

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الجزائر-

ÉCOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE
- Alger-

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de
Magistère en Sciences Vétérinaires
Option : Microbiologie Médicale Vétérinaire

Thème

**Étude de la prévalence de *Salmonella enterica* et de
Salmonella enterica serovar Dublin chez les bovins de la
région d'Alger par des méthodes bactériologiques et
immunologiques**

Présenté par : Dr. HEZIL DJAMILA

Le 23/06/2014

Présidente :	HAFSI F	Maître de Conférences classe A	E.N.S.V- Alger.
Promotrice :	GHALMI F	Maître de Conférences classe A	E.N.S.V- Alger.
Co-Promotrice :	AZZAG N	Maître de Conférences classe B	E.N.S.V- Alger.
Examineurs :	AIT OUHDIA K	Maître de Conférences classe A	E.N.S.V- Alger.
	NOUICHI S	Maître Assistante classe A	E.N.S.V- Alger.

Année universitaire : 2013-2014

Remerciements

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

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

Je tiens aussi à exprimer mes vifs remerciements au Dr. AZZAG Nawel pour ses conseils pertinents.

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

Mes vifs remerciements au Dr. AIT OUDHIA Khatima de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être membre du jury.

Mes sincères remerciements sont destinés au Dr. NOUICHI Siham, pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Je tiens particulièrement à Mes sincères remerciements sont destinés à Monsieur MITARFI Abdelwahide pour les conseils qu'il m'a toujours donnés. Ainsi que l'aide précieuse qu'il m'a prodigué et l'immense patience dont il a fait preuve avec moi.

Je tiens également à remercier DR. Zaidi Sara pour l'aide et les conseils qu'elle m'a toujours donnés.

Je remercie vivement :

Siham l'ingénieur de laboratoire de microbiologie.

Aux Dr. CHADI Hafida et Dr. MEZALI Lynda pour leurs conseils et orientations.

Mes collègues et amis vétérinaires : Hassen, Hicham, Ali, Yousef, Béchir. Abderhmane, Abdallah, Lyna., Lilya,

AMMI Ahmed le technicien de laboratoire du parazotologie.

LOUISA la technicienne du laboratoire de HIDAIO.

Tous les personnellés de l'Institut Pasteur et surtout Chafia, Chafika, Hamida et Mani.

Tous les personnellés de LINMV et surtout Dr. Lila, Samia, Souhila et Assia.

Tous les personnellés de la bibliothèque et l'administration de L'ENSV.

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

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'enseignement de la vie et pour l'éducation qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.

A mes grands parents que dieu les garde pour moi ;

A mes neveux Dhiaa, Abdalahe, Housseem, Khiredine, Islam, Riyad et mes petites nièces malekgrayhan, Ritage, Arwoi

A mes sœurs Besma, Omhiani, Sabrina, Firouze, Zakia et Kamilia.

A mes frères Kassa et Saleh,

A mes gendres Fatah, Hassen, Farid et Hwawi

A mon beau père et ma belle mère ; qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect.

A mes belles sœurs Wassila, Wahiba, Samiha, Kenza, Nour elyakine.

A mon beau frère Bassam.

A mes cousines et surtout Ilham, Houda, Khadra.

A toute ma famille Hezil et Mitarfi.

A tous mes amies en particulier: Siham, Sara , Hafida, Meryem, Djihad, Lyna, Iman ,Lynda, Faiza, Karima, Salma, Zaho, Kahian, Lilya, Hakima, Faiza, Amina , Amale, Chahinaze, Fériel. Besma, Kenza, Mimi.

Enfin, il est de mon devoir de remercier tous ceux et celles, nombreux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

A mon très cher mari Hocem

*Quand je t'ai connu, j'ai trouvé l'homme de ma vie,
mon âme*

et la lumière de mon chemin.

Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises.

*Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta
gentillesse sans*

*égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir
mes études.*

*Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce
travail n'aurait vu le jour.*

*Je vous aime de tout mon cœur, ce travail est
également le fruit de vos nombreux soutiens*

*Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun
serein*

*et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance
et de mon amour sincère et fidèle.*

*Que notre amour nous unisse toujours dans les joies
mais aussi Dans les peines*

Que dieu vous accorde sa grâce.

*Merci pour donner la force et la patience afin de
réaliser cette thèse de magistère*

Et merci pour votre présence et pour l'amour qui nous unit.

Djamila

Résumé

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

Chez les bovins, de nombreux sérotypes de *Salmonella enterica* sont responsables de manifestations cliniques très variées pouvant causer des pertes économiques considérables. Certains sérotypes peuvent faire avorter sporadiquement les vaches, c'est le cas notamment du sérotype Dublin.

Cette étude a été réalisée dans différentes exploitations bovines de la région d'Alger, entre Décembre 2012 et Octobre 2013. La prévalence a été établie d'une part après analyse bactériologique de 184 prélèvements de matières fécales de bovins appartenant à 19 fermes différentes. Et d'autre part, par analyse immunologique de 91 prélèvements individuels de lait.

Les résultats bactériologiques selon la méthode de référence NF U 47-100 ont montré une prévalence de **7.60% (IC 95% 3%-10%)**. Le sérotypage a révélé une prévalence pour *S. Dublin* de **2,70%**. L'analyse immunologique du lait par la technique ELISA a mis en évidence une prévalence de **13.18% (IC 95% 5%-20%)** pour *Salmonella* Dublin.

La comparaison entre les méthodes bactériologiques utilisées pour l'isolement des souches de *Salmonella enterica* (méthode classique et méthode de référence **(NF U 47-100)**) a montré que les deux méthodes étaient assez divergentes ($k=0,3$) avec une meilleure sensibilité pour la méthode de référence ($p<0,05$). L'étude comparative entre les résultats immunologiques du lait et bactériologiques des matières fécales a montré une faible concordance entre les deux tests ($k=0,44$). Le test immunologique s'est révélé nettement plus sensible que le test bactériologique ($p<0,05$).

Une étude cas-témoins a été réalisée pour mettre en évidence un lien entre la positivité à *Salmonella* spp/*Salmonella* Dublin dans les matières fécales et l'avortement chez les vaches. Les résultats ont montré une association positive significative (OR=24 IC 95% 1,6-341) entre la présence de *Salmonella* spp dans la ferme et la présence d'avortement. Pour *Salmonella* Dublin, l'étude n'a pas permis d'établir une association claire (OR= 8,66 IC 95% 0,58-130,12). En revanche, l'étude cas-témoin réalisée en fonction des résultats immunologiques du lait (*S. Dublin*) a montré une association positive significative (OR=62,33 IC 95% 2,13-1822) entre le fait d'avoir une réponse positive à *Salmonella* Dublin dans le lait et la présence d'avortements dans la ferme.

Au vu de tous ces résultats obtenus, nous pouvons conclure que *Salmonella* devrait figurer systématiquement dans le diagnostic différentiel des avortements en Algérie.

Mots clés : Vaches, Matières fécales, Lait, *Salmonella* spp, *S. Dublin*, Prévalence, Avortement

Abstract

Salmonellosis is an inoculable contagious infectious disease caused by a ubiquitous Enterobacteriaceae *Salmonella*. It is a leading cause of foodborne illness foodborne humans in developed countries.

In cattle, many serotypes of *Salmonella enterica* are responsible for varied clinical manifestations can cause considerable economic losses. Some serotypes can sporadically aborting cows; this is particularly the case of serotype Dublin.

This study was conducted in different cattle farms in the region of Algiers, between December 2012 and October 2013. La prevalence was established firstly after bacteriological analysis of 184 samples of bovine feces from 19 different farms. And secondly, by immunoassay of 91 individual samples of milk.

Bacteriological results according to the reference method **NF U 47-100** showed a prevalence of **7.60 % (95% CI 3% -10%)**. Serotyping revealed a prevalence of **2.70% S. Dublin**. Analysis immune milk by ELISA showed a prevalence of **13.18 % (95% CI 5 % -20%)** for *Salmonella* Dublin.

The comparison between bacteriological methods for the isolation of strains of *Salmonella enterica* (classical method and reference method (NF U 47-100) showed that both methods were quite different ($k = 0.3$) with improved sensitivity for the reference method ($p < 0.05$). comparative study between immunological and bacteriological results of milk feces showed a low concordance between the two tests ($k = 0.44$) . the immunoassay s' proved significantly more sensitive than the bacteriological test

($p < 0.05$).

A case-control study was conducted to highlight the link between positive *Salmonella* spp. *Salmonella* Dublin in feces and abortion in cows. The results showed a significant positive association ($OR = 24$, 95% CI 1.6 to 34) between the presence of *Salmonella* spp in the farm and the presence of abortion. *Salmonella* Dublin, the study did not establish a clear association ($OR = 8.66$ 95% CI 0.58 to 130.12). Conversely, case- control study based on the results immunological milk (S. Dublin) showed a significant positive association ($OR = 62.33$, 95% CI 2.13 to 1822) between having a positive response to *Salmonella* Dublin in the milk and the presence of abortions in the farm.

In view of all these results, we can conclude that *Salmonella* should be included systematically in the differential diagnosis of abortions in Algeria.

Keywords: Cows, Faeces, Milk, *Salmonella* spp, S. Dublin, Prevalence, Abortion

ملخص

مرض السالمونيلا من الأمراض المعدية القابلة للتلقيح و الذي تسببه البكتيريا المعوية. تعتبر من الأسباب الرئيسية للتسمم الغذائي لدى الإنسان في البلدان المتقدمة .

عند البقر يوجد العديد من الأنماط المصلية من "السالمونيلا" (enterica) المسؤولة عن أعراض عيا دية جد متنوعة يمكنها إحداث خسائر اقتصادية كبيرة، لبعض لأنماط المصلية إجماحا لأبقار بشكل متقطع، وهذا ما ينطبق بالضبط على النمط المصلي (Dublin) وقد أجريت هذه الدراسة في مختلف مزارع الماشية بمنطقة الجزائر العاصمة، في الفترة بين ديسمبر 2012 إلى غاية أكتوبر 2013. أولا بعد التحليل البكتريولوجي من 184 عينة من البراز البقري من 19 مزرعة. وثانيا، من خلال التحليل المناعي من 91 عينة فردية من الحليب.

وأظهرت النتائج البكتريولوجية وفق الطريقة المرجعية NF U 47-100 نسبة انتشار مقدرة بـ 7.60٪ (95 ٪ CI 3 ٪ -10 ٪) الكشف المصلي أظهر نسبة انتشار 2.70٪ S. Dublin، وأظهر التحليل المناعي للحليب عن طريق ELISA نسبة انتشار 13.18٪ (95 ٪ CI 5 ٪ -20 ٪) S. Dublin.

تبين من خلال المقارنة بين الطرق البكتريولوجية لعزل سلالات السالمونيلا spp ، الطريقة الكلاسيكية والطريقة المرجعية NFU47 (100) أن كلا من الطرق كانت مختلفة تماما ($k = 0.3$) مع حساسية أكبر للطريقة المرجعية ($p < 0.05$). من خلال دراسة مقارنة بين النتائج المناعية للحليب و البكتريولوجية للبراز يوجد توافق منخفض بين الاختبارين ($k = 0.44$)، و بذلك الفحص المناعي ذو حساسية أكبر من الفحص البكتريولوجي ($p < 0.05$)

وقد أجريت دراسة الحالات والشواهد لتسليط الضوء على العلاقة بين إيجابية السالمونيلا spp / السالمونيلا Dublin في البراز والإجماح عند الأبقار. أظهرت النتائج وجود رابط إيجابي هام ($OR = 24$ IC 95% 1,6-341) بين وجود السالمونيلا في المزرعة ووجود الإجماح. بخصوص السالمونيلا Dublin، فإن الدراسة لم تسمح بربط علاقة واضحة ($OR = 8,66$ IC 95% 0,58-130,12) على العكس من ذلك فإن دراسة الحالات والشواهد على أساس النتائج المناعية للحليب أظهرت S. Dublin وجود علاقة إيجابية هامة ($OR = 62,33$ IC 95% 2,13-1822) بين وجود السالمونيلا Dublin في الحليب ووجود حالات الإجماح في المزرعة.

على ضوء كل هذه النتائج، يمكننا أن نستنتج أن السالمونيلا ينبغي أن تدرج في التشخيص التفريقي لحالات الإجماح في الجزائر.

الكلمات الرئيسية : الأبقار، البراز، الحليب، السالمونيلا spp، S. Dublin، انتشار، الإجماح.

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
--------------------------	----------

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	3
--	----------

CHAPITRE 1 : GENRALITES SUR LE GENRE SALMONELLA.....	3
---	----------

1. Taxonomie et évolution de la nomenclature	3
2. Critères bactériologiques	5
2.1. Morphologie	5
2.2. Culture	6
2.3. Caractères biochimiques.....	6
3. Pouvoir antigénique :	7
3.1. Structure antigénique et facteurs de virulence.....	7
3.2. Détermination et classification des sérovars	8
4. Physiologie des salmonelles.....	12
4.1. Température(T°).....	12
4.2. Potentiel d'hydrogène (pH).....	12
4.3. Activité de l'eau (Aw).....	12
4.4. Autre facteurs	12

CHAPITRE 2 : Les salmonelloses bovines.....	13
--	-----------

I. Pathogénie	13
1. Contamination de l'hôte et la notion de dose infectante	13
1.1. Facteurs bactériens.....	13
1.2. Facteurs liés à l'hôte	13
2. Invasion intestinale.....	14
2.1. Phase d'adhésion des salmonelles.....	14
2.2. Invasion des entérocytes	15
2.3. Apoptose des entérocytes.....	16
3. Dissémination systémique	16
3.1. Mécanismes de la survie intracellulaire.	17
3.1.1. Inhibition de la fusion phagolysosomiale.	17

3.1.2.	Survie dans le phagolysosome.....	18
3.2.	Facteurs bactériens de dissémination.....	18
3.2.1.	Flagelles.....	18
3.2.2.	Lipopolysaccharides (LPS).....	18
3.2.3.	Le plasmide de virulence Vi.....	19
3.2.4.	Système de captation du fer.....	19
3.2.5.	Toxines	19
3.2.6.	Ilots de pathogénicité.....	19
4.	Genèse des signes cliniques.....	20
4.1.	La diarrhée	20
4.2.	Le choc.....	21
4.3.	L'avortement.....	21
II.	Symptomatologie de la salmonellose bovine	21
1.	Principales formes cliniques	21
1.1.	Forme digestive.....	22
1.2.	Forme génitale	22
1.3.	Forme septicémique.....	23
1.4.	Forme respiratoire	23
2.	Autres formes.....	23
3.	Portage asymptomatique	23
4.	Symptomatologie des salmonelloses humaines	24
4.1.	Salmonelloses typhiques	24
4.2.	Salmonelloses non typhiques	24
4.2.1.	Salmonelloses non typhiques digestives.....	24
4.2.2.	Salmonelloses non typhiques septicémiques.....	24
4.3.	Autres formes de salmonelloses non typhiques	25
4.4.	Salmonelloses cutanées.....	25
III.	Tableau lésionnel chez les bovins	25
1.	Forme digestive.....	25
2.	Forme génitale	26
3.	Forme septicémique.....	26
4.	Forme respiratoire.....	26
5.	Autres formes.....	26
IV.	Épidémiologie.....	27
1.	Épidémiologie descriptive	27

1.1.	Répartition géographique	27
1.2.	Prévalence	27
2.	Épidémiologie analytique.....	30
2.1.	Sources de salmonelles	30
2.1.1.	Sources primaires	30
2.1.2.	Sources secondaires.....	31
2.2.	Résistance des salmonelles dans le milieu extérieur.....	32
2.3.	Modalités de la transmission.....	33
2.3.1.	Transmission directe ou indirecte.....	33
2.3.1.1.	Transmission directe.....	33
2.3.1.2.	Transmission indirecte.....	34
2.3.2.	Voies de contamination	34
2.4.	Réceptivité et facteurs de risque	34
2.4.1.	Facteurs intrinsèques	34
2.4.1.1.	Le génotype	34
2.4.1.2.	L'Age.....	34
2.4.1.3.	Le sexe.....	35
2.4.1.4.	L'individu.....	35
2.4.2.	Facteurs extrinsèques.....	35
2.4.2.1.	Le sérovar	35
2.4.2.2.	L'alimentation	35
2.4.2.3.	Les traitements.....	36
2.4.2.4.	Le logement, l'environnement et la saison.....	36
3.	Modalités de transmission de la salmonellose bovine à l'homme.....	37
3.1.	Les toxi-infections alimentaires (T.A.I.).....	37
3.2.	La filière viande	37
3.3.	La filière lait.....	38
3.4.	Contamination directe par contact avec les animaux malades.....	38
1.	Diagnostic clinique.....	38
2.	Diagnostic différentiel	38
2.1.	Chez le veau.....	38
2.1.	Chez l'adulte	39
3.	Diagnostic nécropsique	39
4.	Diagnostic de laboratoire	39
4.1.	Prélèvements	39

4.2.	Diagnostic bactériologique	40
4.2.1.	La première étape	40
4.2.2.	La deuxième étape	41
4.2.3.	La troisième étape :	41
4.2.4.	L'étape de confirmation :	43
4.2.4.1.	Identification biochimique.....	43
4.2.4.2.	Identification sérologique.....	43
4.2.5.	Nouvelles techniques de détection de Salmonella spp dans les matières fécales bovines (Méthodes de référence).....	43
4.2.6.	Antibiogramme	44
4.2.7.	Délai d'analyse	46
4.3.	Autres méthodes de diagnostic	46
5.	Moyens de lutte	48
5.1.	Mesures thérapeutiques.....	48
5.1.1.	Antibiotiques utilisables	49
5.1.2.	Antibiotiques et antibiorésistance.....	51
5.1.3.	Autres mesures médicales	51
5.1.3.1.	Fluidothérapie.....	51
5.1.3.2.	Anti-inflammatoires	52
5.1.3.3.	Traitement symptomatique de la diarrhée	52
5.2.	Mesures prophylactiques.....	53
5.2.1.	Prophylaxie sanitaire.....	53
5.2.1.1.	Hygiène du logement.....	53
5.2.1.2.	Hygiène de l'abreuvement.....	53
5.2.1.3.	Hygiène de l'alimentation	54
5.2.1.4.	Hygiène du vêlage et de la traite	54
5.2.1.5.	Maîtrise des déjections	55
5.2.1.6.	Maîtrise des facteurs de risque relatifs aux bovins.....	55
5.2.2.	Prophylaxie médicale	55
5.2.2.1.	Vaccination.....	56
5.2.2.2.	Métaphylaxie	56
II.	PARTIE EXPERIMANATALE	57
I.	Matériels et méthode	57
1.	Objectifs	
2.	Échantillonnage	57

2.1. Lieux des prélèvements et plan d'échantillonnage.....	57
2.2. Questionnaire épidémiologique.....	57
2.3. Nature du prélèvement	57
3. Isolement et caractérisation des souches de salmonella dans les matières fécales.....	58
3.1. Matériel utilisé et Milieux de culture	58
3.2. Méthodes d'identification.....	58
3.2.1. Méthode d'analyse bactériologique classique.....	61
3.2.1.1. Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide :	61
3.2.1.2. Enrichissement en milieu sélectif liquide.....	61
3.2.1.3. Isolement sur milieu sélectif solide	61
3.2.1.4. Purification sur gélose nutritive.....	61
3.2.2. Méthode de Référence NF U 47-100 :	61
3.2.2.1. Pré-enrichissement en milieux non sélectifs liquide :	61
3.2.2.2. Enrichissement en milieux sélectifs liquide et semi solide :	61
3.2.2.3. Isolement	62
3.2.2.3.1. Isolement sur milieu MSRV	62
3.2.2.3.2. Isolement sur le milieu le MKTTn	63
3.2.2.4. Purification sur gélose nutritive.....	64
3.2.2.5. Identification sérologique des souches de salmonelles isolées.....	64
3.2.2.5.1. Technique	64
4. Mise en évidence des anticorps dirigés contre <i>Salmonella</i> Dublin par analyse immunologique.	67
4.1. Principe du test	67
4.1.1. Prétraitement de la plaque de réaction	67
4.1.2. Mode opératoire	67
4.1.3. Prédilution des sérums de contrôle	67
4.1.4. Incubation des échantillons.....	67
4.2. Interprétation des résultats.....	68
5. Les Methodes Statistiques	69
II. Résultats	70
1. Étude bactériologique	70
1.1. Isolement et identification des souches de <i>Salmonella</i> dans les matières fécales de bovin	70
1.1.1. Par la méthode classique.....	70
1.1.2. Par la méthode de Référence NF U 100-47	70

1.1.3. Sérotypage	72
1.2. Prévalence de Salmonelles en fonction du lieu de prélèvement.....	73
1.3. Comparaison des deux méthodes d'isolement.	75
1.3.1. Pour l'isolement et l'identification de <i>Salmonella</i> spp.	75
1.3.2. Pour l'isolement et l'identification de <i>Salmonella</i> Dublin.....	75
1.3.3. Nombre total d'isolat de <i>salmonelles</i> obtenues par les deux méthodes	76
2. Recherche d'anticorps spécifiques de <i>Salmonella</i> Dublin dans le lait de vache.	76
3. Étude comparative entre les résultats immunologiques du lait et bactériologiques des matières fécales.....	78
4. Étude Cas-Témoin.....	80
4.1. Étude cas-témoin en fonction des résultats bactériologiques	81
4.1.1. Cas-témoin au niveau de l'exploitation	81
4.1.2. Cas-témoin au niveau individuel.....	83
4.2. Étude cas-témoin en fonction des résultats immunologiques du lait	84
III. DISCUSSION.....	86
1. Isolement et identification des souches de Salmonelles dans les matières fécales de bovin.	86
2. Prévalence de Salmonelles en fonction du lieu de prélèvement.....	92
3. Comparaison des deux méthodes d'isolement bactériologique.....	93
4. Recherche d'anticorps spécifiques de <i>Salmonella</i> Dublin dans le lait de vache :	95
5. Étude comparative entre les résultats immunologiques du lait et bactériologiques des matières fécales.....	96
6. Étude Cas-Témoin	97
VI. Conclusion et Recommandations.....	101

Références bibliographiques.

Annexes.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Conduite du sérotypage des salmonella (Anonyme, 2011).....	9
Figure 2 : Les voies d'entrée de <i>Salmonella</i> pour le franchissement de la barrière intestinale.....	15
Figure 3 : Pathogénèse de <i>S. Dublin</i> chez les bovins à l'absorption de bactéries du lait contaminé, l'alimentation ou de l'environnement (Nielsen, 2009).....	17
Figure 4 : Cycle de diffusion des salmonelles dans l'environnement (Bornet, 2000).....	33
Figure 5 : Diagramme d'analyse selon la méthode classique (méthode de routine)	59
Figure 6 : Diagramme d'analyse selon la méthode de référence NF U 47-100.....	60
Figure 7 : Préparation du milieu MSRV (photo personnelle).....	62
Figure 8 : Zone de migration de <i>Salmonella</i> spp. sur milieu MSRV (photo personnelle).	62
Figure 9 : Principe du milieu chromogène	63
Figure 10 : Sérotypage de <i>Salmonella</i> Dublin (personnelle).....	65
Figure 11 : Diagramme comparatif de la méthode classique et la méthode de référence	66
Figure 12 : Aspect des colonies typiques de <i>Salmonella</i> sur milieu Hektoen.....	70
Figure 13 : Aspect des colonies typiques de <i>Salmonella</i> sur milieu XLD (Photo personnelle).....	71
Figure 14 : Aspect des colonies typiques de <i>Salmonella</i> sur milieu RAPID' <i>Salmonella</i> (Photo personnelle).....	71
Figure 15 : Aspect typique d'une culture de <i>Salmonella</i> sur milieu au TSI.....	72
Figure 16 : Aspect d'une <i>Salmonella</i> spp. sur galerie API20E (Photo personnelle).....	72
Figure 17 : Nombre de colonies de <i>Salmonella</i> spp. et <i>Salmonella</i> Dublin après le sérotypage. <i>Salmonella</i> spp. (en vert) et de <i>Salmonella</i> Dublin (en rouge).....	73
Figure 18 : Prévalence globale de <i>Salmonella</i> spp. et <i>Salmonella</i> Dublin par analyse bactériologique	73
Figure 19: Représentation en boîte à moustaches des prévalences de <i>Salmonella</i> spp dans les matières fécales de bovins repris de la littérature..	89
Figure 20: Répartition en percentiles des prévalences de <i>Salmonella</i> spp observées dans la littérature.	89
Figure 21: Représentation en boîte à moustaches des prévalences de <i>S. Dublin</i> selon la littérature .	91
Figure 22: Représentation de la distribution en percentiles des prévalences de <i>S. Dublin</i> observées dans la littérature.	91
Figure 23: Carte géographique de la wilaya d'Alger montrant les communes prélevées.	92

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification des espèces et des sous-espèces du genre <i>Salmonella</i> , l'habitat de la majorité des sérovars isolés et leur nombre selon la 9ème édition des formules antigéniques (Grimont et Weill, 2007).....	4
Tableau 2: Différentes écritures pour désigner le sérovar Typhimurium	5
Tableau 3: Sérovars les plus importants chez les mammifères NF U 47 -100	11
Tableau 4: Prévalence de <i>Salmonella</i> .spp dans les matières fécales des bovins (personnelle).....	27
Tableau 5: Prévalence de <i>Salmonella</i> Dublin dans les matières fécales de vaches (personnelle).....	28
Tableau 6: Prévalence <i>Salmonella</i> Dublin dans le lait (personnelle).	29
Tableau 7: Les types de Prélèvements à effectuer pour le diagnostic de salmonellose.	40
Tableau 8: Milieux sélectifs proposés (Caron et Menard, 1997).	42
Tableau 9: Interprétation des diamètres d'inhibition (Caron et Menard, 1997).	44
Tableau 10: Antibiogramme pour les salmonelloses bovines (Caron et Menard, 1997).	45
Tableau 11: Antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des salmonelloses.....	49
Tableau 12 : Critères de choix de l'antibiotique pour le traitement de la salmonellose chez le veau et chez l'adulte (Chazel et al ., 2005).	50
Tableau 13: Résultats bactériologiques sur la recherche de <i>Salmonella</i> dans les matières fécales de bovin (N=184) en fonction du lieu de prélèvement.....	74
Tableau 14: Comparaison des résultats de la méthode classique avec ceux de la méthode de référence pour l'isolement de <i>Salmonella</i> spp.	75
Tableau 15: Comparaison des résultats de la méthode classique avec ceux de la méthode de référence pour l'isolement de <i>Salmonella</i> Dublin.	75
Tableau 16 : Répartition des Souches de <i>Salmonella</i> spp. et <i>Salmonella</i> Dublin isolées selon la méthode utilisée.....	76
Tableau 17: Résultats bactériologiques et immunologie sur la recherche de <i>Salmonella</i> dans les matières fécales et le lait de bovin en fonction du lieu de prélèvement.	77
Tableau 18: Comparaison des résultats de bactériologie et d'immunologie en prenant la méthode immunologique comme test de référence (<i>Salmonella</i> spp.).....	78
Tableau 19: Comparaison des résultats de bactériologie et d'immunologie en prenant la méthode bactériologique comme test de référence (<i>Salmonella</i> spp.).	78
Tableau 20: Comparaison des résultats de la bactériologie et de l'immunologie en prenant la méthode immunologique comme test de référence (S. Dublin).	79
Tableau 21: Comparaison des résultats de la bactériologie et de l'immunologie en prenant la méthode bactériologique comme test de référence (S. Dublin)	79
Tableau 22: Prévalence en fonction du statut des fermes.....	81
Tableau 23: Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation en fonction des analyses bactériologiques positives à S. Dublin.....	82
Tableau 24: Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation en fonction des analyses bactériologiques positives à <i>Salmonella</i> spp.	82
Tableau 25: Cas-témoin au niveau individuel en fonction des résultats bactériologiques positifs à S. Dublin.....	83
Tableau 26: Cas-témoin au niveau individuel en fonction des résultats bactériologiques positifs à <i>Salmonella</i> spp.	84

Tableau 27: Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation en fonction des résultats obtenus par analyse immunologique du lait (S. Dublin).....	85
Tableau 28: Étude cas-témoin sur le plan individuel en fonction des résultats obtenus par analyse immunologique du lait (S. Dublin).....	85

LISTE DES ABREVIATIONS

C°: Degré Celsius.

Ac: Acide.

AC: Anticorps.

Ag: Antigen.

API: Analytical Profile Index.

ATCC: American Type Culture Collection.

AW: Activity of the Water.

H: Heure.

µl: Microlitre.

ISO: International Organization for Standardization.

ml: Millilitres.

MSRV: Modified Semi-solid Rappaport.

Nm: Nanomètre.

DC: Ornithine-Décarboxylase.

OIE: Office International des Epizooties.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

OIE : Office International des Epizooties.

Nacl: Chlorure de sodium.

S: Seconde.

SFB: Selenite Freaser Broth.

SPI: Salmonella Pathogenicity Islands.

µm: micromètre.

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

RV : Rappaport –Vassiliadis.

XLD : Xylose Lysine Désoxycholate.

GN : Gélose Nutritive.

g : gramme.

% : pour cent.

LPS : LipoPolySaccharides.

Mm : Minute.

AGV : Acides Gras Volatiles.

TTSS : Système de Sécrétion de Type 3.

VCS: Vacuole Contenant des Salmonella.

UFC: Unité Formant Colonie.

OIE: Office International des Epizooties

Kg: Kilogramme.

B.H.I.B : Cœur-Cerveille-Bouillon.

RESSAB : Réseau d'Épidémiologie des Salmonelloses Bovines.

D0 : Densité Optique.

PP : Pourcentage de Positivité.

HRPO: Horser a dish peroxidase

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

HK: Hektoen.

EPT: Eau Peptonnée Tamponnée.

MKTT: Bouillon de Muller-Kauffmann au Tétrathionate

H2S : Sulfure d'Hydrogène.

CD4+ : Cluster de Différenciation 4+.

CD8+ : Cluster de Différenciation 8+.

TSI : Iron Sugar Triple.

PH: Potentiel d'Hydrogène.

Introduction



"Let's hope it's not salmonella"

INTRODUCTION

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

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

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

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

En outre, *Salmonella* Dublin est certainement le sérotype le plus préoccupant au niveau économique, du fait d'abord, de son caractère particulièrement invasif provoquant ainsi des diarrhées aiguës et mortalités, essentiellement observées chez les veaux entre 2 semaines à 3 mois, des septicémies et des troubles de la reproduction traduits notamment en avortements chez le bovin adulte. D'autre part, avec ce sérotype, certains animaux demeurent infectés à vie sans manifester de signes cliniques (porteurs chroniques) ce qui va perpétuer l'infection dans leur environnement (**Richardson et Watson, 1971 ; Radostits et al ., 2007 ; Carrique-Mas et al ., 2010**).

Ainsi, les conséquences des infections à *Salmonella* Dublin sont traduites notamment en un sur plus de travail et des coûts en soins vétérinaires plus élevés (**Hinton ,1974; Peters, 1985**). De ce fait, le contrôle de *Salmonella* dans les troupeaux de bovins contribue de manière significative à la protection de la sécurité alimentaire, ce qui va réduire le risque zoonotique et minimiser aussi les coûts pour les éleveurs en évitant les mortalités et les avortements.

Les objectifs de notre travail ont été les suivants :

- Déterminer la prévalence des espèces de Salmonelles par isolement et sérotypage à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région d'Alger.
- Comparer les différentes méthodes d'isolement des souches de *Salmonella enterica* par la méthode classique (dite de routine) et la méthode de référence NF U 47-100
- Déterminer la prévalence de *Salmonella* Dublin en mettant en évidence les anticorps dirigés contre *Salmonella* Dublin par analyse immunologique du lait.
- Déterminer une association possible entre la présence de S. Dublin dans les matières fécales et le lait.
- Réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un possible lien causal entre la présence des salmonelles chez les bovins et les avortements.

Etude

Bibliographique



"Let's hope it's not salmonella"

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LE GENRE SALMONELLA

1. Taxonomie et évolution de la nomenclature

La nomenclature du genre *Salmonella* est complexe et ne cesse d'évoluer, toutefois une uniformité dans cette nomenclature s'impose afin qu'une communication s'établisse entre les scientifiques, les organismes de santé et le public (**Prescott, 2003; Tortora, 2003**). Selon la seconde édition du Bergey's manual of systematic bacteriology la classification des Salmonelles est la suivante (**Brenner, 2000 ; Deb, 2005**) :

Domaine : Bactérie.

Embranchement XII ou phylum BXII : Proteobacteria.

Classe III : Gammaproteobacteria.

Ordre XII : Enterobacteriales.

Famille I : Enterobacteriaceae.

Genre XXXII : Salmonella.

La classification des salmonelles a été controversée pendant de nombreuses années. Selon la dernière nomenclature, basée principalement sur les hybridations ADN-ADN qui reflète les avancées récentes en taxonomie. Le genre *Salmonella* comprend seulement 2 espèces (**Tableau 1**) : *S. enterica* et *S. bongori* (**Le Minor et al ., 1986**). *Salmonella enterica* est la plus fréquente, elle est divisée en 6 sous-espèces, qui se distinguent par certains caractères biochimiques et certains d'entre elles correspondent aux anciens sous-genres.

Ces sous-espèces sont :

Nomenclature ancienne	Nomenclature actuelle
• Sous-genre =enterica I	Sous-espèces =enterica.
• Sous-genre = Salamae II	Sous-espèces =salamae.
• Sous-genre =arizonae IIIa	Sous-espèces= arizonae.
• Sous –genre = diarizonae IIIb	Sous-espèces = diarizonae.
• Sous –genre =houtenae IV	Sous-espèces = houtenae.
• Sous –genre =indica VI	Sous-espèces =indica.

Salmonella bongori, espèce rare qui correspondant aux anciens sous-genre V (**Humbert ,2005**) et infestant les animaux à sang froid mais rarement les humains, a été pour la première fois isolée chez un lézard, au Bongor (**Tortora et al ., 2003**).

Tableau 1 : Classification des espèces et des sous-espèces du genre *Salmonella*, l’habitat de la majorité des sérovars isolés et leur nombre selon la 9ème édition des formules antigéniques (**Grimont et Weill, 2007**).

Salmonella							
Espèces	Salmonella enterica						bongori
Sous-genre de Kauffmann	I	II	IIIa	IIIb	IV	VI	V
Sous- espèces	enterica	salamae	arizonae	Diarizonae	houtenae	indica	
Habitat	Homme et animaux à sang chaud	Environnement et animaux à sang froid					
Nombre de sérovars	1531						
	(60%)	505	99	336	73	13	22
	2557 (99 %)						
	2579						

On distingue dans chaque sous espèce, des sérovars ou sérotypes caractérisés par leur antigène O, H et éventuellement Vi. Il en existe plus de 2800 décrits (**Bonneffoy et al ., 2002 ; Korsak et al .,2004**).Ces sérotypes sont eux-mêmes divisés en lysotypes , antibiotypes et colicinotypes (**Hasley et Leclers,1993**) .

Par principe, en bactériologie, les sérovars d'une espèce ou d'une sous-espèce bactérienne donnée sont désignés par leurs formules antigéniques qui comportent des lettres et des chiffres (exemple *E. coli* O159 : H7). Les sérovars de *Salmonelles* de la sous-espèce I font exception à cette règle et ils portent un nom. Ces noms ont été proposés initialement par Kauffmann qui pensait que chaque sérovar était une espèce à part entière.

Dans la pratique, seuls les sérovars de la sous-espèce I (*enterica*) ont le droit d'être désignés par un nom (qui ne doit pas être écrit en italiques et doit commencer par une majuscule) et l'on peut utiliser une forme abrégée : par exemple *Salmonella* Typhimurium (**tableau 2**). Les sérovars des autres sous-espèces sont désignés par leur formule antigénique (**le Minor 1992, Pouget, 2006**).

Tableau 2: Différentes écritures pour désigner le sérovar Typhimurium

Ancienne écriture selon Kauffmann	Ecriture compte tenu de la nomenclature actuelle	Ecriture compte tenu de l'aspect pratique
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> sérovar Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium

Actuellement, la désignation des nouveaux sérovars est effectuée exclusivement en fonction de l'origine géographique. (**Grimont, 1992**).

Au Neuvième Congrès International de Microbiologie, il a été décidé de condenser les noms composés : on doit actuellement écrire *Abortusovis*, *abortusqui*. (**Bergey et Holt, 1968**). En ce qui concerne le sérovar *Gallinarum Pullorum*, on peut noter que l'édition 1997 de l'ouvrage « formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* » le désigne simplement par l'appellation *Gallinarum*.

2. Critères bactériologiques

2.1. Morphologie

Les bactéries du genre *Salmonella* sont des bacilles à gram négatif, de 0,7 µm à 1.5 µm de largeur sur 2.0 µm à 5.0 µm de longueur, ne présentent ni spores ni capsule, mobiles grâce à une ciliature péritriche, à l'exception de certains mutants immobiles (*Salmonella Pullorum Gallinarum*) et *S. Avium* (**Fasquelle, 1974 ; Avril et Faucher, 2002 ; Fosse et Magras, 2004**).

2.2. Culture

Les salmonelles sont des germes mésophiles aéro-anaérobies facultatives, qui se cultivent après 24h d'incubation et à 37° C sur milieu ordinaire. Les colonies obtenues sont circulaires à bord régulier et ont un diamètre de 3-4 mm.

A partir d'un échantillon monomicrobien une gélose ordinaire suffit à leur croissance alors que dans les cas de prélèvements polymicrobien comme les selles, des milieux sélectifs sont indispensables. (Blondel et Cadot ,2002).

2.3. Caractères biochimiques

Les salmonelles ont des caractères biochimiques communs fondamentaux. Ceux-ci sont utilisés pour leur identification. Les méthodes utilisées visent à identifier l'expression du phénotype au niveau du métabolisme de la cellule. On recherche ainsi :

- **La fermentation du sucre ou d'alcools** : en présence d'un indicateur de pH (rouge phénol ou bleu de bromothymol). On peut ainsi mettre en évidence la présence d'acides produits par fermentation d'un substrat fermentescible. Lorsqu'ils sont en quantité suffisante, l'indicateur de pH vire.

- **La production de métabolites** : recherche de nitrites produits à partir de nitrates, d'indole à partir du tryptophane, recherche des gaz produits au cours de la fermentation du glucose...

- **Les enzymes bactériennes** : la décarboxylase de la lysine (LDC), la tétrathionate réductase (TTR), la désaminase du tryptophane (TDA), l'uréase, la bétagalactosidase...

- **L'aptitude à cultiver en milieu minimal** en utilisant une source de carbone définie (par exemple le citrate de sodium en milieu de Simmons).

.- absence d'oxydase ; (Gledel et Corbion, 1991 ; Leclerc et al ., 1995 ; Korsak et al . , 2004 ;Humbert, 2005).

Néanmoins, des exceptions existent pour certains sérovars :

- S. Seftenberg peut fermenter le lactose ou le saccharose.

- les souches appartenant aux deux sous-espèces arizonae et diarizonae possèdent une

bêta-galactosidase et peuvent également fermenter le lactose (**Gledel, 1996 ; Larpent et Larpent, 1997**)

- *S. Paratyphi A* ne produit pas de H₂S, ne possède pas de LDC et n'utilise pas le citrate de Simmons.
- *S. Typhi* est agazogène, produit peu de H₂S, ne possède pas d'ODC et n'utilise pas le citrate de Simmons.
- *S. Choleraesuis*, *S. Heidelberg* (**Humbert, 2005**) et *S. Gallinarum* peuvent ne pas produire de H₂S (**Korsak et al ., 2004**).

3. Pouvoir antigénique :

Les caractères biochimiques ne permettent malheureusement pas une identification précise de la bactérie. Par contre, les caractéristiques antigéniques des salmonelles définissent plus de 2500 sérovars dont 1300 au sein de la sous-espèce I (**Grimont et al ., 1994**). WHITE et KAUFFMANN ont établi, dès 1925, une classification des salmonelles basée sur leur identification antigénique. Ces antigènes sont recherchés à l'aide d'immuns-sérums de lapin(**Le Minor et Veron ,1982 ; Silue ,2007**).

3.1. Structure antigénique et facteurs de virulence

- **Antigène de la paroi ou antigène somatique ou l'antigène O** : est porté par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharidique (LPS), composant majoritaire de la membrane externe de la paroi des bactéries à gram négatif (**Humbert, 2005**).

Il est important de distinguer deux types de facteurs antigéniques O :

- Les facteurs **O** majeurs: caractéristiques des sérovars classés dans le tableau de Kauffmann-white dans un même sérogroupe O, tels les facteurs O : 2 du sérogroupe A, O : 4 du sérogroupe B, O : 9 du sérogroupe D,... etc. Ils sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O : 4, tyvélose pour O : 9...) (**Humbert, 2005**).
- Les antigènes **O** accessoires : toujours liés à un antigène majeur, leur intérêt est mineur et leur présence est liée à la modification de la structure du LPS par une enzyme, un bactériophage ou par un plasmide.

Chez les souches R, l'antigène O n'existe pas ; le cors ou ce qu'il en reste est responsable de spécificités sérologiques R, qui sont sans intérêt pour le typage antigénique (**Humbert, 2005**)

L'antigène O est :

- Thermostable, résiste au chauffage 2h à 100°C.
- Alcoolostable (non détruit par l'alcool à 50%).
- Inhibe par le formol à 5‰, sans pour autant empêcher son agglutinabilité (Moustardier, 1968 ; Le Minor, 1972).

- Antigène flagellaire ou H :

Ils ne se rencontrent que chez les formes mobiles ; de nature protéique ; sont thermolabiles, détruits par l'alcool à 50% et résistent au formol. Ces antigènes peuvent se présenter sous deux formes différentes désignées par les termes « phase 1 » et « phase 2 ». La plupart de sérovars expriment alternativement les deux phases et sont dits diphasiques.

Une inversion de phase est nécessaire pour révéler la forme qui n'est pas représentée.

L'agglutination H est rapide, floconneuse, facilement dissociable (Villate, 2001 ; Brisabois, 2006).

-Antigène d'enveloppe ou Vi

L'antigène Vi a été découvert par Félix et Pitt chez *S. Typhi*, et n'a été identifié que chez trois sérovars : *salmonella* Dublin *salmonella* Typhi, et *Salmonella* Paratyphi avec une fréquence décroissante. Toutefois, toutes les souches de ces sérovars ne possèdent pas cet antigène (Rycroft, 2000).

Sa spécificité réside en sa capacité à masquer l'antigène O, mais un chauffage à 100° C pendant une dizaine de minutes, permet de le solubiliser et démasquer ainsi l'antigène O qui devient alors agglutinable les sérums anti-O. L'antigène Vi est thermolabile et résiste à l'alcool et au formol (Monteil et al., 2000).

- Antigènes M (des souches muqueuses)

Ils existent chez quelques salmonelles, généralement peu mobiles.

- Antigènes R (pour les souches rugueuses)

Ils ne sont mis en évidence que chez les formes R (rough) de *Salmonella*. Chez les formes S, ceux-ci seraient en profondeur de la paroi, masqués par l'antigène O. Les souches R ne sont donc pas sérotypables.

3.2. Détermination et classification des sérovars

Le sérotypage permet d'obtenir la formule antigénique qui désigne un sérovar par une technique d'agglutination directe sur lame mettant en jeu différents antisérums avec la

bactérie à tester, sa méthodologie est illustrée dans **la figure1**. Il est impératif de vérifier que la souche n'est pas auto-agglutinable en la testant en eau physiologique, le sérotypage ne pourra se faire qu'en cas de réaction négative. Une réaction positive signifierait le caractère auto-agglutinant de la souche et de ce fait réagirait avec tous les sérums (**Bonnefoy et al., 2002**).

Le test se poursuit en utilisant les sérums mélangés anti-O : d'abord le sérum OMA ensuite le sérum OMB afin de déterminer les groupes correspondants, pour exemple, une agglutination positive avec le sérum OMA signifie que la souche appartient à un des groupes A, B, D, E, et L, on recherchera alors l'agglutination dans les sérums anti-O caractéristiques de ces groupes (**Bonnefoy et al., 2002**).

Dans le cas d'une réaction négative avec les sérums OMA et OMB, il est nécessaire de vérifier la présence de l'antigène Vi en testant le sérum anti-Vi, s'il est présent, il sera détruit afin de permettre le sérotypage. Dans le cas contraire, il sera nécessaire de vérifier qu'il s'agit bien d'une *Salmonelle* avant de recommencer le sérotypage.

Le sérotypage est ensuite complété par le test des sérums anti-H correspondant au groupe. On détermine ainsi le nom du sérovar en se reportant au tableau de Kauffmann-white.

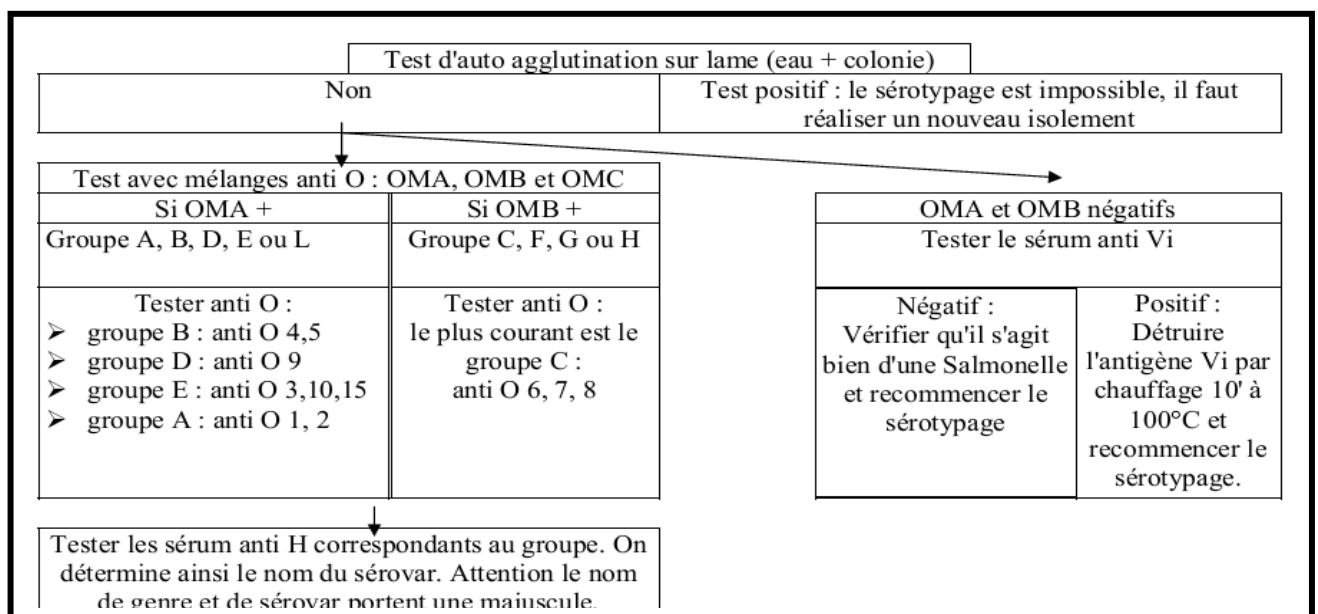


Figure 1 : Conduite du sérotypage des salmonella (Anonyme, 2011)

Le schéma de Kauffmann-white est le tableau des formules antigéniques des sérovars de *salmonella* où sont indiqués, dans l'ordre, les facteurs O, l'antigène Vi éventuellement, les

antigènes H phase 1 et 2. **Le tableau 3, les sérovars les plus importants chez les mammifères (NF U47-102 /Janvier 2008).**

Par exemple, la formule antigénique du sérovars **Dublin** s'écrit 1, 9,12 [Vi] : g, p, ce qui signifie qu'il possède les facteurs O : 9- majeur- et 12 accessoire-, qu'il possède occasionnellement l'antigène Vi et antigène H g, p.

Tableau 3: Sérovars les plus importants chez les mammifères NF U 47 -100

Salmonella enterica subsp .enterica	
Groupe O : 4	
Salmonella Typhimurium	: 1,4 ,5,12 :I :1,2
Salmonella Derby	: 1,4,5,12: f, g: -
Salmonella Bredeney	: 1, 4, 12,27:I,v :1,7
Salmonella Indiana	: 1,4,12: z:1,7
Salmonella Abortusovis	: 1, 12: C: 1,6
Groupe O:7	
Salmonella Infantis	: 6,7,14:r : 1,5
Salmonella Virchow	: 6,7 : r :1,2
Salmonella Thompson	: 6, 7 :k :1,5
Salmonella Montevideo	: 6,7,14 :g ,m, s -
Groupe O: 8	
Salmonella Newport	: 6,8 ,20 : e, h : 1,2
Salmonella Goldcoast	: 6, 8 : r :l, w
Salmonella Hadar	: 6,8 : z 10 : e, n ,x
Groupe O: 9	
Salmonella Enteritidis	: 1,9, 12 :g ,m : -
Salmonella Dublin	: 1,9 , 12 [Vi] :g, p : -
Salmonella Panama	: 1,9, 12 :Iv :1,5
Groupe O : 3, 10	
Salmonella Anatum	: 3,10 : e, h :1 ,6
Salmonella Give	: 3,10 : I ,v :1,7
Salmonella London	: 3,10 : I ,v :1 ,6
Groupe O : 1,3, 19	
Salmonella Sentfenberg	: 1, 3 , 19: g, t :

4. Physiologie des salmonelles

4.1. Température(T°)

Les salmonelles se multiplient de 7 à 41°C et sont détruites par des températures de l'ordre de 65/70°C appliqués durant 5 à 15 minutes. **Plym-forshell et Ekesbo (1993)** ont observé que *S. Typhimurium* et *S. Dublin* survivaient au moins 35 jours dans le fumier des bovins, mais pas plus de 24 heures dans une cuve à fermentation à 55°C. (**Fosse et Magras ,2004 ; Silue ,2007**).

4.2. Potentiel d'hydrogène (pH)

Les salmonelles se multiplient à des pH compris entre 4,5 et 9.0 avec un optimum entre 6,5 et 7,5, mais peuvent supporter des pH plus acides allant jusqu'à 3.8, elles sont détruites à des pH inférieurs à 3,8 et supérieurs à 9,4 (**Grimont et al ., 2000**).

4.3. Activité de l'eau (Aw)

Les valeurs optimales pour leur croissance sont comprises entre 0,945 et 0,999 mais peuvent survivre dans des produits déshydratés tels que les farines, dans les aliments elles peuvent se multiplier jusqu'à des valeurs d'Aw de 0,93. (**Grimont et al., 2000**).

4.4. Autre facteurs

Les Salmonelles sont inactivées par la lumière et les rayons ionisants. et également sont relativement sensibles au sel (NaCl), elles ont pu être isolées de saumures à 3,2 % (**Peiffer, 1999**).

CHAPITRE 2 : Les salmonelloses bovines

I. Pathogénie

1. Contamination de l'hôte et la notion de dose infectante

La relation hôte-parasite est influencée par de nombreux facteurs : la virulence du sérovar, la résistance naturelle ou acquise de l'hôte, la dose infectante et la voie d'infection. Les doses nécessaires pour provoquer l'infection varient selon l'âge de l'animal et la souche.

L'excrétion fécale de salmonelles est très élevée chez les bovins en phase clinique : 10^6 à 10^8 bactéries /g (Sojka, 1974 ; Martel, 1985). Certains auteurs ont montré que des vaches pouvaient excréter entre 10^5 et 10^6 de *Salmonella* Dublin par gramme de fèces 30 mois après un épisode clinique.

1.1. Facteurs bactériens

Des inoculums d'une souche de *S. Dublin* de plus de 10^6 UFC (Unité Formant Colonie), administrés per os conduisent généralement à des signes cliniques chez les veaux entre 0 et 196 jours d'âge, mais la gravité des symptômes et les changements pathologiques varient avec l'âge de l'animal (Nielsen, 2009) et les fréquences sont proportionnelles à la taille de l'inoculum (Smith et al., 1979).

Des différences de pathogénicité, en particulier sur le plan qualitatif, existent entre sérovars. En effet, les facteurs de virulence ou de toxicité ne sont pas uniformément distribués entre les sérovars. Par exemple, la capsule (antigène Vi) n'est présente que chez certains sérovars : Typhi, Paratyphi et Dublin. Cependant, les répercussions sur les doses infectantes et la clinique restent encore mal connues.

1.2. Facteurs liés à l'hôte

Les veaux dans la période non sérvants (moins de 6 à 8 semaines) sont très sensibles. Des études chez les bovins plus âgés sont rares, mais une étude expérimentale dans l'inoculation par voie intraveineuse de $0,1-1,4 \times 10^{10}$ UFC a été donnée aux génisses âgées de 27 mois à 44 mois de maladie grave déclarée. D'autre part, les études sur le terrain de l'avortement affirment que l'avortement se produit souvent avec peu ou pas d'autres signes cliniques que la fièvre transitoire. Cette différence pourrait être due à des doses plus faibles d'infection dans des conditions normales de la ferme et au fait que l'infection pénètre généralement dans l'hôte par la bouche et le canal gastro-intestinal et non par voie intraveineuse. On a constaté que des doses orales de 10^{10} ou 10^{11} donnée à neuf génisses gravides ont donné des réponses

variables de l'absence de signes cliniques de la maladie grave de dysenterie, la fièvre et les avortements.

D'après **Hall et JONES (1978,)**, l'administration de doses élevées de salmonelles directement dans le rumen ne provoque ni symptômes ni infection intestinale. Certains paramètres du milieu ruminal inhibent le développement des bactéries, essentiellement des teneurs élevées en acides gras volatiles (**Chambers et Lysons, 1979**). Ainsi, une irrégularité des apports alimentaires, le jeûne, via la production d'AGV (Acides Gras Volatiles), pourraient favoriser la survie des salmonelles dans le rumen.

La période du post-partum s'accompagne d'une plus grande fréquence des cas cliniques et également de l'excrétion fécale (**Morisse et al ., 1992**). L'immunodépression liée à la mise bas, les changements alimentaires avec les perturbations digestives qui en résultent, expliqueraient ce phénomène.

Tous les facteurs de dysfonctionnement digestifs peuvent être incriminés : le parasitisme, les perturbations de la motricité et la flore ruminale (**HALL et al ., 1979**).

2. Invasion intestinale

2.1. Phase d'adhésion des salmonelles

Les salmonelles pénètrent, puis transitent par les entérocytes, envahissant plus profondément les tissus à travers et entre les cellules épithéliales sans destruction de la muqueuse, puis prolifèrent dans la lamina propria et les ganglions mésentériques (**Van Immerseel et al ., 2005**). (La figure 2).

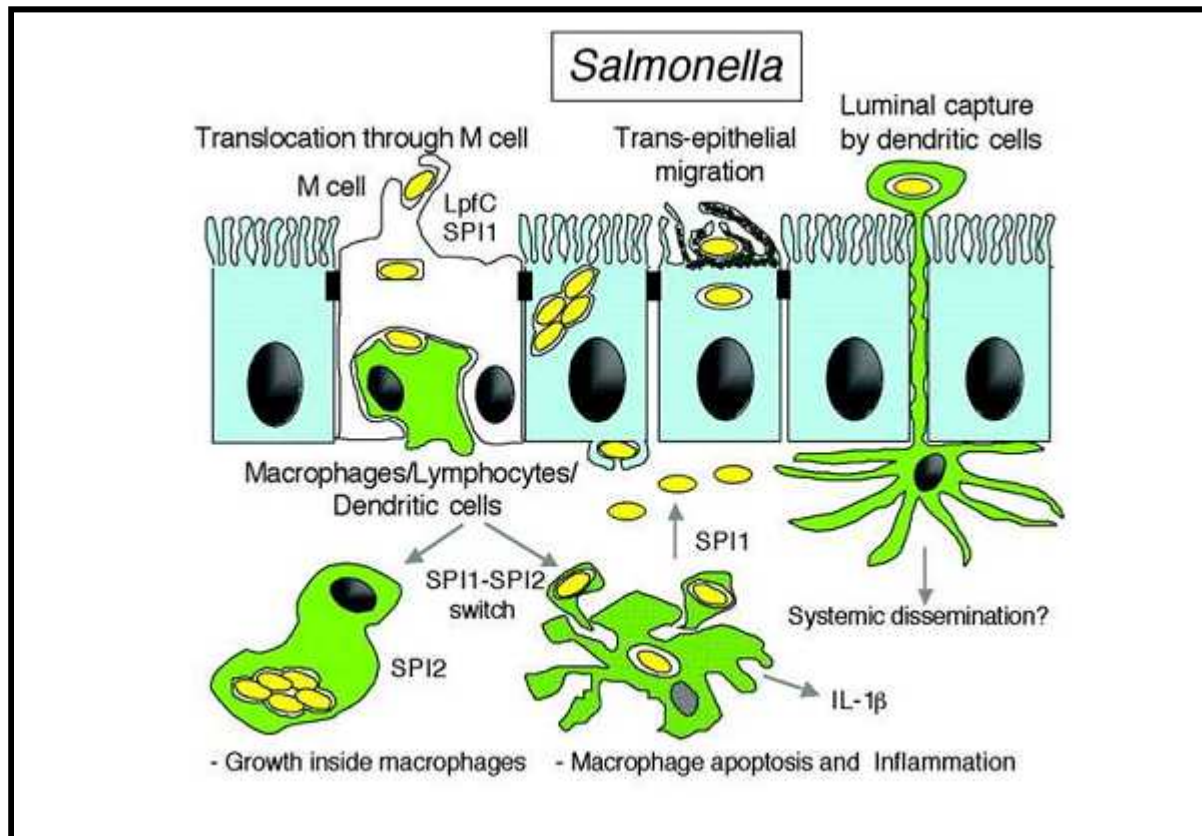


Figure 2 : Les voies d'entrée de *Salmonella* pour le franchissement de la barrière intestinale.

(Cossart et Sansonetti, 2004).

Trois portes d'entrée sont utilisées par *Salmonella* pour traverser l'épithélium intestinal : l'invasion des cellules M, l'invasion des entérocytes et la capture luminaire par les cellules phagocytaires CD18+. Véhiculées par les macrophages résidents ou les cellules CD18+, les salmonelles rejoignent ensuite la voie lymphatique jusqu'au ganglion mésentérique puis la voie sanguine en cas de dissémination systémique.

2.2. Invasion des entérocytes

L'invasion des cellules épithéliales constitue une étape cruciale dans la pathogénèse (Van Immerseel et al., 2005). Elle débute 15 min après l'infection, ce temps est nécessaire à la sécrétion des molécules impliquées dans l'invasion (Santos et al., 2002). L'apparition d'appendices appelés « invasomes » résulte de l'interaction entre la bactérie et la face apicale des cellules épithéliales ; induisant simultanément une dégénérescence des microvillosités et de la bordure en brousse avec ondulations membranaires des cellules épithéliales (Millemann, 1998).

Au moment où la bactérie s'attache à la cellule de l'hôte, elle injecte une série de protéines bactériennes à l'intérieur de celle-ci. Ces protéines vont interagir avec les protéines de la cellule hôte.

Au niveau intestinal, les salmonelles présentent une certaine affinité pour les cellules M des plaques de Peyer, elles sécrètent un ensemble de molécules grâce à un système de sécrétion particulier appelé TTSS (Type Three Secretion System / Système de sécrétion de type 3). Parmi les protéines codées par ce système, les « invasines » se fixeraient à des récepteurs spécifiques des cellules M et faciliteraient leur invasion (**Palumbo et Wang, 2006**).

La reconnaissance et la liaison aux cellules M nécessiteraient la présence des fimbriae (adhésines) et de résidus de type mannosyl dans le mucus, il s'ensuit une rapide internalisation puis une destruction de la cellule M (**Korsak et al., 2004**).

2.3. Apoptose des entérocytes

L'Apoptose est un phénomène naturel permettant de contrebalancer la prolifération des entérocytes au niveau des cryptes. Elle permet l'élimination des cellules sans libération des molécules intracellulaires et donc sans inflammation. Or, les salmonelles semblent induire l'apoptose des cellules intestinales après invasion et réplication des bactéries. Il semblerait que cette apoptose constitue un moyen de défense non spécifique de la part de l'hôte et participerait à l'élimination des bactéries. Il apparaîtrait également que cette apoptose permettrait aux bactéries de s'adapter à l'environnement avant d'envahir des tissus plus profonds (**Olsen, 2005**). D'après des études récentes, il semblerait que ce mécanisme, qui inclue l'activation d'une protéine appelée caspase-1, provoquerait davantage une nécrose

qu'une apoptose d'où le terme « pyroptose » (**Jarvelainen et al., 2003**). Le gène SpvB conduit à la mort par apoptose des cellules eucaryotes (**Kurita et al., 2003**).

3. Dissémination systémique

Après avoir franchi la barrière épithéliale, les salmonelles phagocytées par les macrophages sont transportées jusqu'aux nœuds lymphatiques, il semblerait que les cellules dendritiques participent également à ce transport (**Yrild, 2001**).

A l'intérieur des macrophages, les salmonelles se retrouvent dans une vacuole VCS (Vacuole Contenant des Salmonella) qui peuvent survivre et s'y multiplier. Leur

multiplication est sous le contrôle du système de sécrétion de type 3 (TTSS) codé par l'îlot de pathogénicité 2 (SPI-2). Ce dernier présente une structure en aiguille par laquelle des protéines bactériennes sont injectées à travers la membrane de la vacuole (**Van Immerseel, 2005**). Certaines souches de *S. Dublin* ont une virulence plus élevée ce qui signifie qu'ils vont mieux passer la paroi intestinale, les obstacles dans le système lymphatique et ont une meilleure survie intracellulaire que les autres souches. Cela peut expliquer en partie les différences dans les signes cliniques et l'évolution des épidémies dans les troupeaux de bovins **Figure 3 (Nielsen, 2009)**.

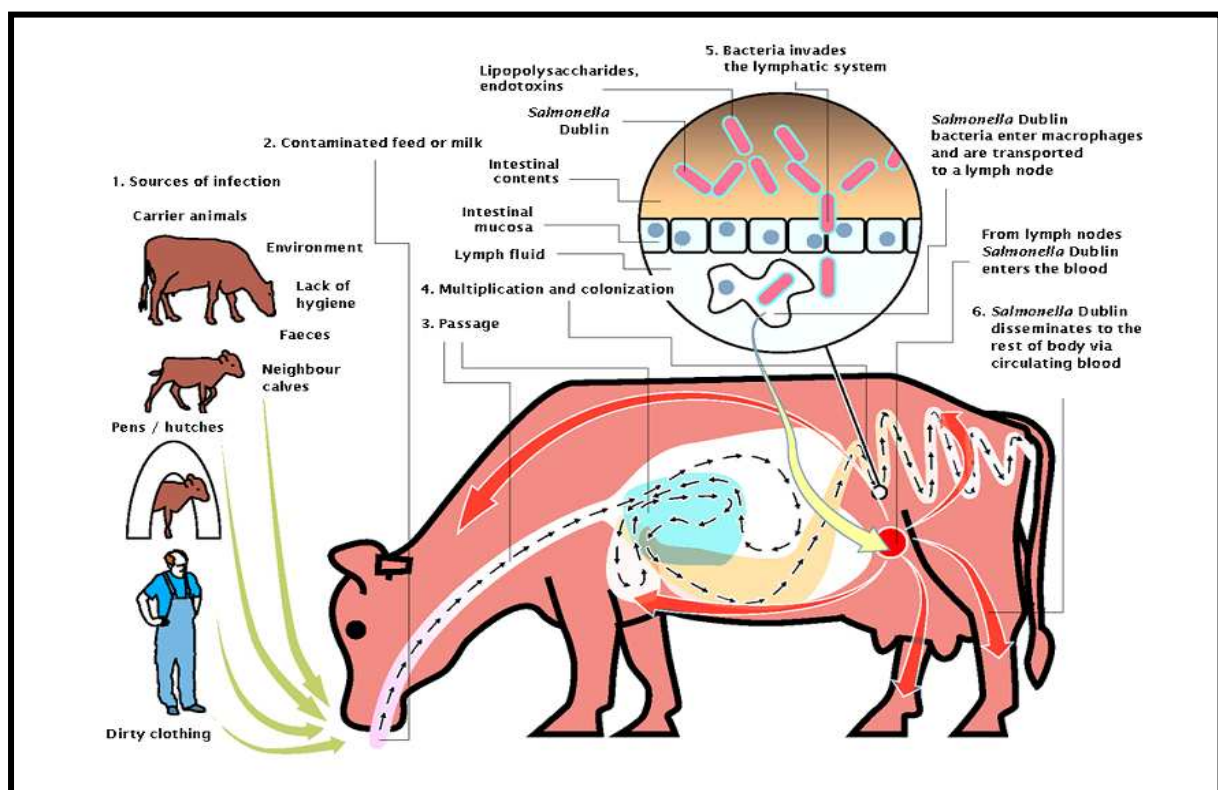


Figure 3 : Pathogénèse de *S. Dublin* chez les bovins à l'absorption de bactéries du lait contaminé, l'alimentation ou de l'environnement (**Nielsen, 2009**).

3.1. Mécanismes de la survie intracellulaire.

3.1.1. Inhibition de la fusion phagolysosomiale.

Les protéines bactériennes ont un rôle dans l'inhibition de la fusion entre la VCS et le lysosome du macrophage. Le macrophage dispose d'une arme très efficace dans la lutte anti bactérienne, la NADPH-oxydase des phagocytes catalyse la réduction d'oxygène en

superoxyde qui a un effet antibactérien puissant. Lors de la stimulation du macrophage (**Malo et Salez, 2004**).

Les différentes sous unités de ce complexe enzymatiques fusionnent et l'activent mais *Salmonella* d'une stratégie pour inhiber la production de la NADPH oxydase ou bloquer la migration des vésicules contenant la NADPH oxydase vers la VCS (**Cossard et Trans Van Nhieu, 2001**).

3.1.2. Survie dans le phagolysosome

A l'intérieur du phagolysosome, les salmonelles doivent résister à des conditions extrêmes : faible pH (4.5 à 5.5), absence de calcium et de nutriments, action délétère des enzymes, des défensines (peptides cationiques) ainsi que des substances oxydantes. D'ailleurs, la croissance intracellulaire est ralentie et ne se déclenche qu'après 5 à 6 heures (**Sansonetti, 1992**).

Récemment, d'autres gènes essentiels pour la survie des salmonelles dans le phagolysosome ont été découverts : il s'agit de gènes situés sur les îlots de pathogénicité SPI1 et SPI2 qui codent pour des protéines du système TTSS et dont la nécessaire est régulée par le complexe SsrA/SsrB. Les produits de ces gènes sont nécessaires pour la réplication cellulaire, notamment dans les macrophages, et pour la dissémination systémique de *Salmonella* Dublin chez le veau (**Zhang et al ., 2003**).

3.2. Facteurs bactériens de dissémination

3.2.1. Flagelles

Constitués principalement d'une protéine –la flagelline permettent à la bactérie de se déplacer par chimiotactisme. Celui-ci s'effectue par l'intermédiaire de récepteurs protéiques membranaires. Les flagelles sont également porteurs des antigènes H (**Libby et al ., 2004**).

3.2.2. Lipopolysaccharides (LPS)

Est composé de trois parties : le lipide A fixé à la membrane externe (c'est l'endotoxine des entérobactéries), le cors ou partie basale (oligosaccharide constant chez les *salmonella* cultivant sous forme de colonies lisses S alors que chez les mutants chez R, il est incomplet ou n'est pas lié aux chaînes suivantes) et les chaînes polysaccharidiques latérales appelées antigènes et sont moins pathogènes. Du fait de sa forte charge électro-négative, le LPS est thermostable et confère à la bactérie les propriétés suivantes : résistance aux sels biliaires, aux détergents, aux protéases ; aux lipases, au lysozyme (**Rycroft, 2000**).

3.2.3. Le plasmide de virulence Vi

Plusieurs sérovars de *Salmonella* hébergent des plasmides de virulence importants pour la phase systémique de l'infection, nécessaires pour la propagation de l'infection au-delà de la barrière intestinale, permettant notamment l'augmentation du taux de croissance des salmonelles dans le foie et la rate (**Van Asten et Van Dijk, 2005**).

3.2.4. Système de captation du fer

Le fer est un des facteurs de croissance indispensable pour la multiplication des salmonelles chez l'hôte. Le fer est alors en concentration trop faible dans les liquides biologiques pour permettre cette multiplication. Cet abaissement de la concentration en fer libre constitue un moyen de défense non spécifique de l'hôte. Les salmonelloses synthétisent alors des sidérophore afin de capter le fer. Il s'agit de protéines appelées entérobactines codées par le gène *ent* situé sur le chromosome bactérien (**Popoff et Norel, 1992**).

3.2.5. Toxines

Différentes toxines sont responsables des manifestations cliniques observées chez l'hôte, parmi les toxines produites par les salmonelles :

- **L'endotoxine** : est constituée du lipide, composant des LPS, jouant un rôle dans les diarrhées des formes gastro-entériques (**Garre et Pennec, 2003**).
- **La cytotoxine** : se produit *in vitro* par une inhibition de la synthèse des protéines et la mort cellulaire.
- **L'entérotoxine** : 55% des souches de salmonelles produisent une entérotoxine thermolabile similaire sur le plan antigénique et immunologique à la toxine cholérique, les autres salmonelles par contre produisent une entérotoxine thermolabile (**Baiod, 1997**).

3.2.6. Îlots de pathogénicité

Ces îlots génomiques regroupent de nombreux gènes impliqués dans une même fonction telle que le métabolisme, l'adaptation à un environnement spécifique, la résistance aux antibiotiques ou encore la virulence. Ils ont été acquis par transfert horizontal et de ce fait, présentent un pourcentage en G+C (Guanine et Cytosine) différent du reste du chromosome. De plus, ils sont souvent flanqués de structures mobiles de type transposons, séquences répétées inversées ou intégrons et proches d'un gène codant pour un ARNt. Les îlots regroupant des gènes contribuant à la virulence de *Salmonella* sont appelés SPI pour

Salmonella Pathogenicity Islands. Ces îlots de pathogénicité contiennent des gènes qui participent à un même phénotype de virulence. Chez *Salmonella*, plus de 20 îlots de pathogénicité ont été identifiés jusqu'à maintenant et leur taille varie de 10 à 100 kb. Parmi ceux-ci, les îlots SPI-1 et SPI-2 codent pour des systèmes de sécrétion de type III appelés T3SS-1 et T3SS-2 respectivement et ils jouent un rôle majeur durant l'infection. L'îlot SPI-4 code pour un système de sécrétion de type I impliqué dans l'adhésion aux cellules épithéliales. D'autres îlots tels que SPI-3 à 7, SPI-10, 11, 13, 14, 18 et 19 sont aussi impliqués dans la virulence alors que les rôles de SPI-8, 9, 12, 15 à 17, 20 et 21 restent inconnus. **(Hacker et Kaper, 2000).**

Un autre îlot génomique important est SGI-1 pour *Salmonella* Genomic Island-1. Cette région de 43 kb a été initialement découverte chez *S. Typhimurium* DT104 et regroupe de nombreux gènes codant la résistance à divers antibiotiques incluant l'ampicilline, le chloramphénicol, la streptomycine, les sulfonamides, et la tétracycline **(Mulvey et al ., 2006)**. Autres îlots génomiques, SGI-1 ainsi que de nombreux autres gènes de résistance aux antibiotiques sont flanqués de structures mobiles de type transposons ou intégrons et ils ont été acquis par transfert horizontal. Le génome de *Salmonella* est en constante évolution de par sa capacité à acquérir et intégrer de l'ADN étranger, ce qui lui confère la faculté de s'adapter à son environnement et notamment à l'utilisation des antibiotiques par l'homme **(Miriagou et al ., 2005)**.

4. Genèse des signes cliniques

4.1. La diarrhée

Les mécanismes par lesquels les salmonelles causent de la diarrhée n'ont pas encore été complètement élucidés. Des études *un vitro* montrés chez *S. Typhimurium* la translocation de protéines du système de sécrétion de type III (SSTT). Ces protéines, dans le modèle d'entérocolite à *S. Typhimurium* chez le veau, sont nécessaires pour provoquer l'infiltration de neutrophiles, probablement en induisant la production de chémokines dans le tissu iléal. La réponse inflammatoire aiguë qui s'en suit est associée à une augmentation de la perméabilité vasculaire se traduisant par un œdème de la muqueuse. En outre, l'afflux de neutrophiles est associé à une nécrose de la muqueuse iléale supérieure. L'augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinal conduit à des fuites de fluides extravasculaires et à la transmigration massive de neutrophiles dans la lumière intestinale. Cela suggère que la perte de liquides observée lors d'entérocolite à *S. Typhimurium* est due au moins en partie à un mécanisme

inflammatoire, qui pourrait même jouer un rôle plus important que la production de toxines (Zhang et al., 2003).

4.2. Le choc

La pénétration des Salmonelles dans le système réticulo-endothélial permet leur dissémination vers les organes tels que le foie et la rate où elles se multiplient, s'ensuit alors une phase bactériémique puis un envahissement de l'ensemble des organes. La libération d'endotoxine après lyse bactérienne induit un choc toxique.

Le choc est expliqué par l'action du LPS à activité endotoxinique. Il est relayé par une cascade de médiateurs (cytokines, lipides vasoactifs, amines vasoactives, complément, système de la coagulation...). Les effets cardiovasculaires sont dominants (Schelcher et Valarcher, 1997).

4.3. L'avortement

Deux hypothèses expliqueraient les avortements salmonelliques. La première hypothèse s'appuie sur la multiplication des bactéries dans le placenta ayant pour conséquence la naissance prématurée d'un veau porteur de salmonelles. La seconde hypothèse est fondée sur la production d'endotoxines par les salmonelles. Malgré une clairance rapide des endotoxines dans le sang et l'absence de lésions spécifiques dans les tissus maternels et fœtaux, cette seconde hypothèse a été plusieurs fois suspectée dans des avortements associés à une infection salmonellique. Les endotoxines induiraient la production de prostaglandines lutéolytiques ayant pour conséquence une concentration en progestérone insuffisante pour maintenir la gestation (Foley et Schlafer, 1994).

II. Symptomatologie de la salmonellose bovine

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

1. Principales formes cliniques

La salmonellose revêt plusieurs aspects cliniques en fonction du sérotype, de l'animal atteint et de la pathogénie, mais elle reste grave dans tous les cas.

1.1. Forme digestive

Chez le veau, elle est observée chez les animaux âgés de un jour à deux jours. La forme aiguë est la plus fréquente et la plus grave. Les symptômes sont une hyperthermie et un syndrome fébrile qui précède de 24 heures l'apparition d'une diarrhée fibrino-nécrotique, malodorante, glaireuse et hémorragique (on peut observer parfois des débris de muqueuse intestinale). Le veau souffre de coliques et de déshydratation importante. Ce tableau clinique aboutit dans 90% des cas à la mort de l'animal si un traitement n'est pas mis en place. Chez les veaux de plus de 6 à 8 semaines d'âge, une forme chronique peut se mettre en place avec des symptômes non caractéristiques : diarrhée mastic et jaunâtre, la température parfois légèrement élevée, maigreur, déshydratation et complications articulaires, mais l'évolution est aussi mortelle.

Par ailleurs, chez les adultes elle concerne essentiellement les vaches laitières à haute production peu après le vêlage, et se manifeste de la façon suivante : abattement, hyperthermie, atonie ruminale, diminution de la production de lait et diarrhée nauséabonde, parfois hémorragique accompagnée de coliques et de ténésme (**Petrie, 1991**). Des coliques et une dysenterie sévère sont en général observées avec S. Dublin et S. Typhimurium. Le taux de morbidité peut atteindre 25% et la mortalité est élevée en l'absence de traitement (**Martel et Savey, 1992**).

1.2. Forme génitale

Elle se traduit par un avortement entre le 6^{ème} et 8^{ème} mois de gestation (**Martel et Pardon, 1980**), les animaux peuvent avorter avant, pendant et surtout quelques semaines après les autres signes cliniques (**Hinton, 1971 ; 1974**). Différents sérotypes ont été incriminés lors d'avortement, entre autres Typhimurium (**Kahrs, et al ., 1972**) , Newport (**Clegg et al., 1983**), Brandenburg(**Clark et al ., 2004**). Mais S. Dublin est un des sérotypes prédominant chez les bovins c'est lui qui est le plus fréquemment impliqué dans les avortements à Salmonella (**Hinton ,1971**), et plus souvent en l'absence d'autre signes cliniques (**Hinton, 1974**). Ils sont généralement suivis de rétention placentaire dans 90% des cas (**Martel et Pardon, 1980**). Il n'y a pas d'augmentation de l'infertilité ni de l'anoestrus (**Marchal, 1997**). De plus les vaches qui sont porteuses actives ou latentes peuvent donner naissance à des veaux infectés de façon congénitale (**Richardson, 1973 ; 1974**). Ces veaux souvent mort-nés ou alors meurent rapidement près de la naissance. (**Hinton, 1974**).

1.3. Forme septicémique

Suite à l'invasion systémique de la bactérie, généralement chez les veaux, il se développe une fièvre importante, dépression sévère, anorexie, dyspnée, et autre signes de pneumonie, de la faiblesse et parfois des signes neurologiques comme incoordination, nystagmus, opisthotonos, ou convulsion (Smith, 2002 ; Radostits et al., 2007). Cette septicémie peut être rapidement fatale (de quelques heures à 1 ou 2 jours) et la mort n'est pas toujours précédée de signes cliniques apparents (Anderson et Blanchard, 1989).

1.4. Forme respiratoire

On la retrouve surtout dans les élevages intensifs, en raison d'une contamination possible par voie aérienne ou conjonctivale, l'animal présente une toux sèche et quinteuse, accompagnée de jetage et de conjonctivite, des symptômes généraux et une diarrhée discrète. Cette forme se rapproche cliniquement des broncho-pneumonies infectieuses enzootiques (Caron et al., 1997)

2. Autres formes

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

3. Portage asymptomatique

Il est difficile de formuler des hypothèses sur l'origine du portage : soit il persiste après les cas cliniques, soit il les précède. On ne connaît précisément ni les facteurs bactériens ni ceux liés à l'hôte qui évitent que le portage provoque la maladie. Le porteur présente un danger dans la transmission de l'infection au sein de l'élevage. En revanche, plusieurs animaux deviennent porteurs de *Salmonella* suite à une bactériémie et excrètent ensuite la bactérie de façon continue ou intermittente dans les fèces et parfois le lait, à partir de la vésicule biliaire ou des intestins. Ce phénomène est beaucoup plus fréquent avec les sérotypes adaptés à l'hôte comme *S. Dublin*, mais a également été rapporté pour *S. Typhimurium*. (Ogilvie, 1986). Certains animaux peuvent devenir porteurs sans avoir démontré de signes cliniques au moment de la primo-infection. Ils peuvent également développer une septicémie aiguë ou une entérite lorsque leur système immunitaire est affaibli par un stress ou une infection concomitante, lors de stase digestive ou lorsque leur flore intestinale normale a été perturbée (lors d'anorexie, d'acidose du rumen ou suite à un traitement antimicrobien par exemple) (Smith, 2002 ; Radostits et al., 2007).

4. Symptomatologie des salmonelloses humaines

Les salmonelloses humaines peuvent être séparées en deux groupes : typhiques et non typhiques qui diffèrent par leur épidémiologie et leur clinique.

4.1. Salmonelloses typhiques

Il s'agit d'une septicémie qui évolue classiquement en trois phases (**Pierre, 2013**).

- **Première phase** : cette phase débute après une incubation de 7 à 15 jours. Les premiers signes à apparaître sont des céphalées, des vertiges, des troubles digestifs discrets.

- **Seconde phase ou phase d'état** : c'est le véritable typhos. Le patient présente une forte hyperthermie (40°C), un état de choc. L'état général est sévèrement altéré et les signes digestifs plus marqués.

- **Troisième phase** : si le patient ne reçoit pas de traitement, de nombreuses complications apparaissent, amenant au décès.

4.2. Salmonelloses non typhiques

Les salmonelloses non typhiques sont en revanche très fréquentes en France. Généralement, le tableau clinique est une gastro-entérite aiguë mais la dissémination septicémique est possible en particulier chez les enfants ou les personnes immuno-déprimées (**Pierre, 2013**).

4.2.1. Salmonelloses non typhiques digestives

Leur incubation est généralement comprise entre 5 et 72 heures. Le tableau typique est celui d'une gastro-entérite aiguë fébrile associant diarrhée, douleurs abdominales, nausées et vomissements, céphalées, fièvre et malaise général. Ce tableau disparaît en 2 à 3 jours.

4.2.2. Salmonelloses non typhiques septicémiques

Ces pathologies sont observées surtout chez le jeune enfant et chez le sujet immunodéprimé. La porte d'entrée est généralement digestive. Le tableau clinique associe un syndrome infectieux sévère à une splénomégalie. Les sérotypes les plus fréquemment rencontrés sont *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* et *S. Heidelberg*. Avec fièvre Oscillante et élevée, des frissons, une tachycardie, la diarrhée, les douleurs abdominales, les vomissements et altération de l'état général. La septicémie peut aussi avoir un aspect pseudo-typhoïdique avec fièvre constante à

39- 40°C céphalées, tujphos des signes digestifs et un pouls dissocié La septicémie peut aussi passer totalement inaperçue, seul un pic thermique isolé peut être signalé (**Dellamonica et Pradier, 1992**).

4.3. Autres formes de salmonelloses non typhiques

Les formes les plus fréquentes sont pleuro-pulmonaires, uro-génitales et cardio-vasculaires, arrivent ensuite les atteintes Ostéo-articulaires et les formes neuro-méningées, en particulier les méningites purulentes du nourrisson. Ce sont des formes considérées comme rares mais de plus en plus observées de nos jours, elles surviennent en général chez des individus immunodépressifs (cancer, greffes d'organes, corticothérapies à long cours ; hémopathies malignes, VIH) et succèdent à un épisode septicémiques ou à une bactériémie, généralement discrète voire inapparente. (**Gledel et Corbion, 1995**).

4.4. Salmonelloses cutanées

Ce type de symptôme est parfois décrit chez les vétérinaires ou les éleveurs suite à des manœuvres obstétricales mais également chez les techniciens des centres d'insémination artificielle et les employés d'abattoir (**Martel et Savey, 1992**).

La salmonellose évolue sous forme d'une dermatite pustuleuse touchant les mains et les avant-bras. Elle apparaît 2 à 4 jours après l'extraction d'un veau mort ou emphysémateux. Elle se caractérise par des points rouges de petite taille regroupés en plaque et évoluant en pustules. Ces symptômes régressent spontanément en une quinzaine de jours. Une aggravation est possible avec atteinte importante de l'état général et des lésions dermatologiques étendues et douloureuses, voire ulcérées (**Vissier, 1991**).

III. Tableau lésionnel chez les bovins

Elles ne sont pas univoques mais elles permettent une forte orientation du diagnostic qui pourra être confirmé par la bactériologie. Différents tableaux lésionnels peuvent être rencontrés en raison des formes cliniques très variées mais il est possible d'avoir des situations intermédiaires (**Caron et al ., 1997**).

1. Forme digestive

Entérite catarrhale à hémorragique à partir de l'iléon jusqu' au côlon. Ulcères gastrique chez le veau (fréquent), ganglions mésentériques hypertrophiés et hémorragiques, hémorragies des séreuses, contenu intestinal nauséabond avec du sang, muqueuse hémorragique épaissie avec

souvent des ulcères, hypertrophie du foie et de la rate, foyers nécrotiques sur le foie et la rate, vésicule biliaire distendue, épaissie et présence de pétéchies. Dans la phase évaluée, la muqueuse congestionnée est recouverte par un exsudat qui coagule à sa surface donnant des fausses membranes ou « omelettes fibrineuse ». Ces dépôts fibrineux peuvent être abondants et très adhérent, et ils recouvrent des lésions ulcéro-nécrotiques de la muqueuse.

2. Forme génitale

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

3. Forme septicémique

On note que la Carcasse est congestionnée. Des hémorragies multiples sont observées sur de nombreux organes tels que des pétéchies au niveau de la sous –muqueuses, de la sous-séreuse, la plèvre, l'endocarde, le rein et les méninges. Un épanchement est observé dans les grandes cavités et la rate revêt un aspect congestionné et pulpeux. L'ensemble de ces lésions correspond à un phénomène de coagulation intraveineuse disséminée provoqué par les toxines salmonelliques.

4. Forme respiratoire

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

5. Autres formes

En cas d'arthrite salmonellique, le liquide synoviale est jaune foncé et floconneux (**Caron et Menard, 1997**).

IV. Épidémiologie

1. Épidémiologie descriptive

1.1. Répartition géographique

La salmonellose est présente partout dans le monde. Les cas surviennent sporadiquement ou de manière groupée. Elle est principalement associée aux sérotypes Dublin et Typhimurium.

1.2. Prévalence

Tableau 4:Prévalence de *Salmonella.spp* dans les matières fécales des bovins (personnelle).

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

Tableau 5: Prévalence de *Salmonella* Dublin dans les matières fécales de vaches (personnelle)

Animal	Pays	La méthode utilisée	Nombre de prélèvements (Matières Fécales)	Prévalence de <i>salmonella</i> . Dublin	Références
Bovine	USA (Californie)	Culture	/	10,7%	Pacer et al., 1989
Vache	Danemark	Culture	4531	6%-14%	Nielsen et al., 2004
Bovine	USA	Culture	393/1560	1 %	Edrington et al., 2004
Vache	Danemark	Culture	6331	2003 : 24% 2009 : 12%	Ersboll et Nielsen , 2011
Vache	Danemark	Culture	6614	0,3% - 2,8%	Nielsen et al., 2013

Tableau 6: Prévalence *Salmonella* Dublin dans le lait (personnelle).

Animal	Pays	La méthode utilisée	Nombre de prélèvements (Lait)	Prévalence <i>salmonella</i> . Dublin	Références
Vache	USA (Californie)	ELISA	/	14.1%	Smith et al., 1989
Vache	USA	Culture	861	0.11% (n=1)	Van Kessel, 2004
Vache	Danemark	ELISA	/	11%	Nielsen, 2009
Vache	Californie	Culture	/	13%	Poppe, 2011
Vache	Suède	ELISA	1069	17%	Nyman et al., 2013
Vache	Irlande	ELISA	309	49%	Doherty et al., 2013 ; 2014

2. Épidémiologie analytique

2.1. Sources de salmonelles

Il existe de nombreuses sources d'infection pour les salmonelles et différentes sources sont souvent inter-reliées.

2.1.1. Sources primaires

- **Bovins**

Les bovins malades et convalescents représentent les sources les moins nombreuses mais les plus intenses de bactéries. L'excrétion au moment de l'épisode clinique atteint des doses de 10^8 à 10^{10} Salmonelles/g de fèces ou de tissu placentaire (**Corbion et al., 1995**).

Les bovins porteurs asymptomatiques peuvent également excréter des salmonelles. On distingue alors deux types d'animaux. Chez certains, après passage transmembranaire de la barrière intestinale, les salmonelles sont complètement inactivées par les cellules immunitaires dont les macrophages : l'animal est complètement guéri et l'excrétion n'est que transitoire. D'autres animaux, à la suite d'un épisode clinique ou après ingestion, sans symptômes, de salmonelles, deviennent porteurs latents. Les bactéries colonisent et persistent dans les nœuds lymphatiques, notamment mésentériques, et l'infection peut se pérenniser dans l'exploitation. Ces bovins peuvent alors excréter, de façon continue ou épisodique, de l'ordre de 10^3 à 10^6 bactéries/g de fèces. (**Karin et al., 2011**).

- **Autre animaux domestiques**

Les ruminants domestiques peuvent se trouver au contact d'autres animaux domestiques ou entrer en contact avec des matières contaminantes souillées par ceux-ci. Ainsi, la salmonellose équine avec portage sain n'est pas une rareté. Également, une possibilité existe de voir des chiens et des chats véhiculer des salmonelles. On a découvert sur des chats destinés à la recherche pharmaceutique que 15 sur 142 étaient porteurs de *Salmonella* spp. (**Fox et Beaucage, 1979**).

- **Faune sauvage**

Une autre source de contamination est en train d'émerger dans les pays occidentaux :

les nouveaux animaux de compagnie, en particulier les reptiles (serpents, iguanes, tortues, lézards...) dont 90 % sont porteurs de salmonelles. Il faut aussi savoir que les oiseaux de compagnie et les petits rongeurs (furet), mais aussi les animaux de compagnie (chien, chats) font partie de l'important réservoir animal de ces bactéries (**Gledel, 1885**).

Les estimations de la prévalence chez les reptiles varient de 6 à 100 % chez les tortues, de 30 à 76 % chez le lézard et de 54 à 100% chez les serpents (**Karin, et al., 2011**). Plus récemment dans une étude menée par **Ricard (2013)** a montré que les jeunes enfants, en particulier ceux âgés de moins de 5 ans, sont très vulnérables aux infections à *Salmonella*. Des cas de méningite à *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Vitkin ont été décrits chez un nourrisson de 1 Mois et demi contaminé par une tortue (**Ricard et al ., 2013**).

- **Homme**

La salmonellose est une zoonose. L'homme est susceptible d'être contaminé par l'animal, pouvant inversement être une source ou un vecteur de salmonelles pour les bovins. Cette contamination d'homme à animal est ignorée. L'homme malade peut être une source de salmonelles via les fèces, les eaux usées. L'homme est également un excellent vecteur par ses mains, ses habits et ses bottes. Le vétérinaire peut être concerné par ce type de transmission. (**Carter et al ., 1983**).

2.1.2. Sources secondaires

- **Aliment :**

On sait depuis assez longtemps que les aliments du bétail peuvent être contaminés par *Salmonella* spp et être à la source d'une contamination du bétail à plusieurs étapes de la chaîne de production (production des ingrédients de base, traitement et mélange à la meunerie, entreposage...). Cependant, la principale source de contamination est souvent les ingrédients de base eux-mêmes. Les aliments peuvent aussi être contaminés par *Salmonella* spp. lors de la distribution entre autres si l'aliments est en contact avec des insectes, animaux sauvages ou oiseaux porteurs de la bactérie (**Garber et al ., 2003**).

On peut également retrouver des salmonelles dans l'ensilage récolté d'un champ contaminé par des oiseaux sauvages ou encore dans des fourrages, grains de coton ou ensilage vert provenant de champ contaminés, lors d'irrigation avec de l'eau non traitée provenant de fermes laitières ou contaminées par des déchets humains. Plusieurs études ont rapporté la

présence de *Salmonella* dans du lait de réservoir, des filtres à lait, ou du lait de vaches individuelles (**Morse et Duncan, 1974**).

Le lait peut être incriminé dans la contamination des veaux, en particulier avec *S. Dublin* (**Osborne et al ., 1977**).

2.2. Résistance des salmonelles dans le milieu extérieur

Cet aspect de la biologie des salmonelles a été abordé par de nombreux auteurs, mais si les conclusions sont positives quant aux possibilités de survie, elles divergent parfois notablement sur la durée de cette survie. Peut-il d'ailleurs en aller autrement lorsque tant de paramètres entrent en jeu : conditions climatiques, nature des supports, nature des sols, composition bactérienne, par exemple, selon l'impact de différents facteurs, la survie des salmonelles dans le sol peut aller de 30 jours à 1 an (**Jones, 1979**). Exemple pour *Salmonella* Dublin (**Fidlay, 1972**) :

- dans les fèces d'un animal infecté, survie supérieure à 28 semaines.
- lors d'épandage, la survie au sommet de l'herbe serait de 10 jours contre 14 à 19 jours à la base de l'herbe.

Et général (**Gledel, 1985**) fournit de nombreuses informations :

- inactivation des salmonelles par la chaleur (en bouillon) à 60°C en 1h25 ou à 70°C en 5 mn.
- inactivation par les rayons solaires : 10 j.
- survie dans des produits secs : poussières (80 j), déjections sèches (de 90 à 185 j).
- survie à 8°C : en eau de rivière (de 20 à 120 j), dans le sol (2 mois), dans la boue (plus de 3 mois).
- survie sur des revêtements : métal (55 j), terre (43 j), plancher en bois (87 j), boxes pour aliment (108 j).
- survie dans l'eau : eau de pluie (118j), eau de puits (90 j), eau du robinet (29j).

Il semble aussi que *S. Dublin* puisse persister 73 jours dans les fèces en hiver et 119 jours en été, alors que pour certains, cette survie pourrait être plus longue encore : 6 mois dans les fèces à l'extérieur et 10 mois sur les murs, voire 8 à 36 mois dans les fèces desséchées. Et aussi les salmonelles pénètrent dans le sol et leur temps de survie dans ce dernier est double de celui observé à la surface du sol. Les sols lourds assurent une meilleure protection que les sols sableux (**Mac Manus et Lanier, 1987**).

L'ensemble des données rapportées ci-dessus indique bien que les salmonelles possèdent une aptitude à survivre dans le milieu extérieur pendant des périodes de temps non négligeable en

fonction de nombreux paramètres dont les conditions climatologiques et la nature du sol ou du support.

2.3. Modalités de la transmission

2.3.1. Transmission directe ou indirecte

2.3.1.1. Transmission directe

Deux types de transmission sont à envisager :

- **Horizontale**

Cette transmission résulte d'un contact direct entre un animal sain et un animal porteur ou excréteur. Elle peut être le fait d'un léchage, d'une coprophagie et nécessite une promiscuité importante entre les animaux. Une vache, en excréant des salmonelles dans son lait, contamine son veau lors de la tétée. (Clinton et Weaver, 1981) (voir figure 4).

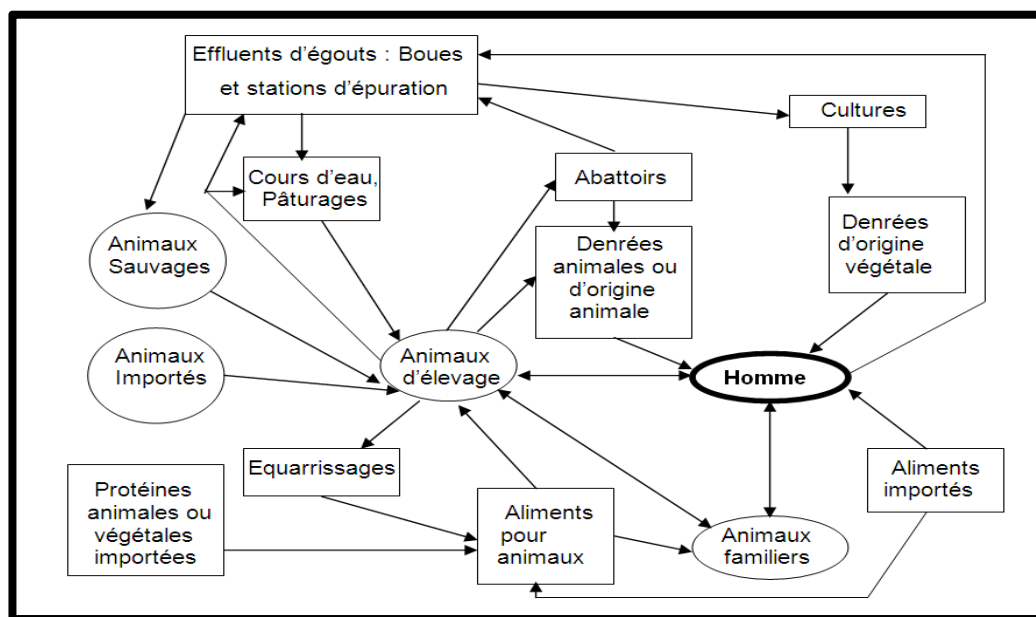


Figure 4 : Cycle de diffusion des salmonelles dans l'environnement (Bornet, 2000)

- **Verticale**

Certains proposent que l'infection du veau se fait au moment du vêlage ou peu après celui-ci, par les fèces, les sécrétions vaginales ou le lait de la mère (Osborne et al., 1977).

D'autres pensent que l'infection transplacentaire est possible en particulier avec *S. Dublin* (Counter et Gibson, 1980). Cette contamination *in utero* entraînerait une naissance prématurée.

2.3.1.2. *Transmission indirecte*

Elle constitue la principale modalité de transmission et se fait par l'intermédiaire de l'environnement, c'est –à – dire via le matériel souillé, l'abreuvement, le vétérinaire... (Corbion et al., 1995).

2.3.2. Voies de contamination

La voie orale est la porte d'entrée la plus classiquement décrite, en cohérence avec une contamination à partir d'aliments infectés ou par léchage d'un environnement souillé.

Une contamination par voie respiratoire est possible dans les conditions naturelles ou expérimentales après exposition à des aérosols ou à des poussières infectées.

Outre les formes pulmonaires de salmonellose, la porte d'entrée respiratoire peut conduire à une atteinte digestive secondaire après bactériémie. D'autres voies de contamination, comme la voie conjonctivale, ou génitale sont probablement mineures en termes de fréquence. (Wathes et al., 1988).

2.4. Réceptivité et facteurs de risque

2.4.1. Facteurs intrinsèques

2.4.1.1. *Le génotype*

Rien ne semble prédisposer une race à la salmonellose clinique : cette maladie touche aussi bien les laitières que les races allaitantes (Evans et Davis, 1996). Cependant, on peut se demander si un facteur génétique ne pourrait pas intervenir dans le développement d'une résistance aux salmonelles en général ou à certains sérotypes en particulier (Lantier et al., 1995).

2.4.1.2. *L'Age*

Les animaux âgés de 3 à 6 semaines seraient plus sensibles que les autres. Cette sensibilité serait à relier à l'immaturité du système immunitaire chez ces animaux, en particulier la protection conférée par médiation cellulaire (Chatuverdi et Sharma, 1981), ainsi qu'à une plus grande sensibilité à la déshydratation (Martel, 1985).

Les animaux âgés sont eux aussi plus sensibles que les autres : une moindre « efficacité » du système immunitaire peut être suspectée. On peut également s'interroger sur la différence entre primipares et multipares. Les premières pourraient être plus sensibles à l'infection par *S. Dublin* générant un avortement (**Richardson, 1973**).

2.4.1.3. Le sexe

Le sexe joue indirectement un rôle dans la sensibilité à la salmonellose. Les femelles sont plus sensibles étant donné les différents états physiologiques qu'elles traversent (gestation, lactation). Ces événements sont immunodépresseurs et favorisent donc la contamination et l'excrétion de salmonelles (**Morisse et Cotte, 1994**).

2.4.1.4. L'individu

L'état général de l'animal ainsi que son état immunitaire conditionnent fortement sa capacité à se défendre contre des affections extérieures.

2.4.2. Facteurs extrinsèques

2.4.2.1. Le sérovar

La majeure partie des sérotypes doit être considérée comme pathogène pour les bovins. A l'exception de certains sérovars tels que Paratyphi B, essentiellement adapté à l'homme, la plupart s'adapte facilement à de multiples hôtes. Cependant, il semblerait qu'avec les sérotypes autres que *Dublin* et *Typhimurium*, la maladie soit moins sévère chez les bovins (**Williams, 1980**). De même, au sein d'un sérotype, certaines souches possèderaient un pouvoir pathogène plus marqué : c'est le cas du lysovar DT 104 pour *S. Typhimurium* (**Schelcher et Valarcher, 1997**).

2.4.2.2. L'alimentation

Ce ne sont pas les aliments eux-mêmes qui sont considérés comme facteurs de risque, bien que l'ingestion d'acides gras à courtes chaînes modifie l'attachement des salmonelles aux parois intestinales (**Machan et Shotts, 1992**). Les transitions alimentaires, par le stress et les modifications de la flore digestive qu'elles occasionnent constituent l'un des principaux facteurs et autoriseraient une sensibilité accrue des bovins aux salmonelles (**Evans et Davis, 1996**). L'équilibre de la ration constitue également un facteur de risque important : les salmonelles semblent sensibles à des teneurs élevées en AGV (acide gras volatils) On peut noter une inhibition de la croissance de *S. Typhimurium* pour des concentrations en

AGV supérieures à 50 m mol/l à pH = 6.1 (**Machan et Shotts, 1993**). Par conséquent, une irrégularité des apports alimentaires ou un jeûne pourraient, via une faible production d'AGV, favoriser la survie des salmonelles dans le rumen (**Schelcher et Valarcher, 1997**) et donc le passage d'un nombre plus important de ces organismes dans l'intestin. La sous-alimentation ou des carences en oligo-éléments, sels minéraux et en particulier le magnésium, notamment constatées en fin de gestation, conduisent probablement à une prédisposition supérieure des bovins aux infections (**Davis et Renton, 1992**). Ces carences sont d'ailleurs souvent sous-estimées.

Des apports irréguliers ou insuffisants en eau sont également susceptibles de favoriser l'émergence de cas cliniques en particulier lorsqu'ils sont associés à des stress climatiques : fortes chaleurs ou froid important (**Schelcher et Valarcher, 1997**).

2.4.2.3. Les traitements

L'emploi répété de corticoïdes, par leur action immunodépressive, favorise le passage de l'état de porteur asymptomatique à celui de malade. Le recours à l'antibioprévention peut modifier la compétition des micro-organismes de l'intestin et augmenter ainsi les risques d'infection. De même, une antibiothérapie inadaptée, peut aboutir à l'inverse du résultat escompté étant donné la multirésistance des salmonelles et le déséquilibre de la flore digestive induit. (**Aubry, 2010**).

2.4.2.4. Le logement, l'environnement et la saison

La contamination de l'environnement augmente (et par conséquent le risque de nouvelles infections) au cours de l'été et de l'automne. De plus, la saison chaude favorise également la prolifération d'insectes pouvant contribuer à la contamination des aliments par des Salmonelles. Aussi, le stress lié à la chaleur pourrait rendre les vaches laitières plus susceptibles à une nouvelle infection par *Salmonella* spp. Ou encore pourrait favoriser l'excrétion chez les porteurs asymptomatiques. En effet, plusieurs des réponses physiologiques au stress relié à la chaleur peuvent favoriser la persistance ou la multiplication des salmonelles chez l'animal: diminution de la consommation alimentaire, diminution de la rumination et de la motilité intestinale, acidose ruminale et diminution de la production d'AGV dans le rumen.

La stabulation libre augmente le risque de la contamination que la stabilisation entravée puisque en limitant une contamination diffuse de l'environnement.

Les troupeaux de plus grande taille montrent un taux de positivité plus important (presque la totalité d'échantillon positifs) pour *Salmonella* comparés aux troupeaux de petite taille (Aubry, 2010).

3. Modalités de transmission de la salmonellose bovine à l'homme

3.1. Les toxi-infections alimentaires (T.A.I)

T.A.I à *salmonella* représentent en moyenne 20 à 30 % en France. En dehors des sérotypes ayant acquis une spécificité d'espèce bien établie, il convient de considérer tous les sérotypes comme de potentiellement dangereux pour l'homme. Pratiquement toutes les denrées alimentaires peuvent être contaminées par les *salmonella* tout au long de la chaîne alimentaire (Jean, 1978).

La guérison est spontanée mais elle peut être mortelle chez les nourrissons, les personnes âgées et les immunodéprimés (Aubry, 2004)

3.2. La filière viande

L'entrée des salmonelles dans l'abattoir se réalise essentiellement à partir des animaux porteurs asymptomatiques. Elles sont ainsi présentes au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques et hépatiques, au niveau du tractus digestif mais également au niveau du cuir et des onglons. Ces localisations permettent une contamination des viandes lors de l'abattage, de l'écorchage et de l'éviscération. Les viandes les plus exposées à cette contamination sont les viandes hachées issues d'un processus de séparation mécanique, leur qualité microbienne est étroitement liée à celle de la matière première, aux conditions de stockage et d'utilisation de cette matière première. En effet, une température de stockage supérieure à 5°C n'inhibe plus la multiplication bactérienne. Les procédés de séparation, de broyage et de hachage autorisent une dissémination des salmonelles dans l'ensemble de la viande. Associés au fait que le steak haché atteint rarement une température à cœur de 74°C, ces éléments expliquent peut-être que cette denrée soit la plus fréquemment incriminée lors de contamination humaine à base de produits carnés d'origine bovine (Puyalto, 1997).

3.3. La filière lait

La contamination du lait a deux origines possibles (**De Buyser et al ., 2005**).

- Une origine intra-mammaire : excrétion de lait directement contaminant (rare).
- Une origine extra-mammaire : contamination d'un lait sain lors de la traite à partir des écoulements génitaux, des déjections des animaux malades et des porteurs sains. L'eau servant aux opérations de nettoyage des trayons peut également contaminer le lait.

3.4. Contamination directe par contact avec les animaux malades

Ce mode de contamination est souvent sous-estimé et il convient de rappeler aux personnes qui vivent au contact des animaux malades les risques qu'ils encourent. En effet, un animal malade excrète des quantités considérables de salmonelles : jusqu'à 10^9 bactéries /gramme d'excréments lors d'entérite aiguë et par gramme de placenta ou de sécrétions utérines lors d'avortement. Donc la contamination se fait par lors manipulation obstétricales. Les éleveurs manipulent les litières souillées, les fumiers, les lisiers, les placentas c'est –à –dire possibilités de contamination à la famille de l'éleveur et principalement penser aux sujets les plus sensibles (jeunes enfants et personnes âgées). Ces salmonelloses trop souvent qualifiées de « mineures » ne doivent pas être négligées car elles sont responsables de plusieurs dizaines de décès par an (**Martel, 2001**).

V. Diagnostic

1. Diagnostic clinique

Le diagnostic clinique est difficile puisqu' aucun des signes cliniques n'est pathognomonique et que plusieurs autres maladies peuvent ressembler aux différentes formes de salmonellose. (**Radostits et al., 2007**). Le diagnostic différentiel est difficile à réaliser.

2. Diagnostic différentiel

2.1. Chez le veau

La forme septicémique de la salmonellose est semblable à une septicémie à coliformes. Quant à la forme entérique, elle peut ressembler à la maladie causée par plusieurs autres agents pathogènes intestinaux du veau : rotavirus, coronavirus, diarrhée virale bovine, clostridies, cryptosporidies, coccidies. colibacillose (**Radostits et al ., 2007**). Les salmonelloses pulmonaires n'ont pas de caractères particuliers sur le plan clinique et tous les agents de la

broncho-pneumonie enzootiques sont à considérer : mycoplasmes, pasteurelles, IBR, BVD (**Caron, Menard et Simon ,1997**).

2.1. Chez l'adulte

Le diagnostic différentiel doit être effectué avec les affections suivantes : forme entérique infestations vermineuses, coccidioses, paratuberculose, babésioses, maladie des muqueuses, gripes intestinales, déplacement de caillette, acidose, alcalose, intoxication végétale.

La suspicion de salmonellose serait plus facile à faire chez l'adulte que chez le veau. L'avortement se produit dans plus de 90 % des cas à partir du 5^{ème} mois de gestation (**David, 1972**). Il est parfois précédé d'une forme entérique quelques jours auparavant. L'examen clinique peut dans de rares cas permettre d'identifier d'autres causes d'avortements. Seul le laboratoire pourra confirmer un avortement dû à Salmonella.

3. Diagnostic nécropsique

Les lésions de salmonellose, comme nous l'avons décrit-ci dessus, sont peu spécifiques mais l'autopsie permet de fournir une orientation parmi les nombreuses hypothèses diagnostiques. De plus, elle est l'occasion de faire des prélèvements de l'organe lésé afin de les envoyer au laboratoire (**Caron, Menard et Simon ,1997**).

4. Diagnostic de laboratoire

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

4.1. Prélèvements

Ils sont résumés dans le **tableau 7**(**Ventola, 1979-1980**).

Tableau 7: Les types de Prélèvements à effectuer pour le diagnostic de salmonellose.

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

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

4.2. Diagnostic bactériologique

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

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

4.2.1. La première étape :

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

4.2.2. La deuxième étape

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

Trois types de milieux d'enrichissement peuvent être utilisés :

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

4.2.3. La troisième étape :

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

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

En santé animale, 4 géloses d'isolement sont proposées. **Le tableau 8** présente les propriétés de ces milieux sélectifs (**Caron et Menard, 1997**).

Tableau 8: Milieux sélectifs proposés (Caron et Menard, 1997).

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

4.2.4. L'étape de confirmation :

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

4.2.4.1. Identification biochimique

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

4.2.4.2. Identification sérologique

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

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

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

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

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

L'ISO «International Standard Organization» a proposé également la norme **ISO 6579** destiné à mettre au point des méthodes applicables aux échantillons prélevés dans les exploitations. Ce projet prévoit l'utilisation de MSRV comme milieu d'enrichissement pour *Salmonella* (**ISO 6579**).

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

4.2.6. Antibiogramme

La détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries pathogènes est essentielle pour détecter les souches résistantes et guider le clinicien dans le choix d'un anti-infectieux. Il a également un intérêt pour la surveillance de l'antibiorésistance.

La méthode de diffusion en gélose utilisant des disques imprégnés d'antibiotiques est particulièrement adaptée à la détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne à croissance rapide comme les salmonelles vis-à-vis de plusieurs antibiotiques, en principe une molécule représentative de chacune des principales familles d'antibiotiques (Labbe, 1994).

Cette méthode est standardisée afin d'être interprétable et de permettre l'exploitation de l'ensemble des résultats obtenus. Le diamètre d'inhibition est comparé à la valeur critique proposée pour chaque anti-infectieux pour définir la catégorie des sensibilités critiques. En général, 2 valeurs critiques (d et D) permettent de définir 3 catégories des sensibilités **tableau 9**.

Tableau 9: Interprétation des diamètres d'inhibition (Caron et Menard, 1997).

Lecteur	Expression des résultats	Signification thérapeutique dans le cadre de la thérapeutique humaine par voie générale	Signification en thérapeutique vétérinaire
Diamètre $\geq D$	Souche sensible	Souche pour laquelle la probabilité succès thérapeutique est acceptable	Succès thérapeutique probable
$d \leq \text{diamètre} \leq D$	Souche intermédiaire	Succès thérapeutique imprévisible	Souche considéré comme résistante
Diamètre $< d$	Souche résistante	Forte probabilité d'échec thérapeutique	Forte probabilité d'échec thérapeutique

Pour les salmonelloses d'origine bovine, le RESSAB propose l'antibiogramme type ci-joint (**tableau 10**) et les critères d'interprétation.

Tableau 10: Antibiogramme pour les salmonelloses bovines (**Caron et Menard, 1997**).

Antibiotiques	Diamètres seuils *
Amoxicilline (ampicilline)	21 mm
Amoxicilline+acide clavulanique	21 mm
Céfalexine	18 mm
Ceftiofur	?
Cefquinone	?
Streptomycine	15 mm
Spectinomycine	?
Néomycine(Kanamycine)	17 mm
Gentamycine(Apramycine)	16 mm
Chloramphénicol (Thiamphénicol)	23 mm
Florfénicol	?
Colistine (PolymyxineB)	15 mm
Triméthoprim	16 mm
Fluméquine	25 mm
Enrofloxacin	22 mm
Tétracycline	19 mm

*Les diamètres seuils sont des valeurs sont des valeurs proposées pour les résultats de l'antibiogramme. Une souche est considérée comme résistante si le diamètre de la zone d'inhibition, exprimé en mm, est inférieur à cette valeur.

4.2.7. Délai d'analyse

Cette méthode de diagnostic bactériologique direct dans le cas des salmonelloses bovines permet de donner une information de suspicion de présence de salmonella 24 heures après l'ensemencement ; en effet, dans le cas de salmonelloses cliniques, la densité de bactéries pathogènes libérées est importante et la bactérie est révélée dès l'isolement direct. Dans ce cas, il est alors possible dès le lendemain (48 heures après l'ensemencement initial) d'avoir l'identification biochimique et parfois sérologique de la souche. Dans le cas d'un résultat négatif à la coloration directe, le résultat de l'analyse est repoussé de 24 heures.

4.3. Autres méthodes de diagnostic

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

Méthodes immunologiques :

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

La prudence doit toujours être la règle lors de l'interprétation des résultats. Comme pour tout diagnostic sérologique, un résultat positif ne signifie pas nécessairement une infection en cours ; de même un animal séronégatif peut être excréteur.

La sérologie « salmonellose » présente par ailleurs d'autres limites réduisant encore les possibilités d'utilisation des résultats (**Caron et al ., 1997**). Il s'agit notamment :

- du manque de sensibilité de l'épreuve de séroagglutination lente.
- de l'existence d'un très grand nombre de sérovars de *Salmonella* ayant pour certains d'entre eux des communautés antigéniques à l'origine de réactions croisées (ex. : sérovar Typhimurium et Enteritidis); le manque de spécificité est également accru par l'existence de réactions croisées entre les *Salmonelles* et d'autres entérobactéries.
- de la variabilité des résultats entre séries d'épreuves et entre laboratoires pouvant résulter d'une part de l'absence de suspensions antigéniques commercialisées pour la plupart des sérovars isolés sur les bovins , d'autres part, de l'absence de sérums témoins de référence.

Tous ces aspects limitent considérablement l'intérêt de l'utilisation de la sérologie pour la détection des animaux infectés. L'application de la sérologie doit rester exceptionnelle pour le suivi de cheptels où a été identifiée une infection salmonellique et où notamment a été pratiquée une antibiothérapie.

Mais plusieurs d'entre eux ont été développés pour utilisation dans la viande et ne sont pas nécessairement applicables pour des échantillons de fèces (**Duffy et al ., 2000**). De plus, ces méthodes alternatives sont souvent beaucoup plus coûteuses que la culture et nécessitent du matériel spécialisé ainsi que du personnel très qualifié, qui ne sont pas toujours dispensables.

La sérologie et la détection des anticorps dans le lait : un avantage majeur de la sérologie comparativement aux techniques bactériologies est le fait que l'excrétion des salmonelles par les animaux porteurs est intermittente alors que les concentrations d'immunoglobulines (IgG) sont généralement persistantes. Par ailleurs, les concentrations d'IgG prennent un certain temps à atteindre détectable suivant l'infection initiale, et les sérotypes non invasifs peuvent ne pas être détectés sérologiquement, rendant l'utilisation de la sérologie beaucoup plus utile pour le dépistage d'animaux porteurs que pour le diagnostic de la maladie clinique (**Barrow, 2000**).

Plusieurs tests sérologiques ont été développés pour le dépistage des animaux infectés avec *S. Dublin* ou *S. Typhimurium*. La plupart de ces tests sont des ELISA qui détectent les immunoglobulines dirigées contre l'antigène O des LPS (**Barrow, 2000**). Il est également

possible d'effectuer un ELISA sur le lait du réservoir afin de déterminer le statut d'un troupeau (**Veling et al ., 2001**).

Méthodes moléculaires :

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

Méthodes génotypiques :

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

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

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

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

5. Moyens de lutte

5.1. Mesures thérapeutiques

Le traitement des animaux atteints de salmonellose clinique vise deux objectifs : d'une part, détruire les bactéries, d'autre part, lutter contre les conséquences (par exemple la déshydratation) et éviter le choc dû aux toxines (**Bendali et Gourreau, 2008**). En effet, en

l'absence de traitement la mortalité est élevée (60 à 80 %) alors qu'elle ne dépasse pas 10% lors de traitements judicieux (**Brochot, 2001**).

5.1.1. Antibiotiques utilisables

Une antibiothérapie précoce et adaptée semblait jusqu'alors indispensable chez les bovins présentant une salmonellose clinique. Le choix de l'antibiotique à utiliser repose sur les caractères spécifiques des salmonelles. Les salmonelloses se multiplient dès leur arrivée dans le tube digestif. L'antibiotique devra donc agir au niveau intestinal, ce qui est difficile à obtenir chez les ruminants (animal polygastrique). Ces bactéries disséminent vers les organes et les nœuds lymphatiques par l'intermédiaire des macrophages. L'antibiotique choisi devra également avoir une bonne diffusion tissulaire et cellulaire (**Djesjouis et al ., 1997**). Quatre familles, dont les critères de diffusion sont variables, présentent une activité régulière vis-à-vis des salmonelles : les colistines, certaines céphalosporines, les quinolones et certains aminosides (gentamicine, apramicine). Les salmonelles, mis à part *S. typhimurium*, sont également sensibles aux phénicolés et aux sulfamides.

Les posologies, voies d'administration et délais d'attente de ces molécules figurent dans le tableau suivant.

Tableau 11: Antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des salmonelloses bovines (**Chazel et al ., 2005**).

Principe actif	Posologie	Voie d'administration
Amoxicilline	PO	10 mg/kg/12h
Amoxicilline-acide clavulanique	PO	12,5 mg/kg/12h
Amoxicilline ou ampicilline	IM	10 mg/kg/12h
Ceftiofur	IM ou SC	2,2 mg/kg/12h
	IM	5 mg/kg/24h
Florfenicol	IM ou SC	20 mg/kg/12h
Fluoroquinolones (enrofloxacin, danofloxacin, marbofloxacin)	PO, IM, SC ou IV	Fonction de la molécule
Colistine	PO	50000UI/kg/12h
Sulfamide triméthoprime	IM ou IV	25 mg/kg/24h

L'OIE (Office International des Epizooties) propose un protocole pour le traitement des salmonelloses bovines : on utilise de préférence, sur les souches sensibles, des céphalosporines classiques, des sulfamides et de la colistine. Les quinolones et les céphalosporines de dernière génération (ceftiofur) seront réservées aux souches multirésistantes. **Le tableau 12** reprend les critères de choix de l'antibiotique en fonction de la sensibilité de la souche et de l'âge de l'animal (**Chazel et al ., 2005**).

Tableau 12 : Critères de choix de l'antibiotique pour le traitement de la salmonellose chez le veau et chez l'adulte (**Chazel et al ., 2005**).

Veau : voie parentérale et orale		Bovin adulte : voie parentérale
Souche sensible	- <u>Voie parentérale</u> :	Pénicilline / streptomycine ou ampicilline / colistine ou triméthoprim.
	Pénicilline / streptomycine ou ampicilline / colistine ou triméthoprim.	
	- + <u>voie orale</u> : colistine	
Souche résistante	1) <u>Voie parentérale</u> :	Triméthoprim, céphalosporine ou quinolone.
	triméthoprim, céphalosporines ou quinolones	
	2) <u>Voie orale</u> :	
	Colistine/ quinolones ou triméthoprim / colistine.	

La durée du traitement ne doit pas être inférieure à cinq jours même si le bovin présente une amélioration clinique. Normalement, l'amélioration de l'état général chez le bovin adulte est rapide : chute de la température en 24 heures, amélioration des signes digestifs en 48 heures. Par contre, le traitement antibiotique est souvent décevant chez les veaux du fait de la fréquence des localisations multifocales et de la moindre résistance de ces animaux aux tox-infections (**Camart-Perie, 2006**).

Étant donné la fréquence et la variété des antibiorésistance des salmonelles, la culture et l'antibiogramme se révèlent désormais indispensables, d'autant plus que les informations reçues permettront d'adapter la prescription pour les autres bovins de l'élevage éventuellement atteints, dans les meilleures conditions de coût et d'efficacité (**Camart-Perie, 2006**).

5.1.2. Antibiotiques et antibiorésistance

Ces dernières années ont vu l'émergence et l'augmentation de la résistance des salmonelles aux antibiotiques. Les salmonelles ont présenté une résistance pour toutes les familles d'antibiotiques : bêtalactamines, aminosides, sulfamide et triméthoprim, tétracyclines, phénicolés, colistine et même les quinolones qui font partie de l'arsenal thérapeutique habituel sont touchées.

En ce qui concerne les bêtalactamines, les salmonelles sont essentiellement résistantes à l'amoxicilline et à l'amoxicilline / acide clavulanique. Des résistances aux céphalosporines ont été décrites dans d'autres pays. La résistance aux sulfamides est fréquente mais celle au triméthoprim est très limitée et justifie ainsi une recherche systématique dans les antibiogrammes (**Meunier et al ., 2002**).

5.1.3. Autres mesures médicales

5.1.3.1. Fluidothérapie

Comme traitement complémentaire de la salmonellose il faut également réaliser une fluidothérapie pour pouvoir corriger l'hypovolémie et d'une acidose métabolique dus à la salmonellose (**Constable et al ., 1991**).

Chez les bovins en choc endotoxinique, la réhydratation peut faire appel en premier lieu à des solutés isotoniques (Ringer lactate ou NaCl à 0.9%) par voie intraveineuse. La quantité à injecter dépend du poids vif et de l'état de déshydratation de l'animal : une quarantaine de litres est en général nécessaire (**Schelcher et al ., 2003**).

Une des alternatives possible est l'utilisation de fluides hypertoniques (Nacl 7.2% ou 10%) injectés par voie intra-veineuse à la dose de 4 à 5 ml/kg de poids vif soit environ trois litres pour un bovin adulte. Il est nécessaire de mettre de l'eau de boisson à disposition du bovin. En l'absence de consommation volontaire, il est souhaitable de procéder à une administration de

20 à 30 litres d'eau dans le rumen par la technique du « drenchage » à savoir l'injection intraruminale directe grâce à un sondage (**Schelcher et al ., 2003**).

Le degré de l'acidose chez un animal en état de choc ne peut pas être estimé cliniquement : l'évaluation se fait par dosage des bicarbonates ou par mesure des gaz du sang (pression en CO₂). Le traitement consiste en une administration intraveineuse de solution de bicarbonate de sodium (NaHCO₃) (**Ravary et Fecteau, 2002**).

Si l'état de l'animal le permet, la réhydratation par voie orale constitue une bonne alternative et permet l'administration de grandes quantités de fluides dans un laps de temps assez bref et dans des conditions relativement aisées. Différentes techniques peuvent être utilisées : le sondage ororuminal ou le sondage nasoruminal. Cette réhydratation orale peut être associée à une réhydratation par voie veineuse.

Les veaux sont plus sensibles à la déshydratation et au choc que les adultes : la fluidothérapie devra être systématiquement mise en œuvre. Le choix de la voie veineuse ou orale se fera lors de l'examen clinique de l'animal en fonction de l'état de déshydratation et de la présence ou non d'un réflexe de succion.

La réhydratation par voie veineuse est la méthode de choix pour réhydrater un veau qui a perdu tout réflexe de succion. Les principes de réhydratation sont les mêmes que pour les adultes. Les quantités moyennes de fluide isotonique (NaCl 0.9% ou Ringer Lactate) à administrer afin de restaurer la volémie sont d'environ 2 litres par animal. Un apport de glucose peut être intéressant d'un point de vue énergétique, de plus, il permet un abaissement de la kaliémie.

La fluidothérapie par voie veineuse peut être ensuite relayée par l'utilisation de réhydratants oraux utilisés (**Navetat, 1993**).

5.1.3.2. Anti-inflammatoires

Tout d'abord lutter contre l'inflammation, de préférence avec des anti-inflammatoires non stéroïdiens qui possèdent des propriétés antitoxiniques (les corticoïdes ne seront utilisés que dans les cas extrêmes) (**Constable et al ., 2004 ; Desjouis et al ., 1997**).

5.1.3.3. Traitement symptomatique de la diarrhée

Ce traitement symptomatique n'est pas indispensable. Il fait appel aux pansements intestinaux et aux antihémorragiques.

L'emploi de modificateurs de la motricité intestinale est déconseillé car ils accroissent le risque de colonisation bactérienne et de diffusion systémique en favorisant la stase intestinale (**Martel, 1993**).

Il peut être utile, en phase de convalescence, de distribuer des hépato-protecteurs tels que de la méthionine, de l'arginine et du sorbitol, associés à de la vitamine B12 (**Vallet, 2000**).

5.2. Mesures prophylactiques

5.2.1. Prophylaxie sanitaire

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

5.2.1.1. Hygiène du logement

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

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

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

5.2.1.2. Hygiène de l'abreuvement

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

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

Dans le cas où les animaux s'abreuvent à un ruisseau, il est nécessaire de vérifier l'absence de pollution en amont du point d'abreuvement par des effluents d'élevage, des stations d'épuration, d'industries agro-alimentaires, des écoulements issus de décharges de déchets

organiques. L'accès à des mares difficiles à surveiller et représentant souvent de véritables milieux de survie et de multiplication des salmonelles doit être proscrit.

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

5.2.1.3. Hygiène de l'alimentation

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

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

5.2.1.4. Hygiène du vêlage et de la traite

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

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

5.2.1.5. *Maîtrise des déjections*

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

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

5.2.1.6. *Maîtrise des facteurs de risque relatifs aux bovins*

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

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

L'introduction de tout nouvel animal doit être précédée d'un isolement de quelques jours visant à s'assurer de son bon état général. Il est également souhaitable d'imposer cette quarantaine à l'ensemble des animaux après un transport (**Martel, 1985**). Le contrôle bactériologique des nouveaux entrants pourrait être un moyen relativement efficace chez les adultes mais n'est pas mis en place sur le terrain. Que ce soit chez le veau ou chez l'adulte, ni la coproculture (les veaux sont souvent des excréteurs intermittents) ni les épreuves sérologiques ne paraissent suffisamment efficaces.

5.2.2. *Prophylaxie médicale*

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

5.2.2.1. Vaccination

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

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

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

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

5.2.2.2. Méta-phylaxie

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

Matériel et Méthodes



"Let's hope it's not salmonella"

II. PARTIE EXPERIMENTAL

I. Matériels et méthode

1. Objectifs

Ce travail a pour objectifs :

- Déterminer la prévalence des espèces de Salmonelles par isolement et sérotypage à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région d'Alger.
- Comparer les différentes méthodes d'isolement des souches de *Salmonella enterica* par la méthode classique (dite de routine) et la méthode de référence NF U 47-100.
- Déterminer la prévalence de *Salmonella* Dublin par analyse immunologique du lait et en mettant en évidence les anticorps dirigés contre *Salmonella* Dublin
- Déterminer une association possible entre la présence de *S. Dublin* dans les matières fécales et le lait.
- Réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un lien causal entre la présence des salmonelles chez les bovins et les avortements.

II. Échantillonnage

2.1. Lieux des prélèvements et plan d'échantillonnage

Nous avons réalisé nos prélèvements dans différentes régions de la wilaya d'Alger. À partir de chaque ferme, 10 vaches ont été sélectionnés au hasard (malade ou en bonne santé, ayant avorté ou non, gestante ou non, de différents âge et race).

2.2. Questionnaire épidémiologique

Un questionnaire épidémiologique a été distribué à l'éleveur afin de déterminer si des épisodes d'avortement ont été observés par le passé. Ce questionnaire nous a permis aussi d'analyser les facteurs de risque liés à l'avortement.

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

2.3. Nature du prélèvement

Nous avons récoltés 184 excréments (issus de différentes fermes de la région d'Alger (**voir annexe III**)). Ces prélèvements ont été obtenus à partir du rectum puis conservés dans des pots

stériles d'une contenance de 100 ml. D'autre part, 91 prélèvements de lait ont été réalisés parmi 184 vaches participant à l'étude bactériologique puis transférés dans des tubes stériles d'une contenance de 10 ml.

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

Les prélèvements de lait effectués ont été conservés à -20°C jusqu'à l'analyse.

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

3.1. Matériel utilisé et Milieux de culture

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

3.2. Méthodes d'identification

Pour l'isolement des salmonelles, nous avons utilisé deux méthodes :

- La première méthode est la plus communément utilisée dans les laboratoires régionaux vétérinaires de microbiologie au niveau national et qui semble être de routine (méthode classique). Cependant, son inconvénient majeur est le manque de sensibilité.

Cette méthode est basée sur l'utilisation de l'eau peptonnée tamponnée comme milieu de pré-enrichissement et du bouillon au sélénite de sodium pour un enrichissement puis un ensemencement sur des milieux sélectifs solides, tel que le milieu Hektoen (**Voir figure 5**).

Les colonies présomptives de salmonelles lactose négatif et H₂S positif sont ensemencées sur milieu TSI suivi d'une caractérisation par galerie API.

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

Dans notre étude nous avons choisi comme milieu de choix le milieu chomogénique RAPID' *Salmonella* (**Voir figure 6**).

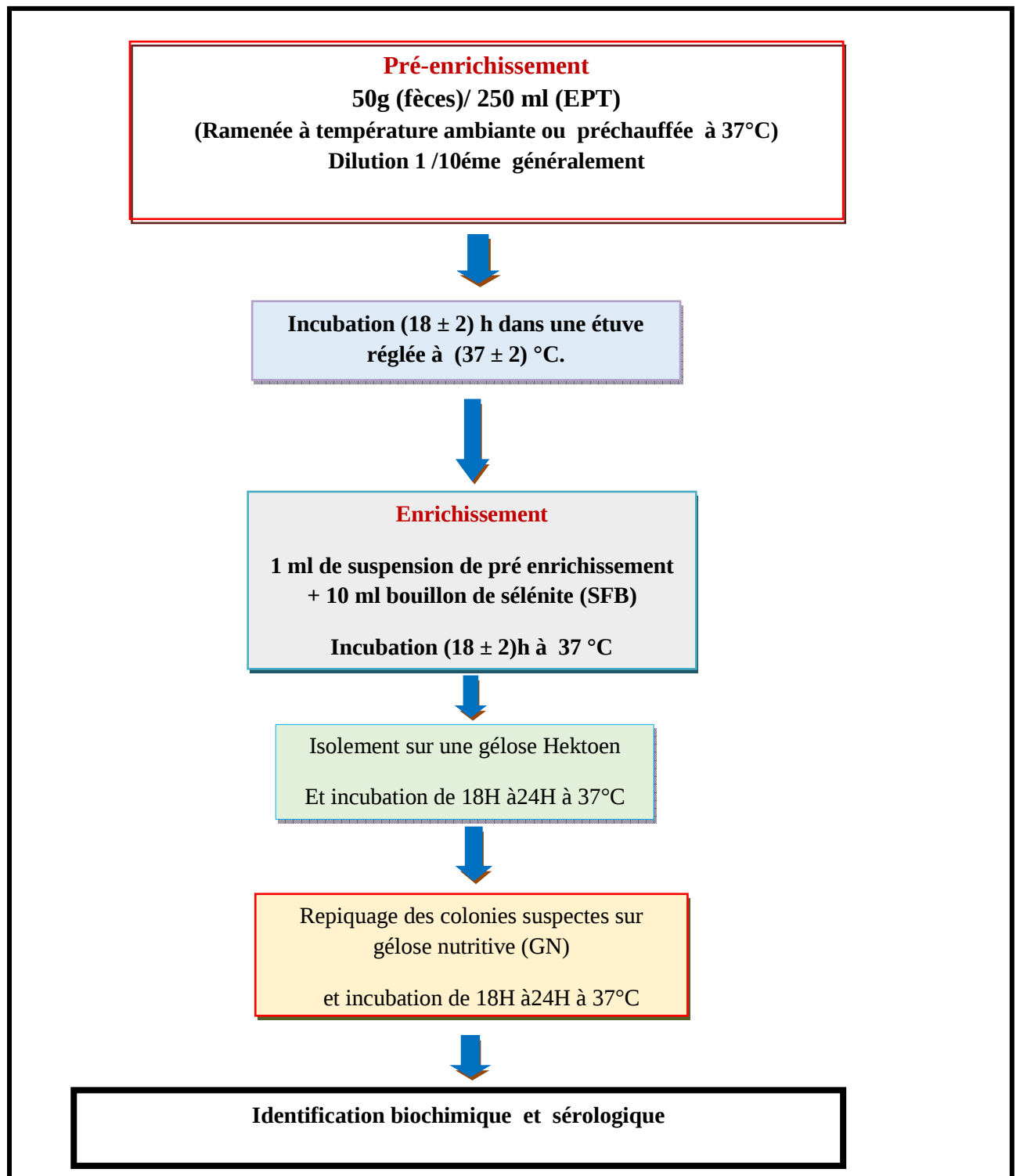


Figure 5 : Diagramme d'analyse selon la méthode classique (méthode de routine)

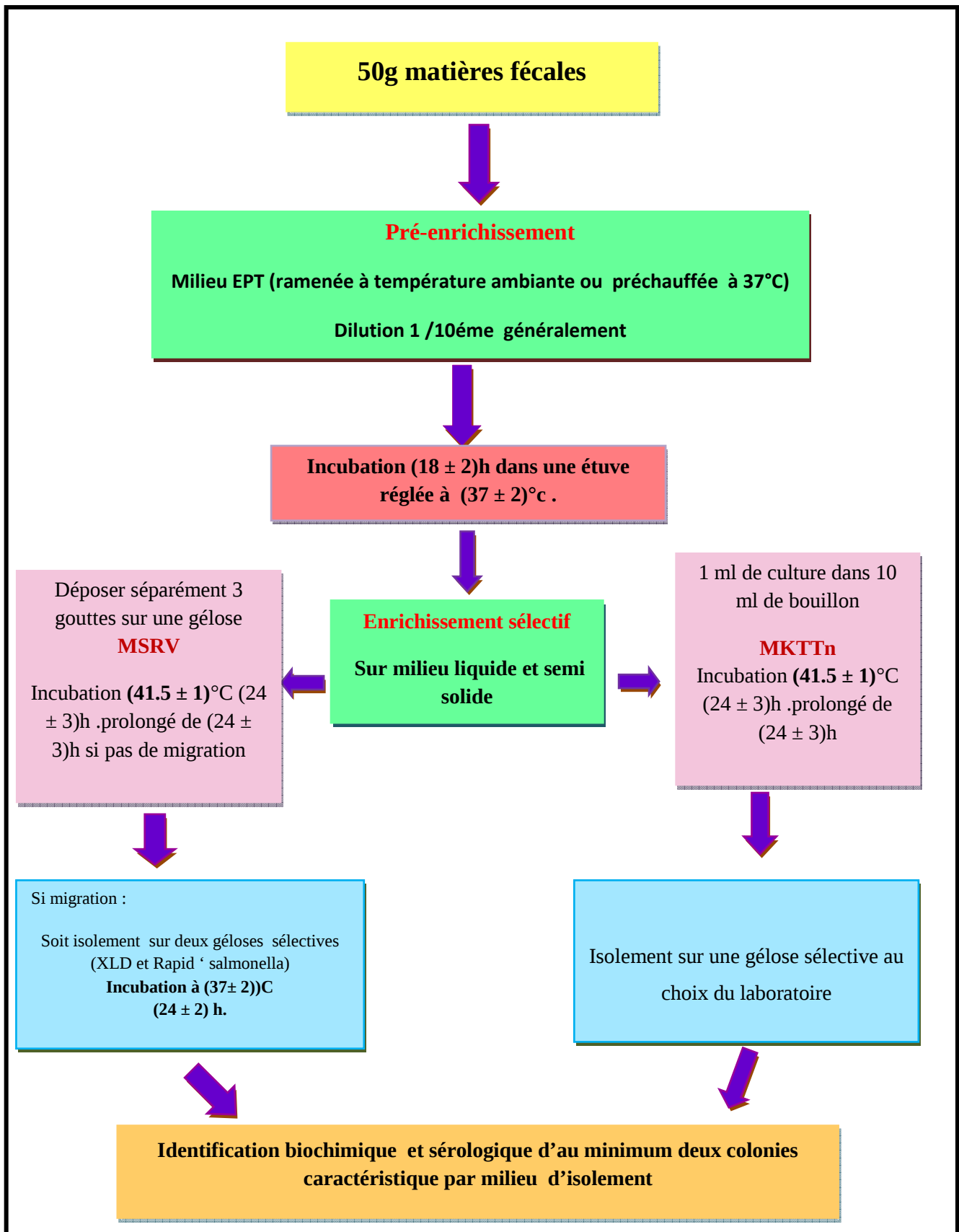


Figure 6 : Diagramme d'analyse selon la méthode de référence NF U 47-100

3.2.1. Méthode d'analyse bactériologique classique

3.2.1.1. Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide :

Le pré-enrichissement en eau peptonnée tamponnée permet de revivifier et de multiplier les salmonelles, mais aussi les autres types de bactérie éventuellement associées au prélèvement. 50 g de Matières fécales additionnées à 250 ml d'eau peptonnée tamponnée (à température ambiante) sont déposées dans un flacon stérile puis homogénéisé ; celui-ci sera incubé durant (18 ± 2) h dans une étuve réglée à 37°C.

3.2.1.2. Enrichissement en milieu sélectif liquide

Cette étape permet la croissance et la sélection de bactéries du genre *Salmonella*. Un tube contenant 10 ml de bouillon au sélénite de sodium (simple concentration) enrichi en cystéine (SC) avec un disque additif SFB, estensemencé avec 1ml de la culture de pré-enrichissement. L'incubation à 37°C dure 24h.

3.2.1.3. Isolement sur milieu sélectif solide

L'isolement a été réalisé selon la méthode d'ensemencement en stries à l'aide d'une anse bouclée à partir du bouillon au sélénite de sodium sur milieu gélosé Hektoen (HK) (additionné de 5 ml d'additif HK). Il est important de mentionner que la présence de sels biliaires sur la gélose Hektoen permet de visualiser les colonies de *Salmonella*.

3.2.1.4. Purification sur gélose nutritive

Trois colonies typiques de *Salmonella* (parfois plus) sont prélevées à partir du milieu sélectif Hektoen puis purifiées sur gélose nutritive (GN). Après incubation à 37° C pendant 24 h, les colonies isolées, sont ensuite utilisées pour l'identification biochimique et le sérotypage.

3.2.2. Méthode de Référence NF U 47-100 :

3.2.2.1. Pré-enrichissement en milieux non sélectifs liquide :

Cette étape est identique à celle décrite dans la méthode classique.

3.2.2.2. Enrichissement en milieux sélectifs liquide et semi solide :

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

a) le milieu MSRV

- Transférer trois gouttes (soit au total environ 0,1mL) du bouillon du pré-enrichissement puis les inoculer sur les boîtes de gélose semi solide du milieu MSRV (Modified Semi-solid Rappaport-Vassiliadis) (Bio Rad, France), le milieu est additionné d'une solution de Novobiocine à 2% (2 ml de la Novobiocine est rajoutée dans 1000 ml d'eau avant de couler les boîtes de Pétri pour inhiber les cultures de bactéries Gram positif (**Voir figure 7**), les boîtes sont incubées à $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1$, pendant 24 h, couvercle en haut.

Les boîtes du milieu MSRV sont examinées après $24\text{h} \pm 3\text{h}$. Si la migration est supérieure à 20 mm du point d'inoculation (**Voir figure 8**), un inoculum est prélevé à la périphérie de la zone de migration puisensemencé sur le milieu chromogénique RAPID' Salmonella et le milieu XLD par une technique d'isolement appropriée.



Figure 7 : Préparation du milieu MSRV (photo personnelle).



Figure 8 : Zone de migration de Salmonella spp. sur milieu MSRV (photo personnelle).

b) Le milieu MKTT

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

3.2.2.3. Isolement

3.2.2.3.1. Isolement à partir du milieu MSRV

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

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

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

b) Le milieu RAPID' Salmonella

Ce milieu consiste à l'utilisation d'un substrat chromogène colorant les colonies pour une identification plus aisée. Il s'agit d'une association d'un chromophore et un auxochrome (module l'intensité de couleur) sensible à une ou deux enzymes spécifiques aux salmonelles à savoir : C8 estérase, β -glucosidase (**Voir figure 9**). Les *Salmonelles* se présentent sous forme de colonies caractéristiques de couleur magenta (détection C8 estérase), facile à identifier. Une contre sélection est utilisée pour faire apparaître les genres bactériens avec une coloration différente. RAPID 'Salmonella permet la détection des salmonelles mobiles et immobiles, ainsi que les *salmonella* lactose positive, incluant *Salmonella* Typhi et *Salmonella* Paratyphi

3.2.2.3.2. Isolement à partir du milieu le MKTTn

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

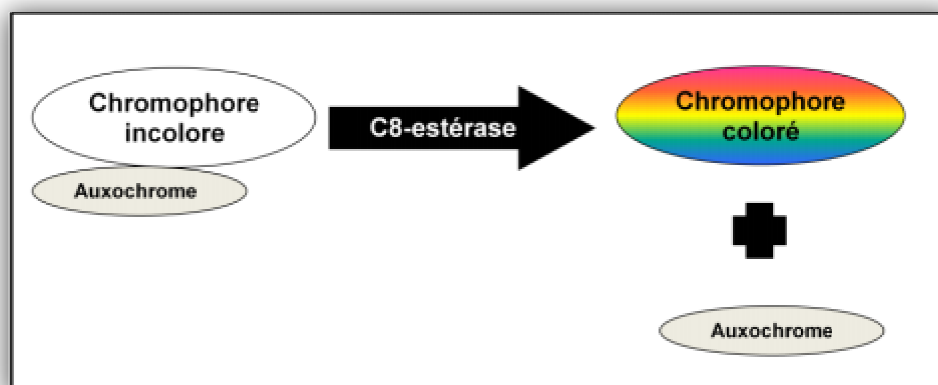


Figure 9 : Principe du milieu chromogène

3.2.2.4. Purification sur gélose nutritive

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

- ❖ Le profil biochimique des échantillons a été déterminé sur galerie API 20 E, en se basant sur le code couleur des différentes réactions. Les résultats positifs (+) et négatifs (-) sont inscrits sur la fiche fournie dans le kit, le profile numérique obtenu est reporté sur le logiciel API web (www.mediclim.ro:81) permettant de déterminer le type de bactérie isolé.

3.2.2.5. Identification sérologique des souches de salmonelles isolées

Cette étape a été réalisée selon la méthode d'agglutination sur lame. Pour ce faire, nous avons utilisé le sérum de S. Dublin.

3.2.2.5.1. Technique

Il importe d'opérer sur une souche *Salmonella* identifiée biochimiquement et préalablement purifiée.

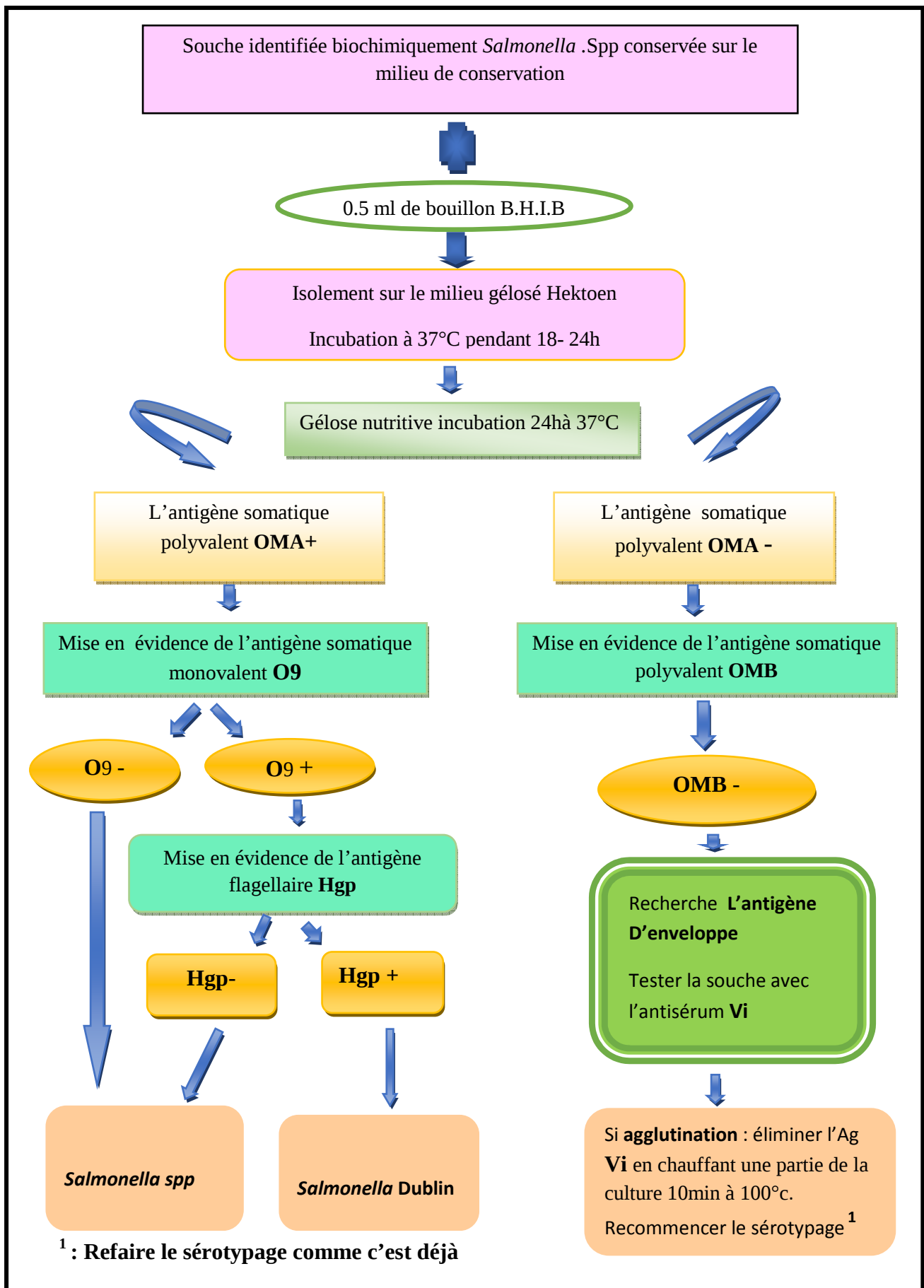
Pour chacune des souches isolées et ensemencées sur un milieu spécifique de conservation, nous avons procédé à sa purification en ajoutant d'abord, 0.5 ml de bouillon(B.H.I.B) puis en effectuant un isolement sur gélose Hektoen.

Après une incubation de 18-24 h à 37°C, une colonie bien isolée est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur puis repiquée sur les boîtes de Gélose Nutritive (GN) et incubée à 37°C pendant 18-24h.

Nous vérifions d'abord le non agglutinabilité sur sérum physiologique de la souche à sérotyper ; nous testons dans un premier temps, les deux sérums polyvalents anti-O les plus fréquents (à m'expliquer) :

- **OMA** (sérum O mélange qui contient les agglutinines des groupes A, B, D, E, L).
- **OMB** (sérum O mélange qui contient les agglutinines des groupes C, F, G, H).

Puisque S. Dublin fait parti du groupe D, il est impératif d'utiliser le sérum polyvalent **OMA** qui est parfois surplanté par l'antigène capsulaire (**Vi**) pour cela, nous avons utilisé le sérum **OMB** (voir figure 10) et l'antigène monovalent somatique l'Ag **O9** et l'antigène flagellaire **Hgp**.

Figure 10 : Sérotypage de *Salmonella* Dublin (personnelle).

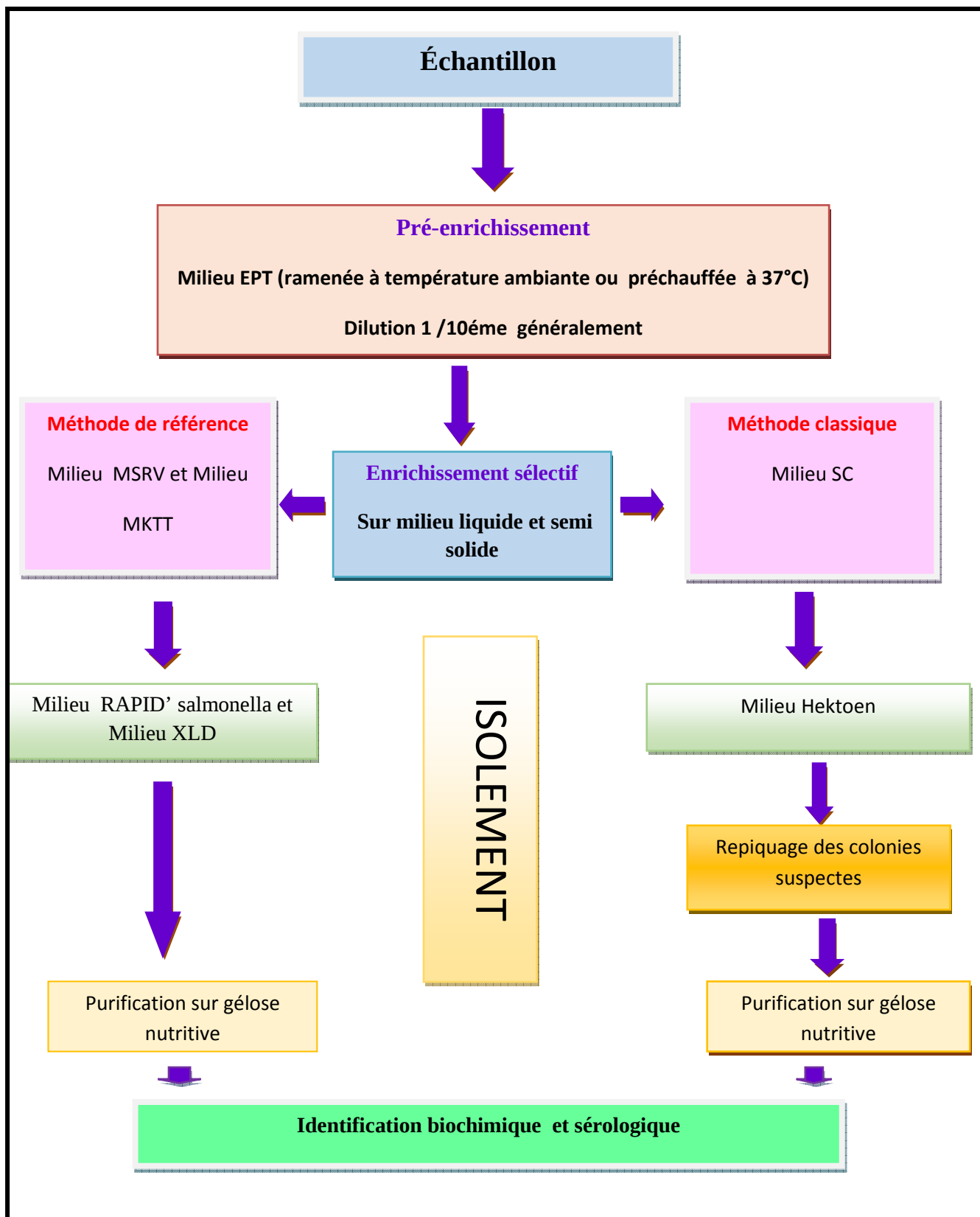


Figure 11 : Diagramme comparatif de la méthode classique et la méthode de référence

4. Mise en évidence des anticorps dirigés contre *Salmonella* Dublin par analyse immunologique.

Le test a été utilisé *Salmonella* Ab bovine ELISA s The PrioCHECK®

- ❖ **Le kit PrioCHECK® *Salmonella* Ab bovine** est *un* test Elisa indirect utilisé pour la détection principalement des anticorps dirigés contre l'antigène O : *antigène* de paroi ou somatique de nature phospholiposidique (faisant partie du *lipopolysaccharide* LPS) O:1, 9 et 12 de *Salmonella* Dublin.

4.1. Principe du test

4.1.1. Prétraitement de la plaque de réaction

Nous avons distribué 100 µl de tampon ELISA dans les puits de la microplaque. La plaque a été couverte avec un film adhésif et incubée pendant 60+/-2Mn à 37+/-1°C. Ensuite, le tampon ELISA a été rejeté et la plaque lavée 6 fois avec la solution de lavage.

4.1.2. Mode opératoire

Des microplaques à 96 puits ont été sensibilisées par le LipoPolySaccharide (LPS) purifié à partir du sérotype Dublin.

Les échantillons de lait ont été préparés centrifugés 20 minutes à 4000 g. Au travers de la couche supérieure de crème et à l'aide d'une pipette Pasteur en verre, nous avons prélevé le liquide intermédiaire en veillant à ne pas toucher le culot cellulaire sous-jacent. Les échantillons de lait ont été utilisés sans dilution.

4.1.3. Prédilution des sérums de contrôle

Nous avons réalisé une dilution au 1/20 pour les sérums de référence 1,2 et 3 dans une plaque vierge en mélangeant 10 µl de sérum avec 190 µl de tampon ELISA.

4.1.4. Incubation des échantillons

Nous avons distribué 100µl de tampon ELISA dans les puits A1 et B1 (blancs) de la plaque de barrettes. Ensuite, 90 µl de tampon ELISA ont été distribués dans les puits C1 à H1. 10 µl de sérum de contrôle 1 dilué au 1/20 (=contrôle +) ont été distribués dans les puits C1 et D1 de la plaque ce qui fait une dilution finale de 1/200 est obtenue.

Distribuer 10 µl de sérum contrôle 2 dilué au 1/20 (=contrôle -) dans les puits E1 et F1 de la plaque. Dilution finale : 1/200

Distribuer 10 µl de sérum de contrôle 3 dilué au 1/20 (=contrôle + faible) dans les puits G1 et H1 de la plaque. Dilution finale : 1/200.

Chaque échantillon de lait est distribué individuellement. On doit distribuer 75 µl de tampon ELISA dans les puits vides de la plaque. Ensuite, nous avons distribué 25µl de chaque échantillon de lait (dilution finale :1/4) selon le plan de plaque établi (par ex : l'échantillon 1 en A2, l'échantillon 2 en B2, etc...).

La plaque de barrettes a été couverte, après des légers mouvements d'agitation, elle a été incubée pendant 60+/-5 Mn à 37°C.

Après incubation et lavage de la préparation 6 fois avec la solution de lavage diluée, 100 µl de conjugué dilué couplé à la peroxydase (horser a dish peroxidase ou HRPO) ont été ajoutés. A l'issue d'une seconde incubation d'une heure à 37°C et d'un second lavage, la solution de révélation (TMB) est ajoutée. Nous avons distribué alors le TMB sur la microplaque à raison de 100 µl par puits. Après une incubation à l'obscurité de 15 minutes à 22°C, la solution d'arrêt a été ajoutée à raison de 100µl par puits.

Nous avons ensuite homogénéisé doucement le contenu des puits avant de mesurer la densité optique (DO).

Les densités optiques ont été enregistrées à l'aide d'un lecteur pour plaques en utilisant un filtre de 450 nm.

4.2. Interprétation des résultats

Calculer la DO₄₅₀ moyenne du blanc (puits A1 et B1).

Calculer la DO₄₅₀ corrigée de tous les échantillons en soustrayant la DO₄₅₀ blanc.

Calculer le pourcentage de positivité (PP) des sérums de contrôle 2 et 3 et des échantillons selon la formule ci-dessous.

La DO₄₅₀ corrigée des échantillons est exprimée en pourcentage de positivité (PP) par rapport à la DO₄₅₀ moyenne corrigée du sérum contrôle 1 (puits C1 et D1).

$$PP = \frac{DO_{450} \text{ corrigée échantillon}}{DO_{450} \text{ corrigée sérum de contrôle 1}} \times 100$$

➤ Échantillons de sérum

PP < 40% Négatif (absence d'anticorps spécifiques de *S. Dublin* dans le prélèvement).

PP = 40-60% Douteux (échantillon peut contenir des AC spécifiques de *S. Dublin*).

PP > 60% Positif (présence d'anticorps spécifiques de *S. Dublin* dans le prélèvement).

5. Les méthodes statistiques

Les comparaisons de méthode avec calcul de la spécificité, la sensibilité, l'exactitude et du Kappa de Cohen ont été réalisées grâce au logiciel Winepiscopes 2.0.

Le kappa de Cohen (k) est un coefficient destiné à mesurer l'accord entre deux variables qualitatives ayant les mêmes modalités. Classiquement, il est utilisé afin de mesurer le degré de concordance entre les stades attribués par deux juges. Il peut également être appliqué afin de mesurer un accord intra-observateur. Il a été calculé et évalué comme décrit auparavant (**Kirkwood et Sterne, 2003**).

Le coefficient *K* est toujours compris entre -1 et 1 (accord maximal). Habituellement, on utilise le « barème » suivant pour interpréter la valeur *K* obtenue :

< 0 Grand désaccord
 0.00 – 0.20 Accord très faible
 0.21 – 0.40 Accord faible
 0.41 – 0.60 Accord moyen
 0.61 – 0.80 Accord satisfaisant
 0.81 – 1.00 Accord excellent

Le test de Mc Nemar a été appliqué aux résultats des tests d'analyses et les valeurs *p* ont été calculées en utilisant ce site <http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests/macnemar>

Le test a été considéré comme significativement différent du test de référence lorsque *p* < 0,05 (**Kirkwood et Sterne, 2003**).

La puissance d'association entre la positivité à *Salmonella* spp. et/ou *Salmonella Dublin* et les avortements a été mesurée par l'odds ratio (OR) avec calcul d'un intervalle de confiance de 95% (IC) via le site suivant : <http://easycalculation.com/statistics/odds-ratio.php>

Résultats



"Let's hope it's not salmonella"

II. Résultats

1. Étude bactériologique

1.1. Isolement et identification des souches de *Salmonella* dans les matières fécales de bovin

1.1.1. Par la méthode classique

❖ Isolement sur le milieu Hektoen

Sur 184 échantillons de matières fécales analysées par la méthode classique, nous avons identifié 3 souches de *salmonelles* soit une prévalence de **1,63%**.

Sur gélose Hektoen, les colonies obtenues étaient rondes, à bords réguliers de coloration bleu-verte avec un centre noir. **La figure 12** ci-après montre l'aspect des colonies de *Salmonella* sur milieu Hektoen.

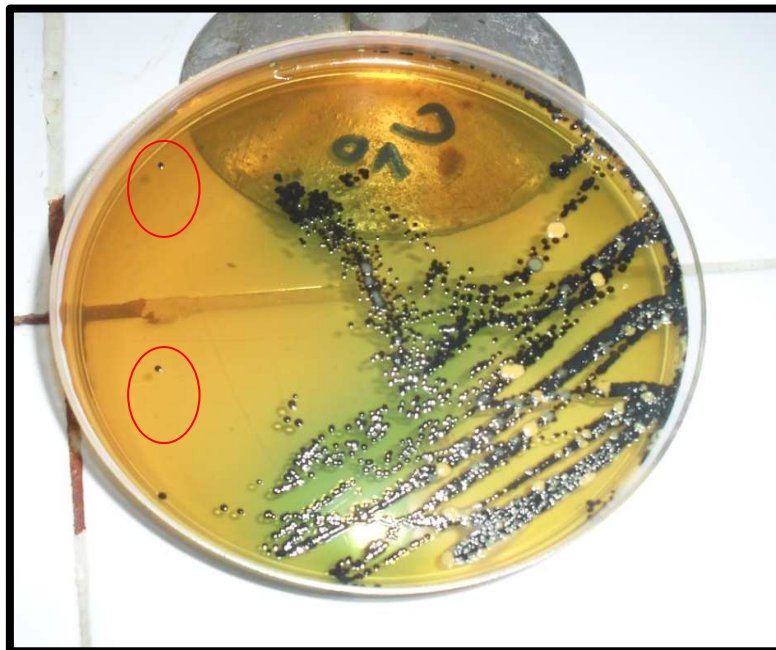


Figure 12 : Aspect des colonies typiques de *Salmonella* sur milieu Hektoen
(Photo personnelle)

1.1.2. Par la méthode de Référence NF U 100-47

Les résultats obtenus montrent que sur les 184 prélèvements de matières fécales, **14** se sont révélés positifs pour *Salmonella* spp. soit une prévalence globale de l'ordre de **7,60 %**.

Les figures 13 et 14 ci-dessous montrent les colonies caractéristiques de *Salmonella* sur le milieu RAPID' Salmonella et sur le milieu XLD.



Figure 13 : Aspect des colonies typiques de *Salmonella* sur milieu XLD (Photo personnelle)



Figure 14 : Aspect des colonies typiques de *Salmonella* sur milieu RAPID' Salmonella (Photo personnelle)

Après isolement, la confirmation des colonies suspectes a été réalisée à la fois sur gélose TSI et sur galerie API 20E. La figure 15 montre l'aspect des tubes TSI lors de l'étape de confirmation.



Figure 15 : Aspect typique d'une culture de *Salmonella* sur milieu au TSI
(Photo personnelle)

La galerie API 20 E du profil biochimique permet d'obtenir les résultats repris dans la **figure 16**

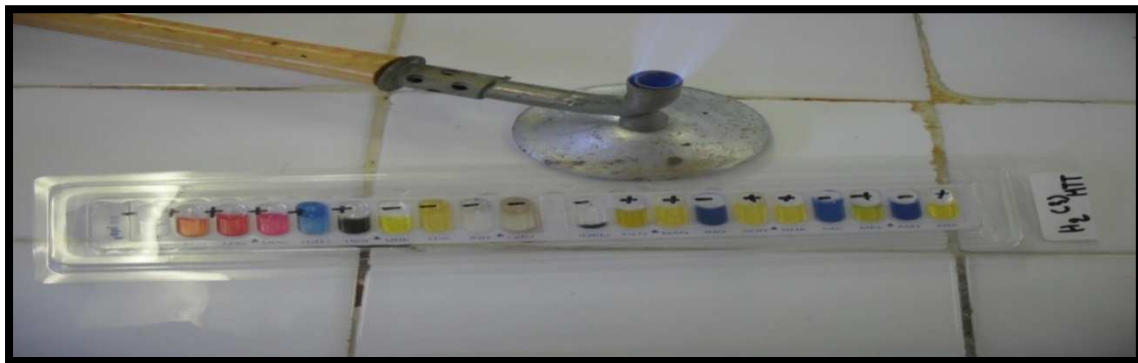


Figure 16 : Aspect d'une *Salmonella* spp. sur galerie API20E (Photo personnelle)

1.1.3. Sérotypage

À partir des 14 souches de *Salmonella* spp. isolées de matières fécales, 67 colonies ont été sérotypées avec des sérums ciblant essentiellement le sérotype Dublin comme décrit dans matériel et méthodes.

Sur les 67 colonies, 62 (92,5%) ont agglutiné avec les sérums généraux de *Salmonella* confirmant par la même occasion les caractérisations bactériologiques et biochimiques.

Par ailleurs, 5 colonies (7,5%) ont été identifiées comme faisant partie du sérotype Dublin (**Figure 17**).

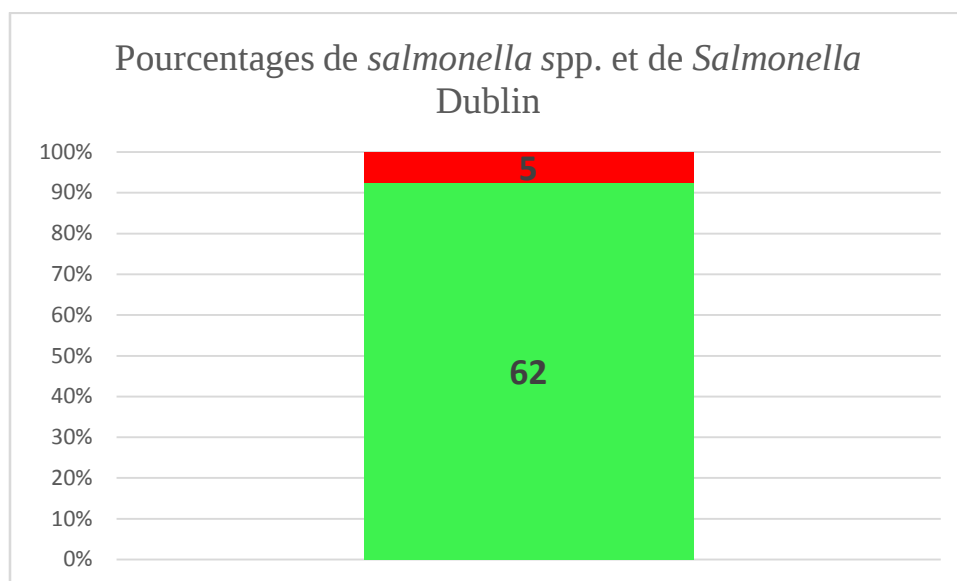


Figure 17 : Nombre de colonies de *Salmonella* spp. et *Salmonella* Dublin après le sérotypage. *Salmonella* spp. (en vert) et de *Salmonella* Dublin (en rouge).

1.2. Prévalence de Salmonelles en fonction du lieu de prélèvement.

Les prélèvements de matières fécales avaient été réalisés dans 19 fermes réparties sur 17 communes différentes. Les analyses bactériologiques ont montré une prévalence globale de 7,60% et 2,71% pour *Salmonella* spp. et *Salmonella* Dublin respectivement (**figure 18**).

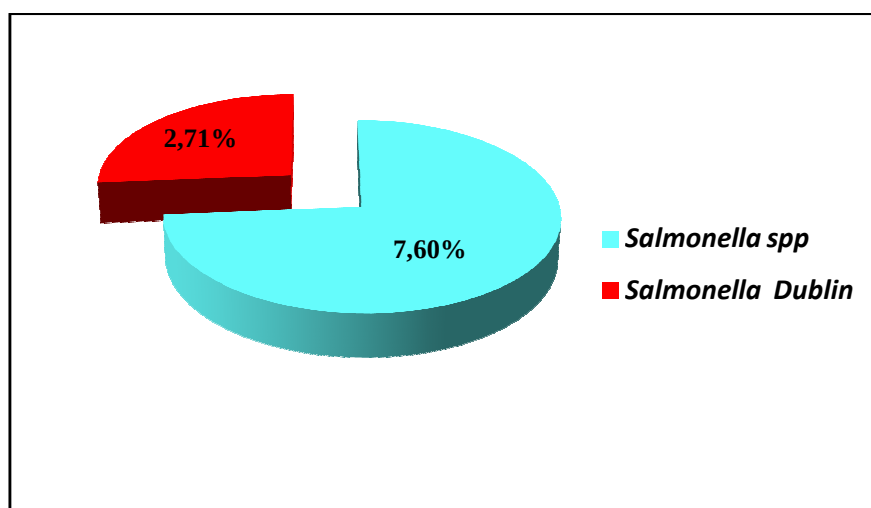


Figure 18 : Prévalence globale de *Salmonella* spp. et *Salmonella* Dublin par analyse bactériologique

Parmi les 19 fermes étudiées, 6 (**31,6%**) nous ont permis d'isoler *Salmonella* spp. et 3 (**15,8%**) *S. Dublin* (**Tableau 13**).

Tableau 13: Résultats bactériologiques sur la recherche de *Salmonella* dans les matières fécales de bovin (N=184) en fonction du lieu de prélèvement.

Ferme	Commune	Nombre de vaches	<i>Salmonella</i> spp.	%	S. Dublin	%
<u>1</u>	<u>Baraki</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>2</u>	<u>Meftah</u>	<u>3</u>	<u>1</u>	33,3%	1	33,3%
<u>3</u>	<u>Rouïba 1</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>4</u>	<u>Dar El-Beida</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>5</u>	<u>Cheraga</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>6</u>	<u>Douera</u>	<u>12</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>7</u>	<u>Staouéli</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>8</u>	<u>Zeralda 1</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>9</u>	<u>Zeralda 2</u>	<u>9</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>10</u>	<u>Bouraoui</u>	<u>6</u>	<u>1</u>	16,7%	0	0,0%
<u>11</u>	<u>Bordj elkifane</u>	<u>10</u>	<u>1</u>	10,0%	0	0,0%
<u>12</u>	<u>Babezzouar 1</u>	<u>10</u>	<u>6</u>	60,0%	3	30,0%
<u>13</u>	<u>Babezzouar 2</u>	<u>10</u>	<u>1</u>	10,0%	1	10,0%
<u>14</u>	<u>AinTaya</u>	<u>14</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>15</u>	<u>Rouiba 2</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>16</u>	<u>ITELV</u>	<u>10</u>	<u>4</u>	40,0%	0	0,0%
<u>17</u>	<u>Haraoua</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>18</u>	<u>Elhamize</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
<u>19</u>	<u>Hammadi</u>	<u>10</u>	<u>0</u>	0,0%	0	0,0%
	<u>Total</u>	<u>184</u>	<u>14</u>	7,6%	5	2,7%

1.3. Comparaison des deux méthodes d'isolement.

1.3.1. Pour l'isolement et l'identification de *Salmonella* spp.

Si on considère la méthode de NF U 100-47 comme méthode de référence, on peut comparer la méthode classique à celle-ci (**tableau 14**).

Tableau 14: Comparaison des résultats de la méthode classique avec ceux de la méthode de référence pour l'isolement de *Salmonella* spp.

Méthode de Référence NF U 47-100				Total
Méthode classique Total		+	-	
	+	3	0	3
	-	11	170	181
		14	170	184

Les résultats montrent une sensibilité de 21,4%, une spécificité de 100% et une exactitude de 94,0%. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.33$ ce qui correspond à une concordance faible entre les deux méthodes.

Par ailleurs, nous avons utilisé le test de Mc Nemar pour vérifier de nouveau la concordance entre les 2 tests. Le résultat a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0.05$).

1.3.2. Pour l'isolement et l'identification de *Salmonella* Dublin.

Si on tient le même raisonnement pour *S. Dublin*, on obtient par rapport à la méthode de référence (**tableau 15**) une sensibilité de 20%, une spécificité de 100% et une exactitude de 99,5%.

Tableau 15: Comparaison des résultats de la méthode classique avec ceux de la méthode de référence pour l'isolement de *Salmonella* Dublin.

Méthode de Référence NF U 47-100				Total
Méthode classique Total		+	-	
	+	1	0	1
	-	4	179	183
		5	179	184

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.32$ ce qui correspond à une concordance faible entre les deux méthodes.

Par ailleurs, le test de Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0,05$).

1.3.3. Nombre total d'isolat de *salmonelles* obtenues par les deux méthodes

Sur les 67 colonies de *Salmonella* spp. testées pour l'agglutination, 56 provenaient des boîtes de la méthode de référence et 11 de la méthode classique. Pour la méthode classique, sur les 11 colonies, 10 ont été considérées comme *Salmonella* spp. et 1 comme *Salmonella* Dublin. Pour la méthode de référence 52 ont été considérées comme *Salmonella* spp et 4 comme *Salmonella* Dublin.

Tableau 16 : Répartition des Souches de *Salmonella* spp. et *Salmonella* Dublin isolées selon la méthode utilisée.

Nombre d'isolat	Méthode de référence	Méthode classique	Total
<i>Salmonella</i> spp.	52	10	62
<i>Salmonella</i> Dublin	4	1	5
Total	56	11	67

2. Recherche d'anticorps spécifiques de *Salmonella* Dublin dans le lait de vache.

Parmi les 19 fermes analysées d'un point de vue bactériologique, 14 ont été analysées pour la présence d'anticorps dirigés contre *S. Dublin* dans le lait de 91 vaches différentes.

Nous avons trouvé 12 prélèvements positifs pour *Salmonella* Dublin, ce qui représente une prévalence de **13,18%**.

Tableau 17: Résultats bactériologiques et immunologie sur la recherche de *Salmonella* dans les matières fécales et le lait de bovin en fonction du lieu de prélèvement.

Ferme	Bactériologie			Immunologie	
	commune	N°vaches	<i>S. Dublin</i> +	N laits	<i>S. Dublin</i> +
1	Baraki	10	0	3	0
2	Meftah	3	1	3	2
3	Rouïba 1	10	0	10	0
4	Dar El-Beida	10	0	4	0
5	Cheraga	10	0	9	3
6	Douera	12	0	11	0
7	Staouéli	10	0	10	1
8	Zeralda 1	10	0	1	0
9	Zeralda 2	9	0	7	0
10	Bouraoui	6	0	3	0
11	Bordj elkifane	10	0	9	1
12	Babezzouar 1	10	3	0	0
13	Babezzouar 2	10	1	4	3
14	AinTaya	14	0	0	0
15	Rouiba 2	10	0	8	0
16	ITELV	10	0	9	2
17	Haraoua	10	0	0	0
18	Elhamize	10	0	0	0
19	Hammadi	10	0	0	0
	Total	184	5	91	12

3. Étude comparative entre les résultats immunologiques du lait et bactériologiques des matières fécales.

Sur 91 échantillons de lait issus des 184 vaches participant à l'étude bactériologique des matières fécales, les résultats immunologiques et bactériologiques ont été comparés.

Si on considère uniquement les 91 vaches reprises dans les 2 études, la positivité bactériologique pour *Salmonella* spp. et la positivité immunologique du lait correspondant ont été analysées (**tableau 18 et 19**).

Tableau 18: Comparaison des résultats de bactériologie et d'immunologie en prenant la méthode immunologique comme test de référence (*Salmonella* spp.).

Test de référence : Immunologie				Total
Bactériologie des matières fécales		+	-	
	+	5	3	8
	-	7	76	83
	Total	12	79	91

La méthode bactériologique a été comparée à la technique immunologique prise comme test de référence, à travers le calcul de la sensibilité, la spécificité, l'exactitude, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar. Nous constatons que la méthode bactériologique est faiblement sensible par rapport à la méthode immunologique (Se=41,6%). Cependant, la spécificité et l'exactitude étaient de 96,2% et 89% respectivement. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.44$ ce qui correspond à une concordance moyenne entre les deux méthodes.

Par ailleurs, nous avons utilisé le test de Mc Nemar pour vérifier de nouveau la concordance entre les 2 tests. Le résultat a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0.05$).

Tableau 19: Comparaison des résultats de bactériologie et d'immunologie en prenant la méthode bactériologique comme test de référence (*Salmonella* spp.).

Test de référence : bactériologie				Total
Immunologie		+	-	
	+	5	7	12
	-	3	76	79
Total		8	83	91

Nous avons calculé pour la méthode immunologique, la sensibilité, la spécificité, l'exactitude, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar par rapport à la technique bactériologique prise comme test de référence. Nous constatons que la méthode immunologique est d'une sensibilité moyenne ($Se = 62\%$) par rapport à la méthode bactériologique. En revanche, la spécificité et l'exactitude étaient de 91,5% et 89% respectivement.

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.44$ ce qui correspond à une concordance faible entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0,05$).

Tableau 20: Comparaison des résultats de la bactériologie et de l'immunologie en prenant la méthode immunologique comme test de référence (S. Dublin).

Test de référence : immunologie			Total	
Bactériologie		+	-	
	+	2	0	2
	-	10	79	89
Total		12	79	91

Si pour S. Dublin, on considère l'immunologie comme test de référence et la bactériologie comme test alternatif, on obtient pour ce dernier les résultats suivants : sensibilité 16%, spécificité 100 % et exactitude 89,0%, le coefficient Kappa de Cohen = 0.25 et le test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0,05$).

Tableau 21: Comparaison des résultats de la bactériologie et de l'immunologie en prenant la méthode bactériologique comme test de référence (S. Dublin)

Test de référence : bactériologie				Total
Immunologie		+	-	
	+	2	10	12
	-	0	79	79
Total		2	89	91

Si pour *S. Dublin*, on considère la bactériologie comme test de référence et l'immunologie comme test alternatif, on obtient pour ce dernier les résultats suivants : sensibilité 100 %, spécificité 88 % et exactitude 89%, le coefficient Kappa de Cohen = 0.25 et le test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

4. Étude Cas-Témoin

Afin de vérifier si *Salmonella* Dublin était une cause d'avortement chez la vache, nous avons réalisé une étude cas-témoin avec comme facteur d'exposition la positivité à *Salmonella* Dublin.

Un total de 19 exploitations bovines a été étudié. Sur la base d'un questionnaire épidémiologique, les exploitations étaient séparées en fermes témoins et en fermes cas. Les fermes cas sont celles où des épisodes d'avortements étaient survenus dans les 5 dernières années, phénomène non constaté dans les fermes témoins. Utilisant ce critère, 5 fermes cas et 14 fermes témoins ont été définies. Les matières fécales d'un total de 184 bovins (43 bovins dans les fermes cas et 141 bovins dans les fermes témoins) ont été prélevées et analysées pour l'isolement de *Salmonella* Dublin.

Par ailleurs, 91 échantillons individuels de lait ont été prélevés dans 14 fermes différentes (5 fermes cas renfermant 34 bovins et 9 fermes témoins). Une ferme était considérée comme positive si au moins un animal était positif.

Dans le tableau ci-dessous (19), nous reprenons les détails relatifs au nombre de fermes prélevées séparées en cas et témoins et les résultats pour *Salmonella* spp. obtenus en bactériologie.

Parmi les 14 fermes témoins, 2 fermes ont montré des résultats positifs à *Salmonella* spp par analyse bactériologique, soit une prévalence de 14,28%. Pour les 5 fermes cas, les mêmes analyses ont révélé une positivité à *Salmonella* spp dans 4 des fermes sur 5 (80%) (**Tableau 22**). En d'autres termes, la prévalence globale au niveau des fermes a révélé un taux de 31,57% de positifs à *Salmonella* spp.

Tableau 22: Prévalence en fonction du statut des fermes

Statut de la ferme	Nbre (%)	Fermes +	Fermes -	Prévalence dans fermes	Nbre de bovins prélevés(%)	+	Prévalence (%) IC 95%
Témoin	14 (73.68)	2	12	14,28%	141(76.63)	7	4.96 (1,3-8,62)
Cas	5 (26.31)	4	1	100%	43 (23.36)	7	16.27 (5,01-27,53)
Total	19	6	12	31,57%	184	14	7.60 (3,69-11,51)

Parmi les 184 matières fécales analysées, nous avons pu isoler 14 souches de *Salmonella* spp. Parmi les 14 souches de *Salmonella* spp .isolées, 7 appartenait aux animaux des fermes cas soit une prévalence de 16.27%. Chez les animaux appartenant aux fermes témoins, 7 souches ont été isolées soit un taux de 4.96 % (Tableau 22).

4.1. Étude cas-témoin en fonction des résultats bactériologiques

4.1.1. Cas-témoin au niveau de l'exploitation

Nous avons calculé l'association entre l'exposition à *Salmonella* et le fait d'observer des avortements dans la ferme (Tableau 23).

Dans un premier temps, nous avons pris en considération uniquement les résultats obtenus pour *S. Dublin*.

Tableau 23: Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation en fonction des analyses bactériologiques positives à *S. Dublin*

	<i>Fermes</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoin</i>	<i>Total</i>
<i>Bactériologie</i>	Positives	2	1	3
	Négatives	3	13	16
	Total	5	14	19
	Taux d'exposition	40%	7,14%	
	Odd	0,66	0,07	
	Odds Ratio (IC 95%)	8,66 (0.58- 130.12)		

L'étude cas-témoin montre un taux d'exposition de 40% pour les fermes cas comparativement à 7,14 % pour les fermes témoins. Cependant, étant donné le faible nombre de fermes testées l'Odds ratio n'était pas significativement différent de 1 ($p=0,12$). Il en résulte qu'il n'y a pas d'association entre la présence de *S. Dublin* dans la ferme et la présence d'avortements.

Tableau 24: Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation en fonction des analyses bactériologiques positives à *Salmonella* spp.

	<i>Fermes</i>	<i>Cas</i>	<i>Témoin</i>	<i>Total</i>
<i>Bactériologie</i>	Positive	4	2	6
	Négative	1	12	13
	Total	5	14	19
	Taux d'exposition	80,00%	14,28%	
	Odd	4	0,16	
	Odds Ratio (IC 95%)	24 (1.6 -341.0)		

L'étude cas-témoin en rapport avec les fermes positives ou négatives à *Salmonella* spp. montre un taux d'exposition de 80% pour les fermes cas comparativement à 14,28 % pour les fermes témoins. L'odds ratio était de 24 et significativement différent de 1 ($p=0,02$). Il en résulte qu'il existe une association positive significative entre la présence de *Salmonella* dans la ferme et la présence d'avortement.

4.1.2. Cas-témoin au niveau individuel

Sur le plan individuel pour *S. Dublin*, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 2,2 (**tableau 25**). Cette valeur n'est pas significativement différente de 1 ($p=0,24$). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 4,65 % pour les animaux de fermes cas. Dans le groupe témoin, ce taux n'est que de 2,12%. En conséquence, il n'y a pas d'association entre le fait d'avoir des bovins positifs à *S. Dublin* dans une ferme et le fait d'y rencontrer des avortements.

Tableau 25: Cas-témoin au niveau individuel en fonction des résultats bactériologiques positifs à *S. Dublin*.

	Animaux	Animaux prélevés dans les fermes cas	Animaux prélevés dans les fermes témoins	Total
Bactériologie	Positifs	2	3	5
	Négatifs	41	138	179
	Total	43	141	184
	Taux d'exposition	4,65%	2,12%	
	Odd	0,04	0,02	
	Odds Ratio	2,2 (0 ,36-13,88)		

Si on considère les résultats positifs à *Salmonella* spp sur le plan individuel, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 3,72 (tableau 26). Cette valeur n'est pas significativement différente de 1 ($p < 0,05$). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 16,27 % pour les animaux de fermes cas. Dans le groupe témoin, ce taux n'est que de 4,96%. En

conséquence, il y a une association positive entre le fait d'avoir des bovins positifs à *Salmonella* spp. dans une ferme et le fait d'y rencontrer des avortements.

Tableau 26: Cas-témoin au niveau individuel en fonction des résultats bactériologiques positifs à *Salmonella* spp.

	<i>Animaux</i>	<i>Animaux prélevés dans les fermes cas</i>	<i>Animaux prélevés dans les fermes témoins</i>	<i>Total</i>
Bactériologie	Positifs	7	7	14
	Négatifs	36	134	170
	Total	43	141	184
	Taux d'exposition	16,27%	4,96%	
	Odd	0,19	0,05	
	Odds Ratio	3,72 (1,22-11,29)		

4.2. Étude cas-témoin en fonction des résultats immunologiques du lait

Nous avons par ailleurs, prélevé du lait chez 91 individus dans 14 fermes différentes (5 cas et 9 témoins).

Si on considère l'étude cas-témoin au niveau des exploitations, celle-ci a révélé ce qui suit :

Le taux d'exposition dans les fermes cas était de 100% contrairement aux fermes témoins qui étaient faiblement exposées (11,11%). l'Odds Ratio a normalement une valeur infinie en raison de la présence du zéro. Dans ce cas, on ajoute 0,5 à toutes les valeurs (**Pagano & Gauvreau, 2000; Deeks & Higgins, 2010**). Avec cette modification, on obtient une valeur d'OR de 62,33 (2,13-1822) (**tableau27**). Cette valeur est significativement différente de 1 ($p < 0,05$). Il en résulte qu'il existe une association positive entre le fait d'avoir une réponse positive à *Salmonella* Dublin pour le lait et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. Ceci

est encore souligné par le taux d'exposition de 100% des fermes cas alors qu'il n'est que de 11,11% dans les fermes témoins.

Tableau 27: Étude cas-témoin au niveau de l'exploitation en fonction des résultats obtenus par analyse immunologique du lait (S. Dublin).

	<i>Fermes</i>	<i>fermes cas</i>	<i>fermes témoins</i>	<i>Total</i>
ELISA PrioCHECK	Positifs	5 (5,5)*	1 (1,5)*	6
	Négatifs	0 (0,5)*	8 (8,5)*	8
	Total	5	9	14
	Taux d'exposition	100%	11,11%	
	Odd	∞ (11) *	0,12 (0,176)*	
	OddsRatio	62,33 (2,13-1822)		

*Les chiffres entre parenthèses sont les valeurs modifiées pour le calcul de l'Odds ratio comme décrit ci-dessus.

Si on considère l'étude cas témoin sur le plan individuel, celle-ci a révélé ce qui suit : l'Odds Ratio a une valeur de 26,78 (**tableau 28**). Cette valeur est significativement différente de 1 ($p < 0,01$). Il en résulte qu'il existe une association positive entre le fait d'avoir une réponse positive pour le lait et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. Ceci est encore souligné par le taux d'exposition de 32,35 % pour les animaux des fermes cas alors qu'il n'est que de 1,75% dans le groupe témoin.

Tableau 28: Étude cas-témoin sur le plan individuel en fonction des résultats obtenus par analyse immunologique du lait (S. Dublin).

	<i>Animaux</i>	<i>Animaux prélevés dans les fermes cas</i>	<i>Animaux prélevés dans les fermes témoins</i>	<i>Total</i>
ELISA PrioCHECK	Positifs	11	1	12
	Négatifs	23	56	79
	Total	34	57	91
	Taux d'exposition	32,35%	1,75%	
	Odd	0,47	0,01	
	Odds Ratio (IC 95%)	26,78 (3.27-219.57)		

Discussion



"Let's hope it's not salmonella"

III. DISCUSSION

Ce travail s'inscrit dans un projet de recherche plus large visant à identifier et à caractériser les agents pathogènes responsables d'avortement chez le bovin en Algérie.

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

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

Salmonella enterica sérotype Dublin et Typhimurium sont les plus fréquemment rencontrés chez les bovins. Cependant, le sérotype Dublin est certainement le plus préoccupant du fait d'abord de son caractère particulièrement invasif provoquant ainsi septicémie et avortements chez la vache et d'autre part, avec le sérotype Dublin, certains animaux demeurent infectés à vie sans manifester de signes cliniques (porteurs chroniques) ce qui va perpétuer l'infection dans leur environnement (**Richardson et Watson, 1971**).

Les objectifs principaux de ce travail consistaient :

- 1) de déterminer la prévalence des Salmonelles par isolement et sérotypage à partir de matières fécales récoltées chez les bovins dans la région d'Alger ;
- 2) de comparer la méthode classique (dite de routine) et la méthode de référence **NF U 47-100** pour l'isolement des souches de *Salmonella enterica* ;
- 3) de déterminer la prévalence de *Salmonella* Dublin par analyse immunologique du lait en mettant en évidence les anticorps spécifiques ;
- 4) de déterminer une association possible entre la présence de S. Dublin dans les matières fécales et un lait immun.
- 5) de réaliser une étude épidémiologique de type cas-témoin pour mettre en évidence un lien statistique entre la présence des salmonelles chez les bovins et les avortements.

1. Isolement et identification des souches de Salmonelles dans les matières fécales de bovin

Des échantillons de matières fécales de 184 vaches provenant de 19 fermes ont été analysées pour rechercher le germe *Salmonella* par deux méthodes, une méthode classique de routine, largement utilisée au niveau de la plupart des laboratoires vétérinaires en Algérie, et une méthode de référence **NF U 47- 100 (Afnor, 2007)**.

1.1 Par la méthode classique

Suite à l'utilisation de la méthode classique sur les matières fécales de bovins, nous avons identifié 3 individus positifs à *Salmonella* soit une prévalence de **1,63%**. Pour cela, nous avons utilisé le milieu Hektoen ensemencé par une culture de 24h à partir du bouillon au sélénite de sodium. Les milieux au sélénite de sodium s'opposent au développement des bactéries à Gram positifs et favorisent donc la croissance des Gram- (**Dalton et al ., 2004**).

Cependant, cette technique est rarement utilisée dans d'autres pays réalisant des travaux similaires, puisque elle est peu sensible, ne pouvant faire la différence entre la majorité des espèces des Entérobactéries. Par conséquent, pour augmenter le seuil de détection des Salmonelles, il est recommandé de rajouter d'autres milieux d'enrichissement (**Schönenbrücher et al ., 2008**).

1.2 . Par la méthode de Référence NF U 100-47

La méthode de référence recommande l'utilisation de deux milieux d'enrichissement, le milieu MKTTn et le milieu modifié Semi-solide de Rappaport-Vassiliadis (MSRV) qui est fondé sur la capacité des espèces de *Salmonella* de se reproduire et d'être mobiles dans le milieu après incubation à 41,5°C sous des conditions adéquates d'humidité (**De Smedt et al ., 1986 ; Worcman-Barninka et al., 2001 ; Poppe et al., 2004**).

L'utilisation de la technique de référence (**NF U 47-100**) a montré un taux de positivité de **7.60%** soit 14 vaches détectées excrétrices de *Salmonella* spp. sur un total de 184 vaches qui ont été prélevées.

Plusieurs études ont été effectuées dans différentes régions du monde utilisant aussi la culture bactérienne comme méthode de diagnostic pour rechercher les salmonelles dans les matières fécales des vaches afin d'étudier le portage et l'excrétion chez cette espèce animale. Les résultats obtenus sont très variés. Huston et collaborateurs (2002) ont montré un résultat proche à celui obtenu dans notre étude, avec un taux d'excrétion de **6%** chez des vaches laitières dans l'État d'Ohio aux USA.

Toujours et afin de déterminer le statut des vaches laitières vis-à-vis des Salmonelles, d'autres enquêtes épidémiologiques réalisées dans différentes régions des États-Unis ont noté des résultats légèrement supérieurs. C'est le cas de l'étude effectuée par Warnick et collaborateurs dans le Michigan, le Minnesota, le Wisconsin et l'état de New York qui ont rapporté un taux de **9,3%**(**Warnick et al., 2003**). Callaway et collaborateurs ont trouvé un taux d'isolement de **9,96%** sur un échantillon de 960 vaches (**Callaway et al ., 2005**). Et Kevin et collaborateurs

ont montré une prévalence de **10,1%** (558/5797 vaches) (**Kevin et al., 2010**). Les prévalences supérieures à celle obtenue dans notre étude peuvent s'expliquer par le nombre de prélèvement qui est beaucoup plus élevé dans les autres études. La région peut aussi influencer la fréquence d'isolement d'une étude à l'autre. En effet, plusieurs chercheurs ont confirmé cette hypothèse (**Gallaway et al ., 2005**). À titre d'exemple, on estime que 27 à 31% des troupeaux laitiers à travers les États-Unis sont colonisés par des Salmonelles, l'une des plus graves bactéries pathogènes, responsable d'infections d'origine alimentaires aux États-Unis (**Gallaway et al ., 2005**).

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

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

En revanche, d'autres études ont rapporté des prévalences très faibles, c'est le cas des travaux d'Adésiny et collaborateurs, effectués à Trinité en Espagne, qui ont noté un taux d'isolement de **0,9%** sur un nombre de prélèvement de 333 vaches laitières au cours d'une étude effectuée sur plusieurs entéropathogènes (**Adésiny et al., 1996**). En Angleterre, un taux de **1,4%** a été obtenu au cours d'une étude effectuée en 2003, sur plusieurs espèces animales y compris les bovins (**Milnes et al ., 2009**). Fossler et collaborateurs ont trouvé un taux de **4,8%** dans une étude complémentaire à l'étude effectuée préalablement par Warnick et collaborateurs (**Fossler et al ., 2004**).

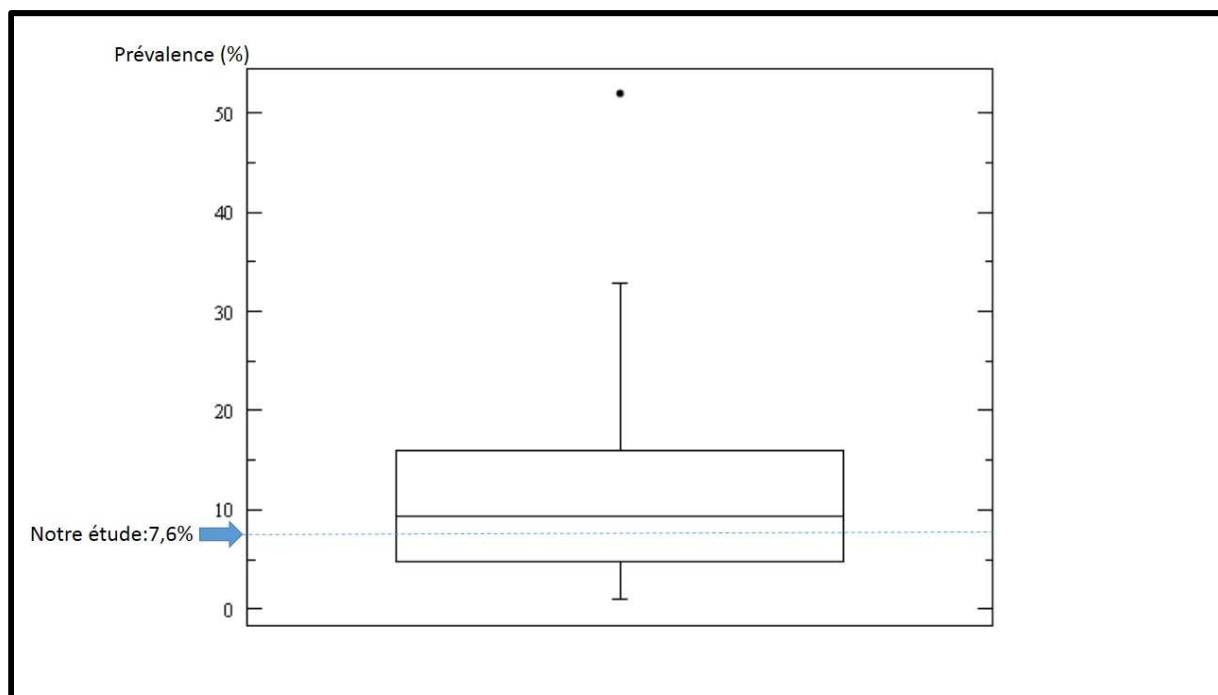


Figure 19: Représentation en boîte à moustaches des prévalences de *Salmonella* spp dans les matières fécales de bovins repris de la littérature. Nos résultats sont indiqués par une flèche.

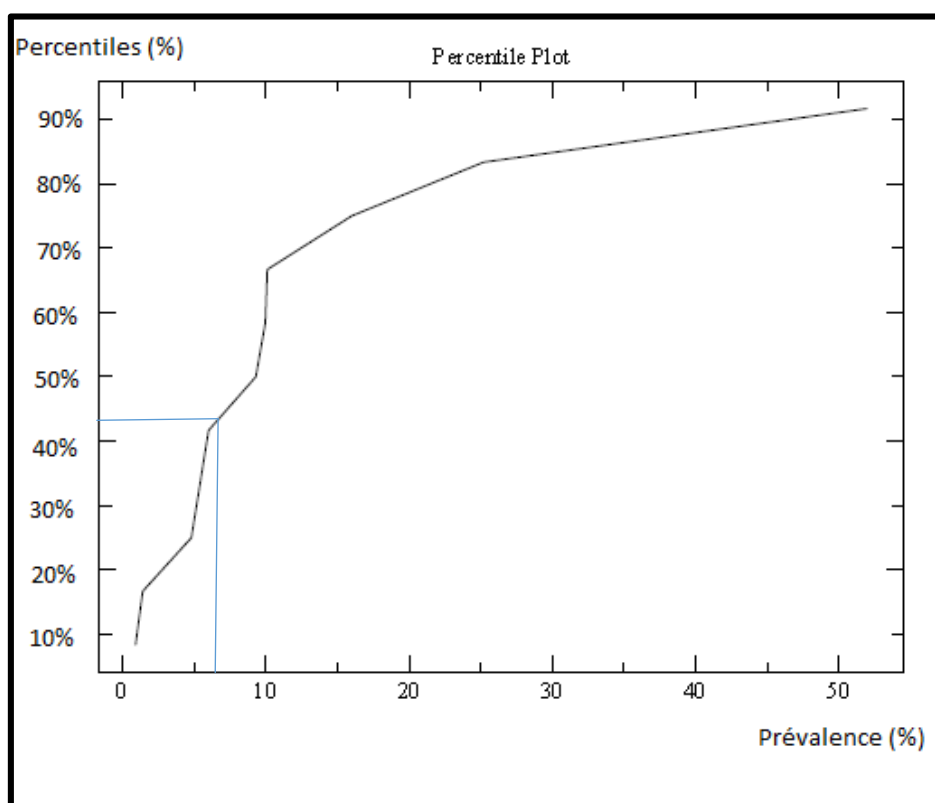


Figure 20: Répartition en percentiles des prévalences de *Salmonella* spp observées dans la littérature.

Notre valeur (n=7,6%) est indiquée par une ligne bleue. Elle correspond au percentile 45%, ce qui signifie que 45% des valeurs sont inférieures à la prévalence trouvée dans notre étude alors que 55% des valeurs lui sont supérieures.

1.3 .Sérotypage

La détection et l'identification du sérotype *Salmonella* Dublin parmi les Salmonelles isolées dans les matières fécales prélevées à partir de 14 souches de *Salmonella* spp. isolées était de **2,71%**. Ce résultat reste proche à celui obtenu par Nielsen et collaborateurs dans leurs travaux effectués au Danemark avec un taux allant de **0,3 à 2,8%** de positifs pour le sérotype *Salmonella* Dublin (**Nielsen et al ., 2013**).

Malgré qu'il soit le sérotype le plus fréquemment excrété dans les matières fécales des vaches, le sérotype Dublin est faiblement détecté dans ces études. C'est aussi le cas du résultat obtenu aux USA par Edrington et collaborateurs avec un taux de **1%** sur les **393** échantillons positifs pour *Salmonella* spp. (**Edrington et al., 2004**).

Néanmoins, certains auteurs ont rapporté des résultats plus ou moins élevés. Cela a été montré par Nielsen et collaborateurs avec un taux allant de **6%** jusqu'à **14%**. Leurs résultats sont à mettre en relation avec le nombre élevé des prélèvements qui était de 4531 échantillons de matières fécales prélevées sur des vaches laitières danoises (**Nielsen et al ., 2004**). Au cours de leur étude effectuée en Californie, Pacer et collaborateurs ont enregistré un taux de positivité de **10,7%** pour le sérotype Dublin parmi les 16% des salmonelles détectées (**Pacer et al ., 1989**). Il est à savoir, que *Salmonella* Dublin est le sérotype de *Salmonella* le plus souvent isolé chez les bovins danois et il est à l'origine des pertes économiques signalées dans les troupeaux infectés. De ce fait, un programme national de surveillance de *Salmonella* Dublin a été lancé au Danemark en Octobre 2002. En 2003, la prévalence de *Salmonella* Dublin chez les troupeaux laitiers testés était de **24%**. Ce taux a diminué de **12%** en 2009 suite à des campagnes de contrôle et de sensibilisation (**Ersboll et Nielsen, 2011**).

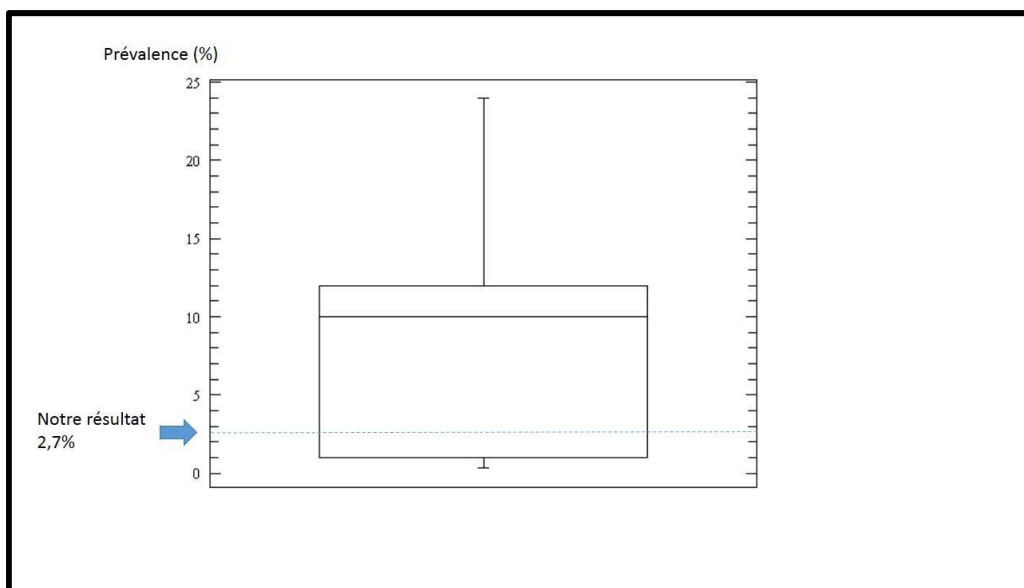


Figure 21: Représentation en boîte à moustaches des prévalences de S. Dublin selon la littérature. Notre résultat est indiqué par la flèche.

On constate que la prévalence trouvée dans notre étude (2,7%) est parmi les valeurs les plus basses.

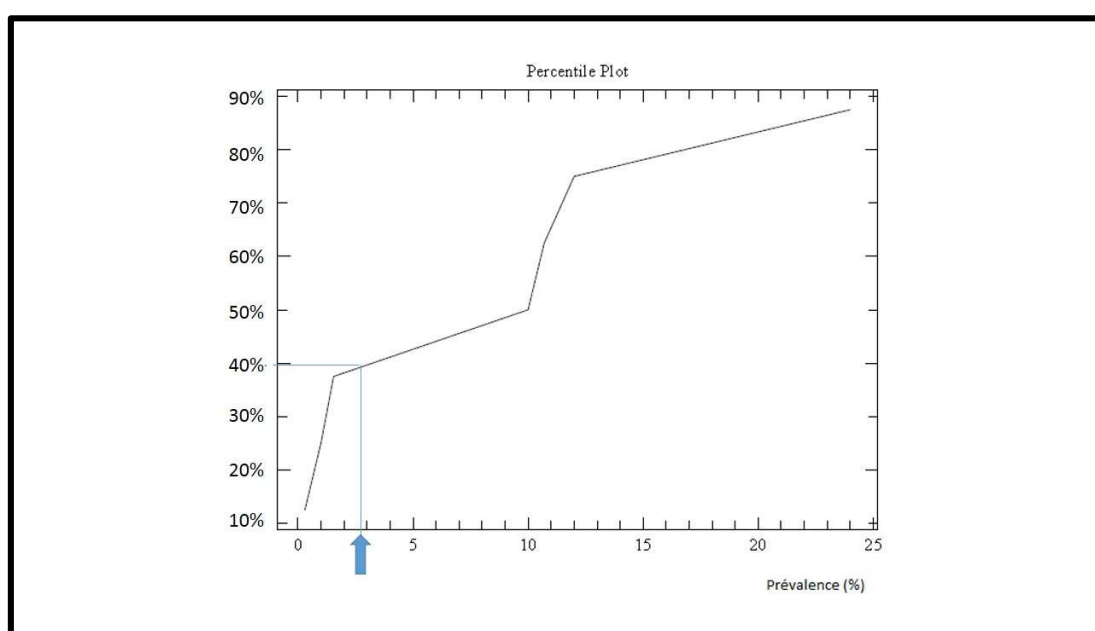


Figure 22: Représentation de la distribution en percentiles des prévalences de S. Dublin observées dans la littérature. Notre résultat est représenté par la flèche.

On constate qu'il correspond au percentile 40%, ce qui signifie que 40% des valeurs sont inférieur.

2. Prévalence de Salmonelles en fonction du lieu de prélèvement.

Les prélèvements de matières fécales avaient été réalisés dans 19 fermes réparties sur 17 communes différentes. Les analyses bactériologiques ont montré une prévalence globale de **7,60% et 2,71%** pour *Salmonella* spp. et *Salmonella* Dublin respectivement.

Parmi les 19 fermes étudiées, 6 (**31,6%**) nous ont permis d'isoler *Salmonella* spp. et 3 (**15,8%**) *S. Dublin*.

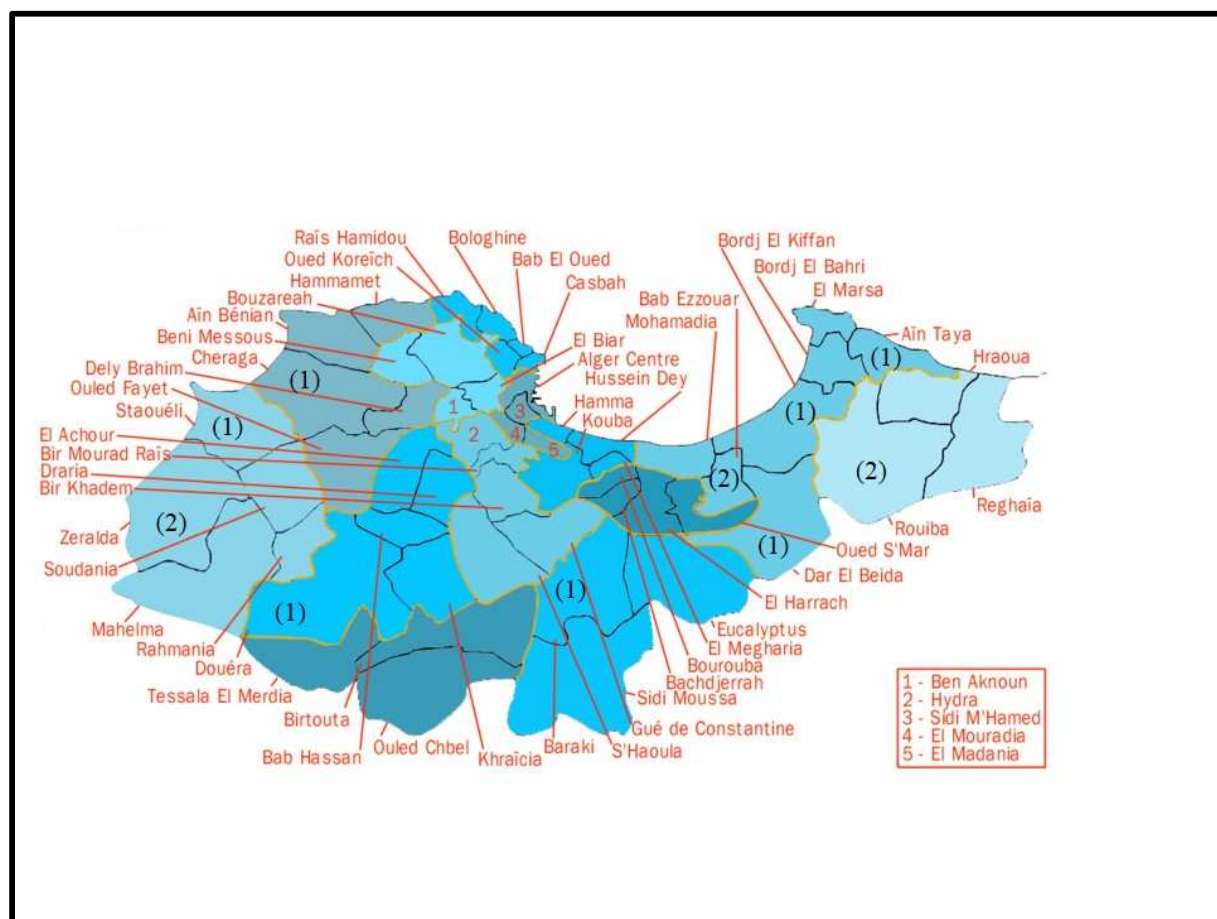


Figure 23: Carte géographique de la wilaya d'Alger montrant les communes prélevées.

Les fermes où les Salmonelles ont été isolées sont les suivantes : Meftah avec un taux de **33,3% (1/3)** et **33,3% (1/3)**, Bouroui avec un taux de **16,7% (1/6)** et **0 %**, Bordj El Kifan avec un taux de **10% (1/10)** et **0%**, Babezzouar1 avec un taux de **60% (6/10)** et **33 % (3/10)**, Babezzouar2 avec un taux de **10% (1/10)** et **10% (1/10)**, ITELV avec un taux de **40% (4/10)** et **0%**, pour *Salmonella* spp et *Salmonella* Dublin respectivement.

Nous remarquons que les vaches appartenant aux fermes issues de la région Est de la Wilaya d'Alger sont les plus exposées aux Salmonelles. Cela pourrait être dû aux mauvaises conditions d'hygiène signalées dans ces régions.

3. Comparaison des deux méthodes d'isolement bactériologique

3.1. Pour l'isolement et l'identification de *Salmonella* spp.

Pour comparer entre les deux méthodes, nous avons calculé la spécificité, la sensibilité, l'exactitude. Nous avons calculé par ailleurs, la concordance entre les deux méthodes à travers le coefficient kappa de Cohen et en utilisant aussi le test de Mc Nemar.

La méthode classique a été comparée à la méthode NF U100-47 prise comme test de référence.

Les résultats ont montré une sensibilité de 21,4%, une spécificité de 100% et une exactitude de 94,0% ce qui signifie que la méthode classique ne s'est pas montrée très sensible comparée à la méthode de référence. En d'autres termes, le nombre de positifs est plus important en méthode de référence NF U100-47 qu'en méthode classique. Si on considère la spécificité, on constate qu'elle est toujours proche de 100%. Le nombre de faux positifs en méthode classique est donc nul. Le manque de sensibilité serait probablement dû au fait que la méthode de routine n'utilise pas d'enrichissement sélectif.

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.33$ ce qui correspond à une concordance faible entre les deux méthodes. L'utilisation du test de Mc Nemar pour vérifier de nouveau la concordance entre les 2 tests a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0.05$). Ces résultats obtenus montrent que les deux méthodes sont assez divergentes pour l'isolement de *Salmonella* spp. Nos résultats montrent que la méthode NFU 47-100 doit être privilégiée par rapport à la méthode classique.

3.2. Pour l'isolement et l'identification de *Salmonella* Dublin.

Si on tient le même raisonnement pour *S. Dublin*, on obtient par rapport à la méthode de référence une sensibilité de 20%, une spécificité de 100% et une exactitude de 99,5%.

Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient k de 0.32 ce qui correspond également à une concordance faible entre les deux méthodes. De même, le test de Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0,05$). Même constat que pour *Salmonella* spp, les deux méthodes montrent des résultats divergents pour l'isolement de *S. Dublin*.

Cependant, la méthode NF U 47-100 n'est pas spécifique pour le sérotype Dublin et donc le fait de trouver plus de *S. Dublin* par cette méthode vient simplement du fait que cette méthode est plus sensible pour la détection de *Salmonella* spp. en général.

3.3. Nombre total d'isolat de salmonelles obtenues par les deux méthodes

Dans notre étude, la méthode classique nous a permis d'isoler 10 souches de *salmonella* spp. et une souche de *Salmonella* Dublin. Alors que, la méthode de Référence NF U47-100 a mis en évidence 52 souches de *Salmonella* Spp. et 4 *Salmonella* Dublin.

Par comparaison aux autres milieux d'isolements, le MSRV donne une amélioration de plus de 500 fois pour la détection de *Salmonella enterica* (Zdragas et al., 2000). Ce milieu peut réduire de 24 heures le temps requis pour l'identification d'un échantillon positif comparativement à la méthode classique, dans laquelle l'enrichissement sélectif utilisant le milieu Sélénite Cystine (SC) ne donne aucune indication sur le genre bactérien après 24 heures d'incubation (Poppe et al., 2004).

En effet, Schönenbrücher et collaborateurs ont démontré en 2008 dans des conditions expérimentales, que le milieu Semi-solide de Rappaport-Vassiliadis est le plus sélectif (97,4%) comparé au milieu au Tétrathionate de Novobiocine (MKTTn, 94,9%) et Sélénite Cystine (38,5%) (Schönenbrücher et al., 2008).

Concernant l'étape de l'isolement, dans la méthode classique certains sérotypes de *Salmonella* spp. fermentent le lactose avec ou sans production d'H₂S. Ces colonies passent souvent inaperçues au technicien de laboratoire, ce qui augmente le taux de faux négatifs des prélèvements analysés (Anonyme, 2006). Cependant, la méthode de référence qui est effectuée sur deux milieux gélosés, le milieu XLD avec apparition de colonies rouges (roses) à centre noir et sur le milieu RAPID' *Salmonella*. Le principe de ce dernier, repose sur la mise en évidence de deux activités enzymatiques (C8 estérase, β -glucosidase). Les *Salmonella* spp. se présentent sous forme de colonies caractéristiques de couleur magenta (détection C8 estérase), facile à identifier (Perry et al., 1999 ; Cooke et al., 1999 ; Schönenbrücher et al., 2008). Une contre sélection est utilisée pour faire apparaître les autres genres bactériens avec une coloration différente.

Le milieu RAPID' *Salmonella* permet la détection des salmonelles mobiles et immobiles, ainsi que les *Salmonella* lactose positive, incluant *Salmonella* Typhi et *Salmonella* Paratyphi (Manafi et al., 1991; Perry et al., 1999; Schönenbrücher et al., 2008).

Sur ce milieu, les colonies de *Salmonella* sont facilement repérables et ne nécessitent pas un deuxième repiquage, comparativement au milieu Hektoen, dont les colonies de *Salmonella* peuvent apparaître gris bleu avec ou sans centre noir, parfois de très petites colonies vertes à transparentes souvent confondues avec les colonies de *Proteus* ou masquées par celles d' *E. coli*, ce qui conduit à l'apparition de faux négatifs.

Les milieux chromogènes se sont montrés plus spécifiques à 24 h d'incubation que la gélose Hektoen (Zdragas et al., 2002). Ces milieux peuvent diminuer le temps d'identification des salmonelles (Perez et al., 2003) et surtout l'ABC medium qui est très spécifique aux *Salmonella* spp. dans les selles (Perry et al., 1999).

4. Recherche d'anticorps spécifiques de *Salmonella* Dublin dans le lait de vache :

Le lait prélevé à partir de 91 vaches était analysé par la technique sérologique ELISA PrioCHECK® afin de mettre en évidence des anticorps dirigés contre le sérotype *Salmonella* Dublin. Un taux de positivité de **13,18%** (12/91) a été relevé.

Ces résultats sont approximativement proches à ceux obtenus par Nielsen et collaborateurs qui ont enregistré un taux de **11%** dans leur travaux réalisés au Danemark (Nielsen et al., 2009) ; à ceux de Poppe et collaborateurs qui ont obtenu un taux de **13%** (Poppe, 2011) et aux travaux de Smith et al qui ont révélé un taux de **14,1%** (Smith et al., 1989).

Cependant, certains auteurs ont enregistré des taux plus élevés. C'est le cas de Nyman et collaborateurs qui ont rapporté dans leur étude un taux de **17%** sur un nombre de 1069 échantillons de lait de vaches prélevées au cours des programmes de contrôle qui se poursuivaient depuis des années afin de mettre en évidence la prévalence de *Salmonella* chez les animaux producteurs de denrées alimentaires suédoises (Nyman et al., 2013). Doherty et collaborateurs ont obtenu un taux de **49%** sur un nombre de 309 prélèvements de lait à partir de vaches irlandaises ; l'incidence de la salmonellose dans la région de l'Irlande est plus grande dans les régions où des densités de bovins sont relativement élevées. (Doherty et al., 2014).

Au cours d'une enquête effectuée en 2002, par Van Kessel et collaborateurs dans différentes exploitations agricoles de 21 États des USA d'Amérique, 861 échantillons de lait de citerne ont été prélevés et analysés pour rechercher différents agents pathogènes, le taux de présence de *Salmonella* Dublin n'a pas dépassé le 0,11% (1/861). Il s'agit d'un taux relativement bas, cependant, la comparaison n'est pas très justifiée puisque la technique utilisée dans cette étude est la culture bactérienne qui est considérée comme une méthode moins sensible que l'ELISA (Van Kessel et al., 2004).

5. Étude comparative entre les résultats immunologiques du lait et bactériologiques des matières fécales.

Sur 91 échantillons de lait issus des 184 vaches participant à l'étude bactériologique, les résultats immunologiques et bactériologiques ont été comparés.

La positivité bactériologique pour *Salmonella* spp. et la positivité immunologique du lait correspondant ont été analysées et les résultats obtenus ont été comparés pour les deux méthodes.

La méthode bactériologique a été comparée à la technique immunologique prise comme test de référence, à travers le calcul de la sensibilité, la spécificité, l'exactitude, le coefficient kappa de Cohen et le test de Mc Nemar. Nous avons constaté que la méthode bactériologique était d'une sensibilité modérée par rapport à la méthode immunologique ($Se=41,6\%$). Ceci signifie que le nombre d'échantillons positifs étaient supérieurs par la méthode immunologique par rapport à la méthode bactériologique. Cependant, la spécificité et l'exactitude étaient de 96,2% et 89% respectivement. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.44$ ce qui correspond à une concordance moyenne entre les deux méthodes. Par ailleurs, nous avons utilisé le test de Mc Nemar pour vérifier de nouveau la concordance entre les 2 tests. Le résultat a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0.05$).

Dans un deuxième temps, c'est la méthode bactériologique qui a été considérée comme le test de référence et la méthode immunologique comme test alternatif. Nous avons obtenu pour cette dernière, une sensibilité moyenne ($Se = 62\%$) par rapport à la méthode bactériologique. En revanche, la spécificité et l'exactitude étaient de 91,5% et 89% respectivement. Le calcul de la concordance entre les deux méthodes par l'utilisation du test de Kappa de Cohen a montré un coefficient $k=0.44$ ce qui correspond à une concordance faible entre les deux méthodes. Le résultat du test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p<0,05$).

La comparaison est ici hasardeuse puisque le test bactériologique recherche *Salmonella enterica* quelque soit le sérotype alors que le test immunologique cible anticorps spécifiques de *S. Dublin*. Quoi qu'il en soit, le test immunologique s'est montré plus sensible que le test bactériologique. Ceci signifie qu'on obtient plus de positifs par la méthode immunologique que par la méthode bactériologique.

Pour *S. Dublin*, nous avons considéré l'immunologie comme test de référence et la bactériologie comme test alternatif, on a obtenu les résultats suivants : sensibilité 16%, spécificité 100 % et exactitude 89,0%, le coefficient Kappa de Cohen = 0.25 et le test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Si on considère pour *S. Dublin*, la bactériologie comme test de référence et l'immunologie comme test alternatif, on obtient ce qui suit : sensibilité 100 %, spécificité 88 % et exactitude 89%, le coefficient Kappa de Cohen = 0.25 et le test Mc Nemar a montré que les deux méthodes donnaient des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

Les deux techniques mesurent des paramètres différents, la bactériologie recherche la présence du germe dans les matières fécales alors que l'approche immunologique recherche des anticorps spécifiques dans le lait. Le test immunologique se montre nettement plus sensible que le test bactériologique. Si on considère les 91 animaux testés par les deux méthodes, on a 12 animaux positifs pour la méthode immunologique alors que le nombre de positifs pour la méthode bactériologique n'est que de 2. Il est possible que la présence des anticorps signe un contact antérieur avec *Salmonella Dublin* bien que la bactérie ne soit plus présente dans les matières fécales.

6. Étude Cas-Témoin

Sur les 19 fermes étudiées, 14 (73,7%) étaient des fermes témoins c'est-à-dire sans cas récent d'avortement et 5 (26,3%) étaient des fermes cas c'est-à-dire des fermes où des cas d'avortement ont été observés durant ces 5 dernières années.

Parmi les 14 fermes témoins, 2 fermes ont montré des résultats positifs à *Salmonella* spp par analyse bactériologique, soit une prévalence de 14,28%. Pour les 5 fermes cas, les mêmes analyses ont révélé une positivité à *Salmonella* spp dans 4 des fermes sur 5 (80%). En d'autres termes, la prévalence globale au niveau des fermes a révélé un taux de 31,57% de positifs à *Salmonella* spp.

6.1. Prévalence en fonction du statut des fermes

Parmi les 184 matières fécales analysées, nous avons pu isoler 14 souches de *Salmonella* spp. Parmi les 14 souches de *Salmonella* spp isolées, 7 appartenaient aux animaux des fermes cas soit une prévalence de 16,27%. Chez les animaux appartenant aux fermes témoins, 7 souches ont été isolées soit un taux de 4,96 %.

6.2. Étude cas-témoin en fonction des résultats bactériologiques

6.2.1. En fonction des analyses bactériologiques positives à *Salmonella* spp.

6.2.1.1. Cas-témoin au niveau de l'exploitation

L'étude cas-témoin en rapport avec les fermes positives ou négatives à *Salmonella* spp montre un taux d'exposition de 80% pour les fermes cas comparativement à 14,28 % pour les fermes témoins. L'odds ratio était de 24 et significativement différent de 1. Il en résulte qu'il existe une association positive significative entre la présence de *Salmonella* dans la ferme et la présence d'avortement.

6.2.1.2. Cas témoin au niveau individuel

Si on considère les résultats positifs à *Salmonella* spp sur le plan individuel, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 3,72 .Cette valeur est pas significativement différente de 1 ($p < 0,05$). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 16,27 % pour les animaux de fermes cas. Dans le groupe témoin, ce taux n'est que de 4,96%. En conséquence, il y a une association positive entre le fait d'avoir des bovins positifs à *Salmonella* spp. dans une ferme et le fait d'y rencontrer des avortements.

6.2.2. En fonction des analyses bactériologiques positives à *S. Dublin*

6.2.2.1. Cas-témoin au niveau de l'exploitation

L'étude cas-témoin montre un taux d'exposition de 40% pour les fermes cas comparativement à 7,14 % pour les fermes témoins. Cependant, étant donné le faible nombre de fermes testées l'Odds ratio n'était pas significativement différent de 1. Il en résulte qu'il n'y a pas d'association entre la présence de *S. Dublin* dans la ferme et la présence d'avortements. En conséquence, pour pouvoir conclure, un plus grand nombre de fermes devrait être testé. En effet, pour une prévalence de la maladie de 10% il faudrait tester au moins 86 fermes pour un risque relatif de 4 (Toma et al ., 2001) avec une proportion de un à trois témoins par cas.

L'interprétation de l'odds ratio doit se faire de la manière suivante :

Soit l'OR n'est pas significativement différent de 1 et il n'y pas d'association entre le fait d'être exposé à *Salmonella* et le fait d'avoir des avortements dans la ferme.

Soit l'OR est significativement supérieur à 1 et le fait d'être exposé à *Salmonella* favorise les avortements dans la ferme

Soit l'OR est significativement inférieur à 1 et le fait d'être exposé à *Salmonella* protège contre les avortements.

6.2.2.2. Cas-témoin au niveau individuel

Sur le plan individuel pour *S. Dublin*, le calcul de l'Odds Ratio a révélé une valeur de 2,2. Cependant, cette valeur n'est pas significativement différente de 1 ($p=0,24$). L'analyse du tableau montre un taux d'exposition de 4,65 % pour les animaux de fermes cas. Dans le groupe témoin, ce taux n'est que de 2,12%. En conséquence, il n'y a pas d'association entre le fait d'avoir des bovins positifs à *S. Dublin* dans une ferme et le fait d'y rencontrer des avortements.

6.3. Étude cas-témoin en fonction des résultats immunologiques du lait (*S. Dublin*)

6.3.1. Au niveau de l'exploitation

Si on considère l'étude cas-témoin au niveau des exploitations, L'OR était de 62,33 (2,13-1822). Cette valeur est significativement différente de 1 ($p<0,05$). Il en résulte qu'il existe une association positive entre le fait d'avoir une réponse positive à *Salmonella* Dublin pour le lait et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. Ceci est encore souligné par le taux d'exposition de 100% des fermes cas alors qu'il n'est que de 11,11% dans les fermes témoins.

6.3.2. Sur le plan individuel

Si on considère l'étude cas témoin sur le plan individuel, celle-ci a révélé ce qui suit : l'Odds Ratio a une valeur de 26,78. Cette valeur est significativement différente de 1 ($p<0,01$). Il en résulte qu'il existe une association positive entre le fait d'avoir une réponse positive pour le lait et le fait d'avoir des avortements dans la ferme. Ceci est encore souligné par le taux d'exposition de 32,35 % pour les animaux des fermes cas alors qu'il n'est que de 1,75% dans le groupe témoin.

Le nombre faible de fermes testées ($n=14$) doit nous encourager à la prudence quant aux conclusions. Néanmoins, nos résultats suggèrent un rôle direct ou indirect de *S. dublin* associé aux avortements dans les fermes testées.

Conclusion et Recommandations



"Let's hope it's not salmonella"

VI. Conclusion et Recommandations

Cette étude est la première investigation du statut bactériologique et immunologique vis-à-vis de *Salmonella enterica* et/ou *Salmonella enterica* sérovar Dublin dans des élevages bovins en Algérie. L'étude a porté essentiellement sur la Wilaya d'Alger.

Dans ce travail, nous avons mené une étude sur 184 prélèvements des matières fécales et 91 prélèvements de lait parmi les 184 vaches participant à l'étude bactériologique.

Une prévalence globale de 7.6% et 2,7% de *Salmonella* spp. et *Salmonella* Dublin respectivement a été enregistrée dans les matières fécales après analyses bactériologiques. L'analyse immunologique du lait a mis en évidence une prévalence de 13,18% pour *Salmonella* Dublin.

La comparaison entre les méthodes bactériologiques utilisées (méthode classique et méthode de référence(NF U 47-100) pour l'isolement des souches de *Salmonella enterica* a montré que les deux méthodes sont assez divergentes et que la méthode NF doit être privilégiée par rapport à la méthode classique du fait de sa meilleure sensibilité.

Par ailleurs, l'étude comparative entre les résultats immunologiques du lait et bactériologiques des matières fécales a montré que le test immunologique est nettement plus sensible que le test bactériologique.

L'étude cas-témoin en rapport avec les fermes positives ou négatives à *Salmonella* spp a montré une association positive significative entre la présence de *Salmonella* dans la ferme et la présence d'avortement. Sur le plan individuel, les résultats ont montré aussi une association positive.

L'étude cas-témoin en rapport avec les fermes et/ou les individus positifs ou négatifs à *Salmonella* Dublin n'a pas permis d'établir une association claire entre les avortements et la positivité à S. Dublin, en raison du faible nombre de fermes testées. En revanche, l'étude cas-témoin réalisée en fonction des résultats immunologiques du lait (S. Dublin) a montré une association positive entre le fait d'avoir une réponse positive à *Salmonella* Dublin dans le lait et le fait d'avoir des avortements dans la ferme.

Au vu de tous ces résultats obtenus, nous pouvons déduire ce qui suit :

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

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR. Norme NF U47-100 Méthodes d'analyse en santé animale - Recherche par l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales. Paris, 2007.
- ANDERSON M., BLANCHARD P. The clinical syndromes caused by *Salmonella* infection. *Vet. Med.*, 1989, 816-819.
- ANONYME « Plan National de Salubrité des Aliment », Avant Projet de loi, Alger, 2006, 111 pages.
- ANONYME Sérotypage des Gram 2011-. <http://pedagogie.ac-montpellier.fr/Disiplines/sti/biotechn/documents/le%20s%C3%A9rotypage/pdf>
- AUBRY P. La salmonellose chez les bovins laitiers présentation clinique et culture bactériologique. thèses. université de Montréal. 2010.
- AUBRY P. Les Salmonelles Médecine –Tropicale, P: 6. Centre National de la Recherche Scientifique, 2004.
- AVRIL J.L., FAUCHER J.L. Bactériologies générale et médicale. *Edition Ellipses Marketing*, S.A, 2002, 242-248.
- BAIOD N. Prévalence, résistance aux antibiotique et virulence des salmonelles mineures isolées dans les hôpitaux de la région d'Alger : étude sur 106 souches, thèse de magister : option microbiologie : 1996-1997 ; 79-83.
- BARROW P.A. Serological Diagnosis of *Salmonella* by ELISA and Other Tests. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK. *CABI Publishing*, 2000, 407-427.
- BENDALI F., GOURREAU J.M. Maladies des Bovins. Institut de l'élevage.*France Agricole Editions*, 797 p.
- BERGEY D.H., HOLT J.S. International journal of systematic bacteriology. 1968 18(3), 191-196.
- BLONDEL, CADOT C. *Salmonella* Typhimurium DT104 : *bactériologie, épidémiologie, antibiorésistance*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2002, 89p
- BONNEFOY C., GUILLET F., LEYRAL G., VERNE BOURDAIS .E Microbiologie et qualité dans les Industries Agroalimentaires. 2002, 153-178.
- BORNET G. "Le poulet sans salmonelles : Mythe ou réalité?", *Rev.med.vet.*, 2000, 151(12), 1083- 1094.

- BOUVET P. J-M., "Salmonelles et salmonelloses en France", In "Sécurité alimentaire du consommateur" (Moll, M., Moll, N.), 2ème Édition Tec & Doc Lavoisier, Paris, 2002, 1-33.
- BRENNER F.W., VILLARD R.G., ANGULO F J., TAUXE R., SWAMINATHAN B. "Salmonella nomenclature", *Journal of Clinical Microbiology*, 38(7). 2000, 2465-2467.
- BRISABOIS A. Intérêts et limites des techniques de caractérisation des *Salmonella*, *Épidémiologie et Santé Animale*, 39, 2001, 31-42.
- BRISABOIS A. Le E Test Réanimation Volume 15 , Issue 3 ,June, P : 237-240 ; Copyright C 2006 Société de Réanimation de langue Française Published by Elsevier . Holt JG. *International journal of systematic bacteriology*. 1986, 18(3), 191-196.
- BROCHOT L. Etude de la résistance au chloramphénicol dans une population de salmonelles bovines. Thèse en vue d'obtention du diplôme de docteur vétérinaire. Université ENV LYON. 2001, 77p.
- BURET Y. Conduite à tenir hors thérapeutique dans un élevage présentant une expression clinique de salmonellose, *Bull. GTV*, 1997, 2, p : 75-81.
- CALLAWAY T.R, KEEN J.E., EDRINGTON T.S. L, BAUMGARD H.SPICER. L, FONDA. E. SGRISWOLD .K.E, OVERTONT.R , VAN AMBURGH M.E, ANDERSON R.C, GENOVESE K.J, POOLE T.L, HARVEY R.B, NISBET D.J. Fecal Prevalence and Diversity of Salmonella Species in Lactating Dairy Cattle in Four States. *Journal of Dairy Science*. 2005, 88(10), 3603-3608.
- CALLAWAY T.R., KEEN J.E., EDRINGTON T.S., BAUMGARD L.H., SPICER L., FONDA E.S., GRISWOLD K.E., OVERTON T.R., VANAMBURGH M.E., ANDERSON R.C., GENOVESE K.J., POOLE T.L., HARVEY R.B. NISBET D.J. Fecal Prevalence and Diversity of *Salmonella* Species in Lactating Dairy Cattle in Four States. *J Dairy Sci.*, 2005, 88(10), p: 3603-3608.
- CAMART-PERIE A. SALMONELLA, SALMONELLOSES BOVINES : ETAT DES LIEUX, EPIDEMIOLOGIE EN France. Thèse en vue d'obtention du diplôme de docteur vétérinaire. ENV Alfort. 2006, 130p.
- CARON B., MENARD M.F. SIMON F. Les salmonelloses bovines: lésions et diagnostic de laboratoire, *Bull. GTV*. 1997, 2, 53-65.
- CARRIQUE-MAS J.J., WILLMINGTON J.A., PAPADOPOULOU C., WATSON E.N., DAVIES R.H. Salmonella infection in cattle in Great Britain, 2003 to 2008. *Vet. Rec.* 2010, 167, 560-565.

- CARTER M.E., CORDES D.O., CARMAN M.G. Observations on acute salmonellosis in four Waikato dairy herds, *New-Zealand Vet. J*, 1983, 31, 10-12.
- CHAMBERS P.G. ET LYSONS R.J. The inhibitory effect of bovine rumen fluid on *Salmonella typhimurium*. *Res Vet Sci*, 1979, 26(3), 273-276.
- CHATUVERDI G.C., SHARMA V.K. Cell-mediated immunoprotection in calves immunized with rough *Salmonella* Dublin, *Br. Vet. J.*, 1981, 137 (4), 421-430.
- CHAZEL M., BURET Y., MEUNIER D. ET CALAVAS D.
- CHAZEL M., BURET Y., MEUNIER D., CALAVAS D. Les salmonelloses cliniques digestives des bovins en France: l'évolution de l'incidence annuelle et le bilan du RESSAB, *Bull. GTV*, 2005, 30, 63-69.
- CLARK R.G., FENWICK S.G., NICOL C.M., MARCHANT R.M., SWANNEY S., GILL J.M., HOLMES J.D., LEYLAND M. DAVIES P.R. *Salmonella* Brandenburg -emergence of a new strain affecting stock and humans in the South Island of New Zealand. *N Z Vet J*, 2004, 52(1). 26-36.
- CLEGG F.G., CHIEJINA S.N., DUNCAN A.L., KAY R.N. Wray Outbreaks of *Salmonella* Newport infection in dairy herds and their relationship to management and contamination of the environment. *Vet Rec*, 1983, 112(25). 580-584.
- CLINTON N.A., WEAVER R.W. Transmission of *Salmonella* Typhimurium among feedlot cattle after oral inoculation, *J. Appl. Bacteriol.*, 1981, 50(1), p : 149-155.
- COHEN J.A. Coefficient of agreement for nominal scales : a review. *Educational. Psychology. Measures.*, 1960, 20, 37-46.
- CONSTABLE P.D. Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *Vet. Intern. Med.* 2004, 18(1), 8-17.
- CONSTABLE P.D., SCHMALL L.M., MUIR W.W., HOFFSIS G.F. Respiratory, renal, hematologic and serum biochemical effects of hypertonic saline solution in endotoxemic calves. *Am. J. VET. RES.*, 1991, 52, 990-998.
- COOKE, V.M., MILES, R.J., PRICE R.G., RICHARDSON, A.C. A novel chromogenic ester agar medium for detection of salmonellae, *Appl. Environ. Microbiol.* 65(2), 807-812.
- CORBION B., JOLY A., LAVAL A., MARTEL J.L., PARDON P. SCHELCHER F. Salmonellose bovine, *G.D.S. info*, 1995, 120.
- COSSART P., TRANS VAN NHIEU G. Détournement de infections cellulaires clés, par les bactéries pathogène. *Médecine Sciences*, 2001, 17(6-7). 701-711.

- COSSART P., SANSONETTI P. J. Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science*. 2004, 304, 242-248.
- COUNTER D.F., GIBSON E.A. Salmonella Dublin infection in self contained dairy herds in East Anglia : excretion at calving, *Vet. Record*, 1980, 30, p : 191-193.
- CUMMINGS K.J., WARNICK L.D., ELTON M., GRÖHN Y.T., MCDONOUGH P.L., SILER J.D. The Effect of Clinical Outbreaks of Salmonellosis on the Prevalence of Fecal Salmonella Shedding Among Dairy Cattle in New York. *Foodborne Pathog Dis.*, 2010, 7(7), p: 815-23.
- CUQ J. L. « Les méthodes modernes d'analyse rapide en microbiologie alimentaire agro-alimentaire », Le point international, Centre de veille international de l'agro-alimentaire, 1993, 76p.
- DALTON C. B., GREGORY J., KIRK M. D., STAFFORD R. J., GIVNEY R., KRAA E., GOULD D. Foodborne disease outbreaks in Australia, 1995 to 2000, *Commun Dis Intell*, 2004, 28(2), 211-224.
- DAVID C. Salmonellose des bovins en Ille et Villaine. *Bull. Soc. Vét . Prat.* 1972, 551-556.
- DAVIDSON H.C., SAYERS A.R. *Salmonella* on dairy farms in England and Wales : risk factors associated with the *Salmonella* status of farms, *Indian Journal of Medicine and Microbiology*, 2005, 23, 204-205.
- DAVIS T.G., RENTON C.P. Some aspects of the epidemiology and control of *Salmonella* Typhimurium infection in out wintered sucklers cows, *Vet. Record*, 1992, 131, 528-531.
- DE SMEDT J.M., BOLDERDIJK R.F., RAPPOLD H.F., LAUTENSCHLAEGER D. Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on a Modified Semi-solide Rappaport-Vassiliadis medium, *J. Food Prot.*, 1986, 49, p : 510-514.
- DJESJOUIS G., SPENNICK H., MARTEL J.L. Diagnostic et traitement des salmonelloses cliniques des bovins. *Bull GTV*, 1997, 2, p : 67-73.
- DOHERTY E. , BERRY D.P., O' GRADY L., SAYERS R. Management practices as risk factors for the presence of bulk milk antibodies to *Salmonella*, *Neospora caninum* and *Leptospira interrogans* serovar hardjo in Irish dairy herds. *Animal*. 2014, 24, p: 1-10.
- DOHERTY E., SAYERS R., O' GRADY L. Temporal trends in bulk milk antibodies to *Salmonella*, *Neospora caninum*, and *Leptospira interrogans* serovar hardjo in Irish dairy herds. *Prev Vet Med*. 2013, 109(3-4), p: 343-8.

- Dublin in A Calf Rearing Unit. 1985. *Veterinary Record* 117, 667-668.
- DUFFY G., B. KILBRIDE, J.J. SHERIDAN, I.S. BLAIR D.A., DOWELL M.C. A membrane-immunofluorescent-viability staining technique for the detection of *Salmonella* spp. from fresh and processed meat samples. *J Appl Microbiol*, 2000, 89(4), p: 587-594.
 - EDRINGTON T.S., SCHULTZ C.L., BISCHOFF K.M., CALLAWAY T.R., LOOPER M.L., GENOVESE K.J., JUNG Y.S., MCREYNOLDS J.L., ANDERSON R.C., NISBET D.J. Antimicrobial resistance and serotype prevalence of *Salmonella* isolated from dairy cattle in the southwestern United States. *Microb Drug Resist.* 2004, 10(1), p: 51-6.
 - ERSBOLL A.K., NIELSEN R. Spatial patterns in surveillance data during control of *Salmonella* Dublin in bovine dairy herds in Jutland, Denmark 2003-2009. *Spat Spatiotemporal Epidemiol.* 2011, 2(3), 195-204.
 - EVANS S., DAVIES R. Case control study of multiple-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 infection of cattle in Great Britain. *Vet. Rec.*, 1996, 139, 557-558.
 - F. ALLERBERGER, A. LIESEGANG, K. GRIF, R. PRAGER, J. DANZL, F. HÖCK, J. ÖTTL, M. P. DIERICH, C. BERGHOLD, I. NECKSTALLER, H. TSCHÄPE, I. FISHER. *Salmonella enterica* sérotype Dublin en Autriche. EURO SURVEILLANCE VOL. 7 - N° 4 AVRIL - AVRIL 2002
 - FASQUELLE R. *Eléments de bactériologie médicale*. 9ème édition. 1974, 242-248.
 - FIDLAY C.R. The persistence of *Salmonella* Dublin in slurry, in Tank and on pasture. *Vet. Rec.*, 1972, 91, 233-235.
 - FOLEY G.L. SCHLAFFER D.H. Bacterial endotoxemia and reproductive effects in ruminants, *Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.*, 1994, 10(3), p : 491-501.
 - FOSSE J., MAGRAS C. *Salmonella enterica enterica* ; in « danger biologique et consommation des viandes, Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 2004, 147-152.
 - FOSSLER C.P., WELLS S.J., KANEENE J.B., RUEGG P.L., WARNICK L.D., BENDER J.B., GODDEN S.M., HALBERT L.W., CAMPBELL A.M., ZWALD A.M. Prevalence of *Salmonella* spp. on conventional and organic dairy farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2004, 225(4), 567-573.
 - FOX J.G., BEAUCAGE C.M. The incidence of *Salmonella* in random sources cats purchased for use in research. *J. Infect. Dis.*, 1979, 139(3), 362-365.
 - GARBER L. ; FEDORKA-CAY P. ; FERRIS K. ; LADEYL S., SMELTZER M. *Salmonella* Enterica serotype Enteritidis in table egg layer house environments and in mice in U.S. layer houses and associated risk factors . *Avian dis.* 2003, 47, 134-142.
 - GARRE M., PENNEC Y. *Salmonelloses de l'adulte*. Encycl.Méd.Chir. Edition Scientifique et Médicale ; Elsevier SAS, Paris, Maladies Infectieuses, 2003.

- GLEDEL J. Données épidémiologiques relatives toxi-infections alimentaires à salmonella. *Revue Médecine et Maladies infectieuses*. 1987, 8(5), 250-261.
- GLEDEL J. Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine. *Epidémiol. Santé anim.*, 1985, 7, 39-70.
- GLEDEL J., CORBION B. Le Genre Salmonella ». In «Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries Agro-alimentaires : Le Contrôle microbiologique » (Bourgeois, C. M., Leveau, J. Y.), Éditions Lavoisier. *Tec & Doc, Paris*, 1991, 260-273.
- GLEDEL J., CORBION B. le genre Salmonella dans : Microbiologie Alimentaire » (Bourgeois et Mescle), 1ere edition , 2ème tirage , techniques et documentation, Paris, 1995.
- GLEDEL J.R. Le genre Salmonella, In: Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Éditions Lavoisier - *Tec & Doc, Paris*, 1990, 62-77.
- GRIMONT P.A.D Les marqueurs épidémiologiques des salmonella. *méd.mal. Infect.*, 1992, 22, 249-257.
- GRIMONT P.A.D., GRIMONT F., BOUVET P. Molecular Basis Of the diversity In the genus Salmonella. In: Salmonella In domestic Animals. Wary Et col. CABI Publishing, *British Library, London,U.K.* 2000, 1-17.
- GRIMONT P.A.D., GRIMONT F., BOUVET P.J.M. *Salmonella In* : J. Freney et al. : Manuel de bactériologie clinique. *Option Bio, Paris*, 1994, 2, 1017-1037.
- GRIMONT P.A.D., WEILL F.X. Antigenic formulae of the Salmonella serovars, 9th Edition WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, *Institut Pasteur, Paris*, 2007, 60p.
- HACKER J., KAPER J. B. Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu Rev Microbio.*, 2000, 154, 641-679.
- HALL C.A., REICHEL M.P., ELLIS J.T. Neospora abortions in dairy cattle : diagnosis, mode of transmission and control. *Vet. Parasitol.*, 2005,128, p : 231-41.
- HALL G.A., JONES P.W. The pathogenesis of experimental intra-ruminal infections of cows with *Salmonella* Dublin. *J. Comp. Path.*, 1978, 88, 409-417.
- HALL G.A., JONES P.W., PARSONS K.R., CHANTER N., AITKEN M.M. Studies of the virulence of *Salmonella* Dublin in experimental infections of cattle and rats. *Br Vet J* 1979, 135(3), 243-248.
- HASELY C., LECLERC H. Microbiologie des Eaux D'alimentation Technique Et Documentation- Lavoisier. 1993.

- HINTON M. Salmonella abortion in cattle. *Vet bull.*, 1971, 41(12). 973-980.
- HINTON M. Salmonella Dublin abortion in cattle: studies on the clinical aspects of the condition. *Br Vet J.*, 1974, 130(6), 556-563.
 - HINTON M. *Salmonella* Dublin abortion in cattle: studies on the clinical aspects of the condition. *Br. Vet. J* 1974; **130**: 556-63.
- HUMBERT F. "Les salmonelles", In "Bactériologie alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments ", (Federighi, M.), 2ème Édition Economica, Paris, 2005, 1-23.
- HUMBERT F., LAHELLEC C. «Applications microbiologiques de l'immunologie » In « Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires : Le contrôle microbiologique » (Bourgeois. C. M., Leveau. J. Y.), Éditions Lavoisier - Tec & Doc, Paris, 1991, 454, 82-91.
- HUSTON C.L., WITTUM T.E., LOVE B.C., KEEN J.E. Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* spp in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc.*, 2002, 220(5), 645-659.
- ISO (International Standard Organization) Amendment to ISO 6579: 2002, Annex D (Normative), "Detection of *Salmonella* spp." In "animal faeces and in samples of the primary production stage", Working document, (25 October 2004).
- JARVELAINEN H.A., GALMICHE A., ZYCHLINSKY A. Caspase-1 activation by *Salmonella*, *Trends Cell. Biol.*, 2003, 13(4), 204-209.
- JAY J.M., LOESSNER M.J., GOLDEN D.A. Modern Food Microbiology, Seventh Edition, Food Science Text Series, Springer Edition, USA, 2005, 790p.
- JONES P.W. Health hazards associated with the handling of animal wastes. *Vet. Rec.*, 1979, 106, 4-7.
- KAGAMBÈGA A., LIENEMANN T., AULU L., TRAORÉ A.S., BARRO N., SIITONEN A., HAUKKA K. Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. *BMC Microbiol.* 2013, 13-253.
- KAHRS R.F., BENTINCK-SMITH J., BJORCK G.R., BRUNER D.M., KING J.M., LEWIS N.F. Epidemiologic investigation of an outbreak of fatal enteritis and abortion associated with dietary change and *Salmonella* Typhimurium infection in dairy herd. A case report. *Cornell Vet*, 1972, 62(2), 175-191.
- KHASCHABI D., LIESEGANG A., PRAGER R., GLAWISCHNIG W., TSCHÄPE H. *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Serovar Dublin. *Wien Tierärztl Mschr* 2002; **89**: 58-62.

- KICARD C., MELLENTIN J., CHABCHOUB B.A. RKINGBEDE P., HEUCLIN T., RAMDANME A., BOUQUET A., COUTTENTER F., HENDRIX S. Salmonella meningitis in an infant due to a pet turtle. Available online 25 October 2013 In Press, Corrected Proof - Note to users
- KIRKWOOD BR, STERNE JAC: Matched studies. *In: Essential medical statistics*, 2nd ed., pp. 214–223. 2003Black well Science, Malden, MA.
- KORSACK N., CLINQURAT A., DAUBE G. Salmonella spp. Dans les denrées Alimentaires D'origine Animale : un Réel Problème de santé Publique ?. 2004.
- KURITA A., GOTOH H., EGUCHI M., OKADA N., MATSUURA S., MATSUI H., DANBARA H., KIKUCHI Y. Intracellular expression of the Salmonella plasmid virulence protein, SpvB, causes apoptotic cell death in eukaryotic cells. *Microb Pathog.* 2003, 35, 43-48.
- LABBE J.F. La salmonellose bovine dans les Côtes d'Armor. Résultats d'une enquête réalisée dans 250 élevages de janvier 1991 à septembre 1993. Th. : *Med.vet.* : Alfort, 1994, 75-76.
- LAN R., REEVES, P.R. "Amplified Fragment Length Polymorphism Analysis of Salmonella enteric" In "Methods in molecular biology, vol. 394, Salmonella: Methods and protocols" (Schatten, H., Eisenstark, A.), Humana Press, Totowa, New Jersey, USA, 2007, 363, 119-132.
- LANDMAN W., HARTMAN E., DOORNENBAL P. "Salmonella-isolatie uit pluimveemonsters: vergelijking diagnostic semi-solid salmonella (Diasalm) en rapport Vassiliadis bouillon (RV) Detection of Salmonella spp." In "poultry samples: Comparison between Diagnostic Semisolid Agar (Diasalm) and Rapport Vassiliadis broth (RV)", De Ware(n)-Chemicus", 1996, 26, 234-237.
- LANTIER F., PITEL F., BERTHON P. Contrôle génétique de la résistance aux Salmonella chez les ovins, *Renc. Rech. Ruminants*, 1995, 2, 311-316.
- LARPENT, J-P., LARPENT-GOURGAUD, M., "Mémento technique de microbiologie" ; 3ème Édition Tec & Doc, Paris, 1997,1039.
- LE MINOR L., VERON M. Bactériologie médicale. *Médecine- Sciences*, Flammarion Paris. 1982, 174-193.
- LE MINOR L. « Le diagnostic de laboratoire des bacilles à Gram négatif », In «Entérobactéries», Tome I, 4ème Édition, De La Tourelle, 1972, 228 p.

- LE MINOR L. « Salmonella », In « Bactériologie médicale » (Le Minor, L., Veron, M.), 2ème Édition Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 1989, 411-427.
- LE MINOR L. « Taxonomie et nomenclature des Salmonella ». Médecine des Maladies Infectieuses, N°22 Spécial, 1992, 246-248.
- LE MINOR L., POPOFF M.Y., LAURENT B., HERMANT D. Individualisation D'une septième Sous-espèce De salmonella S. Choleraesuis Subsp. Nov. Annales de microbiologie. Le Minor, L., « Comment désigner les sérotypes de Salmonella ? », Médecine et Maladies Infectieuses, 1988, 12, 859-862.
- LECLERC H., GAILLARD J.L., SIMONET M. "Microbiologie générale" ; Éditions Doin, Paris, 1995, 535p.
- LIBBY S.J., HALSEY T.A., ALTIER C. Salmonella. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG et al., eds. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. 3rd ed. Ames, IA: Blackwell Publishing Professional, 2004, 143-167.
- MAC MANUS C., LANIER J.M. Salmonella, Campylobacter jejuni and Yersinia enterocolitica in raw milk. J. Food. Prod., 1987, 50, 51-55.
- MACHAN F., SHOTTS E.B. Effect of feeding selected short-chain fatty acids on the *in vivo* attachment of *Salmonella* Typhimurium in chick ceca, Av. Dis., 1992, 36, 139-142.
- MADDOCKS, S., OLMA T., CHEN S., "Comparison of CHROM-Agar Salmonella medium and Xylose-Lysine-Desoxycholate and Salmonella-Shigella Agars for isolation of Salmonella strains from stool samples", Journal Of Clinical Microbiology, 2002, 40(8), 2999-3003.
- MALO D. SALAZ L. Protagoniste de l'immunité innée dans les infections à Salmonella. Medicine science. 2004, 12, 145-156.
- MANAFI M., KNEIFEL W. BASCOMB S. "Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics", Microbiol. Rev. 1991,55,
- MARCHAL O. La salmonellose bovine : aspects cliniques, Bull.GTV, 1997, 2, 37-41.
- MARLY J. Evolution et maîtrise des contaminations des lisiers bovins par les salmonelles, Renc. Rech. Ruminants, 1995, 2, 307-310.
- MARTEL J-L., SAVEY M. Salmonellose des ruminants et santé humaine, Point Vét. 1992, 145, 13-18.
- MARTEL J.-L., PARDON P. Les avortements salmonelliques des bovins, Bull. GTV, 1980, 2, 57-64.

- MARTEL J-L. Les salmonelles agents pathogènes des bovins : diagnostic, traitement, prophylaxie, *Point Vet.*, 1993, 25, 93-99.
- MARTEL J-L. Les salmonelloses chez les ruminants, *Point Vét.* 2001, 221, 30-34.
- MARTEL J-L. Prophylaxie sanitaire de la salmonellose bovine : action sur les animaux, *Epidemiol. Sante Anim.*, 1985, 7, 93-104.
- MASTROENI P., CHABALGOITY J.A., DUNSTAN S.J., MASKELL D.J., DOUGAN G. *Salmonella*: immune responses and vaccines, *Vet. J.*, 2001, 161(2), 132-164.
- MASTROENI P., MENAGER N. Development of acquired immunity to *Salmonella*, *J. Med. Microbiol.*, 2003, 52, 453-459.
- MEUNIER D., BAUCHERON S., CLOECKAERT A., CHASLUS-DANCLA E., MARTEL J.L., Mécanismes de résistance aux antibiotiques des salmonelles suivies à travers le RESSAB, *Bull. GTV*, 2002, 16, 36-40.
- MILLEMANN Y. Le pouvoir pathogène des salmonelles : facteurs de virulence et modèles d'étude, *Vet. Res.* 1998, 29, 385-407
- MILLER S.-I., PEGUES D.-A. *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed., Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. pp. 2344-63.
- MILNES A.S., SAYERS A.R., STEWART I., CLIFTON-HADLEY F.A., DAVIES R.H., NEWELL D.G., COOK A.J., EVANS S.J., SMITH R.P., PAIBA G.A. Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic *E. coli*, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in cattle, sheep and pigs at slaughter. *Epidemiol Infect.* 2009, 137(8), 1135-1148.
- MIRIAGOU V., CARATTOLI A., TZELEPI E., VILLA L., AND TZOUVELEKIS L. S. IS26-associated *In4*-type integrons forming multiresistance loci in enterobacterial plasmids. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005, 49, 3541-3543.
- MORISSE J.P., COTTE J.P. Evaluation of some risks factors in bovine salmonellosis, *Vet. Res.*, 1994, 25, 185-191.
- MORISSE J-P., COTTE J-P., ARGENTE G. Approche épidémiologique de l'excrétion de salmonelles dans un réseau de 50 exploitations bovines laitières avec et sans antécédents cliniques, *Ann. Med. Vet.*, 1992, 136, 403-409.
- MORSE, E.V., DUNCAN, M.A. Salmonellosis, an environmental health problem. *JAVMA*, 1974, 165(11), 1015-1019.

- MULVEY M. R., BOYD D. A., OLSON A. B., DOUBLET B., AND CLOECKAERT A. The genetics of Salmonella genomic island 1. *Microbes Infect*, 2006, 8, 1915-1922.
- NATARO J.P., BOPP C.A., FIELDS P.I., KAPER J.B., STROCKBINE N.A. Escherichia, Shigella and salmonella. In : Murray P.R.; E.J Baron, J.H. Jorgensen et coll.; eds. *Manual of clinical microbiology*. 9 th ed. *Washington: ASM Press*, 2007, 670-687.
- NAVETAT H. Fluidothérapie en gastroentérologie du veau, *Point Vet.*, 1993, 25, 53-60.
- NIELSEN L.R. Salmonella Dublin faecal excretion probabilities in cattle with different temporal antibody profiles in 14 endemically infected dairy herds. *Epidemiol Infect.*, 2013, 141(9), 1937-1944.
- NIELSEN L.R., TOFT N., ERSBØLL A.K. Evaluation of an indirect serum ELISA and a bacteriological faecal culture test for diagnosis of Salmonella serotype Dublin in cattle using latent class models. *J Appl Microbiol.*, 2004, 96(2), p: 311-319.
- NIELSEN LR. Overview of pathogenesis, epidemiology and diagnostic tools necessary for successful surveillance and eradication of *Salmonella* Dublin from the Danish cattle population. Department of Large Animal Sciences Faculty of Life Sciences University of Copenhagen Grønnegårdsvej 8 DK-1870 Frederiksberg C Denmark, 2009.
- NYMAN A.K., ÅGREN E.C., BERGSTRÖM K., WAHLSTRÖM H. Evaluation of the specificity of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies against Salmonella in bovine bulk milk. *Acta Vet Scand.*, 2013, 55(5), 1751-0147.
- OGILVIE T.H. The persistent isolation of Salmonella Typhimurium from the mammary gland of a dairy cow. *Can Vet J*. 1986, 27, 329-331.
- OLSEN J.E. Studies of zoonotic salmonellae: taxonomy, detection and typing and pathogenesis, ed: Samfundsgrafik, Denmark, 2005, 146 p
- OSBORNE A.D., PEARSON H., LINTON A.H., SHIMELD C., Epidemiology of Salmonella infection in calves: the source of calf hood infection by Salmonella Dublin, *Vet. Record*, 1977, 101(26), 513-516.
- PACER R.E., SPIKA J.S., THURMOND M.C., HARGRETT-BEAN N. ET POTTER M.E. Prevalence of Salmonella and multiple antimicrobial-resistant Salmonella in California dairies. *J Am Vet Med Assoc.*, 1989, 195(1), p: 59-63.
- PALUMBO R.N., WANG C. Bacterial invasion: structure, function, and implication for targeted oral gene delivery, *Curr. Drug Deliv*, 2006, 3, 47-53
- PARDON P., SANCHIS R. Les salmonelloses. In : FASSI-FEHRI, M. Les maladies infectieuses du mouton. *Tome I. Actes Editions*. 1988, 162-194.

- PEIFFER B. Salmonelloses et Fièvres Typhoïdes. 1999. [<http://www.lisehygiene.org/SALMON.html>]
- PEREZ J.M., CAVALLI P., ROURE C., RENAC R., GILLE Y., FREYDIERE A.M. “Comparison of four Chromogenic media and Hektoen Agar for detection and presumptive identification of Salmonella strains in human stools”, *Journal Of Clinical Microbiology*, 2003. Vol. 41(3), 1130-1134.
- PERRY J.D., FORD M., TAYLOR J., JONES A.L., FREEMAN R., GOULD F.K., “ABC medium, a new chromogenic agar for selective isolation of Salmonella spp.” *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37, 3, 766-8
- PETERS, A.R. An Estimation of the Economic-Impact of An Outbreak of Salmonella-
- PETRIE L. Diagnostic Différentiel de la diarrhée chez les bovins adultes. *Point vét.* 1991, 23, 69-77
- PLYM-FORSHELL L., EKESBO I. Survival of *Salmonella* in composted and not composted solid animal manures, *J. Vet. Med. B.*, 1993, 40, 654-658.
- POPOFF M.Y., NOREL F. Bases moléculaires de la pathogénicité des salmonella, *Med, Mal. Infect.* 1992, 22, 310-324.
- POPPE C., MANN E.D., SHAW S., Warburton D., Sewell A. “methode d’isolement du genre salmonella sur le milieu modifie semi-solide de RAPPAPORT-VASSILIADIS (MSRV) », Gouvernement du Canada, Agence canadienne d’inspection des aliments, Ottawa, *MFLP*. 2004, 75, 6p.
- POUGET M. Salmonellose Mammaire Ovine : Caractérisation Clinique et Bactériologique. Thèse Doctorat vétérinaire. 2006. p.137
- PRESCOTT L.M., HARLEY J.P., KLEIN D.A. « Microbiologie » ; 3^{ème} Édition française traduction de la 5^{ème} Édition américaine, 2003, 1137p.
- PUYALTO C., COLMIN C., LAVAL A. *Salmonella* Typhimurium contamination from farm to meat in aduly cattle. Descriptive study., *Vet. Res.*, 1997, 28, 449-460.
- RADOSTITS O., GAY M.C.C., HINCHCLIFF K.W., CONSTABLE P.D. Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10 th ed . New York: Elsevier Saunders, 2007.
- RAVARY B., FECTEAU G. Les traitements complémentaires du choc, *Point Vet.*, 2002, 222(33), 42-43.
- RICHARDSON A. *Salmonella* Dublin infection in cattle .*Aust Vet*, 1974, 50(10), 111-124.
- RICHARDSON A. The transmission of salmonella Dublin to calves from adult carrier cows. *Vet Rec*, 1973, 92(5), 111- 124.

- RICHARDSON, A. AND WATSON, W.A.,. A contribution to the epidemiology of *Salmonella* Dublin infection in cattle. 1971. British Veterinary Journal 127, 173-182.
- SANSONETTI P-J. Physiopathologie de l'infection intestinale par les salmonelles, *Rev. Prat*, 1992, 42, 2263-2267.
- SANTOS R.L., ZHANG S., TSOLIS R.M., BAUMLER A.J., ADAMS L.G. Morphologic and molecular characterization of *Salmonella* Typhimurium infection in neonatal calves, *Vet.Pathol.*, 2002, 39(2), 200-215.
- SCHELCHER F., CORBIERE F., FOUCRAS G., MEYER G. La réhydratation des bovins adultes, *Point Vet*, 2003, 240, (34), 24-27.
- SCHELCHER F., VALARCHER J.F. Physiopathologie des salmonelloses bovines, *Bull. GTV*, 1997, 2, 25-30.
- SCHÖNENBRÜCHER V., MALLINSON E.T., BÜLTE M. "A comparison of standard cultural methods for detection of foodborne *Salmonella* species including three chromogenic plating media" *International Journal of Food microbiology*, 2008, 6 p.
- Silue N. Thermorésistante de trios sérotype de salmonella dans l'œuf et les gésiers de poulets. Mémoire online, Université Cocody d'Abidjan. 2007, 1-21.
- SMITH B.P. Salmonellosis in ruminants. In: Smith BP, ed. *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2002, 775-779.
- SMITH B.P., HABASHA F., REINA-GUERRA M., HARDY A.J.. Bovine salmonellosis: experimental production and characterization of the disease in calves, using oral challenge with *Salmonella* Typhimurium. *Am J Vet Res*, 1979, 40(11), 1510-1513.
- SMITH B.P., OLIVER D.G., SINGH P., DILLING G., MARTIN P.A., RAM B.P., JANG L.S., SHARKOV N., ORSBORN J.S. et al Detection of *Salmonella* Dublin mammary gland infection in carrier cows, using an enzyme-linked immunosorbent assay for antibody in milk or serum. *Am J Vet Res.*, 1989, 50(8), 1352-1360.
- SOJKA W. J., THOMSON P.D., HUDSON E.B. Excretion of *Salmonella* Dublin by adult bovine carriers. *Br. Vet. J.* 1974, 130, 482-488.
- Tindall B.J., Grimont P.A.D., Garrity G.M., Euzéby J: Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55
- TOMA B., DUFOUR B., SANAA M., BENEET J.J., SHAW A., MOUTOU F., LOUZA A. Epidémiologie appliquée à la lutte contre les maladies animales transmissibles majeures. AEEMA, 2001, Maison-Alfort, France, 696p.

- TORTORA G.J., FUNKE B.R., CASE C.L. « Introduction à la microbiologie », Editions du renouveau pédagogique Inc., 2003, 945p.
- VAILLANT V., HAEGHEBAERT S., DESENCLOS J.-C., BOUVET P., GRIMONT F., GRIMONT P.-A., BURNENS A.-P. Outbreak of *Salmonella* Dublin infection in France, November-December 1995. *Eurosurveillance* 1996; 1:1-3
- VALLET A. Salmonelloses, *Maladie des bovins*, Editions France Agricole, 3^e édition, 2000, 540, 54-61.
- VALLET A., MARLY J. Prévention du risque salmonellose : maîtrise des effluents contenant des déjections bovines. *Bull*, 1995, 81-90.
- VAN ASTEN A.J., VAN DIJK J.E. Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2005, 44, 251-259.
- VAN IMMERSEEL F., DE BUCK J., BOYEN F., PASMANS F., BERTRAND S., COLLARD J.M., SAEGERMAN C., HOOYBERCHS J., HAESEBROUCK F., DUCATELLE R. "Salmonella dans la viande de volaille et dans les oeufs: Un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace", *Ann. Méd. Vét.*, 2005, 149, 34-48.
- VAN KESSEL J.S., KARNS J.S., GORSKI L., McCLUSKEY B.J., PERDUE M.L. Prevalence of *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, and Fecal Coliforms in Bulk Tank Milk on US Dairies. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87(9). 2822–2830
- VELING J., VAN ZIJDERVELD F.G., ZIJDERVELD-VAN BEMMEL A.M., SCHUKKEN Y.H., BARKEMA H.W. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for detecting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin antibodies in bulk milk. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001, 8(6), 1049-1055.
- VENTOLA P. Contribution à l'étude des avortements salmonelliques dans l'espèce bovine. Bilan des cas diagnostiqués au laboratoire départemental de Chambéry. Thèse en médecine vétérinaire, Lyon. 1981, 9.
- VILLATE D. Les Maladies des Volailles .France Agricole, 2^{ème} Ed, 2001, 244-259.
- VISSIER I.J. Cutaneous salmonellosis in veterinarians, *Vet. Rec.*, 1991, 129(16), 364.
- WALLIS T.S. *Salmonella* pathogenesis and immunity : we need effective multivalent vaccines, *Vet. J.*, 2001, 161(2), 104-106.
- WARNICK L.D., KANEENE J.B., RUEGG P.L., WELLS S.J., FOSSLER C., HALBERT L. ET CAMPBELL A. Evaluation of herd sampling for *Salmonella* isolation on midwest and northeast US dairy farms. *Prev Vet Med.*, 2003, 60(3), p: 195-206.

- Wary C., Wary A. *Salmonella* In Domestic Animals. *CABI*. 2000. 463p. Chapter : RYCROFT A Structure, function And Synthesis Of Surface Polysaccharides In *Salmonella*, 19-33.
- WATHES C.M., ZAIDAN W.A.R., PEARSON G.R. HINTON M., TODD N. Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella* Typhimurium. *Vet. Rec.*, 1988, 123, 590-594.
- WELLS S.J., FEDORKA-CRAY P.J., DARGATZ D.A., FERRIS K. ET GREEN A. Fecal Shedding of *Salmonella* spp. by Dairy Cows on Farm and at Cull Cow Markets. *Journal of Food Protection*, 2001, 64(1), p 3-11.
- WORCMAN -BARNINKA D., DESTROS M.T., FERNANDES S.A., LANGDRAF M. "Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium (MRSV) for the detection of *Salmonella* in foods". *International Journal of Food Microbiology*, 2001, 64, 387-393.
- YRLID U.Y. In vivo activation of dendritic cells ad T cells during *Salmonella enterica* sérovars Typhimurium infection. *Infect. Immun.*, 2001, 69, 5726-5735.
- ZDRAGAS A., TSAKOS P., MAVROGENI P. "Evaluation of two assays, MSRVR and RV, for the isolation of *Salmonella* spp. From wastewater samples and broiler chickens". *Letters in Applied Microbiology*, 2000, 31(4), 328-331.
- ZHANG S., KINGSLEY R.A., SANTOS R.L., ANDREWS-POLYMENIS H., RAFFATELLU M., FIGUEIREDO J., NUNES J., TSOLIS R.M., ADAMS L.G., BAUMLER A.J. Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype typhimurium- induced diarrhea. *Infect Immun*, 2003, 71(1), 1-12.

Annexes

ANNEXE I**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique****Ecole nationale supérieure vétérinaire d'Alger****Enquête sur les avortements d'origine salmonellique dans les régions d'Alger****Renseignements concernant l'exploitation**

- 1- Votre ferme a-t-elle déjà eu des problèmes d'avortement ?
- 2- Si c'est oui depuis quand ?
- 3- La vache ou les vaches qui ont avorté sont elles sur places ou bien elles ont quitté la ferme
- 4- Lieu du travail :
- 5- Elevage :

☐ Allaitant. ☐ Laitier. ☐ Mixte.

3-Stabulation :

☐ Semi entravé. ☐ Entravé. ☐ Libre.

4- mode d'élevage :

☐ Extensif. ☐ Semi extensif. ☐ Intensif.

5- contact possible des bovins avec des :

☐ Ovin. ☐ Caprin ☐ Lapin. ☐ Chats

☐ Chiens. ☐ Oiseaux. ☐ Faune sauvage.

6 -Nombre de bovin présent dans la ferme :

7- Nombre de bovin prélevé :

8 – Nombre de vache gestante (s) :

9 – Race :

☐ Croisé. ☐ Importé. ☐ Locale.

9- Hygiène :

☐ Bonne. ☐ Moyenne. ☐ Mauvaise.

Renseignements concernant la conduite du troupeau :

1- Alimentation propres de toute matière fécale ?

☐ Oui. ☐ Non

3- Ya-t- il eu récemment des introductions d'animaux :

☐ Achat. ☐ Prêt.

5- Origine de l'eau de boisson :

☐ Réseaux. ☐ Réserve en surface. ☐ Puits ou forages.

7- La vache –a-t-elle déjà avorté :

☐ Oui. ☐ Non.

Si oui :

-N° de la vache :

-Age :

– Race :

☐ Croisée. ☐ Importée. ☐ Locale.

- dans quel stade de gestation a-t-elle avorté ? :.....

- La vache prélevée a-t-elle eu des problèmes digestifs:

☐ Oui. ☐ Non.

Si Oui :

Nature des matières fécales

☐ Molles. ☐ Diarrhée.

Si diarrhée :

☐ Liquide mucoïde. ☐ Liquide mucoïde + sang ☐ Liquide huileuse

☐ Liquide profuse. ☐ Liquide sanglante.

- Si la vache a avorté la diarrhée s'est produite avant ou après l'avortement?

• ☐ Avant. ☐ Après.

- Si la vache a avorté quels sont les signes qu'elle a montré avant l'avortement ?

.....

- Est-ce que ces signes cliniques observés sur l'ensemble de troupeau :

☐ Oui. ☐ Non.

ANNEXE II

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

Matériel :

Balance électronique

Becs Bunsen

Flacons stériles

Pipettes Pasteur

Agitateur à tubes ou Vortex

Portoirs

Incubateurs réglés à 37°C, 42°C

Anse de platine

Boîtes de Pétri (différentes dimensions)

Réfrigérateur

Congélateur

Papier buvard stérilisé

Lames de verre

Densimètre

Tube sec

Centrifugeuse

Micropipettes

Milieux de culture, additifs et réactifs

- Eau physiologique.
- Eau distillée stérile.
- Eau péptonée tamponnée
- Bouillon de Rappaport-Vassiliadis.

- Bouillon au sélénite-cystine
- Gélose XLD.
- Bouillon KMTT
- Milieu semi solide MSRV
- Novobiocine
- Disque SFB
- Additif HK
- Gélose Rapid' Salmonella
- Gélose inclinée au TSI
- Gélose nutritive inclinée
- Bouillon nutritif.
- Milieu Urée –Indole
- Réactif TDA
- Réactif ONPG
- Réactif VPI
- Réactif VPII
- Réactif rouge de méthyle
- Huile de vaseline stérile.
- Galerie API 20 E(Bio Mérieux)
- Sérums polyvalents et monovalents
- Souche de référence ATCC (*S. Typhimurium* **14028**).
- Milieu de conservation.

Quelques compositions des milieux

Eau peptonnée tamponnée

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

bouillon sélénite cystéine

Tryptone	5 g
Lactose	4 g
phosphate disodique	10 g
hydrogénoséléénite de sodium	4 g
L-cystine	10 mg

Gélose XLD

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

Gélose Hektoen

Peptone pepsique de viande	12 g
Extrait autolytique de levure	3 g
Lactose	12 g
Saccharose	12 g
Salicine	2 g
Sels biliaires	9 g
Chlorure de sodium	5 g
Thiosulfate de sodium	5 g
Citrate ferrique ammonical	1,5 g
Bleu de bromothymol	65 mg

Fuchsine acide	40 mg
Agar agr bactériologique	13,5 g

Gélose nutritive

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

Gélose TSI

Tryptone	14 g
Extrait autolytique de levure	3 g
Extrait de viande	3 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Saccharose	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Thiosulfate de sodium	0,3 g
Citrate ferrique ammoniacal	0,3 g
Rouge de phénol	24 mg
Agar agar bactériologique	13,5 g

Gélose de conservation

Peptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar agar bactériologique	10 g

Milieu semi-solide de Rappaport-Vassiliadis

Digestat enzymique de tissus animaux et végétaux	4,6 g
Hydrolysate acide de caséine	4,6 g
Chlorure de sodium	7,3 g
Dihydrogène phosphate	1,5 g
Chlorure de magnésium anhydre	10,9 g
vert malachite	0,04 g
Agar agar	2,7 g
Eau	1000 ml

Solution de Novobiocine

Novobiocine (sel monosodique)	0,05 g
Eau	10 ml

Bouillon au tétrathionate (Müler-Kauffmann)

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

Solution iodo-iodurée

Iode	20 g
Iodure de potassium	25 g
Eau	100 ml

Milieu urée indole

L-tryptophane	3 g
Phosphate monopotassique	1 g
Phosphate dipotassique	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Urée	20 g
Rouge de phénol à 1%	2,5 ml
Alcool à 95%	10 ml
Eau	1000 ml

Annexe III

Principales caractéristiques des fermes bovines étudiées.

Echantillons				Etude bactériologique à partir des matières fécales après le sérotypage				Etude immunologie à partir du lait
				Méthode de routine (Classique)		Méthode de référence NF U 100-47		Teste ELISA
Vache	Ferme	Type de ferme	Présence de Salmonella	salmonella spp.	Salmonella Dublin	Salmonella spp.	Salmonella Dublin	Salmonella Dublin
1	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	0
2	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
3	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
4	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	0
5	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	0
6	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
7	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
8	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
9	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
10	Baraki	Témoin	0	0	0	0	0	ND
11	Elmeftah	Témoin	0	0	0	0	0	1
12	Elmeftah	Cas	1	0	0	1	1	1
13	Elmeftah	Témoin	0	0	0	0	0	0
14	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
15	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
16	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
17	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
18	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
19	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
20	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
21	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
22	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
23	Rouiba 1	Témoin	0	0	0	0	0	0
24	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	0
25	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	0
26	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	ND
27	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	ND
28	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	ND
29	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	ND
30	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	ND
31	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	0
32	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	0
33	Dar Elbaidaa	Témoin	0	0	0	0	0	ND
34	Cheragha	Cas	0	0	0	0	0	ND
35	Cheragha	Témoin	0	0	0	0	0	1

36	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	1
37	Cheragha	Cas	0	0	0	0	0	0
38	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	1
39	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	0
40	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	0
41	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	0
42	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	0
43	Cheragha	Témoins	0	0	0	0	0	0
44	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
45	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
46	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
47	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
48	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
49	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
50	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
51	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
52	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
53	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
54	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	0
55	Douera	Témoins	0	0	0	0	0	ND
56	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
57	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
58	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
59	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
60	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	1
61	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
62	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
63	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
64	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
65	Staoili	Témoins	0	0	0	0	0	0
66	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
67	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
68	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
69	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
70	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
71	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
72	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
73	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
74	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	ND
75	Zeralda 1	Témoins	0	0	0	0	0	0
76	Zeralda 2	Témoins	0	0	0	0	0	0
77	Zeralda 2	Témoins	0	0	0	0	0	0
78	Zeralda 2	Témoins	0	0	0	0	0	0
79	Zeralda 2	Témoins	0	0	0	0	0	0

80	Zeralda 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
81	Zeralda 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
82	Zeralda 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
83	Zeralda 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
84	Zeralda 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
85	Bouroui	Témoïn	0	0	0	0	0	0
86	Bouroui	Témoïn	0	0	0	0	0	0
87	Bouroui	Témoïn	1	0	0	1	0	0
88	Bouroui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
89	Bouroui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
90	Bouroui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
91	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
92	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
93	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
94	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
95	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
96	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
97	Bardj Elkifane	Cas	0	0	0	0	0	0
98	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
99	Bardj Elkifane	Témoïn	0	0	0	0	0	0
100	Bardj Elkifane	Cas	1	1	0	1	0	1
101	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
102	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	1	0	0	1	0	ND
103	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	1	0	0	1	0	ND
104	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
105	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
106	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
107	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	1	1	1	1	1	ND
108	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	1	0	0	1	1	ND
109	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	1	1	0	1	0	ND
110	Bab Elzaoïre 1	Témoïn	1	0	0	1	1	ND
111	Bab Elzaoïre 2	Cas	0	0	0	0	0	1
112	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
113	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
114	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	1	0	0	1	1	1
115	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
116	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	1
117	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
118	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
119	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
120	Bab Elzaoïre 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
121	Aïn Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
122	Aïn Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
123	Aïn Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND

124	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
125	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
126	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
127	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
128	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
129	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
130	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
131	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
132	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
133	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
134	Ain Taya	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
135	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
136	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
137	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
138	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
139	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
140	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
141	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
142	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
143	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	0
144	Rouiba 2	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
145	ITELV	Témoïn	0	0	0	0	0	0
146	ITELV	Témoïn	1	0	0	1	0	1
147	ITELV	Témoïn	0	0	0	0	0	0
148	ITELV	Cas	0	0	0	0	0	0
149	ITELV	Témoïn	0	0	0	0	0	0
150	ITELV	Témoïn	1	0	0	1	0	1
151	ITELV	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
152	ITELV	Témoïn	0	0	0	0	0	0
153	ITELV	Témoïn	1	0	0	1	0	0
154	ITELV	Témoïn	1	0	0	1	0	0
155	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
156	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
157	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
158	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
159	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
160	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
161	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
162	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
163	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
164	Haraoui	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
165	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
166	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
167	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
168	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND

169	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
170	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
171	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
172	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
173	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
174	Elhamize	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
175	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
176	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
177	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
178	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
179	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
180	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
181	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
182	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
183	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
184	Hammadi	Témoïn	0	0	0	0	0	ND
totaux			14	3	1	14	5	12