels que Enteritidis, Hadar, Heidelberg, Orion, Rissen, Agona, Albany, Derby, Djugu et

Typhimurium (Abatcha *et al.*, 2014b). Bien que parfois discerné dans les isolats hébergeant aussi *sul1*, *sul2* semble se rapporter aux plasmides, mais pas aux intégrons de classe I. De nombreux sérovars de *Salmonella* (Enteritidis, Agona et Typhimurium) ont été trouvés porteurs du gène *sul2* (Cain *et al.*, 2010; Yau *et al.*, 2010; Abatcha *et al.*, 2014b). Le gène *sul3* décrit plus récemment est associé à des plasmides et des intégrons de classe I chez *Salmonella*, et est largement répandu dans les sérovars Anatum, Bradenburg, Heidelberg, Rissen, Agona et Typhimurium (Michael *et al.*, 2013; Abatcha *et al.*, 2014b). D'autre part, un total de 16 gènes *dfrA* différents médiant la résistance au triméthoprim, principalement portés par des intégrons de classe 1 ou de classe 2, ont été séquencés à partir de divers sérovars de *Salmonella*. Ceux-ci comprennent: *dfrA1*, *dfrA3*, *dfrA5*, *dfrA7*, *dfrA10*, *dfrA12*, *dfrA13*, *dfrA14*, *dfrA15b*, *dfrA16*, *dfrA17*, *dfrA19*, *dfrA21*, *dfrA23*, *dfrA25* et *dfrA32* (Michael *et al.*, 2006; Krauland *et al.*, 2010; Michael *et al.*, 2013).

5.6. Résistance aux phénicolés

Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre utilisé contre les bactéries à Gram négatif et à Gram positif, c'est l'efficacité et la capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique qui en fait le médicament de choix pour le traitement systématique des infections (Abatcha *et al.*, 2014b).

Le chloramphénicol est un inhibiteur spécifique et puissant de la synthèse des protéines en se liant au centre peptidyltransférase de l'unité ribosomale 50S, empêchant ainsi la formation de liaisons peptidiques (Alexander *et al.*, 2009; Akyala & Alsam, 2015).

Chez *Salmonella*, l'inactivation enzymatique par les chloramphénicol-acétyltransférases de type A ou de type B (CAT), ainsi que l'élimination de chloramphénicol ou de chloramphénicol/florfénicol par des protéines d'efflux spécifiques, sont les deux mécanismes de résistance dominants chez les salmonelles. Deux gènes codant l'inactivation enzymatique, le *catA1* et le *catA2*, souvent associés à des plasmides, des transposons ou des cassettes de gènes, ont jusqu'à présent été détectés dans des isolats de *Salmonella* (Michael *et al.*, 2013; Roberts & Schwarz, 2016). D'autre part, les deux gènes *floR* et *cmlA* sont étroitement apparentés et codés dans des pompes d'efflux au chloramphénicol. Les gènes *floR* sont très répandus chez *Salmonella*, ils sont portés par des îlots génomiques ainsi que dans de nombreux plasmides de divers sérovars tels que Typhimurium, Agona, Kiambo, Albany (Michael *et al.*, 2006; Abatcha *et al.*, 2014b).

Etude expérimentale

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

Les salmonelles sont parmi les principales bactéries pathogènes responsables des toxi-infections alimentaires. Elles représentent un problème majeur de santé publique à travers le monde. Un grand nombre des animaux et des aliments d'origine animale constituent le réservoir principal des salmonelles (Crump & Wain, 2017; Chlebicz & Śliżewska, 2018; Heredia & García, 2018; Mughini-Gras *et al.*, 2018). Quoique plus de 2600 sérotypes ont été identifiés, la plupart des infections humaines sont causées par un nombre limité des sérovars, à l'exemple de *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis qui sont les sérovars les plus incriminés dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) à travers le monde (MacLennan & Levine, 2013; Antunes *et al.*, 2016). Cependant, d'autres sérovars ont été déclarés plus prévalent dans quelques régions. Les fluctuations de la prévalence des souches et des sérovars peuvent refléter l'influence des circuits de déplacements des animaux et des aliments, et peuvent servir par conséquent de marqueurs épidémiologiques utilisables dans les investigations des infections à *Salmonella* spp (Xia *et al.*, 2009). Pour réaliser ces investigations, plusieurs techniques de caractérisation ont été développées. Le sérotypage, est l'une des approches phénotypiques les plus connues (Crump & Wain, 2017; Ricke *et al.*, 2018), ainsi que le lysotypage, le biotypage, et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques (Barco *et al.*, 2013; Tegegne, 2019). Cependant, la sensibilité, la rapidité et le pouvoir discriminatoire de ces méthodes ne sont pas toujours optimaux. L'introduction de nouvelles techniques telles que la PCR, la PFGE, et la MLST a relativement résolu ce problème.

C'est dans ce cadre précis que se situe ce travail dont les objectifs sont les suivants:

- Estimer le taux de la contamination à *Salmonella* spp. des carcasses et des matières fécales issues des ovins et des bovins abattus aux abattoirs d'Hussein Dey et ceux d'El-Harrach, wilaya d'Alger.
- Décrire les sérovars rencontrés et comparer la fréquence de leur isolement dans les matrices étudiées.
- Apporter des informations relatives à la sensibilité des souches de salmonelles isolées vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques testés, dont certains sont communément utilisés en médecine humaine, et contribuer ainsi à cerner la notion de multirésistance et à sensibiliser les autorités sur les dangers encourus pour la santé publique.

ETUDE EXPERIMENTALE

- Evaluer la sensibilité et la spécificité du gène *invA* pour la détection et la confirmation des salmonelles.
- Discriminer les isolats entre eux et démontrer les éventuels liens génétiques entre les souches de salmonelles provenant de différentes sources (carcasses ovines, carcasses bovines, matières fécales ovines, et matières fécales bovines).

2. MATERIELS ET METHODES

Notre étude est sectionnée en plusieurs étapes :

- 1- La première étape effectuée dans le laboratoire d'H.I.D.A.O.A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, a été réservée à l'isolement ainsi qu'à l'identification biochimique du genre *Salmonella* à partir de carcasses et de matières fécales de bovins et d'ovins abattus aux abattoirs d'El-Harrach et d'Hussein Dey.
- 2- La deuxième étape réalisée au sein du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées de l'Institut Pasteur d'Algérie, a concerné la confirmation sérologique des souches isolées.
- 3- La troisième étape réalisée également au sein du laboratoire des entérobactéries et autres bactéries apparentées de l'Institut Pasteur d'Algérie, s'est penchée sur l'étude du profil d'antibiorésistance de chaque souche de *Salmonella* spp. isolée et sérotypée.
- 4- La quatrième étape réalisée au laboratoire d'Hygiène et Technologie Alimentaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire- Université Mustafa Kemal, Hatay, Turquie, a concerné la confirmation des souches par PCR.
- 5- Et enfin, le pulstotypage par PFGE des souches de *Salmonella* isolées, a été réalisé au laboratoire d'Hygiène et de Technologie de la Faculté de Médecine Vétérinaire- Université de Gand, Belgique.

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel utilisé

- **Matériel biologique**

Notre étude a été réalisée sur des animaux des espèces ovines et bovines abattues dans les abattoirs d'El-Harrach et d'Hussein Dey, sans distinction de race, de sexe ou d'âge. Par manque d'information et de traçabilité, l'origine exacte des animaux était difficile à déterminer, ils appartiennent généralement à différents éleveurs provenant de la région centre d'Algérie (Alger, Blida, Bouira, Médéa,...).

- **Matériel de prélèvement**

- Caisson isotherme bien étanche, muni de plaques eutectiques.
- Sachets Stomacher stériles préalablement numérotés et identifiés.
- Boîtes de prélèvements stériles préalablement numérotées et identifiées.
- Chiffonnettes imbibées d'E.P.T. (Eau Peptonée Tamponnée) pour le prélèvement sur carcasses.
- Gants.

- **Matériel d'analyses microbiologiques**

Nous avons utilisé des équipements classiques d'un laboratoire de microbiologie. Les milieux de culture utilisés sont décrits dans la partie « analyses microbiologiques».

- **Matériel utilisé dans la PCR**

Le matériel et les réactifs utilisés dans la PCR sont développés dans l'annexe 1.

- **Matériel utilisé dans la PFGE**

Le matériel et les réactifs utilisés dans la PFGE sont développés dans l'annexe 1.

2.1.2. Echantillonnage

Pour des raisons techniques, les prélèvements se sont déroulés durant une période de 10 mois divisée en deux périodes bien distinctes :

- 1^{ère} période : Elle s'est étalée du mois de février au mois de juin 2013.
- 2^{ème} période: du mois de décembre 2013 au mois de mai 2014.

ETUDE EXPERIMENTALE

Chacun des deux abattoirs a été visité alternativement deux fois par mois (un abattoir par semaine). Au départ, nous avons souhaité répartir nos prélèvements selon les critères adoptés par l'arrêté interministériel du 24 juillet 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires paru le 27 mai 1998 dans le N°035 du Journal Officiel de la République Algérienne en prélevant durant chaque visite 5 échantillons à partir des carcasses ovines et bovines, et bien évidemment le même nombre d'échantillons de matières fécales. Cependant, et pour des raisons dépendant exclusivement du planning du travail propre à chaque abattoir, nous avons été contraints d'opérer quelques modifications concernant essentiellement le nombre d'échantillons à prélever durant chaque visite.

Nous avons prélevé un total de 826 échantillons à partir des ovins et de bovins au cours de nos visites aux abattoirs d'El-Harrach et ceux d'Hussein Dey, à raison d'une visite par semaine (nous alternions les abattoirs chaque semaine). Pour des raisons techniques, les prélèvements effectués aux abattoirs d'Hussein Dey se déroulaient les matinées (de 7h-9h), alors que ceux réalisés à El-Harrach se sont déroulés durant les après-midis (13h-15h).

Les prélèvements des carcasses sont effectués après la fin des opérations abattage-habillage et de l'inspection vétérinaire. Nous avons choisi 4 sites anatomiques différents par carcasse (figure 11) recommandés par la Norme ISO 17604 (Prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique).

La surface d'échantillonnage est de :

- 400 cm² par site de prélèvement (20 cm x 20 cm), pour les bovins.
- 100 cm² par site de prélèvement (10 cm x 10 cm), pour les ovins.

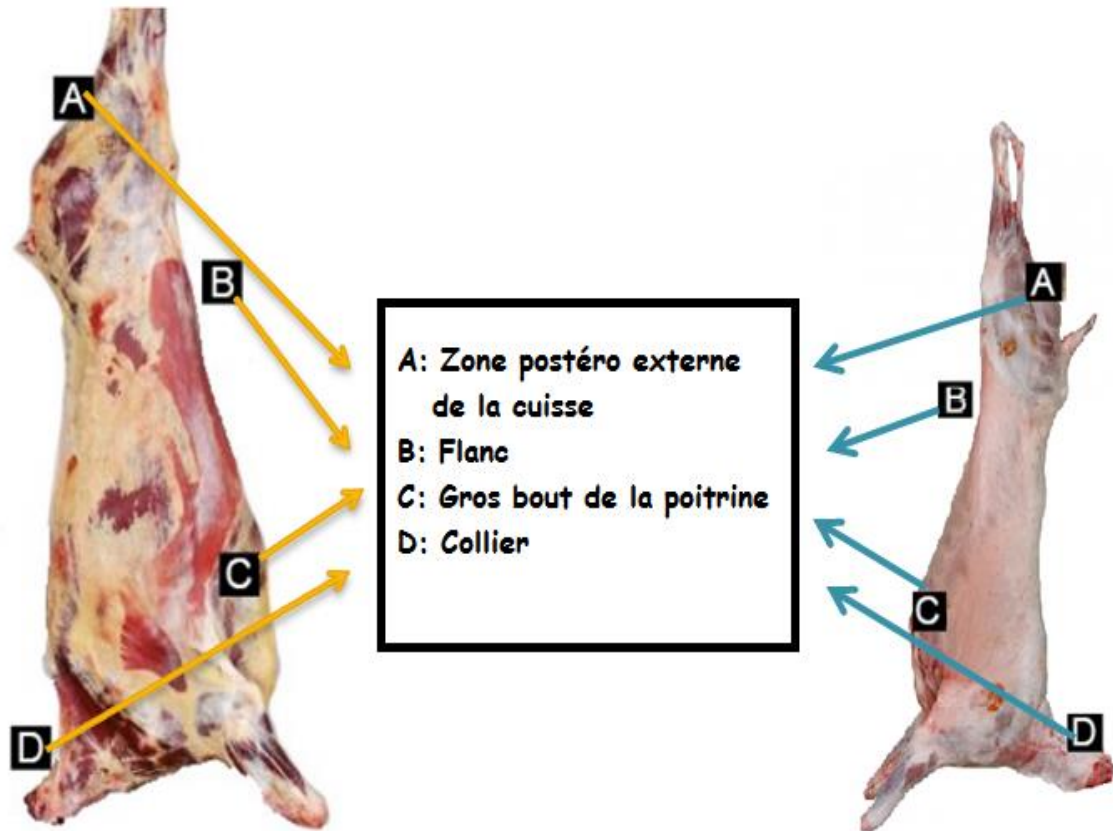


Figure 11 : Sites de prélèvements sur les carcasses des ovins et des bovins

Chaque site est prélevé séparément, puis l'ensemble des 4 prélèvements représentés par les écouvillons des 4 sites est réuni dans un échantillon composite d'une seule et même carcasse et sont regroupés dans un même sachet Stomacher.

Les échantillons de matières fécales ont été réalisés au cours de l'éviscération en les récupérant directement du rectum dans la boîte de prélèvement à raison d'un prélèvement par animal.

Les échantillons étaient répartis comme suit :

- **381** échantillons prélevés de l'abattoir d'El-Harrach:
 - ✓ Carcasses:
 - Bovins : **85** prélèvements.
 - Ovins : **112** prélèvements.
 - ✓ Matières fécales :
 - Bovins: **78** prélèvements.
 - Ovins : **106** prélèvements.
- **445** échantillons prélevés de l'abattoir d'Hussein Dey :
 - ✓ Carcasses:
 - Bovins: **105** prélèvements
 - Ovins : **139** prélèvements
 - ✓ Matières fécales :
 - Bovins : **82** prélèvements
 - Ovins : **119** prélèvements

2.2. Méthodes

2.2.1. Méthode de prélèvement

Bien que la meilleure technique de prélèvement pour évaluer le niveau des contaminations microbiennes des surfaces des viandes soit le prélèvement des lambeaux, considérée comme étant la méthode la plus reproductible permettant de récupérer la majorité des germes; elle présente néanmoins un grand inconvénient résidant dans le fait qu'elle détériore l'aspect de la carcasse, ce qui est commercialement inacceptable (Pearce & Bolton, 2005). Pour cette raison principale et pour des raisons de simplicité et de rapidité, nous avons utilisé la technique non destructive du double écouvillonnage validée par la Norme ISO 17604 concernant le prélèvement d'échantillons sur des carcasses en vue de leur analyse microbiologique. Cette technique est également considérée comme la meilleure pour détecter les germes pathogènes (exemple de *E. coli*: O157: H7 et *Salmonella* spp) qui peuvent avoir une incidence basse et une distribution irrégulière sur la surface de la carcasse, ceci est dû au fait que cette technique peut couvrir des larges zones de la carcasse contrairement à la méthode destructive (Ghafir & Daube, 2008; McEvoy *et al.*, 2005).

ETUDE EXPERIMENTALE

Les sites choisis sur les carcasses ont été frottés par un premier écouvillon humidifié avec une solution stérile d'eau peptonée tamponnée EPT (IPA, Algérie). La même procédure est répétée avec le deuxième écouvillon sec.

Les huit écouvillons des quatre sites ont été mis dans un même sac stomacher qui sera identifié.

2.2.2. Méthodes d'analyses

2.2.2.1. Méthode bactériologique

Les analyses bactériologiques pour la recherche de *Salmonella* ont été réalisées dans le respect de la norme ISO 6579 (2002) en plusieurs étapes.

- Pré-enrichissement

Un volume de 100 mL d'EPT a été ajouté aux 8 écouvillons regroupés dans un même sachet. Alors que 25 g de chaque boîte de matières fécales ont été rajoutés à 225 mL d'EPT à raison de 1/10. Après homogénéisation au moyen d'un appareil péristaltique de type Stomacher pendant 2 minutes, tous les échantillons ont été ensuite incubés à 37°C pendant 18 h $\pm$ 2 h.

- Enrichissement

Un mL et 100 μ L (0,1 mL) du bouillon pré-enrichi ont été ensuite transférés respectivement dans 10 mL du bouillon Muller-Kauffmann tétrathionate novobiocine MKTTn (IPA, Algérie) et 10 mL du bouillon Rappaport- Vassiliadis Soja RVS (IPA, Algérie), et incubés respectivement à 37°C et 42°C pendant 24 h.

Pour les matières fécales l'enrichissement a été fait par une inoculation sur une boîte contenant de la gélose modifiée semi-solide Rappaport Vassiliadis MSRV (IPA, Algérie) avec un supplément sélectif de Novobiocine à 20 mg/L. La Novobiocine est un antibiotique qui permet d'inhiber les microorganismes contaminants à Gram positif, ainsi que les *Proteus* et *Pseudomonas* et permet donc un enrichissement sélectif des salmonelles. Environ 50 μ L (3 gouttes) ont été déposés au milieu d'une boîte de pétri contenant environ 15 ml du MSRV. La culture était incubée à une température de 42°C pendant 24h à 48h. Ce test se base sur la caractéristique de mobilité des salmonelles. Le milieu ne permet donc pas de détecter les salmonelles immobiles (*S. Gallinarum* spécifique des volailles).

ETUDE EXPERIMENTALE

L'échantillon testé est considéré comme positif en observant un halo de croissance blanc/gris, opaque, diffus autour du point d'inoculation, aux bords bien définis, pouvant potentiellement contenir des souches de *Salmonella* spp mobiles.

- Isolement sélectif :

Un peu de la zone de croissance a été prélevé à l'extrémité du halo dans la gélose MSRV et strié sur une boîte du milieu gélosé XLD (IPA, Algérie) ainsi qu'une boîte supplémentaire de gélose Hektoen (IPA, Algérie). Une boîte de gélose Hektoen et une boîte de gélose XLD ont été également ensemencées à partir de chacun des deux bouillons d'enrichissement MKTTN et RVS. Toutes les boîtes étaient ensuite incubées pendant 24h à 37°C.

- Confirmation biochimique

Elle consiste en la sélection de 3 à 5 colonies suspectes sur Hektoen et XLD pour être ensemencées en profondeur et en surface du milieu triple sugar iron TSI (IPA, Algérie). Après 24h d'incubation, les tubes TSI caractéristiques suspects ont été identifiés par la recherche de l'uréase et de l'indole réalisés en galerie classique. L'identification biochimique s'est poursuivie par l'ensemencement d'une galerie API 20E (BioMérieux, France).

Un seul isolat par échantillon positif confirmé biochimiquement *Salmonella* spp a été considéré pour le sérotypage et le calcul du taux de contamination des carcasses et de matières fécales.

2.2.2.2. Identification sérologique

Le sérotypage des souches ovines et bovines de *Salmonella* spp est réalisé par agglutination sur lame avec une culture fraîche (24 h) des salmonelles. Pour chaque souche, la formule antigénique est obtenue en recherchant ses antigènes "O" et "H" suivant les étapes définies par la norme internationale ISO 6579 (2002).

En premier lieu, il est vérifié que les isolats ne sont pas en phase rugueuse (Rough : R.) ou auto-agglutinables, en observant qu'aucune agglutination n'apparaisse en les mélangeant à une goutte d'eau physiologique. Ainsi, les souches ont été sérotypées, en utilisant des antisérums polyvalents (mélanges anti O) (OMA) et (OMB) spécifiques de groupe et

ETUDE EXPERIMENTALE

monovalents spécifiques d'espèce dirigés contre les antigènes de la paroi (O) et flagellaires (H) des salmonelles.

La lecture et la détermination de la souche a été faite selon le tableau de Kauffmann-White- Le Minor (Grimont & Weill, 2007).

2.2.2.3. Etude de la sensibilité des souches de *Salmonella* aux antibiotiques

Toutes les souches de *Salmonella* spp. identifiées biochimiquement et confirmées sérologiquement ont fait l'objet de l'étude de la sensibilité vis-à-vis d'un panel d'antibiotiques représentatifs des principales familles en utilisant la méthode de la diffusion en gélose telle que spécifiée par le « Clinical and Laboratory Standards Institute » (CLSI, 2008), recommandée par l'OMS et adoptée par le réseau national de surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques. La technique consiste à déposer des disques imprégnés d'antibiotiques sur de la gélose Muller Hinton (IPA, Algérie), précédemment ensemencée par inondation avec une suspension à tester d'opacité égale à 0,5 McF.

Les disques d'antibiotiques (Oxoid, Hampshire, Royaume Unie) suivants sont utilisés: ampicilline (AMP, 10 µg), ticarcilline (TIC, 75 µg), piperacilline (PRL, 100 µg), amoxicilline (AML, 25 µg), mecillinam (MEL, 10 µg), cefazoline (KZ, 30 µg), céfoxitine (FOX, 30 µg), ceftazidime (CAZ, 30 µg), ceftriaxone (CRO, 30 µg), cefepime (FEP, 30 µg), l'association amoxicilline/clavulanate (AMC, 20 µg/10 µg), aztreonam (ATM, 30 µg), imipénème (IPM, 10 µg), kanamycine (K, 30 µg), gentamicine (CN, 10 µg), netilmicine (NET, 30 µg), streptomycine (S, 10 µg), acide nalidixique (NA, 30 µg), norfloxacin (NOR, 10 µg), ciprofloxacine (CIP, 5 µg), sulphonamides (SSS, 300 µg), triméthoprim (W, 5 µg), l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT, 1.25 µg/23.75 µg), furanes (F, 300 µg), chloramphénicol (C, 30 µg), tétracycline (Te, 30 µg), colistine (CT, 10 µg), et fosfomycine (FOS, 50 µg). Les résultats sont enregistrés après 24h d'incubation à 35°C par la mesure des diamètres des halos d'inhibition, et interprétés selon les critères du CLSI. La bactérie est classée dans l'une des catégories: Sensible, Intermédiaire ou Résistante (annexe 2).

2.2.2.4. Confirmation moléculaire par PCR

Les 84 souches de *Salmonella* spp isolées des 4 types de prélèvement ont été analysées par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour :

ETUDE EXPERIMENTALE

- Confirmer dans un premier temps le genre *Salmonella* en utilisant le gène d'invasion *invA*,
- Confirmer le sérovar *S. Typhimurium* en utilisant le gène spécifique du sérovar *spy*.

La souche *S. Typhimurium* ATCC 14028 est utilisée comme témoin positif dans cette étude.

Des isolats appartenant aux genres *Citrobacter* et *Proteus* ont été testés également pour apprécier la spécificité du gène *invA*.

2.2.2.4.1. Extraction de l'ADN

L'ADN des souches bactériennes a été isolé et purifié selon la technique d'ébullition « Boiling method » adoptée par le laboratoire d'Hygiène Alimentaire de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Hatay, selon le protocole suivant :

Dans un tube Eppendorf de 1,5 mL, une ou deux colonies prélevées à la surface d'une culture préalablement incubée pendant 24h ont été mises en suspension dans 500 uL d'eau ultra pure, et lysées par action thermique dans une eau bouillante (bain marie) à 95°C pendant 10 min.

- 100 uL de NaCl (5M) ont été ajoutés, et l'ensemble a été bien homogénéisé par agitation des tubes.
- Le mélange a été centrifugé pendant 5 min à 12000 rpm (rotations par minute), le surnageant (environ 400uL) est récupéré dans un nouveau tube.
- Un volume équivalent d'environ 500 uL d'éthanol 100% a été ajouté.
- Une centrifugation à 14.000 rpm pendant 10 min a été réalisée.
- Le surnageant a été ensuite pipeté soigneusement en faisant attention à ne pas toucher la pelote d'ADN.
- L'ADN a été rincé avec 500 uL avec de l'éthanol 70%.
- Après avoir versé l'éthanol, les échantillons ont été centrifugés pendant 10 min à 12.000 rpm.
- La phase supérieure a été éliminée (utiliser le culot), et les tubes ont été séchés en ouvrant leurs couvercles dans une étuve à 37°C pendant 30 min.
- L'ADN a été ensuite conservé à -20°C jusqu'à utilisation.

2.2.2.4.2. Principe de la PCR

Elle consiste en l'amplification génique in vitro, qui permet de dupliquer de manière importante, cyclique et spécifique une séquence d'ADN disponible en très faible quantité. La technique se fonde sur les propriétés d'hybridation et de déshybridation des brins complémentaires d'ADN en fonction de la température et l'utilisation d'une ADN polymérase (*Taq* polymérase) thermostable, en présence d'amorces spécifiques et de nucléotides.

2.2.2.4.3. Réalisation de la PCR

Nous avons utilisé la PCR pour confirmer les souches de *Salmonella* spp et le sérovar Typhimurium en amplifiant respectivement un fragment d'ADN du gène *invA* spécifique du genre et du gène *Spy* spécifique du sérovar *S. Typhimurium*. Les caractéristiques des amorces utilisées sont détaillées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Propriétés des amorces utilisées pour la confirmation des souches de *Salmonella* spp et du sérotype Typhimurium.

Nom de l'amorce	Séquence d'oligonucléotide (5'→3')	Gène cible	Taille (bp)	Référence
S139	GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA	Gène <i>InvA</i> pour le genre <i>Salmonella</i>	284	Rahn et al., 1992
S141	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC			
Typh F	TTGTTCACCTTTTACCCCTGAA	Gène <i>Spy</i> pour <i>S. Typhimurium</i>	401	Olsen et al., 1995
Typh R	CCCTGACAGCCGTTAGATATT			

F : forward (sens); R : reverse (anti-sens)

- Mélange réactionnel (PCR mix)

Le volume et la concentration finale de chaque réactif à utiliser ont été déterminés en fonction de la concentration initiale de la solution utilisée. Le mélange réactionnel, appelé communément mix, a été calculé pour l'ensemble des isolats à tester. Tout en manipulant dans la glace, ce mélange a été préparé en ajoutant les réactifs les uns après les autres : les dNTPs (Dr. Zeydanli Life Sciences Ltd., Ankara, Turkey), le couple d'amorces sens/anti-sens, le tampon de la réaction (Sigma- Aldrich, St-Louis, USA), l'eau pure, le chlorure de magnésium $MgCl_2$ (Sigma- Aldrich, St-Louis, USA) et l'enzyme *Taq* polymérase (Sigma- Aldrich, St-Louis, USA) qui a été introduite en dernier dans le mix. Le mélange réactionnel a été ensuite redistribué entre le témoin positif, les échantillons et le témoin

ETUDE EXPERIMENTALE

négatif. L'ADN à amplifier est ajouté par la suite au mélange réactionnel. La réaction PCR a été réalisée dans des microtubes de 0,1 mL, pour un volume réactionnel de 25 µL dont la composition est donnée dans le tableau 6.

Tableau 6 : Composition du mélange réactionnel de la PCR

Réactif	Concentration initiale	Volume par puits (uL)
Tampon de la réaction	10 X	2, 5
MgCl ₂	25 mM	3
Amorce sens	10 pmol	1
Amorce anti-sens	10 pmol	1
dNTPs	10 mM	0, 5
H ₂ O ultra-pure	/	14, 8
Taq polymérase	1 U/uL	0, 2
Répartition du mix		23
Ajout d'ADN matrice		2

- Conditions d'amplification

La réaction d'amplification proprement dite a été effectuée grâce à différents cycles de température réalisés sur un thermocycleur (Boeco, Hamburg, Germany) comme suit (figure 12) :

- Une phase de dénaturation initiale de l'ADN à 94°C pendant 3 min.
- Ensuite, 30 cycles de chacune de ces étapes :
 - ✓ Dénaturation à 94°C pendant 30 secondes.
 - ✓ Hybridation à 58°C pendant 45 secondes.
 - ✓ Elongation à 72°C pendant 60 secondes.
- Et enfin, une phase d'extension finale à 72°C pendant 5 minutes.

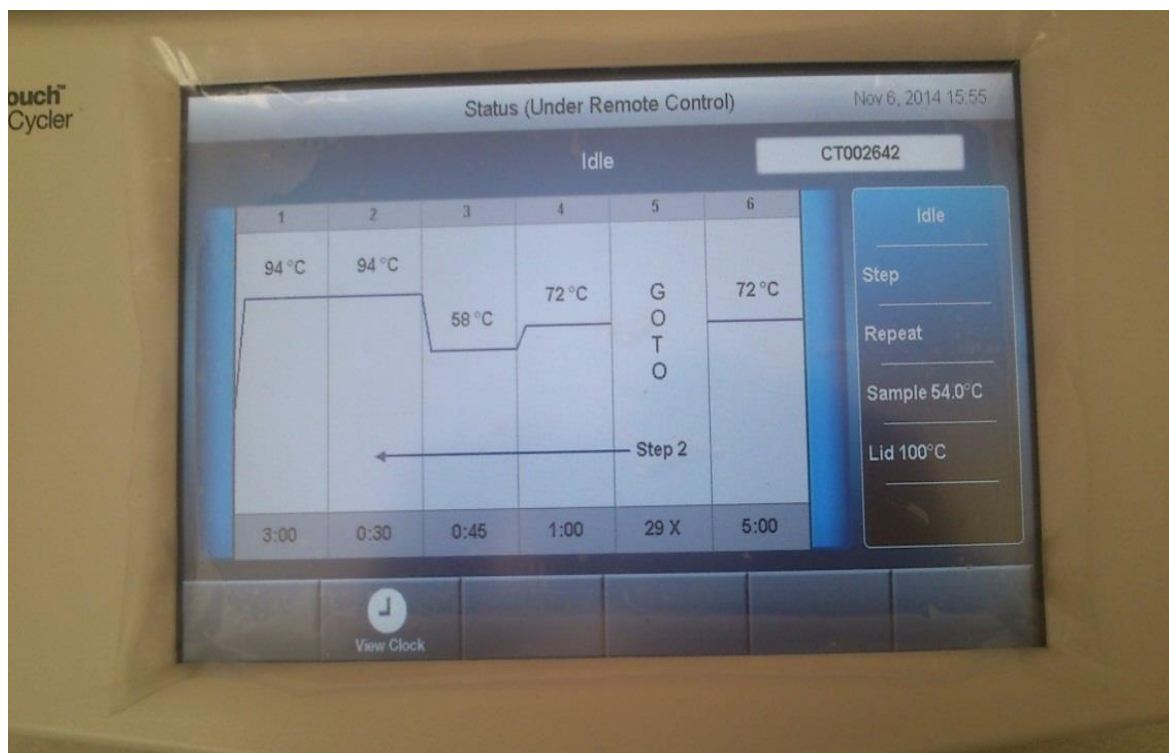


Figure 12 : Paramètres de programmation du thermocycleur à PCR

Nous avons utilisé le même protocole de réaction de l'amplification pour la confirmation du serovar *S. Typhimurium* par PCR en changeant la température de l'hybridation à 55°C (Can *et al.*, 2014).

2.2.2.4.4. Electrophorèse d'ADN sur gel d'agarose

✓ Préparation du gel

L'agarose en poudre (Axygen Biosciences, USA) a été pesée et mise dans la quantité adéquate de tampon 0,5X Tris Acétate EDTA (TAE). Le mélange était fondu au four à micro-ondes jusqu'à ce qu'il devienne limpide; puis il était refroidi et coloré avec 3 uL/g de bromure d'Ethidium (Dr. Zeydanlı Life Sciences Ltd., Ankara, Turkey), puis coulé dans une petite porte gel où un peigne a été soigneusement placé. Il a été laissé jusqu'à polymérisation complète. Le peigne était soigneusement ôté.

Le gel solidifié est déposé dans un appareil à électrophorèse puis recouvert par le tampon TAE (0,5X). Le premier puit était réservé à un marqueur de poids moléculaire d'ADN de 100 pb de taille (Axygen Biosciences, USA) mélangé avec du tampon de charge coloré de couleur orange, comportant plusieurs fragments d'ADN de taille connue et servant d'échelle de repères.

ETUDE EXPERIMENTALE

La migration des produits amplifiés de l'électrode négative (cathode) vers l'électrode positive (anode) permet la séparation des acides nucléiques chargés négativement à cause de l'ionisation de leurs groupements phosphates sous l'effet d'un champ électrique. La séparation se fait à travers le gel d'agarose. La vitesse de déplacement des molécules à travers le gel est limitée par la dimension des pores: les acides nucléiques ayant le même rapport charge/masse seront séparés d'après leur longueur car les molécules plus longues migrent plus difficilement à travers les pores du gel, alors que les plus petites molécules se déplacent plus vite et migreront donc plus loin. Des marqueurs de taille sont utilisés pour pouvoir déterminer la taille (en pb) des acides nucléiques. La migration de l'ADN a été réalisée à 120 volts pendant 40 minutes.

✓ **Visualisation des produits de PCR**

Le Bromure d'éthidium étant un cation qui s'intercale entre les bases de l'ADN, le complexe ion éthidium/ ADN est fluorescent sous ultraviolets. Ainsi les fragments d'ADN ont été visualisés dans le gel en utilisant le système de transillumination ultraviolette (UVP BioImaging Systems, Upland, USA), et des photos du gel ont été ensuite imprimées.

2.2.2.5. Caractérisation génotypique par PFGE

2.2.2.5.1. Principe de la PFGE

Dans l'électrophorèse en champ pulsé (Pulsed Field Gel Electrophoresis PFGE), l'ADN bactérien extrait et purifié est d'abord digéré par une enzyme de restriction permettant l'obtention d'un certain nombre de fragments. Ces derniers sont ensuite séparés grâce à un pulseur, par une technique d'électrophorèse au cours de laquelle deux champs électriques différents sont appliqués, pendant des temps définis, permettant aux molécules d'ADN de se réorienter du fait de la variation périodique de la direction du champ électrique (champs pulsés). Cette technologie permet de séparer des molécules d'ADN variant de quelques Kb à environ 10 Mb.

2.3.2.5.2. Réalisation de la PFGE

Le protocole utilisé pour cette étude a été adapté à partir de celui défini par le CDC (2013). Il comporte plusieurs étapes :

ETUDE EXPERIMENTALE

✓ Extraction de l'ADN et préparation des plugs (blocs d'agarose)

Au préalable, il est nécessaire de mettre en culture les bactéries. Un premier ensemencement a été réalisé sur XLD (Difco, BD, Sparks, MD) afin de vérifier la pureté des souches. Une colonie de cette gélose a été ensuite repiquée sur la gélose Plate Count Agar PCA (Difco). A partir de ces boîtes, une suspension bactérienne a été réalisée dans un tampon CSB (Tris-HCl 1M, EDTA 0,5M) (Sigma-Aldrich, Irvine, Ayrshire, UK). Après avoir ajusté sa densité optique à l'aide d'un bio-spectrophotomètre (Eppendorf AG, Hamburg, Allemagne), cette suspension a été ensuite incubée quelques minutes avec de la protéinase K (Invitrogen, Carlsbad, California 92008 USA), pour améliorer l'étape de lyse en dégradant les protéines.

Afin de protéger l'ADN total de toute agression physique ou enzymatique, la suspension bactérienne a été reprise avec de l'agarose Seakem Gold (Lonza, Rockland, ME, USA), et versée dans des moules adaptés (plugs mould well), ensuite laissée à se solidifier à température ambiante.

Les plugs ont été ensuite incubés à 55°C pendant 2h dans une solution de lyse contenant 20uL de protéinase K. L'ajout d'un détergent, le sodium dodecyl sulfate SDS à 20% (Sigma-Aldrich, Irvine, Ayrshire, UK) au moment de l'inclusion du matériel génétique dans l'agarose permet de délipider la membrane bactérienne et de renforcer l'étape de la lyse. Les plugs ont été enfin rincés deux fois à l'eau stérile puis 4 fois au TE (Tris-ED TA) puis stockés à 4°C jusqu'à utilisation.

✓ Digestion enzymatique

Le choix des enzymes de restrictions est important et il se porte sur celles ayant des sites de restriction rares sur le chromosome bactérien. Elles permettent de couper le chromosome en 10 à 20 fragments de grandes tailles, qui seront alors séparés par l'électrophorèse en champ pulsé. Pour la digestion de l'ADN des souches isolées durant cette étude, nous avons utilisé l'enzyme *XbaI*, (Promega, Madison, WI, USA) majoritairement utilisée en PFGE chez les salmonelles. Ainsi, les plugs ont été plongés dans une solution contenant l'enzyme choisie au bain-marie, à la température optimale d'action de l'enzyme (37°C pendant 4 h pour l'enzyme *XbaI*).

✓ Séparation électrophorétique et révélation des profils de macrorestriction

Une fois la digestion est terminée, des petites sections de plugs ont été déposées à l'aide d'une spatule à l'extrémité du peigne de la plateforme de coulage qui est ensuite remplie par un gel d'agarose Seakem. Après solidification, le peigne a été retiré, et le gel est ensuite déposé dans une cuve à électrophorèse en champ pulsé (CHEF Mapper, Bio-Rad, Marnes La Coquette, France) dont le générateur est programmé pour la séparation des fragments d'ADN selon les paramètres montrés par la figure 13.

Différents facteurs interviennent dans la séparation des fragments d'ADN lors de l'électrophorèse. La concentration en agarose est notamment un paramètre essentiel, classiquement, les gels sont à 1% pour permettre une bonne vitesse de migration ainsi qu'une bonne résolution tout en limitant l'éventuelle fragilité du gel. La température du tampon d'électrophorèse a également des effets importants sur la mobilité de l'ADN. Le maintien d'une température entre 12 et 16 °C est nécessaire pendant toute la durée de l'électrophorèse pour obtenir un bon compromis entre durée et résolution. Il faut donc adjoindre un dispositif de refroidissement réglé à +14 °C (figure 13).

Enfin, les cinétiques de pulsation doivent être optimisées pour chaque espèce et pour chaque enzyme afin d'obtenir une séparation adéquate. Pour ce faire la durée des phases de pulsation (correspondant aux inversions alternatives d'orientation du champ électrique) augmente au cours de l'électrophorèse.

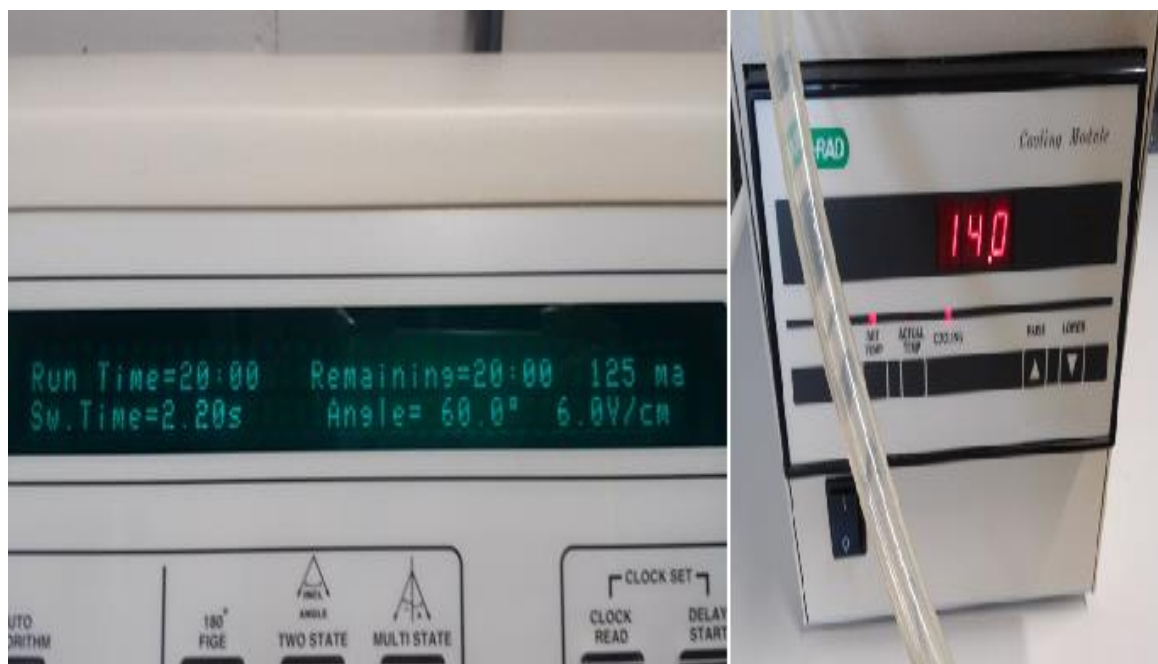


Figure 13 : Paramètres de programmation du système d'électrophorèse en champ pulsé CHEF Mapper

A la fin de la migration, le gel a été enlevé de la cuve et mis à colorer dans un bain de BET (Bromure d'éthidium), pendant 30 minutes puis rincé sous agitation à l'eau distillée avant la lecture. Le gel est décoloré est placé dans l'UV box et photographié pour disposer d'un document archivable.

Les marqueurs de taille sont essentiels pour interpréter les profils. *Salmonella* Braenderup souche H9812 (ATCC BAA- 664) dont la taille des fragments est connue, a été utilisée comme marqueur moléculaire de référence.

2.2.2.5. 3. Lecture du gel et interprétation des résultats

L'analyse de l'ensemble des souches a été effectuée à l'aide du logiciel GelCompar II v.6.6 (Applied-Maths, Sint-Martens-Latem, Belgique). L'interprétation des profils ou des fragments obtenus se base sur les distances de migration ou sur le calcul des poids moléculaires de chacun des fragments. Après une comparaison deux à deux de tous les profils, une matrice de similitude est alors obtenue permettant de construire une représentation graphique sous forme de dendrogramme, celui-ci est obtenu par la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages). L'interprétation des résultats se fait par le calcul de l'indice de similarité de Dice avec 1,4% de tolérance d'erreur. Un profil génotypique PFGE a été attribué en se basant sur la différence dans la

ETUDE EXPERIMENTALE

présence d'au moins une bande dans le profil *Xba*I. Nous avons identifié les pulsotypes (génotypes PFGE) par des suffixes numériques après une lettre majuscule indiquant le sérovar (ex : I1 veut dire le premier pulsotype enregistré dans le sérovar S. Infantis).

L'indice de Simpson D proposé par Hunter et Gaston (1988) a été ensuite calculé afin d'évaluer le pouvoir de discrimination de la technique PFGE pour les souches étudiées selon la formule suivante :

$$D = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^S n_j(n_j-1)$$

N est le nombre total de souches dans la population étudiée,

S est le nombre total de profils décrits.

Plus la valeur obtenue est élevée, plus la technique est discriminante.

L'indice devrait idéalement être de 1,00 mais, en pratique, une valeur de l'ordre de 0,95 est suffisante pour qu'une technique de typage soit considéré plus ou moins «idéale» (Van Belkum *et al.*, 2007).

2.3.3. Analyse statistique des données

L'analyse des résultats a été effectuée par des méthodes statistiques classiques en utilisant le test khi-deux à 5% à l'aide du logiciel d'analyse et de traitements statistiques des données, package XL-Stat version 2014 (Addinsoft, 2014).

3. RESULTATS

3.1. Taux de contamination à *Salmonella* spp.

Les taux de contamination par espèce animale, type de prélèvement, et abattoir sont présentés dans les tableaux 7, 8 et 9. Notre étude a montré que sur l'ensemble des 826 échantillons prélevés, 84 étaient positifs pour la présence de *Salmonella*, soit une prévalence globale de 10,2%. La répartition de la prévalence dans les deux abattoirs était de 14,7% (56/381) pour El-Harrach et de 6,3% (28/445) pour Hussein Dey. Le genre *Salmonella* a été détecté dans tous les types d'échantillons avec des taux différents: 20,5% (39/190) dans les carcasses de bovins, 12,8% (32/251) dans les carcasses d'ovins, 6,9% (11/160) dans les matières fécales de bovins et 0,9% (2 / 225) dans les matières fécales ovines. Les échantillons d'origine bovine étaient plus contaminés à *Salmonella* (14,3%) que les échantillons ovins (7,1%). Le taux de contamination était plus élevé dans les carcasses (16,1%) que dans les fèces (3,4%).

Tableau 7 : Répartition des taux de contamination à *Salmonella* dans les échantillons en fonction de l'abattoir

Type de prélèvement	El- Harrach			H. Dey			Total		
	N	n	Prévalence et IC	N	n	Prévalence et IC	N	n	Prévalence et IC
			95			95			95
			(%)			(%)			(%)
Carcasses	197	47	23,9 (17,9- 29,8)	244	24	9,8 (6,1- 13,6)	441	71	16,1 (12,7- 19,5)
Fèces	184	9	4,9 (1,8- 8)	201	4	2 (0,1- 3,9)	385	13	3,4 (1,6- 5,2)
Total	381	56	14,7 (11,1-18,3)	445	28	6,3 (4-8,5)	826	84	10,2 (8,1- 12,2)

N : nombre total d'échantillons, n : nombre d'échantillons positifs, IC : Intervalle de confiance

ETUDE EXPERIMENTALE

Tableau 8 : Répartition des taux de contamination à *Salmonella* dans les échantillons en fonction du type de prélèvement

Espèce animale	Carcasses			Fèces			Total		
	N	n	Prévalence et IC	N	n	Prévalence et IC	N	n	Prévalence et IC
			95			95			95
			(%)			(%)			(%)
Bovins	190	39	20,5 (14,8- 26,3)	160	11	6,9 (3,0- 10,8)	350	50	14,3 (10,6-18,0)
Ovins	251	32	12,7 (8,6- 16,9)	225	2	0,9 (0,0- 2,1)	476	34	7,1 (4,8- 9,5)
Total	441	71	16,1 (12,7- 19,5)	385	13	3,4 (1,6- 5,2)	826	84	10,2 (8,1- 12,2)

N : nombre total d'échantillons, n : nombre d'échantillons positifs, IC : Intervalle de confiance

Tableau 9: Répartition des taux de contamination à *Salmonella* dans les échantillons en fonction de l'espèce animale

Abattoirs	Bovins			Ovins			Total		
	N	n	Prévalence et IC	N	n	Prévalence et IC	N	n	Prévalence et IC
			95			95			95
			(%)			(%)			(%)
El-Harrach	163	38	23,3 (16,8- 29,8)	218	18	8,3 (4,6- 11,9)	381	56	14,7 (11,1- 18,3)
Hussein Dey	187	12	6,4 (2,9- 9,9)	258	16	6,2 (3,3- 9,1)	445	28	6,3 (4- 8,5)
Total	350	50	14,3 (10,6- 18,0)	476	34	7,1 (4,8- 9,5)	826	84	10,2 (8,1- 12,2)

N : nombre total d'échantillons, n : nombre d'échantillons positifs, IC : Intervalle de confiance

ETUDE EXPERIMENTALE

Le taux de contamination des échantillons par *Salmonella* variait nettement entre les visites. Un ensemble de 16 visites sur 42 (38,1%) n'ont présenté aucun isolat de *Salmonella*, alors que les autres visites ont montré des taux de contamination de *Salmonella* allant à 55,5%.

Les tableaux 10 et 11, et les figures 14 et 15 ont montré une variabilité entre les saisons. Les taux les plus élevés étaient enregistrés en période de printemps avec des pics quasi similaires pour les carcasses. L'étude statistique a montré que les différences entre les moyennes étaient significatives (la valeur de p est inférieure à 0,05 pour les deux périodes).

Tableau 10 : Taux de contamination à *Salmonella* enregistrés durant la première période et analysés par mois.

Type de prélèvement	Moyenne $\pm$ écart type					P^*
	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	
Carcasses bovines	20 $\pm$ 0,2	16,7 $\pm$ 0,2	31,6 $\pm$ 0,2	36,8 $\pm$ 0,2	8,7 $\pm$ 0,1	0,002
Carcasses ovines	0	6,3 $\pm$ 0,1	52,2 $\pm$ 0,2	11,5 $\pm$ 0,1	9,4 $\pm$ 0,1	
Fèces bovins	0	0	6,3 $\pm$ 0,1	11,8 $\pm$ 0,2	21,1 $\pm$ 0,2	
Fèces ovins	0	0	0	0	0	
Total	4,9 $\pm$ 0,1	5,9 $\pm$ 0,1	25 $\pm$ 0,1	14,1 $\pm$ 0,1	8,7 $\pm$ 0,1	

* La comparaison des prévalences de contamination totale par mois a été faite en utilisant le test de khi-deux d'indépendance

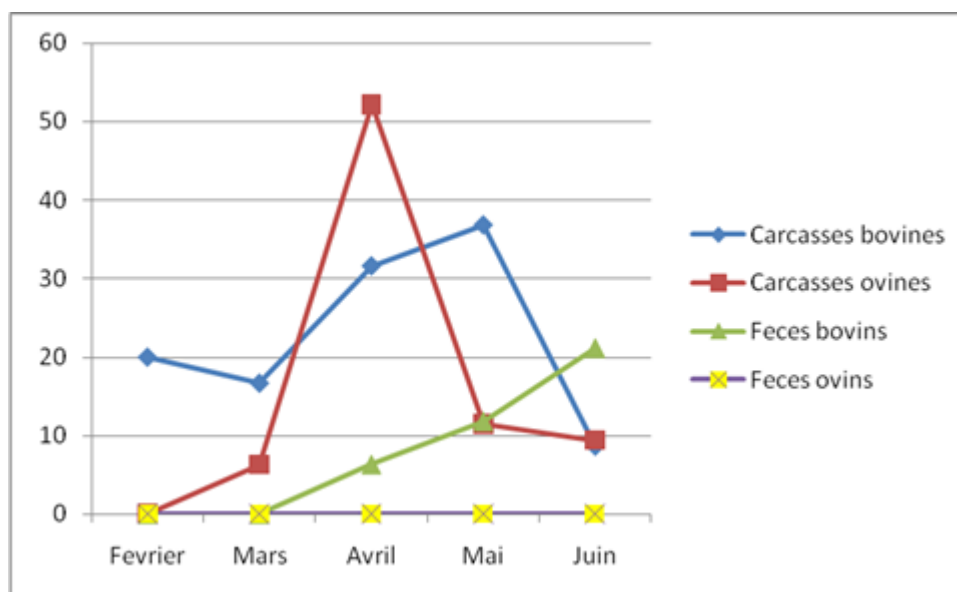


Figure 14: Evolution des taux de contamination à *Salmonella* durant la première période

ETUDE EXPERIMENTALE

Tableau 11 : Taux de contamination à *Salmonella* enregistrés durant la deuxième période et analysés par mois.

Type de prélèvement	Moyenne $\pm$ écart type						P*
	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	
Carcasses bovines	9,1 $\pm$ 0,1	0	31,6 $\pm$ 0,2	50 $\pm$ 0,3	17,6 $\pm$ 0,2	12,5 $\pm$ 0,2	0,0001
Carcasses ovines	0	0	18,2 $\pm$ 0,2	11,8 $\pm$ 0,2	8 $\pm$ 0,1	19,2 $\pm$ 0,2	
Fèces bovins	0	0	11,1 $\pm$ 0,1	16,7 $\pm$ 0,2	0	0	
Fèces ovins	0	0	10,5 $\pm$ 0,2	0	0	0	
Total	2,1 $\pm$ 0,1	0	17,7 $\pm$ 0,1	19,3 $\pm$ 0,1	6,3 $\pm$ 0,1	9,3 $\pm$ 0,1	

* La comparaison des prévalences de contamination totale par mois a été faite en utilisant le test de khi-deux d'indépendance

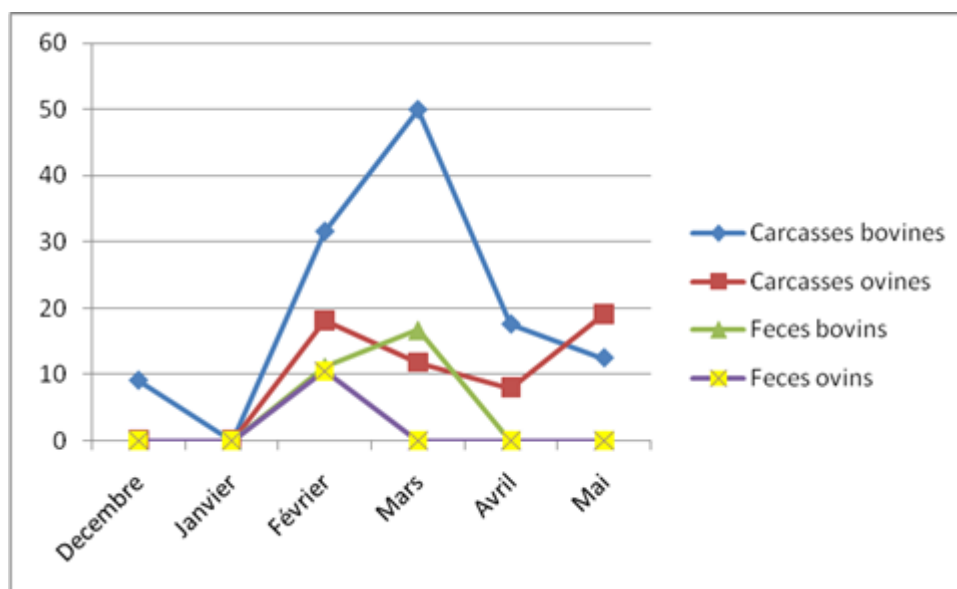


Figure 15: Evolution des taux de contamination à *Salmonella* durant la deuxième période

3.2. Distribution des sérogroupes et des sérovars

Les 84 souches de *Salmonella* spp. isolées dont l'identification sérologique a révélé 10 sérovars distincts, sont réparties sur 5 groupes appartenant au schéma de Kauffmann-White (tableau 12). Avec une prévalence de 52,4%, on note la prépondérance du groupe E1 auquel appartiennent 44 souches de *Salmonella* spp. isolées lors de notre étude représentant 2 sérovars; 20 souches sont classées dans le groupe C1 avec une prévalence de 23,8% représenté par 4 sérovars; 14 dans le sérogroupes (C2, C3) représentant 16,7% des souches; et enfin les sérogroupes B et G comptent chacun 3 souches avec un taux de 3,6%.

ETUDE EXPERIMENTALE

Tableau 12 : Répartition des souches de *Salmonella* spp. isolées selon les sérogroupes du schéma de Kauffmann-White.

Groupes	Carcasses bovines	Carcasses ovines	Fèces bovins	Fèces ovins	TOTAL
O: 3,10 (E1)	18	18	6	2	44 (52,4%)
O:7 (C1)	9	6	5	0	20 (23,8%)
(C2,C3)(O,8)	9	5	0	0	14 (16,7%)
O:13 (G)	3	0	0	0	3 (3,6%)
O: 4 (B)	0	3	0	0	3 (3,6%)
Total	39	32	11	2	84

Dix (10) sérovars différents ont été identifiés parmi les 84 souches de *Salmonella* isolées des 4 sources étudiées. Les 4 sérovars les plus fréquemment retrouvés étaient *S. Muenster* (39,3%), *S. Kentucky* (15,5%), *S. Infantis* (14,3%) et *S. Anatum* (13,1%). Le sérovar *S. Muenster* a été identifié dans 48,5% des prélèvements de carcasses bovines et 33,3% des carcasses ovines, alors qu'il représentait 15,2% et 3,03% des isolats récupérés des matières fécales bovines et des matières fécales ovines respectivement (tableau 13 et figure 16).

La distribution des sérovars en fonction des abattoirs, de l'espèce animale, et le type de prélèvement est rapportée par la figure 17 et le tableau 14, la figure 18 et le tableau 15, ainsi que la figure 19 et le tableau 16, respectivement.

Tableau 13 : Distribution globales des sérovars

Sérovar	Abattoirs												Total (%)
	El-Harrach						Hussein Dey						
	C Bv	C Ov	Total	MF Bv	MF Ov	Total	C Bv	C Ov	Total	MF Bv	MF Ov	Total	
S. Muenster	14	7	21	5	0	5	2	4	6	0	1	1	33 (39,3)
S. Kentucky	3	2	5	0	0	0	6	2	8	0	0	0	13 (15,5)
S. Infantis	4	6	10	2	0	2	0	0	0	0	0	0	12 (14,3)
S. Anatum	1	0	1	0	0	0	1	7	8	1	1	2	11 (13,1)
S. Richmond	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4 (4,8)
S. Havana	2	0	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	3 (3,6)
S. Typhimurium	0	2	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	3 (3,6)
S. Montevideo	1	0	1	2	0	2	0	0	0	0	0	0	3 (3,6)
S. Virginia	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1,2)
S. Braenderup	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1 (1,2)
Total (%)	29	18	47 (55,9)	9	0	9 (10,7)	10	14	24 (28,6)	2	2	4 (4,8)	84

C Bv = carcasses bovines; C Ov = carcasses ovines; MF Bv = matière fécale bovine; MF Ov = matière fécale ovine

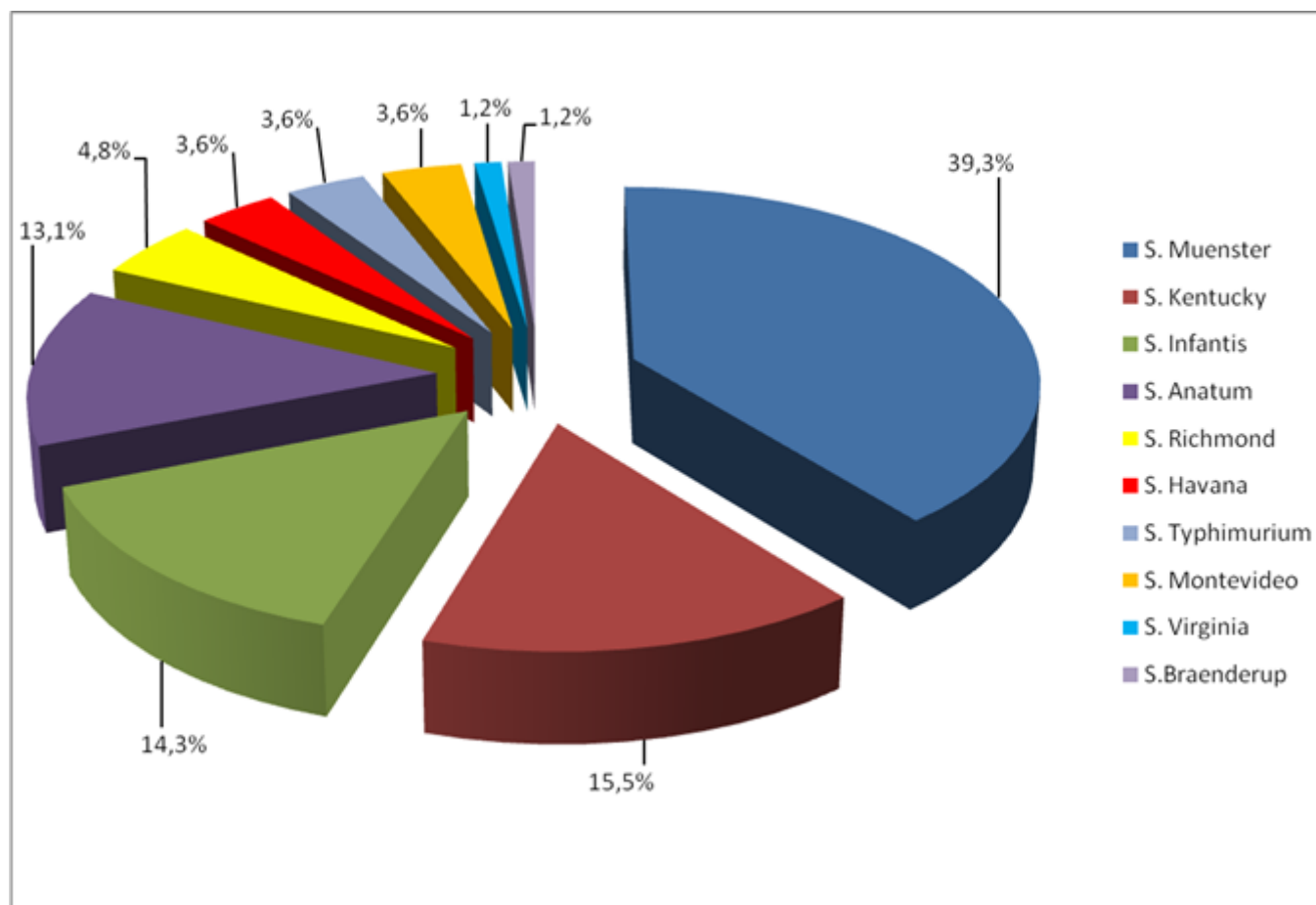


Figure 16 : Pourcentage des différents sérovars de *Salmonella* isolés

Tableau 14: Distribution des sérovars en fonction des abattoirs

Abattoirs	S. Muenster	S. Kentucky	S. Infantis	S. Anatum	S. Richmond	S. Havana	S. Typhimurium	S. Montevideo	S. Virginia	S. Braenderup	n*/N*
El-Harrach	26	5	12	1	4	2	2	3	1	0	9/56
Hussein Dey	7	8	0	10	0	1	1	0	0	1	6/28
Total	33	13	12	11	4	3	3	3	1	1	10/84

*n= nombre de sérovars / N= nombre de souches isolées

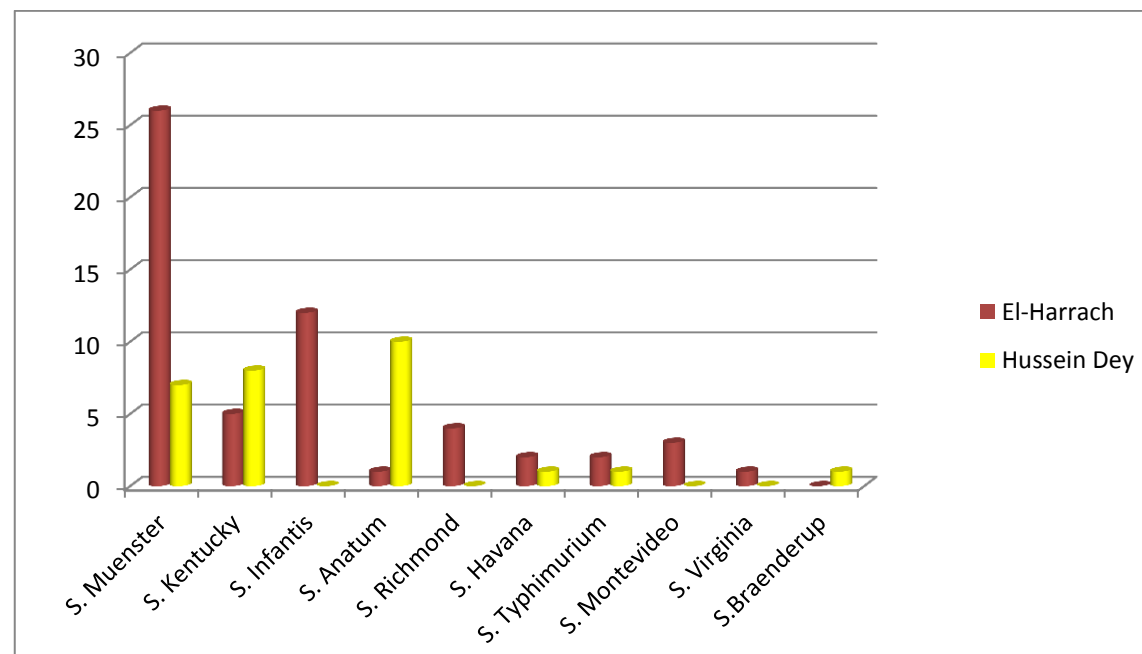


Figure 17 : Distribution des sérovars en fonction des abattoirs

Tableau 15 : Distribution des sérovars en fonction de l'espèce animale

Espèce animale	S. Muenster	S. Kentucky	S. Infantis	S. Anatum	S. Richmond	S. Havana	S. Typhimurium	S. Montevideo	S. Virginia	S. Braenderup	n*/N*
Bovins	21	9	6	3	4	3	0	3	0	1	8/50
Ovins	12	4	6	8	0	0	3	0	1	0	6/34
Total	33	13	12	11	4	3	3	3	1	1	10/84

*n= nombre de sérovars / N= nombre de souches isolées

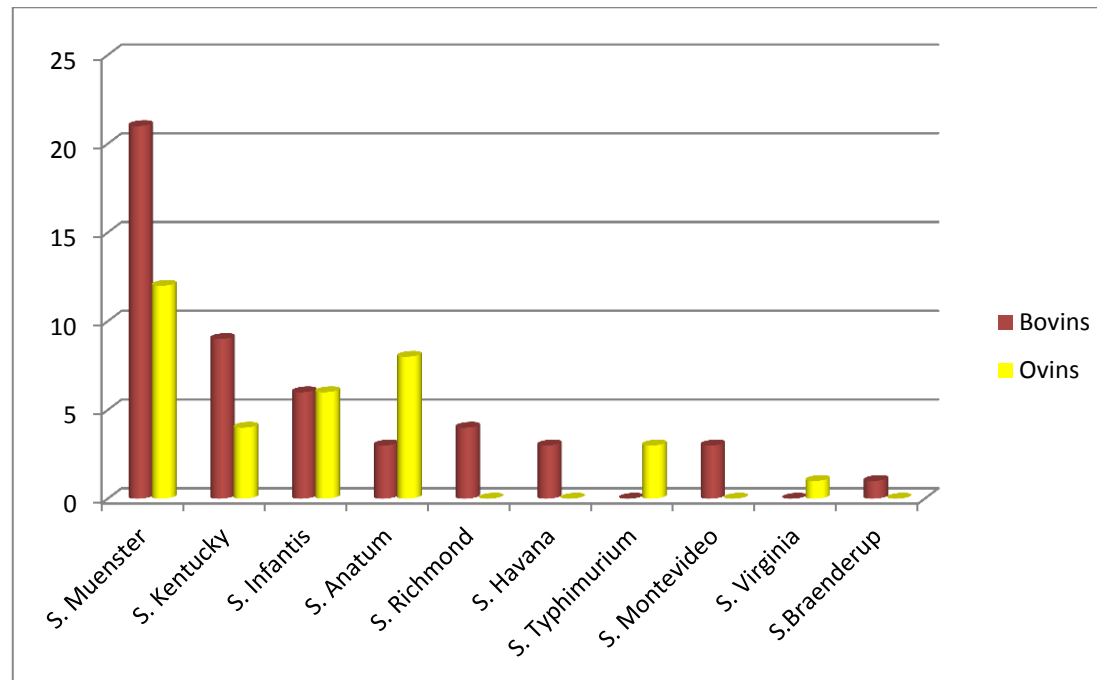


Figure 18 : Distribution des sérovars en fonction de l'espèce animale

Tableau 16 : Distribution des sérovars en fonction du type de prélèvement

Type de prélèvement	S. Muenster	S. Kentucky	S. Infantis	S. Anatum	S. Richmond	S. Havana	S. Typhimurium	S. Montevideo	S. Virginia	S. Braenderup	n*/N*
Carcasses	27	13	10	9	4	3	3	1	1	0	9/71
M. fécales	6	0	2	2	0	0	0	2	0	1	5/13
Total	33	13	12	11	4	3	3	3	1	1	10/84

*n= nombre de sérovars / N= nombre de souches isolées

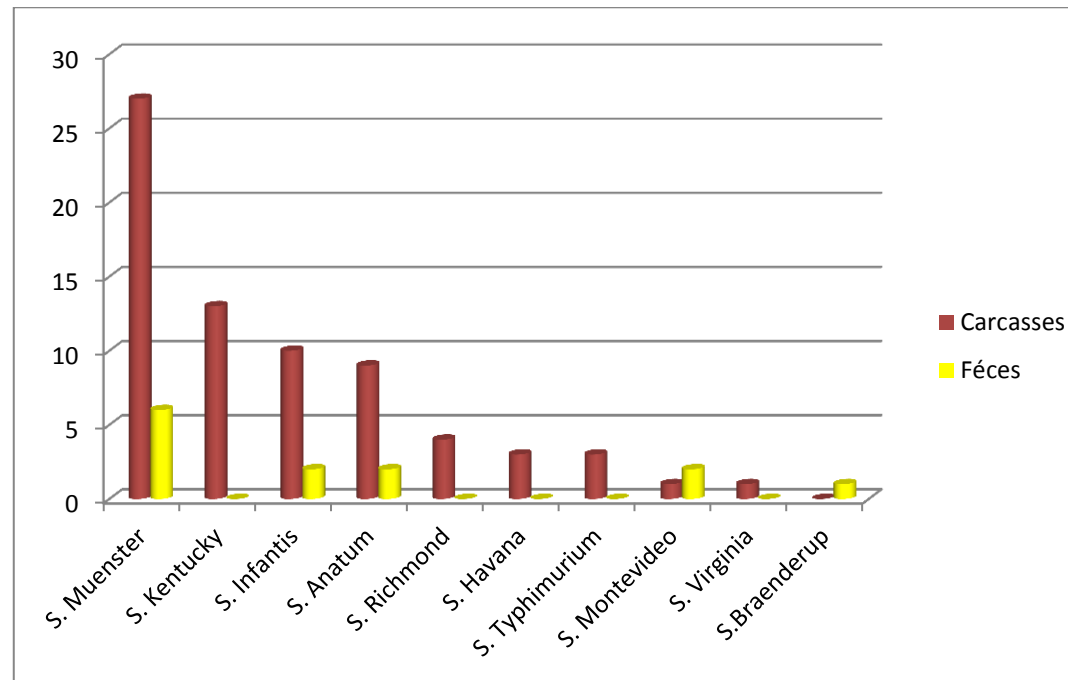


Figure 19 : Distribution des sérovars en fonction du type de prélèvement

3.3. Confirmation du genre *Salmonella* et du sérovar Typhimurium par PCR

En utilisant les amorces S139 et S141 appartenant au gène *invA* qui amplifie une séquence d'une taille de 284 pb, les résultats de la PCR ont montré que 96,4% (81/84) des souches récupérées par la méthode de culture conventionnelle ont généré un seul fragment d'ADN amplifié de la taille prévue sur le gel d'agarose.

Aucun fragment d'ADN amplifié n'a été obtenu à partir des isolats appartenant aux genres *Citrobacter* et *Proteus* testés durant cette étude.

Le sérotypage a révélé la présence de 3 isolats de *S. Typhimurium* d'origine ovine dont l'analyse par PCR a montré la présence d'un produit amplifié spécifique d'une taille de 410 bp obtenu avec des amorces de *S. Typhimurium* choisies à partir du gène *Spy*.

La figure 20 est un exemple de la photo du gel d'électrophorèse présentant des bandes de taille 284 pb correspondantes aux amorces spécifiques du gène *invA* montrées par 7 souches de *Salmonella* (3 souches isolées des abattoirs d'Hussein-Dey, et 4 souches issues d'El-Harrach); ainsi que des bandes de taille 401 pb représentant les amorces du gène *spy* spécifique au sérovar *S. Typhimurium* révélées par deux souches du sérovar recherché.

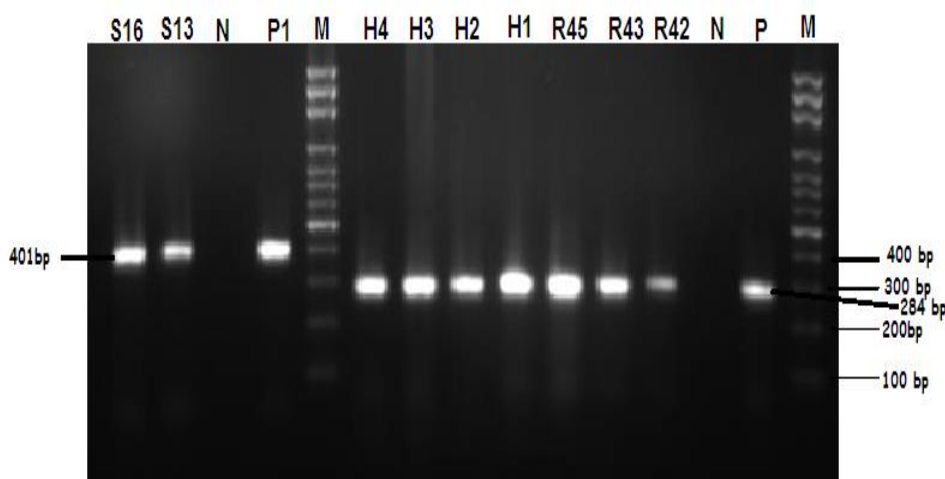


Figure 20: Visualisation de l'ADN et interprétation des résultats de confirmation du genre *Salmonella* par le gène *invA* et du sérovar *S. Typhimurium* par le gène *spy*.

M : Marqueur de poids moléculaire 100 bp ; P : contrôle positif (*Salmonella* spp) ; N : contrôle négatif (mélange de PCR sans l'ADN); R42, R43, R45, H1, H2, H3, et H4 : Fragments d'ADN de 284 bp caractéristiques du genre *Salmonella* spp, P1 : contrôle positif (*Salmonella Typhimurium*), S13, et S16 : Fragments d'ADN de 410 bp caractéristiques du sérovar *Salmonella Typhimurium*.

3.4. Etude de la sensibilité des souches de *Salmonella* aux antibiotiques

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 17 et illustrés par la figure 21. Sur les 84 isolats testés, 68 (80,9%) étaient résistants à au moins un antibiotique. Tous les isolats de *Salmonella* étaient sensibles à l'effet antimicrobien de la céfoxitine, de la ceftazidime, de la ceftriaxone, du céfépime, de l'aztréonam, de l'imipénème, de la kanamicine, de la nétilmicine, de la colistine et de la fosfomicine. La résistance aux 18 autres antibiotiques variait entre 1,2% et 69,1%. La résistance à la streptomycine était la plus fréquente avec un taux de 69,1%, suivie des sulfamides (32,1%), puis de l'ampicilline, de la ticarcilline, de la pipéracilline, de l'amoxicilline, de l'acide nalidixique et de la tétracycline (17,9%).

Toutes les souches de *S. Havana* étaient sensibles vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques testés. Alors que la totalité des souches appartenant aux sérovars *S. Infantis*, *S. Kentucky*, *S. Richmond*, *S. Typhimurium*, *S. Montevideo*, *S. Virginia* et *S. Braenderup* étaient résistantes à au moins un antibiotique.

La multirésistance a caractérisé 19 (22,6%) souches, dont 15 étaient résistantes à plus de 5 antibiotiques. Douze parmi les 13 souches (92,3%) de *S. Kentucky* isolées présentaient une résistance à 10 antibiotiques ou plus, y compris les fluoroquinolones. Les trois souches de *S. Typhimurium* ont manifesté une résistance à plus de 9 antibiotiques testés, incluant le profil d'une pentarésistance de type «ACSSuT» montrée par deux souches. Sur les 10 sérotypes identifiés, la résistance aux antibiotiques a été enregistrée dans 9 d'entre eux. Quatre sérovars ont montré une multirésistance, dont deux sérovars (*S. Typhimurium* et *S. Kentucky*) étaient résistants à plus de 5 antibiotiques. Un ensemble de 17 profils de résistance a été enregistré dont 14 profils de multirésistance. La répartition des profils de résistance en fonction de la source de prélèvement est détaillée dans le tableau 18.

Un taux de résistance très élevé [54/56= (96,4%)] a été enregistré parmi les souches isolées de l'abattoir d'El-Harrach. La multirésistance a caractérisé 8 souches issues de l'abattoir d'El-Harrach dont 6 ont montré une résistance à plus de 9 antibiotiques. Par contre, les isolats récupérés des abattoirs d'Hussein Dey étaient moins résistants dans leur ensemble avec un taux de 50%, représentant 14/28 des souches, dont 11 ont montré une multirésistance et 9 étaient résistantes à 9 antibiotiques ou plus.

La résistance aux antibiotiques était très répandue dans les souches isolées des échantillons de bovins avec un taux de 90% (45/50) avec 11 souches multirésistantes parmi elles 9 étaient résistantes à au moins 10 antibiotiques. Alors que les souches d'origine ovine ont

montré un taux de résistance de 67,6% (23/34), et la multirésistance a caractérisé 8 souches dont 6 étaient résistantes à au moins 9 antibiotiques.

Le taux de résistance dans les souches isolées des carcasses était de 80,3% (57/71) ce qui est relativement similaire au taux enregistré dans les souches issues des fèces [11/13= (84,6%)]. A part un seul profil de bi-résistance (S, SSS) enregistré dans une souche isolée des matières fécales, les profils multirésistants ont été isolés particulièrement des souches récupérées des carcasses avec 18 souches multirésistantes dont 15 présentaient une résistance à au moins 9 antibiotiques.

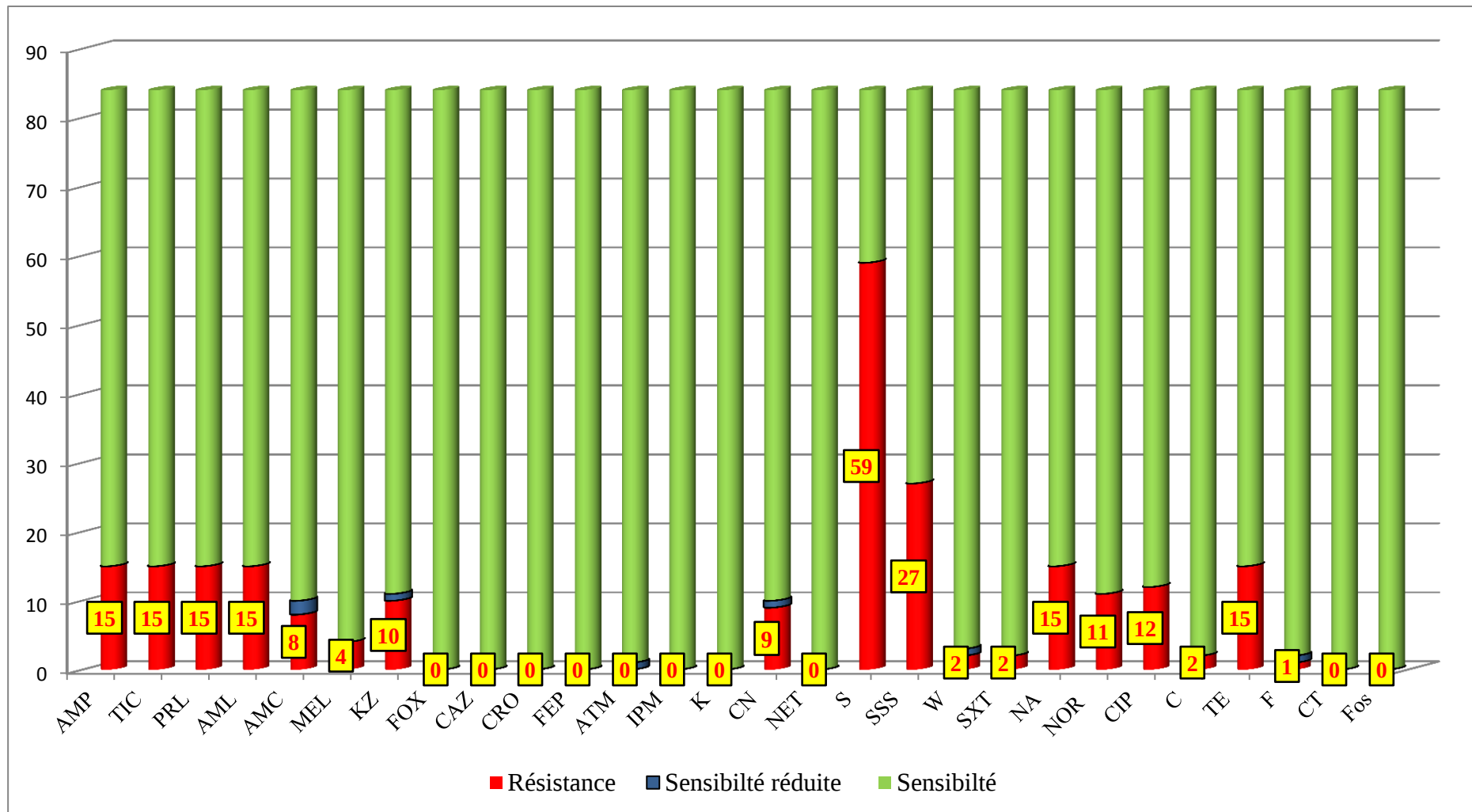


Figure 21: Sensibilité des souches de *Salmonella* spp. aux antibiotiques en fonction de la catégorie clinique.

Tableau 17 : Phénotypes de résistances aux antibiotiques des souches de *Salmonella* isolées

Sérovars	n/N	Nombre de souches										Phénotypes
		0ATB	1ATB	2ATBs	4ATBs	9ATBs	10ATBs	11ATBs	12ATBs	13ATBs	14ATBs	
S. Muenster	27/33	6	19									S
			8									SSS
S. Anatum	4/11	7	2									S
					1							S, SSS
					1							SSS, TE
S. Infantis	12/12		12									S
S. Kentucky	13/13				1							S, SSS, W, SXT
						1						AMP, TIC, PRL, AML, KZ, S, SSS, NA, CIP, TE
						1						AMP, TIC, PRL, AML, KZ, S, SSS, NA, NOR, CIP
							1					AMP, TIC, PRL, AML, KZ, S, SSS, NA, NOR, CIP, TE
							1					AMP, TIC, PRL, AML, CN, S, SSS, NA, NOR, CIP, TE
								1				AMP, TIC, PRL, AML, KZ, CN, S, SSS, NA, NOR, CIP, TE
								1				AMP, TIC, PRL, AML, MEL, CN, S, SSS, NA, NOR, CIP, TE
									3			AMP, TIC, PRL, AML, AMC, KZ, CN, S, SSS, NA, NOR, CIP, TE
										3		AMP, TIC, PRL, AML, AMC, MEL, KZ, CN, S, SSS, NA, NOR, CIP, TE

n= nombre d'isolats résistants ; N= nombre total d'isolats, ; AMP= ampicilline; TIC= ticarcilline; PRL= piperacilline; AML= amoxicilline; AMC= amoxicilline/clavulanate; MEL= mecillinam; KZ= cefazoline; CN= gentamicine; S= streptomycine; SSS=sulphonamides; W= trimethoprim; SXT= trimethoprim/sulfamethoxazole; NA= acide nalidixique; NOR= norfloxacin; CIP= ciprofloxacine; C= chloramphenicol; Te= tetracycline; F= furanes.

Tableau 18 : Sources et profils de résistance aux antibiotiques

Sérovars	Sources	Nombre de souches			Types de profils
		Testées	Résistantes	Multi-résistantes	
S. Muenster	Carcasses bovines	16	15	0	1 sensible, 8 S, 7 SSS
	Carcasses ovines	11	7	0	4 sensibles, 7 S
	Fèces bovins	5	5	0	1 SSS, 4 S
	Fèces ovins	1	0	0	1 sensible
S. Kentucky	Carcasses bovines	9	9	9	3 AMP,TIC,PRL,AML,AMC,KZ,CN,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
					1AMP,TIC,PRL,AML,AMC,MEL,KZ,CN,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
					1 AMP,TIC,PRL,AML,CN,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
					1 AMP,TIC,PRL,AML,KZ,CN,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
					1 AMP,TIC,PRL,AML,KZ,S,SSS,NA,CIP,TE
					1 AMP,TIC,PRL,AML,KZ,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
					1AMP,TIC,PRL,AML,MEL,CN,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
S. Infantis	Carcasses ovines	4	4	4	1 S, SSS, W, SXT
					1AMP,TIC,PRL,AML,KZ,S,SSS,NA,NOR,CIP
					2 AMP,TIC,PRL,AML,AMC,MEL,KZ,CN,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE
	Fèces bovins	0			
	Fèces ovins	0			
S. Infantis	Carcasses bovines	4	4	0	4 S
	Carcasses ovines	6	6	0	6 S
	Fèces bovins	2	2	0	2 S
	Fèces ovins	0			

Tableau 18 : Sources et profils de résistance aux antibiotiques (suite)

S. Anatum	Carcasses bovines	2	1	1	1 sensible, 1 S, SSS
	Carcasses ovines	7	2	1	5 sensibles, 1 S, 1 SSS, TE
	Fèces bovins	1	1	0	1 S
	Fèces ovins	1	0	0	1 sensible
S. Richmond	Carcasses bovines	4	4	0	4 S
	Carcasses ovines	0			
	Fèces bovins	0			
	Fèces ovins	0			
S. Typhimurium	Carcasses bovines	0			
	Carcasses ovines	3	3	3	1 AMP,TIC,PRL,AML,S,SSS,W,SXT,TE
					1 AMP,TIC,PRL,AML,AMC,S,SSS,NA,C,TE
					1 AMP, TIC,PRL,AML,AMC,S,SSS,NA,C,TE,FU
	Fèces bovins	0			
	Fèces ovins	0			
S. Montevideo	Carcasses bovines	1	1	0	1 S
	Carcasses ovines	0			
	Fèces bovins	2	2	0	2 S
	Fèces ovins	0			
S. Virginia	Carcasses bovines	0			
	Carcasses ovines	1	1	0	1 NA
	Fèces bovins	0			
	Fèces ovins	0			

Tableau 18 : Sources et profils de résistance aux antibiotiques (suite)

S. Braenderup	Carcasses bovines	0			
	Carcasses ovines	0			
	Fèces bovins	1	1	1	1 S, SSS
	Fèces ovins	0			
S. Havana	Carcasses bovines	3	0	0	3 sensibles
	Carcasses ovines	0			
	Fèces bovins	0			
	Fèces ovins	0			

AMP= ampicilline; TIC= ticarcilline; PRL= piperacilline; AML= amoxicilline; AMC= amoxicilline/clavulanate; MEL= mecillinam; KZ= cefazoline; CN= gentamicine; S= streptomycine; SSS=sulphonamides; W= trimethoprim; SXT= trimethoprim/sulfamethoxazole; NA= acide nalidixique; NOR= norfloxacin; CIP= ciprofloxacine; C= chloramphenicol; Te= tetracycline; F= furane

3.5. Analyse génotypique des isolats par PFGE

L'analyse comparative en champ pulsé des 84 souches de *Salmonella* bovines et ovines isolées et étudiées, et appartenant aux 10 sérovars dont 4 sérovars communs entre les deux espèces animales étudiées a généré 22 profils différents répartis en 10 clusters correspondant chacun à un sérovar. Le degré d'homogénéité et de similarité entre les 10 clusters est assez élevé ($\geq 80\%$). Les taux de similarité par sérovar sont rapportés dans le tableau 19. La figure 22 présente en exemple une photo du gel d'électrophorèse en champ pulsé pour 8 souches de salmonelles avec des profils représentatifs et des isolats marqueurs (indiquées L). Les souches 50, 56, 57 et 58 présentent des bandes communes de mêmes tailles, elles partagent donc le même profil génotypique Mu1. Par contre, les souches 66, 67, 68, et 69 présentent deux profils différents (R1 et R2) bien que très proches, elles appartiennent donc à deux lignées clonales distinctes.

La figure 23 résume les résultats obtenus pour l'ensemble des isolats analysés. La répartition des différents pulsotypes en fonction de la source de prélèvement dans chacun des deux abattoirs est détaillée dans le tableau 21.

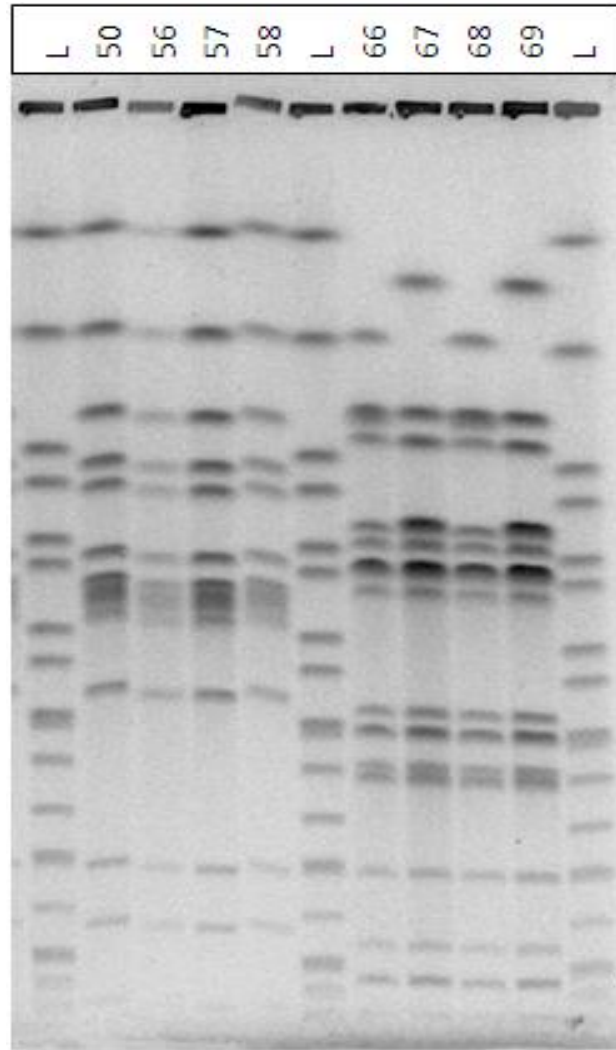


Figure 22 : Photo du gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE).

L : Marqueur (*S. Braenderup* H9812)

50, 56, 57, 58 : 4 souches de *S. Muenster* de même profil PFGE (Mu1).

67, 69 : 2 souches de *S. Richmond* de profil PFGE: R1.

66, 68 : 2 souches de *S. Richmond* de profil PFGE : R2.

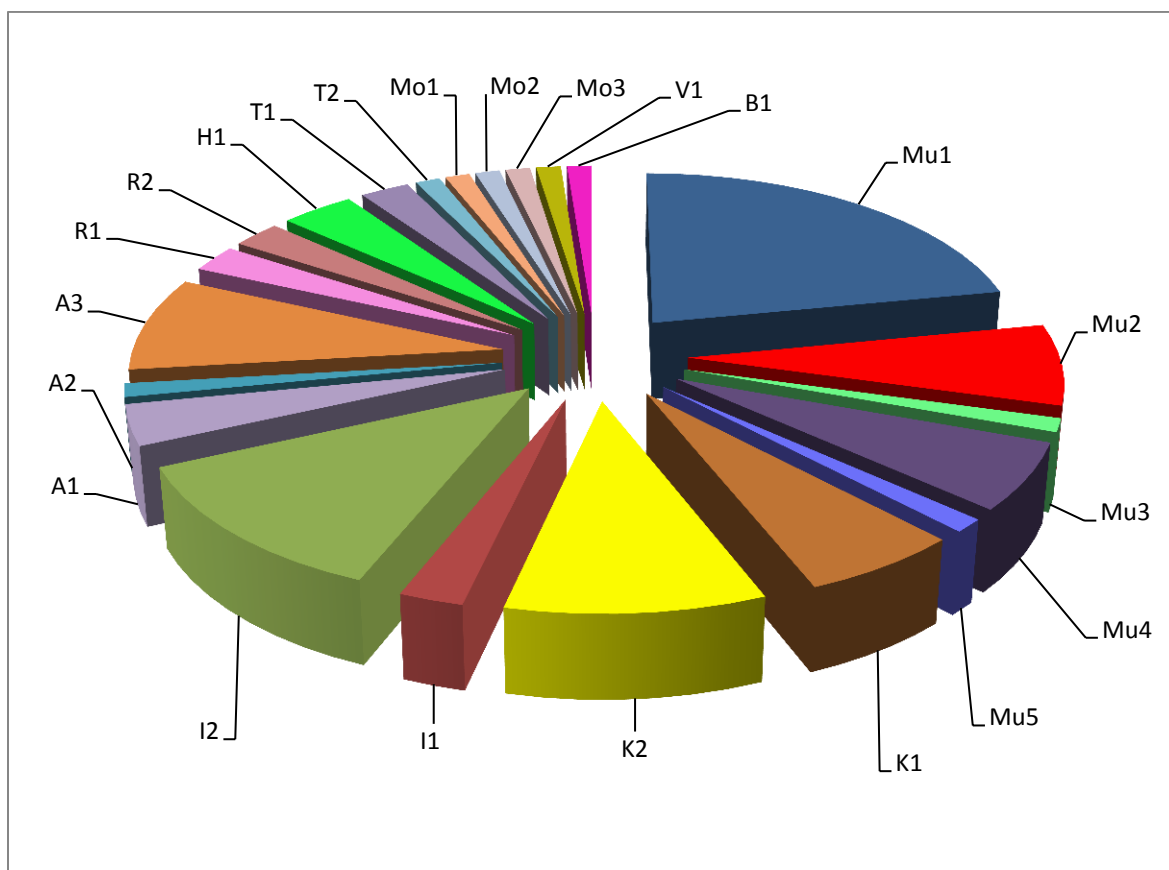


Figure 23 : Résultats du génotypage par PFGE de l'ensemble des isolats testés

Tableau 19: Profils génotypiques des souches de *Salmonella* obtenus par l'analyse PFGE

Sérovar	Nombre de souches	Nombre de pulsotypes	Taux de similarité (%)
S. Muenster	31	5	93,5
S. Kentucky	13	2	95,2
S. Infantis	12	2	96,3
S. Anatum	11	3	86,7
S. Richmond	4	2	92,3
S. Typhimurium	3	2	83,3
S. Havana	3	1	97
S. Montevideo	3	3	90,3
S. Virginia	1	1	/
S. Braenderup	1	1	/
Total	82	22	94,0

Nous exposerons ci-dessous les profils génotypiques des sérovars dont le nombre des souches est égale ou supérieur à 2.

- **S. Muenster** : Parmi les 33 isolats de *S. Muenster* analysées par PFGE, 2 souches n'ont pas été décelées sur gel d'agarose. L'analyse PFGE des autres 31 souches digérées par l'enzyme *XbaI* a identifié 5 profils différents appartenant à un seul cluster (taux de similarité > 80%) et constitués de 13 à 18 fragments d'ADN. Les liens génétiques des différents profils PFGE sont représentés par le dendrogramme ci-dessous (figure 24). Le profil génétique Mu1 est le profil dominant avec 18 souches isolées de différentes sources. Le profil dominant d'antibiorésistance pour le pulsotype Mu1 est la résistance à la streptomycine. Une seule souche de ce groupe est récupérée des prélèvements venant des abattoirs d'Hussein-Dey et est également la seule sensible à la totalité des antibiotiques testés.

Le pulsotype Mu2 regroupe 6 souches isolées uniquement des carcasses, 04 parmi elles sont sensibles à la totalité des antibiotiques. Alors que les deux génotypes Mu3 et Mu5 regroupent chacun une souche résistante aux sulfamides isolées des carcasses bovines dans les abattoirs d'El-Harrach. Enfin, le profil Mu4 est représenté par 5 souches résistantes uniquement à la streptomycine et isolées de différents types de prélèvements à l'abattoir d'El-Harrach.

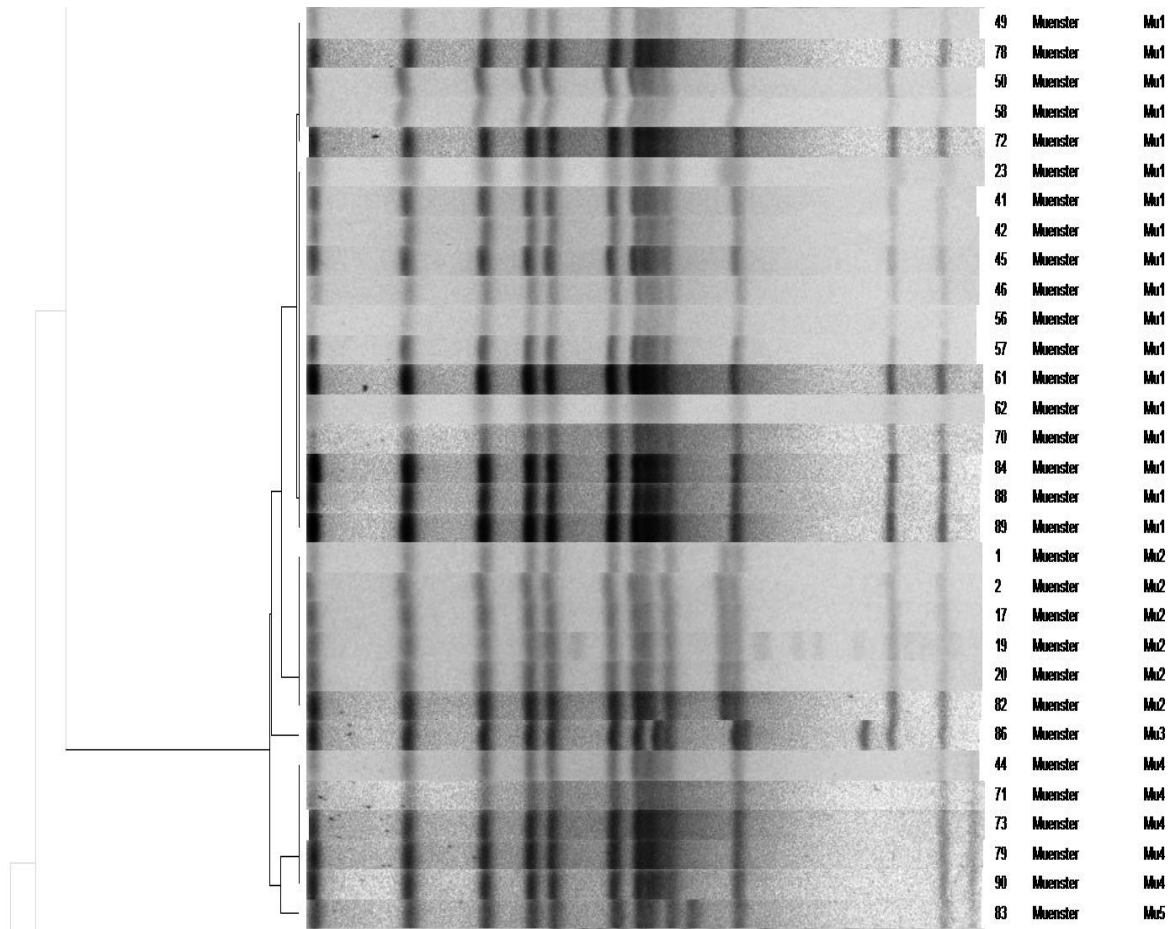


Figure 24 : Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Muenster*

- S. Anatum :** La macro restriction avec l'enzyme *XbaI* des 11 souches testées de *S. Anatum* a identifié 3 profils différents appartenant à un seul cluster (figure 25). Le profil génotypique A1 est représenté par 3 souches dont la source est différente et sont résistantes à un ou deux antibiotiques. Le profil A2 contient une seule souche bi-résistante. Alors que le 3^{ème} profil génotypique qui est majoritaire regroupe 7 souches isolées de différentes sources venant des abattoirs d'Hussein-Dey et sont toutes sensibles vis-à-vis aux antibiotiques.

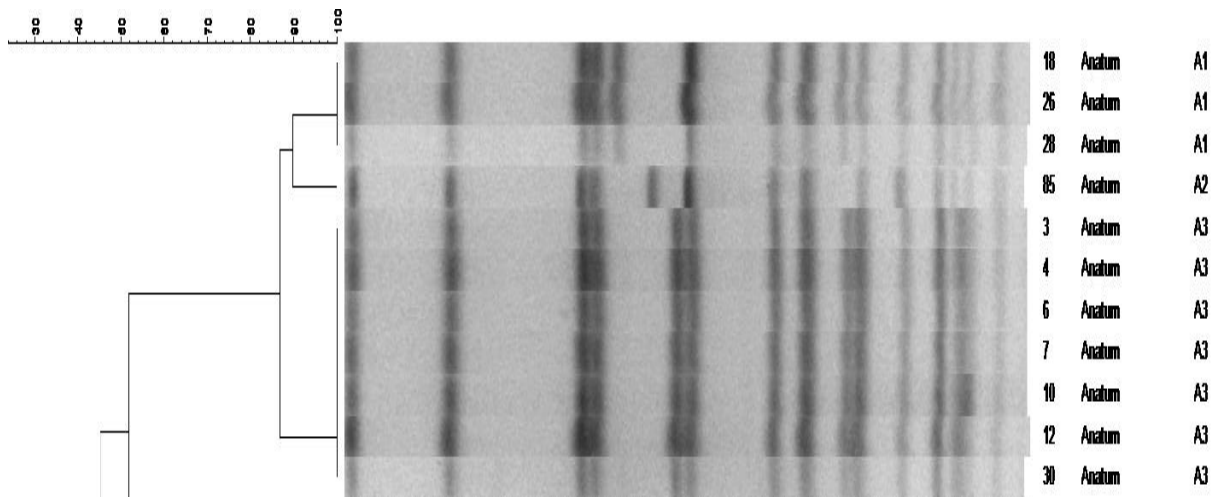


Figure 25 : Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Anatum*

- **S. Typhimurium :** l'analyse PFGE des 3 souches de *S. Typhimurium* isolées durant cette étude à partir des carcasses ovines a permis de les répartir en deux pulsotypes appartenant à un seul cluster (figure 26). Le génotype T1 regroupe les deux souches isolées de l'abattoir d'El-Harrach, dont les profils de multirésistance aux antibiotiques sont presque identiques. D'un autre côté, le génotype T2 est représenté par la souche isolée des abattoirs d'Hussein-Dey, qui se caractérise par un profil de multirésistance différent aux premières (sensible à l'acide nalidixique et au chloramphénicol mais résistante à la triméthoprine et à l'association triméthoprine/sulfaméthoxazole).

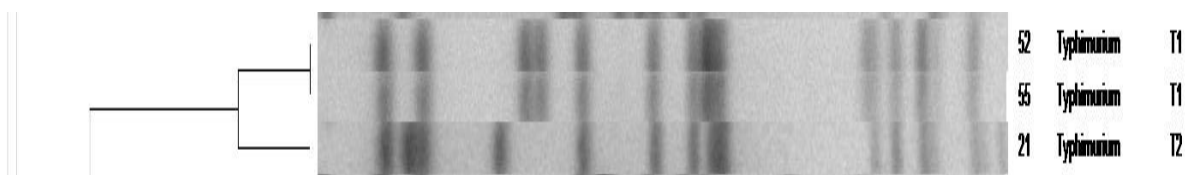


Figure 26: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Typhimurium*

- **S. Kentucky :** La digestion enzymatique avec l'*XbaI* de l'ADN chromosomal des 13 souches de *S. Kentucky* a montré 2 profils PFGE différents appartenant au même cluster (figure 27). Les 5 souches du pulsotype K1 présentant des profils de multirésistance quasi identiques caractérisés plus particulièrement par la résistance aux fluoroquinolones sont récupérées des échantillons prélevés à El-Harrach. Concernant les 8 souches formant le pulsotype K2, bien qu'elles aient des profils de multirésistance

presque similaires à ceux des souches du génotype K1, elles sont toutes isolées des abattoirs d'Hussein-Dey.

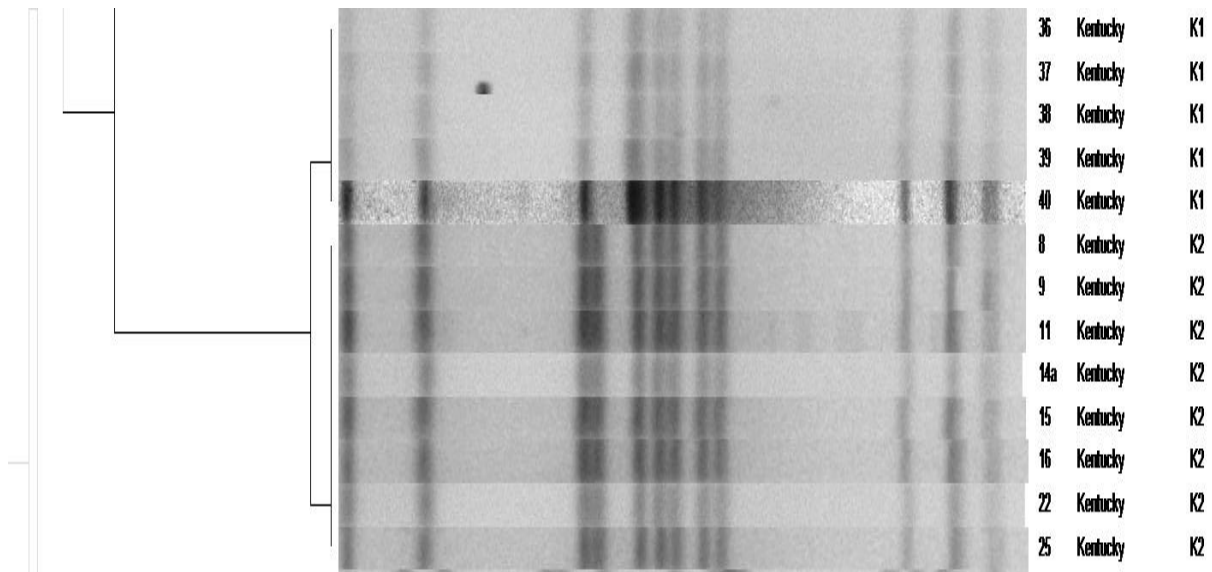


Figure 27 : Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Kentucky*

- **S. Infantis:** Les 12 souches de *S. Infantis* isolées seulement des échantillons prélevés des carcasses à l'abattoir d'El-Harrach ont présenté deux profils appartenant au même cluster (figure 28). Notons que ces 12 souches présentaient le même profil de résistance (uni-résistance à la streptomycine).
- Bien qu'elles fussent isolées séparément des deux abattoirs étudiées, les 3 souches de **S. Havana** ont été représentées par un seul profil génétique (figure 29) enregistrant ainsi un taux de similarité très élevé. Ces trois souches partageaient entre elles le même profil de résistance (sensibilité à tous les antibiotiques testés).

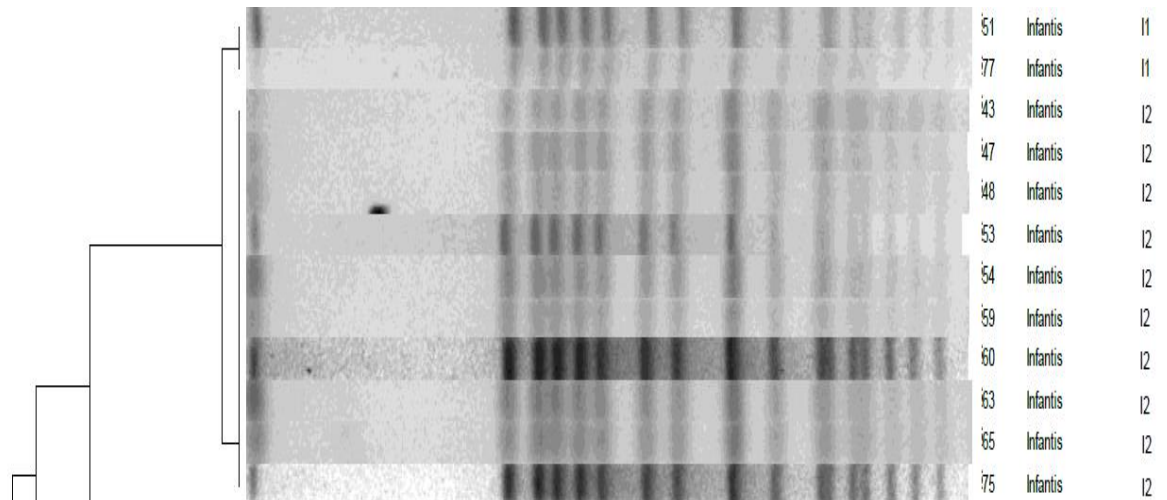


Figure 28: Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Infantis*

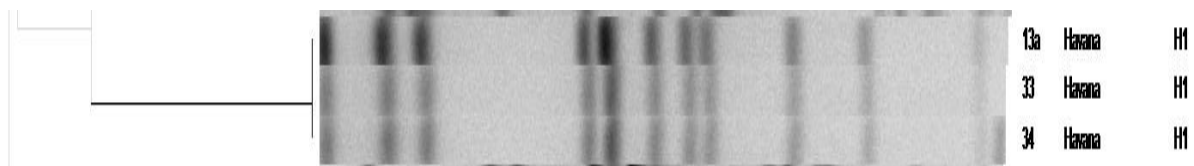


Figure 29 : Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Havana*

- S. Montevideo:** Bien qu'elles soient toutes isolées des échantillons d'origine bovine prélevés de l'abattoir d'El-Harrach durant la même période, et avaient le même profil de résistance (uni-résistantes à la streptomycine), les 3 souches de *S. Montevideo* ont montré 3 pulsotypes différents appartenant au même cluster (figure 30). La même remarque a été enregistrée pour les 4 souches de **S. Richmond**, qui malgré leur provenance commune (isolées des carcasses bovines à l'abattoir d'El-Harrach durant la même période) et leurs profils de résistance identiques (uni-résistance à la streptomycine), elles appartiennent à deux génotypes différents R1 et R2 (figure 31).

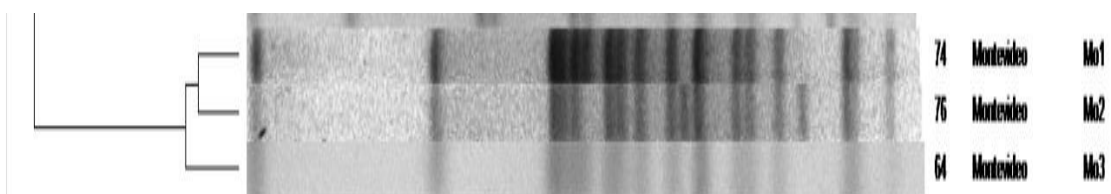


Figure 30 : Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Montevideo*

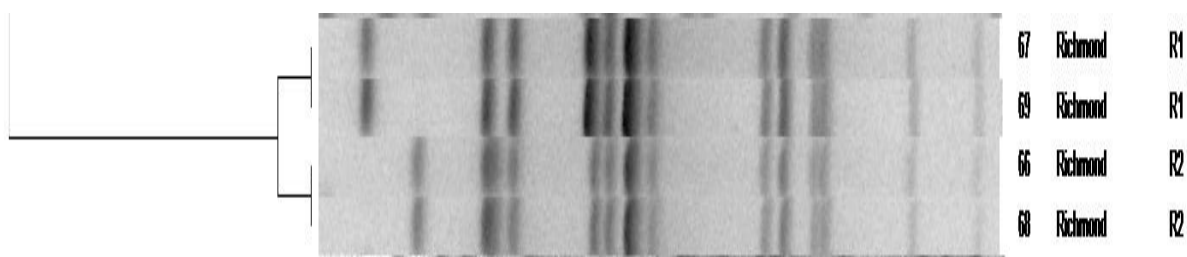


Figure 31 : Dendrogramme issu de l'analyse PFGE avec l'enzyme *XbaI* des souches de *S. Richmond*

Evaluation de la discrimination obtenue par PFGE à l'aide de l'indice de Simpson (D):

Les valeurs de l'indice D obtenues pour les sérovars étudiés pendant ce travail sont présentées dans le tableau 20.

Tableau 20: Evaluation de l'indice de discrimination de Simpson (D) pour les sérovars obtenus durant cette étude.

Sérovar	Nombre de souches	Nombre de profils	ID
<i>S. Muenster</i>	31	5	0, 62
<i>S. Kentucky</i>	13	2	0, 51
<i>S. Anatum</i>	11	3	0, 56
<i>S. Infantis</i>	12	2	0, 31
<i>S. Richmond</i>	4	2	0, 67
<i>S. Typhimurium</i>	3	2	0, 67
<i>S. Havana</i>	3	1	0
<i>S. Montevideo</i>	3	3	1

Le calcul de l'ID ne se fait pas pour les sérovars représentés par une seule souche (Virginia, Braenderup).

Un indice supérieur à 0,95 est considéré comme très bon.

Un indice entre 0,8 et 0,9 est bon.

Un indice entre 0,7 et 0,8 est intermédiaire.

Un indice inférieur à 0,7 est bas.

Un indice inférieur à 0,6 est très bas.

Tableau 21: Résultats du génotypage des souches de *Salmonella* par PFGE en fonction de la source des prélèvements

Sérovar	Pulsotype	Nombre de souches								
		Abattoir d’El Harrach				Abattoir d’Hussein Dey				Total
		Bovins		Ovins		Bovins		Ovins		
		Carcasses	Fèces	Carcasses	Fèces	Carcasses	Fèces	Carcasses	Fèces	
Muenster	Mu1	9	2	6				1		18
	Mu2	1				2		3		6
	Mu3	1								1
	Mu4	1	3	1						5
	Mu5	1								1
Kentucky	K1	3		2						5
	K2					6		2		8
Infantis	I1		1	1						2
	I2	4	1	5						10
Anatum	A1						1	2		3
	A2	1								1
	A3					1		5	1	7
Richmond	R1	2								2
	R2	2								2
Havana	H1	2				1				3
Typhimurium	T1			2						2
	T2							1		1
Montevideo	Mo1		1							1
	Mo2		1							1
	Mo3	1								1
Virginia	V1			1						1
Braenderup	B1						1			1

4. DISCUSSION

La prévalence de *Salmonella* et la distribution de ses sérotypes dans le bétail et les aliments d'origine animale diffèrent grandement selon le pays et la zone géographique, l'âge des animaux, les groupes et le système de production, les types de prélèvements et les méthodes de détection mises en œuvre. Les objectifs de cette étude consistent à évaluer le degré de contamination à *Salmonella* des carcasses issues d'ovins et de bovins abattus aux abattoirs d'El-Harrach et d'Hussein-Dey, de connaître le statut salmonellique de ces animaux et son influence sur la contamination des carcasses, identifier les sérovars circulants ainsi que leur degré de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés et déterminer les liens génétiques entre les souches isolées.

Les taux de contamination à *Salmonella* enregistrés durant cette étude doivent être interprétés avec prudence en raison du nombre relativement faible d'abattoirs concernés par l'échantillonnage, le nombre de prélèvements effectués, les techniques utilisées, le type d'élevage des animaux et le statut hygiénique général des fermes et des abattoirs ; par conséquent, il est impératif d'être réservé en faisant des comparaisons directes des taux de contamination des carcasses enregistrés durant ce travail avec ceux obtenus dans d'autres pays. Néanmoins, il convient de souligner que notre étude est assez représentative; en tenant compte des similarités des méthodes de travail et des conditions hygiéniques dans la quasi-totalité des abattoirs et tueries à l'échelle nationale, cela nous conforte et nous permet de croire que notre estimation pourrait approcher la situation réelle des abattoirs algériens vis-à-vis de *Salmonella* spp.

Nous avons choisi de travailler sur les carcasses de bovins et des ovins car elles sont les plus largement consommées en Algérie. De plus, très peu de recherches ont été menées sur la prévalence de *Salmonella* dans les viandes bovines et ovines en Algérie.

4.1. Taux de contamination à *Salmonella* spp

Dans la présente étude, sur 826 échantillons testés, 84 (10,2%) étaient positifs à la présence de *Salmonella*. Les taux de contamination étaient plus élevés dans les carcasses (16,1%). Bien que les voies d'accès de *Salmonella* à la viande des animaux de boucherie diffèrent selon l'étape du processus, le principal facteur est l'approvisionnement en animaux porteurs de *Salmonella*, ce qui mène à la contamination des carcasses et de la viande (Kirchner *et al.*, 2011).

La réglementation algérienne relative aux spécifications microbiologiques des denrées alimentaires (Norme algérienne du 23 juillet 1994) ainsi que la majorité des normes internationales imposent l'absence totale des salmonelles dans les carcasses ovines et bovines, ceci reflète le risque potentiel que constitue ce germe pour la santé du consommateur.

Les résultats obtenus (tableau 8) montrent que les échantillons de bovins étaient significativement ($p < 0,05$) plus contaminés (14,3%) que les échantillons d'ovins (7,1%). Ces résultats sont en accord avec les données nationales antérieures (Nouichi & Hamdi, 2009 ; Mezali & Hamdi, 2012) et les données internationales (Dabassa & Bacha, 2012; Ahmad *et al.*, 2013; et Ni *et al.*, 2018) qui ont rapporté des charges de salmonelles plus élevées chez les bovins que chez les ovins. Cependant, ils vont à l'encontre des travaux de Stipetic *et al.* (2016) qui ont noté que les échantillons ovins étaient plus contaminés. D'autre part, d'autres études n'ont signalé aucune différence entre les deux espèces animales (Jimenez *et al.*, 2011; Bolton *et al.*, 2012).

Nos résultats pourraient être dus à la susceptibilité particulière des bovins à l'infection à *Salmonella* (Nouichi & Hamdi, 2009). En outre, les réservoirs gastriques chez cette espèce sont tellement importants qu'il est très difficile voire impossible (vu les mauvaises conditions techniques et humaines caractérisant les deux abattoirs étudiés et la majorité de nos abattoirs) d'éviter la contamination des carcasses par le contenu des sacs gastriques qui constituent le réservoir principal de cette bactérie. C'est ainsi que plusieurs auteurs ont constaté que les viandes bovines sont classées parmi les aliments les plus impliqués dans les cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) (Laufer *et al.*, 2015).

Les carcasses de bovins sont les plus contaminées par les salmonelles avec un taux de 20,5%. Auparavant, nous avons enregistré un taux de contamination plus faible (10%) dans le même type d'échantillons (Nouichi & Hamdi, 2009). Le taux de contamination des carcasses bovines enregistré durant cette étude est identique à celui (21 %) enregistré par Hammoudi *et al.* (2013) dans un abattoir situé à l'Ouest algérien. A l'échelle internationale, les rapports précédents indiquaient des taux de contamination à *Salmonella* dans la viande bovine et les carcasses, variables et inférieurs à notre résultat, allant généralement, de 0,9% à 13,3% (Dabassa & Bacha, 2012; Tafida *et al.*, 2013 ; Ahmed & Shimamoto, 2014; Ateba & Mochaiwa, 2014; Cossi *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2014; Muluneh & Kibret, 2015; Kore *et al.*, 2017; Moawad *et al.*, 2017; Wabeto *et al.*, 2017;

Matchawe *et al.*, 2019 ; Okafor *et al.*, 2020). L'étude récente de Das *et al.* (2019) menée sur 200 carcasses bovines a montré un taux de contamination à *Salmonella* très élevé (64,5%).

Dans les carcasses ovines, la prévalence était de 12,7%. Bien que Teklu et Negussie (2011), et Ahmad *et al.* (2013), aient enregistré des résultats relativement similaires (14,1%), d'autres études ont rapporté des taux de contamination plus faibles: 0% (Cetin *et al.*, 2020), 1,1% (Nouichi & Hamdi, 2009), 3,3% (Dabassa & Bacha, 2012) et 6,3 (Makwana *et al.*, 2015).

Dans notre étude, le taux de présence de *Salmonella* dans les fèces de bovins était de 6,9%. Ce résultat corrobore les travaux d'Hurtado *et al.* (2017), Addis *et al.* (2011), Bahnass *et al.* (2015), et Abunna *et al.* (2017) qui ont enregistré des prévalences respectives de 5,8%, 7,7%, 8,5%, et 7,7%.

Nos résultats sont légèrement inférieurs à ceux de Zare *et al.* (2014) et Barlow *et al.* (2015) qui ont enregistré des valeurs de 10% et 11,5% respectivement. Ils sont largement inférieurs aux résultats enregistrés par Kagambèga *et al.* (2013), Oloya *et al.* (2007) et Alam *et al.* (2009), qui ont rapporté des taux de contamination de 52%, 64,7% et de 73,7% respectivement. D'autres auteurs, tels que, Mohamed (2011), Dabassa et Bacha (2012), Bordonaro *et al.* (2015), Kore *et al.* (2017) et Nyabundi *et al.* (2017) ont signalé des taux de contamination des fèces allant de 1,7% à 3,3%.

Dans cette étude, la prévalence de *Salmonella* dans les échantillons fécaux ovins reste assez faible (0,9%), comparée à celle enregistrée dans les fèces de bovins (6,9%), et celles rapportées dans différentes études précédentes: 2% (Cetin *et al.*, 2020), 3,3% (Dabassa & Bacha, 2012), 6,1% (Hurtado *et al.*, 2017), 6,4% (Bahnass *et al.*, 2015), 7% (Edrington *et al.*, 2009), 7,2% (Mohammed Saleh, 2012), 12% (Oloya *et al.*, 2007) et 16% (Zare *et al.*, 2014). Ce résultat pourrait s'expliquer selon certains auteurs, par le fait que les infections à *Salmonella* chez les ovins sont généralement plus rares que chez les bovins (Wray & Linklater, 2000; Barrow *et al.*, 2010).

Le taux relativement élevé de salmonelles dans les fèces de bovins par rapport aux fèces ovins est inquiétant compte tenu de la forme naturelle des excréments bovins qui collent facilement et souillent de larges surfaces des carcasses, du milieu et du matériel utilisé.

Le présent travail a montré un taux de contamination à *Salmonella* significativement ($p < 0,05$) plus élevé dans les échantillons prélevés des carcasses (16,1%) que dans les échantillons fécaux (3,4%), ce qui est cohérent avec les résultats de l'étude de Teklu et Negussie (2011) menée sur les carcasses et matières fécales ovines en enregistrant des taux de contamination de 12,4% et 4% respectivement, et celle de Dabassa et Bacha (2012) qui ont enregistré un taux de contamination de 13,3% dans les carcasses de bovins contre un taux de contamination de 3,3% dans leurs fèces. Cependant, nos résultats vont à l'encontre de ceux obtenus dans les travaux de Dong *et al.* (2014), qui indiquaient une prévalence plus élevée de *Salmonella* dans les fèces (18,6%) que dans les carcasses (1,4%).

Selon Duggan *et al.* (2010), et Bordonaro *et al.* (2015), les échantillons fécaux sont plus contaminés par plusieurs genres bactériens que les échantillons de carcasses et autres produits alimentaires, ce qui rendrait plus difficile la détection des salmonelles dans ces échantillons à cause de la compétitivité entre les différents germes saprophytes qui inhiberaient ainsi la multiplication des germes pathogènes, et ce par modification du milieu car ces derniers sont plus exigeants que les germes saprophytes.

Quoique les résultats de la recherche des salmonelles dans les fèces semblent cohérents avec ceux des carcasses entre les deux abattoirs, néanmoins, il n'est pas correct de supposer une relation directe entre le taux de contamination à *Salmonella* des carcasses et celui des fèces à cause du faible taux de contamination enregistré dans les matières fécales. Ceci rejoint les travaux de Wonderling *et al.* (2003) et d'Arguello *et al.* (2012) qui n'ont trouvé aucune relation entre le résultat positif à *Salmonella* dans les fèces et la contamination de la carcasse d'un même animal. Ces mêmes auteurs ont signalé que la contamination croisée serait responsable de 50% des contaminations des carcasses étudiées, et qu'aucune différence du taux de contamination par *Salmonella* de la carcasse n'a été constatée entre les animaux infectés. Bien qu'ils aient enregistré un taux élevé de salmonelles dans les matières fécales (30%), Piras *et al.* (2011) n'ont pas trouvé de corrélation directe entre le statut salmonellique des animaux porteurs et les taux de contamination des carcasses. Arthur *et al.* (2008) et Narvaez-Bravo *et al.* (2013) suggèrent que le statut fécal et de la peau en agents pathogènes, des animaux envoyés à l'abattoir est peu pertinent pour déterminer le risque de contamination de la carcasse. Cependant, Berends *et al.* (1997) estiment qu'un animal vivant porteur digestif des salmonelles aurait 3 à 4 fois plus de chances qu'un animal indemne de donner une carcasse contaminée. En

outre, le risque de contamination des carcasses à *Salmonella* à partir des matières fécales n'est pas exclu, car une bactériologie négative ne signifie pas une absence de salmonelles. L'excrétion par les animaux porteurs sains, en particulier les bovins se fait de manière intermittente, à moins qu'ils ne subissent un stress (Wray & Davies, 2000; Teklu & Negussie, 2011), de même que les prélèvements ne sont pas réalisés de manière répétée sur une longue période. Enfin, au cours de cette étude, l'ensemble des animaux présents dans la salle d'abattage n'a pas été concerné dans sa totalité par l'échantillonnage durant chacune de nos visites. D'autant plus, qu'un bref contact avec les matières fécales pourrait produire une contamination de plus de 10^6 bactéries/cm², ce qui est suffisant pour une contamination croisée avec plus de 10 carcasses successives à des niveaux significatifs (Roberts, 1980). Ces animaux porteurs peuvent transmettre l'infection aux autres animaux qui peuvent devenir à leur tour des porteurs, et constituer une source potentielle de contamination des carcasses, du personnel, du matériel et de l'environnement, en excréant jusqu'à 10^8 UFC de salmonelles par gramme de matières fécales (Woldemariam *et al.*, 2005, Barrow *et al.*, 2010), sachant que les salmonelles sont des bactéries résistantes qui, en l'absence de programme de nettoyage-désinfection approprié peuvent survivre très longtemps dans l'environnement ; à titre d'exemple, plusieurs années dans des excréments desséchés, un an dans le sol et 120 jours dans l'eau douce (La Ragione *et al.*, 2013). Piras *et al.* (2012) et Arguello *et al.* (2013) ont indiqué que les souches de *Salmonella* une fois présentes dans l'environnement survivent dans certaines niches de l'abattoir et peuvent faire partie de la flore résidente (souches domestiques) qui constitue une source de contamination pour les carcasses abattues ultérieurement. Small *et al.* (2006), ont rapporté également que les salmonelles peuvent persister dans l'environnement de l'abattoir d'un jour à l'autre même après les opérations routinières de nettoyage et de désinfection.

En outre, la présence même d'un petit nombre d'espèces de *Salmonella* dans la carcasse peut entraîner une forte contamination du produit de détail fini (Dabassa & Bacha, 2012, Ateba & Mochaiwa, 2014). Ainsi, Aftab *et al.* (2012) ont confirmé que la prévalence de *Salmonella* a augmenté de 52% du stade de l'abattage à la phase du produit prêt à la vente.

Les charges élevées en salmonelles enregistrées dans les carcasses étudiées au cours de ce travail pourraient s'expliquer alors par le fait que les abattoirs d'El-Harrach et ceux d'Hussein Dey sont des abattoirs où toutes les étapes de la transformation de l'animal en carcasse et en cinquième quartier (saignée, dépouillement, éviscération,...) se font à postes

fixes, ce qui augmente le risque de contaminations croisées entre les carcasses et les peaux, le sang, les viscères, et le contenu gastrique du même ou des autres animaux. Indépendamment de l'approvisionnement en animaux porteurs de *Salmonella*, ces résultats sont également révélateurs de plusieurs anomalies enregistrées au niveau des deux établissements. Ces anomalies concernent l'état hygiénique des peaux des animaux, le personnel, le matériel utilisé et les méthodes. Plusieurs études ont évoqué auparavant les différentes sources de contamination des carcasses à *Salmonella* aux abattoirs. Différents auteurs s'accordent à dire que l'homme représente le principal agent responsable des contaminations par son état sanitaire (Kidanemariam *et al.*, 2010), son hygiène corporelle (Muluneh & Kibret, 2015) et son hygiène vestimentaire (Adetunde *et al.*, 2011; Bersisa *et al.*, 2019). Le transfert des germes pathogènes à partir des peaux des animaux a été étudié par Aftab *et al.* (2012), Serraino *et al.* (2012) et Buncic *et al.* (2014). Alors que Biswas *et al.* (2011), Teklu et Negussie (2011), Muluneh et Kibret (2015) et Okafor *et al.* (2020) ont démontré la contribution de l'état hygiénique du matériel dans la contamination des carcasses. L'apport des salmonelles par le milieu environnant a été rapporté par Pearce *et al.* (2006). Tandis que Costa *et al.* (2020) ont étudié l'influence des méthodes utilisées aux abattoirs sur le taux de contamination aux salmonelles dans les carcasses et les viscères.

Le tableau 7 indique que le taux de portage fécal en *Salmonella* est significativement ($p < 0,05$) supérieur chez les animaux abattus à El-Harrach que chez ceux abattus aux abattoirs d'Hussein Dey (4,9% et 2%, respectivement). Il est probable que les animaux abattus dans chacun des deux abattoirs représentaient des groupes d'origines différentes des autres. Ces résultats pourraient également s'expliquer par le fait que les animaux ramenés à l'abattage à Hussein Dey étaient toujours mis au repos dans les enclos de stabulation pour une durée moyenne de 8 à 12 h, alors que cette étape est souvent négligée à El-Harrach et l'abattage se déroule dans la plupart des cas dès l'arrivée à l'abattoir. De plus, ces animaux subissent une manipulation violente durant leur débarquement, ce qui constitue une source de stress et favorise l'excrétion fécale des salmonelles. Duggan *et al.* (2010), Pullinger *et al.* (2010), Rostagno *et al.* (2011), Verbrugghe *et al.* (2011), Arguello *et al.* (2013) et Atsbha *et al.* (2018) s'accordent pour affirmer que le stress favorise l'excrétion fécale des salmonelles chez les animaux porteurs.

Le non-respect de la mise au repos des animaux aux abattoirs d'El-Harrach s'accompagne certainement du non-respect des délais réguliers de la diète hydrique avant l'abattage.

Cette étape indispensable ayant pour objectif la réduction de la bactériémie d'abattage qui favorise la contamination endogène du muscle et la contamination superficielle à partir des réservoirs gastriques pourrait influencer sur les charges de *Salmonella* dans les matières fécales. En effet, les auteurs ne s'accordent pas et proposent des hypothèses différentes. Isaacson *et al.* (1999) Morrow *et al.* (2002) et Reid *et al.* (2002) ont signalé une diminution de la proportion des animaux porteurs de germes pathogènes y compris *Salmonella* lorsqu'un retrait de 24 h des aliments était appliqué. Alors que Beach *et al.* (2002) ont rapporté que la prévalence de *Salmonella* chez les animaux présentés à l'abattage aux USA n'était pas significativement associée à la diète hydrique. En revanche, Martín-Peláez *et al.* (2008), Rostagno *et al.* (2009) et Eicher *et al.* (2017), ont montré que le retrait de l'alimentation pendant des heures avant l'abattage favorise, paradoxalement, le portage fécal à *Salmonella* chez les animaux présentés à l'abattage. Ces mêmes auteurs ont expliqué ce constat par le fait que la diète hydrique pourrait en elle-même représenter un facteur de stress contribuant par conséquent à l'augmentation du portage à *Salmonella*. D'autres auteurs pensent que l'effet de la diète hydrique est lié à la durée appliquée. Ainsi, Lewis et McGlone (2008) et Faucitano *et al.* (2010) ont proposé une association entre l'état de fatigue et la durée de jeûne pour ne pas aggraver la baisse de la glycémie chez les animaux à jeun en raison de la restriction de l'alimentation. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour valider cette hypothèse et ne pas mettre le bien-être des animaux en conflit avec les objectifs de la sécurité alimentaire.

Ce taux élevé de contamination aux salmonelles des échantillons fécaux issus des animaux abattus à El-Harrach pourrait expliquer partiellement, l'élévation parallèle du taux de contamination des carcasses dans cet abattoir (23,9%) par rapport à celui des carcasses des abattoirs d'Hussein Dey (9,8%).

En outre, cette différence significative ($p < 0,05$) entre les taux de contamination des carcasses entre les deux abattoirs pourrait probablement être liée au fait que la séparation entre le secteur des animaux vivants (secteur sale) et celui des viandes (secteur propre) est partiellement respectée dans l'espace et dans le temps dans les abattoirs d'Hussein- Dey, tandis qu'à l'El-Harrach, l'aire de stabulation des animaux, de par sa localisation très proche de la porte principale de la salle d'abattage et de par sa conception très modeste (un simple enclos sans porte), représente une source de contamination très importante. Plusieurs auteurs (Duggan *et al.*, 2010; Arguello *et al.*, 2013; Bolton *et al.*, 2013) ont

montré le rôle de l'état hygiénique des zones de stabulation dans la contamination à *Salmonella* des animaux et de l'environnement d'abattage.

Nous pourrions également expliquer la différence entre les taux de contamination des carcasses dans les deux établissements par le fait que les salles d'abattage sont plus grandes à Hussein-Dey, ce qui minimiserait le contact des carcasses avec l'équipement contaminé présent sur place.

La différence entre le temps de prélèvement entre les deux abattoirs (les matinées pour les abattoirs d'Hussein Dey et les après-midis pour ceux d'El-Harrach) est un autre facteur qui pourrait encore jouer un rôle dans la différence des taux de contamination des carcasses entre les deux établissements. Ce constat a été également rapporté par l'étude d'Arguello *et al.* (2012) qui ont observé une tendance à l'augmentation de la contamination des carcasses tout au long de la journée de travail, et qu'ils l'ont justifiée par l'accumulation de *Salmonella* sur les mains des opérateurs et le matériel utilisé.

Par conséquent, nous pouvons déduire que l'influence des conditions d'hygiène sur le taux de contamination des carcasses est plus importante que celle du transfert fécal, et que certains abattoirs peuvent contrôler la contamination par *Salmonella* mieux que d'autres.

Lors des visites individuelles aux abattoirs pour faire l'échantillonnage, le taux d'isolement de *Salmonella* à partir des prélèvements variait de 0 à 55,5% par visite. Le tiers (30,1%) des visites a donné des résultats négatifs pour *Salmonella*, alors que 24% des visites ont donné des taux d'isolement de 20% ou plus, les carcasses positives se regroupent souvent dans le temps. Ce constat qui rejoint les travaux de Small *et al.* (2006), Arguello *et al.* (2012) et Piras *et al.* (2012), est plus probablement le résultat d'une contamination croisée directe ou indirecte lors de l'abattage. Ce regroupement des résultats positifs pourrait également dépendre de l'application non homogène des pratiques d'abattage et des procédés de nettoyage et de désinfection dans les deux abattoirs (température, temps et mode d'application, concentration et types de produits utilisés).

La distribution des niveaux de contaminations d'un mois à l'autre a montré des variations saisonnières allant dans le sens d'un pic durant le printemps pour les deux périodes avec un décalage d'environ un mois. Ces différences enregistrées étaient statistiquement significatives (la valeur de p est inférieure à 0,05 pour les deux périodes).

Les variations saisonnières de la prévalence de *Salmonella* dans les viandes et chez les animaux de boucherie ont été confirmées par d'autres auteurs dans des études antérieures; où Webb *et al.* (2017) et Nickelson *et al.* (2019) ont rapporté que les charges des salmonelles dans les nœuds lymphatiques des bovins présentés à l'abattage étaient très élevées pendant les saisons chaudes. Nos résultats sont également cohérents avec ceux d'Oloya *et al.* (2007) qui ont enregistré une influence significative de la saison sur les taux des salmonelles chez les bovins et les ovins présentés à l'abattage sur une période de 5 ans. D'autre part, des tendances saisonnières ont été identifiées pour les campylobactérioses et les salmonelloses, dont il a été démontré qu'elles atteignaient des pics pendant les mois d'été dans les pays tempérés à travers le monde (Semenza *et al.*, 2012)

En revanche, nos résultats vont à l'encontre des observations de Hurtado *et al.* (2017) qui ont rapporté que la saisonnalité ne semble pas avoir une influence sur la prévalence de *Salmonella* dans les matières fécales des bovins et des ovins et ce, quel que soit le type d'élevage. Brichta-Harhay *et al.* (2008) n'ont pas observé aucun effet saisonnier dans les taux des salmonelles sur les peaux et les carcasses de bovins. Pareillement, aucun schéma saisonnier n'a été détecté dans la contamination à *Salmonella* et à *E. coli* des produits carnés par Smith *et al.* (2019).

Les études confirmant l'influence de la saison sur les variations des prévalences de *Salmonella* n'arrivent pas toujours à expliquer quels facteurs engagent l'effet de la saison. En effet, les mécanismes qui sous-tendent la saisonnalité des contaminations des viandes par les germes pathogènes ne sont pas entièrement compris, mais il s'agit probablement d'une interaction complexe de différents facteurs représentés notamment par la prévalence des agents pathogènes dans le réservoir animal et les modes de survie des agents pathogènes dans l'environnement (Smith *et al.*, 2019).

La diversité et la complexité des voies de contamination dans les deux établissements d'abattage ainsi que le climat méditerranéen sévissant dans la wilaya d'Alger en tant que ville côtière se caractérisant par des hivers doux et des faibles écarts de températures entre les périodes entre l'hiver et l'été justifient ainsi, une enquête plus approfondie par le biais d'un échantillonnage plus important et plus ciblé.

4.2. Distribution des sérogroupes et des sérovars

Les grandes variations des sérovars de *Salmonella* dans leurs propriétés biologiques, leurs réservoirs naturels, leur capacité à provoquer des infections et leur résistance aux antibiotiques constitue un défi particulier pour contrôler la présence de *Salmonella* dans les productions animales (Wagenaar *et al.*, 2013, Ceyssens *et al.*, 2015). Ces sérovars varient géographiquement, certains conservent leur rang dominant durant de nombreuses années tel Typhimurium, alors que d'autres émergent, ré-émergent ou diminuent sans explication valable (Mezali & Hamdi, 2012). Des changements dans la prévalence des sérovars spécifiques dans les populations humaines et animales peuvent découler de l'introduction de la souche par le biais des voyages internationaux, des migrations humaines, des aliments, des aliments pour animaux et du commerce du bétail (Hendriksen *et al.*, 2011).

Tous les isolats de *Salmonella* spp. obtenus dans cette étude (N=84) ont été sérogroupés comme une étape préliminaire pour leur classification. Les résultats ont montré que l'ensemble des souches isolées appartiennent aux 5 groupes suivants : E1, C1, G, B, et (C2, C3).

Les résultats montrent que le groupe E1 est le groupe prédominant dans les isolats des 4 sources de prélèvements, ce qui prouve que les souches du groupe E1 circulent dans les populations des animaux abattus dans les deux abattoirs. Les sérogroupes E1 et C1 étaient des groupes communs car ils étaient présents dans les échantillons des ovins et des bovins. D'autre part, les sérogroupes G, B et le (C2, C3) ont été sélectivement distribués dans les isolats récupérés des carcasses.

Il n'y a pratiquement pas de données dans la littérature qui traitent de la prévalence des sérogroupes de *Salmonella* dans les denrées alimentaires en Algérie hormis l'étude réalisée en 2009 par Mezali qui a isolé à partir de plusieurs produits alimentaires 67 souches de *Salmonella* réparties sur 7 groupes dont le (C2, C3) était le plus dominant avec une prévalence de 26,9%. Nos résultats corroborent ceux rapportés par l'étude de Van (2007) en Australie où le groupe E a atteint 75% dans les échantillons de viande bovine. Small *et al.* (2006) ont trouvé que le séro groupe C1 était le plus répandu parmi les souches de salmonelles issues des carcasses bovines et ovines ainsi que de l'environnement de l'abattoir.

Dans notre étude, dix sérovars ont été identifiés parmi les 84 isolats de *Salmonella*. *S. Muenster* était le sérovar prédominant en termes de nombre total dans toutes les catégories d'échantillons confondus (39,3%, n= 33), puis *S. Kentucky* (15,5%, n= 13), *S. Infantis*

(14,3%, n= 12), *S. Anatum* (13,1%, n= 11), *S. Richmond* (4,8%, n= 4), *S. Typhimurium*, *S. Havana*, et *S. Montevideo* (3,6%, n= 3 pour chacun), *S. Braenderup* et *S. Virginia* (1,2%) avec un isolat chacun.

Curieusement, nos résultats montrent une distribution des sérovars de *Salmonella* qui diffère de la majorité des distributions dans des isolats d'aliments, d'animaux ou d'humains observées par les études menées en Algérie ou à l'échelle mondiale.

S. Muenster était également le sérovar le plus répandu dans chacun des quatre types d'échantillons étudiés. Au Maroc, Karraouan *et al.* (2010) ont isolé *S. Muenster* dans 12,8% des échantillons de viande hachée crue. Dans une méta-analyse récente de 71 études traitant la prévalence et la diversité des sérovars de salmonelles chez des bovins apparemment sains, Gutema *et al.* (2019) ont indiqué que *S. Muenster* était classé parmi les 8 sérovars les plus fréquemment isolés. Oloya *et al.* (2007) ont également remarqué que ce sérotype était le 5^{ème} parmi les plus isolés à partir de bovins présentés à l'abattage pendant une étude qui a duré 5 ans. Van Cauteren *et al.* (2009) ont décrit une épidémie d'infection à *Salmonella* survenue en France entre février et avril 2008, dont l'agent causal était *S. Muenster* impliquant 25 cas associés à la consommation de fromage de chèvre. Bien que cité également en Algérie par le rapport d'activité de l'IPA de l'année 2014 parmi les sérotypes isolés de viande transformée (Merguez/ pâté), et récupéré des selles d'un patient atteint de gastro-entérite durant la même année, ce sérotype est rarement identifié chez l'homme, les aliments ou les animaux à l'échelle nationale et internationale (Van Cauteren *et al.*, 2009).

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une différence dans les types de sérovars de *Salmonella* provenant des différentes sources: *S. Muenster* et *S. Anatum* ont été isolés dans les quatre catégories d'échantillons. Cela refléterait probablement une contamination croisée provenant de sources multiples et de mauvaises conditions d'hygiène dans les abattoirs. Berends *et al.* (1997) ont également rapporté qu'une fois la chaîne d'abattage est contaminée avec *Salmonella* spp, ce microorganisme va s'installer sur la machinerie, l'équipement, et les mains des opérateurs et causer une contamination croisée. Néanmoins, d'autres sérovars ont été exclusivement récupérés à partir d'une seule source, comme *S. Richmond* et *S. Typhimurium*, qui n'ont été isolés que des carcasses de bovins et d'ovins, respectivement. L'identification de *S. Kentucky* dans les échantillons de carcasses seulement, pourrait s'expliquer par le fait que les carcasses ont été contaminées par différentes sources autres que les matières fécales.

Nos résultats indiquent que les sérovars de *Salmonella* et leurs prévalences diffèrent d'une visite à l'autre au sein d'un même abattoir, et que plusieurs sérovars peuvent être impliqués dans la contamination des carcasses au cours de la même journée d'échantillonnage, ce qui corrobore les résultats de Duggan *et al.* (2010), Arguello *et al.* (2012), Piras *et al.* (2012) et Van Hoek *et al.* (2012). Etant donné que nous nous sommes limités au sérotypage d'un seul isolat par échantillon, la présence de multiples sérovars dans une seule visite, en particulier dans les prélèvements issus des carcasses, suggère une sous-estimation des sérovars de *Salmonella* chez les bovins et les ovins et dans l'environnement de l'abattage.

Deux sérovars, à savoir *S. Braenderup* et *S. Virginia*, ont été détectés, chacun d'eux, dans un seul prélèvement. Ceci pourrait s'expliquer, d'après Van Hoek *et al.* (2012), par leurs charges bactériennes très faibles ce qui aboutit à leur disparition au cours de l'abattage.

D'un autre côté, nos résultats ont montré que certains sérovars n'ont été retrouvés que durant une seule période, en effet, *S. Infantis*, *S. Richmond* et *S. Montevideo* ont été isolés uniquement durant la première partie de notre étude et uniquement dans les abattoirs d'El-Harrach, alors que *S. Kentucky* a été isolé seulement durant la deuxième partie du travail. Elgroud *et al.* (2009) ont indiqué que certains sérovars peuvent apparaître ou disparaître inexplicablement d'une année à une autre.

Certains sérovars identifiés durant cette étude, dont *S. Kentucky*, *S. Infantis*, *S. Anatum*, *S. Typhimurium* et *S. Montevideo*, font partie des 10 sérotypes les plus fréquemment rencontrés en Afrique (Hendriksen *et al.*, 2011), en Europe (EFSA & ECDC, 2018) et aux États-Unis (CDC, 2014).

Le sérovar *S. Kentucky* a été isolé à partir de 15,5% de nos échantillons. D'après les résultats enregistrés au cours de cette étude et les études nationales précédentes en Algérie (Bouzidi *et al.*, 2012, Elgroud *et al.*, 2015; Djeflal *et al.*, 2017), au Maroc (Karraouan *et al.*, 2010; El Allaoui *et al.*, 2014a, El Allaoui *et al.*, 2014b), en Tunisie (Abbassi- Ghozzi *et al.*, 2012), en Egypte (Osman *et al.*, 2014; Abdel-Maksoud *et al.*, 2015); au Nigeria (Tafida *et al.*, 2013), en France (Guillon *et al.*, 2013), et même aux USA (Andino & Hanning, 2015) ce résultat est très alarmant du fait de l'émergence soudaine et inquiétante de *S. Kentucky* qui a montré une insensibilité croissante à la quasi-totalité des familles d'antibiotiques.

Notons que, d'après les données du rapport d'activités de l'IPA de l'année 2014, la totalité (10/10) des sérovars isolés durant cette étude, étaient également parmi les sérovars les plus isolés des viandes vendues au détail et des viandes transformées (merguez, pâté, etc.) dans

la wilaya d'Alger, ce qui montre que, en dépit des contaminations survenant durant le transport et la mise en vente, les germes pathogènes originaires des abattoirs pourraient persister jusqu'au produit fini livré au consommateur.

Des études nationales antérieures ont démontré que *S. Anatum* était le sérotype le plus fréquemment isolé des carcasses bovines et ovines (Nouichi & Hamdi, 2009) et des viandes rouges et de leurs produits (Mezali & Hamdi, 2012) à Alger. Par ailleurs, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Enteritidis*, *S. Hadar* et *S. Kentucky*, ont été principalement isolés à partir de poulets de chair par Ayachi *et al.* (2010), Bounar-Kechih *et al.* (2012), Bouzidi *et al.* (2012), Elgroud *et al.* (2015) et Djefal *et al.* (2017) respectivement. Il découle de ces résultats que plusieurs sérovars de *Salmonella* pouvant être à l'origine des infections animales et humaines circulent en Algérie.

Plusieurs données récoltées à l'échelle internationale ont montré que les deux sérovars *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* sont les plus fréquemment isolés.

Hendriksen *et al.* (2011), après avoir analysé les rapports présentés par les laboratoires reconnus par une capacité de sérotypage de haute qualité dans 37 pays participant au Réseau mondial de surveillance des infections d'origine alimentaire de l'Organisation Mondiale de la Santé, ont conclu que les sérovars *Enteritidis* et *Typhimurium* sont les sérovars les plus couramment récupérés. Ces deux sérovars étaient également les plus fréquemment isolés en Europe (Graziani *et al.*, 2013; Hugas & Beloeil, 2014 ; Maraki & Papadakis, 2014; Figueiredo *et al.*, 2015; Maria *et al.*, 2015 ; EFSA & ECDC, 2018) et aux États-Unis (CDC, 2014; Pulido- Landínez *et al.*, 2014, Andino & Hanning, 2015).

Au Maroc, *S. Kentucky* était le sérovar plus isolé à partir d'échantillons de viande hachée crue (Karraouan *et al.*, 2010), alors que Shilangale *et al.* (2015) ont trouvé que *S. Chester* était le sérovar prédominant dans les échantillons de bœuf en Namibie.

Ces différences observées dans la prévalence de *Salmonella* et la distribution des sérovars entre les études pourraient dépendre de la méthode d'isolement, de la zone géographique et des conditions d'élevage.

4.3. Confirmation du genre *Salmonella* et du sérovar *Typhimurium* par PCR

Plusieurs méthodes moléculaires basées sur l'amplification de l'ADN ont été développées pour la détection des sérovars de *Salmonella* (Mirzaie *et al.*, 2010). Les méthodes de détection basées sur la PCR présentent un grand intérêt en raison de leur grande sensibilité, du temps réduit des analyses et de leur facilité à manipuler un grand nombre d'échantillons dans les laboratoires d'analyse (Fakruddin *et al.*, 2013). De nombreuses paires d'amorces

utilisées pour l'amplification in vitro de l'ADN de *Salmonella* par PCR diffèrent par leurs seuils de détection et leur précision (Malorny *et al.*, 2003).

En 2003, dans le cadre d'un grand projet international de recherche pour la validation et la standardisation de la PCR pour la détection de cinq principaux agents pathogènes d'origine alimentaire, y compris le genre *Salmonella*, l'amorce 139-141 ciblant le gène *invA* a été considérée comme étant la plus sélective (Jamshidi *et al.*, 2009, Ohud *et al.*, 2012), cette paire d'amorces a été étudiée et publiée par Rahn *et al.* en 1992. Cette réaction spécifique de PCR, validée dans ce projet, a montré une sélectivité élevée sur 242 souches de *Salmonella* (sensibilité 99,6%) et 122 souches autres que *Salmonella* (spécificité 100%) (Jamshidi *et al.*, 2009). de Oliveira *et al.* (2003) ont rapporté que l'utilisation de la PCR avec amorces du gène *invA* spécifique au genre *Salmonella* spp. diminue considérablement le nombre de résultats faux-négatifs enregistrés couramment dans les laboratoires. Ainsi, l'amplification du gène *invA* en particulier est largement utilisée et est actuellement reconnue comme une méthode standard internationale pour la détection moléculaire et la confirmation du genre *Salmonella* dans de nombreux échantillons cliniques (Ohud *et al.*, 2012). La PCR basée sur la recherche du gène *invA* a été également considérée comme une technique de haute sensibilité à utiliser pour la recherche des salmonelles dans les échantillons fécaux (Malorny *et al.*, 2003; Mainar-Jaime *et al.*, 2008).

Le gène *invA* est une séquence chromosomique responsable de la virulence de *Salmonella*, qui code pour la production de protéines liées à l'invasion des cellules épithéliales hôtes par les bactéries (Oladapo *et al.*, 2013, Rowlands *et al.*, 2014).

La présente étude soutient la capacité des amorces S139 et S141 ciblant le gène *invA* spécifique de *Salmonella* spp. pour confirmer les colonies isolées. Sur les 84 isolats de *Salmonella* testés, 81 ont donné des bandes nettes correspondant aux amplicons recherchés d'environ 284 pb de longueur, similaires à celles de la souche de référence de *Salmonella* utilisée. L'efficacité de la technique était de 96,4% (et 96,5% en considérant les deux souches de *S. arizonae* éliminées pour leur intérêt hygiénique faible). Nos résultats corroborent ceux rapportés par de nombreuses études récentes menées en Egypte (Maysa & Abd-Elall, 2015), au Nigéria (Smith *et al.*, 2015), en Corée (Tamang *et al.*, 2014) et en Turquie (Karatuğ *et al.*, 2018) sur des souches de *Salmonella* spp. isolées à partir des échantillons humains, animaux, alimentaires et aquatiques dans lesquels le taux du présence du gène *invA* (284 pb) était entre 94% et 96%. Karmi (2013) a signalé que tous

les isolats de *Salmonella* positifs à la présence du gène *invA* ont la capacité d'envahir et de survivre dans les macrophages.

Aucun fragment d'ADN amplifié n'a été obtenu à partir des isolats testés durant cette étude appartenant à deux genres bactériens autres que *Salmonella* (*Citrobacter* et *Proteus*), ce qui donne une spécificité de 100% au gène *invA*. En revanche, Ohud *et al.* (2012), Karmi (2013), Tafida *et al.* (2013), Osman *et al.* (2014), Rowlands *et al.* (2014), Dong *et al.* (2014), Abd-Elghany *et al.* (2015) et Zishiri *et al.* (2016) ont détecté et signalé la présence du gène *invA* dans tous les isolats (100%) de *Salmonella* testés.

Dans cette étude, l'ADN de trois isolats de *Salmonella* confirmés biochimiquement et sérotypés (1 *S. Muenster*, 1 *S. Anatum* et 1 *S. Infantis*) n'a pas été amplifié par la technique PCR.

Rahn *et al.* (1992) ont également échoué à détecter *S. Litchfield* et *S. Senftenberg* en utilisant les amorces S139 et S141, alors que Malorny *et al.* (2003) ont réussi à le faire avec les mêmes amorces après modifications dans les conditions du cycle thermique de la PCR.

L'absence d'amplification des séquences homologues au gène *invA* était très probablement due à l'absence du gène *invA* dans ces souches (Rahn *et al.*, 1992). Ginocchio *et al.* (1997) ont déterminé que l'îlot de pathogénicité associé à l'invasion, dont on a déjà montré qu'il était lié au locus *inv*, reste instable dans certains sérotypes de *Salmonella*. Cela suggère également que ces organismes ne seraient pas invasifs ou, en variante, qu'ils pourraient posséder d'autres voies d'invasion indépendantes du gène *invA* (Rahn *et al.*, 1992; Ginocchio *et al.*, 1997).

Les souches qui manquaient de séquences *invA* dans les deux études de Rahn *et al.* (1992) et de Ginocchio *et al.* (1997) ont été récupérées à partir d'échantillons environnementaux et non pas des échantillons cliniques (origine humaine ou animale). Au cours de notre étude, même si les trois isolats trouvés négatifs pour le gène *invA* ont été isolés des carcasses; il est possible qu'ils proviennent de l'environnement.

Après avoir identifié le gène *invA* comme spécifique de *Salmonella*, la PCR a également été utilisée pour distinguer les sérovars de *Salmonella*. Plusieurs séquences de gènes ont été sélectionnées pour le sérotypage à PCR des souches de *Salmonella*. A titre d'exemple,

les gènes *sdhI*, *viaB*, et *spy* ont été utilisés pour identifier les sérovars *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, et *S. Typhimurium*, respectivement (Alvarez *et al.*, 2004; de Freitas *et al.*, 2010 ; Can *et al.*, 2014).

Les séquences plasmidiques *spy* utilisés pour la recherche des *S. Typhimurium* agissent comme des chaperons moléculaires nécessaires pour une infection systémique et viennent s'ajouter aux gènes responsables du pouvoir virulent de ce sérovar (Olsen *et al.*, 1995; Nickerson & Curtiss, 1997).

Nos résultats ont montré que toutes les souches de *S. Typhimurium* préalablement sérotypées par la méthode conventionnelle ont été trouvées positives pour la présence du gène *spy*. La sensibilité de l'amorce utilisée durant cette étude a également été démontrée en utilisant des essais de PCR simplex ou multiplex (Ahmed & Shimamoto, 2014; Can *et al.*, 2014; Manoj *et al.*, 2015; Moawad *et al.*, 2017) en ciblant plusieurs sérovars simultanément.

4.4. Étude de la sensibilité des souches de *Salmonella* aux antibiotiques

La détermination du phénotype de résistance a été obtenue par la méthode de diffusion de disques sur milieu gélosé selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), et a concerné chacune des 84 souches de *Salmonella* spp. isolées, confirmées et sérotypées.

Il importe de rappeler qu'il existe plusieurs études menées en Algérie portant sur la résistance aux antibiotiques des salmonelles isolées des denrées alimentaires d'origine animale. Cependant, les résultats varient en raison de différents paramètres tels que l'espèce animale, les techniques utilisées ainsi que la période d'étude.

Nous notons que sur les 28 antibiotiques testés, les souches de *Salmonella* spp. exprimaient globalement une résistance vis-à-vis de 18 d'entre eux représentant un taux de résistance de 64,3% des antibiotiques, et que sur les 84 souches isolées, 68 d'entre elles étaient au moins résistantes à un antibiotique, soit un taux de résistance de 80,1%. De plus, la multirésistance a caractérisé 19 souches atteignant ainsi une prévalence de l'ordre de 22,6%. Sachant que le phénotype sauvage des souches de *Salmonella* spp. est caractérisé par une sensibilité à la totalité des antibiotiques actifs sur les *Enterobacteriaceae*, il est de plus en plus fréquent de retrouver des souches ayant acquis des caractères de résistance à

une ou plusieurs familles d'antibiotiques, s'exprimant majoritairement par une inactivation enzymatique. Ceci pourrait s'expliquer par l'utilisation généralisée et abusive des antibiotiques dans les secteurs de la santé humaine et vétérinaire à des fins thérapeutiques et prophylactiques, ainsi qu'à leur incorporation systématique dans l'alimentation des animaux d'élevage, dans le but de stimuler la croissance et d'améliorer le rendement, bien qu'elle soit interdite depuis avril 2007 par la décision interministérielle du 24 Décembre 2006.

Nos résultats sont en accord avec ceux enregistrés précédemment en Algérie sur des souches de *Salmonella* isolées du poulet de chair (80% [Elgroud *et al.*, 2009]), des poules pondeuses (68,4% [Bouzidi *et al.*, 2012]) et des produits carnés divers (90,3% [Mezali & Hamdi, 2012]), en Egypte (100% [Sallam *et al.*, 2014]) et au Maroc (93,5% [El Allaoui *et al.*, 2014a] et 100% [Ed-Dra *et al.*, 2019]) sur des salmonelles récupérées de la viande bovine et de la dinde.

La résistance enregistrée vis-à-vis de la streptomycine était assez commune (69,1%, n = 58), ce résultat corrobore les travaux d'Elgroud *et al.* (58% en 2009) et Aouf *et al.* (68,8% en 2011) en Algérie, et celle de Wabeto *et al.* en Ethiopie (2017: 66%). Alors que 17,9% (n = 15) des isolats ont été trouvés résistants aux tétracyclines, ce qui est inférieur au taux noté par Bouzidi *et al.* (2012: 36,9%) et Aouf *et al.* (2011: 100%). La résistance à ces molécules est assez connue et serait généralement due à un gène plasmidique qui peut être acquis assez facilement par les bactéries (Elgroud *et al.*, 2009). Quant aux sulfamides, notre résultat (32,1%) était supérieur à celui rapporté en Algérie par Bounar-Kechih *et al.* (2012) et Mezali et Hamdi (2012) qui ont enregistré 13% et 16,1% respectivement. La streptomycine, les sulfamides et la tétracycline sont des molécules de première intention largement utilisées dans les élevages. Elles constituent les classes d'antibiotiques les plus accessibles, ce qui les rend attrayantes pour les pays en voie de développement avec des budgets de soins de santé limités.

En plus de la streptomycine, la résistance à la famille des aminosides implique également la gentamicine (10,7%) bien qu'elle soit interdite en Algérie; tous les isolats résistants à cet antibiotique appartiennent au sérovar *S. Kentucky*. Des résultats similaires ont été enregistrés par Bouzidi *et al.* (2012) et Le Hello *et al.* (2013).

Seuls 2 isolats ont montré une résistance à l'association triméthoprim / sulfaméthoxazole, ce qui est inférieur au résultat noté par Aouf *et al.* (2011). Dans la présente étude, 15 isolats (17,9%) étaient résistants à l'acide nalidixique, corroborant le résultat de Aouf *et al.* (2011) qui ont enregistré un taux de 18,8%. La résistance accrue à cet antimicrobien n'est pas surprenante, et a également été rapportée par d'autres études nationales (Elgroud *et al.*, 2009, Bounar-Kechih *et al.*, 2012 et Mezali & Hamdi, 2012).

D'un autre côté, tous les isolats de *S. Kentucky* se sont révélés résistants aux fluoroquinolones (norfloxacin et / ou ciprofloxacine). À notre connaissance, il s'agit de la première étude nationale faisant état d'une résistance à ces médicaments chez des souches de *Salmonella* isolées de viandes rouges, vu que les études précédentes en Algérie (Elgroud *et al.*, 2009; Bouzidi *et al.*, 2012, Djefal *et al.*, 2017) ont été réalisées sur les volailles. Cette observation est d'autant plus inquiétante que les fluoroquinolones devraient être réservées au traitement des infections gastro-intestinales graves chez l'homme. Ceci pourrait être lié à une utilisation anarchique et non contrôlée de ces molécules en élevage, quoique très coûteuses en Algérie (Elgroud *et al.*, 2009).

La résistance complète aux quinolones est obtenue uniquement lorsque deux mutations ou plus dans le gène *gyrA* codant pour les cibles de ces médicaments sont présentes simultanément (Singh *et al.*, 2012 ; Le Hello *et al.*, 2013). Il semble que les isolats testés dans cette étude aient subi ce type de mutation du fait qu'ils sont résistants à l'acide nalidixique et à d'autres molécules de quinolones telles que la norfloxacine et la ciprofloxacine.

En ce qui concerne les furanes et le chloramphénicol, des taux de résistance de 1,2% et 2,4% ont été enregistrés respectivement. Ces résultats corroborent ceux de Mezali et Hamdi (2012) et pourraient s'expliquer par l'usage modéré de ces médicaments en raison de leur retrait de la nomenclature algérienne.

La résistance aux β -lactamines ne comportait que les pénicillines (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline, amoxicilline, mécillinam et l'association amoxicilline / acide clavulanique) et les céphalosporines de première génération (céfazoline). D'autre part, l'absence de résistance aux céphalosporines de troisième génération est une observation rassurante puisqu'elles sont cliniquement indispensables dans le traitement de la salmonellose invasive chez l'homme.

La résistance multiple (multirésistance) des *Salmonella* aux antibiotiques pourrait résulter du transfert de gènes de résistance et de mutations chromosomiques aléatoires (Abbassi-Ghozzi *et al.*, 2012). Il a été démontré que les sérovars multirésistants de *Salmonella* sont plus virulents que ceux qui ne le sont pas (Sallam *et al.*, 2014).

Dans cette étude, 14 profils distincts de multirésistance ont été enregistrés. Les deux sérovars couramment impliqués dans les toxi-infections alimentaires collectives, *S. Kentucky* et *S. Typhimurium* présentaient le plus grand nombre de phénotypes multirésistants. La transmission des souches multirésistantes de *Salmonella* à l'homme par la chaîne alimentaire pourrait représenter un risque élevé pour la santé publique en augmentant le nombre d'infections d'origines alimentaires et en compromettant l'efficacité du traitement médical. Deux isolats appartenant au sérovar *S. Typhimurium* présentent un phénotype qui inclut celui d'une pentarésistance de type «ACSSuT». Ceci est un autre phénotype antimicrobien redoutable mis en évidence au cours de cette étude et qui a été déjà rapporté par Mezali et Hamdi en 2012. La résistance à «ACSSuT» était le profil multirésistant le plus enregistré parmi les multirésistances de *Salmonella Typhimurium* d'origine humaine et alimentaire isolée en Europe (EFSA & ECDC, 2015).

Toutes les souches présentant une multirésistance aux antibiotiques ont été isolées uniquement des carcasses ovines et bovines. En revanche, toutes les *Salmonella* isolées des fèces étaient résistantes uniquement à la streptomycine ou aux sulfamides. Ce constat indique que le taux élevé de salmonelles isolées des carcasses au cours de cette étude n'était pas principalement associé au portage fécal.

4.5. Analyse génotypique des souches de *Salmonella* par PFGE

Dans le but de démontrer la diversité génétique et les relations de clonalité des souches de *Salmonella*, nous avons utilisé la technique PFGE qui a révélé des clusters déterminés par des coefficients de similarité de Dice. Ainsi, le pulsotypage des isolats de *Salmonella* avec l'enzyme *XbaI*, a permis à un degré variable une certaine discrimination entre les souches du même sérovar.

Parmi les 84 souches de *Salmonella* isolées durant cette étude et analysées par PFGE, un nombre faible d'isolats (2) n'a cependant pas pu être typé avec l'enzyme de restriction *XbaI*, s'agissant de deux souches appartenant au sérovar *S. Muenster*. La présence de souches non typables par PFGE- *XbaI* a également été rapportée par différents auteurs pour

différents sérovars (Chiu *et al.*, 2010; Andoh *et al.*, 2017; Gad *et al.*, 2018) et a été attribuée dans la plupart des cas à la dégradation de l'ADN lors de l'ajout de tampon d'endonucléase (Turki *et al.*, 2014).

Les bandes ont des poids moléculaires compris entre 40 Kb et 1100 Kb. Les isolats étaient regroupés en 10 clusters en fonction des sérovars, ce qui était cohérent avec les résultats rapportés par Yang *et al.* (2016) et Chen *et al.* (2020). Ainsi, Le typage par PFGE a été considéré comme une alternative possible pour l'identification de certains sérotypes de *Salmonella* (Zou *et al.*, 2013; Gad *et al.*, 2018).

Cependant, la méthode de pulsotypage par PFGE s'est montrée beaucoup plus discriminante que le sérotypage, puisque 22 pulsotypes ont été identifiés contre 10 pour la sérotypie. Cinq pulsotypes différents ont été identifiés au sein du sérovar Muenster, 3 pour les sérovars Anatum et Montevideo, et 2 pour chacun des sérovars Kentucky, Richmond, Infantis et Typhimurium. Un seul pulsotype a été identifié parmi les souches de *S. Havana*.

Les génotypes obtenus sont généralement en accord avec les profils d'antibio-résistance retrouvés, et sont très proches, ne différant que par 1 ou 2, voire seulement 3 antibiotiques testés. Une autre information apportée par le dendrogramme obtenu dans cette étude (annexe 3) est la forte clonalité des isolats. En effet, on peut constater que les profils obtenus ne se différencient que par un petit nombre de bandes, révélant ainsi une parenté génétique importante (supérieure à 80%) se caractérisant par peu de mutations séparant un pulsotype d'un autre. Ces données indiquent que ces isolats de *Salmonella* résistants aux antibiotiques des deux abattoirs ont des relations génétiques similaires, avec un potentiel de clonage et de transmission transversale, représentant ainsi un risque pour la santé publique.

Lors de cette étude, nous avons remarqué la prépondérance du pulsotype Mu1 regroupant 21,4% du total des souches isolées. Un nombre de 17/18 souches représentant ce génotype ont été récupérés de l'abattoir d'El-Harrach et ont en commun des profils d'antibio-résistance relativement similaires (résistance à la streptomycine ou aux sulfamides). Le profil génotypique I2 a représenté 10 (11,9%) souches récupérées toutes de l'abattoir d'El-Harrach également. Ces deux clones ont été isolés au cours de plusieurs séances de prélèvement pendant les deux périodes de l'étude et sont devenus persistants, constituant, ainsi, une source probable de contamination croisée de l'environnement et des carcasses.

Cette persistance était probablement due à deux facteurs interagissant. Premièrement, les opérations de nettoyage et de désinfection n'étaient probablement pas suffisamment efficaces. En effet, les produits désinfectants doivent impérativement atteindre les sites de contamination à des concentrations données et ce, pendant des durées suffisantes pour être efficaces. Ceci n'est pas toujours le cas lorsque les opérations de nettoyage désinfection sont menées par un personnel non formé en matière d'hygiène, et sur des surfaces détériorées présentant de nombreuses zones non atteintes par les produits. Le second facteur pourrait être la nature elle-même des souches qui seraient particulièrement adaptées à l'environnement des viandes de boucherie. Ce résultat corrobore celui de Prunić *et al.* (2016) qui ont prouvé par PFGE la persistance clonale des souches de *S. Infantis* et *S. Montevideo* identifiées de manière répétée dans des échantillons d'aliments pour animaux provenant de trois usines sur une période de deux ans.

S. Muenster s'est révélé très diversifié dans cette étude. Les 31 isolats typables ont donné 5 pulsotypes distincts avec un niveau de similarité de 93,5%. Ces résultats sont similaires à ceux notés par Stevens *et al.* (2008) dans une étude visant à analyser les relations clonales entre les isolats de *Salmonella* et les voies de transmission possibles de *Salmonella* dans les carcasses de bœuf dans un abattoir de Dakar, au Sénégal; la macro-restriction avec l'enzyme *XbaI* de 21 isolats de *S. Muenster* a donné 6 profils PFGE différents. Cependant le taux de similarité enregistré par Stevens *et al.* (2008) était différent du nôtre (44%). La variabilité génétique entre certaines souches de salmonelles pourrait être due à l'hébergement de plasmides linéaires et de transposons, qui peuvent être intégrés dans le chromosome par transfert horizontal de gènes entre les souches dans le même environnement (Karatuğ *et al.*, 2018).

Le clone K1 était présent uniquement à l'abattoir d'El-Harrach, alors que le K2 était le pulsotype prédominant aux abattoirs d'Hussein-Dey, suivi par le profil A3 et le profil Mu6. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que chaque abattoir possède des clones persistants, ou par la présence des sources de contamination propres à chaque établissement. D'autre part, nous avons noté la présence simultanée de certains profils (Mu1 et Mu2) dans les deux abattoirs (géographiquement éloignés) avec des proportions différentes. La grande ubiquité de certains profils génétiques pourrait être permise par une adaptation de souches à des conditions extrêmement variées, ou par le mouvement incontrôlé des animaux à

travers les circuits commerciaux. Ces résultats devront être confirmés par l'analyse d'un panel plus important de prélèvements.

Bien que la plupart des sérovars représentés par deux ou plus de deux isolats aient été distingués dans plus d'un profil PFGE, il existait des isolats clonaux exceptionnels représentés par les trois souches de *S. Havana* qui ne partageaient qu'un seul profil de pulsotypage bien que isolées séparément des deux abattoirs durant deux visites espacées de deux mois, ceci pourrait s'expliquer par une origine commune probable des animaux abattus dans les deux établissements pendant cette période.

Parmi les 12 souches de *S. Infantis*, deux profils avec un taux de similitude élevé (96,3%) ont été trouvés pour une digestion avec l'enzyme de restriction *XbaI*, ce qui semble démontrer le caractère clonal des souches de ce sérotype, issues des carcasses ovines et bovines du même abattoir et ayant le même profil de résistance aux antibiotiques. Ces liens génétiques peuvent suggérer fortement la persistance de ces clones dans l'environnement de l'abattoir d'El-Harrach. Ceci est en accord avec l'étude d'Ed-Dra *et al.* (2018) qui ont montré que la totalité des 21 souches de *S. Infantis* isolées de viandes bovines appartenaient à un seul génotype. D'autres études ont rapporté également une forte similitude de *S. Infantis* dans les isolats d'animaux et d'humains (Hauser *et al.*, 2012; Rahmani *et al.*, 2013; Velhner *et al.*, 2014; Franco *et al.*, 2015; Prunić *et al.*, 2016).

Les trois souches de *S. Montevideo* ont été les plus diversifiées génétiquement en révélant trois pulsotypes différents. Bien qu'isolées toutes dans les abattoirs d'El-Harrach à partir de carcasses et de fèces, ces souches pourraient être introduites, dans la chaîne d'abattage, séparément dans les fèces des animaux et sur leurs peaux, et en charge bactérienne faible expliquant la non apparition d'une contamination croisée.

L'hétérogénéité des souches de *Salmonella* isolée durant chaque jour d'échantillonnage était évidente. Parmi les 26 visites d'échantillonnage donnant des résultats positifs, différentes combinaisons de types clonaux de *Salmonella* ont été récupérées au cours de 15 visites. En outre, parmi les 9 visites, où les salmonelles étaient présentes dans les matières fécales, les clones ont changé toujours d'une visite à l'autre. Ces données indiquent que chaque groupe d'animaux introduit de nouveaux types clonaux de *Salmonella* dans l'environnement de l'abattage et que chaque lot d'animaux est, par conséquent, une source potentielle de contamination d'autres carcasses. Ces résultats concordent avec les études

menées par Hurd *et al.* (2001) et Wonderling *et al.* (2003), où les types clonaux de *Salmonella* isolés des animaux présentés à l'abattage ont montré un changement hebdomadaire. Ceci est du probablement à des infections rapides résultant du transport, de la stabulation et/ou du retrait des aliments.

Denis *et al.* (2009) ont évoqué la possibilité d'observer un effet saison pour certains génotypes de salmonelles. Ceci n'a pas été confirmé par nos résultats.

La technique PFGE a pu clarifier les liens génétiques entre les souches isolées des carcasses ovines et/ou bovines et celles retrouvées dans les fèces des deux espèces animales. La distribution des différents profils génotypiques enregistrés en fonction du type de prélèvement a montré une omniprésence de certains profils sur les carcasses et les matières fécales des deux espèces animales. Ce qui confirme la survenue de contaminations croisées entre les carcasses elles-mêmes et entre carcasses et fèces par le biais du matériel et les mains des opérateurs contaminés, et l'environnement. D'autre part, les résultats de la PFGE ont montré que certains sérovars récupérés simultanément des carcasses et des fèces n'ont pas eu la même origine et que la contamination croisée n'a pas été mise en cause, c'est le cas par exemple du sérovar Anatum dont certaines souches étaient isolées le même jour des fèces et des carcasses des ovins, néanmoins, après l'analyse par PFGE, il s'est avéré qu'il s'agissait de deux génotypes différents (A1 et A3). De ce fait, la technique PFGE a montré qu'il y avait une correspondance imparfaite entre les génotypes trouvés dans les matières fécales et celles détectées sur les carcasses.

Compte tenu de ces informations, nous pouvons conclure que même si la présence de salmonelles dans les fèces des animaux présentés à l'abattage pourrait être responsable d'une certaine proportion de la contamination à *Salmonella* spp des carcasses, elle n'est pas en soi le facteur déterminant de la variabilité des taux de cette contamination.

Malheureusement, nous n'avons pas été en mesure de comparer nos isolats à des isolats cliniques d'origine humaine pour confirmer si ces souches étaient impliquées dans des cas de salmonelloses humaines dans notre pays, d'autant plus, qu'il n'existe pas de base de données contenant des informations sur les génotypes d'isolats d'origine humaine.

Le génotypage par PFGE apparaît être un outil très efficace pour déterminer les liens de clonalité entre les isolats, elle est désormais utilisée comme méthode de référence dans les réseaux de surveillance moléculaire des germes pathogènes (Elgroud *et al.*, 2009).

L'utilisation de la PFGE avec l'endonucléase *XbaI* a été reconnue comme un moyen précis pour démontrer les liens génétiques entre les sérovars de *Salmonella* (Ozdemir & Acar, 2014).

Bien qu'expliquée de façon globale par la persistance des clones, la raison pour laquelle les souches isolées durant cette étude présentaient une similitude génétique élevée n'est pas claire et nécessite des recherches plus poussées à des fins de clarification. Dans un premier temps, la collecte d'échantillons à partir des abattoirs et des élevages au niveau de l'ensemble du territoire national pourrait donner une vision large et beaucoup plus claire sur les sérovars de *Salmonella* présents dans les élevages ovins et bovins au niveau national.

Bien qu'il soit difficile de comparer définitivement les profils de PFGE entre les études, l'analyse visuelle des profils génétiques permettrait d'identifier les similitudes probables et par conséquent prédire des origines communes des souches isolées dans le secteur alimentaire. Nous n'avons pas pu trouver de données publiées en Algérie sur les isolats de *Salmonella* présentant des profils similaires aux nôtres; ceci est plus probablement dû au manque de données disponibles qu'au caractère unique de nos profils. Le manque de données disponibles pour comparer les isolats entre les études souligne l'importance pour les chercheurs de publier des données standardisées concernant la diversité génétique des bactéries pathogènes isolées des denrées alimentaires pour pouvoir étudier leur comportement et leur écologie.

L'évaluation de la discrimination de la technique PFGE à l'aide de l'indice de Simpson (D) a montré qu'hormis les souches de *S. Montevideo*, le pouvoir discriminatoire de cette technique n'était pas bon pour les autres sérovars, ceci est expliqué selon Elgroud (2009) par le faible nombre de souches au sein de chaque sérovar.

Le pouvoir discriminant d'une technique de typage représente sa faculté à différencier les souches n'appartenant pas au même groupe, exprimé par le nombre de profils obtenus par la méthode testée, ainsi que par leur fréquence relative (Van Belkum *et al.*, 2007).

5. Conclusion générale

Cette étude a été menée sur un ensemble d'échantillons prélevés durant les opérations d'abattage-habillage, maillon central entre l'animal producteur et l'homme consommateur.

Les objectifs de ce projet de thèse étaient d'étudier les taux de contamination des carcasses et des fèces de bovins et d'ovins par *Salmonella* dans les deux grands abattoirs d'Alger, de déterminer les sérovars existants, d'estimer leur sensibilité vis-à-vis des principales familles d'antibiotiques, et d'étudier leur clonalité par le typage moléculaire. Il s'agit donc, d'une étude phénotypique et génotypique des souches issues des animaux de boucherie en Algérie.

Les résultats de cette étude ont montré que 10, 2% des échantillons étaient contaminés par des salmonelles. Les taux de contamination les plus élevés ont été enregistrés dans les carcasses. Ce qui, sans surprise, reflète les défaillances dans les pratiques d'hygiène au cours des opérations d'abattage-habillage, et pourrait constituer un réel problème de santé publique pour le consommateur. D'autant plus, que d'autres contaminations postérieures à l'abattage pourraient se produire, notamment lors du transport, du stockage, ou de la préparation des viandes à la suite d'erreurs de manipulations, et de non-respect de la chaîne du froid. Les échantillons de bovins étaient plus contaminés que ceux des ovins et corroborent les données retrouvées dans la littérature.

Il a ensuite été montré l'hétérogénéité des sérovars identifiés durant cette enquête, à savoir 10 sérovars dont la majorité fait partie des plus isolés dans le monde, responsables des infections humaines, ainsi qu'à partir de différentes denrées alimentaires d'origine animale.

Globalement, les souches de salmonelles étaient souvent résistantes à au moins un antibiotique, mais essentiellement à des molécules anciennes, telles que les tétracyclines, ou assez communes telles la streptomycine et les sulfamides. Cependant, les souches du sérovar *S. Kentucky* étaient résistantes à la majorité des familles d'antibiotiques testées y compris les fluoroquinolones. Cet isolement coïncidait avec l'émergence de ce clone résistant à la ciprofloxacine dans d'autres pays d'Afrique, notamment ceux d'Afrique du nord. D'autre part, les souches de *S. Typhimurium* étaient également résistantes à plusieurs antibiotiques de familles différentes; elles présentaient un phénotype d'antibiorésistance qui inclue une pentarésistance de type "ASCTSu". Cette situation était similaire à celle observée dans plusieurs études nationales, où les salmonelles multi-

résistantes isolées des différentes denrées alimentaires d'origine animale y étaient bien plus fréquentes, et reflète une situation alarmante et inquiétante suite à l'usage permanent, anarchique et incontrôlé d'une large gamme d'antibiotiques au sein de nos élevages à des fins souvent non thérapeutiques, sous prétexte de répondre à une demande en protéines animales en constante augmentation relative à une démographie croissante. La transmission de la salmonelle multi-résistante à l'homme via la chaîne alimentaire pourrait impliquer un risque élevé pour la santé publique en compromettant l'efficacité du traitement médical et en augmentant le nombre d'infections invasives.

Le typage moléculaire des souches de *Salmonella* spp. isolées des carcasses et des matières fécales dans les deux abattoirs pour démontrer des liens génétiques entre les différentes souches au sein des sérovars a été réalisé en utilisant la méthode PFGE. Le caractère clonal de la majorité de nos souches démontré autour d'un nombre important d'isolats, laisse suggérer un caractère épidémique de ces clones dans la région étudiée tout particulièrement dans les abattoirs. La clonalité de la majorité des sérovars laisse supposer d'éventuelles hypothèses de diffusion de certaines souches de *Salmonella* au sein des élevages des animaux de boucheries et des abattoirs. Cependant, l'impossibilité de nous procurer des isolats d'origine humaine afin de pouvoir les comparer avec les souches isolées des animaux pour faire une comparaison, ne nous permet pas d'étayer des liens épidémiologiques entre ces dernières et celles incriminées dans les TIAC survenues dans la même région. A l'avenir, il serait intéressant de réaliser une étude épidémiologique à l'échelle nationale impliquant la majorité des régions du pays, et sur une banque de souches assez importante en médecine humaine et vétérinaire, ce qui permettrait ainsi d'estimer l'importance de certains clones animaux isolés et leur impact dans les infections humaines à *Salmonella*.

Les résultats de cette étude mettent en évidence les menaces potentielles pour la santé publique que représentent les viandes rouges et soulignent l'importance de la coordination entre les professionnels de l'industrie agro-alimentaire et les pouvoirs publics pour l'actualisation et la mise en œuvre des mécanismes d'application de la réglementation en premier lieu, puis des mesures préventives pour réduire la contamination par *Salmonella* qui pourrait affecter l'homme, d'autant plus que les habitudes culinaires algériennes ancestrales ont tendance à disparaître au profit du développement de la restauration rapide

où les pratiques des restaurateurs associées aux mauvaises conditions hygiéniques favorisent la croissance des microorganismes pathogènes.

L'utilisation des antibiotiques devrait également être bien réglementée et autorisée seulement lorsqu'elle est absolument indiquée. En Algérie, les lois ne sont pas rigoureusement respectées en ce qui concerne l'usage et l'achat de médicaments, et à ce titre, certaines substances ont fait l'objet d'abus, en particulier dans nos élevages. La nécessité d'une surveillance continue est soulignée afin de déterminer les données locales sur la sensibilité aux antimicrobiens vis-à-vis des salmonelles zoonotiques et invasives afin d'identifier les tendances changeantes de la résistance.

Perspectives

Les résultats de la présente étude pavent la voie à de futures études sur l'épidémiologie de *Salmonella* dans la filière viande rouge et l'identification des points critiques pour l'introduction et la dissémination de la bactérie dans la chaîne de production. De ce fait, nous envisageons que cette étude soit approfondie sur les divers points suivants :

- Premièrement, il serait intéressant d'élargir l'étendue de cette étude pour couvrir le maximum du territoire national.
- Ensuite, si nous avons traité les profils de résistance aux antibiotiques des souches isolées, il reste à identifier les supports génétiques de cette résistance.
- Par ailleurs, les résultats obtenus constituent une source d'informations pour la comparaison entre les salmonelles d'origine animale et celles d'origine humaine isolées durant la même période.
- Aussi, il serait judicieux de regarder si les sérovars émergents comme *S. Muenster* observés sur les carcasses échantillonnées lors de la présente étude seront reliés, au cours des années à venir, à des cas de salmonelloses humaines.
- D'autre part, il est important d'explorer d'autres techniques génotypiques telles que la MLST (multilocus sequence typing), pour renforcer la démonstration des liens épidémiologiques entre les souches de *Salmonella* provenant des différentes sources.
- Et pour finir, d'autres études sur les mécanismes de persistance de certains profils génotypiques sont à envisager.

Références Bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abatcha, M., Zakaria, Z., Goni, D., & Kaur, D. (2014a). Typing of *Salmonella* species: A mini-review. *Journal of Natural Sciences Research*, 4, 13-17.
- Abatcha, M., Zakaria, Z., Kaur, D., & Thong, K. L. (2014b). A trends of *Salmonella* and antibiotic resistance. *Advances in Life Science and Technology*, 17, 9-21.
- Abbassi-Ghozzi, I., Jaouani, A., Hammami, S., Martinez-Urtaza, J., Boudabous, A., & Gtari, M. (2012). Molecular analysis and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates recovered from raw meat marketed in the area of “Grand Tunis”, Tunisia. *Pathologie Biologie*, 60(5), e49-e54.
- Abd-Elghany, S. M., Sallam, K. I., Abd-Elkhalek, A., & Tamura, T. (2015). Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from chicken meat and giblets. *Epidemiology & Infection*, 143(5), 997-1003.
- Abdel-Maksoud, M., Abdel-Khalek, R., El-Gendy, A., Gamal, R. F., Abdelhady, H. M., & House, B. L. (2015). Genetic characterisation of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotypes isolated from poultry in Cairo, Egypt. *African Journal of Laboratory Medicine*, 4(1), 1-7.
- Abunna, F., Ashenafi, D., Beyene, T., Ayana, D., Mamo, B., & Duguma, R. (2017). Isolation, identification and antimicrobial susceptibility profiles of *Salmonella* isolates from dairy farms in and around Modjo town, Ethiopia. *Ethiopian Veterinary Journal*, 21(2), 92-108.
- Acar, S., Bulut, E., Durul, B., Uner, I., Kur, M., Avsaroglu, M. D., . . . Soyer, Y. (2017). Phenotyping and genetic characterization of *Salmonella enterica* isolates from Turkey revealing arise of different features specific to geography. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 98-107.
- Achtman, M., Wain, J., Weill, F.-X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., . . . Uesbeck, A. (2012). Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathogens*, 8(6), e1002776.
- Addis, Z., Kebede, N., Sisay, Z., Alemayehu, H., Wubetie, A., & Kassa, T. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa: a cross sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 11(1), 222.
- Adetunde, L. A., Glover, R. L. K., Oliver, A. W. O., & Samuel, T. (2011). Source and distribution of microbial contamination on beef and chevon in Navrongo, Kassena Nankana District of Upper East Region in Ghana. *Journal of Animal Production Advances*, 1(1), 21-28.
- Aftab, M., Rahman, A., Qureshi, M., Akhter, S., Sadique, U., Sajid, A., & Zaman, S. (2012). Level of *Salmonella* in Beef of Slaughtered Cattle at Peshawar. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22 (Supplement No 2), 24-27.
- Agbaje, M., Begum, R., Oyekunle, M., Ojo, O., & Adenubi, O. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. *Folia Microbiologica*, 56(6), 497-503.
- Ahmad, M., Sarwar, A., Najeeb, M., Nawaz, M., Anjum, A., Ali, M., & Mansur, N. (2013). Assessment of microbial load of raw meat at abattoirs and retail outlets. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(3), 745-748.
- Ahmed, A. M., & Shimamoto, T. (2014). Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *International Journal of Food Microbiology*, 168, 57-62.
- Akyala, A. I., & Alsam, S. (2015). Extended spectrum beta-lactamase producing strains of *Salmonella* species a systematic review. *Journal of Microbiology Research*, 5(2), 57-70.
- Alam, M. J., Renter, D. G., Ives, S. E., Thomson, D. U., Sanderson, M. W., Hollis, L. C., & Nagaraja, T. G. (2009). Potential associations between fecal shedding of *Salmonella* in

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- feedlot cattle treated for apparent respiratory disease and subsequent adverse health outcomes. *Veterinary Research*, 40(1), 1.
- Alexander, K. A., Warnick, L. D., & Wiedmann, M. (2009). Antimicrobial resistant *Salmonella* in dairy cattle in the United States. *Veterinary Research Communications*, 33(3), 191-209.
 - Almeida, M. B. C. (2018). *Salmonella* en filière porcine : dynamique d'infection, pouvoir colonisateur et virulence. Thèse de doctorat en Microbiologie, Parasitologie, Virologie, Sciences agricoles. Université Rennes 1, France.
 - Al-Rifai, R. H., Chaabna, K., Denagamage, T., & Alali, W. Q. (2020). Prevalence of non-typhoidal *Salmonella enterica* in food products in the Middle East and North Africa: A systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 109, 106908.
 - Alvarez, J., Sota, M., Vivanco, A. B., Perales, I., Cisterna, R., Rementeria, A., & Garaizar, J. (2004). Development of a multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of *Salmonella* in human clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(4), 1734-1738.
 - Anderson, C. J., & Kendall, M. M. (2017). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strategies for host adaptation. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1983.
 - Andino, A., & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *The Scientific World Journal*, 2015.
 - Andoh, L. A., Ahmed, S., Olsen, J. E., Obiri-Danso, K., Newman, M. J., Opintan, J. A., ...& Dalsgaard, A. (2017). Prevalence and characterization of *Salmonella* among humans in Ghana. *Tropical Medicine and Health*, 45(1), 3.
 - Antunes, P., Mourão, J., Campos, J., & Peixe, L. (2016). Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2), 110-121.
 - Aouf, A., Messai, Y., Salama, M., Aboushady, H., Elanany, M., Alouache, S., & Bakour, R. (2011). Resistance to -lactams of human and veterinary *Salmonella* isolates in Egypt and Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 5, 802-808.
 - Arguello, H., Carvajal, A., Collazos, J. A., García-Feliz, C., & Rubio, P. (2012). Prevalence and serovars of *Salmonella enterica* on pig carcasses, slaughtered pigs and the environment of four Spanish slaughterhouses. *Food Research International*, 45(2), 905-912.
 - Arguello, H., Alvarez-Ordóñez, A., Carvajal, A., Rubio, P., & Prieto, M. (2013). Role of slaughtering in *Salmonella* spreading and control in pork production. *Journal of Food Protection*, 76(5), 899-911.
 - Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Brichta-Harhay, D. M., Kalchayanand, N., King, D. A., Shackelford, S. D., . . . Koohmaraie, M. (2008). Source tracking of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* contamination in the lairage environment at commercial US beef processing plants and identification of an effective intervention. *Journal of Food Protection*, 71(9), 1752-1760.
 - Arya, G., Holtslander, R., Robertson, J., Yoshida, C., Harris, J., Parmley, J., . . . Poppe, C. (2017). Epidemiology, pathogenesis, genosero-typing, antimicrobial resistance, and prevention and control of non-typhoidal *Salmonella* serovars. *Current Clinical Microbiology Reports*, 4(1), 43-53.
 - Ateba, C. N., & Mochaiwa, B. (2014). Use of *invA* gene specific PCR analysis for the detection of virulent *Salmonella* species in beef products in the North West Province, South Africa. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(6), 294-300.
 - Atsbha, T. W., Weldeabezgi, L. T., Seyoum, K. A., Tafere, G., & Hailu Kassegn, H. (2018). *Salmonella* and risk factors for the contamination of cattle carcass from abattoir of Mekelle City, Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture*, 4(1), 1557313.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aviles, B., Klotz, C., Smith, T., Williams, R., & Ponder, M. (2013). Survival of *Salmonella enterica* serotype Tennessee during simulated gastric passage is improved by low water activity and high fat content. *Journal of Food Protection*, 76(2), 333-337.
- Awofisayo-Okuyelu, A., McCarthy, N., Mgbakor, I., & Hall, I. (2018). Incubation period of typhoidal salmonellosis: a systematic review and meta-analysis of outbreaks and experimental studies occurring over the last century. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 483.
- Ayachi, A., Alloui, N., Bennoune, O., & Kassah-Laouar, A. (2010). Survey of *Salmonella* serovars in broilers and laying breeding reproducers in East of Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4(02), 103-106.
- Bahnass, M., Fathy, A., & Alamin, M. (2015). Identification of human and animal *Salmonella* spp. Isolates in Najran region and control of it. *International Journal of Advanced Research*, 3(1), 1014-1022.
- Baker, M., Thornley, C., Lopez, L., Garrett, N., & Nicol, C. (2007). A recurring salmonellosis epidemic in New Zealand linked to contact with sheep. *Epidemiology & Infection*, 135(1), 76-83.
- Ballesté-Delpierre, C., Fernandez-Orth, D., Ferrer-Navarro, M., Díaz-Peña, R., Odena-Caballol, A., Oliveira, E., . . . Vila, J. (2017). First insights into the pleiotropic role of vrf (yedF), a newly characterized gene of *Salmonella* Typhimurium. *Scientific Reports*, 7(1), 1-11.
- Barceloux, D. G. (2008). Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, plants, and venomous animals: John Wiley & Sons. 1184 pages
- Barco, L., Barrucci, F., Olsen, J. E., & Ricci, A. (2013). *Salmonella* source attribution based on microbial subtyping. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 193-203.
- Barco, L., Mancin, M., Ruffa, M., Saccardin, C., Minorello, C., Zavagnin, P., . . . Ricci, A. (2012). Application of the Random Forest Method to Analyse Epidemiological and Phenotypic Characteristics of *Salmonella* 4,[5], 12: i:-and *Salmonella* Typhimurium Strains. *Zoonoses and Public Health*, 59(7), 505-512.
- Barlow, R. S., McMillan, K. E., Duffy, L. L., Fegan, N., Jordan, D., & Mellor, G. E. (2015). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* and *Escherichia coli* from Australian cattle populations at slaughter. *Journal of Food Protection*, 78(5), 912-920.
- Barrow, P. A., Jones, M. A., & Thomson, N. (2010). *Salmonella*. In C.L. Gyles, J.F. Prescott, J. G. Songer & C.O. Thoen (Eds.), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals (4eme éd.)*, (pp.131- 266). Iowa: Wiley-Blackwell, Ames.
- Beach, J. C., Murano, E. A., & Acuff, G. R. (2002). Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in Beef Cattle from Transport to Slaughter. *Journal of Food Protection*, 65(11), 1687-1693.
- Bell, C., & Kyriakides, A. (2009). *Salmonella*. In C.W. Blackburn & P.J. McClure (Eds.), *Foodborne Pathogens, Hazards, Risk Analysis and Control* (pp. 627-674). Oxford: Woodhead Publishing Ltd.
- Bell, R. L., Jarvis, K. G., Ottesen, A. R., McFarland, M. A., & Brown, E. W. (2016). Recent and emerging innovations in *Salmonella* detection: a food and environmental perspective. *Microbial Biotechnology*, 9(3), 279-292.
- Belloy, L., Decrausaz, L., Boujon, P., Hächler, H., & Waldvogel, A. S. (2009). Diagnosis by culture and PCR of *Salmonella* Abortusovis infection under clinical conditions in aborting sheep in Switzerland. *Veterinary Microbiology*, 138(3-4), 373-377.
- Ben Salem, I., Mzoughi, R., & Aouni M. (2012). *Laboratory typing methods for diagnostic of Salmonella strains, the “old” organism that continued challenges*. In B. S. M. Mahmoud, *Salmonella-A Dangerous Foodborne Pathogen*, (pp. 349-372). Rijeka, Croatia: InTech Edition.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berends, B., Van Knapen, F., Snijders, J., & Mossel, D. (1997). Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *International Journal of Food Microbiology*, 36(2-3), 199-206.
- Bernal-Bayard, J., & Ramos-Morales, F. (2018). Molecular mechanisms used by *Salmonella* to evade the immune system. *Current Issues in Molecular Biology*, 25, 133-168.
- Bersisa, A., Tulu, D., & Negera, C. (2019). Investigation of Bacteriological Quality of Meat from Abattoir and Butcher Shops in Bishoftu, Central Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 2019, 6416803.
- Beuchat, L. R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R. P., Bourdichon, F., Fanning, S., ... Ter Kuile, B. H. (2013). Low-Water Activity Foods: Increased Concern as Vehicles of Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection*, 76(1), 150-172.
- Beutlich, J., Guerra, B., Schroeter, A., Arvand, M., Szabo, I., & Helmuth, R. (2012). Highly ciprofloxacin resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky isolates in turkey meat and a human patient. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 125(3-4), 89-95.
- Bhunia, A.K. (2018). *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*. *Food Science Text Series* (2^{ème} éd.). New York: Springer.
- Biswas, A. K., Kondaiah, N., Anjaneyulu, A. S. R., & Mandal, P. K. (2011). Causes, concerns, consequences and control of microbial contaminants in meat-A review. *International Journal of Meat Science*, 1(1), 27-35.
- Blondel, C. J., Jiménez, J. C., Contreras, I., & Santiviago, C. A. (2009). Comparative genomic analysis uncovers 3 novel loci encoding type six secretion systems differentially distributed in *Salmonella* serotypes. *BMC Genomics*, 10(1), 354.
- Bolton, D. J., Ivory, C., & McDowell, D. (2013). A study of *Salmonella* in pigs from birth to carcass: Serotypes, genotypes, antibiotic resistance and virulence profiles. *International Journal of Food Microbiology*, 160(3), 298-303.
- Bolton, D. J., O'Neill, C. J., & Fanning, S. (2012). A preliminary study of *Salmonella*, verocytotoxigenic *Escherichia coli*/*Escherichia coli* O157 and *Campylobacter* on four mixed farms. *Zoonoses and Public Health*, 59(3), 217-228.
- Bordonaro, R., McDonough, P. L., Chang, Y.-F., & Mohammed, H. O. (2015). The Potential Risk Associated with Foodborne Pathogens in Watersheds: *Salmonella* spp. in Dairy Cattle. *Journal of Water Resource and Protection*, 7(06), 476.
- Boumart, Z., Velge, P., & Wiedemann, A. (2014). Multiple invasion mechanisms and different intracellular Behaviors: a new vision of *Salmonella*-host cell interaction. *FEMS Microbiology Letters*, 361(1), 1-7.
- Bounar-Kechih, S., Hamdi, T., Mezali, L., Assaous, F., & Rahal, K. (2012). Antimicrobial resistance of 100 *Salmonella* strains isolated from *Gallus gallus* in 4 wilayas of Algeria. *Poultry Science*, 91(5), 1179-1185.
- Bouzidi, N., Aoun, L., Zeghdoudi, M., Bensouilah, M., Elgroud, R., Oucief, I., . . . Millemann, Y. (2012). *Salmonella* contamination of laying-hen flocks in two regions of Algeria. *Food Research International*, 45(2), 897-904.
- Brichta-Harhay, D. M., Guerini, M. N., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Kalchayanand, N., Shackelford, S. D., ... Koohmaraie, M. (2008). *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 Contamination on Hides and Carcasses of Cull Cattle Presented for Slaughter in the United States: an Evaluation of Prevalence and Bacterial Loads by Immunomagnetic Separation and Direct Plating Methods. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(20), 6289-6297.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bugarel, M., Granier, S. A., Weill, F.-X., Fach, P., & Brisabois, A. (2011). A multiplex real-time PCR assay targeting virulence and resistance genes in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *BMC Microbiology*, 11(1), 151.
- Buncic, S., Nychas, G.-J., Lee, M. R. F., Koutsoumanis, K., Hébraud, M., Desvaux, M., ...Antic, D. (2014). Microbial pathogen control in the beef chain: Recent research advances. *Meat Science*, 97(3), 288–297.
- Cain, A. K., Liu, X., Djordjevic, S. P., & Hall, R. M. (2010). Transposons related to Tn1696 in IncHI2 plasmids in multiply antibiotic resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium from Australian animals. *Microbial Drug Resistance*, 16(3), 197-202.
- Can, H. Y., Elmali, M., Karagöz, A., & Öner, S. (2014). Detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in cream cakes by polymerase chain reaction (PCR). *Med Weter*, 70(11), 689-692.
- Carip, C. (2008). *Microbiologie, hygiène, bases microbiologiques de la diététique*. Paris:tec & doc Lavoisier.
- CDC. (2014). Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet): FoodNet Surveillance Repo (Final Report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. Available online: <http://www.cdc.gov/ncezid/dfwed/pdfs/salmonella-annual-report-2012-508c.pdf>.
- Cetin, E., Temelli, S., & Eyigor, A. (2020). Nontyphoid *Salmonella* Prevalence, Serovar Distribution and Antimicrobial Resistance in Slaughter Sheep. *Food Science of Animal Resources*, 40(1), 21–33.
- Ceysens, P.-J., Mattheus, W., Vanhoof, R., & Bertrand, S. (2015). Trends in serotype distribution and antimicrobial susceptibility in *Salmonella enterica* isolates from humans in Belgium, 2009 to 2013. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(1), 544-552.
- Chen, H.-M., Wang, Y., Su, L.-H., & Chiu, C.-H. (2013). Nontyphoid *Salmonella* infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatrics & Neonatology*, 54(3), 147-152.
- Chen, J., Zhang, L., Paoli, G. C., Shi, C., Tu, S.-I., & Shi, X. (2010). A real-time PCR method for the detection of *Salmonella enterica* from food using a target sequence identified by comparative genomic analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3), 168-174.
- Chen, Y., Glass, K., Liu, B., Hope, K., & Kirk, M. (2016). *Salmonella* infection in middle-aged and older adults: incidence and risk factors from the 45 and up study. *Foodborne Pathogens and Disease*, 13(12), 689-694.
- Chen, Z., Bai, J., Wang, S., Zhang, X., Zhan, Z., Shen, H., Zhang, H., Wen, J., Gao, Y., Liao, M., & Zhang, J. (2020). Prevalence, Antimicrobial Resistance, Virulence Genes and Genetic Diversity of *Salmonella* Isolated from Retail Duck Meat in Southern China. *Microorganisms*, 8(3), 444.
- Cheng, C.-M., Doran, T., Lin, W., Chen, K.-S., Williams-Hill, D., & Pamboukian, R. (2015). Interlaboratory validation for a real-time PCR *Salmonella* detection method using the ABI 7500 FAST real-time PCR system. *Journal of Food Protection*, 78(6), 1119-1124.
- Cheng, R. A., Eade, C. R., & Wiedmann, M. (2019). Embracing diversity: Differences in virulence mechanisms, disease severity, and host adaptations contribute to the success of nontyphoidal *Salmonella* as a foodborne pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- Chirilă, F., Nadăș, G. C., Răpunțean, S., Bouari, C. M., Toader, S., Berce, P., . . . Fiț, N. I. (2017). In Vitro Preparation And Testing Of Anti-*Salmonella* Vaccine Against Abortion In Sheep. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine*, 74(1), 26-29.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chiu, L.-H., Chiu, C.-H., Horn, Y.-M., Chiou, C.-S., Lee, C.-Y., Yeh, C.-M., . . . Chu, C. (2010). Characterization of 13 multi-drug resistant *Salmonella* serovars from different broiler chickens associated with those of human isolates. *BMC Microbiology*, 10(1), 86.
- Chlebicz, A., & Ślizewska, K. (2018). Campylobacteriosis, salmonellosis, yersiniosis, and listeriosis as zoonotic foodborne diseases: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 863.
- Choi, E., Han, Y., Cho, Y.-J., Nam, D., & Lee, E.-J. (2017). A trans-acting leader RNA from a *Salmonella* virulence gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(38), 10232-10237.
- Chuanchuen, R., & Padungtod, P. (2009). Antimicrobial resistance genes in *Salmonella enterica* isolates from poultry and swine in Thailand. *Journal of Veterinary Medical Science*, 71(10), 1349-1355.
- Clark, D. P., & Pazdernik, N. J. (2013). *Molecular Biology* (2eme éd). Academic cell.
- Cosby, D. E., Cox, N. A., Harrison, M. A., Wilson, J. L., Buhr, R. J., & Fedorka-Cray, P. J. (2015). *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: A review. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(3), 408-426.
- Cossi, M. V. C., Burin, R. C. K., Camargo, A. C., Dias, M. R., Lanna, F. G. P. A., Pinto, P. S. de A., & Nero, L. A. (2014). Low occurrence of *Salmonella* in the beef processing chain from Minas Gerais state, Brazil: From bovine hides to end cuts. *Food Control*, 40, 320–323.
- Costa, L. F., Paixão, T. A., Tsolis, R. M., Bäumlér, A. J., & Santos, R. L. (2012). Salmonellosis in cattle: advantages of being an experimental model. *Research in Veterinary Science*, 93(1), 1-6.
- Costa, M., Pracca, G., Sucari, A., Galli, L., Ibargoyen, J., Gentiluomo, J., ...& Roge, A. (2020). Comprehensive evaluation and implementation of improvement actions in bovine abattoirs to reduce pathogens exposure. *Preventive Veterinary Medicine*, 176, 104933.
- Crump, J. A., & Heyderman, R. S. (2015). A perspective on invasive *Salmonella* disease in Africa. *Clinical Infectious Diseases*, 61(suppl_4), S235-S240.
- Crump, J. A., & Wain, J. (2017). *Salmonella*. In S. R. Quah, *International Encyclopedia of Public Health*, (6ème éd.), (pp.425–433). Kidlington, Oxford: Elsevier.
- Cummings, K. J., Warnick, L. D., Elton, M., Gröhn, Y. T., McDonough, P. L., & Siler, J. D. (2010a). The effect of clinical outbreaks of salmonellosis on the prevalence of fecal *Salmonella* shedding among dairy cattle in New York. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(7), 815-823.
- Cummings, K. J., Warnick, L. D., Elton, M., Rodriguez-Rivera, L. D., Siler, J. D., Wright, E. M., . . . Wiedmann, M. (2010b). *Salmonella enterica* serotype Cerro among dairy cattle in New York: an emerging pathogen? *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(6), 659-665.
- D'Aoust, J.-Y., & Maurer, J. (2007). *Salmonella Species*. In M. P. Doyle & L. R. Beuchat (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, (3ème éd.), (pp. 187-236). ASM Press.
- Dabassa, A., & Bacha, K. (2012). The prevalence and antibiogram of *Salmonella* and *Shigella* isolated from Abattoir, Jimma Town, and Southwestern Ethiopia. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 3(4), 143-148.
- Das, A., Rume, F. I., Ansari, W. K., Alam, M. N., Islam, M. R., Dutta, P. K., & Anower, A. K. M. M. (2019). Assessment of bacterial contamination levels on the surface of the bovine carcasses at slaughterhouses of Barishal city in Bangladesh. *Journal of Veterinary Medical and One Health Research*, 1(2), 231-245.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Das, C., Mokashi, C., Mande, S. S., & Saini, S. (2018). Dynamics and control of flagella assembly in *Salmonella* Typhimurium. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 36.
- De Boer, R. F., Ott, A., Kesztyüs, B., & Kooistra-Smid, A. M. (2010). Improved detection of five major gastrointestinal pathogens by use of a molecular screening approach. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(11), 4140-4146.
- de Freitas Neto, O. C., Penha Filho, R. A. C., Barrow, P., & Berchieri Junior, A. (2010). Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 12(1), 01-11.
- de Freitas, C. G., Santana, Â. P., da Silva, P. H. C., Gonçalves, V. S. P., Barros, M. d. A. F., Torres, F. A. G., . . . Perecmanis, S. (2010). PCR multiplex for detection of *Salmonella* Enteritidis, Typhi and Typhimurium and occurrence in poultry meat. *International Journal of Food Microbiology*, 139(1-2), 15-22.
- de Jong, H. K., Parry, C. M., van der Poll, T., & Wiersinga, W. J. (2012). Host-pathogen interaction in invasive salmonellosis. *PLoS Pathogens*, 8(10).
- De Maayer, P., & Cowan, D. A. (2016). Flashy flagella: flagellin modification is relatively common and highly versatile among the Enterobacteriaceae. *BMC Genomics*, 17(1), 377.
- de Moraes, M. H., & Teplitski, M. (2015). Fast and efficient three-step target-specific curing of a virulence plasmid in *Salmonella enterica*. *AMB Express*, 5(1), 1-6.
- de Oliveira, S. D., Rodenbusch, C. R., Michael, G. B., Cardoso, M. I., Canal, C. W., & Brandelli, A. (2003). Detection of virulence genes in *Salmonella* Enteritidis isolated from different sources. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34, 123-124.
- de Toro, M., Sáenz, Y., Cercenado, E., Rojo-Bezares, B., García-Campello, M., Undabeitia, E., & Torres, C. (2011). Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in *Salmonella enterica* from three Spanish hospitals. *International Microbiology*, 14(3), 173-181.
- Dean, C. R., De Pascale, G., & Benton, B. (2018). *Resistance of gram-negative bacilli to antimicrobials*. In I.W. Fong, D. Shlaes & K. Drlica (Eds.), *Antimicrobial resistance and implications for the 21st century* (2eme éd.), (71- 162). New York: Springer.
- Deekshit, V. K., Kumar, B. K., Rai, P., Rohit, A., & Karunasagar, I. (2013). Simultaneous detection of *Salmonella* pathogenicity island 2 and its antibiotic resistance genes from seafood. *Journal of Microbiological Methods*, 93(3), 233-238.
- Dekker, J. P., & Frank, K. M. (2015). *Salmonella, Shigella, and Yersinia*. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(2), 225-246.
- Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Paris: Lavoisier, Tec & Doc.
- Demirbilek, S. K. (2017). *Salmonellosis in Animals*. In M. T. Mascellino, *Salmonella - A Re-emerging Pathogen*, (pp. 19- 40). Editions IntechOpen.
- Deng, X., Desai, P. T., den Bakker, H. C., Mikoleit, M., Tolar, B., Trees, E., ...& Wiedmann, M. (2014). Genomic epidemiology of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis based on population structure of prevalent lineages. *Emerging Infectious Diseases*, 20(9), 1481.
- Denis, M., Fablet, A., Rouxel, S., Houdayer, C., Robinaut, C., & Fravalo, P. (2009). Diversité génétique de *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Derby chez le porc en France. *Journées Recherche Porcine*, 41, 49-52.
- Dimovski, K., Cao, H., Wijburg, O. L., Strugnell, R. A., Mantena, R. K., Whipp, M., . . . Holt, K. E. (2014). Analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium variable-number tandem-repeat data for public health investigation based on measured mutation rates and whole-genome sequence comparisons. *Journal of Bacteriology*, 196(16), 3036-3044.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Djeflal, S., Bakour, S., Mamache, B., Elgroud, R., Agabou, A., Chabou, S., . . . Rolain, J.-M. (2017). Prevalence and clonal relationship of ESBL-producing *Salmonella* strains from humans and poultry in northeastern Algeria. *BMC Veterinary Research*, 13(1), 132.
- Djossou, F., Martrenchar, A., & Malvy, D. (2010). Infections et toxi-infections d'origine alimentaire et hydrique. Orientation diagnostique et conduite à tenir. *EMC - Maladies Infectieuses*, 7(4), 1–20.
- Dong, P., Zhu, L., Mao, Y., Liang, R., Niu, L., Zhang, Y., . . . Luo, X. (2014). Prevalence and profile of *Salmonella* from samples along the production line in Chinese beef processing plants. *Food Control*, 38, 54-60.
- dos Santos, A. M., Ferrari, R. G., & Conte-Junior, C. A. (2018). Virulence factors in *Salmonella* Typhimurium: the sagacity of a bacterium. *Current Microbiology*, 76(6), 762-773.
- Dougan, G., & Baker, S. (2014). *Salmonella enterica* serovar Typhi and the pathogenesis of typhoid fever. *Annual Review of Microbiology*, 68, 317-336.
- Doyle, M. P., Erickson, M. C., Alali, W., Cannon, J., Deng, X., Ortega, Y., . . . Zhao, T. (2015). The Food Industry's Current and Future Role in Preventing Microbial Foodborne Illness Within the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 61(2), 252–259.
- Dromigny, E. (2011). *Les critères microbiologiques des denrées alimentaires, Réglementation-agents microbiens- autocontrôle*. Paris : Lavoisier, Tec et Doc.
- Dufresne, K., & Daigle, F. (2017). *Salmonella Fimbriae: What is the Cle to Their Hairdo?*. In M. Mares, *Current Topics in Salmonella and Salmonellosis*, (pp.59- 82). BoD Editions.
- Duggan, S., Mannion, C., Prendergast, D., Leonard, N., Fanning, S., Gonzales-Barron, U., . . . Duffy, G. (2010). Tracking the *Salmonella* status of pigs and pork from lairage through the slaughter process in the Republic of Ireland. *Journal of Food Protection*, 73(12), 2148-2160.
- Duncanson, G. R. (2012). *Veterinary Treatment of Sheep and Goats*. C.A.B. International
- Durand, G. (2009). Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (*TSST-1*). Sciences agricoles. Université Claude Bernard - Lyon , France.
- Dutil, L., Irwin, R., Finley, R., Ng, L. K., Avery, B., Boerlin, P., . . . Desruisseau, A. (2010). Ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from chicken meat and humans, Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 16(1), 48.
- ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), (2016). *Salmonellosis- Annual Epidemiological Report 2016 [2014 data]*. Stockholm: ECDC. <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2016-2014-data#no-link>.
- Economou, V., & Gousia, P. (2015). Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infection and Drug Resistance*, 8, 49.
- Ed-Dra, A., Filali, F. R., Khayi, S., Oulghazi, S., Bouchrif, B., El Allaoui, A., . . . Moumni, M. (2019). Antimicrobial resistance, virulence genes, and genetic diversity of *Salmonella enterica* isolated from sausages. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 9(2), 56-61.
- Ed-Dra, A., Karraouan, B., El Allaoui, A., Khayatti, M., El Ossmani, H., Filali, F. R., . . . Bouchrif, B. (2018). Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Salmonella* Infantis isolated from foods and human samples in Morocco. *Journal of Global Antimicrobial resistance*, 14, 297-301.
- Edrington, T. S., Long, M., Ross, T. T., Thomas, J. D., Callaway, T. R., Anderson, R. C., . . . Nisbet, D. J. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli*

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- O157: H7 and *Salmonella* isolated from feedlot lambs. *Journal of Food Protection*, 72(8), 1713-1717.
- EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). (2015). EU Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. *EFSA Journal*, 13(2), 4036.
 - EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, 16(12), 5500.
 - Eicher, S. D., Rostagno, M. H., & Lay Jr, D. C. (2017). Feed withdrawal and transportation effects on *Salmonella enterica* levels in market-weight pigs. *Journal of Animal Science*, 95(7), 2848-2858.
 - El Allaoui, A., Filali, F. R., Ameer, N., Nassri, I., Oumokhtar, B., Aboukacem, A., . . . Bouchrif, B. (2014a). Prevalence, antibiotic-resistance and risk factors for *Salmonella* in broiler turkey farms in the province of Khémisset (Morocco). *Journal of World's Poultry Research*, 4(1), 20-29.
 - El Allaoui, A., Filali, F.R., Bouchrif, B., Karraouan, B., Oumokhtar, B., Aboukacem, A., Essahale, A. (2014b). Occurrence and antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from turkey carcasses and giblets in Meknès-Morocco. *Academia Journal of Microbiology Research*, 2(2), 33-42.
 - Elgroud, R. (2008). Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine : Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE. Thèse de doctorat en Biologie Animale. Université Mentouri Constantine, Algérie.
 - Elgroud, R., Granier, S. A., Marault, M., Kerouanton, A., Lezzar, A., Bouzitouna-Bentchouala, C., . . . Millemann, Y. (2015). Contribution of avian *Salmonella enterica* isolates to human salmonellosis cases in Constantine (Algeria). *BioMed Research International*, 2015, Article ID 352029.
 - Elgroud, R., Zerdoumi, F., Benazzouz, M., Bouzitouna-Bentchouala, C., Granier, S., Frémy, S., . . . Millemann, Y. (2009). Characteristics of *Salmonella* contamination of broilers and slaughterhouses in the region of Constantine (Algeria). *Zoonoses and Public Health*, 56(2), 84-93.
 - Elizaquível, P., Aznar, R., & Sánchez, G. (2014). Recent developments in the use of viability dyes and quantitative PCR in the food microbiology field. *Journal of Applied Microbiology*, 116(1), 1-13.
 - Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2015). *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284-293.
 - Fàbrega, A., & Vila, J. (2013). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: virulence and regulation. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(2), 308-341.
 - Fair, R. J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 6, PMC. S14459.
 - Fakruddin, M. D., Sultana, M., Ahmed, M. M., Chowdhury, A., & Choudhury, N. (2013). Multiplex PCR (polymerase chain reaction) assay for detection of *E. coli* O157: H7, *Salmonella* sp., *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in spiked shrimps (*Penaeus monodon*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16, 267-274.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Faucitano, L., Chevillon, P., & Ellis, M. (2010). Effects of feed withdrawal prior to slaughter and nutrition on stomach weight, and carcass and meat quality in pigs. *Livestock Science*, 127(2-3), 110-114.
- Favier, G. I., Estrada, C. S. L., Otero, V. L., & Escudero, M. E. (2013). Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization by PCR and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) of *Salmonella* spp. isolated from foods of animal origin in San Luis, Argentina. *Food Control*, 29(1), 49-54.
- Feng, Y., Liu, J., Li, Y. G., Cao, F. L., Johnston, R. N., Zhou, J., ... & Liu, S. L. (2012). Inheritance of the *Salmonella* virulence plasmids: mostly vertical and rarely horizontal. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(5), 1058-1063.
- Ferrari, R. G., Panzenhagen, P. H., & Conte-Junior, C. A. (2017). Phenotypic and genotypic eligible methods for *Salmonella* Typhimurium source tracking. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2587.
- Figueiredo, R., Henriques, A., Sereno, R., Mendonça, N., & da Silva, G. J. (2015). Antimicrobial resistance and extended-spectrum β -lactamases of *Salmonella enterica* serotypes isolated from livestock and processed food in Portugal: an update. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(2), 110-117.
- Foley, S. L., & Lynne, A. M. (2008). Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *Journal of Animal Science*, 86(suppl_14), E173-E187.
- Franco, A., Leekitcharoenphon, P., Feltrin, F., Alba, P., Cordaro, G., Iurescia, M., ...& Hendriksen, R. S. (2015). Emergence of a clonal lineage of multidrug-resistant ESBL-producing *Salmonella* Infantis transmitted from broilers and broiler meat to humans in Italy between 2011 and 2014. *PLoS One*, 10(12).
- Frye, J. G., & Jackson, C. R. (2013). Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. isolated from US food animals. *Frontiers in Microbiology*, 4, 135.
- Fu, S., Hiley, L., Octavia, S., Tanaka, M. M., Sintchenko, V., & Lan, R. (2017). Comparative genomics of Australian and international isolates of *Salmonella* Typhimurium: correlation of core genome evolution with CRISPR and prophage profiles. *Scientific Reports*, 7(1), 1-12.
- Gad, A. H., Abo-Shama, U. H., Harclerode, K. K., & Fakhr, M. K. (2018). Prevalence, serotyping, molecular typing, and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from conventional and organic retail ground poultry. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2653.
- Gal-Mor, O., Boyle, E. C., & Grassl, G. A. (2014). Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Frontiers in Microbiology*, 5, 391.
- Gand, M., Mattheus, W., Saltykova, A., Roosens, N., Dierick, K., Marchal, K., ...& Bertrand, S. (2019). Development of a real-time PCR method for the genoserotyping of *Salmonella* Paratyphi B variant Java. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(12), 4987-4996.
- Gao, R., Wang, L., & Ogunremi, D. (2019). Virulence Determinants of Non-typhoidal *Salmonellae*. In *Bacterial Virulence*. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.88904.
- Garneau-Tsodikova, S., & Labby, K. J. (2016). Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: overview and perspectives. *MedChemComm*, 7(1), 11-27.
- Ghafir, Y., & Daube, G. (2008). Comparison of swabbing and destructive methods for microbiological pig carcass sampling. *Letters in Applied Microbiology*, 47(4), 322-326.
- Gibani, M. M., Britto, C., & Pollard, A. J. (2018). Typhoid and paratyphoid fever: a call to action. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 31(5), 440.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ginocchio, C. C., Rahn, K., Clarke, R. C., & Galan, J. E. (1997). Naturally occurring deletions in the centisome 63 pathogenicity island of environmental isolates of *Salmonella* spp. *Infection and Immunity*, 65(4), 1267-1272.
- Girones, R., Ferrus, M. A., Alonso, J. L., Rodriguez-Manzano, J., Calgua, B., de Abreu Corrêa, A., ... & Bofill-Mas, S. (2010). Molecular detection of pathogens in water—the pros and cons of molecular techniques. *Water Research*, 44(15), 4325-4339.
- Goering, R. V. (2010). Pulsed field gel electrophoresis: a review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. *Infection, Genetics and Evolution*, 10(7), 866-875.
- Gog, J. R., Murcia, A., Osterman, N., Restif, O., McKinley, T. J., Sheppard, M., . . . Wood, J. L. (2012). Dynamics of *Salmonella* infection of macrophages at the single cell level. *Journal of the Royal Society Interface*, 9(75), 2696-2707.
- Gossner, C. M., Le Hello, S., de Jong, B., Rolfhamre, P., Faensen, D., Weill, F. X., & Giesecke, J. (2016). Around the world in 1,475 *Salmonella* geo-serotypes. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7), 1298.
- Graziani, C., Losasso, C., Luzzi, L., Ricci, A., Scavia, G., & Pasquali, P. (2017). *Salmonella*. In C.E. R. Dodd, T. G. Aldsworth & R. A. Stein, *Foodborne Diseases* (3^{ème} éd.), (pp.133-169). Food Science and Technology, Academic Press.
- Graziani, C., Mughini-Gras, L., Owczarek, S., Dionisi, A. M., Luzzi, I., & Busani, L. (2013). Distribution of *Salmonella enterica* isolates from human cases in Italy, 1980 to 2011. *Eurosurveillance*, 18(27), 20519.
- Grimont, P. A. D., & Weill F.X. (2007). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 9th ed. WHO collaborating centres for reference and research on *Salmonella*. Institut Pasteur, France, Paris.166pp.
- Guillon, F., Chasset, P., Le Hello, S., & Granier, S. A. (2013). Epidemiological investigation of highly ciprofloxacin resistant *Salmonella* Kentucky detected for the first time in French avian production. *Bulletin Épidémiologique*, 57, 22-23.
- Gunn, J. S., Marshall, J. M., Baker, S., Dongol, S., Charles, R. C., & Ryan, E. T. (2014). *Salmonella* chronic carriage: epidemiology, diagnosis, and gallbladder persistence. *Trends in Microbiology*, 22(11), 648-655.
- Gupta, S.M., Gupta, S., Gupta, A.K., Kumar, A. (2012). *PCR Technology*. In A. Kumar, A. Pareek & S. M. Gupta (Eds.), *Biotechnology in medicine and agriculture: principles and practices* (pp. 89-120). New Delhi: I. K. International publishing house Pvt. Ltd.
- Gutema, F. D., Agga, G. E., Abdi, R. D., Duchateau, L., De Zutter, L., & Gabriël, S. (2019). Prevalence and Serotype Diversity of *Salmonella* in Apparently Healthy Cattle: Systematic Review and Meta-Analysis of Published Studies, 2000-2017. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 102.
- Hald, T., Aspinall, W., Devleeschauwer, B., Cooke, R., Corrigan, T., Havelaar, A. H., ...& Lake, R. J. (2016). World Health Organization estimates of the relative contributions of food to the burden of disease due to selected foodborne hazards: a structured expert elicitation. *PloS One*, 11(1).
- Hallstrom, K., & McCormick, B. A. (2011). *Salmonella* interaction with and passage through the intestinal mucosa: through the lens of the organism. *Frontiers in Microbiology*, 2, 88.
- Hammoudi, A., Bousmaha, F., Bouzid, R., Aggad, H., Saegerman, C. (2013). Évaluation de la contamination bactérienne superficielle des carcasses bovines dans un abattoir algérien. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 19(2), 2901-2907.
- Harish, B. N., & Menezes, G. A. (2015). Determination of antimicrobial resistance in *Salmonella* spp. *Methods in Molecular Biology*, 1225, 47-61.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hauser, E., Tietze, E., Helmuth, R., Junker, E., Prager, R., Schroeter, A., ...& Malorny, B. (2012). Clonal dissemination of *Salmonella enterica* serovar Infantis in Germany. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(4), 352-360.
- Hedman, J., & Rådström, P. (2013). *Overcoming Inhibition in Real-Time Diagnostic PCR*. In M. Wilks (Eds), *PCR Detection of Microbial Pathogens. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, (pp.17-48). Totowa: Humana Press.
- Hendriksen, R. S., Vieira, A. R., Karlsmose, S., Lo Fo Wong, D. M., Jensen, A. B., Wegener, H. C., & Aarestrup, F. M. (2011). Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(8), 887-900.
- Henry, I., Chemaly, M., Granier, S., Lalande, F., Courtillon, C., Salvat, G., & Cardinale, E. (2015). Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and serovar 1, 4,[5], 12: i:-isolates determined by pulsed field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility: comparison of isolates from broiler chickens, humans and the environment in Reunion Island. *The Open Veterinary Science Journal*, 9(1), 10-18.
- Heredia, N., & García, S. (2018). Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Animal Nutrition*, 4(3), 250-255.
- Herhaus, L., & Dikic, I. (2018). Regulation of *Salmonella*-host cell interactions via the ubiquitin system. *International Journal of Medical Microbiology*, 308(1), 176.
- Hernández, E., Rodriguez, J. L., Herrera-León, S., García, I., De Castro, V., & Muniozguren, N. (2012). *Salmonella* Paratyphi B var Java infections associated with exposure to turtles in Bizkaia, Spain, September 2010 to October 2011. *Eurosurveillance*, 17(25), 20201.
- Hess, I. M. R., Neville, L. M., McCarthy, R., Shadbolt, C. T., & McAnulty, J. M. (2008). A *Salmonella* Typhimurium 197 outbreak linked to the consumption of lambs' liver in Sydney, NSW. *Epidemiology & Infection*, 136(4), 461-467.
- Heymans, R., Vila, A., van Heerwaarden, C. A., Jansen, C. C., Castelijin, G. A., van der Voort, M., & Biesta-Peters, E. G. (2018). Rapid detection and differentiation of *Salmonella* species, *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis by multiplex quantitative PCR. *PloS One*, 13(10).
- Ho, Y. N., Chou, M. Y., Tsai, H. C., Huang, T. Y., Fan, C. W., & Hsu, B. M. (2017). Empirical testing of modified *Salmonella* MLST in aquatic environmental samples by in silico analysis. *Science of the Total Environment*, 581, 378-385.
- Hoelzer, K., Switt, A. I. M., & Wiedmann, M. (2011). Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, 42(1), 34.
- Hoffmann, S., Devleeschauwer, B., Aspinall, W., Cooke, R., Corrigan, T., Havelaar, A., ...& Speybroeck, N. (2017). Attribution of global foodborne disease to specific foods: Findings from a World Health Organization structured expert elicitation. *PLoS One*, 12(9).
- Horstmann, J. A., Zschieschang, E., Truschel, T., de Diego, J., Lunelli, M., Rohde, M., . . . Kolbe, M. (2017). Flagellin phase-dependent swimming on epithelial cell surfaces contributes to productive *Salmonella* gut colonisation. *Cellular Microbiology*, 19(8), e12739.
- Hosseinzadeh, S., Shekarforoush, S. S., Fazeli, M., & Dehghan, M. (2014). Determination of RT-PCR detection limit of live and dead *Salmonella* cells in raw and sterilized milk. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15(1), 58-61.
- Hugas, M., & Beloeil, P. A. (2014). Controlling *Salmonella* along the food chain in the European Union-progress over the last ten years. *Eurosurveillance*, 19(19), 20804.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Humbert, F. (2005): *Les salmonelles*, In M. Federighi, *Bactériologie alimentaire- Compendium d'hygiène des aliments (2ème éd.)*, (pp.1- 23). Paris: Economica.
- Hung, Y. T., Lay, C. J., Wang, C. L., & Koo, M. (2017). Characteristics of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis in Taiwanese children: A 9-year period retrospective medical record review. *Journal of Infection and Public Health*, 10(5), 518-521.
- Hunter, P. R., & Gaston, M. A. (1988). Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(11), 2465–2466.
- Hur, J., Jawale, C., & Lee, J. H. (2012). Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Research International*, 45(2), 819-830.
- Hurd, H. S., Mckean, J. D., Wesley, I. V., & Karriker, L. A. (2001). The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. *Journal of Food Protection*, 64(7), 939-944.
- Hurley, D., McCusker, M. P., Fanning, S., & Martins, M. (2014). *Salmonella*–host interactions–modulation of the host innate immune system. *Frontiers in Immunology*, 5, 481.
- Hurtado, A., Ocejo, M., & Oporto, B. (2017). *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* shedding in domestic ruminants and characterization of potentially pathogenic strains. *Veterinary Microbiology*, 210, 71–76.
- Ibarra, J. A., & Steele-Mortimer, O. (2009). *Salmonella*–the ultimate insider. *Salmonella* virulence factors that modulate intracellular survival. *Cellular microbiology*, 11(11), 1579-1586.
- Ibrahim, A. A., El-Diasty, M. M., Mahmoud, M. M., & Nada, H. S. (2014). Molecular Characterization of Multidrug-Resistant *Salmonella* species from Meat in Delta Area, Egypt. *Annals of Veterinary and Animal Science*, 1(1), 1- 11.
- Ilyas, B., Tsai, C. N., & Coombes, B. K. (2017). Evolution of *Salmonella*-host cell interactions through a dynamic bacterial genome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 428.
- IPA. (2015). Rapport d'activité 2015. Disponible sur: <https://www.pasteur.dz/images/docs/Rapport-2015.pdf>. Consulté le 27/07/2020.
- Isaacson, R. E., Firkins, L. D., Weigel, R. M., Zuckermann, F. A., & DiPietro, J. A. (1999). Effect of transportation and feed withdrawal on shedding of *Salmonella* Typhimurium among experimentally infected pigs. *American Journal of Veterinary Research*, 60(9), 1155-1158.
- Issenhuth-Jeanjean, S., Roggentin, P., Mikoleit, M., Guibourdenche, M., de Pinna, E., Nair, S., . Weill, F.-X. (2014). Supplement 2008–2010 (no. 48) to the white–Kauffmann–Le minor scheme. *Research in Microbiology*, 165(7), 526-530.
- Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, 12(4), 504.
- Jamshidi, A., Bassami, M.R., & Afshari-Nic, S. (2009). Identification of *Salmonella* spp. and *Salmonella* Typhimurium by a multiplex PCR-based assay from poultry carcasses in Mashhad-Iran. *International Journal of Veterinary Research*, 3(1), 43-48.
- Jay, J. M., Loessner, .M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology (7ème éd.)*, *Food Science Text Series*. New York: Springer Science.
- Jennings, E., Thurston, T. L., & Holden, D. W. (2017). *Salmonella* SPI-2 type III secretion system effectors: molecular mechanisms and physiological consequences. *Cell Host & Microbe*, 22(2), 217-231.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Jiménez, M., Martínez-Urtaza, J., & Chaidez, C. (2011). Geographical and temporal dissemination of *salmonellae* isolated from domestic animal hosts in the Culiacan Valley, Mexico. *Microbial Ecology*, 61(4), 811-820.
- Johnson, D. I. (2017). *Bacterial Pathogens and Their Virulence Factors*. Springer.
- Johnson, R., Mylona, E., & Frankel, G. (2018). Typhoidal *Salmonella*: Distinctive virulence factors and pathogenesis. *Cellular Microbiology*, 20(9), e12939.
- Jones, M A. (2013). *Fimbriae and Flagella of Salmonella enterica*. In P. A. Barrow & U. Methner, *Salmonella in Domestic Animals (2ème éd.)*, (pp. 38- 57). London: CAB International.
- Jones,, P.J., Weston, P.R., & Swail, T. (2007). *Salmonellosis*. In A.H. Andrew, *Bovine medicine, diseases and husbandry of cattle.(2ème éd.)*, (pp.215- 230).Blackwell publishing.
- Kagambèga, A., Lienemann, T., Aulu, L., Traoré, A. S., Barro, N., Siitonen, A., & Haukka, K. (2013). 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 Microbiology*, 13(1), 253.
- Karatuğ, N. T., Yüksel, F. N., Akçelik, N., & Akçelik, M. (2018). Genetic diversity of food originated *Salmonella* isolates. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(3), 638-645.
- Karmi, M. (2013). Detection of virulence gene (*invA*) in *Salmonella* isolated from meat and poultry products. *International Journal of Genetics*, 3(2), 7-12.
- Karraouan, B., Fassouane, A., El Ossmani, H., Cohen, N., Charafeddine, O., & Bouchrif, B. (2010).Prévalence et gènes de virulence des *Salmonella* isolées des viandes hachées crues de dinde à Casablanca (Maroc). *Revue de Medecine Veterinaire*, 161(3), 127.
- Karuppiah, V., Collins, R. F., Thistlethwaite, A., Gao, Y., & Derrick, J. P. (2013). Structure and assembly of an inner membrane platform for initiation of type IV pilus biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(48), E4638-E4647.
- Kemal, J. (2014). A review on the public health importance of bovine salmonellosis. *Veterinary Science & Technology*, 5(2), 1.
- Kerouanton, A., Rose, V., Weill, F. X., Granier, S. A., & Denis, M. (2013). Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serotype Derby isolated from pigs, pork, and humans in France. *Foodborne pathogens and disease*, 10(11), 977-984.
- Khajanchi, B. K., Xu, J., Grim, C. J., Ottesen, A. R., Ramachandran, P., & Foley, S. L. (2019). Global transcriptomic analyses of *Salmonella enterica* in Iron-depleted and Iron-rich growth conditions. *BMC Genomics*, 20(1), 490.
- Kidanemariam, A., Engelbrecht, M., & Picard, J. (2010). Retrospective study on the incidence of *Salmonella* isolations in animals in South Africa, 1996 to 2006. *Journal of the South African Veterinary Association*, 81(1), 37–44.
- Kidgell, C., Reichard, U., Wain, J., Linz, B., Torpdahl, M., Dougan, G., & Achtman, M. (2002). *Salmonella typhi*, the causative agent of typhoid fever, is approximately 50,000 years old. *Infection, Genetics and Evolution*, 2(1), 39-45.
- Kirchner, M., Marier, E., Miller, A., Snow, L., McLaren, I., Davies, R. H., ...& Cook, A. J. C. (2011). Application of variable number of tandem repeat analysis to track *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Typhimurium infection of pigs reared on three British farms through the production cycle to the abattoir. *Journal of Applied Microbiology*, 111(4), 960-970.
- Kirchweger, P., Weiler, S., Egerer-Sieber, C., Blasl, A. T., Hoffmann, S., Schmidt, C., ...& Muller, Y. A. (2019). Structural and functional characterization of *SiiA*, an auxiliary

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- protein from the SPI4- encoded type 1 secretion system from *Salmonella enterica*. *Molecular Microbiology*, 112(5), 1403-1422.
- Kjeldsen, M. K., Torpdahl, M., Pedersen, K., & Nielsen, E. M. (2015). Development and comparison of a generic multiple-locus variable-number tandem repeat analysis with pulsed-field gel electrophoresis for typing of *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. *Journal of Applied Microbiology*, 119(6), 1707-1717.
 - Kong, Q., Yang, J., Liu, Q., Alamuri, P., Roland, K. L., & Curtiss, R. (2011). Effect of deletion of genes involved in lipopolysaccharide core and O-antigen synthesis on virulence and immunogenicity of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Infection and Immunity*, 79(10), 4227-4239.
 - Kore, K., Asrade, B., Demissie, K., & Aragaw, K. (2017). Characterization of *Salmonella* isolated from apparently healthy slaughtered cattle and retail beef in Hawassa, southern Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, 147, 11–16.
 - Korsak, N., Clinquart, A., & Daube, G. (2004). *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 148, 174-193.
 - Krauland, M., Harrison, L., Paterson, D., & Marsh, J. (2010). Novel Integron Gene Cassette Arrays Identified in a Global Collection of Multi-Drug Resistant Non-Typhoidal *Salmonella enterica*. *Current Microbiology*, 60(3), 217-223.
 - Krzyściak, W., Pluskwa, K. K., Piątkowski, J., Krzyściak, P., Jurczak, A., Kościelniak, D., & Skalniak, A. (2014). The usefulness of biotyping in the determination of selected pathogenicity determinants in *Streptococcus mutans*. *BMC Microbiology*, 14(1), 194.
 - Kurtz, J. R., Goggins, J. A., & McLachlan, J. B. (2017). *Salmonella* infection: interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology Letters*, 190, 42-50.
 - La Ragione, R., Metcalfe, H. J., Villarreal-Ramos, B., & Werling, D. (2013). *Salmonella infections in cattle*. In P. A., Barrow & U. Methner, *Salmonella in Domestic Animals*. (2ème éd.), (pp. 233– 262). Wallingford, UK: CAB International.
 - Lahiri, A., Lahiri, A., Iyer, N., Das, P., & Chakravorty, D. (2010). Visiting the cell biology of *Salmonella* infection. *Microbes and Infection*, 12(11), 809-818.
 - Lamas, A., Miranda, J. M., Regal, P., Vazquez, B., Franco, C. M., & Cepeda, A. (2018). A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. *Microbiological Research*, 206, 60-73.
 - Langridge, G. C., Fookes, M., Connor, T. R., Feltwell, T., Feasey, N., Parsons, B. N., ...& Wigley, P. (2015). Patterns of genome evolution that have accompanied host adaptation in *Salmonella*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(3), 863-868.
 - Laufer, A., Grass, J., Holt, K., Whichard, J., Griffin, P. M., & Gould, L. (2015). Outbreaks of *Salmonella* infections attributed to beef–United States, 1973–2011. *Epidemiology & Infection*, 143(9), 2003-2013.
 - Law, J. W. F., Ab Mutalib, N. S., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Frontiers in Microbiology*, 5, 770.
 - Le Hello, S., Harrois, D., Bouchrif, B., Sontag, L., Elhani, D., Guibert, V., . . . Weill, F.-X. (2013). Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(8), 672-679.
 - Le Hello, S., Hendriksen, R. S., Doublet, B., Fisher, I., Nielsen, E. M., Whichard, J. M., . . . Jourdan-Da Silva, N. (2011). International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin. *Journal of Infectious Diseases*, 204(5), 675-684.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Lee, K. M., Runyon, M., Herrman, T. J., Phillips, R., & Hsieh, J. (2015). Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control*, 47, 264-276.
- Leverstein-Van Hall, M., Dierikx, C., Cohen Stuart, J., Voets, G., Van Den Munckhof, M., van Essen-Zandbergen, A., . . . Scharinga, J. (2011). Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(6), 873-880.
- Lewis, C. R. G., & McGlone, J. J. (2008). Modelling feeding behaviour, rate of feed passage and daily feeding cycles, as possible causes of fatigued pigs. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, 2(4), 600.
- Li, J., Hao, H., Sajid, A., Zhang, H., & Yuan, Z. (2018). *Fluoroquinolone Resistance in Salmonella: Mechanisms, Fitness, and Virulence*. In M. T. Mascellino, *Salmonella - A Re-Emerging Pathogen*. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.74699.
- Lindstedt, B. A., Heir, E., Gjernes, E., & Kapperud, G. (2003). DNA fingerprinting of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium with emphasis on phage type DT104 based on variable number of tandem repeat loci. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1469-1479.
- Liu, B., Knirel, Y. A., Feng, L., Perepelov, A. V., Senchenkova, S. Y. N., Reeves, P. R., & Wang, L. (2014). Structural diversity in *Salmonella* O antigens and its genetic basis. *FEMS Microbiology Reviews*, 38(1), 56-89.
- Liu, Y., Shi, X., Li, Y., Chen, Q., Jiang, M., Li, W., ...& Sun, Q. (2016). The evaluation and application of multilocus variable number tandem repeat analysis (MLVA) for the molecular epidemiological study of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis infection. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 15(1), 4.
- Loftus, C. G. (2014). *Gastro-intestinal infections, Clostridium difficile-associated disease, and diverticular disease*. In S. Hauser, S. C. Hauser & W. Sanchez. *Mayo Clinic Gastroenterology and Hepatology Board Review* (pp, 174- 184). Oxford University Press.
- Lopez, C. A., & Skaar, E. P. (2018). The Impact of Dietary Transition Metals on Host-Bacterial Interactions. *Cell Host & Microbe*. 23 (6), 737-748.
- Lou, L., Zhang, P., Piao, R., & Wang, Y. (2019). *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI-1) and its complex regulatory network. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 270.
- Lutful Kabir, S. M. (2010). Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(1), 89-114.
- MacLennan, C. A., & Levine, M. M. (2013). Invasive nontyphoidal *Salmonella* disease in Africa: current status. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 11(5), 443-446.
- Mainar-Jaime, R. C., Atashparvar, N., & Chirino-Trejo, M. (2008). Estimation of the diagnostic accuracy of the *invA*-gene-based PCR technique and a bacteriological culture for the detection of *Salmonella* spp. in caecal content from slaughtered pigs using Bayesian analysis. *Zoonoses and Public Health*, 55(2), 112-118.
- Majowicz, S. E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F. J., Kirk, M., O'Brien, S. J., ...& International Collaboration on Enteric Disease "Burden of Illness" Studies. (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clinical Infectious Diseases*, 50(6), 882-889.
- Mąka, Ł., Maćkiw, E., Ścieżyńska, H., Modzelewska, M., & Popowska, M. (2015). Resistance to sulfonamides and dissemination of *sul* genes among *Salmonella* spp. isolated from food in Poland. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(5), 383-389.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Makwana, P. P., Nayak, J. B., Brahmbhatt, M. N., & Chaudhary, J. H. (2015). Detection of *Salmonella* spp. from chevon, mutton and its environment in retail meat shops in Anand city (Gujarat), India. *Veterinary World*, 8(3), 388.
- Malorny, B., Hoorfar, J., Bunge, C., & Helmuth, R. (2003). Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. *Microbiol Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 290-296.
- Manoj, J., Singh, M. K., & Singh, Y. P. (2015). The role of poultry in food borne salmonellosis and its public health importance. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(9), 485-490.
- Maraki, S., & Papadakis, I. S. (2014). Serotypes and antimicrobial resistance of human nontyphoidal isolates of *Salmonella enterica* from Crete, Greece. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2014, Article ID 256181.
- Marathe, S. A., Lahiri, A., Negi, V. D., & Chakravorty, D. (2012). Typhoid fever & vaccine development: a partially answered question. *The Indian journal of Medical Research*, 135(2), 161.
- Maria, C. Z., Toma, C. L., & Ioan, T. (2015). Following-up the *Salmonella* spp. carrier status (contamination) from piglet to carcass. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(5), 283-288.
- Marineli, F., Tsoucalas, G., Karamanou, M., & Androustos, G. (2013). Mary Mallon (1869-1938) and the history of typhoid fever. *Annals of Gastroenterology: Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 26(2), 132.
- Marks, F., Von Kalckreuth, V., Aaby, P., Adu-Sarkodie, Y., El Tayeb, M. A., Ali, M., ... & Breiman, R. F. (2017). Incidence of invasive *Salmonella* disease in sub-Saharan Africa: a multicentre population-based surveillance study. *The Lancet Global Health*, 5(3), 310-323.
- Marrero-Ortiz, R., Han, J., Lynne, A. M., David, D. E., Stemper, M. E., Farmer, D., . . . Foley, S. L. (2012). Genetic characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars isolated from dairy cattle in Wisconsin. *Food Research International*, 45(2), 962-967.
- Marshall, B. M., & Levy, S. B. (2011). Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(4), 718-733.
- Marshall, J. M., & Gunn, J. S. (2015). The O-antigen capsule of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium facilitates serum resistance and surface expression of *FliC*. *Infection and Immunity*, 83(10), 3946-3959.
- Martín-Atance, P., León, L., & Candela, M. G. (2012). Serology as an Epidemiological Tool for *Salmonella Abortusovis* Surveillance in the Wild-Domestic Ruminant Interface, In Y. Kumar (Ed.), *Salmonella –A Diversified Superbug*, (pp. 413- 430). IntechOpen. ISBN: 978-953-307-781-9.
- Martín-Peláez, S., Peralta, B., Creus, E., Dalmau, A., Velarde, A., Pérez, J. F., ... & Martín-Orúe, S. M. (2009). Different feed withdrawal times before slaughter influence caecal fermentation and faecal *Salmonella* shedding in pigs. *The Veterinary Journal*, 182(3), 469-473.
- Mashooq, M., Niranjana, A. K., Rathore, R., Kumar, D., Jain, A., & Rose, L. (2016). Prevalence and Distribution of *Salmonella* Faecal Carriage in Small Ruminants. *Indian Journal of Small Ruminants*, 22(2), 261-263.
- Matchawe, C., Ndip, L. M., Zuliani, A., Ngonde, M. C., & Piasentier, E. (2019). Factors Influencing *Salmonella* Contamination and Microbial Load of Beef Carcass at the Yaoundé Slaughterhouse, Cameroon. *Journal of Food Science and Engineering* 9, 266-275.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Maysa, A., & Abd-Elall, A. (2015). Diversity and virulence associated genes of *Salmonella enterica* serovars isolated from wastewater agricultural drains, leafy green producing farms, cattle and human along their courses. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 166(3), 96-106.
- McEvoy, J. M., Nde, C. W., Sherwood, J. S., & Logue, C. M. (2005). An Evaluation of Sampling Methods for the Detection of *Escherichia coli* and *Salmonella* on Turkey Carcasses. *Journal of Food Protection*, 68(1), 34–39.
- Mezali, L. (2009). Prévalence et antibiorésistance des souches de *Salmonella* spp. isolées à partir de différentes matrices alimentaires dans la wilaya d'Alger. Mémoire de Magister en sciences vétérinaires. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie.
- Mezali, L., & Hamdi, T. M. (2012). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from meat and meat products in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(6), 522-529.
- Michael, G. B., Butaye, P., Cloeckert, A., & Schwarz, S. (2006). Genes and mutations conferring antimicrobial resistance in *Salmonella*: an update. *Microbes and Infection*, 8(7), 1898-1914.
- Michael, G. B., Hall, R., Fanning, S., & Schwarz, S. (2013). *Antimicrobial resistance in Salmonella*, In P. A. Barrow & U. Methner, *Salmonella in domestic animals* (2ème éd.), (pp. 120-135). London: CAB International.
- Michael, G., & Schwarz, S. (2016). Antimicrobial resistance in zoonotic nontyphoidal *Salmonella*: an alarming trend? *Clinical Microbiology and Infection*, 22(12), 968-974.
- Mihaiu, L., Lapusan, A., Tanasuica, R., Sobolu, R., Mihaiu, R., Oniga, O., & Mihaiu, M. (2014). First study of *Salmonella* in meat in Romania. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8(01), 050-058.
- Mijović, G., Andric, B., Terzic, D., Lopicic, M., & Dupanovic, B. (2012). Antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp.: a comparison of two surveys with a 5 years interval. *Journal of IMAB—Annual Proceeding Scientific Papers*, 18(1), 216-219.
- Millemann, Y. (1998). Les marqueurs épidémiologiques des salmonelles. *Veterinary Research*, 29, 3-19.
- Miller, N. D., Davidson, P., & D'Souza, D. H. (2011). Real-time reverse-transcriptase PCR for *Salmonella* Typhimurium detection from lettuce and tomatoes. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 1088-1097.
- Mirzaie, S., Hassanzadeh, M., & Ashrafi, I. (2010). Identification and characterization of *Salmonella* isolates from captured house sparrows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 34(2), 181-186.
- Moawad, A. A., Hotzel, H., Awad, O., Tomaso, H., Neubauer, H., Hafez, H. M., & El-Adawy, H. (2017). Occurrence of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in raw chicken and beef meat in northern Egypt and dissemination of their antibiotic resistance markers. *Gut Pathogens*, 9(1), 57.
- Mohamed, O., Farid, A., Abaza, A., & Faltas, R. (2011). Fecal shedding of non-typhoidal *Salmonella* species in dairy cattle and their attendants in Alexandria suburbs. *Journal of American Science*, 7(9), 623-631.
- Mohammed Saleh, W. M. (2012). Isolation of *Salmonella* spp. from slaughtered sheep in Basra. *Basrah Journal of Veterinary Research*, 11(2), 159-166.
- Mohammed, S., Birhan, G., Admassu, B., Shite, A., & Yeneneh, H. (2015). Review on Polymerase Chain Reaction and its Diagnostic Merit Over Conventional Techniques in Animal Disease. *African Journal of Basic & Applied Sciences*, 7(5), 262-281.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mohler, V. L., Izzo, M. M., & House, J. K. (2009). *Salmonella* in calves. *Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 37-54.
- Mooijman, K. A. (2018). The new ISO 6579-1: A real horizontal standard for detection of *Salmonella*, at last! *Food Microbiology*, 71, 2-7.
- Mooijman, K. A., Pielaat, A., & Kuijpers, A. F. (2019). Validation of EN ISO 6579-1-Microbiology of the food chain-Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*-Part 1 detection of *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 288, 3-12.
- Morrow, W. E. M., See, M. T., Eisemann, J. H., Davies, P. R., & Zering, K. (2002). Effect of withdrawing feed from swine on meat quality and prevalence of *Salmonella* colonization at slaughter. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(4), 497–502.
- Moudgal, V. V., & Kaatz, G. W. (2009). *Fluoroquinolone Resistance in Bacteria*. In D. L. Mayers (Ed.), *Antimicrobial Drug Resistance: Mechanisms of Drug Resistance* (pp. 195-205). Totowa, NJ: Humana Press.
- Mouffok, F. (2011). Situation en matière de TIA en Algérie de 2010 à 2011. 2^{ème} congrès Maghrébin sur les TIA, Tunis le 14-15 décembre, 2011.
- Mughini-Gras, L., Franz, E., & Van Pelt, W. (2018). New paradigms for *Salmonella* source attribution based on microbial subtyping. *Food Microbiology*, 71, 60-67.
- Muluneh, G., & Kibret, M. (2015). *Salmonella* spp. and risk factors for the contamination of slaughtered cattle carcass from a slaughterhouse of Bahir Dar Town, Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(2), 130-135.
- Mulvey, M. R., Boyd, D. A., Finley, R., Fakharuddin, K., Langner, S., Allen, V., . . . Haldane, D. (2013). Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serovar Kentucky in Canada. *Emerging Infectious Diseases*, 19(6), 999.
- Nair, D. V.T., Venkitanarayanan, K., & Johny, A. K. (2018). Antibiotic-resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control. *Foods*, 7(10), 167.
- Narvaez-Bravo, C., Miller, M., Jackson, T., Jackson, S., Rodas-Gonzalez, A., Pond, K., . . . Brashears, M. (2013). *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 prevalence in cattle and on carcasses in a vertically integrated feedlot and harvest plant in Mexico. *Journal of Food Protection*, 76(5), 786-795.
- Ni, P., Xu, Q., Yin, Y., Liu, D., Zhang, J., Wu, Q., Tian, P., . . . Wang, D. (2018). Prevalence and characterization of *Salmonella* serovars isolated from farm products in Shanghai. *Food Control*, 85, 269-275.
- Nickelson, K. J., Taylor, T. M., Griffin, D. B., Savell, J. W., Gehring, K. B., & Arnold, A. N. (2019). Assessment of *Salmonella* Prevalence in Lymph Nodes of U.S. and Mexican Cattle Presented for Slaughter in Texas. *Journal of Food Protection*, 82(2), 310–315.
- Nickerson, C. A., & Curtiss, R. (1997). Role of sigma factor RpoS in initial stages of *Salmonella* Typhimurium infection. *Infection and Immunity*, 65(5), 1814-1823.
- Nielsen, T. D., Vesterbæk, I. L., Kudahl, A. B., Borup, K. J., & Nielsen, L. R. (2012). Effect of management on prevention of *Salmonella* Dublin exposure of calves during a one-year control programme in 84 Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 105(1-2), 101-109.
- Nouichi, S., & Hamdi, T. M. (2009). Superficial bacterial contamination of ovine and bovine carcasses at El-Harrach slaughterhouse (Algeria). *European Journal of Scientific Research*, 38(3), 474-485.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Nsofor, C. A. (2016). Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): principles and applications in molecular epidemiology: a review. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 2(2), 38-51.
- Nuccio, S. P., Wangdi, T., Winter, S. E., & Bäumler, A. J. (2013). *Typhoid*. In: E. Rosenberg, E.F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt & F. Thompson (Eds.), *The Prokaryotes*, (pp. 375–399). Berlin: Springer.
- Nwabor, O. F., Dickson, I. D., & Ajibo, Q. C. (2015). Epidemiology of *Salmonella* and Salmonellosis. *International Letters of Natural Sciences*, 47, 54-73.
- Nyabundi, D., Onkoba, N., Kimathi, R., Nyachio, A., Juma, G., Kinyanjui, P., & Kamau, J. (2017). Molecular characterization and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* isolated from fecal matter of domestic animals and animal products in Nairobi. *Tropical Diseases Travel Medicine and Vaccines*, 3(1), 2.
- Nyachuba, D. G. (2010). Foodborne illness: is it on the rise? *Nutrition reviews*, 68(5), 257-269.
- Obaro, S. K., Iroh Tam, P.-Y., & Mintz, E. D. (2017). The unrecognized burden of typhoid fever. *Expert Review of Vaccines*, 16(3), 249-260.
- Ohud, M., Eman, M. H., & Hayam, S. A. (2012). Detection of *Salmonella* strains in clinical samples from Saudi Arabia by *invA* and *hlyA* polymerase chain reaction (PCR)-based assays. *African Journal of Microbiology Research*, 6(25), 5410-5416.
- Okafor, U. C., Okafor, S. C., & Ogugua, A.J. (2020). Occurrence of multidrug-resistant *Salmonella* in cattle carcass and contact surfaces in Kwata slaughterhouse, Awka, Anambra State, Nigeria. *International Journal of One Health*, 6(1), 49-55.
- Oladapo, O. O., Kwaga, J. K., Dzikwi, A. A., & Junaid, K. (2013). Detection of *invA* virulence gene by polymerase chain reaction (PCR) in *Salmonella* spp. isolated from captive wildlife.
- Oloya, J., Theis, M., Doetkott, D., Dyer, N., Gibbs, P., & Khaita, M. L. (2007). Evaluation of *Salmonella* occurrence in domestic animals and humans in North Dakota (2000–2005). *Foodborne Pathogens and Disease*, 4(4), 551-563.
- Olsen, J., Aabo, S., Rasmussen, O., & Rossen, L. (1995). Oligonucleotide probes specific for the genus *Salmonella* and for *Salm. Typhimurium*. *Letters in Applied Microbiology*, 20(3), 160-163.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (2015). Estimations de l'OMS sur la charge mondiale de morbidité imputable aux maladies d'origine alimentaire: résumé d'orientation. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/200048/WHO_FOS_15.02_fre.pdf;jsessionid=8772D429988C47ECD372D27380797719?sequence=1. Consulté le 25/06/2018.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (2018). Vaccins anti-typhoïdiques: note de synthèse de l'OMS – mars 2018. Relevé épidémiologique hebdomadaire. 13 (93), 153–172. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272272/WER9313.pdf>. Consulté le 03/10/2019.
- Osman, K. M., Marouf, S. H., Zolnikov, T. R., & AlAtfeehy, N. (2014). Isolation and characterization of *Salmonella enterica* in day-old ducklings in Egypt. *Pathogens and Global Health*, 108(1), 37-48.
- Ozdemir, K., & Acar, S. (2014). Plasmid profile and pulsed-field gel electrophoresis analysis of *Salmonella enterica* isolates from humans in Turkey. *PloS One*, 9(5), e95976.
- Painter, J. A., Hoekstra, R. M., Ayers, T., Tauxe, R. V., Braden, C. R., Angulo, F. J., & Griffin, P. M. (2013). Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998–2008. *Emerging Infectious Diseases*, 19(3), 407.
- Pal, M., Merera, O., Abera, F., Rahman, M., & Hazarika, R. (2015). Salmonellosis: a major foodborne disease of global significance. *Beverage Food World*, 42(12), 21-24.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Palmer, A. D., & Slauch, J. M. (2017). Mechanisms of *Salmonella* pathogenesis in animal models. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 23(8), 1877-1892.
- Pan, Z., Carter, B., Núñez-García, J., AbuOun, M., Fookes, M., Ivens, A., . . . Anjum, M. F. (2009). Identification of genetic and phenotypic differences associated with prevalent and non-prevalent *Salmonella* Enteritidis phage types: analysis of variation in amino acid transport. *Microbiology*, 155(10), 3200-3213.
- Pang, S., Octavia, S., Reeves, P. R., Wang, Q., Gilbert, G. L., Sintchenko, V., & Lan, R. (2012). Genetic relationships of phage types and single nucleotide polymorphism typing of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), 727-734.
- Paniel, N., & Noguer, T. (2019). Detection of *Salmonella* in Food Matrices, from Conventional Methods to Recent Aptamer-Sensing Technologies. *Foods*, 8(9), 371.
- Park, S. H., Aydin, M., Khatiwara, A., Dolan, M. C., Gilmore, D. F., Bouldin, J. L., . . . Ricke, S. C. (2014). Current and emerging technologies for rapid detection and characterization of *Salmonella* in poultry and poultry products. *Food Microbiology*, 38, 250-262.
- Pearce, R. A., & Bolton, D. J. (2005). Excision vs sponge swabbing - a comparison of methods for the microbiological sampling of beef, pork and lamb carcasses. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 896-900.
- Pearce, R. A., Sheridan, J. J., & Bolton, D. J. (2006). Distribution of airborne microorganisms in commercial pork slaughter processes. *International Journal of Food Microbiology*, 107(2), 186-191.
- Pethplerdprao, P., Supa-amornkul, S., Panvisavas, N., & Chaturongakul, S. (2017). *Salmonella enterica* multilocus sequence typing and its correlation with serotypes. *Food Biotechnology*, 31(2), 73-79.
- Petrovska, L., Mather, A. E., AbuOun, M., Branchu, P., Harris, S. R., Connor, T., . . . Page, A. (2016). Microevolution of monophasic *Salmonella* Typhimurium during epidemic, United Kingdom, 2005-2010. *Emerging Infectious Diseases*, 22(4), 617.
- Pham, O. H., & McSorley, S. J. (2015). Protective host immune responses to *Salmonella* infection. *Future Microbiology*, 10(1), 101-110.
- Piras, F., Brown, D. J., Meloni, D., Mureddu, A., & Mazzette, R. (2011). Investigation of *Salmonella enterica* in Sardinian slaughter pigs: Prevalence, serotype and genotype characterization. *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), 201-209.
- Postollec, F., Falentin, H., Pavan, S., Combrisson, J., & Sohier, D. (2011). Recent advances in quantitative PCR (qPCR) applications in food microbiology. *Food Microbiology*, 28(5), 848-861.
- Prakash, B., Jegadeesh, K., & Tamilmani, P. (2012). Molecular Characterization of Plasmid Mediated ESBL Resistant *Salmonella* isolated from Poultry Environment in Namakkal District (India). *Biotechnology Advances*, 12(2), 18-21.
- Prunić, B., Milanov, D., Velhner, M., Pajić, M., Pavlović, L., & Mišić, D. (2016). Clonal persistence of *Salmonella enterica* serovars Montevideo, Tennessee and Infantis in feed factories. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 10(06), 662-666.
- Pui, C., Wong, W., Chai, L., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Hidayah, N., . . . Son, R. (2011). *Salmonella*: A foodborne pathogen. *International Food Research Journal*, 18(2).
- Pulido-Landínez, M., Washington, P., Thornton, J. K., Zhang, Y., Sánchez-Ingunza, R., Banda, A., . . . Mauel, M. J. (2014). Serotype and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates from commercial birds and poultry environment in Mississippi. *Avian Diseases*, 58(1), 64-70.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Pullinger, G. D., Van Diemen, P. M., Carnell, S. C., Davies, H., Lyte, M., & Stevens, M. P. (2010). 6-hydroxydopamine-mediated release of norepinephrine increases faecal excretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in pigs. *Veterinary Research*, 41(5), 68.
- PulseNet, (2017). Standard Operating Procedure for PulseNet PFGE of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* Serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. Disponible sur : <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/ecoli-shigella-salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>. Consulté le 12/12/2019.
- Queenan, A. M., & Bush, K. (2007). Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(3), 440-458.
- Rahmani, M., Peighambari, S. M., Svendsen, C. A., Cavaco, L. M., Agersø, Y., & Hendriksen, R. S. (2013). Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran. *BMC Veterinary Research*, 9(1), 66.
- Rahn, K., De Grandis, S., Clarke, R., McEwen, S., Galan, J., Ginocchio, C., . . . Gyles, C. (1992). Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Molecular and Cellular Probes*, 6(4), 271-279.
- Rajapaksha, P., Elbourne, A., Gangadoo, S., Brown, R., Cozzolino, D., & Chapman, J. (2019). A review of methods for the detection of pathogenic microorganisms. *Analyst*, 144(2), 396-411.
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2017). Amikacin: uses, resistance, and prospects for inhibition. *Molecules*, 22(12), 2267.
- Ramos-Morales, F. (2012). Impact of *Salmonella enterica* type III secretion system effectors on the eukaryotic host cell. *ISRN Cell Biology*, 2012, 1-36.
- Reeves, P. R., Cunneen, M. M., Liu, B., & Wang, L. (2013). Genetics and evolution of the *Salmonella* galactose-initiated set of O antigens. *PLoS One*, 8(7).
- Reid, C. A., Avery, S. M., Warriss, P., & Buncic, S. (2002). The effect of feed withdrawal on *Escherichia coli* shedding in beef cattle. *Food Control*, 13(6-7), 393-398.
- Rieke, S., Kim, S., Shi, Z., & Park, S. (2018). Molecular-based identification and detection of *Salmonella* in food production systems: current perspectives. *Journal of Applied Microbiology*, 125(2), 313-327.
- Rickert-Hartman, R., & Folster, J. P. (2014). Ciprofloxacin-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky sequence type 198. *Emerging Infectious Diseases*, 20(5), 910.
- Roberts, M. C., & Schwarz, S. (2016). Tetracycline and phenicol resistance genes and mechanisms: importance for agriculture, the environment, and humans. *Journal of Environmental Quality*, 45(2), 576-592.
- Roberts, T. (1980). The effects of slaughter practices on the bacteriology of the red meat carcass. *Royal Society of Health Journal*, 100(1), 3-9.
- Roland, K. L., Kong, Q., & Jiang, Y. (2020). *Attenuated Salmonella for Oral Immunization*. In H. Kiyono & D. W. Pascual (Eds.), *Mucosal Vaccines: Innovation for Preventing Infectious Diseases* (2ème éd.) (pp. 383-399). Elsevier Science.
- Romane, A., Harrak, R., & Bahri, F. (2012). *Use Thyme Essential Oils for the Prevention of Salmonellosis*. In B. S. M. Mahmoud, *Salmonella—A dangerous foodborne pathogen* (pp. 305- 332). Rijeka, Croatia: InTech Edition.
- Rostagno, M. H., Eicher, S. D., & Lay Jr, D. C. (2009, 30 Septembre- 2 Octobre). *Effect of feed withdrawal and transportation on Salmonella enterica infection in market-weight pigs*. [Conférence]. Eighth International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork. Québec City, Québec, Canada.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Rostagno, M., Eicher, S., & Lay Jr, D. (2011). Does pre-slaughter stress affect pork safety risk? *Journal of Animal Science*, 89, 430.
- Rowlands, R. E. G., Ristori, C. A., Ikuno, A. A., Barbosa, M. L., Jakabi, M., & Franco, B. D. G. d. M. (2014). Prevalence of drug resistance and virulence features in *Salmonella* spp. isolated from foods associated or not with salmonellosis in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56(6), 461-467.
- Ruby, T., McLaughlin, L., Gopinath, S., & Monack, D. (2012). *Salmonella's* long-term relationship with its host. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(3), 600-615.
- Rushdy, A. A., Mabrouk, M. I., Abu-Sef, F. A.-H., Kheiralla, Z. H., Abdel-All, S. M., & Saleh, N. M. (2013). Contribution of different mechanisms to the resistance to fluoroquinolones in clinical isolates of *Salmonella enterica*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 17(4), 431-437.
- Ryan, M. P., O'Dwyer, J., & Adley, C. C. (2017). Evaluation of the complex nomenclature of the clinically and veterinary significant pathogen *Salmonella*. *BioMed Research International*, 2017.
- Rycroft, A. N. (2013). *Structure, Function and Synthesis of Surface Polysaccharides in Salmonella*. In P. A., Barrow & U. Methner, *Salmonella in Domestic Animals*. (2ème éd.), (pp. 20– 37). Wallingford, UK: CAB International.
- Sabbagh, S. C., Forest, C. G., Lepage, C., Leclerc, J.-M., & Daigle, F. (2010). So similar, yet so different: uncovering distinctive features in the genomes of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Typhi. *FEMS Microbiology Letters*, 305(1), 1-13.
- Sallam, K. I., Mohammed, M. A., Hassan, M. A., & Tamura, T. (2014). Prevalence, molecular identification and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* serovars isolated from retail beef products in Mansoura, Egypt. *Food Control*, 38, 209-214.
- Sanderson, K.E. & Nair, S. (2013). *Taxonomy and Species Concepts in the Genus Salmonella*. In P. A., Barrow & U. Methner, *Salmonella in Domestic Animals*. (2ème éd.), (pp. 1– 19). Wallingford, UK: CAB International.
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M.-A., Roy, S. L., . . . Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7.
- Schirone, M., Visciano, P., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2019). Editorial: Foodborne Pathogens: Hygiene and Safety. *Frontiers in Microbiology*, 10(1974).
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., & John, R. (2012). PCR inhibitors—occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1014-1026.
- Semenza, J. C., Herbst, S., Rechenburg, A., Suk, J. E., Höser, C., Schreiber, C., & Kistemann, T. (2012). Climate Change Impact Assessment of Food- and Waterborne Diseases. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(8), 857–890.
- Serraino, A., Bardasi, L., Riu, R., Pizzamiglio, V., Liuzzo, G., Galletti, G., Giacometti, F., & Merialdi, G. (2012). Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. *Meat science*, 90(2), 502–506.
- Sévellec, Y., Vignaud, M. L., Granier, S. A., Lailler, R., Feurer, C., Le Hello, S., Mistou, M. Y., & Cadel-Six, S. (2018). Polyphyletic Nature of *Salmonella enterica* Serotype Derby and Lineage-Specific Host-Association Revealed by Genome-Wide Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 9, 891.
- Shi, C., Singh, P., Ranieri, M. L., Wiedmann, M., & Moreno Switt, A. I. (2013). Molecular methods for serovar determination of *Salmonella*. *Critical Reviews in Microbiology*, 41(3), 309-325.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Shilangale, R. P., Kaaya, G. P., & Chimwamurombe, P. M. (2015). Prevalence and characterization of *Salmonella* isolated from beef in Namibia. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 267-274.
- Silva, C., Puente, J. L., & Calva, E. (2017). *Salmonella* virulence plasmid: pathogenesis and ecology. *Pathogens and Disease*, 75(6).
- Singh, P., & Mustapha, A. (2014). Development of a real-time PCR melt curve assay for simultaneous detection of virulent and antibiotic resistant *Salmonella*. *Food microbiology*, 44, 6-14.
- Singh, R., Swick, M. C., Ledesma, K. R., Yang, Z., Hu, M., Zechiedrich, L., & Tam, V. H. (2012). Temporal interplay between efflux pumps and target mutations in development of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(4), 1680–1685.
- Singh, V. (2013). *Salmonella* serovars and their host specificity. *Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry*, 1(3), 301.
- Singh, Y., Saxena, A., Kumar, R., & Saxena, M. K. (2018). Virulence System of *Salmonella* with Special Reference to *Salmonella enterica*. *Salmonella: A Re-emerging Pathogen*, 41.
- Sjölund-Karlsson, M., Howie, R., Rickert, R., Krueger, A., Tran, T.-T., Zhao, S., . . . Joyce, K. (2010). Plasmid-mediated quinolone resistance among non-typhi *Salmonella enterica* isolates, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 16(11), 1789.
- Small, A., James, C., James, S., Davies, R., Liebana, E., Howell, M., . . . Buncic, S. (2006). Presence of *Salmonella* in the red meat abattoir lairage after routine cleansing and disinfection and on carcasses. *Journal of Food Protection*, 69(10), 2342-2351.
- Smith, B. A., Meadows, S., Meyers, R., Parmley, E. J., Fazil, A. (2019). Seasonality and zoonotic foodborne pathogens in Canada: relationships between climate and *Campylobacter*, *E. coli* and *Salmonella* in meat products. *Epidemiology and Infection*, 147, e190, 1–10.
- Smith, S. I., Fowora, M. A., Atiba, A., Anejo-Okopi, J., Fingesi, T., Adamu, M. E., . . . Odeigah, P. (2015). Molecular detection of some virulence genes in *Salmonella* spp isolated from food samples in Lagos, Nigeria. *Animal and Veterinary Sciences*, 3(1), 22-27.
- Song, M., Sukovich, D. J., Ciccarelli, L., Mayr, J., Fernandez-Rodriguez, J., Mirsky, E. A., . . . Voigt, C. A. (2017). Control of type III protein secretion using a minimal genetic system. *Nature Communications*, 8(1), 1-9.
- Sterzenbach, T., Crawford, R. W., Winter, S. E., & Bäuml A. J. (2013). *Salmonella Virulence Mechanisms and their Genetic Basis*. In P. A. Barrow & U. Methner, *Salmonella in Domestic Animals* (2ème éd.), (pp. 80- 103). London: CAB International.
- Stevens, A., Kerouanton, A., Marault, M., Millemann, Y., Brisabois, A., Cavin, J.-F., & Dufour, B. (2008). Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* from beef sampled in the slaughterhouse and retailers in Dakar (Senegal) using pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility testing. *International Journal of Food Microbiology*, 123(3), 191–197.
- Stipetic, K., Chang, Y. C., Peters, K., Salem, A., Doiphode, S. H., McDonough, P. L., ... & Mohammed, H. O. (2016). The risk of carriage of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in food animals in dynamic populations. *Veterinary Medicine and Science*, 2(4), 246-254.
- Sun, S., Selmer, M., & Andersson, D. I. (2014). Resistance to β -lactam antibiotics conferred by point mutations in penicillin-binding proteins PBP3, PBP4 and PBP6 in *Salmonella enterica*. *PloS One*, 9(5).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Tafida, S., Kabir, J., Kwaga, J., Bello, M., Umoh, V., Yakubu, S., . . . Hendriksen, R. (2013). Occurrence of *Salmonella* in retail beef and related meat products in Zaria, Nigeria. *Food Control*, 32(1), 119-124.
- Tamang, M. D., Gurung, M., Nam, H.-M., Moon, D. C., Jang, G.-C., Jung, S.-C., & Lim, S.-K. (2014). Antimicrobial susceptibility and virulence characteristics of *Salmonella enterica* Typhimurium isolates from healthy and diseased pigs in Korea. *Journal of Food Protection*, 77(9), 1481-1486.
- Tan, Y., & Kagan, J. C. (2014). A cross-disciplinary perspective on the innate immune responses to bacterial lipopolysaccharide. *Molecular cell*, 54(2), 212-223.
- Tang, S., Orsi, R. H., Luo, H., Ge, C., Zhang, G., Baker, R. C., . . . Wiedmann, M. (2019). Assessment and comparison of molecular subtyping and characterization methods for *Salmonella*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1591.
- Tegegne, F. (2019). Epidemiology of *Salmonella* and its serotypes in human, food animals, foods of animal origin, animal feed and environment. *Journal of Food Nutrition & Health*, 2 (1), 7-14.
- Teklu, A., & Negussie, H. (2011). Assessment of risk factors and prevalence of *Salmonella* in slaughtered small ruminants and environment in an export abattoir, Modjo, Ethiopia. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 10, 992-999.
- Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H., & Swaminathan, B. (1995). Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(9), 2233.
- Tessari, E. N. C., Kanashiro, A. M. I., Stoppa, G. F. Z., Luciano, R. L., De Castro, A. G. M., & Cardoso, A. L. S. P. (2012). Important Aspects of *Salmonella* in the Poultry Industry and in Public Health, In B. S. M. Mahmoud, *Salmonella-A Dangerous Foodborne Pathogen*, (pp. 181- 206). Rijeka, Croatia: InTech Edition.
- Tesson, V., Federighi, M., Cummins, E., de Oliveira Mota, J., Guillou, S., & Boué, G. (2020). A Systematic Review of Beef Meat Quantitative Microbial Risk Assessment Models. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(3), 688.
- Tiwari, S., Jamal, S. B., Hassan, S. S., Carvalho, P. V., Almeida, S., Barh, D., . . . Azevedo, V. (2017). Two-component signal transduction systems of pathogenic bacteria as targets for antimicrobial therapy: an overview. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1878.
- Toboldt, A., Tietze, E., Helmuth, R., Junker, E., Fruth, A., & Malorny, B. (2013). Population structure of *Salmonella enterica* serovar 4,[5], 12: b:- strains and likely sources of human infection. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17), 5121-5129.
- Trinetta, V., McDaniel, A., Magossi, G., Yucel, U., & Jones, C. (2019). Effects of different moisture and temperature levels on *Salmonella* survival in poultry fat. *Translational Animal Science*, 3(4), 1369-1374.
- Turki, Y., Mehri, I., Fhoula, I., Hassen, A., & Ouzari, H. (2014). Comparison of five molecular subtyping methods for differentiation of *Salmonella* Kentucky isolates in Tunisia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 87-98.
- Uzzau, S. (2013). *Salmonella Infections in Sheep*, In P. A. Barrow & U. Methner, *Salmonella in Domestic Animals (2ème éd.)*, (pp. 295- 336). London: CAB International.
- Valdezate, S., Astorga, R., Herrera-León, S., Perea, A., Usera, M., Huerta, B., & Echeita, A. (2007). Epidemiological tracing of *Salmonella enterica* serotype Abortusovis from Spanish ovine flocks by PFGE fingerprinting. *Epidemiology & Infection*, 135(4), 695-702.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Van Belkum, A., Tassios, P. T., Dijkshoorn, L., Haeggman, S., Cookson, B., Fry, N. K., ... Struelens, M. (2007). Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clinical Microbiology and Infection*, 13, 1–46.
- Van Cauteren, D., Jourdan-da Silva, N., Weill, F., King, L., Brisabois, A., Delmas, G., . . . De Valk, H. (2009). Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Muenster infections associated with goat's cheese, France, March 2008. *Eurosurveillance*, 14(31), 19290.
- Van Hoek, A. H. A. M., de Jonge, R., van Overbeek, W. M., Bouw, E., Pielaat, A., Smid, J. H., ... Heres, L. (2012). A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of *Salmonella* spp. in a pork slaughter-line. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 45–52.
- Van, T. T. H., Moutafis, G., Istivan, T., Tran, L. T., & Coloe, P. J. (2007). Detection of *Salmonella* spp. in retail raw food samples from Vietnam and characterization of their antibiotic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21), 6885-6890.
- Vanselow, B., Hornitzky, M., Walker, K., Eamens, G., Bailey, G., Gill, P., . . . Renilson, S. (2007). *Salmonella* and on-farm risk factors in healthy slaughter-age cattle and sheep in eastern Australia. *Australian Veterinary Journal*, 85(12), 498-502.
- Velge, P., Wiedemann, A., Rosselin, M., Abed, N., Boumart, Z., Chaussé, A., . . . Rossignol, A. (2012). Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. *Microbiologyopen*, 1(3), 243-258.
- Velhner, M., Kozoderović, G., Grego, E., Galić, N., Stojanov, I., Jelesić, Z., & Kehrenberg, C. (2014). Clonal Spread of *Salmonella enterica* Serovar Infantis in Serbia: Acquisition of Mutations in the Topoisomerase Genes *gyrA* and *parC* Leads to Increased Resistance to Fluoroquinolones. *Zoonoses and Public Health*, 61(5), 364-370.
- Velusamy, V., Arshak, K., Korostynska, O., Oliwa, K., & Adley, C. (2010). An overview of foodborne pathogen detection: In the perspective of biosensors. *Biotechnology Advances*, 28(2), 232-254.
- Verbrugghe, E., Boyen, F., Van Parys, A., Van Deun, K., Croubels, S., Thompson, A., . . . Pasmans, F. (2011). Stress induced *Salmonella* Typhimurium recrudescence in pigs coincides with cortisol induced increased intracellular proliferation in macrophages. *Veterinary Research*, 42(1), 118.
- Viala, J. P., Prima, V., Puppo, R., Agrebi, R., Canestrari, M. J., Lignon, S., . . . Lebrun, R. (2017). Acylation of the type 3 secretion system translocon using a dedicated acyl carrier protein. *PLoS Genetics*, 13(1), e1006556.
- Wabeto, W., Abraham, Y., & Anjulo, A. A. (2017). Detection and identification of antimicrobial-resistant *Salmonella* in raw beef at Wolaita Sodo municipal abattoir, Southern Ethiopia. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 36(1), 52.
- Waddington, C. S., Darton, T. C., & Pollard, A. J. (2014). The challenge of enteric fever. *Journal of Infection*, 68, S38-S50.
- Wagenaar, J., Hendriksen, R. S., & Carrique-Mas, J. (2013). Practical considerations of surveillance of *Salmonella* serovars other than Enteritidis and Typhimurium. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 32(2), 509-519.
- Wang, L., Li, Y., Liu, Y., Zuo, L., Li, Y., Wu, S., & Huang, R. (2019). *Salmonella* *spv* locus affects type I interferon response and the chemotaxis of neutrophils via suppressing autophagy. *Fish & Shellfish Immunology*, 87, 721-729.
- Wang, M., Qazi, I. H., Wang, L., Zhou, G., & Han, H. (2020). *Salmonella* Virulence and Immune Escape. *Microorganisms*, 8(3), 407.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wasyl, D., & Hoszowski, A. (2012). First isolation of ESBL-producing *Salmonella* and emergence of multiresistant *Salmonella* Kentucky in turkey in Poland. *Food Research International*, 45(2), 958-961.
- Waterman, S. R., & Small, P. (1998). Acid-sensitive enteric pathogens are protected from killing under extremely acidic conditions of pH 2.5 when they are inoculated onto certain solid food sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(10), 3882-3886.
- Wattiau, P., Boland, C., & Bertrand, S. (2011). Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: gold standards and alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(22), 7877-7885.
- Webb, H. E., Brichta-Harhay, D. M., Brashears, M. M., Nightingale, K. K., Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., ... Loneragan, G. H. (2017). *Salmonella* in Peripheral Lymph Nodes of Healthy Cattle at Slaughter. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2214.
- Wei, S.-H., Huang, A. S., Liao, Y.-S., Liu, Y.-L., & Chiou, C.-S. (2014). A large outbreak of salmonellosis associated with sandwiches contaminated with multiple bacterial pathogens purchased via an online shopping service. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(3), 230-233.
- Weill, F.-X. (2008a). *Salmonella*: épidémiologie, typage et résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2008(400), 37-47.
- Weill, F.-X. (2008b). Salmonelles non-typhiques d'origine animale et résistance aux antibiotiques. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 161(3), 221-234.
- Weill, F.-X. (2010). La fièvre typhoïde n'est plus aussi simple à soigner. *Médecine/Sciences*, 26(11), 969-975.
- Whitman, W. B. (2015). *Bergey's manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (Vol. 410): Wiley Online Library.
- Wiedemann, A., Virlogeux-Payant, I., Chaussé, A.-M., Schikora, A., & Velge, P. (2015). Interactions of *Salmonella* with animals and plants. *Frontiers in microbiology*, 5, 791.
- Williams, M. (2010). *Real-time polymerase chain reaction*. In S. A. Bustin (Eds), *The PCR Revolution: Basic Technologies and Applications* (pp. 3-11). Cambridge University Press.
- Wirz-Dittus, S., Belloy, L., Hüsey, D., Waldvogel, A. S., & Doherr, M. G. (2010). Seroprevalence survey for *Salmonella Abortusovis* infection in Swiss sheep flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 97(2), 126-130.
- Woldemariam, E., Molla, B., Alemayehu, D., & Muckle, A. (2005). Prevalence and distribution of *Salmonella* in apparently healthy slaughtered sheep and goats in Debre Zeit, Ethiopia. *Small Ruminant Research*, 58(1), 19-24.
- Wonderling, L., Pearce, R., Wallace, F. M., Call, J. E., Feder, I., Tamplin, M., & Luchansky, J. B. (2003). Use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize the heterogeneity and clonality of *Salmonella* isolates obtained from the carcasses and feces of swine at slaughter. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7), 4177-4182.
- Wong, M. H. Y., & Chen, S. (2013). First detection of *oqxAB* in *Salmonella* spp. isolated from food. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(1), 658-660.
- Wray, C., & Davies, R. H. (2000). *Salmonella Infections in Cattle*, In C. Wray & A. Wray. (Eds.), *Salmonella in Domestic Animals* (pp.169- 190). Wallingford, UK: CAB International.
- Wray, C., & Linklater, K.A. (2000). *Salmonella Infections in Sheep*, In C. Wray & A. Wray. (Eds.), *Salmonella in Domestic Animals* (pp.209- 218). Wallingford, UK: CAB International.
- Wright, A., Ginn, A., & Luo, Z. (2015). *Molecular Tools for Monitoring and Source Tracking Salmonella in Wildlife and the Environment*, In M. Jay-Russell & M. P. Doyle (Eds.), *Food*

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Safety Risks from Wildlife: Challenges in Agriculture, Conservation, and Public Health* (pp.131- 150). Springer.
- Wu, S.-y., Wang, L.-d., Li, J.-l., Xu, G.-m., He, M.-l., Li, Y.-y., & Huang, R. (2016). *Salmonella* spv locus suppresses host innate immune responses to bacterial infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 58, 387-396.
 - Wu, W., & Zeng, L. (2017). *Current and Emerging Innovations for Detection of Food-Borne Salmonella*, In M. Mares (Eds.) *Current Topics in Salmonella and Salmonellosis*, (pp.83-96). Rijeka, Croatia: InTech Edition.
 - Xia, S., Hendriksen, R. S., Xie, Z., Huang, L., Zhang, J., Guo, W., Xu, B., Ran, L., & Aarestrup, F. M. (2009). Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates from infections in humans in Henan Province, China. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(2), 401–409.
 - Xiong, D., Song, L., Pan, Z., & Jiao, X. (2018). Identification and discrimination of *Salmonella enterica* serovar gallinarum biovars pullorum and gallinarum based on a one-step multiplex PCR assay. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1718.
 - Yachison, C. A., Yoshida, C., Robertson, J., Nash, J. H., Kruczkiewicz, P., Taboada, E. N., . . . Nichani, A. (2017). The validation and implications of using whole genome sequencing as a replacement for traditional serotyping for a national *Salmonella* reference laboratory. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1044.
 - Yang, X., Huang, J., Wu, Q., Zhang, J., Liu, S., Guo, W., . . . Yu, S. (2016). Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Salmonella* isolated from retail ready-to-eat foods in China. *Food Control*, 60, 50–56.
 - Yau, S., Liu, X., Djordjevic, S. P., & Hall, R. M. (2010). RSF1010-like plasmids in Australian *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and origin of their sul2-strA-strB antibiotic resistance gene cluster. *Microbial Drug Resistance*, 16(4), 249-252.
 - Yeung, C., Lee, H., Chao, Y., Chiu, N., Huang, F., & Hsieh, M. (2004). P0508 Effect of antibiotic therapy on *Salmonella* fecal excretion time. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 39, S249-S250.
 - Yoo, W., Kim, D., Yoon, H., & Ryu, S. (2017). Enzyme IIA Ntr regulates *Salmonella* invasion via 1, 2-propanediol and propionate catabolism. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
 - Yu, Q., Zhai, L., Bie, X., Lu, Z., Zhang, C., Tao, T., . . . Zhao, H. (2016). Survey of five food-borne pathogens in commercial cold food dishes and their detection by multiplex PCR. *Food Control*, 59, 862-869.
 - Yue, H., Zhang, B., Zhu, X., Zhang, H., & Tang, C. (2014). Comparison of culture methods for isolation of *Salmonella* in yak fecal samples. *Indian Journal of Microbiology*, 54(2), 223-226.
 - Yun, Y.-S., Chae, S.-J., Na, H.-Y., Chung, G. T., Yoo, C.-K., & Lee, D.-Y. (2015). Modified method of multilocus sequence typing (MLST) for serotyping in *Salmonella* species. *Journal of Bacteriology and Virology*, 45(4), 314-318.
 - Zare, P., Ghorbani, C. H., Jaber, S., Razzaghi, S., Mirzaei, M., & Mafuni, K. (2014). Occurrence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* isolates in apparently healthy slaughtered cattle, sheep and goats in East Azarbaijan province. *International Journal of Enteric Pathogens*, 2(1), e15451.
 - Zhang, G. (2013). Foodborne pathogenic bacteria detection: an evaluation of current and developing methods. *The Meducator*, 1(24).
 - Zhao, S., Blickenstaff, K., Glenn, A., Ayers, S., Friedman, S., Abbott, J., & McDermott, P. (2009). β -Lactam resistance in *Salmonella* strains isolated from retail meats in the United

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- States by the National Antimicrobial Resistance Monitoring System between 2002 and 2006. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(24), 7624-7630.
- Zhao, S., White, D., Friedman, S., Glenn, A., Blickenstaff, K., Ayers, S., . . . McDermott, P. (2008). Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates from retail meats, including poultry, from 2002 to 2006. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(21), 6656-6662.
 - Zhao, X., Dai, Q., Jia, R., Zhu, D., Liu, M., Wang, M., . . . Wu, Y. (2017). Two novel *Salmonella* bivalent vaccines confer dual protection against two *Salmonella* serovars in Mice. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 391.
 - Zhao, X., Lin, C.-W., Wang, J., & Oh, D. H. (2014). Advances in rapid detection methods for foodborne pathogens. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 297-312.
 - Zheng, J., Keys, C. E., Zhao, S., Ahmed, R., Meng, J., & Brown, E. W. (2011). Simultaneous analysis of multiple enzymes increases accuracy of pulsed-field gel electrophoresis in assigning genetic relationships among homogeneous *Salmonella* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(1), 85-94.
 - Zishiri, O. T., Mkhize, N., & Mukaratirwa, S. (2016). Prevalence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp. isolated from commercial chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 83(1), 1-11.
 - Zou, W., Chen, H.-C., Hise, K. B., Tang, H., Foley, S. L., Meehan, J., . . . Fang, H. (2013). Meta-analysis of pulsed-field gel electrophoresis fingerprints based on a constructed *Salmonella* database. *PloS One*, 8(3).

Annexes

Annexe 1

Matériel et milieux utilisés

1. Analyses bactériologiques, sérotypage et antibiogramme

✓ Matériel

Le matériel utilisé est constitué essentiellement par le matériel usuel d'un laboratoire de microbiologie.

✓ Milieux de culture et réactifs

- Bouillon Muller-Kauffmann tétrathionate novobiocine MKTTn (IPA, Algérie)
- Bouillon Rappaport-Vassiliadis Soja RVS (IPA, Algérie)
- Disques d'antibiotiques des principales familles (Oxoid)
- Eau distillée stérile
- Eau peptonnée tamponnée (IPA, Algérie)
- Eau physiologique (IPA, Algérie)
- Galerie API 20E (Biomérieux) et réactifs nécessaires (IPA, Algérie)
- Gélose modifiée semi-solide Rappaport Vassiliadis MSRV (IPA, Algérie)
- Gélose Muller Hinton (IPA, Algérie)
- Gélose nutritive (IPA, Algérie)
- Gélose Sven Gard (IPA, Algérie)
- Huile de vaseline stérile.
- Milieu de conservation (IPA, Algérie)
- Milieu gélosé Hektoen (IPA, Algérie)
- Milieu gélosé XLD (IPA, Algérie)
- Milieu TSI (IPA, Algérie)
- Milieu Urée- Indole (IPA, Algérie)
- Réactif de Kovacs (IPA, Algérie)
- Réactif TDA (IPA, Algérie)
- Réactif VP I (IPA, Algérie)
- Réactif VP II (IPA, Algérie)
- Sérums anti- antigènes polyvalents et monovalents (Biorad).

2. Matériels et milieux d'analyses utilisés dans la PCR

✓ Matériel

- Bain-marie (Mettler)
- Balance électronique de précision (Ohaus)
- Centrifugeuse (Eppendorf, CF-10)
- Cônes jaunes et cônes bleus.
- Four à micro-ondes (Arçelik)
- Gants à usage unique.
- Hotte d'aspiration chimique
- Incubateurs pré-réglés à 30°C et 37°C (Selecta).
- Micropipettes de 20 µl, 200 µl, et 1000 µl.
- Microtubes à PCR.
- Microtubes avec lit de glace.
- Portoirs de tubes Eppendorf.
- Système de transillumination ultraviolette (UVP Bio Imaging Systems)
- Système d'électrophorèse pour PCR (Bio-Rad Scientific)
- Thermocycleur (Boeco, Hamburg, Germany)
- Tubes Eppendorf de 1,5 ml.
- Vortex (Velp-scientifica)

✓ Réactifs

- Eau ultra pure stérile.
- NaCl (5M)
- Ethanol à 70% et 100%
- Protéinase K
- dNTP Nucléotides (Dr. Zeydanli Life Sciences Ltd)
- Tampon 10X (Sigma- Aldrich)
- Amorces
- Taq DNA Polymérase (Sigma- Aldrich)
- MgCl₂ (Sigma- Aldrich)
- Tris Acétate EDTA (TAE)
- Bromure d'Ethidium (Dr. Zeydanli Life Sciences Ltd)
- Agarose (Axygen)
- Marquer moléculaire (Axygen)

3. Matériels et milieux d'analyses utilisés dans la PFGE

✓ Matériel

- Hotte d'aspiration chimique
- Tubes Falcon en polypropylène de 50 ml.
- Bio-spectrophotomètre (Eppendorf)
- Tubes Eppendorf de 1,5 ml.
- Bain -marie agitateur préréglé à 37°C et à 55°C (GFL)
- Moules pour fabrication de blugs
- Moules pour couler le gel de migration (cuve et peigne)
- Appareil de lecture des gels relié à un système informatique (LCD).
- Micropipettes.
- Bouchons tamisés pour tubes flacons de 50 ml.
- Incubateur à 37°C.
- Dispositif de refroidissement (Bio Rad)
- Appareil pour électrophorèse en champ pulsé CHEF Mapper (Bio Rad)
- Peigne
- Logiciel d'analyse GelCompar II v.6.6 (Applied-Maths, Sint-Martens-Latem).
- Micro-onde.
- Petites spatules métallique
- Vortex (VWR)

✓ Réactifs

- Milieux gélosés XLD et PCA (Difco)
- Tris- Hcl 1 M pH.8 (Sigma- Aldrich)
- EDTA 0,5 M pH.8 (Sigma- Aldrich)
- Proteinase K (Invitrogen)
- Agarose Seakem Gold (Lonza)
- SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) à 20 % (Sigma- Aldrich)
- Eau Ultra Pure stérile.
- Enzyme de restriction *XbaI* et son tampon (Promega)
- Bromure d'Etidium 10 mg/ml

Annexe 2

Résultats détaillés de l'antibiogramme des 84 souches de *Salmonella*

N	Abattoir	Source	Sérovar	AMP	TIC	PRL	AML	AMC	MEL	KZ	FOX	CAZ	CRO	FEP	ATM	IPM	K	CN	NET	S	SSS	W	SXT	NA	NOR	CIP	C	TE	F	CT	FOS
1	Hussein- Dey	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2	Hussein- Dey	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
4	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
6	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
7	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	Hussein- Dey	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S
9	Hussein- Dey	OV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S
10	Hussein- Dey	BV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
11	Hussein- Dey	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	R	R	S	S	R	I	R	S	R	S	S	S
12	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
13	Hussein- Dey	BV-CC	S.Havana	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
14	Hussein- Dey	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	I	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S
15	Hussein- Dey	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S
16	Hussein- Dey	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S
17	Hussein- Dey	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
18	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19	Hussein- Dey	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	Hussein- Dey	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
21	Hussein- Dey	OV-CC	S.Typhimurium	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
22	Hussein- Dey	OV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S
23	Hussein- Dey	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
25	Hussein- Dey	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S

Résultats détaillés de l'antibiogramme des 84 souches de *Salmonella* (suite)

26	Hussein- Dey	OV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
27	Hussein- Dey	BV-FC	S.Braenderup	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
28	Hussein- Dey	BV-FC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
29	Hussein- Dey	OV-FC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
30	Hussein- Dey	OV-FC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
33	El-Harrach	BV-CC	S.Havana	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
34	El-Harrach	BV-CC	S.Havana	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
35	El-Harrach	OV-CC	S.Virginia	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
36	El-Harrach	OV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S
37	El-Harrach	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S
38	El-Harrach	BV-CC	S.Kentucky	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S
39	El-Harrach	BVCC	S.Kentucky	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S
40	El-Harrach	OV-CC	S.Kentucky	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
41	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
42	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
43	El-Harrach	OV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
44	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
45	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
46	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
47	El-Harrach	OV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
48	El-Harrach	OV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
49	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
50	El-Harrach	OV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
51	El-Harrach	OV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
52	El-Harrach	OV-CC	S.Typhimurium	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S

Résultats détaillés de l'antibiogramme des 84 souches de *Salmonella* (suite)

53	El-Harrach	OV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
54	El-Harrach	OV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
55	El-Harrach	OV-CC	S.Typhimurium	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	S
56	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
57	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
58	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
59	El-Harrach	BV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
60	El-Harrach	BV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
61	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
62	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
63	El-Harrach	BV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
64	El-Harrach	BV-CC	S.Monteideo	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
65	El-Harrach	BV-CC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
66	El-Harrach	BV-CC	S.Richmond	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
67	El-Harrach	BV-CC	S.Richmond	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
68	El-Harrach	BV-CC	S.Richmond	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
69	El-Harrach	BV-CC	S.Richmond	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
70	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
71	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
72	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
73	El-Harrach	BV-FC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
74	El-Harrach	BV-FC	S.Monteideo	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
75	El-Harrach	BV-FC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
76	El-Harrach	BV-FC	S.Monteideo	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
77	El-Harrach	BV-FC	S.Infantis	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
78	El-Harrach	BV-FC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

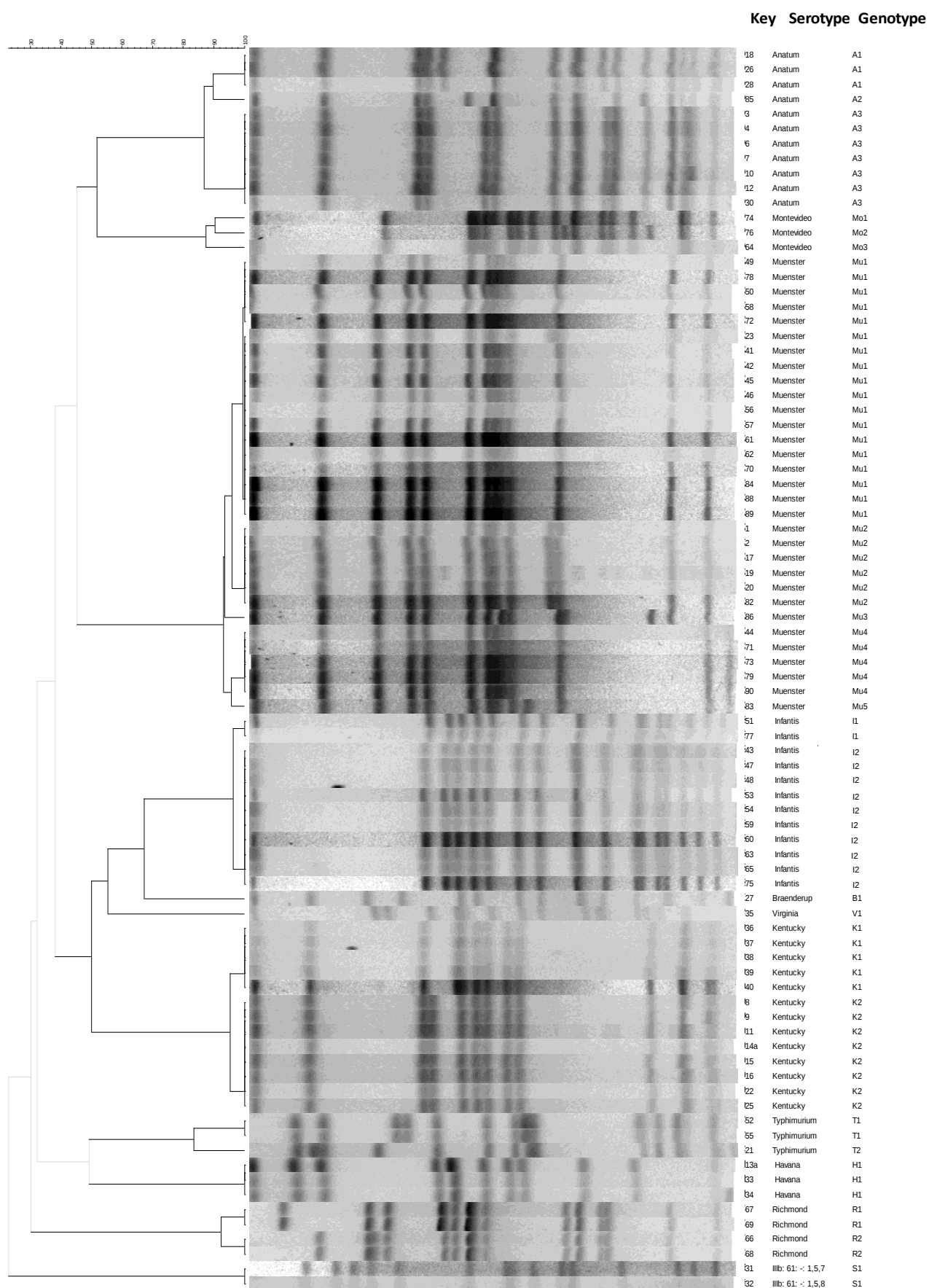
Résultats détaillés de l'antibiogramme des 84 souches de *Salmonella* (suite)

79	El-Harrach	BV-FC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
82	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
83	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
84	El-Harrach	BV-FC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
85	El-Harrach	BV-CC	S.Anatum	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
86	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
87	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
88	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
89	El-Harrach	BV-CC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
90	El-Harrach	BV-FC	S.Muenster	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

BV-CC: carcasses bovines; OV-CC: carcasses ovines; BV-FC: Fèces bovins; OV-FC: Fèces ovins; R: résistante; S: sensible.

Annexe 3

Dendrogramme complet de l'ensemble des souches étudiées



Similarity coefficient

Dice

Optimization: 0 %

Tolerance: 1 %

Tolerance change: 0 %

Minimum height: 0 %

Minimum surface: 0 %

Uncertain bands: Ignore

Relaxed doublet matching: No

Fuzzy logic: No

Area sensitive: No

Cluster analysis

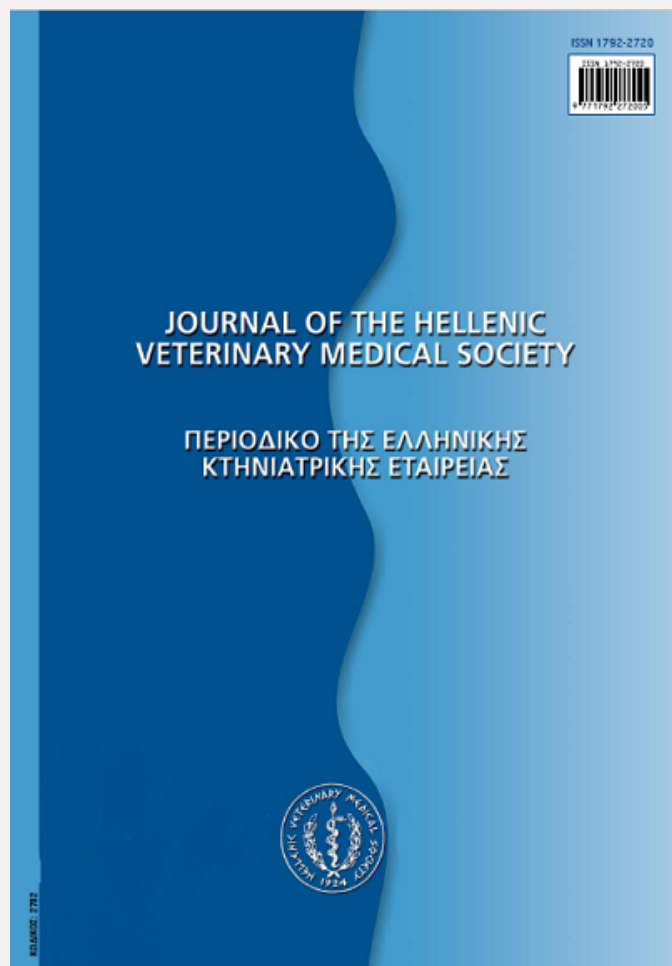
Clustering method: UPGMA

Use advanced clustering: No

Branch quality: Cophenetic correlation

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol. 69, 2018



Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from bovine and ovine samples in slaughterhouses of Algiers, Algeria

NOUICHI S.	Food Hygiene and Quality Assurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers
OUATOUAT R.	Food Hygiene and Quality Assurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers
CAN H.	Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Mustafa Kemal University
MEZALI L.	High National Veterinary School of Algiers
BELKADER C.	Pasteur Institute of Algeria
OUAR- KORICHI M.	Pasteur Institute of Algeria
BERTRAND S.	National Reference Centre for <i>Salmonella</i> and <i>Shigella</i> , Bacterial Diseases Division, Communicable and Infectious Diseases, Scientific Institute of Public Health (WIV-ISP)
CANTEKIN Z.	Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Mustafa Kemal University
HAMDİ T.	Food Hygiene and Quality Assurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers

<http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.16441>

Copyright © 2018 S NOUICHI, R OUATOUAT, HY CAN, L MEZALI, C BELKADER, M OUAR-KORICHI, S BERTRAND, Z CANTEKIN, TM HAMDİ



To cite this article:

NOUICHI, S., OUATOUAT, R., CAN, H., MEZALI, L., BELKADER, C., OUAR- KORICHI, M., BERTRAND, S., CANTEKIN, Z., & HAMDI, T. (2018). Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from bovine and ovine samples in slaughterhouses of Algiers, Algeria. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 69(1), 863-872. doi:<http://dx.doi.org/10.12681/jhvms.16441>

Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from bovine and ovine samples in slaughterhouses of Algiers, Algeria

Nouichi S.¹, Ouattout R.¹, Can H.Y.², Mezali L.³, Belkader C.⁴, Ouar- Korichi M.⁴, Bertrand S.⁵, Cantekin Z.⁶, Hamdi T.M.¹

¹Food Hygiene and Quality Assurance System Laboratory,

High National Veterinary School of Algiers, Oued Smar, Algiers, Algeria

² Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine,

Mustafa Kemal University, Antakya/ Hatay, Turkey

³ High National Veterinary School of Algiers, Oued Smar, Algiers, Algeria.

⁴ Pasteur Institute of Algeria, Dely Ibrahim, Algiers, Algeria.

⁵ National Reference Centre for *Salmonella* and *Shigella*, Bacterial Diseases Division, Communicable and

Infectious Diseases, Scientific Institute of Public Health (WIV-ISP), Brussels, Belgium.

⁶ Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Mustafa Kemal University, Antakya/ Hatay, Turkey

ABSTRACT. The aims of our work are to estimate the prevalence of *Salmonella* isolated from carcasses and feces of cattle and sheep in the two biggest slaughterhouses in Algiers, Algeria, and to characterize the obtained strains by serotyping and antimicrobial resistance testing. The detection of *Salmonella* was performed by the conventional culture method and isolates were confirmed by PCR. Susceptibility to antibiotics was carried out by agar disc diffusion method. The results showed that 10.17% of samples were *Salmonella* positive. Carcass samples were more contaminated than fecal samples. Serotyping of the 84 *Salmonella* isolates has enabled to identify 10 different serovars; the most predominant was *S. Muenster*. The *invA* gene was detected in 96.43% of isolates whereas all *S. Typhimurium* strains were positive for *spy* gene. Sixty-eight (80.95%) isolates were resistant to at least one of the 28 antibiotics tested and exhibited 17 different antimicrobial resistance patterns. The most frequently observed resistance was to streptomycin (69.05%). While 22.62 % of the isolates were MDR, two *S. Typhimurium* showed an “ACSSuT” pentaresistance pattern. Considering the importance of this group of bacteria for public health, *Salmonella* control is necessary at several steps of food production to ensure safe products for consumers.

Keywords: *Salmonella*, slaughterhouse, prevalence, serovars, antimicrobial resistance.

Corresponding Author:

S. Nouichi,

Food Hygiene and Quality Assurance System Laboratory, High National Veterinary School of Algiers, Oued Smar, Algiers, Algeria.

E-mail : s_nouichi@hotmail.fr

Date of initial submission: 13-3-2017

Date of revised submission: 6-6-20

Date of acceptance: 18-6-2017

INTRODUCTION

The genus *Salmonella* is a Gram negative rod-shaped bacteria belonged to the family of *Enterobacteriaceae*. It includes more than 2500 serovars that inhabit the gastrointestinal tracts of various domestic and wild animal species (Bahnass et al., 2015). It is estimated that salmonellosis represents 93.8 (16%) million cases of human gastroenteritis among an estimated 582 million cases of 22 different food borne enteric diseases, and it is responsible for 155 000 deaths worldwide each year (Elgroud et al., 2015; Manoj et al., 2015). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) is the causative agent of 46% of outbreaks (Ahmed and Shimamoto, 2014). The most common contaminated foods associated with human salmonellosis are poultry, beef, eggs, seafood, and dairy products (Abbassi-Ghozzi et al., 2012). At the production level, inadequate sanitation in slaughterhouses, improper handling of meat, and cross-contamination through processing equipment are some of the most frequent causes of the spread of *Salmonella* (Singh and Mustapha, 2014).

Conventional bacterial culture methods are still used most often to detect and identify *Salmonella* and require at least 3-11 days including selective enrichment and plating followed by biochemical tests (Karmi, 2013). Recently, PCR-based techniques are used effectively for rapid detection of *Salmonella* serovars (Can et al., 2014).

The purposes of this study are to monitor the prevalence of *Salmonella* in bovine and ovine carcasses and feces in Algiers, by using conventional culture method and PCR assay, and to determine the antimicrobial resistance profiles of the isolates. Bovine and ovine carcasses were used as test items because they are widely consumed in Algeria. Additionally, a few national studies have been conducted on the prevalence of *Salmonella* in red meats.

MATERIAL AND METHODS

Samples collection

Cattle and sheep were brought to El-Harrach and Hussein Dey slaughterhouses from different regions of the country. During two periods, from February to June 2013, and from December 2013 to May 2014,

826 ovine and bovine samples were collected among which 190 from bovine carcasses, 251 from ovine carcasses, 160 bovine feces and 225 from ovine feces. Samples were obtained immediately after evisceration. Carcass samples were obtained using the wet and dry swabbing method with 2 sponges for each of the four sites chosen in accordance with Annex A of the ISO standard 176048. The four wet-dry swabs pairs from each carcass were pooled, and processed as one sample. Fresh fecal samples were collected directly from rectum at the time of slaughtering and packed into separate sterile polyethylene bags. Then, all samples were transported on ice to the laboratory for immediate processing and analysis.

Isolation and identification of *Salmonella* spp. by conventional method

Isolation of *Salmonella* spp. from all samples was performed according to the ISO norm 6579:2002 (Annex D010705). Briefly, fecal samples were diluted at 10-1 with buffered peptone water (Institut Pasteur d'Algérie [IPA], Algiers, Algeria). Carcass swabs were put into 100 mL BPW.

After incubation, 1 and 0.1mL of pre-enriched broth were, respectively, transferred to Müller Kauffmann Tetrathionate- novobiocin broth (IPA, Algiers, Algeria) and to Rappaport-Vassiliadis with soya (IPA, Algiers, Algeria), then incubated for 24 h at 37 °C and 42°C, respectively. A loopful from each selective enrichment broth was streaked onto selective xylose-lysine-deoxycholate and Hektoen agar plates (IPA, Algiers, Algeria), and incubated at 37°C for 24 h. Presumptive *Salmonella* colonies were characterized using classical biochemical tests with Triple Sugar Iron (TSI; IPA) agar slant, indole urea reagent (IPA), Lysine Decarboxylase (LDC; IPA) reagent and *ortho*-NitroPhenyl- β -galactoside (ONPG; IPA), as well as Api 20E gallery (Biomérieux, SA, France).

Serotyping was carried out using slide agglutination with commercial poly O (OMA, OMB), and poly H antigen specific antisera (Difco, Sparks, MD, USA). Once the antigenic formulae were obtained, the Kauffmann-White scheme was used to name the serovars.

Molecular confirmation

Molecular confirmation of isolated *Salmonella*

strains was carried out using the PCR technique. *S. Typhimurium* ATCC 14028 was used as positive control in this study.

DNA extraction

The genomic DNA was extracted from a culture incubated overnight. One or two colonies were suspended in 500 µL of molecular biology water (AccuGENE®, Lonza Group Ltd., Basel, Switzerland), and boiled 10 minutes at 95°C. After adding 100 µL of 5 M NaCl, and centrifuging, the supernatant was removed to a new tube, and 500 µL of cold 100% ethanol were added. A second centrifugation was performed and the supernatant was poured and the DNA pellet was washed in 500 µL of 70% ethanol, and centrifuged, then dried for 30 min at 37°C. Finally, the DNA was re-suspended in 100 µL of DEPC water (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), and stored at - 20°C until use.

Primers sets and PCR amplification

Specific primers for *Salmonella* spp. and *S. Typhimurium* have been published previously (Rahn et al., 1992; Olsen et al., 1995).

Individual PCR assays were performed according to the original published protocols (Rahn et al., 1992; Can et al., 2014). The PCR mixture was consisted of 25 µL final volume containing 1X PCR buffer (Sigma- Aldrich, St-Louis, USA), 200µM of each dNTPs (Dr. Zeydanlı Life Sciences Ltd., Ankara, Turkey), 3mM of MgCl₂ (Sigma- Aldrich, St-Louis, USA), 1U *Taq* polymerase (Sigma- Aldrich, St-Louis, USA), 0.4 µM of each primer, and 2 µL template DNA.

The following amplification conditions were used: an initial denaturation step for 3 min at 94°C. Then, 30 cycles, each one consisting of denaturation at 94°C for 30 seconds, 58°C as annealing temperature for 45 seconds, and elongation at 72°C for 60 seconds. Finally, a terminal elongation step of 5 min at 72°C was performed.

For *Salmonella* serovar Typhimurium, PCR protocol was the same, except the annealing temperature, which was established at 55°C (Can et al., 2014).

Electrophoresis of PCR products

The PCR amplified products were electrophoresed in 1.5% agarose gel (AXYGEN Bioscience), stained

with 3 µL/g of Ethidium Bromide (Dr. Zeydanlı Life Sciences Ltd., Ankara, Turkey). A 100 pb ladder (AXYGEN Bioscience) was served as a molecular weight marker. In each PCR run, a non-template control (negative control) was included to detect possible external DNA contamination. DNA bands were visualized under UV transillumination (UVP, Upland, USA) and photographed.

Antimicrobial susceptibility test

Antimicrobial susceptibility patterns of *Salmonella* isolates were determined by the agar disk diffusion method according to the guidelines of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) using Mueller- Hinton agar (IPA, Algiers, Algeria). The plates were incubated at 35°C for 24h. The following antibiotic discs (Oxoid, Hampshire, United Kingdom) were used: ampicillin (AMP, 10 µg), ticarcillin (TIC, 75 µg), piperacillin (PRL, 100 µg), amoxicillin (AML, 25 µg), mecillinam (MEL, 10 µg), cefazolin (KZ, 30 µg), cefoxitin (FOX, 30 µg), ceftazidime (CAZ, 30 µg), ceftriaxone (CRO, 30 µg), cefepime (FEP, 30 µg), amoxicillin/clavulanate (AMC, 20 µg/10 µg), aztreonam (ATM, 30 µg), imipenem (IPM, 10 µg), kanamycin (K, 30 µg), gentamicin (GM, 10 µg), netilmicin (NET, 30 µg), streptomycin (S, 10 µg), nalidixic acid (NA, 30 µg), norfloxacin (NOR, 10 µg), ciprofloxacin (CIP, 5 µg), sulphonamides (SSS, 300 µg), trimethoprim (W, 5 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT, 1.25 µg/23.75 µg), furans (F, 300 µg), chloramphenicol (C, 30 µg), tetracycline (Te, 30 µg), colistin (CT, 10 µg), and fosfomycin (FOS, 50 µg). The results were recorded by measuring the inhibition zones and scored as sensitive, intermediate, and resistant according to the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008) criteria.

RESULTS

***Salmonella* prevalence**

Out of 826 samples, 84 (10.17%) were *Salmonella* positive. The relative prevalence within the slaughterhouses was 14.7% (56/381) for El-Harrach and 6.29% (28/ 445) for Hussein Dey. *Salmonella* was detected in all types of samples with different frequencies, 20.52% (39/190) in bovine carcasses, 12.74% (32/251) in ovine carcasses, 6.87% (11/160)

in bovine feces, and 0.89% (2/225) in ovine feces. Bovine samples were more contaminated (14.28%) than ovine samples (7.14%). The frequency of isolation was higher from carcasses (16.10%) than from the feces ones (3.37%) (Table 1).

(14.28%) and *S. Anatum* (13.09%). The highest proportions of *S. Muenster* were recovered from bovine and ovine carcasses, with 48.48% and 33.33%, respectively, compared to bovine and ovine feces (15.15% and 3.03% respectively) (Table 2).

Table 1. Prevalence of *Salmonella* in bovine and sheep carcass and fecal samples from the two slaughterhouses

Animal species	Slaughterhouses								Total n Positive (%)
	El-Harrach				Hussein Dey				
	Carcasses		Feces	Carcasses		Feces	n		
	n Positive		n Positive	n Positive		n Positive			
	n	n	n	n					
Bovine	85	78	105	82	350				
	29	9	10	2	50				
	(34.12%)	(11.54%)	(9.52%)	(2.44%)	(14.28%)				
Ovine	112	106	139	119	476				
	18	00	14	2	34				
	(16.1%)	(0.0%)	(10.1%)	(3.4%)	(7.14%)				
Total	197	184	244	201	826				
	47	9	24	4	84 (10.17%)				
	(23.86%)	(4.89%)	(9.84%)	(1.99%)					

n: number of samples.

Table 2. Distribution of *Salmonella* serovars.

Serovar	Slaughterhouses												Total (%)
	El-Harrach						Hussein Dey						
	Bv C	Ov C	Total	Bv F	Ov F	Total	Bv C	Ov C	Total	Bv F	Ov F	Total	
S. Muenster	14	7	21	5	0	5	2	4	6	0	1	1	33 (39.28)
S. Kentucky	3	2	5	0	0	0	6	2	8	0	0	0	13 (15.47)
S. Infantis	4	6	10	2	0	2	0	0	0	0	0	0	12 (14.28)
S. Anatum	1	0	1	0	0	0	1	7	8	1	1	2	11 (13.09)
S. Richmond	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4 (4.76)
S. Havana	2	0	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	3 (3.57)
S. Typhimurium	0	2	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	3 (3.57)
S. Montevideo	1	0	1	2	0	2	0	0	0	0	0	0	3 (3.57)
S. Virginia	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1.19)
S.Braenderup	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1 (1.19)
Total (%)	29	18	47	9	0	9	10	14	24	2	2	4	84
			(55.95)			(10.71)			(28.57)			(4.76)	

Bv C: bovine carcasses, Ov C: ovine carcasses, Bv F: bovine feces, Ov F: ovine feces.

Distribution of *Salmonella* serovars

A position ten (10) different serovars were identified. The most common was *S. Muenster* (39.28%) followed by *S. Kentucky* (15.47%), *S. Infantis*

Molecular confirmation

B position in PCR assay, using S139 and S141 primers belonging to *invA* gene that amplifies a 284 bp sequence of the *invA* gene, 96.43% (81/84) of pos-

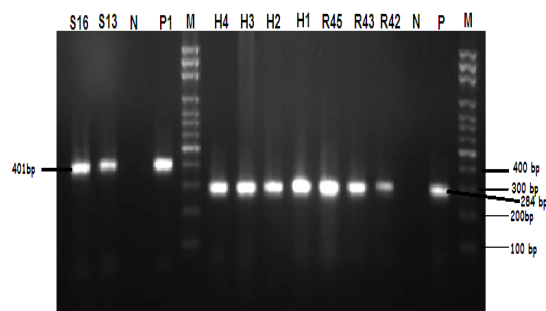


Fig. 1 Specific PCR of *Salmonella* isolates using primer sets *invA* and *Spy*.

M: 100bp Marker (AXYGEN Bioscience), P: Positive Control (*Salmonella* spp.), N: Negative control (PCR mixture without DNA), R42 R43 R45 H1 H2 H3 and H4: Analyzed isolates showing positive 284 bp DNA fragment of *invA* gene specific for *Salmonella* spp., P1: Positive control (*Salmonella* Typhimurium), S13 and S16: Analyzed isolates showing positive 410bp DNA of *Spy* gene specific for *Salmonella* Typhimurium.

itive samples in conventional culture method including *arizona* generated a single 284 bp amplified DNA fragment on agarose gel (Fig. 1).

Serotyping revealed 3 *S. Typhimurium* isolates of ovine carcass origin and PCR assay shown the presence of specific amplified product 410bp obtained with *S. Typhimurium* primers chosen from the *Spy* gene (Fig. 1)

resistance against a panel of 28 selected antimicrobial agents, 68 (80.95%) were resistant to at least one antimicrobial.

All *Salmonella* isolates were susceptible to cefoxitin, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam, imipenem, kanamicin, netilmicin, colistin, and fosfomycin. Resistance to the remaining 18 antimicrobials varied between 1.19% and 69.05%. The highest resistance rate observed was to streptomycin (69.05%), followed by sulphonamides (32.14%), then ampicillin, ticarcillin, piperacillin, amoxicillin, nalidixic acid and tetracycline (each 17.86%) (Table 3).

Out of the 68 resistant *Salmonella* isolates, 19 (22.62%) were multidrug resistant (MDR) among which 15 isolates were resistant to more than 5 antimicrobials. Twelve isolates of *S. Kentucky* isolated displayed resistance to at least 10 antimicrobials including fluoroquinolones. The three *S. Typhimurium* strains expressed resistance to more than 9 antimicrobials, including the “ACSSuT” pentaresistance pattern showed by two strains. Among the 10 serovars identified, resistance was found in 9 of them. Only the 3 isolates of *S. Havana* did not show any resistance to all antimicrobials tested. Table 4 displayed 17 different resistance patterns including 14 MDR patterns.

Antimicrobial resistance of isolates

From a total of 84 *Salmonella* isolates evaluated for

DISCUSSION

Salmonella prevalence

Table 3. Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates from bovine and ovine samples

Serovars	n	Antibiotics*																		Recapitulatory			
		AMP	TIC	PRL	AML	AMC	MEL	KZ	GM	S	SSS	W	SXT	NA	NOR	CIP	C	TE	F	0	1	2-5	+5
S. Muenster	33	0	0	0	0	0	0	0	0	19	8	0	0	0	0	0	0	0	0	6	27	0	0
S. Anatum	11	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	1	0	7	2	2	0
S. Infantis	12	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	
S. Kentucky	13	12	12	12	12	6	4	10	9	13	13	1	1	12	11	12	0	11	0	0	0	1	12
S.Havana	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	
S. Richmond	4	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	
S. Typhimurium	3	3	3	3	3	2	0	0	0	3	3	1	1	2	0	0	2	3	1	0	0	0	3
S. Montevideo	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	
S. Virginia	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
S. Braenderup	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Total	84	15	15	15	15	8	4	10	9	58	27	2	2	15	11	12	2	15	1	16	49	4	15
(%)	100	17.86	17.86	17.86	17.86	9.52	4.76	11.90	10.71	69.05	32.14	2.38	2.38	17.86	13.09	14.28	2.38	17.86	1.19	19.05	58.33	4.76	17.86

n: number of isolates, AMP: ampicillin, TIC: ticarcillin, PRL: piperacillin, AML: amoxicillin, AMC: amoxicillin/clavulanate, MEL: mecillinam, KZ: ceftazolin, GM: gentamicin, S: streptomycin, SSS: sulphonamides, W: trimethoprim, SXT: trimethoprim/sulfamethoxazole, NA: nalidixic acid, NOR: norfloxacin, CIP: ciprofloxacin, C: chloramphenicol, Te: tetracycline, F: furans. *All *Salmonella* isolates were susceptible to cefoxitin, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam, imipenem, kanamicin, netilmicin, colistin, and fosfomycin.

Table 4. Resistance pattern profiles of isolated *Salmonella* strains.

<i>Salmonella</i> serovars (n/N)	Resistance patterns	n
<i>S. Muenster</i> (27/33)	S	19
	SSS	8
<i>S. Anatum</i> (4/11)	S	2
	S,SSS	1
	SSS,TE	1
<i>S. Infantis</i> (12/12)	S	12
<i>S. Kentucky</i> (13/13)	S,SSS,W,SXT	1
	AMP,TIC,PRL,AML,KZ,S,SSS,NA,CIP,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,KZ,S,SSS,NA,NOR,CIP	1
	AMP,TIC,PRL,AML,KZ,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,GM,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,KZ,GM,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,MEL,GM,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,AMC,KZ,GM,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE	3
	AMP,TIC,PRL,AML,AMC,MEL,KZ,GM,S,SSS,NA,NOR,CIP,TE	3
<i>S. Richmond</i> (4/4)	S	4
<i>S. Typhimurium</i> (3/3)	AMP,TIC,PRL,AML,S,SSS,W,SXT,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,AMC,S,SSS,NA,C,TE	1
	AMP,TIC,PRL,AML,AMC,S,SSS,NA,C,TE,FU	1
<i>S. Montevideo</i> (3/3)	S	3
<i>S. Virginia</i> (1/1)	NA	1
<i>S. Braenderup</i> (1/1)	S,SSS	1

N: total of isolates, n: number of resistant isolates, AMP: ampicillin, TIC: ticarcillin, PRL: piperacillin, AML: amoxicillin, AMC: amoxicillin/clavulanate, MEL: mecillinam, KZ: cefazolin, GM: gentamicin, S: streptomycin, SSS: sulphonamides, W: trimethoprim, SXT: trimethoprim/sulfamethoxazole, NA: nalidixic acid, NOR: norfloxacin, CIP: ciprofloxacin, C: chloramphenicol, Te: tetracycline, F: furans.

In the current study, out of 826 tested samples, 84 (10.17%) were positive for *Salmonella* reflecting the failure of hygiene practices during the slaughtering. Furthermore, it is suggested that the presence of even small numbers of *Salmonella* species in carcasses may lead to heavy contamination of the finished retail product (Dabassa and Bacha, 2012; Ateba and Mochaiwa, 2014). According to the results shown in table 1, bovine samples were more contaminated (14.28%) than ovine samples (7.14%). This result in agreement with previous Algerian data (Nouichi and Hamdi, 2009; Mezali and Hamdi, 2012), could be due to the particular susceptibility of bovine species to *Salmonella* infection (Nouichi and Hamdi, 2009).

Bovine carcasses are most contaminated by *Salmonella* (20.52%). Previously, we have reported a lower rate of contamination (10%) in the same type of samples (Nouichi and Hamdi, 2009). Worldwide, previous reports indicated a variable prevalence of *Salmonella* in beef meat and carcasses ranged from

1.4% to 13.3% (Dabassa and Bacha, 2012; Tafida et al., 2013; Ahmed and Shimamoto, 2014; Ateba and Mochaiwa, 2014; Dong et al., 2014).

In ovine carcasses, the prevalence was 12.74%. While Teklu and Negussie (2011) registered a similar result (14.1%), other studies reported lower rates of contamination: 1.11% (Nouichi and Hamdi, 2009), and 3.3% (Dabassa and Bacha, 2012).

The prevalence of *Salmonella* in bovine feces was 6.87%. Compared to other studies that evaluated *Salmonella* in cattle fecal samples, our results corroborate relatively the reports of Addis et al. (2011), and Bahnass et al. (2015), who found 7.69% and 8.5%, respectively. Yet, it is more than 7 times lower than the 52% found by Kagambèga et al. (2013). On the other hand, Bordonaro et al. (2015) reported a very low rate (1.7%).

The prevalence of *Salmonella* in ovine fecal samples remains fairly low (0.89%) compared to that

recorded in feces of cattle (7.5%), and that reported in previous studies: 3.3% (Dabassa and Bacha, 2012), and 6.4% (Bahnass et al., 2015).

The present study showed a considerably higher prevalence of *Salmonella* in carcass samples (16.10%) than feces (3.38%), which is consistent with the findings from previous reports of Teklu and Negussie (2011), Dabassa and Bacha (2012) on sheep and cattle samples, respectively. However, our results contrast with the study's finding of Dong et al. (2014), which indicated higher *Salmonella* prevalence in feces than in carcasses. The relationship between fecal shedding and carcass contamination seems weak. It may be related to the fact that healthy carrier animals especially bovines excrete only a few number of *Salmonella*, unless they undergo some kind of stress (Teklu and Negussie, 2011), and the high level of *Salmonella* on carcasses might be explained by contamination from other sources such as animal skins, operators' hands and equipment, considering the non-respect of slaughtering hygienic rules observed during our study. Nevertheless, the presence of even a carrier animal can be a potential source of contamination of carcasses, environment, material and personnel. Furthermore, fecal samples tend to be less clean than carcasses and other food products samples, and therefore, it is more difficult to grow and detect *Salmonella* in these samples because of other organisms and species of competitive bacteria (Bordonaro et al., 2015).

Distribution of *Salmonella* serovars

Ten serovars were identified in the current study. Based on the results obtained, there seemed to be a difference in the types of *Salmonella* serovars from the different sources: *S. Muenster* and *S. Anatum* were isolated from the four categories of samples. This would likely reflect cross-contamination from multiple sources and poor hygiene conditions in the slaughterhouses. While certain serovars were exclusively recovered from only one source, such as, *S. Richmond* and *S. Typhimurium*, which were isolated from cattle and sheep carcasses, respectively. The identification of *S. Kentucky* only in carcass samples could be explained that the origin of the contamination wasn't feces.

S. Muenster found predominant in this study (39.28%), was also the most prevalent serovar in each category of samples. According to Van Cauteren et al. (2009), this serovar is rarely identified from humans, foods or animals.

The other serovars recovered, including *S. Kentucky*, *S. Infantis*, *S. Anatum*, *S. Typhimurium* and *S. Montevideo* are, without respecting the ranked order, among the top 10 serovars encountered in Africa (Hendriksen et al., 2011), in Europe (EFSA, 2014), and in USA (CDC, 2014).

S. Kentucky was isolated from 15.47 % of samples. According to our results during this study and the international studies pre-established in Algeria (Bouzidi et al., 2012; Elgroud et al., 2015), Morocco (El Allaoui et al., 2014), Tunisia (Abbassi-Ghozzi et al., 2012), and Nigeria (Tafida et al., 2013), this result is alarming because the sudden emergence and worrying of *S. Kentucky* has shown an increasingly insensitive to almost all families of antibiotics.

Previous national studies demonstrated that *S. Anatum* was found to be the most prevalent serovar isolated from bovine and ovine carcasses (Nouichi and Hamdi, 2009) and from red meat and their products (Mezali and Hamdi, 2012) in Algiers. Otherwise, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Enteritidis* and *S. Hadar* were mainly isolated from broilers by Bounar-Kechih et al. (2012), Bouzidi et al. (2012), Elgroud et al. (2015), respectively. These findings suggest that several serovars of *Salmonella* that may cause significant animal and human illnesses occur in Algeria.

At the international level, *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* were reported to be the most frequently isolated (Hendriksen et al., 2011; CDC, 2014; EFSA, 2015).

These differences in the prevalence of *Salmonella* and the distribution of serovars between studies may depend on the isolation methodology, the geographic area, and the housing and husbandry conditions.

Molecular confirmation

The present study supports the ability of the S139 and S141 primers targeting the *invA* gene specific of *Salmonella* spp. to confirm the isolated colonies.

Out of the 84 *Salmonella* isolates tested, 81 yield-

ed desired amplified products of approximately 284 bp similar to that of reference strain of *Salmonella* using the primer pairs for *invA*. The efficiency was 96.43%. Our report corroborates many recent studies in Egypt (Maysa and Abd-Elall, 2015) and Nigeria (Smith et al., 2015) conducted on *Salmonella* isolated from human, animals, food and water samples in which *invA* gene (284 bp) was prevalent at 96%. Karmi (2013) reported that all *Salmonella* isolates positive for the presence of *invA* gene, have the capacity to invade and survive in macrophages.

In contrary, Karmi (2013), Tafida et al. (2013), and Dong et al. (2014) have detected and reported the *invA* gene in all *Salmonella* isolates tested.

In this study, the DNA of three *Salmonella* isolates confirmed biochemically and serotyped (one *S. Muenster*, one *S. Anatum*, and one *S. Infantis*) was not amplified by PCR. Although, Rahn et al. (1992) could not detect *S. Litchfield* and *S. Senftenberg* by using S139 and S141 primers. Malorny et al. (2003) managed to do it with the same primers after modification in the thermal cycling conditions and using hot start PCR.

The failure to amplify *invA* homologues sequences was most likely due to the absence of the *invA* gene in these *Salmonella* strains (Rahn et al., 1992). Ginocchio et al. (1997) determined that the invasion-associated pathogenicity island which has previously been shown to be linked to the *inv* locus remains unstable in certain *Salmonella* serovars. It would also suggest that these organisms would not be invasive or, alternatively, that they may possess other pathways of invasion independent of *invA* gene (Rahn et al., 1992; Ginocchio et al., 1997). In addition some *Salmonella* species also could not be detected by other PCR methods (Van Kessel et al., 2003).

Interestingly, the strains that were shown to lack of the *invA* sequences in the two studies of Rahn et al. (1992) and Ginocchio et al. (1997) had been recovered from environmental samples and were not specifically associated with disease. Even whether the three isolates found negative for *invA* gene during our study were isolated from carcasses; it is possible that all of them were originated from environment.

After identifying the *invA* gene as specific to

Salmonella, PCR has also been used for distinguishing of *Salmonella* serovars. As for *S. Typhimurium*, the *Salmonella* plasmid virulence *spy* genes were used (Olsen et al., 2014). These genes are particularly required for systemic infection (Nickerson and Curtiss, 1997). In our study, all isolates serotyped *S. Typhimurium* were found positive for *spy* gene. The sensibility of the primer used in this study has also been also well demonstrated using simplex or multiplex PCR assays (Ahmed and Shimamoto, 2014; Can et al., 2014; Manoj et al., 2015).

Antimicrobial resistance of isolates strains

In the current study, the rate of resistance to at least one antimicrobial is high (80.95%) and could be explained by the widespread and indiscriminate use of the drugs for therapeutic and prophylactic purposes both in veterinary and human health sectors. This is in accordance with previous results recorded in Algeria (80% [Elgroud et al., 2009]; 68.42% [Bouzidi et al., 2012]; 90.32% [Mezali and Hamdi, 2012]), in Egypt (100% [Sallam et al., 2014]) and in Morocco (93.5% [El Allaoui et al., 2014]). Resistance to streptomycin was quite common (69.05%, n=58) and corroborates the finding of Elgroud et al. (2009; 58%) and Aouf et al. (2011; 68.75%), while 17.86% (n=15) of isolates were found resistant to tetracyclines, which is lower than that noted by Bouzidi et al. (2012; 36.9%) and Aouf et al. (2011; 100%). As for sulphonamides, our result (32.14%) was higher than that reported in Algeria by Bounar-Kechih et al. (2012) and Mezali and Hamdi (2012) who recorded 13% and 16.13%, respectively. Streptomycin, sulphonamides and tetracycline are old first-intention molecules and have been widely used in animal husbandry. In addition to streptomycin, resistance to aminoglycosides involved also gentamicin, (10.71%); all of the isolates resistant to this drug are belonging to *S. Kentucky* serovar. A similar result has been registered by Bouzidi et al. (2012) and Le Hello et al. (2013).

Only 2 isolates displayed resistance to the association trimethoprim/sulfamethoxazole, which is lower than the result of Aouf et al. (2011). In the present study, 15 (17.86%) isolates were resistant to nalidixic acid; 18.75% were recorded by Aouf et al. (2011). Increasing resistance to this antimicrobial has been

also reported by the national studies (Elgroud et al., 2009; Bounar-Kechih et al., 2012; Mezali and Hamdi, 2012).

As for furans and chloramphenicol 1.19% and 2.38% were recorded respectively. These findings corroborate those of Mezali and Hamdi (2012) and could be explained by the moderate use of these drugs because of their removing from the Algerian nomenclature.

Moreover, all of the *S. Kentucky* isolates were found to be resistant to fluoroquinolones (norfloxacin and/or ciprofloxacin). To our knowledge, this is the first national paper showing resistance to these drugs in *Salmonella* strains isolated from red meats since the other previous studies in Algeria (Elgroud et al., 2009; Bouzidi et al., 2012) were done on poultry.

This finding is more worrying as fluoroquinolones should be reserved for the treatment of serious gastrointestinal infections in adults. This may be linked to a non-prudent use of these molecules, although expensive in animal husbandries in Algeria (Elgroud et al., 2009).

Full resistance to quinolones is achieved when two cumulative mutations in genes that encode the targets of these drugs are present concurrently (Le Hello et al., 2013; El Allaoui et al., 2014).

It appears that isolates tested in this study underwent this kind of mutation only because of which they were resistant to nalidixic acid and to other quinolones molecules such as norfloxacin and ciprofloxacin. Resistance to β -lactams involved only penicillins (ampicillin, ticarcillin, piperacillin, amoxicillin, mecillinam and the combination amoxicillin/clavulanic acid) and first generation cephalosporins (cefazolin). Conversely, the absence of resistance to third generation cephalosporins was an important finding since they are clinically essential in the treatment of invasive salmonellosis in humans. Multiple drug resistance in *Salmonella* may result from random chromosomal mutations and transfer of resistance genes (Abbassi-Ghozzi et al., 2012). Multidrug resistant *Salmonella* serovars have been proposed to be more virulent than non-multidrug resistant ones (Sallam et al., 2014).

In our study, 14 different MDR patterns were found. The two serovars commonly involved in food-

borne outbreaks, *S. Kentucky* and *S. Typhimurium* presented the greatest number of multi-resistance phenotypes. Transmission of multi-resistant *Salmonella* to humans through food chain may involve a high risk for public health by compromising the effectiveness of medical treatment and increasing the number of invasive infections. Two *S. Typhimurium* isolates displayed an “ACSSuT” pentaresistance pattern. This is another worrying antimicrobial pattern evidenced during this study was also found by Mezali and Hamdi in 2012. In Europe, resistance to “ACSSuT” was the most common multidrug-resistant pattern recorded among the multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium isolated from human and food sources (EFSA, 2015). All the strains displaying MDR were isolated from both ovine and bovine carcasses. By contrast, all *Salmonella* isolated from feces were resistant only to streptomycin or sulphonamides. This finding confirms that the high number of *Salmonella* isolated from carcasses during this study is not mainly associated with fecal carriage.

CONCLUSIONS

Overall, our findings showed that the bovine and ovine carcasses are considered as an important source of multidrug-resistant *Salmonella* serovars and can pose a high risk for the consumer; subsequently, hygienic measures should be undertaken to reduce contamination of meat with virulent strains of *Salmonella*, and strict guidelines for the use of antibiotics should be necessary to prevent the dissemination and acquisition of antimicrobial resistance. This study also demonstrated that 96.43% of *Salmonella* isolates were positive for the presence of virulence gene (*invA*) that responsible for cell invasion. Furthermore, it is important to emphasize that PCR method based on *invA* gene should be used for rapid identification of *Salmonella* serovars and could replace the conventional bacteriological and biochemical methods.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors report no conflict of interest. ■

REFERENCES

- Abbassi-Ghozzi I, Jaouani A, Hammami S, Martinez-Urtaza J, Boudabous A, Gtari M (2012) Molecular analysis and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates recovered from raw meat marketed in the area of "Grand Tunis", Tunisia. *Pathol Biol* 60:49-54.
- Addis Z, Kebede N, Sisay Z, Alemayehu H, Yirsaw A, Kassa T (2011) Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa: a cross sectional study. *BMC Infect Dis* 11:222.
- Ahmed AM, Shimamoto T (2014) Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. *Int J Food Microbiol* 168-169:57-62.
- Ateba CN, Mochaiwa B (2014) Use of *invA* gene specific PCR analysis for the detection of virulent *Salmonella* species in beef products in the North West Province, South Africa. *J Food Nutr Res* 2(6):294-300.
- Aouf A, Messai Y, Salama MS, Aboushady HM, El-Anany MG, Alouache S, Bakour R (2011) Resistance to β -lactams of human and veterinary *Salmonella* isolates in Egypt and Algeria. *Afr J Microbiol Res* 5(7):802-808.
- Bahnass MM, Fathy AM, Alamin MA (2015) Identification of human and animal *Salmonella* spp. isolates in Najran region and control of it. *Int J of Adv Res* 3(1):1014-1022.
- Bordonaro R, McDonough PL, Chang Y-F, Mohammed HO (2015) The potential risk associated with foodborne pathogens in watersheds: *Salmonella* spp. in dairy cattle. *J Water Resource Prot* 7:476-484.
- Bounar-Kechih S, Hamdi TM, Mezali L, Assaous F, Rahal K (2012) Antimicrobial resistance of 100 *Salmonella* strains isolated from *Gallus gallus* in 4 wilayas of Algeria. *Poultry Sci* 91(5):1179-1185.
- Bouzidi N, Aoun L, Zeghoudi M, Bensouilah M, Elgroud R, Oucief I, Granier SA, Brisabois A, Desquilbet L, Millemann Y (2012). *Salmonella* contamination of laying-hen flocks in two regions of Algeria. *Food Res Int* 45(2):897-904.
- Can HY, Elmali M, Karagöz A, Öner S (2014) Detection of *Salmonella* spp., *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Typhimurium in cream cakes by polymerase chain reaction (PCR). *Med Weter* 70(11):689-692.
- CDC Centers for Disease Control and Prevention (2014) Foodborne diseases active surveillance network (FoodNet): FoodNet surveillance report for 2012 (Final Report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. Retrieved from https://www.cdc.gov/foodnet/PDFs/2012_annual_report_508c.pdf
- CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute, 2008). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved standard –Third Edition M31-A3 .Vol.28 N° 8. Replaces M31-A2. Vol.22 N°06. February 2008.
- Dabassa A, Bacha K (2012) The prevalence and antibiogram of *Salmonella* and *Shigella* isolated from abattoir, Jimma town, South West Ethiopia. *Inter J Pharm Biomed Res* 3(4):143-148.
- Dong P, Zhu L, Mao Y, Liang R, Niu L, Zhang Y, Li K, Luo X (2014) Prevalence and profile of *Salmonella* from samples along the production line in Chinese beef processing plants. *Food Control* 38:54-60.
- EFSA European Food Safety Authority (2014) The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 12(2):3547.
- EFSA European Food Safety Authority (2015) EU summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. *EFSA Journal* 13(2):4036.
- El Allaoui A, Filali FR, Ameur N, Nassri I, Oumokhtar B, Aboulkacem A, Essahale A, Deroüich A, Bouchrif B (2014) Prevalence, antibio-resistance and risk factors for *Salmonella* in broiler turkey farms in the province of Khémisset (Morocco). *J World Poultry Res* 4(1):20-29.
- Elgroud R, Zerdoumi F, Benazzouz M, Bouzitouna-Bentchouala C, Granier SA., Fremy S, Brisabois A, Dufour B, Millemann Y (2009) Characteristics of *Salmonella* contamination of broilers and slaughterhouses in the region of Constantine (Algeria). *Zoonoses and Public Health* 56:84-93.
- Elgroud R, Granier SA, Marault M, Kerouanton A, Lezzar A, Bouzitouna-Bentchouala C, Brisabois A, Millemann Y (2015) Contribution of avian *Salmonella enterica* isolates to human salmonellosis cases in Constantine (Algeria). *BioMed Res Int* 2015:352029.
- Ginocchio CC, Rahn K, Clarke RC, Galan JE (1997) Naturally occurring deletions in the centisome 63 pathogenicity island of environmental isolates of *Salmonella* spp. *Infect Immun* 65:1267-1272.
- Hendriksen RS, Vieira AR, Karlsmose S, Danilo MA, Wong LF, Jensen AB, Wegener HC, Aarestrup FM (2011) Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog Dis* 8(8):1-14.
- Kagambèga A, Lienemann T, Aulu L, Traoré AS, Barro N, Siitonen A, Haukka K (2013) 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* 13: 253.
- Karmi M (2013) Detection of virulence gene (*invA*) in *Salmonella* isolated from meat and poultry products. *Int J Genetics* 3(2):07-12.
- Le Hello S, Bekhit A, Granier SA., Barua H, Beutlich J, Zayac M, Münch S, Sintchenko V, Bouchrif B, Fashae K, Pinsard JL, Sontag L, Fabre L, Garnier M, Guibert V, Howard P, Hendriksen RS, Christensen JP, Biswas PK, Cloeckaert A, Rabsch W, Wasyl D, Doublet B, Weill FX (2013). The global establishment of a highly-fluoroquinolone resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 strain. *Front Microbiol* 4:395.
- Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R (2003) Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard. *Appl Environ Microbiol* 69:290-296.
- Manoj J, Singh MK., Singh YP (2015) The role of poultry in food borne salmonellosis and its public health importance. *Adv Anim Vet Sci* 3(9):485-490.
- Maysa AIA, Abd-Elal AMM (2015) Diversity and virulence associated genes of *Salmonella enterica* serovars isolated from wastewater agricultural drains, leafy green producing farms, cattle and human along their courses. *Revue Med Vet* 166(3-4):96-106.
- Mezali L, Hamdi TM (2012) Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from meat and meat products in Algiers (Algeria). *Foodborne Pathog Dis* 9(6):522-529.
- Nickerson CA, CURTISS R (1997) Role of sigma factor *RpoS* in initial stages of *Salmonella* Typhimurium infection. *Infect Immun* 65(5):1814-1823.
- Nouichi S, Hamdi TM (2009) Superficial bacterial contamination of ovine and bovine carcasses at El-Harrach slaughterhouse (Algeria). *Eur J Sci Res* 38:474-485.
- Olsen JE, Aabo S, Rasmussen OF, Rossen L (1995) Oligonucleotide probes specific for the genus *Salmonella* and for *Salm. typhimurium*. *Lett Appl Microbiol* 20:160-163.
- Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galan JE, Ginocchio C, Curtiss III R, Gyles CL (1992) Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* Typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Mol.Cell.Probes* 6:271-279.
- Sallam KI, Mohammed MA, Hassan MA, Tamura T (2014) Prevalence, molecular identification and antimicrobial resistance profile of *Salmonella* serovars isolated from retail beef products in Mansoura, Egypt. *Food Control* 38:209-214.
- Singh P, Mustapha A (2014) Development of a real-time PCR melt curve assay for simultaneous detection of virulent and antibiotic resistant *Salmonella*. *Food Microbiol* 44:6-14.
- Smith SI, Fowora MA, Atiba A, Anejo-Okopi J, Fingsi T, Adamu ME, Omonigbehin EA, Ugo-Ijeh MI, Bamidele M, Odeigah P (2015). Molecular detection of some virulence genes in *Salmonella* spp isolated from food samples in Lagos, Nigeria. *Am J Anim Vet Sci* 3(1):22-27.
- Tafida SY, Kabir J, Kwaga JKP, Bello M, Umoh VJ, Yakubu SE., Nok AJ, Hendriksen R (2013) Occurrence of *Salmonella* in retail beef and related meat products in Zaria, Nigeria. *Food Control* 32:119-124.
- Teklu A, Negussie H (2011) Assessment of risk factors and prevalence of *Salmonella* in slaughtered small ruminants and environment in an export abattoir, Modjo, Ethiopia. *American -Eurasian J Agric & Environ Sci* 10(6): 992-999.
- Van Cauteren D, Jourdan-da Silva N, Weill FX, King L, Brisabois A, Delmas G, Vaillant V, de Valk H (2009) Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Muenster infections associated with goat's cheese, France, March 2008. *Euro Surveill* 14(31), pii: 19290.
- Van Kessel JS, Kams JS, Perdue ML (2003) Using a Portable Real-Time PCR Assay to Detect *Salmonella* in Raw Milk. *J Food Prot* 66(10):1762-1767.