

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

*الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية*

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

*وزارة التعليم العالي و البحث العلمي*

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

*المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر*

**MEMOIRE**

***EN VUE DE L'OBTENTION***

**DU DIPLOME DE MAGISTERE EN SCIENCES VETERINAIRES**

**Option : MANAGEMENT ET SECURITE SANITAIRE DES ALIMENTS.**

**Prévalence, état des résistances aux antibiotiques des *Salmonella* et conditions d'élevages bovins laitiers dans la wilaya de Constantine.**

Présenté par : Dr. CHELLALI Ayoub

**Jury :**

Président :	AIT-LOUDHIA K	MCA	ENSV
Promoteur :	EL GROUD Rachid	MCA	U. Constantine
Co promoteur :	HAMDI Taha Mossadak	Pr	ENSV
Examineur :	BENDADOUCHE badisse	Pr	IVB
Examineur :	NOUICHI S	MAA	ENSV
Examineur :	MEZALI L	MAA	

Année universitaire : 2013- 2014.

## Table des matières

### Liste des tableaux et figures

### Abréviation

### Lexique

### Liste des abréviations

## INTRODUCTION..... 1

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE 1 : LES SALMONELLES

I. Historique et généralités.....	3
II. Taxonomie et classification.....	4
III. Caractères microbiologiques.....	5
III.1. Caractères cultureux.....	5
III.2. Caractères biochimiques.....	6
III.2.1. Caractères de la famille.....	6
III.2.2. Caractères différentiels du genre <i>Salmonella</i> .....	6
III.3. Caractères Antigéniques.....	8
III.3.1. Antigène somatique O (Ag O).....	8
III.3.2 Antigène flagellaire ou Ag H.....	8
III.3.3. Antigènes d'enveloppe (capsulaires ou Vi).....	9
III.3.4. Schéma de KAUFFMANN-WHITE.....	9

### CHAPITRE 2 : LES SALMONELLOSES.

I. Généralités.....	10
II. Habitat.....	10
II.1. Multiplication.....	10
II.1.1. Réservoir principal .....	10
II.1.2. Réservoir secondaire.....	10
II.2. Spécificité d'hôte.....	12
III. Pouvoir pathogène.....	12
III.1. Salmonelles typhoïdiques.....	12
III.2. Salmonelles non typhoïdiques.....	12
IV. Pouvoir invasif.....	13
V. Pouvoir toxique.....	14
VI. Pouvoir immunogène.....	15
VII Clinique.....	15
VII.1. Salmonellose chez l'homme.....	15
VII.1.1. Fièvre typhoïde.....	15
VII.1.2. Salmonellose non typhoïdique.....	16

VII.2. Chez les animaux.....	16
VII .2. 1. Salmonellose bovine.....	16
VII.2.1.1. Infection inapparente.....	17
VII.2.1.2. Forme clinique (portage actif).....	17
VII.2.1.2.1. Forme digestive.....	17
VII.2.1.2.2. Forme génitale.....	18
VII.2.1.2.3. Forme septicémique.....	18
VII.2.1.2.4. Forme respiratoire.....	18
VII.2.1.2.5. Autres formes.....	18
VII.2.2. Chez les ovins.....	19
VII.2.3. Chez les caprins.....	19
VII. 2. 4. Chez les équins.....	19
VII.2.5. Chez les volailles.....	20
VIII. Epidémiologie.....	20
VIII.1. Chez l'homme.....	20
VIII.1.1. Epidémiologie de la fièvre typhoïde.....	20
VIII.1.2. Epidémiologie de la fièvre non typhoïdique.....	20
VIII.2. Chez l'animal.....	21
VIII.2.1. Chez les bovins.....	21
VIII.2.2. Pour les autres animaux.....	21
VIII.2.2.1. Ovins .....	21
VIII.2.2.2. Volaille .....	21
VIII.3. Lait.....	22
VIII.4. Autres Matrices .....	23
VIII.4.1. Les œufs .....	23
VIII.4.2. Viande de volaille.....	23
VIII.4.3. Le poisson .....	23
IX. Source et voies de contamination.....	24
IX.1. Sources de contamination.....	24
IX.1.1. L'homme .....	24
IX.1.2. L'animal .....	24
IX.1.2.1. Animaux infectés .....	24
IX.1.2.2. Environnement.....	25
IX.1.2.3. L'aliment.....	25
IX.2. Voies de contamination .....	25
IX.2.1. Vecteurs animés.....	25
IX.2.1.1. Voie endogène.....	25
IX.2.1.2. Voies exogènes.....	26
IX.2.1.2.1. Voie directe .....	26
IX.2.1.2.2. Voie indirecte .....	26
IX.2.2. Vecteurs inanimés .....	26
X. Mise en évidence des salmonelles.....	27
X.1. Méthodes conventionnelles .....	27
X.1.1. Méthodes de référence ou horizontales.....	27
X.1.2. Méthodes de routine.....	27

X.2.Méthodes rapides.....	27
X.2.1. Méthodes biochimiques .....	27
X.2.1.1. Système API 20 E de biomérieux .....	28
X.2.1.2. Auto- micro bio system de biomérieux.....	28
X.2.2. Méthodes physicochimiques.....	28
X.2.2.1. L'impédance.....	28
X.2.2.1.1. Bactometer biomérieux Vitek.....	28
X.2.2.1.2. Mathus M 1000 S.....	28
X.2.2.2. Fluorescence.....	28
X.2.3. Méthodes immunologiques.....	29
X.2.3.1. L'agglutination.....	29
X.2.3.2. Immunofluorescence.....	29
X.2.3.2.1. Immunofluorescence directe .....	29
X.2.3.2.2. Immunofluorescence indirecte.....	29
X.2.3.3. Enzyme Linked Immunosorption Assay (ELISA).....	30
X.2.4. Méthodes génétiques.....	31
X.2.4.1. Hybridation des sondes nucléiques.....	31
X.2.4.2. Méthode de réaction de polymérisation en chaîne (PCR).....	31
X.2.4.2.1. Principe .....	31
X.2.4.2.2. Etapes de la réaction.....	32
XI. Moyens de lutte.....	32
XI.1.Traitements .....	32
XI.1.1. Antibiothérapie.....	33
XI.1.1.1. Problèmes liés à la physiopathologie des salmonelles.....	33
XI.1.1.2. Problèmes liés à l'antibiorésistance.....	33
XI.1.1.3. Problèmes posés par la législation.....	33
XI.1.2. Traitements complémentaires.....	34
XI.2. Prophylaxie sanitaire et médicale.....	35
XI.2.1. Méthaphylaxie.....	35
XI.2.2. Vaccination.....	35
XI.3. Mesures générales d'hygiène.....	35
XI.3.1. Mesures visant à maîtriser le risque alimentaire (environnement).....	36
XI.3.2. Mesures visant à limiter la diffusion de la maladie.....	36
XI.3.3 Mesures visant à prévenir la contamination humaine.....	37

## CHAPITRE 03 : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

I. Supports de l'antibiorésistance.....	38
II. I.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	38
I.2. Défaut d'activation de l'antibiotique.....	38
I.3. Modification de la cible.....	38
I.3.1. Enzymatique.....	38
I.3.2. Mutationnelle.....	38
I.4. Séquestration de l'antibiotique, protection de la cible.....	38
I.5. Baisse de la perméabilité membranaire et efflux actif.....	38
II. Résistance bactérienne .....	39

II.1. Résistance naturelle .....	39
II.2. Modalités d'acquisition de la résistance.....	39
II.2.1. Mutation.....	39
II.2.2. Acquisition de matériel génétique exogène .....	39
II.2.2.1 Supports mobiles de gènes de résistance.....	39
II.2.2.2. Mécanismes de transfert des gènes de résistance.....	40
II.2.2.2.1. Transformation.....	40
II.2.2.2.2. Conjugaison.....	40
II.2.2.2.3. Transduction.....	40
III. Mesure de l'antibiogramme et l'antibiorésistance.....	41

## **PARTIE EXPERIMENTALE.**

<b>INTRODUCTION</b> .....	44
I. Matériels et méthodes .....	44
I.1. Matériels.....	44
I.1.1. Matériels d'enquête.....	44
I.1.2. Matériel animal.....	44
I.1.3. Matériels de prélèvement.....	44
I.1.4. Matériel d'analyses.....	44
I.1.4.1. Analyses bactériologiques.....	44
I.1.4.2. Tests de sérotypage.....	45
I.1.4.3. Tests de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogrammes) .....	45
I.2. Méthodes .....	45
I.2.1. Enquête .....	45
I. 2.2. Echantillonnage.....	45
I.2.3. Prélèvements.....	45
I.2.3.1. Lait .....	46
I.2.3.2. Eau.....	46
I.2.3.3. Aliment.....	46
I.2.3.4. Chiffonnettes.....	46
I.2.3.5. Lisier.....	46
I.2.3.6. Matières fécales.....	46
I.2.4. Analyses.....	48
I.2.4.1. Analyses bactériologiques.....	48
I.2.4.1.1. Objet et domaine d'application.....	48
I.2.4.1.2. Référentiels.....	48
I.2.4.1.3. Mode opératoire.....	48
I.2.4.1.4. Identification biochimique .....	48
I.2.4.2. Sérotypage.....	54
I.2.4.3. Antibiotogrammes.....	54
I.2.4.3.1. Préparation de la suspension.....	54
I.2.4.3.2. Ensemencement.....	55
I.2.4.3.3. Application des disques d'antibiotiques.....	55
I.2.4.3.4. Incubation.....	56
I.2.5. Etudes statistiques.....	56

I.2.5.1. Détermination des facteurs de risque de contamination des élevages.....	56
I.2.5.1.1. Effet à la saison.....	56
I.2.5.1.2. Effet à Stabulation libre.....	57
I.2.5.2. Détermination des facteurs de risque de contamination du lait de troupeau .....	57
I.2.5.2.1. Chiffonnettes .....	57
I.2.5.2.2. Matière fécale .....	58
I.2.5.2.3. Lisier .....	58
II. Résultats .....	59
II.1. Typologie des élevages des bovins laitiers de la wilaya de Constantine .....	59
II.1.1. Elevages conformes.....	59
II.1.1.1. Elevages modernes .....	59
II.1.1.2. Elevages traditionnels.....	60
II.1.2. Elevages non conformes.....	60
II.2. Prévalence de contamination .....	61
II.2.1. Prévalence de la contamination par les salmonelles des élevages bovins laitiers.....	61
II.2.2. Fréquence de contamination des différentes matrices par les salmonelles.....	65
II.2.2.1. Fréquence de contamination de l'aliment, et de l'eau par les salmonelles.....	65
II.2.2.2. Fréquence de contamination du lait de troupeau par les salmonelles.....	65
II.2.2.3. Fréquence de contamination des chiffonnettes par les salmonelles.....	65
II.2.2.4. Fréquence de contamination du lisier par les salmonelles.....	65
II.2.2.5. Fréquence de contamination de la matière fécale par les salmonelles.....	65
II. 3. Distribution des sérotypes.....	65
II.4. Antibiogrammes.....	68
II.5. Détermination des facteurs de risques.....	71
II.5.1. Détermination des facteurs de risque de contamination des élevages .....	71
II.5.1.1. Exposition à la saison .....	71
II.5.1.2. Stabulation libre.....	71
II.5.2. Détermination des facteurs de risque de contamination du lait de troupeau .....	72
II.5.2.1. Chiffonnettes .....	72
II.5.2.2. Matières fécales .....	72
II.5.2.3. Lisier.....	72
III. Discussions.....	73
III.1. Typologie des élevages.....	73
III.2. Prévalence de contamination.....	74
III.2.1. Prévalence de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles.....	74
III.2.2. Fréquence de contamination des différentes matrices étudiées.....	74
III.2.2.1. Fréquence de contamination du lait de troupeau par les salmonelles.....	74
III.2.2.2. Fréquence de contamination du lisier par les salmonelles .....	75
III.2.2.3. Fréquence de contamination des chiffonnettes (l'environnement) .....	75
III.2.2.4. Fréquence de contamination des matières fécales par les salmonelles.....	75
III.2.2.5. Fréquence de contamination de l'eau et de l'aliment par les salmonelles .....	76
III.3. Distribution des sérotypes.....	76
III.4. Antibiorésistance .....	78
III.5. Facteurs de risque de contamination des élevages bovins laitiers et du lait.....	79
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>81</b>

<b>Bibliographie</b> .....	83
<b>Annexes n° 1</b> .....	88
<b>Annexes n° 2</b> .....	89
<b>Annexes n° 3</b> .....	93
<b>Résumé</b> .....	97
<b>Liste des photos</b>	
<b>Photo n° 1</b> : Aspect des colonies de salmonelle sur gélose nutritive (T P).....	5
<b>Photo n° 2</b> : Aspect floconneux entre les anticorps anti H et les salmonelles (T P).....	8
<b>Photo n° 3</b> : Aspect typique des colonies de salmonelles sur XLD (T P).....	49
<b>Photo n° 4</b> : Aspect typique des colonies de salmonelles sur Hektoen (T P).....	49
<b>Photo n° 5</b> : confirmation positive sur TSI (T P).....	50
<b>Photo n° 6</b> : confirmation positive sur TSI (T P).....	50
<b>Photo n° 7</b> : Galerie API 20 E: réaction positive (T P) .....	51
<b>Photo n° 8</b> : Galerie API 20 E : réaction négative (T P).....	51
<b>Photo n° 9</b> : agglutination positive sur lame entre l'Ag et le sérum (T P).....	54
<b>Photo n° 10</b> : Agglutination négative sur lame (T P).....	54
<b>Photo n° 11</b> : la purification des salmonelles sur Gélose nutritive. (T P).....	54
<b>Photo n° 12</b> : Disques antibiotiques utilisés.....	55
<b>Photo n° 13</b> : Boite de contrôle (T P).....	55
<b>Photo n° 14</b> : Implantation de 7 disques d'antibiotiques (T P).....	55
<b>Photo n° 15</b> : Implantation de 2 disques d'antibiotiques (T P).....	55
<b>Photo n° 16</b> : Tanks de stockage du lait dans une ferme moderne (FM) (TP).....	59
<b>Photo n° 17</b> : Salle de traite, munie de plusieurs machines à traire (FM). (TP) .....	59
<b>Photo n° 18</b> : Abreuvoirs individuels (FM). (TP).....	59
<b>Photo n° 19</b> : Pédiluve devant la salle à traire(FM). (TP).....	60
<b>Photo n° 20</b> : Désinfectant utilisé pour le nettoyage (FM).....	60
<b>Photo n° 21</b> : Modèle de stabulation libre (FM). (TP).....	60
 <b>Logigramme n° 1</b> : Méthode ISO 6579, 2002 (Travail personnel).....	 52

## Liste des tableaux :

<b>Tableau n°1</b> : Caractères généraux et classification des <i>Salmonella</i> .....	7
<b>Tableau n° 2</b> : Formules antigéniques de quelques sérotypes de <i>Salmonella enterica</i> sous-espèce <i>enterica</i> , d'après le schéma de Kauffmann-White .....	9
<b>Tableau n° 3</b> : Fréquence des symptômes et signes cliniques de la fièvre typhoïde.....	15
<b>Tableau n°4</b> : Législation de l'usage des principaux antibiotiques contre les salmonelles.....	34
<b>Tableau n° 5</b> : Répartition des prélèvements durant les deux épisodes de prélèvements.....	45
<b>Tableau n° 6</b> : Typologie des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine.....	61
<b>Tableau n° 7</b> : Nombre de prélèvements positifs par les salmonelles spp / mois.....	62
<b>Tableau n° 8</b> : Prévalence de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles spp par mois.....	63
<b>Tableau n° 9</b> : Prévalence de contamination des différentes matrices étudiées par les salmonelles spp.....	64
<b>Tableau n° 10</b> : Distribution des sérovars des différentes souches isolées.....	67
<b>Tableau n° 11</b> : Etude de l'antibiorésistance des différents sérovars isolés.....	70
<b>Tableau n° 12</b> : Différents antibiotiques auxquels les sérotypes montrent une résistance. ...	71
<b>Tableau n° 13</b> : Tableau récapitulatif des facteurs de risque de contamination des élevages bovins laitiers. ....	72
<b>Tableau n° 14</b> : Tableau récapitulatif des facteurs de risque de contamination du lait de troupeau.....	72

## Liste des figures :

<b>Figure n° 1</b> : Interactions entre l'agent, l'hôte et l'environnement dans la salmonellose.....	11
<b>Figure n° 2</b> : Microscopie électronique de <i>Salmonella</i> avec ses fimbriae, plus fins et plus nombreux que les flagelles.....	13
<b>Figure n° 3</b> : représentation schématique d'une réaction d'immunofluorescence direct.....	30
<b>Figure n° 4</b> : Principe d'une technique ELISA type « sandwich » .....	30
<b>Figure n° 5</b> : Principe général de la dénaturation et de la renaturation de l'ADN.....	31
<b>Figure n° 6</b> : Répartition des prélèvements par mois.....	48
<b>Figure n° 7</b> : Répartition des prélèvements positifs par mois.....	62
<b>Figure n° 8</b> : Prévalence de contamination des élevages par mois.....	64
<b>Figure n° 9</b> : Fréquence de contamination des différentes matrices étudiées par les salmonelles spp.....	65
<b>Figure n° 10</b> : Distribution des sérotypes.....	66
<b>Figure n° 11</b> : Répartition des sérotypes par matrice.....	67
<b>Figure n° 12</b> : Résistance des différents sérotypes aux antibiotiques testés.....	68
<b>Figure n° 13</b> : Résistance des sérotypes isolés aux antibiotiques.....	69



## **Abréviations :**

ADH	: Arginie Dihydrolase.
ADN	: Acide Désoxyrébonucléique.
AINS	: Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.
AIS	: Anti-Inflammatoires Stéroïdiens.
AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché.
ANSES	: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire.
AW	: Activity of Water.
BP	: Bonne Pratique.
CAC	: Comission du Codex Alimentarius.
CACFM	: Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
CDC	: Center of Disease Control des Etats Unis d'Amérique.
CMI	: Concentrations Minimales Inhibitrices.
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute.
DEFT	: Direct Epifluorescent Filter Technique.
dNTP	: Désoxynucléotides Triphosphates.
EFSA	: European Food Safety Authority.
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorption Assay.
EPT	: Eau Peptonée Tamponnée (EPT).
g	: Gramme.
GEL	: Gélatinase.
GN	: Gélose Nutritive.
HACCP	: Hazard Analysis Critical Control Point.
H <sub>2</sub> S	: Hydrogène Sulfureux.
IC	: Intervalle de Confiance.
IM	: Intramusculaire.
ISO	: International Standard Organisation.
IV	: Intraveineuse.
Kg	: Kilogramme.
LDC	: Lysine Décarboxylase.
MKtn	: Muller-Kauffman tétrathionate novobiocine.
mL	: Millilitre.
NAHMS	: National Animal Health Monitoring System.
NF	: Norme Française.
ODC	: Ornithine Décarboxylase.
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé.
OR	: Oddes Ratio.
PCR	: Réaction de Polymérisation en Chaîne.
PDT	: Prophage Definitif Type.
pH	: Potential Hydroxide.
RVS	: Rapport-Vassiliadis Soja.
SC	: Sous cutanée.
SD1	: <i>Shigella dysenteriae</i> sérotype 1.
SNDL	: Système National de Documentation en Ligne.
TDA	: Tryptophane Désaminase.

TMA : Trimethyl Amine.  
TSI : Gélose Tri Sugar Iron.  
UI : Unité internationale.  
URE : Urée.  
VP : Voges Proskauer.  
XLD : Xylose-Lysine-Désoxycholate.

## **Lexiques :**

### **Bactériophage :**

Virus bactérien, il contient un ADN bi caténaire linéaire enveloppé dans une coque protéique. Il peut être virulent, tempéré ou modéré.

### **Plasmide :**

C'est une séquence d'ADN, il comporte une origine de réplication, un ou plusieurs gène de résistance, un site de polyclonage, il existe de types de plasmide ; Plasmide de 1ère et 2ème génération.

### **Souche:**

C'est un isolat ou un groupe d'isolats présentant des caractéristiques phénotypiques et/ou génotypiques distinctes de celles d'autres isolats de la même espèce bactérienne.

### **Isolat:**

C'est une population de cellules bactériennes en culture pure, dérivée d'une colonie unique recueillie sur une gélose d'isolement et caractérisée jusqu'au niveau de l'espèce bactérienne.

### **Clone :**

C'est un groupe d'isolats descendant d'un ancêtre commun dans le contexte d'une chaîne de réplication directe et de transmission d'un hôte à l'autre ou à partir de l'environnement. La parenté clonale d'isolats se manifeste par le fait que ces isolats montrent un niveau de similitude de leur génotype et/ou leur phénotype significativement plus élevé que celui qui peut être attendu pour des isolats de la même espèce, rencontrés au hasard et non reliés d'un point de vue épidémiologique.

### **Pasteurisation :**

Elle repose sur les lois de destruction thermiques des microorganismes, elle peut se faire en bouteille ou en vrac (lait).

En bouteille ; Elles sont soumises à une aspersion d'eau chaude (65 – 75° C) pendant 20 à 30 minutes.

En vrac ;

Pasteurisation basse : 63 – 65° C pendant 30 minutes.

Pasteurisation hausse : 72 – 75° C pendant 15 secondes.

### **TIAC : Toxi infection alimentaire collective**

Elle est définie comme la survenue d'au moins deux cas groupés d'une même symptomatologie, le plus souvent digestive, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire

## **Remerciements :**

*Je tiens à remercier M le Dr Elgroud R, pour avoir dirigé ce travail, de ses précieux conseils, de son aide, de sa disponibilité et pour les encouragements, qui m'ont permis d'achever cette thèse.*

*Je tiens à exprimer ma reconnaissance à M le Professeur Hamdi T M, pour m'avoir guidé tout au long de la préparation de cette thèse et la précieuse formation qui nous a offert durant nos études.*

*Mes remerciements vont également à M le Professeur Berrarhi L, le directeur de l'institut vétérinaire d'Elkhroub, pour sa gentillesse et de m'avoir accueilli dans son laboratoire de recherche.*

*Un remerciement particulier à Mlle Mezali L, pour ses conseils, et son aide morale et technique.*

*Je remercie également Mlle Boujlal L, responsable du laboratoire d'HIDAOA au sein de l'école supérieure vétérinaire Elharache, de son aide et de sa gentillesse.*

*Je tiens à remercier les membres du jury :*

*Le Dr Ait-Oudhia K, MCA à l'ENSV Qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.*

*Le Professeur Bendadouche B, Le Dr Nouichi S, MAA à l'ENSV, le Dr Mezali L, MAA à l'ENSV, qui ont accepté de juger ce travail.*

*Je dédie ce travail :*

*A mes parents, pour l'affection, la tendresse et les encouragements qu'ils m'ont offerts tout au long de ma vie.*

*A ma femme (Sihem), pour ses chaleureux encouragements, son soutien permanent, pour sa patience et sa compréhension.*

*A ma petite famille ; Ghofrane, Baraa, sans oublier la petite Alae elrahmane.*

*A mes frères et mes sœurs.*

## INTRODUCTION:

En Algérie, grâce aux mesures incitatives adoptées par l'état, la filière lait a connu un développement considérable, en passant de 1,5 milliards de litres de lait cru en 2000 à 2,2 milliards de litres de lait cru en 2007, en mettant l'accent sur l'élevage intensif, et l'importation des génisses pleines, malheureusement cette production n'arrive à couvrir actuellement qu'environ 50 % de la demande nationale en lait (Kali S et coll., 2009), l'environnement et les pratiques d'élevage montrent un grand retard par rapport aux normes internationales, exposant la santé des consommateurs au danger.

La salmonellose est l'une des maladies d'origine alimentaire les plus répandues et les plus courantes dans le monde (Aubry, 2013). Elle constitue la principale cause de la gastroentérite d'origine alimentaire, responsable de deux principaux types d'infections, les salmonelloses typhiques d'une part, fièvre typhoïde et paratyphoïde, et d'autre part les salmonelloses non typhiques. La fièvre typhoïde et les fièvres paratyphoïdes (A, B, C) sont dues à *S. Typhi*, et *S. Paratyphi* A, B et C. Cependant, la fièvre typhoïde est devenue rare dans les pays développés en raison d'une hygiène performante de l'environnement et de l'eau potable. Les salmonelloses non typhiques sont responsables chez les humains, d'infections sporadiques ou épidémiques sous forme de toxi infections alimentaires collectives (TIAC), entraînant des symptômes très variés allant de légers maux de ventres à des degrés divers d'entérites, jusqu'à la septicémie (forme invasive) et dans les cas extrêmes la mort (Aubry, 2012). Chez l'homme, l'origine de la salmonellose est due au portage asymptomatique (direct ou indirect), ou à la consommation d'aliments contaminés par les salmonelles provenant d'un animal malade ou contaminé ultérieurement (viande, volaille, œuf, lait, légumes, etc.). Une source importante de contamination est représentée par les bovins malades, pouvant infecter l'homme par plusieurs voies, consommation de viande contaminée (surtout bœuf haché) (Dechet et coll., 2006), consommation de lait ou produits laitiers pasteurisés (Olsen et coll., 2004) ou non pasteurisés (Cody et coll., 1999; Vogt et coll., 1981) et contact direct avec des animaux malades ou leur environnement (fermiers et leurs proches et employés, expositions agricoles, zoos familiaux) (Gupta et coll., 2003). Selon le Center of Disease Control des Etats Unis d'Amérique (CDC, 2003), Mazurek et coll., (2004); Richwald et coll., (1988), plusieurs cas de salmonelloses ont été rapportés chez des humains suite à la consommation de lait non pasteurisé (cru).

Aux États-Unis d'Amérique, le réseau de surveillance Food Net a estimé ces infections pendant la période 1996-1999 à 1,4 million de cas annuels entraînant 168 000 visites chez le médecin, 15 000 hospitalisations et 400 décès. Les conséquences économiques de ces infections ont été évaluées à un coût approximatif de 2,6 milliards de dollars en 2009 (Weill F X, 2008). Au Canada, le nombre de cas a été estimé entre 75 000 et 215 000 annuellement (Thomas et coll., 2006).

En France, le nombre de cas confirmés de salmonellose chez l'homme entre 1995 et 1999 a été estimé entre 32000 et 43000 par an, avec 6000 à 10700 hospitalisations et 100 à 560 décès (Weill F X, 2008).

En effet, elles ont une importance considérable dans le domaine vétérinaire et médicale, tant par les pertes économiques engendrées, que par la forte incidence lors d'épidémie.

La littérature a beaucoup parlé sur l'apparition des souches multi résistantes aux antibiotiques, capables de se transmettre à l'homme, à travers des aliments contaminés, entraînant un autre problème de santé publique lié à la salmonellose (Elgroud R, 2008).

En Constantine, une étude réalisée au niveau de la laiterie Safilait qui est conventionnée avec 35 collecteurs visant à déterminer la qualité microbiologique (9 flores différentes) du lait de vache, a montré une forte contamination du lait collecté par différentes microflore, témoignant des mauvaises conditions hygiéniques et sanitaires auxquelles confrontées les vaches laitières (Benhadane, 2011).

Un autre problème a été relevé dans la filière lait, c'est celui de l'utilisation abusive des antibiotiques, à titre additif ou curatif par les éleveurs, en contradiction avec les principes des législations nationales et internationales (Journal officiel 1998 , règlement N° 1831/2003 du 22/11/2003 de la commission européenne) prévoyant la suppression définitive de l'usage des antibiotiques comme additifs en alimentation animale, met en danger la santé des consommateurs, de part l'effet allergique potentiel, et l'apparition de nouvelles résistances des germes pathogènes aux antibiotiques utilisés (Benmahdi M H et Ouslimani S, 2009).

A notre connaissance, peu de travaux ont été réalisés à l'échelle régionale ou nationale, concernant la prévalence de la contamination des élevages bovins laitiers et du lait de troupeau par les salmonelles d'une part, et les facteurs de risque de contamination d'autre part. En conséquence, il nous a paru important de développer ce sujet, en étudiant l'épidémiologie de la contamination salmonellique, afin de :

- Déterminer la typologie des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine.
- Déterminer la prévalence de contamination des élevages bovins laitiers.
- Déterminer la fréquence de contamination du lait d'élevage dans la wilaya de Constantine.
- La connaissance des sérotypes de salmonelles existants dans la filière.
- Déterminer les facteurs de risque de contamination des élevages, et du lait d'élevage.
- Evaluer la sensibilité aux antibiotiques de chaque souche isolée, afin de déterminer les sérovars multirésistants.
- Mettre à la disposition des décideurs politiques de données expérimentalement vérifiables, qu'ils pourront utiliser pour mettre en place des politiques de lutte contre les salmonelloses.

# CHAPITRE 1 : SALMONELLES

## I. Historique et généralités :

En 1880, et à partir des sections de rate et des nœuds lymphatiques mésentériques d'un patient décédé suite à une fièvre typhoïde, Eberth observa et pour la première fois le bacille responsable de cette maladie, dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky (Le Minor et coll., 1994). En 1886, avec quelques collègues, le docteur vétérinaire Daniel Salmon, isola une bactérie provenant du porc, qui était considérée à tort comme étant l'agent responsable de la fièvre porcine (ou choléra du porc), maintenant appelée *Salmonella* Cholerasuis (Le Minor et coll., 1994). Le nom de *Salmonella* a été donné en 1900, par Lignières à ce groupe bactérien, en l'honneur de Salmon directeur des services vétérinaires aux Etats-Unis à cette époque (Le Minor et Coll., 1994).

D'après Camart- Périé A (2006), la salmonellose chez le bovin adulte a été rapportée pour la première fois aux Etats-Unis par Mohler et Buckley en 1902, et en Europe par Miessner et Kohlstock en 1912.

En 1896, Gruber et Durham découvrirent que le sérum d'un homme atteint d'une fièvre typhoïde agglutine le bacille de typhoïde, au même temps Widal puis Grunbaum révélèrent le même phénomène. Cette réaction appelée sérodiagnostic de Widal ; La même année deux isollements ont été effectués de patients avec des signes cliniques similaires au cas précédent et de réaction négative de Widal sérodiagnostic, le bacille isolé était appelé bacille paratyphique. Une observation similaire a été faite par Gwynn (1898), Schottmuller(1901) qu'ils appelèrent paratyphi A pour la première, et paratyphi B pour la seconde.

De ces différentes observations découla la notion de groupe de maladies dans lesquelles des agents apparentés mais non identiques, peuvent causer des syndromes similaires : salmonelloses, rickettsioses, leptospiroses, etc. Ceci était le commencement de l'histoire de sérovars.

Les antigènes de *Salmonella* ont été mis en évidence en 1902, par la méthode d'absorption des agglutinines de castillani, appelés en 1918, Ag O et H par Weil et Felix (Bornert O, 2000).

En 1934 un antigène différent aux autres antigènes isolés, a été découvert par Felix et Pitt : appelé Vi dont la présence pouvait masquer l'agglutination de l'antigène O (Bornert O, 2000).

En 1925, Le genre *Salmonella* était classé en espèces, par White selon les formules antigéniques, travail qui a été développé considérablement par Kaufmann (1930), conduisant à l'établissement d'un catalogue, appelé schéma de Kauffman White, regroupant toutes les formules antigéniques du genre *Salmonella*. Il existe présentement 2 610 sérotypes de *Salmonella* (Guibourdenche et coll., 2010).

## II. Taxonomie et classification :

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des entérobactéries, la nomenclature des salmonelles est particulièrement complexe car elle a fait l'objet de controverses et de confusions, cette nomenclature est basée sur les formules antigéniques (sérotypage) et non pas sur l'identification biochimique. La classification des salmonelles a été réalisée grâce à des travaux basés sur l'identification antigénique des *salmonella*, élaborée au début par White en 1925, et finalisé par Kauffmann en 1941, 1961, 1972, 1978, et par Le Minor (Elgroud R, 2008). Chaque sérovar donné a une formule antigénique spécifique, défini par l'Ag O, puis l'Ag H. En 1987, Le Minor et coll regroupèrent le genre *Salmonella* en une seule espèce, *Salmonella enterica*, divisée en 7 sous espèces ; *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* et *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *bongori* et *Salmonella enterica* subsp. *indica* (Elgroud R, 2008).

Mais grâce au développement des tests d'hybridation (ADN- ADN), permettant le classement du genre *Salmonella* en deux espèces à savoir ; *Salmonella enterica*, et *S. bongori*. En 2004, Shelobolina et coll, ont déterminé une troisième espèce, très rare, appelée ; *S. subterranea*, isolée d'un sédiment acide et contaminé par des nitrates et de l'uranium. Il apparaît clairement que les bactériologistes recommandent l'utilisation du nouveau système. Ce nouveau système reconnaît que le genre *Salmonella* possède trois espèces (Popoff et Bockemuhl, 2004) :

***Salmonella enterica***: 99.8 % des souches isolées appartiennent à la sous-espèce *Salmonella enterica* subsp *enterica*, elle comprend 6 sous espèces à savoir :

- I - *Salmonella enterica* subsp *enterica*.
- II - *Salmonella enterica* subsp *salamae*.
- III-a- *Salmonella enterica* subsp *arizonae*.
- III-b- *Salmonella enterica* subsp *diarizonae*.
- IV - *Salmonella enterica* subsp *houtenae*.
- VI - *Salmonella enterica* subsp *indica*.

***Salmonella bongori*** qui correspond à la sous-espèce V, de l'ancienne classification (1987),.

***Salmonella subterranea*** (Shelobolina et coll, 2004).

Les sous-espèces sont subdivisées en sérovars dont la liste constitue le schéma de KAUFFMANN-WHITE. Les sérovars de la sous espèce *enterica* qui représentent plus de 99,8% des souches isolées gardent leurs noms, ne sont pas remplacés par des formules antigéniques. Exemple ; *Salmonella* Typhimurium, s'établit comme suit (Grimont, 2000): Genre: *Salmonella*, espèce: *enterica*, sous espèce *enterica*, sérotype : Typhimurium ou simplement *Salmonella* Typhimurium.

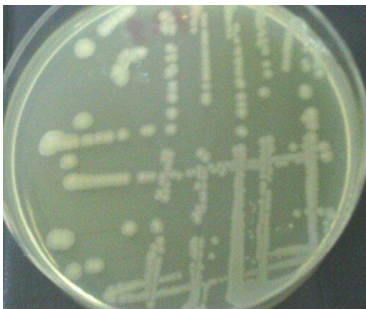
Cependant les sérovars des autres sous espèces de *S. enterica* et ceux des *S. bongori* et *S. Subterranea* sont désignés par leurs formules antigéniques, (Popoff et Bockemuhl, 2004). Exemple: *Salmonella* *houtenae*, c'est *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* sérotype 43:z4, z23 (Elgroud R, 2008).

### III. Caractères microbiologiques:

#### III.1 : Caractères cultureux :

Les bactéries du genre *Salmonella* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*, et possèdent toutes les caractéristiques générales associées à cette famille. *Salmonella* est un bacille gram négatif, sans ramification, non sporulant, non capsulé, de 2 à 3µm de long sur 0,5µm de large, proche d'*Escherichia coli*, dont la mobilité propre est assurée par des flagelles péri triches (à l'exception de *S. Gallinarum pullorum* qui n'en possède pas) et qui est de type aéro-anaérobie facultatif.

C'est une bactérie mésophile, peu exigeante d'un point de vue nutritionnel. Son développement est optimal pour des températures proches de la température corporelle des animaux à sang chaud (homéothermes), 35 à 37° C, et un pH de 6,5 à 7,5 (Camart Périé A, 2006). Sa multiplication reste assurée pour des températures de 6,7 à 41° C (Hanes D, 2003). Le large spectre de températures (-20 à 60° C) et de pH (4,1 à 9) auxquels elle est capable de survivre, ainsi que sa capacité à résister à une Aw (activité de l'eau) de 0,94 en font une bactérie extrêmement résistante aux conditions environnementales même difficiles (congélation) et expliquent son caractère ubiquiste. Après 24 heures d'incubation à 37° C sur un milieu ordinaire, les colonies obtenues ont un diamètre de 3 à 4 mm, elles sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides, elles sont généralement lisses (S : Smooth) (**photo n° 1**). A partir d'un milieu mono microbien (tel que le sang ou le liquide céphalorachidien), une gélose ordinaire suffira à leur croissance, par contre, dans le cas de prélèvements poly microbiens (selles), l'utilisation de milieux sélectifs est indispensable (Elise B C, 2001).



**Photo n° 1** : Aspect des colonies de salmonelle sur gélose nutritive (Travail personnel).

Certaines caractéristiques phénotypiques de *Salmonella* sont spécifiques et peuvent être utilisées pour l'enrichissement, l'isolement sélectif ou la différenciation des colonies. *Salmonella* et autres genres de la famille *Enterobacteriaceae* sont plus résistants à la novobiocine, sélénite, tergitol et sel biliaire, surtout désoxycholate que d'autres bactéries, *Salmonella* est plus résistante au vert brillant et vert malachite que les autres genres de la famille d'*Enterobacteriaceae*. La novobiocine inhibe le développement des *Proteus*, le tetrathionate inhibe le développement des coliformes et de la plupart des bactéries intestinales (Anonyme, 2012c).



### **III.2. Caractères biochimiques:**

Les salmonelles possèdent les caractères généraux de la famille des *Enterobacteriaceae* et des caractères différentiels intrinsèques.

#### **III.2.1 : Caractères de la famille:**

Les huit principaux caractères déterminant la famille des *Enterobacteriaceae*, sont :

1. Bacilles à coloration de Gram négatif.
2. Souvent mobiles grâce à leur ciliature péri triche (rarement immobiles), non sporulés.
3. Bacilles qui cultivent sur les milieux ordinaires.
4. Bacilles aéro-anaérobies facultatifs.
5. Bacilles qui fermentent le glucose avec ou sans production de gaz.
6. Bacilles qui réduisent les nitrates en nitrites.
7. Bacilles qui ne possèdent pas de cytochrome oxydase.
8. Bacilles qui possèdent une catalase.

Certaines souches n'obéissent pas à tous ces caractères, c'est le cas de : *Erwinia* qui ne réduit pas les nitrates, de *Shigella dysenteriae* sérotype 1 (SD1) qui ne possède pas de catalase, de *Salmonella Gallinarum pullorum* qui est immobile (Hanes D, 2003).

#### **III.2.2 : Caractères différentiels du genre *Salmonella* :**

Selon Humbert et coll., 1998, Les principaux caractères biochimiques permettant l'identification du genre *Salmonella* sont :

- L'absence d'une uréase active, de tryptophane désaminase (TDA).
- L'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif).
- La production d'hydrogène sulfureux ( $H_2S$ ) à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase).
- La décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine.

Elle pousse fréquemment sur le milieu au citrate de Simmons.

Il faut noter qu'il existe des exceptions importantes:

- Le sérotype *S. Typhi* ne décarboxyle pas l'ornithine, ne croît pas sur un milieu composé de citrate de Simmons, est agazogène et ne produit que des traces d'hydrogène sulfureux ( $H_2S$ ).
- Le sérotype Paratyphi A ne décarboxyle pas la lysine et ne pousse pas sur milieu au citrate de Simmons.

Enfin, *S. Paratyphi A*, *Choleraesuis* et *Gallinarum pullorum* ne produisent pas d'hydrogène sulfureux ( $H_2S$ ), dans ce cas, les colonies n'auront pas de centre noir sur des milieux d'isolement constitués de citrate de fer et de thiosulfate de sodium (ex : XLD, Hektoen, *Salmonella-Shigella*). La répartition des serovars et les caractéristiques biochimiques des différentes espèces et sous-espèces sont résumées dans le tableau ci-dessous (Korsak N, 2004).

**Tableau n°1 : Caractères généraux et classification des *Salmonella* (Le Minor et coll., 1986).**

Propriétés et caractères biochimiques	<i>S. enterica</i>						<i>S.bongori</i>
Habitat	Homme et animaux à sang chaud	Animaux à sang froid et environnement					
Sous espèces	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>Indica</i>	
Caractères biochimiques							
ONPG (2h)	-	-	+	+	-	<b>v</b>	+
Gélatinase à 36°C	-	+	+	+	+	+	+
β-glucuronidas	<b>d</b>	d	-	d	-	<b>d</b>	-
γ-glutamyl transférase	+	+	-	+	+	+	+
Culture sur KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol	+	+	-	-	-	<b>d</b>	+
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
L(+)-tartrate	+	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	+	-	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Lyse par le phage O1	+	+	-	+	-	+	+

+ : Positif pour 90 à 100 % des souches ;

- : Négatifs pour 90 à 100 % des souches ;

d : Variable selon les souches. V ; Variable.

### **III.3 : Caractères Antigéniques :**

#### **III.3.1 : Antigène somatique O (Ag O) :**

L'antigène O est un antigène de la paroi, il est porté par des chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS), l'antigène O possède des propriétés immunisantes, c'est un complexe contenant une protéine, un polysaccharide et un composé phospholipidique. On distingue 67 facteurs O selon la nature des sucres entrant dans la constitution des unités oligosaccharidiques du polysaccharide (Humbert et coll., 1998). Les LPS sont formés d'une fraction lipidique appelée lipide A qui est responsable des effets toxiques, du core ou partie basale et du polysaccharide support de la spécificité.

Les antigènes sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires:

Les facteurs O majeurs sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O: 4, tyvélose pour O: 9) (Humbert et coll., 1998), permettant de classer les sérovars dans un même groupe, exemple: l'antigène O4 est le facteur majeur du séro groupe B.

Les facteurs O accessoires peuvent être liés à plusieurs facteurs majeurs caractéristiques du groupe, et sont dans ce cas sans intérêt diagnostique, ils peuvent aussi être le résultat d'une modification du facteur O majeur, d'après le Minor cette modification peut être due à une enzyme à déterminisme chromosomique ou à une conversion lysogénique (exemple : facteur 1 de *S. Paratyphi A*). L'antigène somatique est stable, il résiste à l'alcool et au phénol, résiste à une température de 100° C pendant deux heures et demi (Camart- Périé A, 2006).

#### **III.3.2 : Antigène flagellaire ou Ag H :**

Les antigènes H sont des polymères de flagelline (protéine), leur spécificité antigénique est déterminée par la composition en acides aminés de ces antigènes. Ils sont thermolabiles, mais résistants au formol, l'agglutinat formé sur une lame de verre, entre les anticorps anti H et les salmonelles, a un aspect floconneux et il est dissociable par agitation qui casse alors les flagelles.



**Photo n° 2:** Aspect floconneux entre les anticorps anti H et les salmonelles, (travail personnel).

La grande majorité des sérovars peut exprimer alternativement deux spécificités différentes pour leur antigène flagellaire, on dit que les antigènes de *Salmonella* sont diphasiques. Pour une cellule, à un temps donné, un seul de ces deux gènes s'exprime et les flagelles seront soit en phase 1, soit en phase 2.

Deux éventualités peuvent exister concernant la spécificité des antigènes H : L'une rare : Certains sérovars ne peuvent fabriquer que des flagelles d'un seul type H1 car ils ne possèdent pas ou n'expriment pas d'informations pour une alternative (souche dite monophasique), c'est le cas de la sous-espèce *arizonae*, ainsi que celui des autres genres d'entérobactéries

L'autre est fréquente: Antigène H diphasique, alternance de phases 1 et 2 (souche dite diphasique), c'est le cas de la sous-espèce *enterica*, *salamae*, *diarizonae*, *indianae* et *houtenae*. (Humbert et coll., 1998).

### III.3.3 : Antigènes d'enveloppe (capsulaires ou Vi) :

Ces antigènes n'ont été identifiés que chez 03 sérovars: Typhi, Paratyphi C et Dublin, mais toutes les souches de ces sérovars ne le possèdent pas systématiquement. L'antigène capsulaire a une seule spécificité appelée Vi (pour virulence), cet antigène peut masquer l'antigène O et rend les bactéries possédant l'antigène O non agglutinables. Le chauffage à 100° C de la suspension bactérienne pendant 10 minutes suffit pour le solubiliser et démasquer l'antigène O. Il entraîne la formation d'anticorps dont la détection présente un intérêt diagnostique.

Chez les porteurs chroniques, l'agglutination est lente, fine et difficile à dissocier. Cet antigène peut être également rencontré chez certaines souches d'*E.coli*, *Citrobacter*. Il est codé par deux gènes (locus chromosomiques) : via A et via B (Popoff et Norel., 1992).

A côté de ces antigènes il existe dans le genre *Salmonella*, des structures protéiques de surface : Les pilis qui se différencient en pilis communs (intervenant dans l'héماغglutination mannose dépendante) et en pilis sexuels (intervenant dans la conjugaison bactérienne) et dont la présence est codée par des plasmides (Blondolet- Cadot E, 2001).

**III.3.4: Schéma de KAUFFMANN-WHITE:** Selon Le Minor et coll., le schéma constitue une nomenclature des sérovars, classés selon la formule antigénique. Il se base sur des facteurs majeurs et peu de facteurs accessoires.

La classification se fait par groupe antigénique O majeur: groupe O2, O4, O7....., puis au sein de chaque groupe O, selon les antigènes flagellaires phase 1 puis phase 2.

La formule antigénique caractérise une souche comme appartenant à un sérovar exemple: *S.Typhimurium*: 1,4, [5], 12 :i: 1, 2.

Les facteurs liés à une lysogénisation sont soulignés et les facteurs accessoires sans relation avec la présence d'un bactériophage sont placés entre crochets (Le Minor et coll.1987).

**Tableau n° 2:** Formules antigéniques de quelques sérotypes de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica*, d'après le schéma de Kauffmann-White (Le Minor et Popoff, 1997).

Sérotypes	Antigène somatique	Antigène flagellaire H de phase 1	Antigène flagellaire H de phase 2
Typhimurium	1, 4, 5, 12 :	i	1, 2
Infantis	6, 7	r	1, 5
Saint paul	<u>1</u> , 4, [5], 12	e, h	1, 2
Eastbourne	1, 9, 12	e, h	1, 5
Muenster	3,{10}{15}{15,34}	e, h	1, 5
Mbandaka	6, 7, <u>14</u>	z <sub>10</sub>	e, n, z <sub>15</sub>
Kentucky	8, <u>20</u>	i	z <sub>6</sub>
Elomrane	<u>1</u> , 9, 12	z <sub>38</sub>	-
Anatum	3,{10}{15}{15,34}	e , h 1 ,6	[z64]

## **CHAPITRE 2 : SALMONELLOSES.**

### **I. Généralités :**

Les salmonelloses sont des maladies infectieuses, contagieuses, provoquées par les salmonelles. Selon les sérovars impliqués, elles peuvent être à l'origine soit d'une infection typhique, suite à une contamination par les *S.Typhi*, *Para typhi* et *Sendai*, soit d'une salmonellose non typhique (pour les autres sérovars).

La gravité des symptômes est liée directement au sérovar en cause, à la dose infectante et à l'immunité de l'hôte. La fièvre typhoïde est devenue rare dans les pays développés du fait d'une maîtrise parfaite de l'hygiène durant la préparation des aliments, et l'amélioration des conditions d'approvisionnement en eau potable. Par contre elle a une grande ampleur dans les pays en voie de développement, en relation avec les mauvaises conditions d'hygiène et les risques de transmission fécale. L'incidence est effrayante, plus de 600,000 décès par an dans le monde, dont 80 % en Asie (Aubry, 2012).

Le deuxième aspect de salmonellose est dit non typhique, se manifeste le plus souvent par des signes de gastroentérite, responsables d'infection sporadique ou épidémique sous forme de toxi infections alimentaires collectives (TIAC), ces sérovars sont très répandus dans l'environnement (eaux de surfaces, d'égouts, de mer, stations d'épuration, sol, animaux domestiques et sauvages,...etc.). En 2007, la salmonellose est la deuxième cause des toxi infections alimentaires collectives (TIAC) en Europe, et la première en France (Anonyme, 2012b).

### **II. Habitat:**

#### **II.1 : Multiplication :**

Le réservoir des salmonelles est très vaste, on distingue des réservoirs principaux et des réservoirs secondaires.

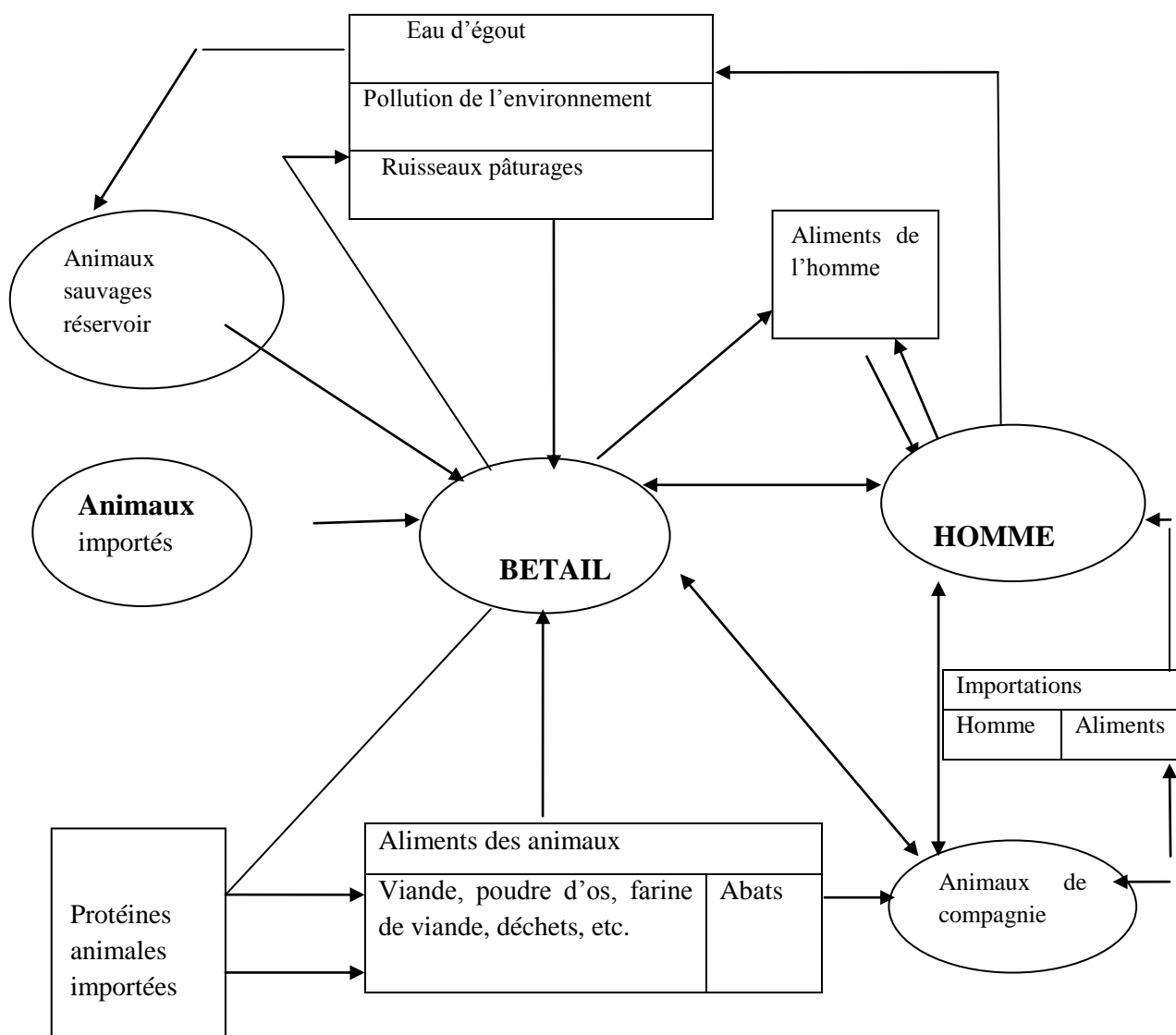
##### **II.1.1 : Réservoir principal :**

C'est le réservoir principal dans lequel les salmonelles se multiplient, il est constitué par l'intestin de l'homme et des animaux, dans lequel les facteurs de croissances sont tous réunis (température, pH ), leur ubiquité se traduit par un large spectre de réservoirs humains et animaux mammifères (Dechet et coll., 2006), volailles (Elgroud R, 2008)

##### **II.1.2 : Réservoir secondaire :**

Résultant de la capacité de survie des salmonelles dans l'environnement, et constitué essentiellement par les boues d'épuration, les aliments d'origine animale ou végétale, les fruits et légumes, les eaux de ruissellement et les égouts et les pâturages (Gledel, 1985).

La Figure ci-après présente un schéma de la circulation des salmonelles et les sources de contamination du bétail:



**Figure n° 1 :** Interactions entre l'agent, l'hôte et l'environnement dans la salmonellose (Wray, 2000).

Les pâturages sont très souvent contaminés par les salmonelles et ceci de plusieurs manières :

- Par l'excrétion des animaux porteurs présents sur ces pâturages.
- Par des eaux de ruissellement.
- Par l'épandage de lisiers et autres déjections animales sur ces pâturages.

L'utilisation accrue de lisier est un risque important de contamination des pâturages. D'après les conditions de multiplication des salmonelles citées ci-dessus, les salmonelles sont capables de survivre dans les effluents d'élevage (fumiers, lisiers....) et dans l'environnement pendant des mois ou des années avant d'être intégrées par un hôte qui pourra alors les remultiplier (Marly J et coll., 1995).

**II.2. Spécificité d'hôte:** Sur la base de leur spécificité d'hôte, les salmonelles sont classées en 03 groupes :

- Les sérovars étroitement adaptés à l'homme : *S. Typhi*, *Paratyphi A* et *Sendai*.
- Les sérovars étroitement adaptés à certains animaux ou qui expriment une pathologie particulière chez certaines espèces animales : *S. Dublin* chez les bovins (mais aussi chez l'homme), *S. Choleraesuis* et *Typhisuis* chez le porc, *S. Abortusovis* chez les ovins, *Abortusequi* chez les chevaux et *S. Gallinarum pullorum* chez les volailles.
- Les sérovars dits ubiquistes qui colonisent indifféremment différentes espèces animales, sont les plus nombreux : *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Kentucky*, etc.

### **III. Pouvoir pathogène:**

D'un point de vue médical, on peut diviser le pouvoir pathogène des salmonelles en deux groupes bien distincts, les salmonelles typhoïdiques, et non typhoïdiques.

#### **III.1. Salmonelles typhoïdiques:**

Elles sont rencontrées chez l'homme, elles sont encore appelées salmonelles majeurs, responsables de la fièvre typhoïdique due à *S. Typhi*, ou de fièvre para typhoïdiques généralement provoquée par *S. Para typhi B*, et plus rarement par *S. Para typhi A*, et *S. Para typhi C*, elles sont graves et souvent mortelles si elles ne sont pas traitées, elles associent : Un état septicémique, avec fièvre et splénomégalie.

Un état de prostration très particulier. « Le Typhos ».

Des signes digestifs graves (vomissement et diarrhée).

L'évolution peut se grever de complications atteignant le tractus digestif (hémorragies, perforations) (Pilet C et coll., 1987).

#### **III.2. Salmonelles non typhoïdiques :**

Elles sont encore appelées salmonelles mineures, ou ubiquistes, elles sont potentiellement dangereuses, leur gravité est liée à la dose infectante, et le sérovar impliqué. C'est l'agent responsable de la toxi infection alimentaire collective (TIAC), c'est la plus fréquente, caractérisée par un syndrome digestif (colique, diarrhée, vomissement) (Humbert F, 2005). Les rapports que développe une souche de *Salmonella* avec l'hôte peuvent entraîner soit:

- Un portage sain strictement limité au tube digestif, avec des nombres de salmonelles excrétées par gramme de matière fécale allant de moins de 10 à plus de  $10^7$  germes par gramme de fèces, l'excrétion peut être intermittente, c'est-à-dire s'annuler pendant un certain temps, il s'agit alors d'un porteur asymptomatique (Humbert F, 2005).
- Un portage sain, avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents, les salmonelles sont hébergées dans les monocytes et les macrophages où elles sont capables de survivre et de se multiplier, à ce titre elles sont considérées comme des bactéries à multiplication intracellulaire facultative.
- Une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient (stress, voyage, vêlage), soit dépassé par le nombre de salmonelles envahissant l'organisme, cette pathologie peut s'exprimer :

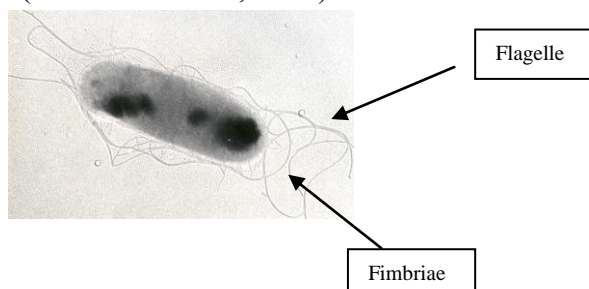
A la faveur de l'ingestion d'une forte dose de salmonelles (de l'ordre de  $10^5$  à  $10^8$  bactéries).

- Ou bien à la suite d'une importante multiplication dans le tube digestif d'une quantité initiale

faible de bactéries ingérées conséquence d'une perturbation (transport, vèlage) ou d'un déséquilibre de l'écosystème digestif (Humbert F, 2005).

#### IV. Pouvoir invasif :

Le cycle infectieux des salmonelles fait intervenir trois étapes, l'attachement, l'invasion, la survie et la multiplication cellulaire (Bearson et Coll., 1997). Une fois que les salmonelles pénètrent dans l'organisme (surtout par voie orale), elles traversent l'acidité de l'estomac, par l'activation des gènes de résistance contre l'acidité, en dépit de cela 1% seulement de la dose infectante, va traverser l'estomac (Bearson et Coll., 1997).



**Figure n° 2 :** Microscopie électronique de *Salmonella* avec ses fimbriae, plus fins et plus nombreux que les flagelles (Anonyme, 2013 c).

- L'attachement à la muqueuse intestinale des parties distales de l'intestin (Lockman et Curtiss., 1992), facilité par des protéines, appelées adhésines, le lipo polysaccharide (LPS) et le flagelle. Il existe 2 grandes familles d'adhésines: les fimbriae ou pili, et les adhésines non fimbriaires (MisL, Shd A, et SiiE) (Dorsey et coll., 2005; Morgan et coll., 2007). Après la colonisation, c'est l'invasion qui est une phase cliniquement silencieuse, débute 15 minutes après l'infection, c'est le temps nécessaire pour la sécrétion des molécules nécessaires pour l'invasion (Santos et coll., 2002), cette invasion commence par un effacement des microvillosités.

- les salmonelles traversent la barrière intestinale soit par l'induction de leur propre internalisation à l'intérieur de cellules non phagocytaires professionnelles, soit elles peuvent être transloquées via les cellules M et les phagocytes CD18+.

Après le franchissement de la barrière intestinale (dissémination systémique), les salmonelles sont phagocytées par les macrophages de la lamina propria en contact avec les cellules M des plaques de peyer.

Les salmonelles sont transportées jusqu'aux nœuds lymphatiques mésentériques. Deux possibilités se produisent, soit l'arrêt de la dissémination et donc la destruction de la bactérie, soit elles se multiplient, donc elles peuvent envahir l'ensemble des organes (foie, reins, rate, etc.).

Les salmonelles peuvent rester de nombreux mois dans un état latent, sans multiplication et une excrétion sera alors possible lors de transport, vèlage (Schoehn et coll., 2003).



## **V. Pouvoir toxique:**

Selon Popoff et Norel., 1992, les infections salmonelliques peuvent être le résultat de l'excrétion de trois différents types de toxines par les salmonelles à savoir : L'endotoxine ou toxine glucidolipidoprotéique : Apportée par la partie lipidique (lipide A) de l'Ag O responsable d'une hypotension artérielle, l'installation d'un collapsus cardio-vasculaire et dans certains cas d'installation d'un état de choc pouvant aboutir à la mort.

Les deux autres toxines sont la cytotoxine, élaborée par la membrane externe, qui inhibe la synthèse des protéines dans les cellules épithéliales et l'entérotoxine, ressemblant à la toxine du choléra et serait responsable de l'augmentation du taux intracellulaire d'A.M.P. (Adénosine Mono Phosphate) cyclique et entraîne l'accumulation des fluides (Rhen et coll.1992) cité dans la thèse de doctorat d'Elgroud R, 2008.

## **VI. Pouvoir immunogène:**

Les deux types d'immunités (cellulaire et humorale) interviennent dans la protection contre les infections à *salmonella*, bien que l'importance de chacune dans l'ultime protection de l'hôte reste encore controversée.

L'immunité humorale résultant de l'action des anticorps produits par les lymphocytes B, ces anticorps protègent l'hôte contre les infections salmonelliques, en s'attachant à la surface de l'organisme infecté pour le prévenir de l'attachement puis l'invasion des cellules de l'hôte par l'organisme infectant, en augmentant leur internalisation puis leur destruction par les phagocytes, l'activité protectrice des anticorps a donc lieu pendant la phase extracellulaire de l'infection bactérienne.

Par contre, l'immunité cellulaire est induite par les lymphocytes T, qui peuvent servir d'effecteurs directs de la fonction (cytolytique par les lymphocytes: LTet ou de régulation: LTh: helper ou de suppression: LTs), ces éléments de réponse immunitaire sont importantes pour la protection contre les pathogènes intracellulaires et agissent à travers la destruction directe des cellules infectées de l'hôte ou l'activation de la phagocytose (Holt, 2000), cité dans la thèse de doctorat Elgroud R, 2008.

## **VI. Clinique :**

### **VII.1. Salmonellose chez l'homme :**

Selon le type de sérovar en cause, on peut avoir chez l'homme deux types d'affections:

#### **VII.1.1. Fièvre typhoïde :**

Provoquée par les salmonelles typhiques, *S. Typhi*, *Paratyphi* (A, B, C), et *Salmonella* *Sendi*. Après une période d'incubation de 1 à 2 semaines, le premier symptôme observé après l'infection, une fièvre persistante, plus au moins associée à des signes digestifs; Diarrhée ou constipation, des douleurs abdominales, des nausées ou vomissements, et un abattement (tuphos = torpeur). Une étude épidémiologique effectuée par Aubry (2013), a montré que la fréquence des différents signes est très variable selon les séries, et le seul symptôme constant au début de la maladie est la fièvre, comme le montre le tableau ci-dessous.

Si le malade résiste à la 2<sup>ème</sup> semaine, le diagnostic clinique reste obscur; il y'a toujours une persistance de la fièvre en plateau, des douleurs abdominales diffuses ou localisées à la fosse

iliaque droite, une constipation chez l'adulte, une déshydratation, un pouls dissocié, une splénomégalie, une toux, des râles bronchiques, un tuphos.

L'aggravation des symptômes s'installe à la 3<sup>ème</sup> semaine, à laquelle on observe une perforation de l'intestin grêle, entraînant une péritonite, cette dernière est souvent observée dans les pays en voie de développement, avec mortalité et morbidité élevées, les cholécystites, les hémorragies digestives, ostéite.

Au Niger, une étude réalisée par Harouna Y (2000), sur les péritonites traitées (n = 56 cas) à l'hôpital de Niamey, montrait que la perforation typhique représente la première cause des péritonites par perforation avec 73 %.

Les rechutes chez le malade non traité sont fréquentes (10 à 20 %), ainsi que le portage chronique, 1 à 4 % des malades continuant d'héberger *S. Typhi* dans leurs intestins, et leur vésicules biliaires (Aubry, 2013), pendant des mois et des années.

Chez l'enfant, la fièvre typhoïde peut se présenter comme une fièvre isolée, ou associée à une obnubilation, pour la 2<sup>ème</sup> semaine, la fièvre en plateau et une diarrhée « jus de melon » sont les symptômes les plus observés.

**Tableau n° 3:** Fréquence en (%) des symptômes et signes cliniques de la fièvre typhoïde dans 6 séries (Aubry, 2013). A : Adulte, E : Enfants (Aubry, 2013).

Lieu	Abidjan (A)	Marseille (A)	Antananarivo (E)	Haïti (A)	Libreville (A)	Dakar (A+E)*	Parakou
Date	1976-1980	1978-1983	1982-1984	1988-1991	1992-1996	1995-2002	2005-2007
Nombre de cas	213	73	97	217	150	70	135
Fièvre	100	100	100	100	100	97	83
Céphalée	65	60	44	41	50	50	128
Diarrhée	32	63	35	64	67	49	35
Nausée, vomissement	16	41	33	45	33	71	66
constipation	12	21	21	12	20	-	-
Splénomégalie	36	31	10	0,9	10	10	-
Taches rosées	-	7	-	-	0,7	-	-
Pouls dissocié	51	68	9	-	87	31	-
Tuphos	7	-	10	14,7	17	-	-

Ces sérotypes responsables de ce type de salmonellose sont strictement humains, et sont acquis par l'ingestion de l'eau ou d'aliments contaminés par les fèces d'origine humaine (Aubry, 2013).

### **VII.1.2. Salmonellose non typhoïdique:**

Généralement provoquée par des salmonelles ubiquistes, responsables de gastroentérites sporadiques ou épidémiques sous forme de toxi infections alimentaires collectives (TIAC) :

En France, 1 124 foyers de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été déclarés en 2008, affectant 12 549 personnes, dont 5 sont décédées. Dont les salmonelles étaient à l'origine de 25 % des foyers (la deuxième cause après l'entérotoxine de staphylocoque) (Anonyme, 2014).

Au Canada en 1984, 2700 cas à *S. Typhimurium* (1 mort) concernant du cheddar. En 1989 dans l'état de l'Illinois (Canada): 200.000 personnes atteintes.

En 1989 -1990 une épidémie impliquant le melon (cantaloup) contaminé par *S. Chester* atteignant 25.000 personnes dans 30 Etats (Anonyme, 2013d).

En Afrique, l'incidence est nettement plus forte ; Le nombre plus élevé de porteurs (4 % contre 0,5 à 1% en France) rend compte d'une circulation plus intense de ces germes. Au total pour les seules salmonelloses non typhiques les estimations sont de 2,5 millions de cas par an dans le monde avec 550 cas/100 000 habitants dans les pays en voie de développement et 0,2 cas / 100 000 habitants dans les pays développés (Hhessissen L, 2004).

Selon l'agence française de la sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), les TIAC sont des maladies à déclaration obligatoire (MDO), la déclaration est obligatoire pour :

- Tout médecin, biologiste qui en a constaté l'existence (les hôpitaux, polycliniques, etc.).
- Tout responsable des locaux où se trouve le (ou les) malade(s) : Chef de famille, chef d'établissement scolaire, responsable d'établissement de restauration. Les TIAC sont dominées par des signes de gastroentérites, en général les TIAC n'ont pas un pronostic sombre, elles évoluent vers la guérison, par contre des formes invasives (septicémie) peuvent être observées chez les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées, et également chez les immunodéprimés.

Les TIAC sont le résultat de l'ingestion des aliments contaminés (poulets, œufs, viande, lait et produits laitiers, fruit, etc.), ou du portage asymptomatique (Anonyme, 2004).

### **VII.2. Chez les animaux :**

Les tableaux cliniques sont variés, avortement chez les différentes espèces, septicémie du jeune, entérite, etc.

#### **VII .2. 1. Salmonellose bovine :**

Plusieurs évolutions sont possibles après une contamination orale :

- Colonisation du tube digestif responsable d'une gastroentérite.
- Passage des salmonelles dans le milieu intracellulaire des macrophages, monocytes avec soit inactivation totale des bactéries entraînant la guérison de l'animal, soit portage latent (excrétion intermittente).
- Dissémination dans l'organisme précédant une septicémie ou la localisation dans différents organes (utérus, poumon, articulation, mamelle, etc.).
- Libération d'endotoxine responsable du choc endotoxinique.

La contamination intervient essentiellement par voie orale par l'intermédiaire des aliments ou de l'eau de boisson contaminés par les salmonelles. Mais d'autres voies sont possibles

Aérienne par des aérosols.

Oculaire par contamination de l'air.

Le résultat de la contamination dépend en partie de la dose infectante, des inoculations avec  $10^4$  à  $10^7$  UFC (unités formant colonies) provoquent une diarrhée transitoire, alors que des doses de  $10^8$  à  $10^{12}$  peuvent provoquer la mort (Camart- Périé A, 2006).

Les doses les plus faibles peuvent induire simplement l'installation d'un portage sain asymptomatique et l'expression clinique peut survenir de façon décalée dans le temps (plusieurs mois) par rapport à l'infection sous l'influence de facteurs comme le vêlage, le transport, maladies intercurrentes.

Les salmonelloses sont caractérisées par un grand polymorphisme clinique. Il faut considérer les conséquences de l'infection sous deux aspects : L'infection inapparente ou portage asymptomatique, et les formes cliniques.

#### **VII.2.1.1. Infection inapparente:**

On distingue différents types de portage de *Salmonella* :

##### **Le portage passif:**

Ne dure que quelques jours et correspond à un simple transit des salmonelles dans le tube digestif, sans implantation réelle, on peut retrouver le germe dans les excréments, mais l'animal n'est pas réellement infecté et après un délai maximal de deux semaines, les salmonelles ont toutes été éliminées (Camart- Périé A, 2006).

##### **Les porteurs latents:**

Ils sont asymptomatiques et n'excrètent pas de salmonelles, les bactéries sont en position intracellulaire, en général dans les ganglions mésentériques, la coproculture est négative, sauf que l'excrétion est provoquée par un stress, vêlage, transport. Certains porteurs latents deviennent porteurs actifs, au même titre que les malades et les convalescents, qui excrètent les salmonelles de façon continue et intermittente.

Ces animaux constituent un réservoir de salmonelle potentiellement pathogène pour leurs congénères et pour l'homme, et sont difficiles à repérer même par coproculture surtout pour les porteurs latents.

Les porteurs présentent un véritable problème non seulement pour la transmission mais aussi pour la contamination du lait (Camart- Périé A, 2006).

#### **VII.2.1.2. Forme clinique (portage actif) : Plusieurs formes peuvent être citées.**

##### **VII.2.1.2.1. Forme digestive:**

La salmonellose bovine se présente essentiellement comme une entérite touchant aussi bien les adultes que les veaux d'une semaine à trois mois.

Elle évolue de façon aigüe ou chronique, elle associe une hyperthermie ( $41^{\circ}\text{C}$ ), une baisse d'appétit, un abattement interne, des muqueuses congestionnées, une diarrhée nauséabonde d'abord aqueuse puis devenant mucoïde avec des lambeaux nécro fibrineux plus au moins hémorragiques, cette diarrhée s'accompagne d'étreintes, de ténesme et de coliques abdominales.

Les veaux se déshydratent rapidement, la morbidité atteint les 80 %, et la mortalité avoisine les 20 %. La morbidité et la mortalité sont proportionnelles à l'âge, la dose infectante, et la souche.

Les vaches laitières hautes productrices sont sensibles, présentent des symptômes comparables avec une diminution de la sécrétion lactée. La forme aigüe persiste pendant une période de deux mois.

Après cette phase, des cas sporadiques sont encore observés sur une période de quinze mois.

#### **VII.2.1.2.2. Forme génitale:**

Divers sérovars responsables de cette forme, parmi lesquels ;

*S. Dublin* occupe une place particulière, elle est caractérisée par ;

- Un avortement tardif au-delà de six mois, suivi d'une rétention placentaire.
- Pas d'augmentation de l'infertilité et d'anoestrus.
- 5 à 10 % des vaches en gestation au moment de l'apparition d'une diarrhée avortent (Camart-Périer A, 2006).

#### **VII.2.1.2.3. Forme septicémique:**

Plus rare, se développe habituellement dans les élevages industriels (veaux de boucherie), et se lie au stress de l'allotement.

Elle peut faire suite à une forme digestive, et moins fréquemment rencontrée chez les adultes, hormis les vaches laitières hautes productrices, ou les animaux dont le système immunitaire est affaibli.

Elle se manifeste par une fièvre intense, abattement profond, chute de la pression artérielle, les extrémités refroidissent, les muqueuses sont cyanosées.

La mort peut être brutale sans prodrome, l'évolution est suraiguë, elle est liée au choc endotoxinique (Camart- Périer A, 2006).

#### **VII.2.1.2.4. Forme respiratoire:**

Cette forme est très fréquente dans les grandes collectivités (atelier d'engraissement).

Le confinement excessif et la contamination aérienne étaient responsables de la très grande contagiosité, et du caractère épizootique de la salmonellose.

L'atteinte de l'appareil respiratoire se traduit par la dyspnée, une toux sèche et quinteuse, jetage séreux puis muqueux, évolue de façon défavorable, très contagieuse, évolue rapidement vers la mort de l'animal, en l'absence de traitement (surtout pour les jeunes).

Les symptômes respiratoires sont souvent accompagnés de diarrhée on parle de syndrome de « pneumo entérite » (Camart- Périer A, 2006).

#### **VII.2.1.2.5. Autres formes :**

D'autres localisations sont plus rarement observées, arthrite, méningo- encéphalite, ostéite, gangrène des extrémités, uvéite, mammite, complication de césarienne.

A l'autopsie, un ensemble de lésions est évocateur:

- Hypertrophie des ganglions mésentériques.
- Entérite muco-nécrotique avec épaississement des parties terminales de l'intestin.
- Péritonite et une ascite serofibrineuse, splénomégalie.
- Foyers de nécrose sur le foie, les lésions hémorragiques et congestives (intestins, ganglions) correspondent à une évolution aiguë.

Les lésions exsudatives et les formations fibrineuses (péritoine) correspondent à une évolution chronique. Le diagnostic est confirmé par l'envoi au laboratoire de fèces d'animaux malades, d'avortons ou de placenta (Camart- Périer A, 2006).

### **VII.2.2. Chez les ovins :**

L'infection salmonellique chez les ovins se manifeste sous différentes formes cliniques, qui sont comparables à la salmonellose bovine.

Pour les sérovars ubiquistes, l'infection inapparente est la forme la plus rencontrée, la maladie est relativement rare.

Ces différents sérovars peuvent entraîner un avortement des brebis, donc à ne pas confondre avec les *S. Abortusovis* responsable de la salmonellose abortive.

Un sérovar spécifique aux ovins *S. Abortusovis*, n'est pas transmissible à l'homme, donc elle n'est pas pathogène pour l'homme.

L'avortement est le principal symptôme de l'infection par *S. Abortusovis*, causant donc la salmonellose abortive. Son introduction est assurée surtout suite à des achats ou des mélanges avec des troupeaux infectés (lors de transhumance en particulier), le rôle de l'eau étant que vecteur de l'infection a été rapporté, et peut constituer la principale source de contagion lors d'épisode abortif sur de troupeaux de plein air, le déclenchement de la maladie peut être favorisé par le stress (le vêlage, le transport, la manipulation, la chaleur, etc.)

La contamination a lieu principalement par voie muqueuse (buccale, nasale, oculaire), et éventuellement par voie digestive (par l'ingestion d'aliment ou de l'eau contaminés).

Les femelles infectées excrètent les salmonelles surtout par voie vaginale, tandis que l'excrétion fécale apparaît très irrégulière, mais peut persister plusieurs années.

La contamination des agneaux en période périnatale est possible mais bien que faible (colostrum contaminé, la souillure des mamelles).

Une transmission vénérienne par un bélier infecté ne peut être exclue, mais elle est négligée.

Pour les symptômes: Ils dépendent du moment de la contamination (Pouget P, 2006).

- Contamination en dehors de la gestation: l'animal s'immunise naturellement.
- Contamination en tout début (1<sup>er</sup> mois) ou en tout dernier mois de gestation: Les risques d'avortement sont faibles, et dépendent de la dose infectante.
- Contamination en milieu de gestation: Les salmonelles, après le franchissement de la barrière intestinale, atteignent le fœtus, qui meurt à la suite d'une septicémie, la bactérie se trouve donc dans tous les organes du fœtus, les avortements peuvent avoir lieu 2 mois avant la mise bas, atteignant fréquemment 20 à 30 % des brebis gravides (Champion J L et coll., 2013).

### **VII.2.3. Chez les caprins:**

Les manifestations cliniques sont comparables à celles de la salmonellose bovine, l'avortement reste le symptôme le plus important surtout dans les six dernières semaines de gestation.

Des manifestations digestives sont décrites notamment chez les chevreux.

### **VII. 2. 4. Chez les équins :**

Le cheval est très sensible aux salmonelles, elles sont considérées comme les principales causes de la diarrhée soudaine chez le cheval, un nouveau rapport du laboratoire national vétérinaire des Etats Unis d'Amérique (2002), rapporte que l'infection salmonellique chez le cheval est comme l'homme, en augmentation durant ces dernières années.

Cette salmonellose est liée principalement à la contamination des produits alimentaires L'infection par voie orale est la plus fréquente, les salmonelles peuvent traverser la muqueuse entraînant une infection oculaire et nasale, hyperthermie, douleur abdominale, les muqueuses sont rougeâtres, déshydratation, la diarrhée arrive souvent 6- 24 heures après le début de la fièvre

et la douleur abdominale. S'il n'est pas traité rapidement l'animal meurt rapidement (Aubry, 2013).

#### **VII.2.5. Chez les volailles :**

Il existe deux classes de salmonelle;

Salmonelle spécifique pour l'espèce aviaire (majeur): *S. Gallinarum pullorum*, agent responsable de la typhose-pullorose, caractérisée par la forte mortalité, les poulets apparaissent normaux jusqu'aux 24 à 36 heures avant la mort. Elle commence par une diarrhée, la fiente est de couleur rougeâtre à verdâtre (Val I, 2005).

A l'autopsie : Augmentation de la taille de la rate et du foie, la muqueuse de l'intestin et de la séreuse sont imprégnées de sang, fientes liquides et jaunes dans le rectum. Elle n'est pas contagieuse pour l'homme.

Salmonelles ubiquistes : Contagieuses pour l'homme, exemple ; *S. Typhimurium*,

*S. Enteritidis*, *S. Hadar*, ne sont pas spécifiques, elles sont observées essentiellement sur les poussins et dindonneaux de moins de 15 jours, et sont rares sur les oiseaux de plus de quatre semaines, la morbidité et la mortalité habituellement inférieurs à 20 % dans les lots affectés, mais exceptionnellement peuvent approcher 100 %.

Des formes septicémiques peuvent être observées avec des symptômes généraux : Les oiseaux sont abattus, les plumes ébouriffées, les ailes tombantes, somnolence, une diarrhée, et des atteintes oculaires.

*S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* peuvent entraîner en particulier chez la poule une diminution de la production, une diminution de fertilité, mortalité accrue des jeunes.

Les lésions ne sont pas spécifiques, hypertrophie, congestion de nombreux viscères pour l'atteinte septicémique (Val I, 2005).

### **VIII. Epidémiologie :**

#### **VIII.1. Chez l'homme :**

##### **VIII.1.1. Epidémiologie de la fièvre typhoïde :**

Dans les pays en voie de développement, la fièvre typhoïde est endémique, et pose un grand problème de santé publique, où l'incidence est estimée à 540 cas / 100000 habitants (versus 0,2 cas / 100000 habitants dans les pays tempérés) (Aubry, 2013). L'homme est le réservoir de la bactérie, la contamination se fait par les eaux et les aliments contaminés à partir des selles humains (malades ou porteurs asymptomatiques). Dans les régions les plus touchées, le pic d'incidence survient parmi les enfants et les adolescents âgés de deux à quinze ans. Dans les pays industrialisés, la plus part des fièvres typhoïdes sont contractées lors d'un voyage à l'étranger (vers les pays en voie de développement) selon De Jong et Ekdahl (2006). En revanche, en France, une grande épidémie a été enregistrée en date de 1993, suite à la consommation du fromage de la chèvre contaminé par les *S. Paratyphi B* (Anonyme, 2014).

##### **VIII.1.2. Epidémiologie de la fièvre non typhoïdique:**

Les salmonelles non typhoïdiques sont en augmentation constante en particulier dans les pays industrialisés, les animaux sauvages et domestiques sont des réservoirs de la bactérie, les animaux à sang froid peuvent être aussi incriminés (Reptiles, escargots, etc.). La contamination est surtout alimentaire ou interhumaine, responsable d'une infection sporadique, ou épidémique comme les Toxi infections alimentaires collectives (TIAC). On trouve la contamination

interhumaine surtout chez les enfants, favorisée par le portage asymptomatique avec un manque d'hygiène, les principales salmonelles en cause sont *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* (Elise B C, 2001).

Au début des années 1990, l'intensification de l'élevage industriel, et le commerce international de volailles favorise la propagation des salmonelles dans le monde entier.

En 2006, plus d'un million de cas sont signalés dont 95 % ont une origine alimentaire, ce qui représente approximativement une incidence de 155 à 341 personnes pour 100 000 habitants (Butaye et coll., 2006).

En France, en 2008 selon les estimations de l'institut national de veille sanitaire (INVS), il y aurait entre 51 000 et 82 000 cas de maladies infectieuses d'origine alimentaire, où presque 60 % des cas étaient dus à des salmonelles avec 90 à 540 décès (Anonyme, 2012b).

Les salmonelles sont sensibles à la température, donc l'intoxication est produite lorsqu'il y'a une consommation d'un aliment contaminé cru ou insuffisamment cuit, en France, 58 % des TIAC déclarées en 2001, à salmonelles sont survenus en milieu familial et 20 % en restauration collective (Elgroud R, 2008).

Les immunodéprimés sont très sensibles aux infections salmonelliques non typhoidiques, la prévalence des salmonelloses non typhiques à *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* est élevée chez les sidéens (Aubry, 2012).

## **VIII.2. Chez l'animal :**

### **VIII.2.1. Chez les bovins:**

Le règne animal est un vaste réservoir de salmonelles, présentes dans le tractus digestif par l'excrétion, les salmonelles sont très répandues dans l'environnement et susceptibles d'être retrouvées sur chaque substance pouvant être contaminée directement ou indirectement par des matières fécales (Mariel, 1985).

L'excrétion au moment de la phase clinique atteint des doses de  $10^8$  à  $10^{10}$  salmonelles par gramme de fèces ou de tissu placentaire lors d'avortement.

Pour les bovins porteurs asymptomatiques, ils peuvent excréter de façon continue ou transitoire de salmonelles de l'ordre de  $10^3$  à  $10^6$  salmonelles par gramme de fèces (Corbion et coll., 1995). L'existence des animaux sauvages et l'élevage des poulets et des ovins parmi des bovins, constituent une source importante de contamination (Carter et coll., 1983).

### **VIII.2.2. Pour les autres animaux:**

#### **VIII.2.2.1. Ovins :**

*S. Abortusovis* est un sérovar spécifique pour les ovins causant surtout l'avortement et la rétention placentaire.

En France, les sérovats les plus concernés sont les *S. Dublin*, *S. Typhimurium*, très rarement (1 à 2 cas / an dans le centre ouest de la France) pour les *S. Arizonae* Suis (Champion JL et coll., 2013).

#### **VIII.2.2.2 Volaille :**

*S. Gallinarum pullorum* est un sérovar spécifique aux volailles, les poules en particulier, capable d'engendrer une infection systémique à l'origine d'une entérite spécifique appelée Typhose-Pullorose.



En Europe, chaque année la commission européenne, estime la prévalence de contamination des élevages de poulet de chair par les salmonelles, trois semaines avant leur abattage, dans une enquête menée d'octobre 2005 à septembre 2006 par l'European Food Safety Authority (EFSA), était de l'ordre de 23,7 %. Mais les taux varient considérablement selon les états membres (Anonyme, 2011).

Les sérovars les plus souvent retrouvés dans les élevages positifs sont *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Mbandaka* et *S. Hadar* (Devos, 2007).

La poule apparait très sensible à *S. Enteritidis*: la dose infectieuse est très faible de l'ordre de  $10^3$  à  $10^4$  UFC par poule, et l'excrétion massive de  $10^6$  par gramme de fientes.

Les sources de contamination sont pratiquement importantes (oiseaux, autres animaux domestiques, rongeurs, eaux, aliments...etc.).

Les volailles prennent une place importante parmi les aliments responsables de Toxi infections alimentaires collectives (TIAC), où en France, les volailles sont placés en troisième position après les œufs et les ovo produits d'une part, et les viandes d'autre part (Elgroud R, 2008). L'ubiquité des salmonelles fait que l'on peut les trouver dans différents milieux, l'environnement est contaminé par les salmonelles excrétées avec la fiente, on peut donc les retrouver à toutes les étapes de la filière de production, commençant par les troupeaux reproducteurs jusqu'aux abattoirs, en passant par les couvoirs et les élevages.

Leur résistance à un spectre très large de pH et de température, leur permet de contaminer les parcours ou les bâtiments que les aliments ou les incubateurs en passant par le matériel d'abattage (Elgroud R, 2008).

En 2008, une étude menée par Elgroud R, portant sur plusieurs objectifs, parmi lesquels, l'évaluation de la prévalence de contamination des élevages et des abattoirs avicoles dans la région de Constantine par les salmonelles, et la distribution des sérotypes isolés, a montré que 36,66 % des élevages et 73,33 % des abattoirs étaient contaminés par les salmonelles. Cette contamination était dominée par *S. Hadar* (36 %, n = 20), suivi de *S. Virchow* (16 %, n = 9), *S. Infantis* et *S. Albany* (11 %, n = 6 pour chacun), *S. Typhimurium* (9 %, n = 5), *S. Carnac* (7 %, n = 4), *S. Enteritidis* (4 %, n = 2) et *S. Heidelberg*, *S. Montevideo* et *S. Rissen* avec un isolat chacun.

### **VIII.3. Lait:**

Le lait et les produits laitiers renferment une flore microbienne naturelle non pathogène et ou additionnelle à l'origine de la diversité des produits mis sur le marché.

En France, avant l'arrêté du 30 mars 1994, la recherche des salmonelles dans le lait, et les produits laitiers n'était pas systématique du fait de la faible prévalence de contamination.

Dans les pays industrialisés, 2 à 6 % des intoxications alimentaires bactériennes proviennent de produits laitier (Peiffer B, 1999).

Grace aux informations fournies à partir des Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (BEH), et l'institut de veille sanitaire (INVS) sur une période de 16 ans allant de 1988 à 2003, montraient que le lait et les produits laitiers contaminés par les salmonelles ont été impliqués dans 23 foyers de TIAC parmi les 368 foyers enregistrés, soit un taux de 1,8 % du total des foyers et ceci de manière stable d'une année sur l'autre (De Buyser M L, 2005).

Au Canada en 1984, 2700 cas à *S. Typhimurium*, avec un décès, suit à la consommation du cheddar (Anonyme, 2014).

En 1985, 16.000 cas confirmés dans 6 états du fait de la consommation de lait provenant de Chicago. Ce fut la plus grande TIAC de *Salmonella* aux USA.

En France, une grande épidémie s'est produite en date de 1993 impliquant *Salmonella* Paratyphi B dans du fromage de chèvre, entraînant 273 cas dont 1 mort (Anonyme, 2014).

Selon une étude française, portant sur la détermination des facteurs de risque de la contamination du lait de troupeau, la prévalence de l'excrétion mammaire des salmonelles était 0,6 % (Heuchel V, 2000).

Selon (Le poutre A, Charley C., 1996), le lait et les produits laitiers sont rarement responsables des cas de salmonellose dans les pays développés. Le lait pasteurisé est habituellement indemne de salmonelles, car elles sont éliminées par la pasteurisation, des incidences peuvent survenir uniquement par contamination après la pasteurisation en relation avec les conditions de stockage, de manipulation.

Par contre, en raison de la vente du lait cru dans des points de vente, et l'absence des réglementations dans ce sens, et une pasteurisation défectueuse, des cas de salmonellose enregistrés de façon endémique dans les pays en voie de développement.

Les poudres de lait ont été responsables de plusieurs incidents, en effet, il a été démontré que certaines salmonelles peuvent résister au traitement de lyophilisation.

Les élevages infectés (animaux, environnement) constituent un réservoir potentiel de contamination du lait et des produits dérivés à base de lait cru, cependant, il semblerait que la contamination ait lieu plus fréquemment à partir du milieu extérieur, de l'environnement ou par contact avec les animaux infectés au moment de la traite que par voie intra mammaire (Martel L, 1994).

#### **VIII.4. Autres Matrices :**

##### **VIII.4.1. Les œufs :**

Les principales sources sont les produits bruts tels que les œufs et la volaille (lors de l'éviscération). Dans le cas des œufs durs, il n'y a pas de problème car le traitement thermique suffit à détruire toutes les bactéries, par contre la cuisson des œufs au plat et des omelettes est insuffisante.

L'œuf de cane peut être contaminé surtout par (*S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. anatum*) dans les ovaires, et de l'oviducte (Val I, 2005)

Les milieux internes de l'œuf de poule sont exceptionnellement contaminés.

Par contre la contamination des coquilles n'est pas exceptionnelle, celle-ci peut être transférée aux blancs et jaunes d'œuf par le cassage.

##### **VIII.4.2. Viande de volaille :**

Le nombre de souches isolées dans les viandes et abats de volaille continue de progresser (3 115 souches) dont les principaux sérovars sont Virchow (18,7 %), Typhimurium (15,8 %), Newport (11,4 %), Enteritidis (9,2 %), Saint Paul (8,7 %), Indiana (6,9 %) (Peiffer B, 1999).

En Algérie, et plus précisément à Constantine, Elgroud R a réalisé une étude sur la prévalence de contamination des abattoirs avicoles par les salmonelles, qui a révélé que sur 690 prélèvements réalisés au niveau des abattoirs, 25 prélèvements étaient positifs soit un taux de 3,62 %.

Hop et coll, 2002 expliquent que le problème essentiel réside dans les élevages industriels type concentrationnaire (intensif) de poulets, de dindes, etc.

Les salmonelles des élevages sont retrouvées ensuite dans les abattoirs (les doigts des plumeuses, les bacs d'échaudage, considérés comme des facteurs de dissémination des salmonelles d'une carcasse à l'autre.

Dans l'industrie agroalimentaire, la fréquence des aliments contaminés par les salmonelles est considérée grande et équivalente à 2,5%.

En 2002, dans tous les pays européens, à l'exception des pays scandinaves, 10 à 15 % des poulets en vente dans les boucheries étaient contaminées par les salmonelles, dont le sérotype *S. Enteritidis* représente 11,1 % des sérotypes isolés (Val I, 2005)

#### **VIII.4.3. Le poisson :**

La salmonellose humaine à cause de la consommation de poisson est très rare.

*S. Agona* était présente dans des farines de poisson en provenance du Pérou et à l'origine de toxi-infections alimentaires en Grande-Bretagne et aux USA (Peiffer B, 1999).

### **IX. Source et voies de contamination:**

#### **IX.1. Sources de contamination:**

##### **IX.1.1. L'homme :**

L'intestin de l'homme présente un réservoir majeur des salmonelles, ces bactéries pathogènes peuvent suite à une contamination fécale survivre dans l'environnement (eau, sol, matériel), plusieurs mois (Korsak, 2004), leur ubiquité se traduit par un large spectre de réservoir ; humain, et animaux, mammifères (Dechet et coll., 1998).

Leur capacité de survie leur permet également de persister dans de nombreux réservoirs comme le lisier (Marly J et coll, 1995), l'eau aliment, fruits et légumes.

Pour les salmonelles dites majeures (*S. Typhi*, *S. Paratyphi* A, B, C), l'homme s'infeste par l'ingestion de l'eau ou les aliments contaminés par les fèces d'origine humaine.

Ce problème est reconnu surtout lorsqu'il n'y a pas une séparation entre les circuits d'eaux potables et eaux usées entraînant la contamination de l'eau potable et donc l'apparition de fièvre typhoïde (Aubry, 2012).

Pour les sérovars ubiquistes l'homme s'infecte par l'ingestion d'aliments contaminés par ces salmonelles, entraînant des cas sporadiques, ou épidémiques sous forme de Toxi-infections alimentaires collectives (TIAC).

##### **IX.1.2. L'animal :**

L'intestin des animaux représente le premier réservoir de salmonelles, plusieurs sources d'infection peuvent être citées qui sont souvent inter reliées (Elise B C, 2001). Les principales sources d'infection dans les troupeaux sont :

##### **IX.1.2.1. Animaux infectés :**

L'introduction de salmonelles dans un troupeau se fait souvent par l'achat d'animaux infectés (Smith, 2002), soit présentant des signes cliniques (surtout diarrhée, fébrile), soit ne présentant pas de signes cliniques mais excréteurs de salmonelles (porteurs asymptomatiques). Une étude montre qu'une vache excrète les salmonelles dans le lait pendant une période de deux ans et demi (Gils et Coll., 1989).

Une autre étude a montré qu'un animal peut être infecté durant son transport avec un animal porteur latent, dont l'infection est réactivée par le stress de transport (Camart- Périé A, 2006).

### **IX.1.2.2. Environnement:**

Les salmonelles peuvent persister plusieurs mois à l'intérieur des bâtiments, même lorsque ceux-ci sont vides d'animaux, après nettoyage et désinfection c'est-à-dire le vide sanitaire (Wray et Coll., 1987). Les fermes laitières produisent des quantités importantes de déjections animales, qui sont généralement entreposées, sous forme liquides ou solides, avant d'être épandues comme fertilisants sur les terres agricoles (Cobbold et coll., 2006).

La contamination des eaux de surface et souterraine par des salmonelles a été démontrée.

### **IX.1.2.3. L'aliment:**

L'aliment joue un rôle important dans l'introduction de l'infection dans l'élevage. Les salmonelles peuvent contaminer l'aliment du bétail à plusieurs étapes de la chaîne de production (production des additifs, le mélange, stockage), mais la principale source de contamination est souvent les ingrédients de base (Davis et coll., 2003). La contamination de l'aliment peut être effectuée au niveau de leur distribution par les animaux sauvages ou les oiseaux, les poulets, etc. (Sinton et coll., 2007). Au Canada, il est de la responsabilité de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) de vérifier que les aliments du bétail fabriqués et vendus au Canada ou importés, sont salubres, efficaces et bien étiquetés. La maîtrise de sécurité sanitaire des aliments doit être assurée tout au long de la chaîne alimentaire, y compris le transport, le stockage et la distribution aux animaux.

## **IX.2. Voies de contamination :**

### **IX.2.1. Vecteurs animés:**

Deux principales voies peuvent être citées.

#### **IX.2.1.1. Voie endogène:**

Les salmonelles du tube digestif peuvent contaminer la surface des aliments d'origine animale quand la préparation s'effectue dans des conditions hygiéniques défavorables, cette contamination est d'autant plus élevée lorsque l'animal est jeune, âgé, stressé (transport), le système immunitaire de ces animaux est affaibli (Camart- Périé A, 2006).

Chez l'animal porteur sain, les salmonelles sont beaucoup plus dans le tube digestif, on peut les retrouver dans le lait, le foie, cette catégorie constitue une source importante de la contamination des viandes.

Le passage de salmonelles dans le lait à travers les mamelles chez les vaches atteintes de salmonellose, ou porteuses asymptomatiques est très faible, il est de l'ordre de 0,6% (Heuchel V, 2000).

Le passage des salmonelles dans et sur les carcasses est favorisé par:

#### **Une bactériémie d'abattage:**

Provenant de la plaie de saignée par l'aspiration des salmonelles.

Le tube digestif: Le système réticulohistiocytaire du foie et des ganglions mésentériques joue un rôle important dans le système immunitaire, une fois ce système est paralysé par la fatigue, du stress, ou bien le transport, on observe une dissémination des salmonelles dans le sang et les différents organes (Camart- Périé A, 2006).

### **Eviscération tardive:**

Dans l'heure suivant la mort, les microorganismes peuvent traverser passivement la paroi du tube digestif, et contaminent le péritoine pariétal, les muscles de la paroi abdominale, puis le reste de l'organisme (Camart- Périé A, 2006).

### **IX.2.1.2. Voies exogènes:**

C'est une contamination secondaire, plus importante que la voie endogène, à l'origine des multiples manipulations que subissent les aliments depuis la production jusqu'à leur consommation, on prend en considération que l'homme constitue le principal agent de la contamination, soit par voie directe ou indirecte.

Cette contamination est assurée par des vecteurs:

#### **IX.2.1.2.1. La voie directe :**

Dans ce cas la source de contamination est représentée par le manipulateur, deux possibilités se présentent :

- **L'homme peut être porteur malade:** Un manipulateur souffre d'une toxi infection alimentaire, il est donc source de contamination. A la suite de fièvre typhoïde ou paratyphoïde, 5 % des malades, traités et guéris cliniquement restent des porteurs chroniques pendant quelque semaines à quelques années (Le Minor, 1989).

- **L'homme peut être un porteur sain :** Ce type de porteurs se rencontre surtout dans les abattoirs, les industries agroalimentaires, et les cuisines collectives, leur fréquence est estimée à 20 % du personnel employés dans ces établissements.

L'élimination des salmonelles par les fèces est caractérisée par:

Une élimination intermittente : Il est important de renouveler les examens coprologiques pour les employés.

Plus ou moins abondante : De quelques bactéries à  $10^9$  par gramme de fèces.

De durée variable de quelques semaines, avec une moyenne de six semaines (Camart- Périé A, 2006).

#### **IX.2.1.2.2. Voie indirecte :**

Il y'a transmission des salmonelles d'un aliment à l'autre, par le non respect des principes généraux d'hygiène (les mains sales, contact des matières souillées, des vêtements mal entretenus, non lavage des aliments, une rupture de liaison chaude et froide).

**Les animaux:** Une source importante de bactérie, la contamination des aliments s'effectue par un contact direct des salmonelles présentes dans le tube digestif, la peau les cavités nasales ; On parle d'une contamination croisée.

**Les aliments:** Après cuisson, ils peuvent être contaminés par des salmonelles, une conservation à une température favorable (6 à 42° C) entraîne une multiplication de ces bactéries.

### **IX.2.2. Vecteurs inanimés :**

Contamination indirecte de l'aliment, plusieurs facteurs peuvent être cités à savoir: Sol, air, eau.

**L'air:** Est un moyen de dissémination des salmonelles contenues dans les poussières (foin, paille).

**L'eau :** L'utilisation de l'eau contaminée par les salmonelles va disséminer la bactérie sur les surfaces en contact.

**Les surfaces de contact** : Elles jouent un rôle important dans la dissémination des salmonelles (les palettes de stockage, les planches à couper, les équipements divers et les machines de traire, plumeuses, etc.)

Le linge aussi, le lavage en machine (55 à 60° C) ne tue pas les salmonelles (Aubry, 2013).

## **X. Mise en évidence des salmonelles:**

Afin d'assurer la sécurité sanitaire des aliments et de préserver la santé humaine, il est important de surveiller activement la qualité microbiologique des matières premières et des produits finis.

A cet effet, des méthodes de recherche des salmonelles dans les aliments ont été établies par des organismes internationaux et nationaux (ISO 6579, AFNOR V08. 052, NA 2688, etc.), et qui exigent l'absence totale de salmonelles dans 25 grammes de la plus part des aliments testés (Anonyme, 1998).

Ces méthodes sont également appelées « méthodes conventionnelles », mais elles ne sont pas les seules pour la recherche des salmonelles.

L'immunologie et la génétique ont en effet permis de mettre au point d'autres méthodes souvent plus rapides.

### **X.1. Méthodes conventionnelles :**

Ce sont des normes qui régissent la recherche des salmonelles en hygiène des aliments, on peut citer:

#### **X.1.1. Méthodes de référence ou horizontales:**

Elles donnent en principe un protocole assurant le résultat le plus spécifique et le plus sensible possible, représentées par la norme ISO 6579 ; 2002 (Guiraud J P et coll, 2004) qui est une norme internationale, de référence, qui utilise quatre étapes successives pour la recherche des salmonelles à savoir (le pré enrichissement, l'enrichissement, l'isolement sélectif, l'identification biochimique), d'où un temps globale de quatre jours conformément au mode opératoire. Cette norme constitue une référence en cas de litige, elle peut être imposée en cas d'expertise, ou lors d'une contentieux (Guiraud J P et coll, 2004).

#### **X.1.2. Méthodes de routine:**

Elles consistent en une simplification des méthodes horizontales, avec parfois une légère différence de protocole, dont les évolutions ne sont pas toujours synchrones, pour des raisons de chronologie d'adoption des textes et d'évolution des données scientifiques et techniques, le choix est généralement volontaire pour les méthodes de routine. En France l'Association Française de Normalisation (AFNOR) V 08. 052 (décembre, 1993), est une méthode de routine qui reprend en allégeant la norme ISO, elle est largement utilisée dans les laboratoires d'hygiène des aliments (Guiraud J P et coll., 2004).

## **X.2. Méthodes rapides :**

### **X.2.1. Méthodes biochimiques :**

Les tests biochimiques ont été miniaturisés et automatisés, ce qui les rend plus rapides à mettre en œuvre et plus économiques. Les méthodes conventionnelles utilisant l'identification par macro méthode nécessitent beaucoup de temps et de travail et consomment énormément de milieux de culture. La correspondance entre les résultats obtenus par les méthodes biochimiques

rapides et ceux obtenus par les méthodes conventionnelles, se situe entre 90 à 99 %. En ce qui concerne les entérobactéries, les tests existants ne sont pas encore tous validés par l'association of official analytical chemists (AOAC) ou par l'association française de normalisation (AFNOR).

Exemple de méthodes biochimiques rapides:

#### **X.2.1.1. Système API 20 E de biomérieux :**

Ce système a été créé en 1970, il est validé par AOAC, l'identification biochimique est réalisée en moins de 24 heures. En ce qui concerne les entérobactéries la correspondance de cette méthode avec la méthode conventionnelle est de 90 à 99 % (Striegler V, 2003).

#### **X.2.1.2. Auto- micro bio system de biomérieux:**

Il utilise un lecteur optique contrôlé par un ordinateur et une carte d'identification des bactéries gram négatif. Il est capable de réaliser 30 tests pour déterminer un profil biochimique, c'est un système très spécifique, parvenant à identifier 96,7 % des sérotypes de salmonelles testés. Ce système est validé par l'AOAC pour l'identification des salmonelles.

#### **X.2.2. Méthodes physicochimiques:**

Ces méthodes permettent de détecter les modifications engendrées par la croissance ou le métabolisme des bactéries. Tous ces systèmes nécessitent une culture purifiée, et permettant ensuite l'identification:

##### **X.2.2.1. L'impédance:**

Elle est basée sur la détermination de l'impédance résultant de la modification du milieu de culture engendrée par la croissance bactérienne, le temps nécessaire à la détection de ces modifications est inversement proportionnel au nombre initial de bactéries présentes dans l'inoculum. Le taux de sensibilité est estimé de 80 à 98 % (Striegler V, 2003), exemple :

##### **X.2.2.1.1. Bactometer biomérieux Vitek:**

C'est un appareil de mesure de l'impédance piloté et automatisé par un ordinateur, le coût est très élevé, utilisé dans l'industrie agroalimentaire.

##### **X.2.2.1.2. Mathus M 1000 S:**

Développée spécialement pour la détection des salmonelles, les modifications de l'impédance sont provoquées par trois réactions (la réduction de triméthyl amine oxyde en triméthyl amine (TMA), la fermentation du ducitol, la decarboxylation de la lysine). Cette méthode est validée par l'AOAC pour la détection des salmonelles dans tous les types de produits.

##### **X.2.2.2. Fluorescence:**

Direct Epifluorescent Filter Technique (DEFT), est une méthode rapide et sensible, le résultat est obtenu en 25 à 30 minutes (Striegler V, 2003).

L'échantillon alimentaire subit un traitement à la trypsine pour augmenter sa filtrabilité, puis passé au travers d'une membrane filtrante en polycarbonate, puis de l'acridine orange est ajoutée, un nombre suffisant de champ est observé au microscope à épifluorescence.

Il existe un système de comptage automatisé (micro measurement LTD, UK, Essex).

La technique DEFT permet le comptage des salmonelles en exploitant les propriétés de liaison de l'acridine orange, un fluorochrome dont le monomère est capable de se lier à l'acide désoxyribonucléique double brin, et d'émettre ensuite une lumière verte.

Si l'acridine orange se lie à un acide désoxyribonucléique simple brin, présent lors de la division cellulaire, la lumière sera orange, la sensibilité est de  $6.10^3$  bactéries par mL.

### **X.2.3. Méthodes immunologiques:**

La spécificité de la réaction antigène- anticorps est mise à profit pour compléter et affiner l'étude des microorganismes. En effet, généralement, les études morphologiques, physiologiques et biochimiques, permettent d'identifier l'espèce d'un microorganisme, mais au sein d'une espèce des différences très fines apparaissent et la sérologie va permettre de différencier ces individus d'une même espèce.

Les principales techniques utilisées sont : L'agglutination sur lame, l'immunofluorescence, ou la technique immuno enzymatique, Enzyme Linked Immunosorption Assay (ELISA) (Striegler V, 2003).

#### **X.2.3.1. L'agglutination:**

Il y'a agglutination lorsque les antigènes forment entre eux, grâce aux anticorps, des ponts qui se proche en proche constituent un réseau, l'ensemble se traduit par l'apparition d'une agglutination visible à l'œil nu, ces méthodes sont plus rapides que les méthodes de précipitation en gel .La détermination des sérotypes de salmonelles est réalisée grâce à des réactions d'agglutination sur lame.

**Agglutination sur lame :** On dispose une goutte de sérum sur lame, puis on émulsionne les bactéries prélevées sur gélose nutritive à l'aide d'une anse de platine, si les anticorps sont spécifiques des déterminants antigéniques, on voit se former des agglutinats de plus en plus volumineux. La réaction est considérée comme positive, dans le cas contraire le mélange reste opalescent et homogène (Striegler V, 2003).

#### **X.2.3.2. Immunofluorescence:**

Les anticorps sont couplés par des techniques appropriées à des composés fluorescents, lorsque ces anticorps réagissent avec les antigènes qui leurs sont spécifiques, le complexe antigène - anticorps (Ag-AC) fluorescent est visualisé à l'aide d'un microscope à fluorescence, la méthode est directe ou indirecte :

##### **X.2.3.2.1. Immunofluorescence directe :**

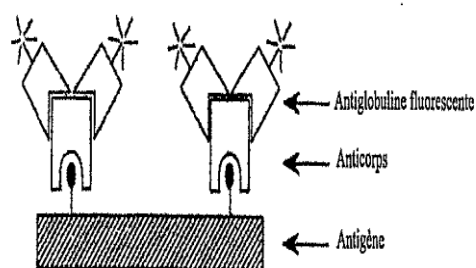
C'est l'anticorps spécifique de l'antigène recherché qui est marqué, puis déposé sur la préparation de l'échantillon à examiner, une émission de fluorescence après lavage signe la présence de l'antigène.

##### **X.2.3.2.2. Immunofluorescence indirecte:**

Cette technique comporte deux temps successifs où l'anticorps spécifique de l'antigène recherché joue le rôle d'anticorps dans un premier temps, et le rôle d'antigène dans un deuxième temps.

Ce n'est pas cet anticorps qui porte le fluorochrome mais l'anticorps que l'on dépose dans un deuxième temps.



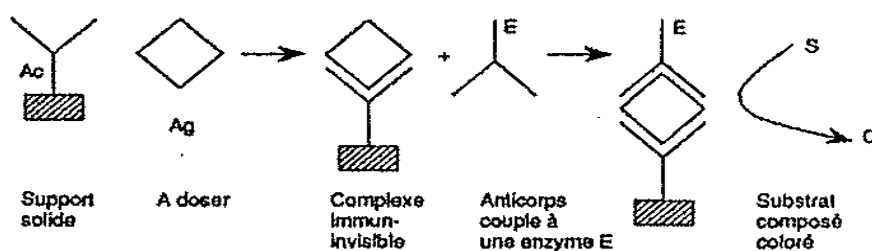


**Figure n° 3 :** Représentation schématique d'une réaction d'immunofluorescence direct (Striegler V, 2003).

Cette technique a de nombreuses applications dans le domaine de l'hygiène des aliments, et en particulier dans la recherche de salmonelles, cependant, les communautés antigéniques entre salmonelles et autres entérobactéries seraient responsables des 5 à 7 % de résultats faussement négatifs, et les incertitudes de lecture limitent son utilisation courante dans le domaine du contrôle alimentaire. Cette méthode montre que s'il n'y a qu'une salmonelle dans 25 g d'échantillon testé, une période d'enrichissement de 18 h est suffisante pour que le test soit possible, le laps de temps nécessaire pour connaître le résultat des analyses est d'une trentaine d'heures, ce qui est beaucoup plus loin des 4 à 5 jours requis pour la méthode traditionnelle.

#### **X.2.3.3. Enzyme Linked Immunosorption Assay (ELISA):**

Sous cette dénomination sont regroupées plusieurs techniques, mais seules les réactions dites en phase hétérogène (où l'on fixe l'antigène ou l'anticorps sur une phase solide, plastique, tube, etc.) ont des applications en hygiène des aliments. Parmi ce type de réactions, la technique sandwich (parce que l'Ag se trouve pris en sandwich entre deux AC), est la plus utilisée (Striegler V, 2003).



**Figure n° 4 :** Principe d'une technique ELISA type « sandwich » (Striegler V, 2003).

Cette technique a été appliquée par de nombreux laboratoires à la mise en évidence ou à la quantification des aflatoxines, des toxines botuliniques, salmonelles, des entérotoxines staphylococciques, lipopolysaccharides des bactéries gram négatif.

En ce qui concerne *Salmonella*, la sensibilité de cette méthode est de  $10^5$  bactéries / mL. Les méthodes traditionnelles demandent 4 à 5 jours, pour obtenir un résultat, alors que le **KIT VIDAS ELISA** ne demande que 48 heures y compris la période d'enrichissement, de plus dans cette méthode les résultats sont analysés à l'aide d'ordinateur, donc le risque d'erreur à la lecture est éliminé (Striegler V, 2003). Cette méthode VIDAS ELISA a été adoptée par l'AOAC.

#### **X.2.4. Méthodes génétiques:**

##### **X.2.4.1. Hybridation des sondes nucléiques:**

La méthode d'hybridation moléculaire répond mieux et de façon plus simple aux problèmes de l'identification des microorganismes, elle utilise des méthodes récentes de la biologie moléculaire. L'identification est basée sur la constitution des acides nucléiques (ADN, ARN). Elle s'adresse au génome lui-même.

Le principe repose sur la propriété d'hybridation d'un acide nucléique simple brin avec une séquence nucléique complémentaire.

Cette méthode utilise d'autre part la capacité de l'ADN à se fixer sur des supports membranaires de nylon ou de nitrocellulose.

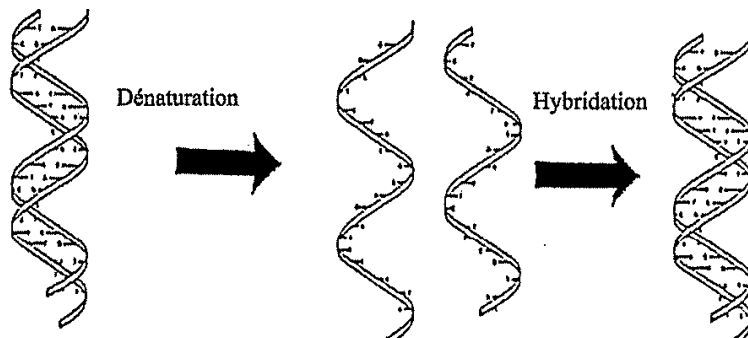


Figure n° 5 : Principe général de la dénaturation et de la renaturation de l'ADN (Striegler V, 2003)

Pour réaliser l'identification, il faut disposer de l'ADN de la souche inconnue et de l'ADN de la souche de référence, ce dernier constitue la sonde, il est marqué pour permettre la détection de l'hybride formé avec l'ADN cible à identifier.

Divers types de marquage sont possibles, radioactif ou non, la lecture est réalisée à l'aide d'une autoradiographie ou dans le cas des sondes froides par une réaction enzymatique.

Les principales étapes de la manipulation sont les suivantes:

Préparation de la sonde : Extraction et marquage.

Préparation de l'ADN cible.

Hybridation: Les méthodes les plus utilisées sont southern- blot, la puce à ADN, hybridation de type sandwich.

Révélation de la membrane: Lavage de la membrane pour élimination de la sonde en excès d'hybrides non spécifiques, et mise en évidence de l'hybride ADN sonde ADN inconnues.

##### **X.2.4.2. Méthode de réaction de polymérisation en chaîne (PCR):**

La polymérase chaîne réaction (PCR) ou amplification moléculaire se définit comme l'amplification sélective d'une séquence d'ADN double brin, cette technique a été mise au point en 1985.

###### **X.2.4.2.1. Principe :**

###### **Les outils de la réaction :**

Pour le fonctionnement de cette technique, on a besoin de quelques outils, à savoir :

L'ADN cible : C'est la matrice que l'on veut amplifier.

L'ADN polymérase: Elle prend la direction de 5' vers 3', par extension d'amorces, en synthétisant une séquence complémentaire de l'ADN cible, on utilise une polymérase thermostable.

Amorces oligonucléotidiques: Ce sont des sondes spécifiques et complémentaires de la région cible de l'ADN à amplifier.

Désoxynucléotides triphosphates (dNTP) : Elles constituent la matière première de l'enzyme de polymérisation.

Mg<sup>2+</sup> : Ion présent dans le tampon de la solution, indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme.

**X.2.4.2.2. Etapes de la réaction:** Elle comprend trois principales étapes :

- **Dénaturation** : La dénaturation de l'ADN s'effectue par la chaleur, elle se réalise par un chauffage à 92- 95° C, une température supérieure à celle de fusion de l'ADN matrice, elle dure 1 à 2 minutes.

- **Hybridation** : Elle permet aux amorces oligonucléotidiques de s'hybrider à une température comprise entre 37° C et 55° C pendant 30 à 60 secondes.

- **Extraction et polymérisation** :

L'extension des brins d'ADN par l'ADN polymérase s'effectue pendant un temps proportionnel à la longueur de l'ADN à amplifier (environ 30 secondes pour 400 à 500 bases).

Les brins synthétisés doivent être séparés à leur tour par dénaturation pour initier le cycle suivant.

- **Détection** : C'est la phase finale de la technique, basée sur la mesure de l'amplification de l'ADN cible.

De nombreuses techniques sont disponibles pour détecter l'amplification réalisée en PCR.

**Electrophorèse:** Elle permet de faire migrer de façon différentielle des molécules de poids moléculaire différents et de visualiser leur position par fluorescence, grâce au bromure d'éthidium, plus la molécule a un poids moléculaire élevé, moins elle migre vite..

**Hybridation** : On utilise une sonde spécifique de l'ADN amplifié, cette sonde peut être radioactive ou colorimétrique.

Plusieurs techniques de marquage sont utilisées et elles présentent toutes une grande spécificité.

## **XI. Moyens de lutte :**

### **XI.1.Traitement :**

Le traitement des animaux malades est indispensable, pour plusieurs raisons. Leur élimination vers un abattoir est une faute, vu les risques pour la santé publique. En l'absence de traitement, la mortalité s'élève à 80 % des animaux atteints, alors que la mise en place de mesures thérapeutiques appropriées réduit la mortalité à moins de 10 %. Un animal en phase clinique représente un risque de contamination très important de l'environnement par une quantité considérable de salmonelles rejetées par les fèces ou par le placenta.

La base de traitement repose sur trois principaux axes; L'antibiothérapie, la lutte contre le choc endotoxinique et la réhydratation (Goureau G M, Bendali F., 2008).

### **XI.1.1. Antibiothérapie:**

Elle est indispensable en présence d'une salmonellose clinique, le choix des antibiotiques pose quelques difficultés liées à la physiopathologie des salmonelles, aux phénomènes d'antibiorésistance et à la législation appliquée à l'utilisation des antibiotiques.

#### **XI.1.1.1. Problèmes liés à physiopathologie des salmonelles:**

Dans la majorité des cas, l'infection se fait par voie orale, et la bactérie se multiplie au niveau de la lumière intestinale, la colonisation intéresse tout l'intestin, l'antibiotique utilisé devra être actif sur l'ensemble des portions de l'intestin, cet objectif est facile à atteindre chez les monogastriques, avec des antibiotiques non résorbables, administrés par voie orale.

Il est nettement aléatoire chez les polygastriques.

Selon les souches et la capacité de défense immunitaire de l'animal contaminé, les bactéries à partir de l'intestin, vont disséminer dans l'organisme, le plus souvent par l'intermédiaire des macrophages, et en position intracellulaire, avant de se retrouver dans les nœuds lymphatiques puis dans d'autres organes.

L'antibiotique utilisé devra donc posséder des propriétés permettant une bonne diffusion tissulaire, associé une activité intracellulaire, afin de limiter les risques de septicémie et atteindre les salmonelles, où elles sont réfugiées (nœuds lymphatiques, foie) (Poujet P, 2006).

#### **XI.1.1.2. Problèmes liés à l'antibiorésistance:**

Comme beaucoup d'entérobactéries, les salmonelles ont la priorité de présenter des phénomènes de multi résistances aux antibiotiques, résultant le plus souvent de l'utilisation anarchique et exagéré des antibiotiques par les éleveurs.

Elle est variable en fonction des souches et des catégories d'animaux exposés. Cette multirésistance peut dans certains élevages limiter considérablement le choix des antibiotiques utilisables.

#### **XI.1.1.3. Problèmes posés par la législation:**

En médecine vétérinaire, les antibiotiques mis récemment sur le marché disposent parfois d'autorisation de mise sur le marché (AMM) très restrictives, et les doses sont déterminées en fonction des concentrations minimales inhibitrices (CMI) vis-à-vis des salmonelles, elles peuvent être proches ou supérieures à celles de la bactérie visée par l'AMM.

Quelle dose devra-t-on utiliser, pour une CMI plusieurs fois supérieure vis-à-vis des salmonelles, et quelles sont les répercussions sur la toxicité et les délais d'attente de certains antibiotiques?

Donc, la difficulté consiste à choisir un traitement efficace en accord avec la législation existante, si la survie de l'animal est menacée, le vétérinaire peut prescrire des traitements hors AMM (enrofloxacin, apramycine, gentamicine).

Les délais d'attente sont supérieurs à 07 jours pour le lait, et à 28 jours pour la viande.

Le sérotypage et l'antibiotypage est indispensable pour choisir l'antibiotique, les informations recueillies permettront d'adapter la prescription pour les autres bovins de l'élevage éventuellement atteints, la durée de traitement ne doit pas être inférieure à 5 jours (Poujet P, 2006). Sur un adulte dont l'état général n'est pas perturbé, l'amélioration est spectaculaire, et la guérison clinique est rapide : Chute de la température en 24 heures, amélioration des signes digestifs en 48 heures (Poujet P, 2006).

Par contre, le traitement antibiotique chez les veaux et vieilles vaches est souvent décevant du fait de la moindre résistance de ces animaux aux toxico-infections.

**Tableau n° 4 :** Législation de l'usage des principaux antibiotiques contre les salmonelles chez les bovins (Desjouis, 1997).

Principe actif	Posologie	Voie d'administration	Délais d'attente	
			Viandes	Lait
Aminosides : Gentamicine	4 mL/Kg/8h ou 4000UI/Kg/12h	IM et SC	60 jours	Non Autorisé
Apramycine	20 mg/Kg/jour	IM et Orale	10 semaines	Non Autorisé
Polypeptides : Colistine	25000 UI/Kg/12h 50000 UI/Kg/12h	SC ou IM Orale	5 jours 7 jours	3 jours Non Autorisé
Céphalosporine Céfalexine Ceftiofur Cefquinome	75 mg/Kg/12h 1 mg/Kg/24h 2 mg/Kg/24h	IM IM IM	21 jours 1 jour 5 jours	Non Autorisé 0 jour 12 h
Fluoroquinolones Fluméquine Fluméquine per os Enrofloxacin Danofloxacin	12 mg/Kg/12h 12 mg/Kg/12h 5 mg/Kg/24h 5 mg/Kg/24h 1,25 mg/Kg/24h	IM Orale Orale SC IM	2 jours 2 jours 11 jours 7 jours 5 jours	2 jours 2 jours Non Autorisé 3,5 jours 4 jours
TMP Sulfamide	15 à 30mg/Kg/24h	IM / IV	12 jours	6 jours

IM : Intramusculaire, SC : Sous cutanée, IV : Intraveineuse

#### **XI.1.2. Traitements complémentaires:**

L'antibiothérapie devra être complétée, en fonction de l'état de l'animal, par l'administration de médicaments luttant contre les signes de l'inflammation, le choc endotoxique, et la déshydratation (Schelcher Fet coll., 2003). La prescription d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), ayant des priorités antitoxiques, est intéressante, et doit toujours être préférée à l'utilisation des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS). On aura recours à ces derniers seulement dans les situations extrêmes, il faudra alors utiliser des molécules à demi-vie courte et à forte dose. Dans les formes graves de salmonellose digestive, la diarrhée et le choc endotoxique provoquent une hypo volémie, une acidose métabolique, et des conséquences sur la fonction

rénale sont importantes. La mise en place d'une fluodothérapie peut s'avérer indispensable pour rétablir le volume circulant et lutter contre l'acidose métabolique.

L'utilisation de ringer lactate, 10 à 20 litres par jour, pour une vache adulte, donne de bons résultats, l'adjonction de sérum salé hypertonique à raison de 2 à 3 mL / Kg peut être utile en phase d'état, le ringer lactate pourra être remplacé par du sérum salé isotonique dans les formes les moins sévères, les anti diarrhéiques sont inutiles (Schelcher F et coll., 2003).

**XI.2. Prophylaxie sanitaire et médicale:** Ce type de prophylaxie est basé sur deux principes;

**XI.2.1. Méthaphylaxie:** Cette pratique est réservée aux troupeaux où l'évolution est dramatique, donc le vétérinaire cherche à limiter la catastrophe, la colistine qui est un antibiotique non résorbable par voie orale à raison de 150000 UI / Kg pendant 05 jours, a été préconisée (Desjouis, 1997). La mise en place d'un traitement du troupeau devra se faire en avertissant la laiterie (problème de résidus).

**XI.2.2. Vaccination:**

La vaccination est un acte de prévention et en matière de salmonellose, l'immunité n'est acquise que quelques jours après l'injection du rappel, il est donc inutile d'escompter un effet bénéfique sur l'évolution clinique avant cette durée.

La durée de persistance de salmonelles dans le milieu extérieur étant de quelques mois, la vaccination des animaux non encore malades s'avère utile pour limiter l'extension de l'infection, la vaccination peut être dirigée contre les sérotypes Typhimurium et Dublin (un vaccin commercial existe avec ces deux souches), mais lorsque un autre sérotype est à l'origine du cas clinique, un autovaccin peut être produit.

Avant de vacciner l'animal, il est important de vérifier la température rectale (39° C), avant de procéder à la vaccination, pour éliminer les animaux qui sont en phase d'incubation.

Si l'on utilise un autovaccin, il faut d'abord vacciner 02 à 03 animaux avant de vacciner l'ensemble, pour contrôler qu'aucun phénomène d'hypersensibilité ne se produise (Goureau G M, Bendali F., 2008).

**XI.3. Mesures générales d'hygiène:**

Pour assurer un approvisionnement constant de lait de qualité sanitaire satisfaisante aux transformateurs et aux consommateurs, l'Algérie a adopté ces dernières années une approche de type Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP), qui est une approche d'identification et d'évaluation des dangers (biologiques, physiques et chimiques) pour la salubrité des aliments, permettant l'élaboration des mesures destinées à prévenir, maîtriser, et les réduire à des niveaux acceptables (Lebres, 2006). La ferme est un système ouvert, par opposition à un système fermé, rencontré dans les entreprises, rendant l'opération de maîtrise des dangers très difficile à atteindre, donc il ne peut pas garantir à 100% la salubrité du lait. Il veille à l'amélioration de la gestion, de la salubrité du lait.

Pour que ce système soit bénéfique, il doit être précédé par la mise en place d'un autre programme, assurant l'empêchement de l'apparition des problèmes liés à la salubrité du lait, en constituant la base du système HACCP (Hamilton A et coll., 2010).

Ce programme est formé par les guides de bonnes pratiques d'hygiène, constituant les principes généraux de maîtrise d'hygiène, on peut citer entre autres:

**BP 1:** Installations laitières, pesticides et gestion des éléments nutritifs.

**BP 2:** Alimentation.

**BP 3:** Santé animale et biosécurité.

**BP 4:** Médicaments et produits chimiques utilisés pour le bétail.

**BP 5:** Gestion de la traite.

**BP 6:** Nettoyage des lieux et de l'équipement.

**BP 7:** Utilisation de l'eau pour le lavage des surfaces en contact avec le lait.

**BP 8:** Formation du personnel et communications.

Les mesures d'hygiène visent à protéger l'environnement de toute contamination, limiter la diffusion de la maladie entre les animaux, et à prévenir une contamination humaine.

#### **XI.3.1. Mesures visant à maîtriser le risque alimentaire (environnement):**

Le risque le plus élevé est lié à l'alimentation et à l'abreuvement d'animaux, l'eau provenant d'un réseau public ne contient pas de salmonelles à l'arrivée, mais peut être contaminée ultérieurement par des déjections des animaux excréteurs chroniques. Au contraire l'eau d'abreuvement hors réseau (mare, ruisseau, puits. etc.), peut être facilement contaminée directement par des animaux ou par l'homme, et par des effluents d'élevage épandus sans précaution (Hamilton A et coll., 2010). Il est donc nécessaire de contrôler au moins annuellement par des analyses de laboratoire particulièrement en fin d'été.

L'alimentation solide peut constituer également une source de contamination : En premier lieu, le pâturage lorsqu'il reçoit des épandages d'effluents d'élevage, ou de boues de station d'épuration, donc il faut maîtriser la déjection animale (Hamilton A et coll., 2010). La capacité de stockage de lisiers contaminés doit être suffisante et étanche afin d'éviter de polluer l'environnement ou bien l'animal. Pour l'épandage de lisiers, il convient de respecter les surfaces et les distances (par rapport à des cours d'eau, des habitations, etc.). L'épandage sera réalisé de préférence sur des parcelles de labour, il est recommandé d'attendre un mois en été, ou six mois en hiver avant le pâturage.

L'adjonction de cyanamide calcique (0,3 % poids / volume), ou d'urée (0,6 poids / volume), permet de faire chuter très rapidement la concentration bactérienne de lisiers infectés (Marly J et coll., 1995).

Vidanger et nettoyer les abreuvoirs pour garantir une eau propre.

Nettoyer l'assiette : Table d'affouragement, seau d'abreuvement.

Proscrire l'accès aux mares, et prévenir une éventuelle infiltration de puits de surfaces.

#### **XI.3.2. Mesures visant à limiter la diffusion de la maladie:**

L'excrétion de salmonelle étant maximale sur les animaux malades, il convient de détecter, d'isoler et de traiter tout bovin malade, et nettoyer et désinfecter le lieu d'élevage.

Garder les nouveaux animaux en quarantaine à plusieurs dizaines de mètre, pendant une semaine.

Détection des malades : Les animaux présentant une anorexie, diminution de la production laitière et les modifications de la matière fécale, l'élévation de la température, doivent être examinés avec beaucoup d'attention :

Isolement des animaux présentant des signes cliniques.

Nettoyage et désinfection, Gledel (1985) recommande pour la désinfection des locaux :

- Une solution à 3 % d'hydroxyde de sodium (70 - 80° C).
- Une solution à 2 % de formol aldéhyde (25 – 30° C).
- Une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % de chlore (15 – 20° C).
- Pour la contamination interspécifique, la salmonellose bovine pourrait provenir d'une contamination par d'autres espèces, volailles et brebis, en ce qui concerne les espèces domestiques, rats et les oiseaux pour les animaux sauvages, des précautions essentielles doivent être adoptées :
  - Séparer les différentes espèces, il est indispensable en effet de maintenir quelques centaines de mètres entre les bâtiments de chaque espèce.
  - S'abstenir de passer sans précaution d'un type d'élevage à un autre.
  - Eviter les fuites de déjection d'un atelier à un autre.
  - Dératiser régulièrement et protéger les aliments des souillures des oiseaux sauvages ((Camart-Périé A, 2006).

### **I.3.3 Mesures visant à prévenir la contamination humaine:**

Privilégier une méthode de traite hygiénique, afin d'éviter la contamination du lait par les fèces.

Porter des gants jetables.

Laver le pis et les trayons avec une solution désinfectante (alcool 70 %), essuyer complètement les trayons avec des serviettes individuelles.

Désinfecter les trayons à l'aide d'un bain de trayons, immédiatement après le retrait de la trayeuse, sans oublier de jeter la solution restante.

Après la traite, désinfecter adéquatement le matériel.

Respecter l'ordre de traite; Les vaches saines en premier ; les vaches à l'état de santé mammaire suspect en deuxième, les vache atteintes de mammites causées par un agent pathogène, et jeter le lait des animaux malades, le lait contaminé ne doit pas être utilisé pour nourrir les veaux.

Ne jamais consommer de lait cru.

Interdire l'accès à l'étable aux jeunes enfants, personnes âgées (Côté G, Vincent C., 2011).



## **Chapitre 03 : RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES :**

### **I. Supports de l'antibiorésistance:**

Les bactéries peuvent accroître leur résistance aux antibiotiques par une multitude de mécanismes;

#### **I.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique:**

Elle consiste à modifier la structure de l'antibiotique, de façon à lui perdre sa capacité à se lier à sa cible cellulaire.

#### **I.2. Défaut d'activation de l'antibiotique:**

Certains antibiotiques ne sont actifs qu'après avoir été modifiés par des enzymes bactériennes.

#### **I.3. Modification de la cible:**

##### **I.3.1. Enzymatique:**

Un mécanisme fréquemment utilisé par les bactéries pour se soustraire à l'action des antibiotiques, par la production des enzymes, qui en modifiant les cibles cellulaires, leur font perdre leur affinité pour les agents anti infectieux.

##### **I.3.2. Mutationnelle:**

La résistance aux antibiotiques peut résulter de mutations spontanées qui, en traduisant des substitutions d'acides aminés ou de bases nucléiques dans les cibles moléculaires, leur font perdre leur affinité pour les agents inhibiteurs.

#### **I.4. Séquestration de l'antibiotique, protection de la cible:**

Lorsqu'il n'existe pas de solution efficace pour inactiver les antibiotiques, ou diminuer l'affinité de la cible, les bactéries peuvent être contraintes de séquestrer l'agent inhibiteur, pour en neutraliser les effets.

#### **I.5. Baisse de la perméabilité membranaire et efflux actif:**

A l'exception des Poly myxines et des Aminosides, les antibiotiques actifs sur les bactéries gram négatif traversent la membrane externe par diffusion passive à travers les porines (canaux protéiques), la diminution quantitative de ces canaux peut freiner la pénétration intracellulaire des agents antibactériens, et conférer de ce fait un bas niveau de sensibilité à plusieurs familles d'antibiotiques (Livermore D M, 2003).

Grace à cette diversité de mécanismes de résistance aux antibiotiques, on peut dire que la résistance est un phénomène inéluctable (Chabbert Y A, 2004).

La résistance bactérienne représente un superbe exemple d'évolution biologique, elle est liée à une grande variété de mécanismes et de gènes de résistance, ainsi qu'à une grande diversité de mécanismes de régulation de l'expression et de transfert de ces gènes.

L'origine des gènes de résistance reste hypothétique, ils pourraient dériver de gènes résident dits de ménage (housekeeping genes).

Il doit être noté que certains gènes de résistance étaient présents bien avant la mise sur le marché des antibiotiques.

## **II. Résistance bactérienne :**

### **II.1. Résistance naturelle :**

Si ce caractère est présent chez toutes souches d'une même espèce ou d'un même genre, elle délimite de ce fait le spectre d'activité de l'antibiotique. Elle peut être liée aux caractéristiques physiologiques de l'espèce, ou à la présence constitutive d'un gène de structure, en fait, les mêmes mécanismes sont responsables de la résistance acquise ou naturelle en dehors de la substitution de cibles qui ne peut être qu'acquise. La résistance est due le plus souvent à l'inaccessibilité de la cible, ou à une faible affinité, ou plus rarement à l'absence de la cible.

### **II.2. Modalités d'acquisition de la résistance:**

Peut être effectuées selon deux mécanismes :

#### **II.2.1. Mutation:**

Affectant un gène de structure ou un gène de régulation. Tout changement non létal, spontané ou provoqué par un agent mutagène, dans la séquence de l'ADN d'une bactérie est défini comme une mutation. Le caractère acquis étant transmissible uniquement à la descendance (transmission verticale). Cette stabilité n'exclut pas la possibilité de réversibilité. La probabilité d'obtenir 02 mutations est extrêmement rare (d'où l'intérêt de l'utilisation d'association d'antibiotique). Cependant les bactéries peuvent devenir hypermutatrices par inactivation de systèmes qui normalement corrigent les erreurs de réplication, ou par induction du système SOS (lui-même pouvant induit par des antibiotiques comme les quinolones).

Les mutations entraînent une diminution de la perméabilité membranaire, augmentant les efflux (Livermore D M, 2003).

Les mutations peuvent survenir dans les gènes de structure de cibles des antibiotiques, des gènes de régulation, ou encore dans des régions modulant l'expression de gène de résistance. Il existe par ailleurs des mutations qui altèrent la structure du site actif d'enzymes, elles deviennent insensibles aux inhibiteurs de ces enzymes.

#### **II.2.2. Acquisition de matériel génétique exogène :**

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène liée à des éléments mobiles (transfert horizontale), représente la majorité des cas observés en clinique. Le ou les gènes nouvellement acquis codent pour des protéines capables soit : D'inactiver l'antibiotique.

Diminuer la concentration intracellulaire de l'antibiotique.

Modifier la cible de l'antibiotique.

Substituer une cible insensible à celle normalement sensible présente dans la bactérie.

##### **II.2.2.1 Supports mobiles de gènes de résistance:**

Les éléments mobiles, plasmides et transposons, ne sont généralement pas essentiels pour la survie de la bactérie, toutes fois ils peuvent porter une grande variété de déterminants génétiques qui permettent à la bactérie hôte de mieux s'adapter à un environnement donné, ou qui lui donne un avantage sélectif par rapport à d'autres bactéries pour occuper une niche écologique.

### **II.2.2.2. Mécanismes de transfert des gènes de résistance:**

L'acquisition de matériel génétique par une bactérie peut résulter de trois processus ; la transformation, conjugaison, la transduction.

#### **II.2.2.2.1. Transformation:**

Elle implique le transport intracellulaire et la recombinaison de l'ADN libre, la transformation naturelle est le premier mécanisme d'échange d'ADN, à avoir été décrit dans les années 1925, correspond à un transfert d'ADN nu ou libre provenant d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice, dite en état de compétence.

Une vingtaine de gènes de composants structuraux et de régulation sont impliqués dans le processus de transfert qui se déroule en six étapes:

Libération d'ADN nu dans l'environnement.

Fixation de l'ADN double brin à des protéines de la surface de la membrane bactérienne.

Transport de l'ADN au travers :

- Du peptidoglycane → Bactérie gram positif.
- La membrane externe de la bactérie et peptidoglycane Bactérie → gram négatif (exemple ; Salmonelle).

Dégradation d'un des deux brins de l'ADN.

Translocation de l'ADN simple brin dans le cytoplasme.

Intégration de l'ADN dans le chromosome par un mécanisme de déplacement de simple brin.

La transformation ne permet le transfert que de petits fragments d'ADN, et elle est limitée à quelques espèces bactériennes.

#### **II.2.2.2.2. Conjugaison:**

Est un mécanisme exigeant car dépendant d'un contact étroit entre les cellules, et nécessitant 02 cellules actives, le plus largement décrit dans le transfert des gènes de résistance aux antibiotiques.

Découvert en 1947, l'ADN peut être transféré d'une bactérie donatrice (mâle) à une bactérie réceptrice (femelle), nécessite un contact étroit entre les deux bactéries, et fait intervenir des complexes multi protéiques spécialisés, codés par des gènes (tra), localisé dans des éléments transférables (plasmides, transposons conjugables), et aussi dans le chromosome, il repose sur la synthèse de pilis sexuel chez les bactéries gram négatif (Podglajen I, 2003).

#### **II.2.2.2.3. Transduction:**

Est le transfert d'ADN bactérien par l'intermédiaire de bactériophages virulents ou tempérés.

Les bactériophages tempérés s'intègrent dans le chromosome bactérien dans des sites spécifiques ou non, sont répliqués en même temps que celui-ci, grâce à la machinerie de la bactérie = prophages.

Lorsqu'un prophage se libère du chromosome bactérien, il devient virulent, se multiplie, provoque la lyse de la bactérie, et peut infecter des nouvelles bactéries, l'excision et intégration de phage tempéré font intervenir transposase et intégrase.

La transduction permet le transfert de gènes entre bactéries appartenant au même genre ou phylo génétiquement proche (Podglajen I, 2003).

Ce système est impliqué dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques, Schmieger et Schicklmaier (1999) ont montré que toutes les souches de *S. Typhimurium* DT104 qu'ils avaient

testées portaient dans leur génome le prophage PDT 104 capable de transmettre de multiples gènes de résistance organisés en intégrons.

### **III. Mesure de l'antibiogramme et l'antibiorésistance:**

La résistance aux antibiotiques peut être définie selon différents points de vue.

- Pour le clinicien, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si le traitement n'est pas efficace.
- Pour le pharmacologue, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si les concentrations atteintes au site d'action, sont inférieures à la concentration minimale inhibitrice.
- Pour le microbiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle dispose d'un mécanisme de résistance augmentant la valeur de la concentration minimale inhibitrice.
- Pour l'épidémiologiste, une souche bactérienne est résistante à un antibiotique si elle a une concentration minimale inhibitrice significativement différente de celles de la population normale.

Le classement des souches bactériennes en sensibles, intermédiaires et résistantes vis-à-vis des antibiotiques, est basé sur le choix des valeurs critiques qui sont des concentrations minimales inhibitrices (CMI), ou des diamètres de zone d'inhibition. Ces valeurs critiques sont proposées par des comités internationaux tels le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CACFM), ou CLSI (clinical and laboratory standards institute aux Etats unis).

Critères bactériologiques : il existe une distribution bimodale des CMI des souches appartenant à une même espèce permettant d'individualiser facilement deux populations:

- L'une de CMI basse : souche sensible.
- L'une de CMI beaucoup plus élevée: souche résistante.

Mais la distribution apparaît le plus souvent multimodale en raison de l'existence de plusieurs mécanismes biochimiques de résistance, se traduisant par des CMI variables, ce qui va ajouter une troisième catégorie appelée intermédiaire.

La relation entre CMI – diamètre de zone d'inhibition:

La détermination des diamètres critiques délimite la catégorie sensible.

L'intermédiaire et résistante nécessite pour chaque Antibiotique l'établissement d'une corrélation entre les diamètres et les CMI correspondantes.

CMI: la méthode de dilution en gélose.

Diamètre : la méthode de diffusion par la méthode des disques, dont la charge aura été préalablement définie.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

## **INTRODUCTION :**

En Algérie, comme dans le monde, la salmonellose est la cause la plus fréquente des toxi-infections alimentaires, elle est souvent associée à la consommation de volailles, d'ovo produits, ou d'autres produits carnés contaminés, des cas également liés à la consommation du lait et des produits laitiers provenant d'une pasteurisation défectueuse, ou à base de lait cru, ont été enregistrés, et qui ne sont pas négligeables (Olesen et coll., 2005).

Dans la Wilaya de Constantine à l'instar des autres régions du pays, une grande quantité de lait cru est distribuée dans les points de vente afin de l'utiliser directement, sans pasteurisation, mettant en danger la santé des consommateurs.

D'après notre enquête effectuée au niveau du laboratoire vétérinaire régional El-khroub, la direction des services vétérinaires, l'institut des sciences vétérinaires d'El-Khroub, la prévalence de contamination des élevages bovins laitiers, la fréquence de contamination du lait de troupeau, les facteurs de risque de contamination des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine, et du lait de troupeau dès la production par les salmonelles, la distribution des sérotypes et la sensibilité aux antibiotiques, sont encore mal connus et très peu de données expérimentalement vérifiables sont publiés à notre connaissance.

D'après la littérature, ces facteurs dépendent vraisemblablement de la prévalence de la salmonellose bovine, de la présence d'animaux excréteurs dans les troupeaux, et plus généralement des conditions d'hygiène dans les élevages (Rodriguez et coll., 2006).

Afin d'apporter des réponses à ces dernières problématiques, nous rappelons que nous nous sommes fixés les objectifs suivants:

- 1- D'avoir une idée sur la typologie des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine.
- 2- Connaitre la prévalence de contamination des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine par les salmonelles.
- 3- Evaluer la fréquence de contamination du lait d'élevage dans la wilaya de Constantine par les salmonelles.
- 4- Déterminer les facteurs de risque et la probabilité de contamination des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine, ainsi que du lait d'élevage.
- 5- La distribution des sérotypes isolés dans les six matrices étudiées.
- 6- Antibiotype pour toutes les souches isolées.

## **I. Matériels et méthodes :**

### **I.1. Matériels:**

#### **I.1.1. Matériels d'enquête:**

Afin d'enregistrer les réponses des différentes questions posées aux éleveurs, et les observations constatées lors de chaque visite, une fiche de prélèvement a été réalisée montrant toutes les constatations nécessaires pour notre travail, voir **l'annexe 2**.

#### **I.1.2. Matériel animal:**

Les animaux visés étaient ceux d'élevages exclusivement laitiers de la wilaya de Constantine, ils étaient de race locale, pie noire, pie rouge, Holstein.

Pour répondre aux différents objectifs fixés dans cette étude, nous avons visé six différentes matrices auprès des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine.

Les matières fécales de cinq vaches, apparues saines, et elles sont choisies de manière aléatoire.

Le lait de troupeau, conservé dans des tanks.

Le lisier, l'eau d'abreuvement et l'aliment (ensilage, maïs, etc.).

Enfin, nous avons utilisé des chiffonnettes stériles pour apprécier la qualité bactériologique des surfaces en contact avec le lait, l'aliment et l'eau (machine à traire, tanks, mangeoires et abreuvoirs).

#### **I.1.3. Matériels de prélèvement:**

Nous avons utilisé pour chaque élevage visé par cette étude, 3 flacons stériles de 250 ml pour le lait, l'eau et le lisier. Et 7 sachets de prélèvement stériles 300 mL, 5 pour les matières fécales et 2 pour le l'aliment et chiffonnettes.

Les chiffonnettes utilisées pour le prélèvement sont des lingettes humides stériles conditionnées dans des emballages étanches. Une louche utilisée pour le prélèvement de lait.

Des seringues stériles de 5 mL, elles sont réservées aux prélèvements de lisiers et de l'eau.

Des cuillères stériles réservées aux prélèvements des matières fécales.

#### **I.1.4. Matériel d'analyses:**

Dans ce travail plusieurs types d'analyses ont été effectués, à savoir:

##### **I.1.4.1. Analyses bactériologiques:**

Pour lesquelles nous avons utilisé plusieurs types de matériels et des milieux de culture.

##### **Matériels:**

Le matériel de manipulation est constitué de matériel usuel, régulièrement utilisé pour les manipulations en microbiologie des aliments.

**Milieux de culture:** Pour que les résultats d'analyse soient de qualité, les milieux de cultures utilisés sont de nature déshydratée, et leur préparation a été effectuée selon la fiche de préparation relative pour chaque produit (**voir annexe 3**).

Les milieux utilisés sont :

Pour le pré enrichissement : Eau peptonée tamponnée (EPT).

Pour l'enrichissement : Muller-Kauffman tétrathionate novobiocine (MKtn) et Rappaport-Vassiliadis Soja (RVS).

Pour l'isolement sélectif: Hektoen et Xylose-Lysine-Désoxycholate (XLD).

Pour la conservation et la purification: La gélose nutritive (GN).

Pour l'identification biochimique: La gélose Tri Sucre Iron (TSI).

Pour les tests de sensibilité aux antibiotiques : Muller Hinton.

#### **I.1.4.2. Tests de sérotypage:**

##### **Matériels:**

Nous avons besoin de, Lamelles, des pipettes pasteur ou des bâtonnets.

**Produits :** Sérums anti O, anti H, anti Vi et l'eau distillée.

#### **I.1.4.3. Tests de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogrammes) :**

##### **Matériels :**

Les boîtes de pétri, pipettes pasteur, les tubes à essai, les écouvillons et un vortex.

Milieux : Muller Hinton.

La composition et la préparation des différents milieux utilisés sont citées dans **l'annexe 3**.

#### **I.2. Méthodes :**

**I.2.1. Enquête :** Une enquête a été effectuée pour chaque élevage visité, basée sur la constatation du lieu et l'environnement de l'élevage, et des questions posées aux propriétaires, afin de connaître la typologie de l'établissement (l'hygiène de l'élevage, l'infrastructure, les équipements, l'existence d'un système de réfrigération, de groupe électrogène, le nombre de vaches laitières, l'existence des vaches malades dans les semaines qui précèdent notre prélèvement, l'existence des autres ateliers comme la volaille (basse-cour), les brebis, le type de stabulation, existence de machine à traire, les désinfectants utilisés, sans oublier la température du jour. Les réponses collectées sont ensuite enregistrées dans des fiches de prélèvement citées dans **l'annexe 2**.

#### **I. 2.2. Echantillonnage:**

La wilaya de Constantine est située à l'est du pays, le nombre d'élevages estimé un peu plus de 200 élevages de bovins laitiers répartis sur 12 communes (Anonyme, 2012c). Ce travail a touché 80 (40 %) élevages bovins laitiers, dont un élevage était étatique ayant voulu participer à ce travail, nous avons essayé de couvrir toutes les communes avec un même pourcentage, mais en raison du refus de certains éleveurs de participer à ce programme, le pourcentage de couverture n'était pas équitable entre les différentes communes. Les différents prélèvements ont été effectués selon les règles des bonnes pratiques d'échantillonnage et de transport du codex alimentarius (CAC/ GL 50- 2004), et également selon la norme ISO 707, 2008 relative au guide d'échantillonnage du lait et des produits laitiers. Chaque élevage concerné, fait l'objet d'un échantillonnage de six matrices différentes, les analyses sont effectuées le jour même de l'échantillonnage.

**I.2.3. Prélèvements:** En raison des problèmes de disponibilité des produits et de l'amélioration des conditions de travail et des moyens mis à notre disposition, les prélèvements ont été réalisés en deux périodes bien distinctes, allant du mois de janvier 2013 jusqu'au mois d'Août 2013. La première période s'était étendue du mois de janvier jusqu'au mois de mai (5 mois), auquel les moyens mis à notre disposition étaient très limités.

La deuxième période avait commencé à partir du mois de juin jusqu'au mois d'août de la même année (3 mois), cette fois ci, il y'a une grande amélioration des conditions et des moyens de



travail. Durant la première période le travail a été effectué au niveau du laboratoire de bactériologie alimentaire du service de prévention de la wilaya de Constantine. Pour la deuxième période les analyses se sont effectuées au niveau du laboratoire de recherches de gestion de la santé et productions animales de l'institut des sciences vétérinaires d'El khroub. 260 prélèvements ont été effectués durant le premier épisode allant du mois de janvier jusqu'au mois de mai, le nombre de prélèvements par mois est détaillé dans le tableau 4. Chaque échantillon était accompagné par une fiche de prélèvement contenant les renseignements suivants (la date et l'heure, la température de prélèvement, le nom, le type et le lieu de l'établissement, le nombre et la race des vaches laitières, existence d'un système de refroidissement et d'un groupe électrogène, l'hygiène de l'établissement).

540 prélèvements ont été effectués durant la seconde période, allant du mois de juin jusqu'au mois d'août de la même année, chaque échantillon était accompagné de sa fiche de suivi. Dans chaque échantillon, nous trouvions dix prélèvements ; un prélèvement pour le lait (100 mL), un prélèvement pour l'aliment (100 g), un prélèvement pour l'eau (100 mL), un prélèvement pour le lisier (100 mL), un prélèvement pour les surfaces (une chiffonnette dans un sachet contenant au préalable 225 mL d'eau peptonée tamponnée), et cinq prélèvements pour la matière fécale ( $5 \times 100$  g).

**I.2.3.1. Lait:** Les échantillons de lait de troupeau ont été prélevés à partir des tanks à l'aide d'une louche, conditionnés dans des flacons stériles de 250 mL. En total nous avons collecté 80 prélèvements.

Pour que l'échantillon soit représentatif nous avons collecté près de 100 mL de lait de différents points des tanks (milieu et la périphérie).

**I.2.3.2. Eau:** A l'aide d'une seringue une quantité équivalente à 100 mL, a été prélevée à partir des abreuvoirs, conditionnée dans un flacon stérile de 250 mL. Le nombre total de prélèvements était 80.

**I.2.3.3. Aliment:** Une quantité équivalente à 100 g est prélevée à partir de différents points des silos et des mangeoires, conditionnée dans un sachet de prélèvement stérile. Le nombre total de prélèvements était 80.

#### **I.2.3.4. Chiffonnettes:**

Le prélèvement aux chiffonnettes permet de vérifier la contamination des surfaces de matériels (les mangeoires, les abreuvoirs et les machines à traire). A l'aide d'une chiffonnette stérile, nous avons frotté ces surfaces, ensuite elle était introduite dans un sachet de prélèvement stérile contenant au préalable 225 mL d'eau péptonée tamponnée. Le nombre total de prélèvements était 80.

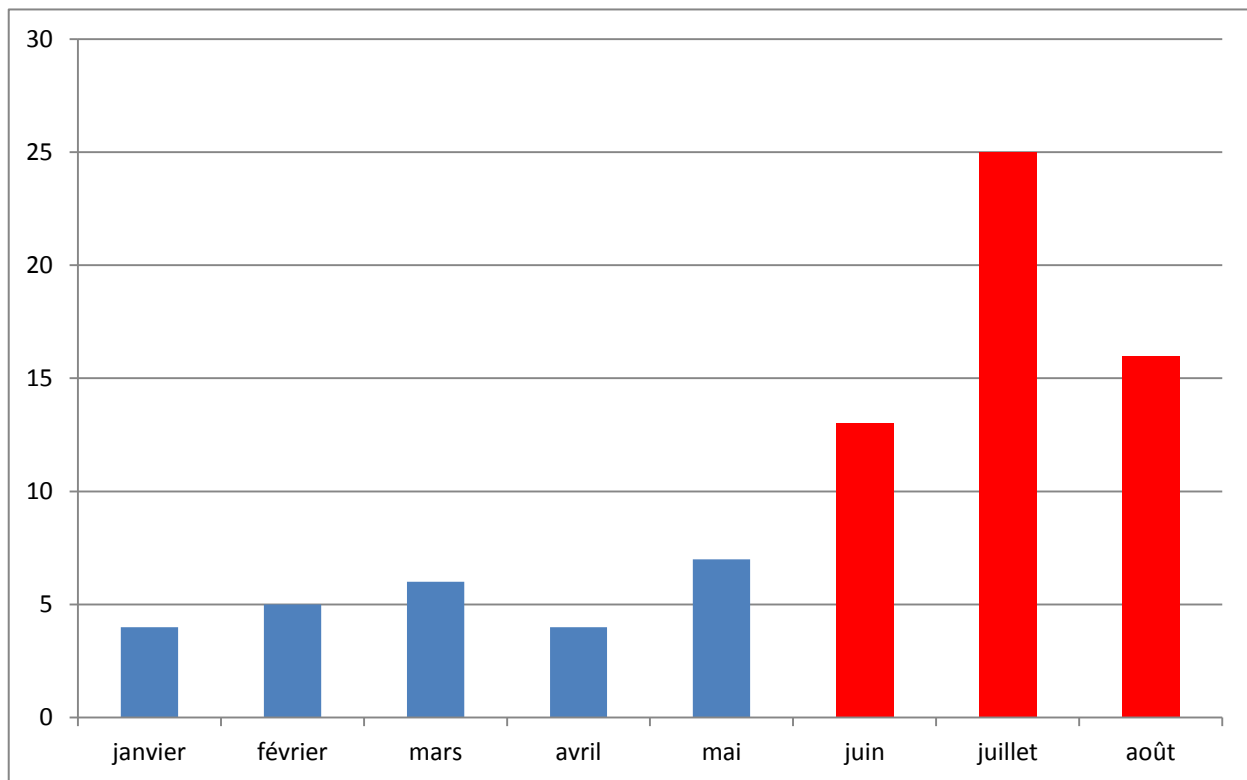
**I.2.3.5. Lisier:** A l'aide d'une seringue, une quantité équivalente de 100 mL de lisier a été prélevée, conditionnée dans un sachet de prélèvement stérile. Le nombre total de prélèvements était 80.

**I.2.3.6. Matières fécales:** Pour chaque élevage visité, cinq vaches font l'objet de ce prélèvement, nous avons éliminé également les vaches présentant des signes de salmonellose (notamment de la diarrhée), elles étaient choisies de façon aléatoire, nous avons obtenu donc cinq prélèvements

de 100 g, (chaque prélèvement est conditionné dans un sachet de prélèvement stérile). Le tableau ci- dessous montre le nombre d'élevages et de prélèvements effectués par mois durant les deux épisodes, les prélèvements sont conditionnés dans une caisse isotherme munie de plaques eutectiques, ne dépassant pas 4° C, et acheminés directement au laboratoire dans un délai ne dépassant pas deux heures. Les analyses sont effectuées le jour même. Le nombre total de prélèvements était 400.

**Tableau n° 5** : Répartition des prélèvements durant les deux périodes de prélèvements.

<b>Episode</b>	<b>Mois</b>	<b>élevages</b>	<b>prélèvements</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Premier Episode</b>	Janvier	4	40	5%
	Février	5	50	6%
	Mars	6	60	8%
	Avril	4	40	5%
	Mai	7	70	9%
<b>Deuxième Episode</b>	Juin	13	130	16%
	Juillet	25	250	31%
	Août	16	160	20%
<b>Total</b>	<b>O8 MOIS</b>	<b>80</b>	<b>800</b>	<b>100%</b>



**Figure n° 6:** Répartition des prélèvements par mois.

#### **I.2.4. Analyses:**

##### **I.2.4.1. Analyses bactériologiques:**

La méthode d'analyse bactériologique adoptée, a été inspirée de la norme internationale ISO 6579 : 2002, relative à la recherche des salmonelles dans les aliments, l'environnement, et la santé animale (Anonyme, 2003a).

##### **I.2.4.1.1. Objet et domaine d'application:**

Cette méthode consiste en la recherche des salmonelles dans le lait et les produits laitiers, l'environnement et la santé animale.

##### **I.2.4.1.2. Référentiels:**

L'application correcte de cette méthode nécessite au préalable, l'utilisation de certains référentiels, parmi lesquels, nous citerons :

- Norme ISO 6579 : 2002 : Recherche de salmonelles dans les aliments, l'environnement et la santé animale.
- Norme NF U47-100, Février 2005 : Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales.
- Norme NF ISO 7218 : Règles générales pour les examens microbiologiques.

##### **I.2.4.1.3. Mode opératoire:**

Par cette méthode, la recherche des salmonelles se fait en quatre étapes successives selon le protocole suivant :

**Première étape (jour un) : Le pré enrichissement en milieu non sélectif liquide (L'eau peptonée tamponnée):**

A partir de chaque échantillon prélevé, nous avons pris 25 g ou mL de produit à analyser dans un sachet stérile de type stomacher, contenant 225 mL d'eau peptonée tamponnée, le contenu de cette suspension a été homogénéisé dans un broyeur de type stomacher pendant deux minutes, puis transposer la suspension formée dans un flacon stérile, ensuite nous l'avons incubé à 37° C pendant 18 à 20 heures.

**Deuxième étape (jour deux) : Enrichissement en milieu sélectif liquide:**

Prendre aseptiquement 1 mL et 0,1 mL du pré enrichissement, qui sont respectivement transférés pour enrichissement dans 10 mL de bouillon Mueller- Kaufmann tétrathionate novobiocine (MKtn), et 10 mL de bouillon Rappaport-Vassiliadis Soja (Bouillon RVS), et incubés respectivement à 37° C et 42° C pendant 24 ± 02 heures.

**Troisième étape (jour trois) : Isolement sélectif :**

A partir des deux cultures obtenues en enrichissement, l'ensemencement de deux milieux sélectifs solides pour chaque culture à l'aide d'une anse de platine, ou une pipette pasteur stérile.

- Gélose Xylose Lysine Désoxycholate (XLD), incubée à 37° ± 1° C, puis examen après 24 ± 3 heures.
- Gélose Hektoen, incubée à 37 ± 1° C, puis examen après 24 ± 3 heures.

**Quatrième étape (jour quatre) :**

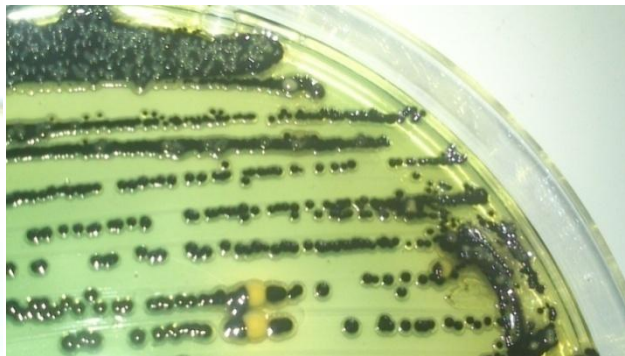
**a- La purification:**

Les boîtes (XLD et Hektoen) sont ensuite examinées, deux ou trois colonies suspectes, sont ensemencées dans les boîtes de pétri à géloses nutritives, incubées à 37° C pendant 24 ± 2 heures. Les colonies sont suspectées à partir des caractéristiques suivantes :

- Colonies à contours réguliers, vertes à nuances bleuâtres et centres noirs, pour l'Hektoen.
- Colonies à contours réguliers, rouges à nuances transparentes et centres noirs, pour le XLD.



**Photo n° 3:** Aspect typique des colonies de salmonelles sur XLD. (Travail



**Photo n° 4 :** Aspect typique des colonies de salmonelles sur Hektoen. (Travail personnel)

**b- Identification biochimique :** C'est la quatrième étape du protocole, elle regroupe deux étapes.

Ces souches sont cultivées sur gélose nutritive que nous avons mis à incuber 24 heures à 37°C.

**Identification du genre *Salmonella* :** La coloration de Gram est une technique qui permet de mettre en évidence les caractères morphologiques (taille, forme et la couleur) des bactéries, elle s'effectue en trois étapes :

Dans la première étape, les bactéries sont colorées en violet par un colorant basique tel que le violet de gentiane puis par une solution de lugol.

Dans la deuxième étape, les bactéries sont soumises à l'action de l'alcool. Les bactéries se répartissent en deux catégories : celles qui conservent la coloration violette et qui sont qualifiées de bactéries à Gram positif et celles qui sont décolorées et qui sont appelées bactéries à Gram négatif.

Dans la troisième étape, afin de mieux visualiser les bactéries décolorées, on procède à un traitement par la fuchsine. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors violettes et les bactéries à Gram négatif se recolorent en rouge ou en orange.

#### **Deuxième étape :**

Nous avons retenu uniquement les isolats révélant une coloration rose ou rouge, qui font l'objet d'une identification de l'espèce. Pour éviter le gaspillage des milieux ou des galeries API 20, nous avons utilisé les tubes à Tri Sugar Iron (TSI). Avant l'ensemencement de ces derniers, un inoculum était préparé, en introduisant deux colonies pures dans un tube contenant 5 mL d'eau distillée stérile, à l'aide d'un vortex bien agiter la suspension.

- A l'aide d'une pipette pasteur stérile, ensemencer le tube à TSI par des stries sur la pente et finir par une piqure centrale du culot, ne pas fermer totalement le tube pour éviter l'explosion.
- Incuber à 37° C pendant 24 ± 2 heures.
- Les tubes apparus positifs c'est-à-dire : Pente rouge (lactose -, saccharose-), avec culot jaune, noir. (glucose +, gaz +, H<sub>2</sub>S+), feront l'objet d'un test biochimique à partir d'une galerie biochimique miniaturisée de type API 20 (Bio Mérieux, France).



**Photo n° 5 :** Confirmation positive sur TSI (Travail personnel)



**Photo n° 6 :** Confirmation positive sur TSI (Travail personnel).

**Ensemencement de la galerie API 20 E :** Après agitation de la suspension bactérienne, à l'aide d'un vortex ou d'une pipette pasteur stérile, faire introduire dans chaque tube, à condition que la pointe soit appuyée à l'intérieur, et sur le côté pour éviter la formation des bulles. Elle est

incubée à 37°C pendant 24 heures.

Pour certains caractères, remplir le tube et la cupule pour Voges Proskauer (VP) et la Gélatinase (GEL), et recouvrir la suspension d'huile de paraffine pour assurer l'anaérobiose pour l'Arginine dihydrolase (ADH), la Lysine décarboxylase (LDC), l'Ornithine décarboxylase (ODC), le Sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), et l'Urée (URE).

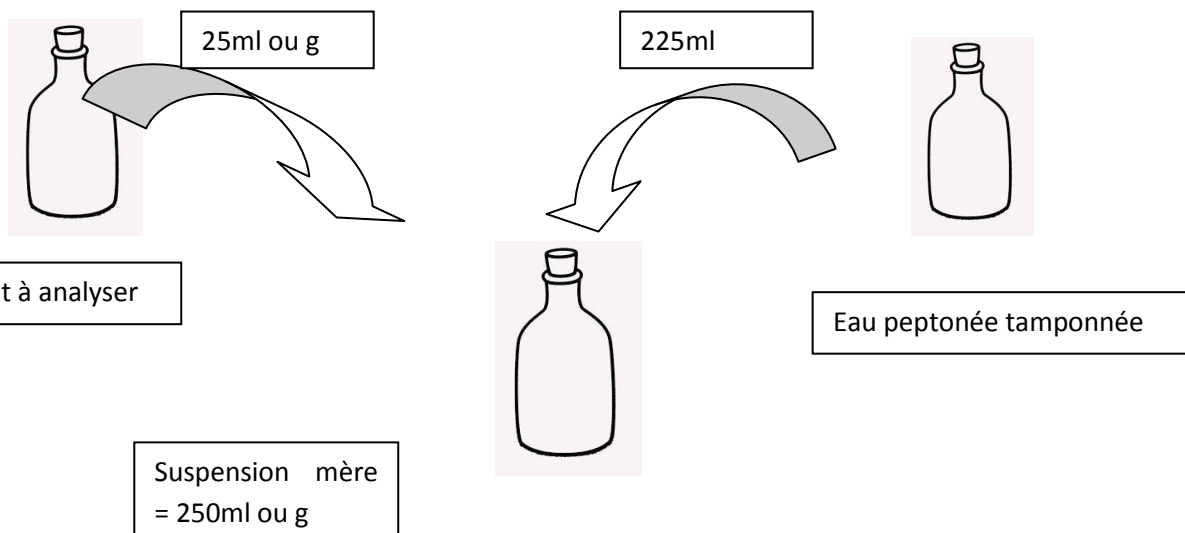
Les galeries positives sont celles qui présentent les caractéristiques suivantes : Ortho-Nitro-phenyl-Galactoside (ONPG) -, Uréase (URE) -, IND -, H<sub>2</sub>S +, Tryptophane désaminase (TDA) -, VP -, GEL -, Glucose (GLU) +, Saccharose (SAC) -, Lactose (LAC) -, Oxydase (OXY) -.



**Photo n°7 :** Galerie API 20 E: réaction positive (travail personnel)

**Photo n°8 :** Galerie API 20 E : réaction négative ( travail personnel)

**Logigramme n° 1 : Méthode ISO 6579, 2002 (Travail personnel)**



Incubation 37° C 18 à 20 heures

1ml

0,1 ml

10ml de MKttn

10ml de RVS

37° C pendant 24±2h

42° C pendant 24±2h



BP( XLD)

BP(Hektoen)

BP( XLD)

BP(Hektoen)

37° C 24 ± 2heures

52

Identification biochimique

#### **I.2.4.2. Sérotypage:**

En réalité, le sérotypage a été réalisé dans deux laboratoires, le premier est le laboratoire de microbiologie de l'hôpital central de l'armée, dont lequel nous avons pu déterminer 30 sérovars, et en raison du manque de certains sérums spécifiques pour les antigènes flagellaires (Ag H), nous avons envoyé le reste des isoléments non identifiés, même les souches identifiées, pour confirmation, à l'ANSES de Maisons Alfort (Paris).

La détermination de sérovars s'est effectuée systématiquement après l'identification biochimique, elle a été réservée aux souches révélant le genre *Salmonella*.

Le sérotypage a été réalisé directement par agglutination sur lame à l'aide d'une culture pure, obtenue 24 heures après ensemencement sur gélose nutritive.

Pour obtenir la formule antigénique des souches isolées, le protocole suivant a été suivi:

**1<sup>ère</sup> étape: Test en eau physiologique :** nous avons testé la souche en eau physiologique, s'il n'y a pas agglutination, la souche n'est pas auto-agglutinable et nous poursuivons le sérotypage. S'il y a agglutination, la souche est auto-agglutinable, il faut la repiquer et recommencer le sérotypage.

**2<sup>ème</sup> étape: Recherche de l'antigène d'enveloppe avec le sérum anti Vi :**

S'il n'y a pas d'agglutination, nous continuons le sérotypage.

S'il y a agglutination, les souches sont susceptibles de porter l'antigène Vi: *S. Typhi*, *S. Paratyphi C*, *S. Dublin*.

Détruire l'antigène Vi par chauffage 10 minutes à 100° C pour poursuivre.

**3<sup>ème</sup> étape: Détermination du groupe par identification des antigènes O majeurs :**

Les sérums anti O mélanges: OMA et OMB, sont les premiers à tester.

Si agglutination dans OMA (inutile de tester OMB).

Conclure que la souche appartient à l'un des groupes O: 2 (A), O: 4 (B), O: 9 (D), O: 3 (E), O:21(L), O : 1, 3, 19 (E<sub>4</sub>).

Si absence d'agglutination dans OMA, tester OMB: une agglutination avec OMB permet de conclure que la souche appartient à l'un des groupes O: 8 (C<sub>2</sub> – C<sub>3</sub>), O: 7 (C<sub>1</sub>), O: 11(F), O:13 (G), O: 6,14 (H).

Ensuite tester les sérums mono- ou divalents par ordre de fréquence des groupes.

- Si agglutination dans OMA:

Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O:4 (B), donc tester le sérum anti O ; 4,5 (seul antisérum commercialisé).

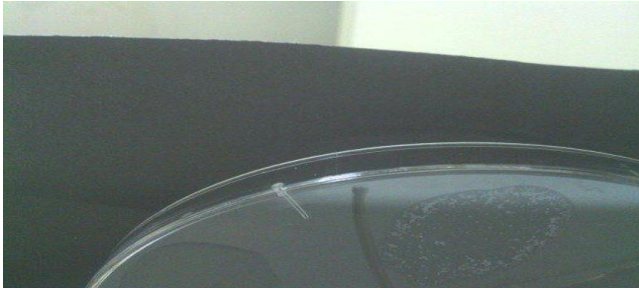
En l'absence d'agglutination, chercher l'antigène majeur du groupe O: 9 (D1) avec le sérum anti O<sub>9</sub>.

En l'absence d'agglutination, chercher l'antigène majeur du groupe O:1, 3,19 avec le sérum anti O ; 1, 3,19.

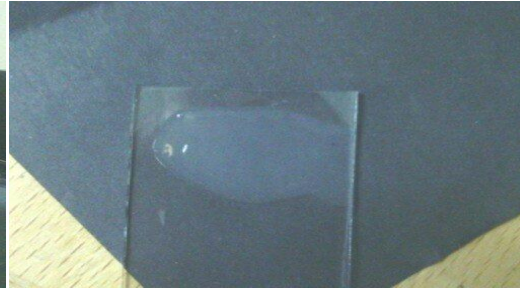
- Si agglutination dans OMB: Rechercher d'abord l'antigène majeur du groupe O: 8 (C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>), en testant l'agglutination dans le sérum anti O ; 8. Puis, le groupe O: 7 (C<sub>1</sub>) avec le sérum anti O ; 7.

**4<sup>ème</sup> étape: détermination du sérovar par identification des antigènes H :** Nous avons testé les antisérums flagellaires H adaptés aux groupes déterminés précédemment suivant le tableau de Kaufmann –White, la seule phase 1 qui a été testée (phase 1 est la plus fréquente).





**Photo n° 9 :** Agglutination positive sur lame entre l'Ag et le sérum (travail personnel)



**Photo n° 10 :** Agglutination négative sur lame (travail personnel)

#### **I.2.4.3. Antibiogrammes:**

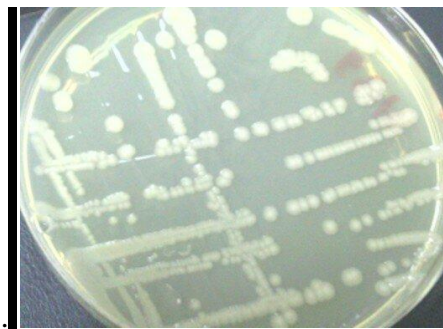
Après la détermination des sérovars des souches isolées, nous avons mesuré la sensibilité aux antibiotiques de ces différentes souches.

La technique utilisée : La technique de diffusion en milieu gélosé est la technique préconisée par le Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), et même recommandée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Le milieu utilisé pour ce travail, est la gélose de Muller Hinton, coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm, préparée la veille, et doit être séchée avant son utilisation. Pour les 16 disques d'antibiotiques sont de marque biorad, ils ont été choisis selon le Réseau Algérien de la Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (6<sup>ème</sup> édition, 2011).

##### **I.2.4.3.1. Préparation de la suspension:**

A partir d'une culture pure isolée sur gélose nutritive, nous avons utilisé une pipette pasteur, ou un bâtonnet pour racler quelques colonies.



**Photo n° 11 :** Purification des salmonelles sur Gélose nutritive. (travail personnel)

Bien décharger la pipette dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique. A l'aide d'un vortex, bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à  $10^6$  UFC / mL.

#### **I.2.4.3.2. Ensemencement:**

- L'écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum.
- Après l'essorage en le pressant fermement et en le tournant contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Pour chaque souche testée, nous avons utilisé quatre boîtes de pétri, en totale 216 boîtes de pétri ont été utilisées.

#### **I.2.4.3.3. Application des disques d'antibiotiques:**

- Nous avons mis dans la première boîte sept disques d'antibiotiques appartenant à la famille de  $\beta$ -Lactamines à savoir ; amoxycilline+ ac clavulanique 20  $\mu$ g + 10 $\mu$ g (AMC), ampicilline 10 $\mu$ g (AM), ticarcilline 30 $\mu$ g (TIC), céfazoline (30  $\mu$ g) CZ, céfoxitine 30  $\mu$ g (FOX), céfotaxime 30  $\mu$ g (CTX), imipénème 10 $\mu$ g (IPM).
- La deuxième boîte contient sept disques d'antibiotiques appartenant à la famille de quinolones, aminosides.

Acide nalidixique 30  $\mu$ g (NAL), ofloxacine 5 $\mu$ g (OFX), ciprofloxacine 5 $\mu$ g (CIP), fosfomycine 200 $\mu$ g (FOSS), amikacine 30 $\mu$ g (AK), gentamicine 10 $\mu$ g (GM), colistine 50 $\mu$ g (CS).

- La troisième boîte contient les antibiotiques suivants : triméthoprim + sulfaméthoxazole 1,25  $\mu$ g, 23,75  $\mu$ g (SXT), chloramphénicol 30 $\mu$ g (C), nitrofurane 30  $\mu$ g (FT).
- La quatrième boîte sert pour le contrôle de toutes sortes de contaminations.



**Photo n° 12 : Disques antibiotiques utilisés (Biorad)**



**Photo n° 13 : Boîte de contrôle (travail personnel).**

**Photo n° 14 : Implantation de 7 disques d'antibiotiques (travail personnel).**

**Photo n° 15 : Implantation de 2 disques d'antibiotiques (travail personnel).**

#### **I.2.4.3.4. Incubation:**

Après le dépôt des disques antibiotiques, une incubation à 35° C pendant 18 heures est nécessaire. Après quoi, nous examinons tout d'abord les boîtes de contrôle pour éliminer toute sorte de contamination. Si la boîte de contrôle ne révèle aucune contamination, et à l'aide d'un pied à coulisse, mesurer avec précision le diamètre de la zone d'inhibition, on compare les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans le tableau de lecture figurant dans l'annexe 1

#### **I.2.5. Etudes statistiques:**

Les analyses statistiques ont été utilisées pour déterminer les facteurs de risque de contamination des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine d'une part, et les facteurs de risque de contamination du lait de troupeau d'autre part.

A cet effet nous avons adopté, l'Odds ratio, pour un intervalle de confiance à 95 % et le test de chi 2, pour prouver qu'il y'a une association entre l'exposition au risque et la contamination par les salmonelles. Suivant les constatations établies lors de l'enquête, et les résultats d'analyses bactériologiques, nous allons étudier l'influence de certains facteurs sur la contamination des élevages d'une part, et sur la contamination du lait de troupeau d'autre part, alors nous commençons par :

##### **I.2.5.1. Détermination des facteurs de risque de contamination des élevages:**

La recherche des facteurs de risque de la contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles a été réalisée à travers une enquête épidémiologique de type cas – témoin.

##### **I.2.5.1.1. Effet de la saison:**

Nous avons étudié l'association entre le risque de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles et la saison (température). Une question et une hypothèse ont été formées pour confirmer cette association ;

Donc la question posée était la suivante :

La question: La contamination des élevages est- elle augmentée durant la saison d'été (Température > 28° C) ?

L'hypothèse  $H_0$  : il ya une indépendance entre l'exposition à la chaleur et la contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles.

- Pour répondre à la question citée ci-dessus, nous devons calculer l'Odds ratio, et l'intervalle de confiance (IC) à 95 %.

- Pour l'hypothèse  $H_0$ , si la probabilité  $P(X^2) < 0,01$  avec un degré de liberté (ddl) = 1, l'hypothèse  $H_0$  est rejetée.

Les cas représentent le nombre d'élevages bovins laitiers contaminés par les salmonelles, exposés à la température (> 28° C), et non exposés à la température (< 28° C). Témoins représentent le nombre d'élevages non contaminés par les salmonelles, exposés et non exposés à la température.

	Cas	Témoins
Température >28° C	28	26
Température < 28° C	2	24

Odds ratio = 12,92

IC = [2,63 - 56,26] où 1ϕ à l'IC.

Ensuite nous devons calculer la probabilité P(X2) avec un ddl = 1

Si  $p(X2) < 0,1$  l'hypothèse  $H_0$  sera rejetée.

$X2 = 20,26$   $P(20,26) < 0,001$ ,  $H_0$  est rejetée.

#### I.2.5.1.2. Effet de la stabulation libre:

Un deuxième facteur de risque suspect de la contamination des élevages par les salmonelles, est l'effet de la stabulation libre. Pour confirmer cette association, une question et une hypothèse ont été formées.

La question : Les élevages en stabulation libre sont-ils plus exposés à la contamination par les salmonelles que les autres élevages ?

L'hypothèse  $H_0$  : Il ya une indépendance entre l'effet de l'exposition à la stabulation libre, et la contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles.

Les cas représentent le nombre d'élevages contaminés par les salmonelles, exposés ou non à la stabulation libre.

Les témoins représentent le nombre d'élevages non contaminés, exposés ou non à la stabulation libre.

	Cas	Témoins
Stabulation libre	18	12
Pas de stabulation libre	12	38

OR = 4,75

IC = [1,78 - 12,67], où 1ϕ à l'IC,

Ensuite nous devons calculer la probabilité P(X2), avec un ddl = 1

Si  $p(X2) < 0,1$  l'hypothèse  $H_0$  sera rejetée.

$X2 = 10,2$

$P(10,2) < 0,001$ , l'hypothèse  $H_0$  est rejetée.

#### I.2.5.2. Détermination des facteurs de risque de contamination du lait de troupeau par les salmonelles :

Conformément aux résultats d'analyses bactériologiques des différentes matrices, on va étudier l'influence de chaque matrice sur la contamination du lait de troupeau.

##### I.2.5.2.1. Chiffonnettes :

L'effet de la contamination de l'environnement (chiffonnettes) sur la contamination du lait de troupeau: Pour confirmer cette association, on doit former une question et une hypothèse ;

Question : La contamination du lait de troupeau par les salmonelles est-elle plus importante chez les élevages présentant un environnement (chiffonnettes) contaminé par les Salmonelles ?

Hypothèse  $H_0$  : Il ya une indépendance entre la contamination de l'environnement (chiffonnettes), et la contamination du lait de troupeau.

	Cas	Témoins
<b>Chiffonnettes contaminées</b>	3	6
<b>Chiffonnettes non contaminées</b>	2	69

Les cas représentent le nombre de prélèvements du lait de troupeau contaminé par les salmonelles, exposé ou non à la contamination des chiffonnettes (l'environnement).

Les témoins représentent le nombre de prélèvement du lait de troupeau non contaminé par les salmonelles exposés ou non à la contamination des chiffonnettes( l'environnement)..

OR = 17,25

IC ; [2,41 - 121,51], où 1ϕ à l'IC,

Ensuite on doit calculer la probabilité  $P(X^2)$ , avec un ddl=1

Si  $p(X^2) < 0,1$  l'hypothèse  $H_0$  sera rejetée.

$X^2 = 12,24$   $P(12,24) < 0,001$  l'hypothèse  $H_0$  est rejetée.

#### **I.2.5.2.2. Matière fécale :**

L'effet de l'excrétion fécale, sur la contamination du lait de troupeau :  
Question : la contamination du lait de troupeau par les salmonelles est- elle plus importante chez les élevages excréant de matières fécales contaminées ?

Hypothèse  $H_0$  : il y'a une indépendance entre la contamination du lait de troupeau et la contamination de la matière fécale par les salmonelles.

	Cas	Témoin
<b>La contamination fécale</b>	4	15
<b>Pas de contamination fécale</b>	1	60

Les cas représentent le nombre de prélèvements du lait de troupeau contaminé par les salmonelles, exposés ou non à la contamination de la matière fécale.

Les témoins représentent le nombre prélèvements du lait de troupeau non contaminé par les salmonelles, exposé ou non à la contamination de la matière fécale.

OR = 16

IC : [1,49 – 170,71], où 1ϕ à l'IC.

Si  $p(X^2) < 0,1$  l'hypothèse  $H_0$  sera rejetée.

$X^2 = 7,32$ . Avec un ddl = 1

$P(7,32) < 0,001$  l'hypothèse  $H_0$  est rejetée.

#### **I.2.5.2.3. Lisier :**

L'effet du lisier contaminé sur la contamination du lait de troupeau: Pour confirmer cette association, on doit toujours former une question et une hypothèse;

Question : la contamination du lait de troupeau par les salmonelles est-elle plus importante chez les élevages présentant un lisier contaminé par les salmonelles ?

Hypothèse  $H_0$  : il y'a une indépendance entre la contamination du lisier et la contamination du lait de troupeau, par les Salmonelles.

	Cas	Témoin
Lisier contaminé	3	12
Lisier non contaminé	2	63

Les Cas représentent le nombre de prélèvements du lait de troupeau contaminé par les salmonelles, exposé ou non à la contamination du lisier.

Les témoins représentent le nombre de prélèvement du lait de troupeau non contaminé par les salmonelles, exposé ou non à la contamination du lisier.

OR = 7,75.

IC : [1,2 – 49,40] où 1 $\phi$  à l'IC.

Si  $p(X^2) < 0,1$  l'hypothèse  $H_0$  sera rejetée, avec un ddl = 1.

$X^2 = 5,83$ .

$P(5,83) < 0,02$ ,  $H_0$  est rejetée.

L'effet de l'aliment et de l'eau contaminés sur la contamination du lait de troupeau: Dans cette étude, OR est incalculable.

## II. Résultats :

### II.1. Typologie des élevages des bovins laitiers de la wilaya de Constantine :

#### II.1.1. Elevages conformes: Ils comprennent

##### II.1.1.1. Elevages modernes :

Dans lesquels le nombre de vaches laitières varie entre 20 et 50 vaches, les deux importantes races composant ces élevages sont la pie noire et la pie rouge.

Ils disposent d'une infrastructure adéquate, fournissant un environnement propre, sec, confortable, et aéré. Ces élevages sont divisés en plusieurs compartiments bien séparés :

Un bloc administratif, une salle de traite, une salle pour la conservation de lait, un silo pour la conservation des aliments, des stalles.

Ces élevages sont caractérisés par une stabulation libre, les stalles et les logettes sont conçues de façon à optimiser la sécurité, la propreté, le confort et la liberté de mouvement des vaches (Suffisamment d'espace à l'avant des vaches pour ne pas gêner leurs mouvements naturels lorsqu'elles se couchent ou se lèvent), sont bien dotés en matière d'équipements, des équipements frigorifiques pour le stockage du lait et des machines à traire.

Dans ce groupe, on compte 12 élevages, répondant à ces critères, soit un taux de 15% de la totalité de notre étude.



**Photo n° 16 :** Tanks de stockage du lait dans une ferme moderne (FM) TP



**Photo n° 18:** Abreuvoirs individuels (FM). TP



**Photo n° 17 :** Salle de traite, munie de plusieurs machines à traire (FM). TP



**Photo N° 19 :** Pédiluve devant la salle à traire (FM). TP



**Photo N° 20 :** Désinfectant utilisé pour le nettoyage (FM).



**Photo N° 21 :** Modèle de stabulation libre (FM). TP

FM : Ferme moderne. TP ; travail personnel.

### II.1.1.2. Elevages traditionnels:

Le nombre de l'effectif des bovins laitiers varie entre 10 et 30 vaches laitières, les races composant ces élevages sont ; la race locale, la pie noire et la pie rouge. Ils disposent d'une infrastructure adéquate, fournissant un environnement propre, aéré, confortable. Pour faciliter le drainage, le sol est conçu avec une pente de 2 à 3 %.

Dans ce type d'élevage, on trouve de 1 à 2 étables, un silo pour le stockage des aliments, une aire d'exercice, des équipements frigorifiques pour le stockage du lait et des machines à traire. Dans ce groupe, on compte 17 élevages, soit un taux de 21,25 % de la totalité de notre étude.

**II.1.2. Elevages non conformes:** Ce sont des élevages traditionnels, de petites exploitations de 5 à 25 vaches laitières, les races composant ces élevages sont, la race locale, la pie noire, et la pie rouge. Ils disposent d'une infrastructure inadéquate, avec 1 à 2 étables, couverts de plaques de zinc, ne sont pas aménagés, rendant l'environnement malpropre, moins aéré, non confortables, ne disposant pas de système frigorifique, avec un manque d'équipements flagrant. Les employés sont en général des membres de la famille, n'ont pas une qualification dans l'élevage des bovins laitiers.

Le rejet du fumier est réalisé dans la périphérie, exposant le bétail à plusieurs dangers.

Ce type d'élevage représente le grand pourcentage de cette étude avec un taux de **63,75 %** (51 élevages).

**Tableau n° 6:** Typologie des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine.

Type d'élevage	conforme	Non conforme
Moderne	12	
Traditionnel	17	51



## **II.2. Prévalence de contamination :**

### **II.2.1. Prévalence de la contamination par les salmonelles des élevages bovins laitiers:**

Sur les 800 prélèvements effectués durant les deux périodes, nous avons trouvé 54 prélèvements positifs soit un taux de 6,75 %.

Et sur les 80 élevages analysés, on trouve 30 élevages contaminés, présentant une ou plusieurs matrices contaminées, soit un taux de 37,5 %, donc la prévalence de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles a été estimée à 37,5 %.

Durant la première période, dont l'étude a touché 26 élevages, seuls deux élevages se sont avérés positifs, soit un taux de 7,69 % des élevages étudiés dans cette période, avec trois prélèvements positifs un pour le lisier, et deux pour la matière fécale, parmi les 260 prélèvements, soit un taux d'isolement de 1,15 %.

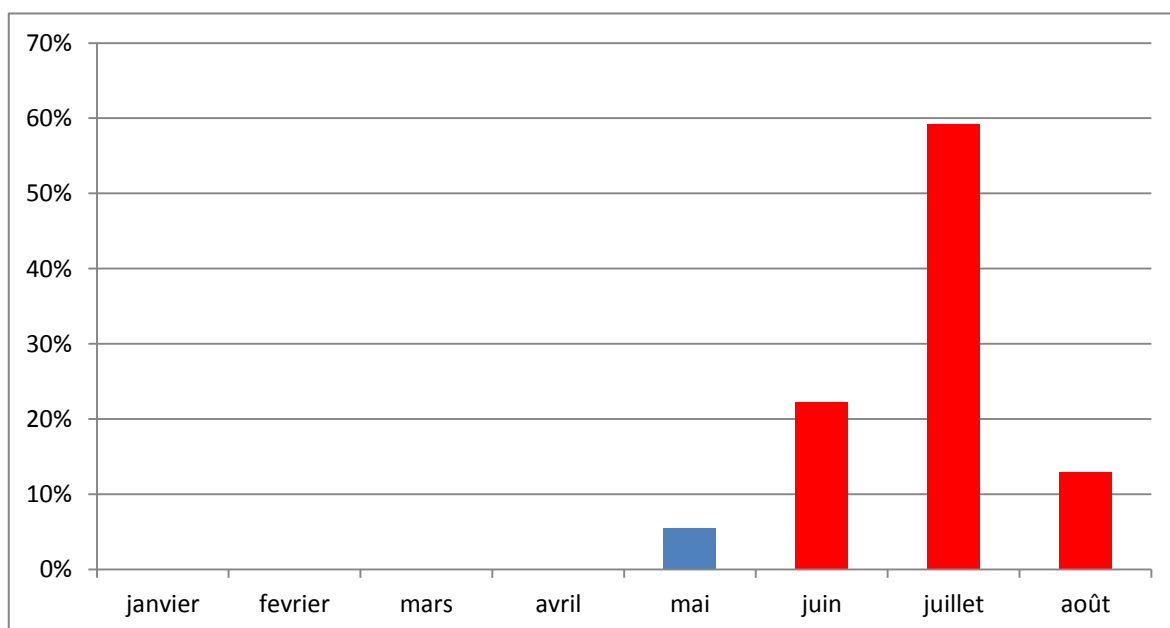
Par contre durant la deuxième période, dont l'étude a touché 54 élevages, 28 élevages se sont avérés positifs, soit un taux de 51,85 % de l'ensemble des élevages étudiés dans cette période, avec 51 prélèvements positifs (1 prélèvement pour l'aliment, 1 prélèvement pour l'eau, 5 prélèvements pour le lait, 9 prélèvements pour les chiffonnettes, 14 prélèvements pour le lisier, 21 prélèvements pour la matière fécale), parmi 540 prélèvements, soit un taux d'isolement de 9,44 %.

Les tableaux ci- dessous, récapitulent le nombre d'élevages et de prélèvements contaminés.



**Tableau n° 7:** Nombre de prélèvements positifs par les salmonelles spp / mois.

	Première période					Deuxième période		
Mois	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août
Nombre de prélèvements	50	60	60	40	50	130	250	160
Nombre de prélèvements positifs					3	12	32	7
Pourcentage prélèvements positifs/ mois					5,55 %	22,22 %	59,29%	12,96%
pourcentage prélèvement positif/ période	31,15% 260					51,44% 540		
Pourcentage de prélèvements positifs	54,75%					800		



**Figure n° 7:** Répartition des prélèvements positifs par mois.

**Tableau n° 8:** Prévalence de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles spp par mois.

Episode	première période					deuxième période		
Mois	janvier	février	mars	avril	mai	juin	Juillet	Août
Nombre des élevages	5	6	6	4	5	13	25	16
Nombre des élevages positifs	0	0	0	0	2	7	15	6
Pourcentage des élevages positifs par mois	<b>0 %</b>	<b>0 %</b>	<b>0 %</b>	<b>0 %</b>	<b>40 %</b>	<b>53,85%</b>	<b>60 %</b>	<b>37,50%</b>
Pourcentage des élevages positifs par période	<b>7,69 %</b>					<b>51,85 %</b>		
TOTAL	30 <b>37,5 %</b>					80		

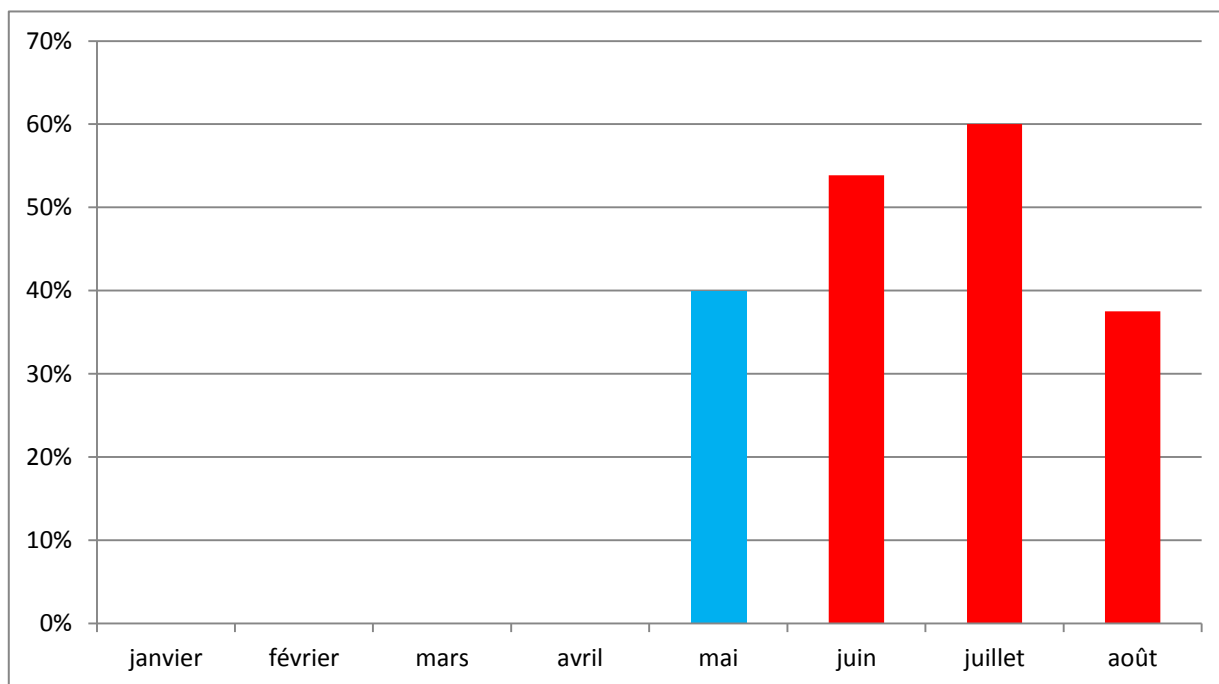
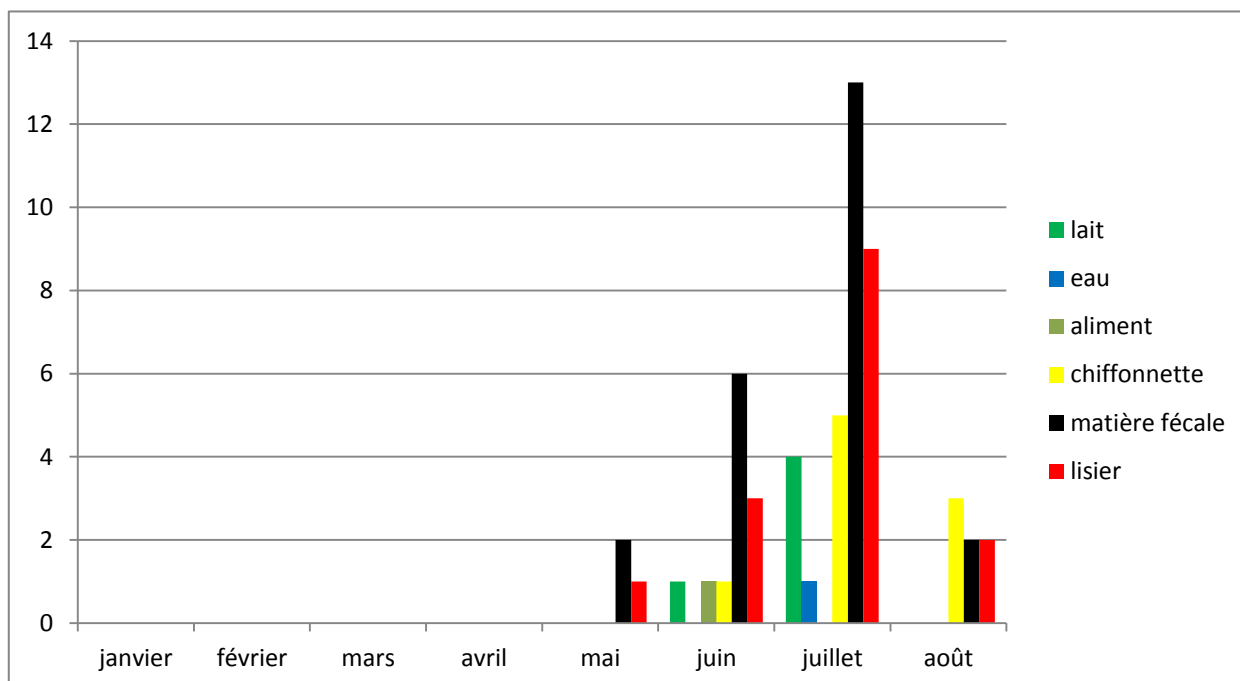


Figure n° 8 : **Prévalence de contamination des élevages par mois**

**Tableau n° 9** : Prévalence de contamination des différentes matrices étudiées par les salmonelles spp.

Période	Première période					deuxième période			Total	Pourcentage
Mois	Janvier	février	mars	Avril	mai	juin	Juillet	août	8 MOIS	
Matrices										
Lait	0	0	0	0	0	1	4	0	5	6,25%
Eau	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1,25%
Aliment	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1,25%
chiffonnette	0	0	0	0	0	1	5	3	9	11,25%
matière fécale	0	0	0	0	2	6	13	2	23	28,75%
Lisier	0	0	0	0	1	3	9	2	15	18,75%



**Figure n° 9:** Fréquence de contamination des différentes matrices étudiées par les salmonelles spp.

## **II.2.2. Fréquence de contamination des différentes matrices par les salmonelles:**

Les analyses bactériologiques montrent que les différents types de matrices sont contaminés par les salmonelles, mais avec un degré bien distinct d'une matrice à une autre.

### **II.2.2.1. Fréquence de contamination de l'aliment, et de l'eau par les salmonelles:**

Une contamination plus faible pour l'aliment et l'eau, a été enregistrée durant cette recherche, nous avons trouvé dans les deux périodes, un prélèvement contaminé pour l'eau et un prélèvement contaminé pour l'aliment, soit un taux de 1,25 % pour chacune de ces deux matrices.

### **II.2.2.2. Fréquence de contamination du lait de troupeau par les salmonelles:**

5 prélèvements se sont avérés contaminés, parmi les 80 prélèvements étudiés, soit un taux de 6,25 %, un cas durant le mois de juin, et 4 cas étaient enregistrés durant le mois de juillet.

### **II.2.2.3. Fréquence de contamination des chiffonnettes par les salmonelles:**

On note une contamination moyenne des chiffonnettes (les surfaces), 9 prélèvements contaminés ont été enregistrés, soit un taux d'isolement de 11,25 %.

### **II.2.2.4. Fréquence de contamination du lisier par les salmonelles:**

Une contamination élevée par les salmonelles spp a été enregistrée pour le lisier, avec 15 prélèvements enregistrés, correspondant un taux d'isolement de 18,75 %, avec un pic enregistré au mois de juillet (9 cas).

### **II.2.2.5. Fréquence de contamination de la matière fécale par les salmonelles :**

Une contamination très élevée enregistrée pour la matière fécale, avec 23 prélèvements positifs, soit un taux d'isolement de 28,75 % de l'ensemble de prélèvements avec un pic au mois de juillet.

## **II. 3. Distribution des sérotypes:**

La technique d'agglutination sur lame, a permis de mettre en évidence plusieurs sérotypes. La distribution des sérotypes a montré une prédominance de *S. Muenster*, (37,03 %, n = 20), suivie

de *S. Kentucky* (20,37 %, n = 11).

- *S. Eastbourne*, *S. Infantis*, (9,25 %, n = 5).

- *S. Mbandaka* (7,4 %, n = 4).

- *S. Saintpaul* (5,55 %, n = 3).

- *S. Typhimurium*, *S. Anatum*, *Salmonella* Elomrane (3,70 %, n = 2).

Cette étude a montré que la matière fécale, le lait, le lisier, et les chiffonnettes, étaient contaminés par plusieurs types de sérotypes.

Pour le lait, *S. Muenster* représente 80 % des sérotypes (n = 4), et *S. Kentucky* représente 20 % (n = 1) des sérotypes déterminés.

Les matières fécales: 39,13 % (n = 9) de *S. Muenster*, 17,39 % (n = 4) de *S. Eastbourne*, 17,39 % (n = 4) de *S. Infantis*, 8,69 % (n = 2) de *S. Kentucky*, 8,69 % (n = 2) de *S. Mbandaka*, 4,34 % (n = 1) de *S. Saintpaul*, 4,34 % (n = 1) de *S. Typhimurium*.

Le lisier ; 33,33 % (n = 5) de *S. Muenster*, 20 % (n = 3) de *S. Kentucky*, 13,33 % (n = 2) de *S. Mbandaka*, 13,33 % (n = 2) de *S. Saintpaul*, 6,66 % (n = 1) pour chacun des sérovars suivant ; *S. Anatum*, *S. Typhimurium*, *Salmonella* Infantis.

Les chiffonnettes ; 55,55 % (n = 5) de *S. Muenster*, 22,22 % (n = 2) de *S. Kentucky*, 11,11 % (n = 1) de *S. Infantis*, le même pourcentage pour *S. Anatum*.

L'aliment et l'eau, étaient contaminés par *S. Elomrane*. (Voir tableau n° 9)

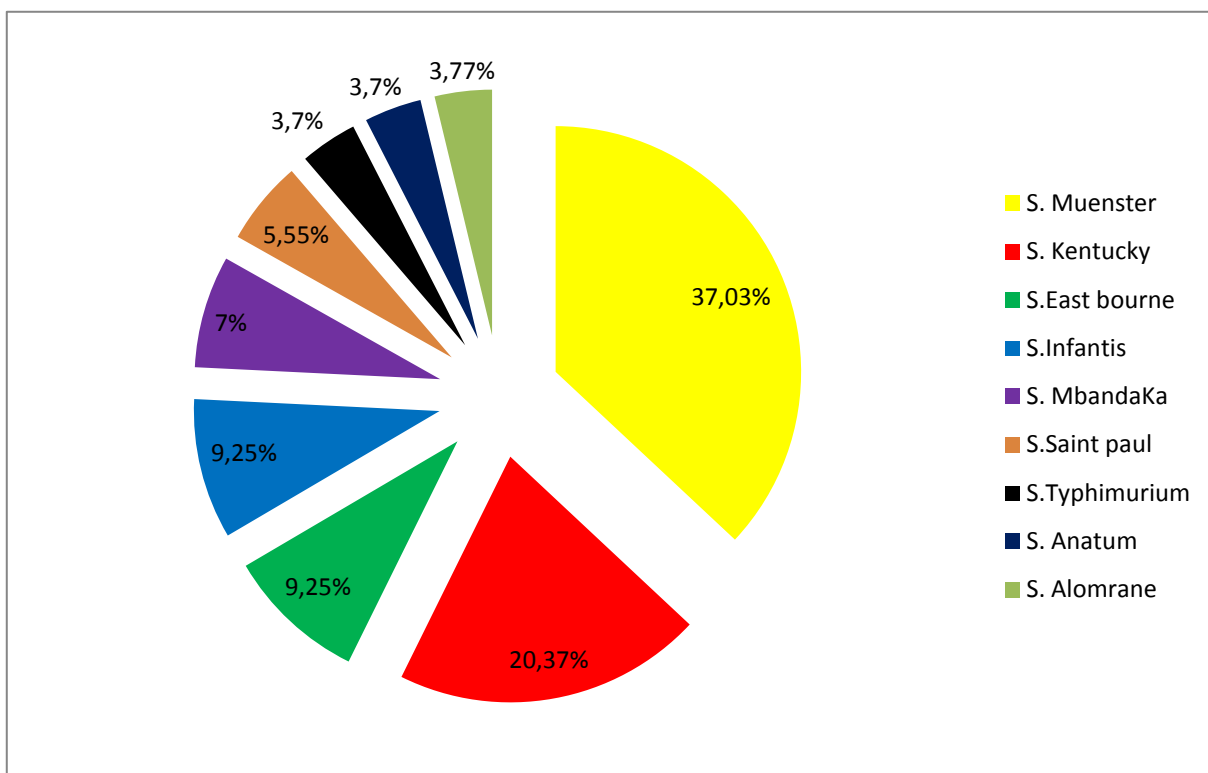
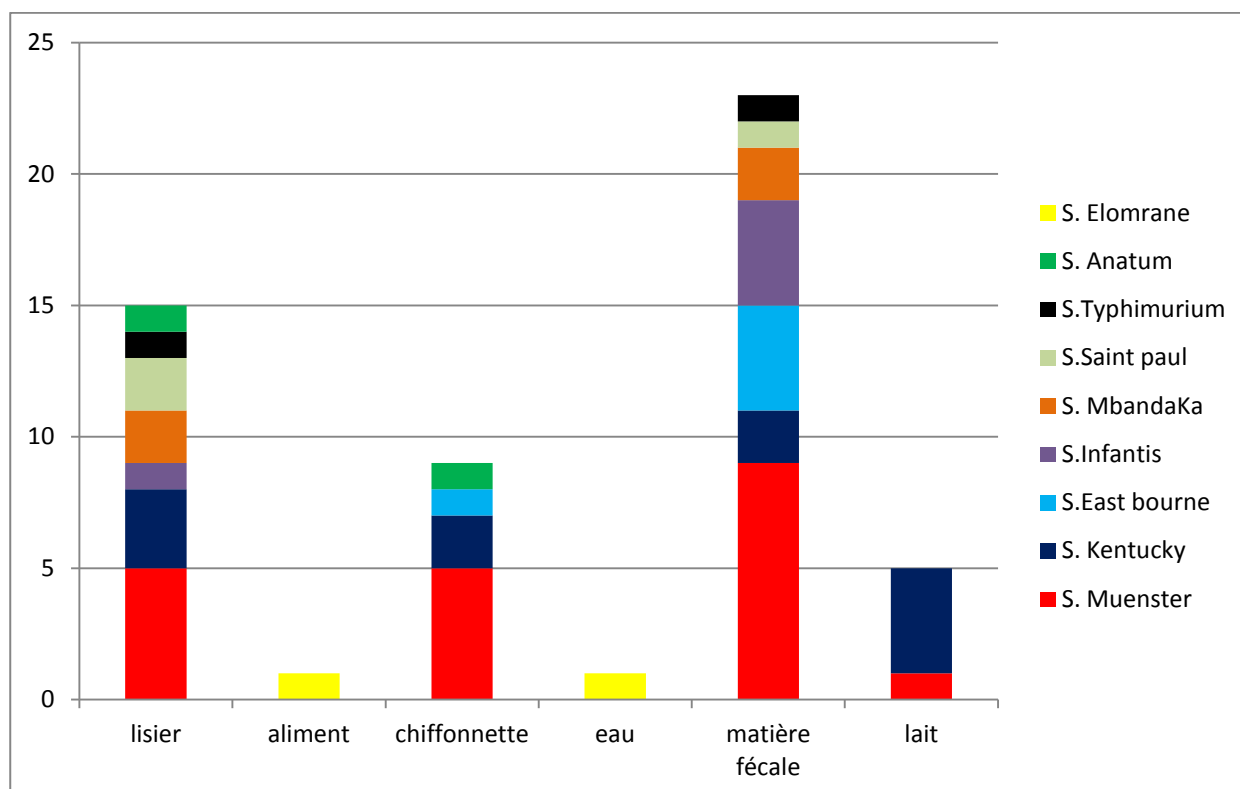


Figure n° 10: Distribution des sérotypes.

**Tableau n° 10:** Distribution des sérovars des différentes souches isolées.

Matrices							
Sérotypes	Lisier	Aliment	Chiffonnette	Eau	Matière Fécale	Lait	Total
<i>S. Muenster</i>	5		5		9	1	20
<i>S. Kentucky</i>	3		2		2	4	11
<i>S. Eastbourne</i>			1		4		5
<i>S. Infantis</i>	1				4		5
<i>S. Mbandaka</i>	2				2		4
<i>S. Saintpaul</i>	2				1		3
<i>S. Typhimurium</i>	1				1		2
<i>S. Anatum</i>	1		1				2
<i>S. Elomrane</i>		1		1			2
Total	15	1	9	1	23	5	54



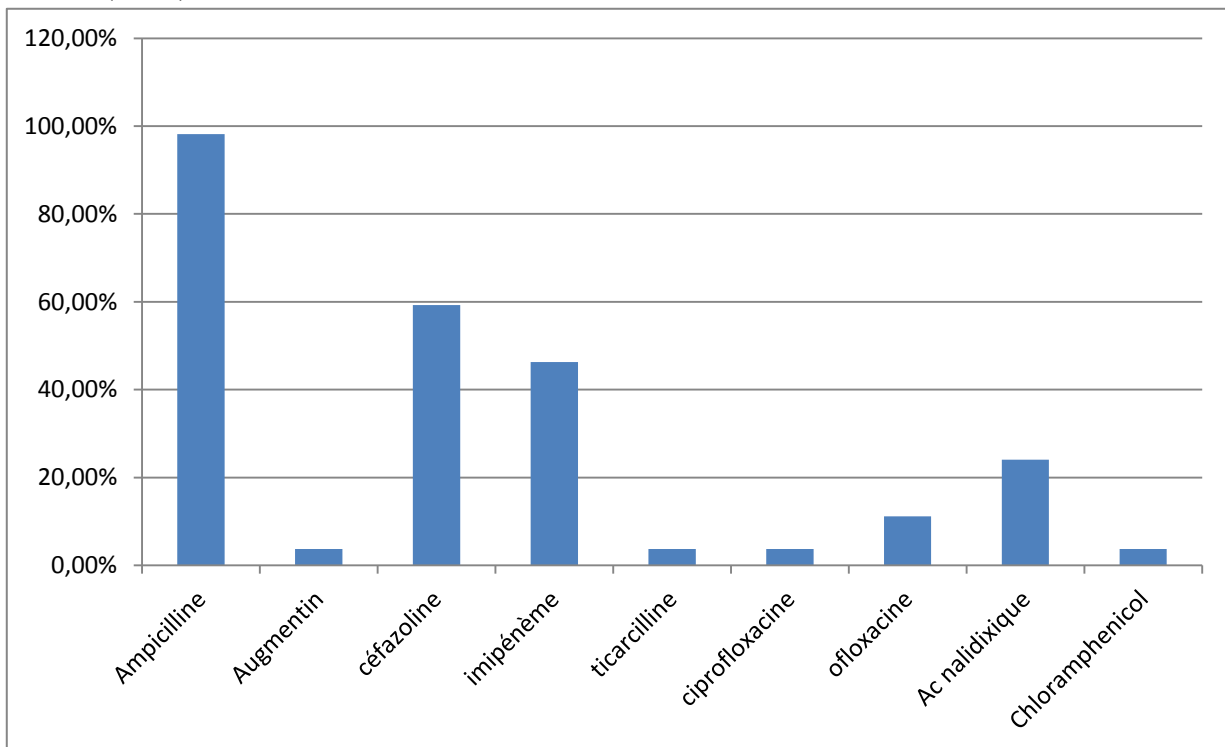
**Figure n° 11:** Répartition des sérotypes par matrice.

#### II.4. AntibioGramme:

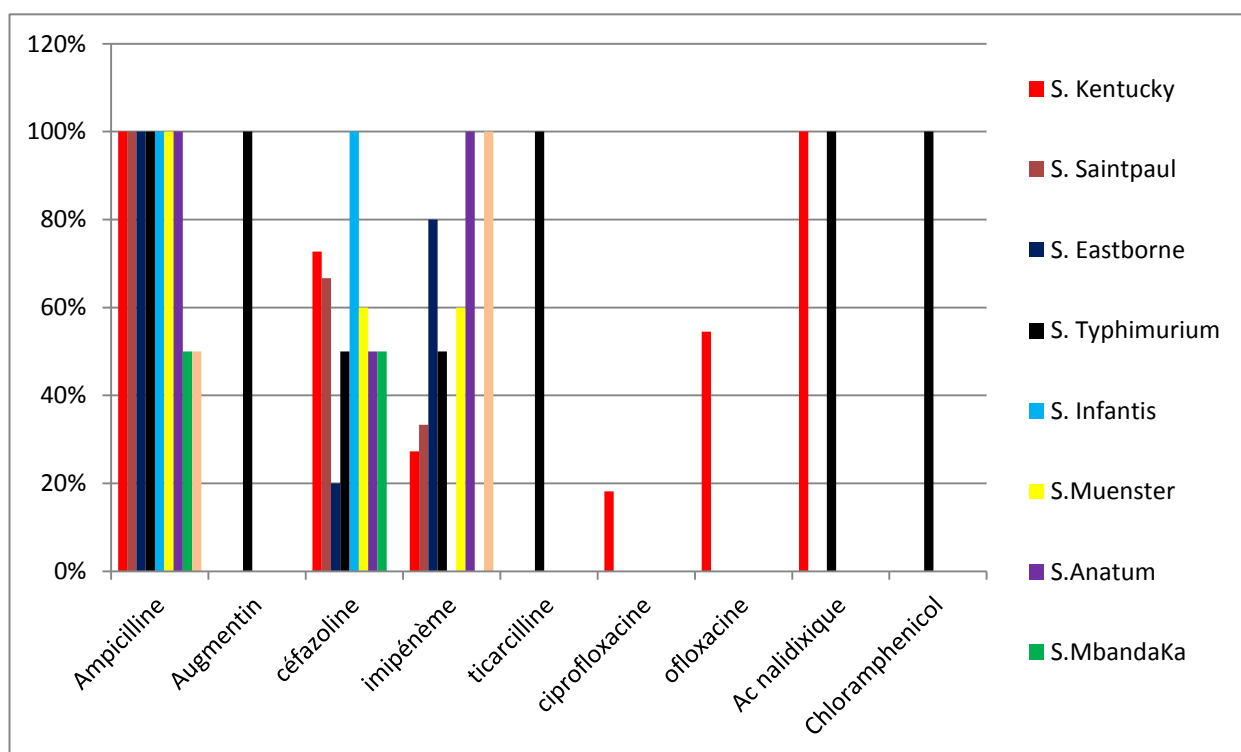
- Chaque souche de *Salmonella* isolée, a fait l'objet d'un antibiogramme, afin de déterminer la sensibilité des différents sérovars aux 16 antibiotiques couramment utilisés en médecine vétérinaire.

L'ensemble des souches isolées étaient sensibles aux antibiotiques suivants: céfotaxime (CFX), céfoxitine (FOX), gentamicine (GEN), amikacine (KA), fosfomycine (FOS), triméthoprim + sulfaméthoxazole (SXT), nitrofurane.

Les sérotypes isolés des différentes matrices, ont montré dans leur ensemble une résistance 94,44 % (n = 51) à l'ampicilline, 3,7% (n = 2) à l'augmentin, 59,25 % (n = 32) à la céfazoline, 46,29 % (n = 25) à l'imipénème, 3,7 % (n = 2) à la ticarcilline, 3,7% (n = 2) à la ciprofloxacine, 11,11 % (n = 6) à l'ofloxacine, 24,07 % (n = 13) à l'acide nalidixique, 3,7 % (n = 2) au chloramphénicol. 14,81 % (n = 8) des souches isolées présentaient une résistance intermédiaire à la ciprofloxacine, 9,25 % (n = 5) à l'ofloxacine.



**Figure n° 12:** Résistance des différents sérotypes aux antibiotiques testés.



**Figure n° 13 :** Résistance des sérotypes isolés aux antibiotiques

Le tableau ci-dessous n° 11 montre que:

- *S. Muenster* était multi résistante à l'ampicilline (100%), à l'imipénème et à céfazoline (60%).
  - *S. Kentucky*, était aussi multirésistante à l'ampicilline, à l'acide nalidixique, à l'imipénème, et à la céfazoline, la résistance était respectivement de l'ordre de 100 %, 100 %, 27,27 % et 72,70 %.
- Cette étude a montré aussi que certains sérotypes isolés ont présenté une résistance aux fluoroquinolones, où 54,55 % de *S. Kentucky* étaient résistantes à l'ofloxacine, et 18,20 % étaient résistantes à la ciprofloxacine, 72,22 % de *S. Kentucky* présentaient une résistance intermédiaire contre la ciprofloxacine, et 45,45 % contre l'ofloxacine.
- *S. Typhimurium* était multirésistante à sept antibiotiques à savoir ;  
L'ampicilline, l'augmentin, la ticarcilline, l'Acide nalidixique, et au chloramphénicol.  
Pour l'imipénème et la céfazoline la résistance était de l'ordre de 50 %.
  - *S. Infantis* était bi résistante à l'ampicilline, et à la céfazoline.
  - La résistance de *S. Saintpaul* était de 100 % à l'ampicilline, 66,66 % à la céfazoline, et 33,33 % à l'imipénème.
  - Comme les autres sérovars préalablement cités, *S. Eastbourne* était résistante à l'ampicilline (100 %), à la céfazoline (20 %), et à l'imipénème (80 %).
  - *S. Mbandaka* était bi résistante à l'Ampicilline, et à la Céfazoline.
  - Alors que *S. Elomrane* était bi résistante à l'ampicilline, et à l'imipénème
  - *S. Anatum* était résistante à l'ampicilline, à l'imipénème, et à la céfazoline.



**Tableau n° 11** : Etude de l'antibiorésistance des différents sérovars isolés

	<b>S.Kentucky</b>		<b>S. Saint paul</b>	<b>S. East borne</b>	<b>S. Typhi-murium</b>	<b>S. Infantis</b>	<b>S.Muenster</b>	<b>S.Anatum</b>	<b>S. Mbandaka</b>	<b>S.Elom Rane</b>
	I	R								
<b>Ampicilline</b>		<b>11</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>20</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>
<b>Augmantin</b>		0	0	0	<b>2</b>	0	0	0	0	0
<b>Cefazoline</b>		<b>8</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	0
<b>Imipénème</b>		<b>3</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	0	<b>12</b>	<b>2</b>	0	<b>2</b>
<b>Ticarcilline</b>		0	0	0	<b>2</b>	0	0	0	0	0
<b>Cefoxitine</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Cefotaxime</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Gentamicine</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Amikacine</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ciprofloxacin</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ofloxacin</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Fosfomycine</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>acide nalidixique</b>		<b>11</b>	0	0	<b>2</b>	0	0	0	0	0
<b>SXT</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Colistine</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Nitrofurane</b>		0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Chloramphenicol</b>		0	0	0	<b>2</b>	0	0	0	0	0

I- Intermédiaire, R- Résistant

**Tableau n° 12 : Différents antibiotiques auxquels les sérotypes montrent une résistance.**

	<b>S. Kentucky</b>	<b>S. Saint paul</b>	<b>S. East borne</b>	<b>S. Typhimurium</b>	<b>S. Infantis</b>	<b>S. Muenster</b>	<b>S. Anatum</b>	<b>S. Mbandaka</b>	<b>S. Elom Rane</b>
<b>Ampicilline</b>	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	50%	50%
<b>Augmentin</b>	0	0	0	100%	0	0	0	0	0
<b>Céfazoline</b>	72,72%	66,66%	20%	50%	100%	60%	50%	50%	0
<b>Imipenème</b>	27,27%	33,33%	80%	50%	0	60%	100%	0	100%
<b>Ticarcilline</b>	0	0	0	100%	0	0	0	0	0
<b>Ciprofloxacine</b>	18,18%	0	0	0	0	0	0	0	
<b>Ofloxacine</b>	54,54%	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Ac nalidixique</b>	100%			100%					
<b>Chloramphenicol</b>	0	0	0	100%	0	0	0	0	0

## **II.5. Détermination des facteurs de risques:**

### **II.5.1. Détermination des facteurs de risque de contamination des élevages :**

La recherche des facteurs de risque de la contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles a été réalisée à travers une enquête épidémiologique de type cas – témoin.

#### **II.5.1.1. Exposition à la saison :**

Les études statistiques ont permis de mettre en évidence une association statistiquement significative entre l'exposition à la saison ( $> 28^{\circ} \text{C}$ ) et la contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles, où l'exposition à la température (été) augmente presque 13 fois le risque de contamination des élevages.

#### **II.5.1.2. Stabulation libre:**

Les études statistiques obtenues, montrent une association statistiquement significative entre la stabulation et la contamination des élevages, où la stabulation libre augmente 4 fois le risque de contamination des élevages par les salmonelles.

## II.5.2. Détermination des facteurs de risque de contamination du lait de troupeau par les salmonelles :

### II.5.2.1. Chiffonnettes :

Les résultats statistiques ont démontré que l'association entre la contamination des chiffonnettes et la contamination du lait de troupeau est statistiquement significative, où elles augmentent 17 fois la contamination du lait de troupeau par les salmonelles.

### II.5.2.2. Matières fécales :

Les résultats statistiques nous permettent de conclure que l'association entre les matières fécales et la contamination du lait de troupeau par les salmonelles est statistiquement significative, où elles augmentent 16 fois la contamination du lait de troupeau par les salmonelles.

### II.5.2.3. Lisier:

Les résultats statistiques ont montré que l'association entre la contamination du lisier et la contamination du lait de troupeau par les salmonelles est statistiquement significative, où il augmente 7 fois la contamination du lait de troupeau par les salmonelles. .

**Tableau n° 13 :** Tableau récapitulatif des facteurs de risque de contamination des élevages bovins laitiers.

Variables	Cas	Témoins	Odds ratio	Intervalle de confiance	Probabilité P
La saison (> 28° C)	28 2	26 24	12,92	[2,63- 56,26]	< 0,001
Stabulation	18 12	12 38	4,75	[1,78 - 12,67]	< 0,001

**Tableau n° 14 :** Tableau récapitulatif des facteurs de risque de contamination du lait de troupeau.

Variables	Cas	Témoins	Odds ratio	Intervalle de confiance	Probabilité P
Chiffonnettes	3 2	6 69	17,25	[2,41 - 121,51]	< 0,001
Matières fécales	4 1	15 60	16	[1,49- 170,71]	< 0,001
Lisier	3 2	12 63	7,75	[1,2 - 49,40]	< 0,02

### **III. Discussions :**

#### **III.1. Typologie des élevages:**

L'enquête effectuée sur l'ensemble des élevages bovins laitiers visés par cette étude, montre que 29 élevages étaient conformes soit un taux de 36,25 %, présentent un environnement convenable, infrastructure bien aménagée, le sol couvert de béton, branchés aux réseaux d'assainissement, une hygiène moyenne, un personnel qualifié, dotés en équipements nécessaires à la production du lait de qualité hygiénique satisfaisante. L'alimentation est à base de maïs, de tourteau de soja, de luzerne, de paille et d'ensilage (24,13 %, n = 7 utilisent ce type d'aliment).

La totalité de ces élevages ne couvrent pas le sol par la litière de paille pour protéger les pis de toutes sortes de contaminations fécales, rendant les pis malpropres au moment de la traite.

L'approvisionnement en eau potable est assuré par les puits, et les camions citernes, qui ne sont pas contrôlés. L'utilisation des registres de suivi médical était restreinte, 07 élevages uniquement disposent de ce formulaire, mettant en danger la qualité sanitaire du lait collecté, par le non-respect du délai d'attente des antibiotiques (problèmes de résidus).

10 élevages seulement disposent d'une aire d'isolement pour les nouveaux animaux afin de limiter le contact entre les anciens et les nouveaux animaux, au moins 15 jours pour s'assurer que les nouveaux animaux seront indemnes de toutes sortes de pathologies, et 6 élevages uniquement disposent de boxes d'isolement pour les animaux malades subissant un traitement médical.

L'ensemble des établissements ne sont pas dotés de groupe électrogène, utilisé en cas de coupure de courant d'électricité, mettant en danger la qualité microbiologique du lait de troupeau collecté.

Cependant, 51 élevages étaient non conformes soit 63,75 % de l'ensemble des élevages étudiés, considérés comme des établissements traditionnels, possèdent une à deux étables, couverts de plaques de zinc, le nombre de fenêtres est limité, rendant les étables moins aérés, le sol n'est pas couvert de béton, les étables ne sont pas branchés aux réseaux d'assainissement, en créant des fosses septiques dans le cantonnement des élevages, exposant les établissements aux divers dangers (insectes, rats, animaux sauvages, etc...), les équipements se limitent au strict minimum. L'hygiène de l'environnement, et des équipements est médiocre, le même cas de figure s'applique aux boxes d'isolement des animaux malades.

L'abreuvement des animaux de 40 élevages soit 78,43 % de la deuxième catégorie, s'effectue à travers les sources, les puits, les camions citerne, qui ne sont pas contrôlés.

L'alimentation est assurée durant toute la journée dans le pâturage, avec de suppléments en fin de journée, donc on ne trouve pas le mode de stabulation libre dans ce type d'élevage. Ils ne disposent pas de système de réfrigération, et la traite s'effectue manuellement, exposant le lait de troupeau collecté à la contamination.

L'absence totale de registre de suivi médical, dans tous les établissements de cette catégorie.

L'entretien tenu avec les propriétaires des élevages sur l'utilisation des produits vétérinaires (antibiotiques), sans l'intervention d'un vétérinaire, était affirmatif pour 73 propriétaires, soit un taux 91,25 % de l'ensemble des élevages, ils les considèrent comme un remède universel face aux problèmes de mammites, des affections respiratoires, sans faire respecter le délai d'attente, et sans se soucier des problèmes de l'antibiorésistance.

### **III.2. Prévalence de contamination:**

#### **III.2.1. Prévalence de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles:**

Cette étude a pu montrer que parmi les 80 élevages ciblés, 30 étaient contaminés par les salmonelles, soit une prévalence de 37,5 % (voir tableau n° 8).

Plusieurs facteurs pourraient être à l'origine de cette prévalence élevée: Nous citons en premier lieu, le non-respect des normes relatives à l'hygiène, et l'absence totale des pratiques de gestion d'élevage. Dans une étude similaire menée par Heuchel et coll., 2000, ils ont déterminé l'hygiène et les pratiques de traite comme un facteur de risque de la contamination du lait collecté. En deuxième lieu, ce taux a été déterminé à partir de l'étude de la contamination de 6 matrices différentes à savoir: le lait, l'eau, la matière fécale, le lisier, l'aliment, et les chiffonnettes, auxquels, un élevage est déclaré positif, si l'une de 6 différentes matrices révèle le genre *Salmonella*. Au cours de la première période d'étude, 26 élevages étaient concernés, soit 32,5 % des élevages étudiés, nous avons enregistré une prévalence de 7,69 %.

Par contre dans la deuxième période, où le nombre d'élevages ciblés était de 54 élevages, soit un taux de 67,5 % de l'ensemble des élevages, la prévalence était de 51,85 % (voir tableau n° 8).

Cette différence de prévalence observée entre ces deux périodes peut être expliquée par l'augmentation du nombre de prélèvements qui est passé de 260 prélèvements lors de premier épisode à 540 prélèvements au cours de la deuxième période, mais également à l'effet de la saison (température supérieure à 28° C), qui a été déterminée comme un facteur de risque de contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles, elle augmente presque de 13 fois le risque de contamination des élevages bovins laitiers. Cette association n'est pas surprenante, car plusieurs études ont déjà observé cette association, telles que celles menées par Fossler et coll, où ils ont également étudié l'association entre l'exposition à la saison et la contamination des élevages (2005), où l'effet saisonnier a été noté, puisque la détection de salmonelles était plus probable dans les mois d'été (OR = 2,4; IC 95 % = 1,5 - 3,7), que dans les autres saisons (Aubry, 2010).

Une autre étude effectuée au Tennessee (USA) rapporte une proportion d'échantillons positifs (animaux et environnement) généralement plus élevée lorsque la température était plus élevée (été > printemps ou automne > hiver) (Pangloli et coll., 2008).

Une étude plus récente, effectuée dans une grosse ferme laitière du sud-ouest des États-Unis, fait état d'une prévalence d'excrétion fécale très variable, allant d'un maximum de 96 % durant le mois d'août à un minimum de 19 % au mois d'octobre (Edrington et coll., 2008).

#### **III.2.2. Fréquence de contamination des différentes matrices étudiées par les salmonelles :**

##### **III.2.2.1. Fréquence de contamination du lait de troupeau par les salmonelles:**

La prévalence enregistrée était de 6,25 % (n = 5), et tous les cas étaient enregistrés durant la deuxième période, cela est également en relation avec le nombre des sérovars isolés en deuxième période. D'après l'enquête relative à la recherche des données sur la fréquence de contamination du lait de troupeau dans la wilaya de Constantine, effectuée au sein du laboratoire régionale vétérinaire, la direction des services vétérinaires de la wilaya de Constantine, l'institut vétérinaire d'El-Khroub, le SNDL, nous n'avons pas trouvé une étude révélant la fréquence de contamination du lait de troupeau par les salmonelles.

Par contre, une étude similaire effectuée en France, portant sur la prévalence de contamination du lait de troupeau de 40 élevages durant 1997- 1999 (Heuchel V et coll., 2000), montrait que

9,4 % du lait de troupeau collecté était contaminé par les salmonelles, apparu plus voisin au taux obtenu dans notre étude.

Dans une autre étude effectuée au Canada, une fréquence de 2,9 % a été observée au cours d'une enquête effectuée en 1986 sur un échantillon de près de 500 exploitations laitières recrutées au hasard dans l'Ontario (Aubry, 2010).

Le taux relativement élevé de la prévalence enregistré au cours de notre étude peut être le résultat de l'association de plusieurs facteurs, à savoir, le non-respect des normes relatives à l'hygiène de l'environnement ou lors de la traite, l'absence totale de l'application des bonnes pratiques de gestion d'élevage, et l'absence de la recherche des salmonelles non typhiques au moment de la réception de lait.

#### **III.2.2.2. Fréquence de contamination du lisier par les salmonelles:**

La fréquence était de 18,75 (n = 15), dont un cas a été enregistré dans le premier épisode, et les 14 autres cas ont été enregistrés dans le deuxième épisode, cette augmentation est expliquée par le nombre d'isolats enregistrés dans la seconde période, et à la multiplication des salmonelles dans un environnement approprié où la température était supérieure à 28° C, facilitant leur isolement.

Ce résultat était plus élevé que ce qui a été rapporté par la littérature, où une étude française montrait que 10 élevages sur 95, soit un taux d'isolement de (10,52 %) étaient contaminés par les salmonelles (Heuchel V et coll., 2000).

Cette augmentation, peut être expliquée surtout par le non-respect des normes relatives à l'hygiène, à l'absence totale des bonnes pratiques de gestion, au dépôt du fumier dans l'entourage des élevages, à la non maîtrise des opérations de nettoyage et désinfection et à la négligence et à l'inconscience des propriétaires et des éleveurs envers la salubrité du lait, ce qui va aboutir à un lait très contaminé, ou l'existence des antécédents de salmonelloses cliniques et l'effet de l'existence des autres ateliers (basse-cour).

#### **III.2.2.3. Fréquence de contamination des chiffonnettes (les surfaces) par les salmonelles :**

La fréquence a été estimée à 11,25 % (9 cas), tous les cas étaient enregistrés dans la deuxième période, ce qui peut être expliqué par l'augmentation de la température dans la deuxième période où la température était supérieure à 28° C, favorisant leur multiplication dans l'environnement.

Ce résultat est inférieur à celui rapporté par la littérature, où une étude française en 2003 montrait, pour un nombre d'élevage de 80, que 16,7 % de lavettes étaient contaminées (Anonyme, 2013).

Cela peut être expliqué par l'absence des antécédents de salmonelloses dans les semaines qui précèdent notre étude ou bien la nature de la méthode d'analyse adoptée.

#### **III.2.2.4. Fréquence de contamination des matières fécales par les salmonelles:**

C'est la matrice la plus contaminée par les salmonelles, elle représente un taux de 28,75 % (23 cas), dont 2 cas ont été enregistrés dans le premier épisode, et 21 cas durant le deuxième épisode, cette accroissement du nombre d'isolats peut être expliquée par l'augmentation de la température dans la saison de l'été, où elle était supérieure à 28° C, et à l'augmentation d'excrétion des portages asymptomatiques.

Notre résultat confirme que le premier réservoir de salmonelles est l'intestin des animaux, ces derniers sont considérés comme des portages asymptomatiques (Camart- Périé A, 2006).

Le nombre élevé des isolats à partir de la matière fécale, pourrait indiquer un portage assez important dans nos vaches laitières. Cela peut être expliqué par des antécédents de salmonellose, ou le problème d'antibiorésistance.

Ce dernier résultat représente un taux élevé de contamination de la matière fécale mais en accord avec une prévalence retrouvée dans une étude française visant à déterminer les facteurs de risque de contamination des élevages bovins (Heuchel V et coll., 2000), où la prévalence était de 25 %.

Une autre étude, mais cette fois ci, elle est américaine, menée par The National Animal Health Monitoring System (NAHMS) en 2007, où le taux d'isolement était de 13,7 %, étant moins élevé par rapport au taux apporté dans notre étude, cette baisse de taux reflète un nombre moins élevé en portage salmonellique, qui est le résultat probablement des mesures appliquées pour les nouveaux animaux et les malades et également de l'efficacité de l'antibiothérapie.

### **III.2.2.5. Fréquence de contamination de l'eau et de l'aliment par les salmonelles :**

Elles sont apparues les matrices les moins contaminées, avec un taux de 1,25% pour chacune de ces deux matrices.

Ce dernier résultat (aliment) montrait un taux plus faible, par rapport aux résultats portés par (Sapkota et coll., 2007), estimant que 9,8 % à 56 % d'échantillons d'aliments pour bétail étaient contaminés par *Salmonella* spp.

Une autre étude française sur la prévalence de contamination de l'eau a montré un résultat similaire (2,5 %) de notre résultat, (Heuchel V, 2000). Ce faible pourcentage, peut être expliqué par le type d'aliment visé par notre étude (ensilage, luzerne, maïs, blé tendre), ou bien la présence d'antibiotiques dans ces derniers, ou bien que les aliments contiennent des concentrations de salmonelles inférieures à  $10^{-1}$  CFU / g, rendant l'obtention de culture positive par les analyses microbiologiques classiques impossible (Aubry, 2010).

### **III.3. Distribution des sérotypes:**

Cette étude a révélé 9 types de sérovars, en ordre décroissant, à savoir :

*S. Muenster*, (37,03 %, n = 20), *S. Kentucky* (20,37 %, n = 11), *S. Eastbourne* (9,25 %, n = 5), *S. Infantis*, (9,25 %, n = 5), puis *S. Mbandaka* (7,4 %, n = 4), *S. Saintpaul* (5,55 %, n = 3), et finalement, *S. Typhimurium*, *S. Anatum*, *S. Elomrane* (3,70 %, n = 2), pour chacune d'elles. Ces résultats étaient proches à ceux rapportées par une étude américaine (2007), où les sérotypes les plus fréquemment isolés dans 121 troupeaux laitiers représentatifs de différentes régions (17 états) étaient, en ordre décroissant, *Salmonella* Cerro, Kentucky, Montevideo, Muenster, Meleagridis, Mbandaka et Newport (Anonyme, 2009b).

Une étude similaire, mais cette fois ci en 2002, les sérotypes les plus fréquemment isolés dans 97 troupeaux laitiers représentatifs de 19 états, étaient en ordre décroissant, *S. Kentucky*, *S. Montevideo*, *S. Mbandaka*, *S. Meleagridis*, *S. Newport*, *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Muenster*, *S. Typhimurium* (Anonyme, 2009b). Notre résultat témoigne d'une prédominance de certains sérovars à savoir, *Salmonella* Muenster et *Salmonella* Kentucky dans nos élevages bovins laitiers. Par contre, en France et aussi dans d'autres pays européens, *S. Typhimurium* est le sérovar le plus fréquemment retrouvé chez les bovins, selon les données de l'inventaire des *Salmonella* du Centre national d'études vétérinaires et alimentaires, Paris (CNEVA) (1994-1995), *S. Typhimurium* représente 66,6 % de la totalité des souches isolées d'origine bovine,

alors qu'il y a dix ans encore le sérovar Dublin était prédominant. Cette prédominance peut être expliquée par plusieurs auteurs par le fait que certains sérovars peuvent disparaître ou apparaître d'une manière inexplicable d'une année à une autre (Elgroud R, 2008), elle peut être aussi liée au nombre et à la nature des matrices visées par ces études (matière fécale, lait). Par contre notre étude a visé six différentes matrices (lait, l'eau, l'aliment, la matière fécale, le lisier, et les chiffonnettes).

Cette étude a permis aussi de répartir les souches sur les différentes matrices étudiées :

**Matière fécale** : 45 % (n = 9) *S. Muenster*, 20 % (n = 4) *S. Eastbourne*, 20 % (n = 4) *S. Infantis*, 10 % (n = 2) *S. Kentucky*, 10 % (n = 2) *S. Mbandaka*, 5 % (n = 1) *S. Sainpaul*, 5 % (n = 1) pour *S. Typhimurium*.

Ce résultat concorde avec ceux obtenus par Callaway et coll (2005), où les sérovars les plus isolés sont, *S. Montevideo* et *S. Muenster*.

La prédominance de *S. Muenster* dans les excréments témoigne que nos vaches constituent le premier réservoir de ce sérovar, et que l'absence de surveillance périodique augmente sa propagation entre les vaches laitières.

**Chiffonnettes** : 55,55 % (n = 5) *S. Muenster*, 22,22 % (n = 2) *S. Kentucky*, 11,11% (n = 1) *S. Eastbourne*, 11,11 % (n = 1) *S. Anatum*.

Ce résultat confirme les résultats obtenus par Callaway et coll (2005), où les sérovars les plus isolés sont, *S. Montevideo* et *S. Muenster*.

Par contre une autre étude menée par Edrington et coll., 2004, montrait que les sérovars les plus rencontrés sont, *S. Mbandaka*, *S. Montevideo*, *S. Kentucky* et *S. Senftenberg*.

La prédominance de *S. Muenster* dans l'environnement reflète que la contamination de l'environnement était à l'origine des déjections animales.

**Lisier** : 33,33 % (n = 5) de *S. Muenster*, 20 % (n = 3) de *S. Kentucky*, 13,33 % (n = 2) de *S. Sainpaul*, 13,33 % (n = 2) de *S. Mbandaka*, 6,66 % (n = 1) de *S. Infantis*, 6,66 % (n = 1) de *S. Typhimurium*, 6,66 % (n = 1) *S. Anatum*.

**Lait** : 80 % (n = 4) *S. Kentucky*, 20% (n = 1) *S. Muenster*.

Ce résultat était en accord avec une étude américaine, dont laquelle l'auteur a montré que les sérotypes les plus fréquemment isolés du lait de réservoir étaient *S. Cerro*, *S. Kentucky*, *S. Muenster*, *S. Anatum* et *S. Newport* (Anonyme, 2009b).

Le résultat obtenu dans notre étude montre que la contamination de l'environnement a une grande incidence sur la qualité bactériologique de lait, témoignant aussi d'un niveau d'hygiène médiocre.

**L'eau** : 100 % (n = 1) *S. Elomrane*.

**L'aliment** : 100 % (n = 1) *S. Elomrane*.

La présence de ce type sérovars uniquement dans ces deux dernières matrices, nous laisse penser que leur contamination était soit le résultat de la présence d'autres ateliers (basse-cour), ou bien ces matrices étaient contaminées avant son introduction aux élevages.



### III.4. Antibiorésistance :

L'étude l'antibiogramme a permis de nous renseigner sur l'état de résistance de différentes souches isolées envers les antibiotiques testés.

Les souches isolées de différentes matrices, ont montré dans leur ensemble, une résistance à 94,44 % (n = 51) à l'Ampicilline, 59,25 % (n = 32) à la Céfazoline, 46,29 % (n = 25) à l'imipénème, 24,07 % (n = 13) à l'Acide nalidixique, 11,11 % (n = 6) à l'Ofloxacin, 3,7 % (n = 2) à l'Augmentin, 3,7 % (n=2) à la Ticarcilline, 3,7 % (n = 2) à la Ciprofloxacine, , , 3,7 % (n = 2) au Chloramphénicol.

14,81 % (n = 8) présentaient une résistance intermédiaire à la Ciprofloxacine, et 9,25 % (n = 5) à l'Ofloxacin.

Des études européennes menée par The European Food Safety Authority (2009), portant sur l'évaluation de l'antibiorésistance des *Salmonella.spp* isolées à partir des bovins, montraient les résultats suivants ;

En Hollande, sur 82 isolats, 20 % étaient résistants à l'AM, 4 % au C, 5 % à la CIP, 5 % à l'AN.

En Suède, sur 43 isolats, 7 % étaient résistants à l'AM, 0 % au C, 2 % à la CIP.

En Irlande, sur 25 isolats, 92 % étaient résistants à l'AM, 80 % au C, 92 % aux sulfamides et à la Tétracycline.

En Allemagne, sur 221 isolats, 45 % étaient résistants à l'AM, 0,9 % à la CXT, 10 % au C, 48 % et 45 % successivement aux Sulfamides et à la Tétracycline.

En Espagne, sur 29 isolats, 7 % étaient résistants à l'AM, 3 % au C, 0 % à la CIP, et l'AN, 14 % aux sulfamides et à la Tétracycline.

Les salmonelles isolées au cours de notre étude, étaient plus résistantes que celles préalablement citées, mais en accord avec une étude sur la filière aviaire, effectuée par Elgroud R, en 2008, cette multirésistance peut être expliquée par l'utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques, ou l'émergence des plasmides de résistance.

Le centre national de référence de l'institut Pasteur en France (2011) (Weill F X, 2011), a montré que sur 115 souches étudiées, 76,5 % étaient résistantes à l'AM, 58,2 % à la GEN, 82,6 % à l'AN, 82,6 % à la CIP, 1,7% au C, 2,6 % à la CAF (Ceftazidime = C 3G), dont lequel, le bilan était proche de notre résultat, exception uniquement faite pour les céphalosporines de troisième génération ( C3G) et la gentamicine (GEN) où les salmonelles étaient sensibles à 100 %, cela peut être expliquée par la non utilisation de ce type de médicament par nos éleveurs (produit très cher), ou par la non émergence des gènes responsables à ce genre de résistance.

Un résultat très surprenant a été révélé par notre étude, 100 % (n = 11) de *S. Kentucky* étaient résistantes à l'Acide nalidixique, même les fluoroquinolones, 54,54 % (n = 6) étaient résistantes à l'ofloxacin, 18,18 % (n = 2) étaient résistantes à la ciprofloxacine, tandis que 45,45 % (n = 5) présentaient des résistances intermédiaires à l'ofloxacin, 72,72 % étaient intermédiaires à la ciprofloxacine, limitant leur utilisation dans le traitement de salmonellose humaine ou animale, alors que les fluoroquinolones étaient un remède pour le traitement de dernier recours de la salmonellose.

En réalité cette antibiorésistance aux fluoroquinolones n'est pas récente, elle avait été constatée pour la première fois en décembre 2002 en France chez un touriste français qui avait souffert d'une gastroentérite au cours d'une visite en Egypte (Anonyme, 2013).

Un autre sérovar s'est fait singulièrement remarquer, il s'agit de *S. Typhimurium*, où la résistance des 2 souches isolées était à 100 % pour les antibiotiques suivants : l'ampicilline, l'augmentin, la técarcilline, l'acide nalidixique, et le chloramphénicol.

Une étude française récente (Petit E, 2010) menée par des laboratoires départementaux d'analyses de Bourgogne, visant à déterminer l'antibiorésistance des souches *S. Typhimurium*.

Le résultat montrait que ce sérovar était penta résistant, à l'ampicilline (100 %), augmentin (100 %), acide nalidixique (50 %), fluméquine (100 %), enrofloxacin (50 %). Par contre ces souches étaient sensibles aux céphalosporines de troisième génération, quinolones de deuxième et troisième génération, gentamicine et l'amikacine.

En France, une autre étude menée par le centre national de référence des salmonelles (CNR *Salmonella*), à laquelle une quarantaine de cas de salmonellose à *S. Typhimurium* ont été recensés en avril et mars 2010, présentant une multirésistance (même les C3G), suite à la production simultanément de deux enzymes à savoir; bêta lactamase spectre étendu (BLSE), et une céphalosporinase plasmidique (Anonyme, 2013).

Pour le reste des sérovars, ils montraient en générale une résistance à deux ou trois antibiotiques, provenant probablement de l'émergence d'un plasmide produisant une enzyme (bêta lactamase), ou à l'utilisation anarchique des antibiotiques. Les résultats de l'antibiorésistance présentés par ces serovars, étaient similaires à ceux rapportés par le centre national de référence de l'institut pasteur en France en 2011 (Anonyme, 2013).

Fort heureusement, toutes les souches de salmonelles isolées étaient sensibles à la céphalosporine de 2<sup>ème</sup> génération (Céfoxitine), et à la Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération (Céfotaxime).

Toutes les souches de salmonelles isolées étaient sensibles aux Aminosides (Amikacine, Gentamicine), aux sulfamides (Triméthoprime et Sulfaméthoxazole SXT), à l'acide phosphonique (fosfomycine), cette sensibilité peut être expliquée par l'absence des plasmides de résistances pour ces antibiotiques dans nos élevages (Céphalosporinase AmpC), ou bien que ces antibiotiques ne font pas partie de la liste des produits préférés par les éleveurs lors du traitement informel de leurs vaches surtout lors de mammite, et des affections respiratoires (Ampicilline, Oxytétracycline, Streptomycine, Pénicilline).

### **III.5. Facteurs de risque de contamination des élevages bovins laitiers et du lait de troupeau :**

L'enquête effectuée durant cette recherche, nous a permis, de soupçonner certains facteurs de risque de contamination pour les élevages, mais les études statistiques ont permis de montrer deux facteurs de risque responsables de la contamination des élevages, montrant une association statistiquement significative. Les prélèvements effectués durant la deuxième période où la température était supérieure à 28° C, OR = 12,92 – IC à 95 % était [2,63 – 56,26], avec  $p(20,26) < 0,0001$ , signifiait une association statistiquement significative, et que la température

(> à 28° C) augmente presque 13 fois le risque de contamination des élevages de bovins laitiers. Cette association n'est pas surprenante, et elle est portée par plusieurs études. L'augmentation de la contamination des élevages bovins laitiers durant les mois d'été, peut être expliquée par l'effet positif de la température d'une part sur la multiplication des salmonelles, et d'autre part par l'augmentation de l'excrétion des salmonelles suite au stress.

Les prélèvements effectués dans les élevages subissant une stabulation libre, OR = 4,75- IC à 95 % était [1,78 – 12,67], avec  $p(10,2) < 0,001$ , montrait une association statistiquement significative, et que la stabulation augmente presque 5 fois le risque de contamination des élevages par les salmonelles. Cette association n'est pas surprenante, elle est démontrée par plusieurs auteurs, cette augmentation de l'excrétion peut être liée à l'effet de stress.

Concernant le lait, et suivant les résultats bactériologiques des différentes matrices, nous avons prouvé statistiquement l'influence du lisier, de la matière fécale, des chiffonnettes (les surfaces), sur la contamination du lait de troupeau par les salmonelles, montrant une association statistiquement significative. Cette contamination reflète une hygiène médiocre de l'environnement, et au moment de la traite.

Les élevages montrant une contamination du lisier, OR = 7,75, IC à 95 % [5,83 – 49,40], avec  $p(5,83) < 0,02$  justifiait une association statistiquement significative, et que la contamination du lisier augmente 4 fois le risque de contamination du lait de troupeau par les salmonelles.

Les élevages montrant une contamination des chiffonnettes, OR = 17,75, IC à 95 % [2,41 – 121,51], avec  $p(12,24) < 0,001$ , justifiait une association statistiquement significative entre l'exposition à la contamination des chiffonnettes et la contamination du lait de troupeau.

Les chiffonnettes contaminées augmentent 16 fois le risque de contamination du lait de troupeau.

Les élevages montrant une contamination de la matière fécale OR = 16 IC à 95 % [1,49 – 170,71] avec  $p(7,32) < 0,001$ , justifiait une association statistiquement significative entre l'exposition à des matières fécales contaminées par les salmonelles, et la contamination du lait de troupeau. La matière fécale contaminée par les salmonelles augmente 16 fois le risque de contamination du lait de troupeau.

## CONCLUSION :

Grace à la disponibilité et l'amélioration des moyens dans la deuxième période nous avons étudié 40 % (n = 80 élevages) des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine, ainsi, tous les objectifs visés dans cette recherche étaient réalisés et atteints.

Cette étude nous a fourni un résultat satisfaisant en matière, de typologie des élevages bovins laitiers, leur classification permet de ressortir 2 types d'exploitation à savoir :

36,25 % (n = 29) des élevages visités étaient conforme (traditionnels ou modernes), dotés d'équipements, présentant une hygiène acceptable, d'investissement moyen, disposant d'un système de réfrigération, la traite s'effectue mécaniquement (machine à traire), évitant le contact direct entre le manipulateur et le lait, le milieu offre un environnement adéquat pour la production de lait de qualité bactériologique satisfaisante.

Malheureusement, 51 élevages qui représentent la majorité des établissements (63%) étaient non conforme, traditionnels de faible investissement, et de petite taille, présentant un environnement inadéquat aux vaches laitières, et à la production du lait de qualité microbiologique satisfaisante, la traite s'effectue manuellement, de plus ces élevages ne disposent pas d'un système de réfrigération pour le stockage du lait collecté (> à 4 heures), entraînant une forte contamination bactérienne de ce dernier.

Les analyses des différentes matrices dans ces élevages (la matière fécale, le lisier, chiffonnettes, le lait, aliment, l'eau) nous permettent d'estimer la prévalence de la contamination des élevages bovins laitiers de la wilaya de Constantine par les salmonelles, elle a été estimée à 37,5 % (n = 30 élevages), et la fréquence de contamination de chaque matrice étudiée. Les 54 souches de salmonelles spp étaient réparties de la façon suivante ;

L'eau (1,25 %), l'aliment (1,25 %), le lait (6,25 %) chiffonnettes (11,25 %), le lisier (18,75 %), la matière fécale (28,75 %).

Ce résultat témoigne que l'intestin des animaux représente le principal réservoir de salmonelles.

L'étude de la formule antigénique de chaque souche identifiée, a permis de mettre en évidence 9 différents types de sérovars (*S. Muenster*, *Kentucky*, *Infantis*, *Eastbourne*, *Mbandaka*, *Anatum*, *Elomrane*, *Saintpaul*, *Typhimurium*) avec une prédominance des *S. Muenster*.

Au cours de cette recherche un problème sérieux était relevé, c'est l'utilisation anarchique des antibiotiques par les éleveurs, sans consulter le clinicien, ni le respect de délai d'attente, mettant en danger la santé des consommateurs soit par la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait, ou l'effet des réactions allergiques et l'apparition de l'antibiorésistance.

L'étude de l'antibiogramme a fourni des informations très importantes, par l'apparition des profils d'antibiorésistance envers plusieurs antibiotiques, c'était le cas de ;

- *S. Typhimurium* étaient résistantes à 100% envers l'ampicilline, l'augmentin, la ticarcilline l'Acide nalidixique et au chloramphénicol. Et 50 % envers la céfazoline, et l'imipénème ; il s'agit donc d'une souche mutirésistante, cette résistance peut être expliquée par l'émergence d'un plasmide responsable de l'excrétion de bétalactamase, ou par l'utilisation anarchique des antibiotiques. Tant mieux, si ce type de sérovar ait été sensible aux fluoroquinolones (ciprofloxacine, ofloxacine), et aux céphalosporines de troisième génération (C3G), témoignant de la non émergence des plasmides responsables de l'excrétion des enzymes de résistance (BLSE, AMPC).

- Et les *S. Kentucky*, où elles étaient résistantes à 100 % envers l'ampicilline et l'acide nalidixique, 72,72 % à la céfazoline, 27,27 % à l'imipénème.

Pour les fluoroquinilones, la résistance était 18,18% pour la ciprofloxacine et 54,54% pour l'ofloxacine).

Même 72,22% de *S. Kentucky* présentaient de résistances intermédiaires contre la ciprofloxacine, et 45,45 % contre l'ofloxacine.

D'après la littérature, cette résistance préalablement citée peut être le résultat de la présence d'un clone nommé X<sub>1</sub>-ST198.

Dans ce cas, la ciprofloxacine et l'ofloxacine ne doivent pas être prescrits en cas de salmonellose à *S. Kentucky*. Alors qu'ils étaient le traitement de choix pour les salmonelloses humaines.

Pour les autres sérovars, ils présentaient une multi résistance envers 2 ou 3 antibiotiques.

Fort heureusement que la totalité des sérovars identifiés étaient sensibles aux antibiotiques suivants: céphalosporine 2<sup>ème</sup> génération (céfoxitime), céphalosporine 3<sup>ème</sup> génération (céfotaxime), aminosides (gentamicine, amikacine, colistine), acide phosphorique (fosfomycine), les sulfamides (trémitoprim + sulfaméthoxazole), et aux nitrofurals (FT).

Les études statistiques ont permis de mettre en évidence une association statistiquement significative entre l'exposition à la température et la stabulation d'une part, et la contamination des élevages bovins laitiers par les salmonelles d'autre part.

Ces deux facteurs de risque, la température et la stabulation libre, augmentent respectivement de 13 et 4 fois le risque de contamination des élevages par les salmonelles.

Le risque de contamination du lait de troupeau était associé à l'exposition de l'excrétion de matière fécale, de l'environnement, et du lisier contaminé.

La contamination par les salmonelles du lait de troupeau est également augmentée:

16 fois lors de l'exposition à la matière fécale contaminée

17 fois lors de l'exposition à la contamination de l'environnement (chiffonnettes).

7 fois lors de l'exposition aux lisiers contaminés.

Face à la prévalence de la contamination des élevages bovins, et du lait de troupeau, relativement élevée, à l'apparition de sérovars multirésistants, et au problème de résidus d'antibiotiques, il est nécessaire d'adopter un système de surveillance national dirigé par les DSV (direction des services vétérinaires), en collectant les données et les informations à partir de la direction des services vétérinaires (DSV) de chaque wilaya, au travers les laboratoires régionaux, visant à:

- Déterminer la prévalence de la contamination des élevages bovins laitiers aussi bien à l'échelle régionale qu'à l'échelle nationale.
- Proposer un carnet de santé et d'identification pour chaque vache, pour que la traçabilité soit maîtrisée.
- Déterminer les sérotypes les plus fréquemment isolés.
- Faire un contrôle obligatoire des résidus d'antibiotiques dans le lait collecté.
- Programmer une formation continue pour les éleveurs, basée surtout sur l'hygiène, les conséquences de l'utilisation informelle des antibiotiques, et sur les dangers potentiels causés par la consommation du lait contaminé.
- Déterminer l'antibiorésistance des sérovars isolés.
- Surveiller l'utilisation des antibiotiques.
- Prescription des antibiotiques selon les connaissances épidémiologiques.

## Bibliographie

- **Anonyme, 2014.** Salmonella en France, archives de la liste hygiène, [http : www.liste.hygiene.org/arcsalmonellatiacfrance.html](http://www.liste.hygiene.org/arcsalmonellatiacfrance.html) consulté le 12/01/2014.
- **Anonyme .2013.** Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations : de l'animal à l'Homme, Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation N° 53 / spécial antibiotiques et antibiorésistances, pp 2 - 4.
- **Anonyme, 2013 c.** Salmonellose, <http://www.biojobblog.com/Salmonella.jpg>, consulté le 14/03/2013.
- **Anonyme, 2012 a,** Biokar diagnostic ; Bouillon de MÜLLER-KAUFFMANN au Tétrathionate-Novobiocine (MKTn), pp 1-5, [www.biokar- diagnostis.fr](http://www.biokar-diagnostis.fr), consulté le 25/05/2012.
- **Anonyme, 2012b.** Risques microbiologiques alimentaires dans les produits d'origine animale : Surveillance et évaluation, Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire (hors serie), pp 25 - 28.
- **Anonyme, 2012 c.** Communication, Laboratoire régional vétérinaire Elkhroub, 02/05/2012.
- **Anonyme, 2013d.** Food borne illness <http://www.ers.usda.gov/data/foodborneillness/>, vu le 13/03/2013.
- **Anonyme, 2011.** The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009, European Food Safety Authority (EFSA), Journal 2011;9(7):2154, consulté le 12/03/2014.
- **Anonyme, 2009 b.** United States Department of Agriculture (USDA). Salmonella and Campylobacter on U.S. Dairy Operations, 1996–2007, pp 2-4, non publié.
- **Anonyme, 2008.** Dossier restauration, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), pp ; 1, consulté le 10/01/2012.
- **Anonyme. 2005.** Implication du lait et des produits laitiers dans les maladies infectieuses d'origine alimentaire en France de 1988 à 2003, Bulletin Epidémiologique N° 16 de l'année 2005. pp 1- 2.
- **Anonyme, 2004.** Risques alimentaires : état des lieux en France, Agence française de sécurité sanitaire des aliments et Institut de Veil Sanitaire, pp ; 1-4. Consulté le 26/05/2013. [WWW.bazin-conseil.fr](http://WWW.bazin-conseil.fr)
- **Anonyme, 2003 a.** Liste des méthodes de références pour le contrôle officiel de lait et des produits laitiers dans la ferme, directive 92/46 modifiée version 3, 2003. Afssa, pp1-2
- **Anonyme, 1998.** Critères microbiologiques relatifs à certains produits alimentaires, Journal Officiel de l'Algérie 1998, consulté le 05/05/2012.
- **Arsenault, J., Lettelier, A., Quessy, S., Morin, J.P., Boulianne, M. 2007.** Prevalence and risk factors for Salmonella and Campylobacter spp. carcass contamination in turkeys slaughtered in Quebec. Canada. Journal of Food Protection 70, 1350- 1359.
- **Aubry P. 2013.** Les salmonelloses, Actualités 2013, pp 1- 4, non publié.
- **Aubry P. 2012.** Les salmonelloses, Actualités 2012, pp 1- 3, non publié.
- **Aubry P, 2010.** Salmonellose chez les bovins laitiers ; Présentation clinique et culture bactériologique, mémoire présenté à la faculté de médecine vétérinaire de Canada, en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en sciences vétérinaires option épidémiologie, pp 133.

- **Ben-Mahdi, M H., Ouslimani, S.,** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'Algérois, European Journal of Scientific Research, Vol.36 No.3 (2009), 357-362.
- **Bondolet- Cadot E, 2001.** Salmonella Typhimurium DT104 : Bactériologie, épidémiologie, antibiorésistancemémoire présenté à la faculté de médecine de créteil, en vu de l'obtention du grade de docteur vétérinaire pp 99.
- **Bornet, G. 2000.** Le poulet sans salmonelles : Mythe ou réalité? Rev.med.vet.151, 12: 1083-1094.
- **Brisadois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A.** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers ; Situation en France et en Europe, revue scientifique et technique 16 (1), 452-471.
- **Butaye,P.,Michael,G.B.,Schwarz,S.,Barrett,T.J.,Brisabois,A. et White,D.G. 2006.** The clonal spread of multidrug-resistant non-typhi *Salmonella* serotypes.Microbes Infect. 8 (7): 1891-1897.
- **Camart- Périé, A. 2006.** *Salmonella*, salmonelloses bovines : Etat des lieux, épidémiologie en France, mémoire en vue de l'obtention du titre de docteur vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Al fort, pp 122.
- **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.
- **Camille, D. 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, édition médicale internationale, 429-431.
- **Chabbert, Y. A., 2006.** Introduction dans l'Antibiogramme, Editions ESKA, pp 1.
- **Champion, JL., Autef, F., Blisson, G., Gauthier, D.,** Salmonellose abortive ovine, pp 1- 5 non publié.
- **Cobbold R N., Rice, D H., Davis, M A., Besser, T E., Hancock, D D.** Long-term persistence of multi-drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Newport in two dairy herds. J Am Vet Med Assoc 2006; 228(4):585-591
- **Cody, S H., Abbott, SL., Marfin, AA., Schulz, B., Wagner, P., Robbins, K., Mohle-Boetani, J C., et Vugia, D J.** Two outbreaks of multidrug-resistant Salmonella serotype typhimurium DT104 infections linked to raw-milk cheese in Northern California. JAMA 1999; 281(19):1805-1810.
- **Corbion, B., Joly, A., Laval, A., Martel, J L., Pardon, P., Schelcher, F. 1995.** Salmonellose bovine, G.D.S. info, 1995, 120.
- **Côté, V., Carlier V., 2011.** Qu'est-ce que la salmonellose, pourquoi s'en préoccuper et comment réduire les risques de contamination?, non publié
- **Dechet, A M., Scallan, E., Gensheimer, K., Hoekstra, R., Gunderman-King, J., Lockett, J.,Wrigley, D., Chege, W et Sobel, J.** Outbreak of Multidrug-Resistant Salmonella enterica Serotype Typhimurium Definitive Type 104 Infection Linked to Commercial Ground Beef, Northeastern United States, 2003-2004. Clin Infect Dis 2006; 42(6):747-752.
- **Desjouis, G., Spennick, H., Martel, JL. 1997.** Diagnostic et traitement des salmonelloses cliniques des bovins, Bull. GTV, 1997, 2, 67-72.
- **Devos, N. 2007.** Salmonelles. Enquête dans les élevages européens. La Semaine Vétérinaire, n° 1267 : 24.

- **Edrington, T S., Ross, T T., Callaway, T R., Martinez, C H., Hume, M E., Genovese, K J., Poole, T L., Anderson, R C., Nisbet, D J.** Investigation into the seasonal salmonellosis in lactating dairy cattle. *Epidemiol Infect* 2008; 136(3):381-390.
- **Elgroud R. 2008.** Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine : Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE, thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Vétérinaires, pp 135.
- **Gledel J., 1985.** Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine, *Epidemiol. Sante animale*.1985, 7, 81-84.
- **Giles, N., Hopper, S A., Wray, C.** Persistence of *S. typhimurium* in a large dairy herd. *Epidem. Inf.*, 1989, 103, 235-241
- **Guillemot, D., Brisabois, A., Brugere, H., Leclercq, R., Megraud, F. 2006.** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, Edition AFSSA, pp 44.
- **Goureau, G M., Bendali, F. 2008.** Les maladies des bovins 4<sup>ème</sup> édition, Editions France agricole, pp 59- 64.
- **Guibourdenche, M ., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P I., Bockemühl, J., Grimont, P A D., Weill, F X. 2010.** Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor schème. *Res Microbiol* 2010; 161:26-29.
- **Grimont, P., Grimont, F., Bouvet P. 2000.** Taxonomy of the genus *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing Oxon, 2000, 1-17.
- **Gros, R. 2009.** Techniques microbiologiques : Application en technologie et en biotechnologie, cours, pp 53 – 61.
- **Guiraud, J. P., Rosec J. P., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire, AFNOR, pp 19-20.
- **Gupta, A., Fontana, J., Crowe, C., Bolstorff, B., Stout, A., Van, D S., Hoekstra, M P., Whichard, J M., Barrett, T J., Angulo, FJ et National Antimicrobial Resistance Monitoring System PulseNet Working Group.** Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins in the United States. *J Infect Dis* 2003; 188(11):1707-1716.
- **Hamilton A., Moore, A., Esau, C., Haupstein, D., Anderson, D., Skerritt, M., Sillett, N., Norris, P., Lévesque, P., Tremblay, R. 2010.** Lait canadien de qualité, programme de salubrité des aliments à la ferme, Edition dairy farmers of Canada, pp 9 - 13.
- **Hanes, D. 2003.** Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J. (Eds) *International Handbook of Foodborne Pathogens*, Marcel Dekker : New York, 2003, 137-149.
- **Harouna, Y., Saidou B., 2000.** Les perforations typhiques ; Aspects cliniques, thérapeutiques et pronostiques ; Etude prospective à propos de 56 cas traités à l'hôpital national de Niamey (NIGER), *Médecine d'Afrique Noire* : 47 (6), 268 - 275.
- **Heuchel, V., Meffe, N. 2010.** Origine et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles, pp 3-4., non publié.
- **Humbert, F. 2005.** Bactériologie alimentaire, Editions , pp 8 -10.
- **Humbert, F., Salvat, G., 1998.** Risques de transmission des *Salmonelles* en aviculture ; Détection et prévention en europe, *revue scientifique et technique* 16 (1), 83 - 90.



- **Kali, S., Benidir, M., Ait Kaci, K., Belkheir, B., Benyoucef, MT. 2009.** Situation de la filière lait en Algérie: Approche analytique d'amont en aval, pp 4, non publié.
- **Korsak, N., Clinquart, A., Daube, G., 2004.** *Salmonella* spp, dans les denrées alimentaires d'origine animale : Un réel problème de santé publique ?, Ann. Méd. Vét., 2004, 148, pp 174-193.
- **Prescott, M., Harley, P., Klein, A. 2002.** Microbiologie, édition de boeck, pp 818- 821.
- **Le Minor L. 1992.** Taxonomie et nomenclature des *Salmonella*, Med. Mal. Infect, 1992, 22, 246-248.
- **Livermore, D M.** Bacterial resistance : Origins,epidemiology, and impact. Clin. Infect. Dis. 36 (Suppl 1) : 11-23.
- **Marly, J., Vallet A. 1995.** Evolution et maitrise des contaminations des lisiers bovins par les salmonelles, Renc. Rech. Ruminants 1995, 2, pp 307 – 310.
- **Martel J L. 1994,** Les salmonelloses bovines et la filière agro-alimentaire, Bull. Soc. Vet. Prat. Fr., 1994, 78, 307-319.
- **Mazurek, J., Salehi, ., Propes, D., Holt, J., Bannerman, T., Nicholson, L M., Bundesen, M., Duffy, R et Moolenaar, R L.** A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype typhimurium infection linked to raw milk consumption--Ohio, 2003. J Food Prot 2004; 67(10):2165-2170.
- **Olsen J. E., 2005.** Studies of zoonotic salmonellae: taxonomy, detection and typing and pathogenesis, ed: Samfundsgrafik, Denmark, 2005, 146 p.
- **Olsen, S J., Ying, M., Davis, M F., Deasy,M., Holland, B., Iampietro, L., Baysinger, C M., Sassano, F., Polk, L D., Gormley, B., Hung, M J., Pilot, K., Orsini, M., Van, D S., Rankin, S., Genese, C., Bresnitz, E A., Smucker, J., Moll, M et Sobel, J.** Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium infection from milk contaminated after pasteurization. Emerg Infect Dis 2004; 10(5):932-935.
- **Pangloli P., Dje, Y., Ahmed, O., Doane,D A., Oliver, S P., Draughon, F A.** Seasonal incidence and molecular characterization of *Salmonella* from dairy cows, calves, and farm environment. Foodborne Pathog Dis 2008; 5(1):87-96.
- **Peiffer,B. 1999.** Salmonelloses et fièvres typhoïdes. [Http://www.liste-hygiene.org/SALMON.html](http://www.liste-hygiene.org/SALMON.html) pages: 1-17.
- **Petit E .2010.** Salmonellose bovine: bilan de la campagne 2009-2010 en Bourgogne, pp 5, non publié.
- **Pilet C., Bourbon J. L., Toma B., Marchal N., 1987.** Bactériologie médicale et vétérinaire, doin éditeurs- paris 93 - 99.
- **Plesiat P.,** Biochimie de la résistance dans l'Antibiogramme, ESKA, 2006, pp 15 - 17
- **Plassot L., Marly J., 1997.** Contamination du lait de vache par les salmonelles : Etude des conditions d'hygiène et de la contamination des lisiers dans 95 troupeaux livrant un lait non contaminé, étude de l'excrétion mammaire et fécale de salmonelles dans 3 élevages livrant un lait régulièrement contaminé, Rech. Ruminants 1997, 4, 351 – 354.
- **Podglajen I.** Génétique de la résistance dans l'Antibiogramme. ESKA. 2006, pp 21-33.
- **Poppof M. Y., Bockemuhl J. 2002.** Supplement 2002 to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 2004, 155(7), 568-570.
- **Poppof M. Y., Norel F., 1992.** Bases moléculaires de la pathogénécité des *Salmonella*, Med. Mal. Infect., 1992, 22, 310-324.

- **Poujet P., 2006.** Salmonellose mammaire ovine : Caractérisation clinique et bactériologique, mémoire en vue de l'obtention du titre de docteur vétérinaire, école nationale vétérinaire de Toulouse, pp 127.
- **Rahel, K., Benslimani, A., Tali-Maamar, H., Missoum, M F K., Kechih- Bounar, S., Ammariet, H. 2011.** Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, 6ème édition, pp 15- 25.
- **Richwald, G A., Greenland, S., Johnson, B G., Friedland, J M., Goldstein, E J et Plichta, D T.** Assessment of the excess risk of *Salmonella dublin* infection associated with the use of certified raw milk. Public Health Rep 1988; 103(5):489-493.
- **Rodriguez, A., Pangloli, P., Richards, H P., Mount, J R., Draughon, FA.** Prevalence of Salmonella in diverse environmental farm samples. J Food Prot 2006; 69(11):2576-2580.
- **Sanders P., 2005.** Antibiorésistance en médecine vétérinaire: Enjeux de santé publique et de santé animale. Bull. Acad. Vét. France - 2005 - Tome 158 - N°2 ; 137-143.
- **Sapkota, A R., Lefferts, L Y., McKenzie, S., Walker, P.** What Do We Feed to Food-Production Animals? A Review of Animal Feed Ingredients and Their Potential Impacts on Human Health. Environ Health Perspect 2007; 115(5):663-670.
- **Schelcher, F., Corbiere, F., Foucras, G., Meyer, G. 2003.** La réhydratation des bovins adultes, point Vet, 2003, 240, (34), 24-27.
- **Shelobolina, ES ., Sullivan, S A., O'Neill, R., Nevin K P., Lovley D R. 2004.** Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acidresistant bacterium from Low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov. Appl Environ Microbiol 2004; 70(5):2959-2965.
- **Sinton L W., Braithwaite, R R., Hall, C H., Mackenzie, L M.** Survival of Indicator and Pathogenic Bacteria in Bovine Feces on Pasture. Appl Environ Microbiol 2007; 73(24) :7917-7925.
- **Smith B P.** Salmonellosis in ruminants. In: Smith BP, ed. Large Animal Internal Medicine. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2002; pp.775-779.
- **Striegler V., 2003.** Les méthodes de détection des Salmonelles en agroalimentaire, mémoire en vue de l'obtention du titre du grade de docteur vétérinaire, école nationale vétérinaire de Lyon, pp 135.
- **Thomas, M K., Majowicz, S E., Sockett, P N., Fazil, A., Pollari, F., Dore, K., Flint, J A et Edge, V L.** Estimated Numbers of Community Cases of Illness Due to *Salmonella*, *Campylobacter* and Verotoxigenic *Escherichia Coli*: Pathogen-specific Community Rates. Can J Infect Dis Med Microbiol 2006; 17(4):229-234.
- **Val I. 2005.** *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les œufs pp 2-3, non publié.
- **Vogt , R L., Hakey, A et Allen, J.** Salmonella enteritidis serotype derby and consumption of raw milk. J Infect Dis 1981; 144(6):608.
- **Weill F. X., 2011.** Rapport d'activité annuel 2011, pp 41-42
- **Weill F. X., 2008.** Salmonelles non typhiques d'origine animale et résistance aux antibiotiques, Bull. Acad. Vét. Franc en - 2008 - Tome 161 - N°3 ; 212- 234.
- **Wray, C., Wray, A. 2000.** *Salmonella* in domestics animals. UK: CAB. I. Publishing, 2000, pp.169-190.

## Annexe n°1

### Les disques d'antibiotiques utilisés

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ampicilline	10 µg	≥ 13	14 – 16	≥ 17
Amoxicilline + Ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18
Céfazoline	30 µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23
Cefoxitine	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18
Céfotaxime	30 µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26
Imipénème	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Acide nalidixique	30 µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18
Ofloxacine	5 µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Nitrofurantoin	30 µg	≤ 12	13 – 18	≥ 19
Ticarcilline	30 µg	< 14	15- 19	>20
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16
Colistine	5 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15

## **Annexe n° 2**

### **Fiche de suivi de prélèvement**

Date de prélèvement :

Heure de prélèvement :

Type de prélèvement :

Température du jour :

Etablissement :

Type d'établissement (Conforme, non conforme) :

Noms du propriétaire :

Adresse de l'établissement :

Téléphone :

Nombre de vaches laitière :

Race des animaux :

Existence d'un système de réfrigération :

Existence de machine à traire :

Existence d'autres ateliers :

Temps de parcours de retour :

Signes pathologiques (s'il y a lieu) :

Résultats :

# Questionnaire

Date: /\_\_ /\_\_ /\_\_ /\_\_ /\_\_ /\_\_

JJ MM AA

Identification de l'établissement:

Propriétaire :

Adresse:

Race des vaches:

## 1- emplacement et environnement:

Distance de fumiers mètres: /\_\_\_\_\_/m

Distance de la fosse septique en mètres: /\_\_\_\_\_/m

Distance des cours d'eau: /\_\_\_\_\_/m

L'élevage est elle clôturé oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/ grillage/\_\_\_/ mur/\_\_\_/ autres:.....

Animaux pouvant avoir accès à l'élevage:

Chiens /\_\_\_/ Chats /\_\_\_/ rats /\_\_\_/ oiseaux /\_\_\_/ autres: préciser:/\_\_\_\_\_/

Autres ateliers : oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/

## 2- Infrastructures:

Nombre des étables: /\_\_\_/

Nombre de salles et superficie Lx l: s1/\_\_\_/\_\_\_/ s 2 /\_\_\_/\_\_\_/ s 3 /\_\_\_/\_\_\_/ s4/\_\_\_/\_\_\_/

Salle de repos: oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Type de construction: moderne /\_\_\_/ traditionnelle/\_\_\_/

Etat des murs: lisses /\_\_\_/ rugueux /\_\_\_/

Sol: béton /\_\_\_/ terre /\_\_\_/

Inclinaison du sol: oui/\_\_\_/ non /\_\_\_/

Rigoles: oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Sanitaires: oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Salle pour le stockage des désinfectants.

Silo pour la conservation des aliments oui /\_\_\_/ non/\_\_\_/.

Autres infrastructures: préciser :.....

### 3- Equipements:

Type d'équipement ou matériel utilisé:

Machine à traire : oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Abreuvoirs : personnel /\_\_\_/ mixte /\_\_\_/

Le tank est il muni d'un système de froid ? : oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Le système de haute pression pour la désinfection est il existant ? oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Est-ce qu'il dispose un groupe électrogène ?, utilisé en cas de coupure d'électricité.

Puits: oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/ est-il traité oui/\_\_\_/non /\_\_\_/

Source: oui/\_\_\_/non/\_\_\_/est-elle traitée oui/\_\_\_/non/\_\_\_/

Réseau local: oui/\_\_\_/non/\_\_\_/est-il traité oui/\_\_\_/non/\_\_\_/

### 4- Hygiène:

Fréquence de nettoyage du bâtiment /\_\_\_/ par jour.

Fréquence de désinfection/\_\_\_/sem. Désinfectant utilisé /\_\_\_\_\_/

Désinsectisation oui/\_\_\_/ non /\_\_\_/

Dératisation oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/

Désinfection à eau de javel/sem. Sol/\_\_\_/ murs /\_\_\_/ équipements. /\_\_\_/ Ustensiles /\_\_\_/

Le chaulage des bâtiments oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/

Etat hygiénique des équipements:

Fréquence de nettoyage:/\_\_\_/ / jour.

Etat des habits des ouvriers:

Etat du matériel après traite : bien entretenu /\_\_\_/ mal entretenu /\_\_\_/

Fréquence de nettoyage des habits:/\_\_\_/ / mois.

Existe-t-il des guides de bonne pratique de traite, des gestions d'élevages ? oui /\_\_\_/ non/\_\_\_/

Est ce qu'il couvre le sol avec la paille pour éviter la contamination des pis ? oui /\_\_\_/non /\_\_\_/

Disposition des registres de suivi médical oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/

## **5- Personnel:**

Nombre d'ouvriers: /\_\_\_/

Sont-ils qualifiés ? oui/\_\_\_/ non/\_\_\_/

Changement d'habits/sem.: /\_\_\_/

Lavage des mains pendant le travail. /\_\_\_/

Lavabos: oui/\_\_\_/ non /\_\_\_/

Savon : oui /\_\_\_/ non /\_\_\_/

Niveau d'instruction: illettré /\_\_\_/ primaire/\_\_\_/ collège /\_\_\_/ lycée /\_\_\_/

Autres: Préciser : .....

Sont ils sensibilisés vis à vis de l'hygiène: oui/\_\_\_/ non /\_\_\_/

Visites médicales et leur fréquence : Nombre de fois /\_\_\_/ par an..

Remarques personnelles:

## **6- Remarques et observations personnelles:**

## Annexe n° 3

### Composition et préparation des milieux de culture

#### Eau peptonée tamponnée: Bouillon de pré enrichissement ;

Diluant et milieu de pré enrichissement pour la recherche de *Salmonella* dans les aliments.

**Composition :** Pour 1 litre de milieu:

Peptone.....	10,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Phosphate disodique dodécahydraté.....	9,0 g
Phosphate monopotassique .....	1,5 g

#### Préparation :

Mettre en suspension 25,5 grammes de poudre dans un litre d'eau purifiée ou déminéralisée,

Mélanger soigneusement

Chauffer jusqu'à ébullition

Répartir en flacon, mettre à l'autoclave (humide) 20 minutes à 118° C (les flacons ne doivent pas être fermés totalement)

Refermer rapidement et soigneusement le flacon après chaque utilisation.

Fabriqué par Biomérieux (France).

#### Bouillon Rappaport- Vassiliadis soja (RVS) : Bouillon d'enrichissement

**Composition :** Formule en grammes par litre d'eau distillée :

Peptone de soja :.....	4,5
Chlorure de sodium : .....	7,2
Phosphate mono potassique : .....	1,25
Phosphate di potassique : .....	0,18
Chlorure de magnésium : .....	13,58
Vert de malachite : .....	0,036
pH final : 5,2 ± 0,2,	

#### Préparation :

Mettre en suspension 26,75 grammes du milieu dans un litre d'eau distillée,

Agitant fréquemment jusqu'à dissolution complète,

Distribuer et stériliser à 115° C (sous pression) pendant 15 minutes.

Fabriqué par Conda (Espagne).



## **Mueller – kauffman Tetrathionate Novobiocine (MKttn) ; Bouillon d'enrichissement**

**Composition :** Formule en grammes par litre d'eau distillée:

Extrait de viande .....	4,3
Peptone de caséine .....	8,6
Chlorure de sodium .....	2,6
Carbonate de calcium .....	38,7
Thiosulfate de sodium anhydre .....	30,5
Fiel de bœuf .....	4,78
Vert brillant .....	0,0096
Novobiocine sel sodique .....	0,040

### **Préparation :**

- Mettre en suspension 89,4 g de milieu de base déshydraté (BK169) dans 1 litre d'eau purifiée.
- Porter à ébullition lentement, sous agitation constante.
- Maintenir l'ébullition pendant 2 minutes.
- Ne pas mettre la solution à l'autoclave.

### **Mode d'emploi ;**

- Refroidir le milieu jusqu'à 25°C.
  - Dissoudre 4 g d'iode dans 20 mL d'une solution contenant au préalable 5 g d'iodure de potassium dans une fiole stérile.
  - Ajouter la solution iodo-iodurée au milieu.
  - Ajouter 5 mL de solution de supplément sélectif Novobiocine 40 mg (BS056) reconstitué
  - Bien homogénéiser l'ensemble.
  - Ne pas chauffer le milieu ainsi préparé.
  - Si nécessaire, ajuster le pH à la valeur souhaitée, suivant le protocole à respecter.
  - Répartir stérilement, à raison de 10 mL par tube stérile.
- Fabriqué par Merck (Allemagne).

## **Gélose hektoen (HEKT-D) ; Milieu d'isolement sélectif**

### **Préparation :**

- Mettre en suspension 75 grammes de poudre dans un litre d'eau purifiée ou déminéralisée.
- Mélanger soigneusement.
- Chauffer jusqu'à l'ébullition.
- Répartir en flacons.
- Ne pas mettre à l'autoclave.
- Transformer dans un bain d'eau thermostaté à environ 45 - 50° C
- Maintenir les flacons à cette température jusqu'au moment de l'utilisation
- Répartir en boîtes de Petri (à raison de 18 à 20 ml par boîte)
- Utiliser les boîtes après refroidissement de la gélose.

## Gélose XLD ; Milieu d'isolement sélectif

**Composition :** Pour 1 litre de milieu :

- Extrait autolytique de levure.....	3,00 g
- L-Lysine .....	5,00 g
- Lactose .....	7,50 g
- Saccharose .....	7,50 g
- Xylose .....	3,75 g
- Désoxycholate de sodium.....	1,00 g
- Chlorure de sodium.....	5,00 g
- Thiosulfate de sodium.....	6,80 g
- Citrate ferrique ammoniacal .....	0,80 g
- Rouge de phénol.....	80 mg
- Agar agar bactériologique.....	12,50 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25° C :  $7,4 \pm 0,2$ .

**Préparation :** Mettre en suspension 55 grammes de poudre dans un litre d'eau purifiée ou déminéralisée

Mélanger soigneusement

Chauffer jusqu'à dissolution

Ne pas porter à l'ébullition répartir en flacons

Ne pas mettre la solution à l'autoclave

Transférer dans un bain d'eau thermostaté à environ 45 - 50° C

Maintenir les flacons à cette température jusqu'au moment de l'utilisation

Répartir en boîte de pétri (à raison de 18 à 20 ml par boîte)

Utiliser les boîtes après reprise et refroidissement de la gélose.

Fabriqué par Conda (Espagne).

## Gélose TSI (TSI-D) : Identification biochimique

**Composant (g/L) :**

Peptones de caséine.....	15
Peptones de viande .....	5
Extraits de viande .....	3
Peptones de levure .....	3
NaCl .....	5
Lactose .....	10
Saccharose .....	10
Glucose .....	1
Citrate ammoniacal de Fer (III) .....	0,5
Thiosulfate de sodium .....	0,5
Rouge de phénol .....	0,024
Agar .....	12

**Préparation :** Mettre en suspension 59,4 grammes de poudre dans un litre d'eau purifiée ou déminéralisée.

Mélanger soigneusement.

Chauffer jusqu'à ébullition.

Répartir en tubes.

Les mettre à l'autoclave, pendant 15 minutes à 118° C.

Laisser refroidir les tubes à la température ambiante en position inclinée afin d'obtenir un culot d'environ 3cm et une pente.

Utiliser les tubes après reprise et refroidissement de la gélose.

Fabriqué par Biomérieux (France).

#### **Gélose nutritive : La purification et la conservation.**

**Composition :** En grammes par litres d'eau distillée ;

Peptone : .....5

Extrait de levure : .....2,0

Extrait de viande : .....1

Chlorure de sodium : .....5,0

Agar bactériologique : .....15,0

**Préparation :** Mettre en suspension 28,0 grammes du milieu dans un litre d'eau distillée

Chauffer en agitant fréquemment et faire bouillir pendant une minute.

Stéiliser à l'autoclave à 118°c pendant 15 minutes

Verser en boîtes de pétri.

Fabriqué par Conda (Espagne).

## Résumé :

80 élevages de bovins laitiers répartis dans les 12 communes de la wilaya de Constantine ont été choisis de façon aléatoire et à partir des analyses bactériologiques de 6 matrices prélevées de chaque élevage, en total 800 prélèvements, nous avons fixé plusieurs objectifs à savoir :

La typologie des élevages bovins laitiers : Nous avons déterminé deux types d'élevages (conformes et non conformes).

Déterminer la prévalence de contamination des élevages bovins laitiers : Où la prévalence a été estimée à 37,5 %.

Déterminer la fréquence de contamination du lait de troupeau : Où elle était estimée à 6,25 %.

Déterminer les facteurs de risques de la contamination des élevages : Les études statistiques ont montré une association statistiquement significative entre l'exposition à la saison ( $> 28^{\circ} \text{C}$ ) et la stabulation d'une part et la contamination des élevages bovins laitiers d'autre part.

Pour la saison ; OR = 12,92 IC [2,63- 56,26]  $P(x) < 0,001$ , où la température augmente 13 fois le risque de contamination des élevages.

Pour la stabulation ; OR = 4,75 IC [1,78 - 12,67]  $P(x) < 0,001$ . Où la stabulation augmente 4 fois le risque de contamination des élevages.

Déterminer les facteurs de risque de contamination du lait de troupeau ; Les études statistiques ont montré une association statistiquement significative entre l'exposition à la matière fécale, le lisier et les chiffonnettes contaminés d'une part et la contamination du lait de troupeau d'autre part.

La matière fécale ; OR = 16 IC [1,49- 170,71]  $P(x) < 0,001$ . Où la matière fécale contaminée augmente 16 fois le risque de contamination du lait de troupeau.

Le lisier : OR = 7,75 IC [1,2 - 49,40]  $P(x) < 0,02$ . Où le lisier contaminé augmente 7 fois le risque de contamination du lait de troupeau.

Les chiffonnettes : OR = 17,25 IC [2,41 - 121,51]  $P(x) < 0,001$ . Où les chiffonnettes contaminées augmentent 17 fois le risque de contamination du lait de troupeau.

Déterminer la distribution des sérotypes : A laquelle il y a une prédominance de

*S. Muenster* avec 37,03 %,  $n = 20$ . *S. Kentucky* 20,37 %  $n = 11$ . *S. Eastbourne*, *S. Infantis*: 9,25 %  $n = 5$ . *S. Mbandaka*: 7,4 %  $n = 4$ . *S. Saintpaul*: 5,55 %  $n = 3$ .

*S. Typhimurium*, *S. Anatum*, *S. Elomrane*: 3,70 %  $n = 2$ .

Le dernier objectif était la mesure de l'antibiogramme de différentes souches isolées :

La totalité des souches isolées étaient sensibles aux antibiotiques suivant : céfoxitine (FOX), céfotaxime (CFX), gentamicine (GEN), amikacine (KA), fosfomycine (FOSS), trémithoprime + sulfaméthoxazole (SXT), colistine (CS) et nutrofurane.

Les deux sérotypes *Typhimurium* et *Kentucky* ont montré une résistance envers successivement 7 et 6 antibiotiques, un résultat surprenant a été porté par le sérovar *Kentucky*, où elle était résistante aux quinolones de première, deuxième et troisième génération, limitant leur utilisation dans le traitement de salmonellose humaine et animale.

Heureusement que ces deux sérotypes étaient sensibles aux céphalosporines de deuxième et troisième génération.

Même tous les sérotypes isolés étaient sensibles aux antibiotiques suivants ; céfoxitine (FOX), céfotaxime (CFX), gentamicine (GEN), amikacine (KA), fosfomycine (FOSS), trémithoprime + sulfaméthoxazole (SXT).

Pour les autres sérotypes, ils étaient résistants à deux ou trois antibiotiques (ampicilline, céfazoline, imipénème).

## Abstract

80 dairy farms located in 12 municipalities in the state of Constantine were selected randomly and from bacteriological analyzes of six matrices collected from each farm, we set several objectives:

- Determine the prevalence of contamination of dairy cattle farms: Where the prevalence was estimated at 37,5 %.

- Determine the frequency of contamination of the milk herd: Where it was estimated at 6.25%.

- Identify risk factors for contamination of dairy herds: Statistical studies have shown a statistically significant association between exposure to the season ( $> 28^{\circ} \text{C}$ ) and stabling on the one hand and the contamination of dairy cattle farms on the other hand.

For the season ; OR = 12.92 CI [ 2.63 , 56.26 ] P (x) < 0.001 , where the temperature increases 13 times the risk of contamination of dairy cattle farms.

For stabling ; OR = 4.75 CI [ 1.78 , 12.67 ] P (x) < 0.001 . Where stabling increases 4 times the risk of contamination of dairy cattle farms.

- Identify risk factors for contamination of milk herd ; Statistical studies have shown a statistically significant association between exposure to faeces, animal slurry and contaminated wipes on the one hand, and the contamination of the milk herd on the other hand.

Faeces; OR = 16, CI [ 1.49, 170.71 ] P (x) < 0.001 . Where fecal contamination increases 16 times the risk of contamination of the milk herd.

Animal slurry: OR = 7.75 CI [1.2, 49.40] P (x) < 0.02. Where contaminated animal slurry increases 7 times the risk of contamination of the milk herd.

The wipes OR = 17.25 CI [2.41, 121.51] P (x) < 0.001. Where contaminated wipes increases 17 times the risk of contamination of the milk herd.

- Determine the distribution of serotypes of *Salmonella* which there is a predominance of

*S. Muenster* with 37.03 %, n = 20. *S. Kentucky* 20.37% n = 11. *S. Eastbourne*, *S. Infantis* . 9.25% n = 5. *S. Mbandaka* . 7.4% n = 4. *S. Saintpaul*. 5.55 % n = 3. *S. Typhimurium* , *S. anatum* , *S. Elomrane* 3.70% n = 2.

- The last objective was the measure of the antimicrobial drug susceptibility by disk diffusion of different strains isolated:

All the strains were susceptible to these drugs; céfoxitine (FOX), céfotaxime (CFX), gentamicine (GEN), amikacine (KA), fosfomycine (FOSS), trémithoprime + sulfaméthoxazole (SXT), colistine (CS) and nitrofurane (FT).

Both serotypes Typhimurium and Kentucky showed resistance successively to 7 and 6 antibiotics , a surprising result was worn by serovar Kentucky , where she was resistant to quinolones of first, second and third generation , limiting their use in the treatment of salmonellosis human and animal . Fortunately, these two serotypes were sensible to cephalosporin second and third generation. Even all serotypes isolated were sensitive to the antibiotics ; cefoxitin (FOX) . cefotaxime ( CFX ) , gentamicin (GEN) , amikacin (AK) , fosfomycin (FOSS ) trémithoprime + sulfamethoxazole ( SXT ) .

For the other serotypes, were resistant to two or three antibiotics ampicillin , cefazolin , imipenem ) .

ملخص

العنوان: معدل العدوى و حساسية السالمونيلا للمضادات الحيوية و انواع مزارع الابقار لولاية قسنطينة.  
انطلاق من اجراء تحاليل بكتريولوجية لستة انواع من العينات, نخص بالذكر الماء, مواد الغذاء, البراز,  
المحيط, الحليب الفضلات المميهة.

لهذا السبب تم جمع 800 عينة, 400 عينة خاصة بالفضالات, و 80 عينة لكل نوع من العينات الاخرى.  
هذه الدراسة مست البلديات 12 لولاية قسنطينة بنسب متفاوتة, لانجاح هذه الدراسة قمنا بتثبيت بعض  
الاهداف, نذكر منها

دراسة انواع مزارع الابقار, التي بينت نوعين من المزارع: مطابقة و غير مطابقة.

معدل عدوى مزارع الابقار بالسلمونيل /37.

معدل عدوى حليب المزارع بالسالمونيلا, / 6,25.

توزيع السالمونيلا.

دراسة العوامل المساعدة عل عدوى مزارع الابقار بالسلمونيلا, التي بينت وجود عاملين متعلقين بالمناخ  
وبالاسطبلات.

دراسة العوامل المساعدة عل عدوى الجليب, و المتعلقة بالفضالات الصلبة منها و المميهة والمحيط الملوثة  
بسالمونيلا.

دراسة سلالات السالمونيلا, التي بينت وجود 9 سلالات.

و اخيرا دراسة حساسية السالمونيلا للمضادات الحيوية و التي بينت وجود ثلاثة اصناف, منها ما هو غير  
حساس 7 انواع من المضادت, و 6, و الباقي الى جميع المضادت الحيوية.