

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Caractérisation biochimique et évaluation du pouvoir
pathogène des espèces de *Salmonella* chez le poulet de chair.**

Présenté par : DAHILI Rabéa

CHABANE Zaia

BELKALEM Djouher

Soutenu le : 05/06/2016

Devant le jury composé de :

-Président : Mme HAFSI Fella. Maitre de conférences (MCA)

-Promoteur : Mme AZZAG Naouelle. Maitre de conférences (MCA)

-Examineur (1) : Mme GHALMI Farida. Maitre de conférences (MCA)

-Examineur (2) : Mme BOUABDALLAH Ryhan. Maitre de conférences (MCB)

Année Universitaire 2015/2016

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la santé le courage et les moyens pour suivre nos études et pour la réalisation de ce travail.

Nos premiers remerciements vont à notre promotrice Mme AZZAG, par son enthousiasme et sa rigueur. Elle nous a transmis la volonté du travail, son sérieux, sa vision et sa perception. On voudrait également la remercier pour sa patience, sa disponibilité et ses précieux conseils.

On adresse nos remerciements à Mme HAFSI pour avoir accepté de présider ce jury, Mme BOUABDALLAH et Mme GHALMI pour l'intérêt qu'elles ont manifesté pour ce travail et accepté de juger ce travail.

Ainsi que Mr DJEZZER, pour son énorme aide.

À Mme BENEFDEL Sihem pour son aide précieuse et son suivi au laboratoire de microbiologie au département clinique de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

Pour finir, nous adressons nos sincères remerciements à nos professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions durant nos recherches lors de l'élaboration de ce projet.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail : à mes chers parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance, que dieu vous garde pour nous.

A ma chère grand-mère, qui n'a pas cessé de me soutenir et m'encourager pendant tout mon parcours. A une personne très chère à mon cœur, mon mari qui a toujours été présent à mes côtés. A mes frères, Farid et Fares, ma petite sœur Mallek et à tous mes amies et surtout Rabéa.

Chabane Zaia

Je dédie ce travail spécialement à mes parents, mon cher père, qui représente pour moi le symbole de la bonneté par excellence, merci pour ton dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager à aller toujours plus loin. A ma très chère mère qui aucun mot et aucune dédicace ne peut exprimer mon amour, mon respect et ma reconnaissances pour tous les sacrifices consentis pour mon bien-être, merci pour ton énorme patience et ta présence.

A mon grand frère Abderrahmane et ma petite sœur Imene, que dieu soit toujours à vos côtés. Ainsi qu'à toute ma famille, petits et grands et mes fidèles amis.

Dahili Rabéa

Je dédie ce mémoire, à mon père, l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la plus digne de mon estime et mon respect, aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiment, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A ma mère, tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir tous ce que je pourrais t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

A ma sœur Imene, mon mari Hocine, ma famille et mes amis.

Belkalem Djouher

Résumé :

La salmonellose est une maladie infectieuse inoculable et contagieuse due à une entérobactérie ubiquitaire du genre *Salmonella*. C'est une zoonose et elle constitue la première cause de toxi-infection alimentaire identifiée chez l'homme dans les pays développés.

Compte tenu de leur importance pour la santé publique, humaine et vétérinaire, les salmonelles font l'objet, en Algérie, d'une surveillance épidémiologique permanente. Ainsi, différents réseaux ont été créés afin d'évaluer l'incidence de la maladie et de limiter les risques de contamination humaine.

L'objectif de ce travail a été dans un 1^{er} temps d'isoler des souches de *Salmonella* à partir de poulets malades et dans un second temps de les inoculer à de jeunes poussins afin d'évaluer le pouvoir pathogène des espèces bactériennes isolées. Les résultats obtenus confirment le grand pouvoir pathogène des *Salmonella* à travers les multiples signes cliniques et lésionnels obtenus, ainsi que la virulence des espèces bactériennes.

Mots clés : *Salmonella*, salmonellose, épidémiologie, poulet.

Summary :

Salmonellosis is an inoculable and contagious infectious disease caused by an ubiquitous enterobacteria of the genus *Salmonella*. This zoonotic disease is the first cause of human food poisoning identified in developed countries.

Given their importance in public, human and veterinary health, *Salmonella* are the subject of a permanent epidemiological surveillance in Algeria. Thus, different networks have been established to assess the impact of the disease and reduce the risk of human contamination.

The aim of this work was firstly to isolate strains of *Salmonella spp* from sick animals and in a secondly to inoculate the young chicks in order to evaluate the pathogenicity of bacterial species isolated. The results obtained confirm the large pathogenicity of *Salmonella* through multiple clinical and lesion evidence gotten as well as the extreme virulence.

Keywords: *Salmonella*, Salmonellosis, epidemiology, chicken.

ملخص

داء السالمونيلا مرض وبائي سريع الالتهاب و الانتشار، ناتج عن بكتريا خاصة بالدواجن و التي تتسبب في تسمم غذائي نظرا لأهميتها بالنسبة لصحة العامة البشرية و البيطرية، تم إنجاز مشاريع مختلفة لتقدير مدى للإنسان في عدة مدن متطورة أنتشارها و الحد من خطر الإصابة عند الإنسان.

الهدف من هذا العمل عزل السالمونيلا من جهة، ومن جهة أخرى تقدير قوتها المسببة للأمراض عن طريق تلقیح الصيصان. النتائج المتحصل عليها من أعراض داخلية و خارجية تؤكد لنا مدى خطورتها على الحيوان والإنسان.

كلمات البحث: السالمونيلا، داء السالمونيلا، علم الأوبئة، الدجاج.

Sommaire

Introduction	1
Étude bibliographique	
I. Notion général	3
II. Historique	3
III. Taxonomie	3
IV. Caractères morphologiques	4
V. Caractères cultureux et biochimiques	4
VI. Caractères biochimiques	4
VII. Pouvoir immunogène	5
VIII. Propriété antigénique	6
1. L'antigène somatique.....	6
2. L'antigène flagellaire.....	6
3. L'antigène capsulaire.....	6
IX. Facteur de pathogénicité	6
1. Les toxines.....	6
2. Les adhésines.....	7
3. Plasmide de virulence.....	7
4. Système de captation du fer.....	8
X. Signes cliniques et lésions post-mortem	8
XI. Important économique et sanitaire	9
XII. Epidémiologie	9
1. Facteur déterminant.....	9
2. Facteur prédisposant.....	9
XIII. Diagnostic	10
1. Clinique.....	11
2. De laboratoire.....	11
3. Différenciel.....	12
XIV. Traitement	11
XV. Prophylaxie	11
Étude Expérimentale	
Matériels et méthodes	14
I. Objectif	14
II. Echantillons et méthodes de prélèvements	14

III. Enrichissement et mise en culture	14
III.1.Pré-enrichissement sur bouillon BHIB.....	14
III.2. Coloration de gram.....	15
III.3.Ensemencement sur gélose.....	15
III.4.Galerie API.....	17
IV. Evaluation du pouvoir pathogène des espèces de Salmonella isolées	19
Résultat	
I. Prélèvement	22
II. Pré-enrichissement	22
III. Analyses bactériologique	23
III.1. Coloration de gram.....	23
IV. Isolement et caractérisation des espèces obtenus	23
V. Résultat de l'examen post-mortem	27
Discussion	33
Conclusion et recommandation	36

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

ATR : Acid tolerance response

CHO : chinese hamster ovary

CT : Toxine cholérique

FUR: furie uptake regulator

LTct : Lymphocyte T cytotoxique

LTh : Lyphocyte T herper

LTs : Lymphocyte T supresseur

LPS : Lipopolysaccharide

LPF: Long polar fimbriae

MDO : Maladie à déclaration obligatoire

SPF : specific pathogen free

TIAC: Toxi-infection alimenaire collective

TBG : Bile tétrathionate gélose

TSI : Triple sugar iron

Liste des tableaux :

Tableau 1: Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella*

Tableau 2 : Composition du milieu Hektoen

Tableau 3 : Composition du milieu SS-Agar

Tableau 4 : nature des prélèvements

Tableau 5 : tableau de lecture de la galerie API® 20^{E*}

Tableau 6 : Lésion macroscopique observé en post mortem

Liste des figures :

Figure1: échantillons de foie et de rate

Figure2: pré-enrichissement dans du bouillon BHIB

Figure 3: Coloration de gram

Figure 4: milieu Hektoen

Figure 5: milieu SS-Agar

Figure 6: incubation des milieux ensemencés dans étuve bactériologique adaptées

Figure 7: Galerie API®20^E

Figure 8: inoculum

Figure 9: chèque API® 20^E

Figure 10: les poussins à J1

Figure 11: les poussins à J16

Figure12: prélèvement de 1mL d'eau physiologique

Figure 13: tubes stériles

Figure 14: prélèvement de colonies

Figure15: mélange des colonies à l'eau distille

Figure 16: mettre les tubes stériles au vortex

Figure 17: prélèvement de la solution

Figure 18: inoculation *per os* des poussins à inoculer

Figure19: Bouillons BHIB après incubation

Figure 20: Aspect microscopique

Figure 21: Aspect des colonies de *Salmonella* sur milieu Hektoen

Figure 22: Aspect des colonies de *Salmonella* sur milieu SS-Agar

Figure 23: Résultat de la Galerie API® 20E pour les souches de *Salmonella*

Figure 24: Résultat de la galerie Api (*Salmonella Arizonae*)

Figure 25: Résultat de la galerie Api (*Salmonella Gallinarum*)

Figure 26: Identification sur Apiweb

Figure 27 : Diarrhée aqueuse

Figure 28: poussin à plumes ébouriffées

Figure 29: Autopsie de poussin

Figure 30: Foie et rate de 6 poulets infectés par salmonella

Figure 31: Entérite et ballonnement des intestins de 6 poulets infectés par salmonella

Figure 32: portion d'intestin congestionné

Figure 33: Amygdale caecal réactionnel

Figure 34: diverticule de Meckel hypertrophié

Introduction :

Les membres de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et de l'organisation mondiale de la santé (OMS), ont exprimé leurs inquiétudes en ce qui concerne la sécurité sanitaire des aliments au niveau national et international. L'incidence croissante des maladies d'origine alimentaire ces dernières décennies semble liée, dans de nombreux pays, à une augmentation des maladies causées par la présence de microorganismes dans les aliments. Toutefois, l'important est de savoir si de nouveaux instruments ou des mesures plus efficaces peuvent nous aider à réduire le poids de la morbidité et à fournir des aliments plus sûrs (Wayne A., 2004).

Les producteurs de volailles font face aux pressions continuelles de la santé publique et des organismes de réglementation pour protéger les consommateurs de la maladie en raison de la viande de volailles contaminée ou des œufs. Des programmes répandus et intensifs pour identifier des troupeaux de volailles infectés et leurs produits, ont augmenté la probabilité de détection et le rapport de l'infection ou la contamination. (David E. Swayne, 2013).

Les infections avec les bactéries du genre *Salmonella* sont responsables de maladies de volaille, parfois tantôt aiguës que chroniques, ces maladies causent des pertes économiquement significatives pour les producteurs de volailles dans beaucoup de pays. Les troupeaux de volaille infectés sont les réservoirs les plus importants de salmonella qui sont transmis par la chaîne alimentaire aux humains (David E. Swayne, 2013).

Les volailles jouent un rôle prépondérant en tant que vecteurs de transmission dans les cas humains de salmonellose du fait que le poulet de chair est le principal type de volaille consommé dans de nombreux pays. Un pourcentage important de volailles sont colonisées par les salmonella durant la croissance, et la peau et la chair des carcasses sont fréquemment contaminées par le pathogène durant l'abattage et la transformation. (Wayne A., 2004).

Le genre *Salmonella* (de la famille Enterobacteriaceae), nommé par bactériologiste vétérinaire DANIEL E. Le saumon (1850-1914), inclut plus de 2,500 variantes distinguables antigéniquement (sérovares ou sérotypes). Bien que des raffinages taxonomiques récents aient indiqué que toutes les salmonella associées à la volaille sont membres d'une seule espèce génétiquement définie, *Salmonella Enterica*, les distinctions entre sérotypes divers sont souvent épidémiologiquement significatives. En conséquence, les *Salmonella* isolées sont toujours le plus souvent décrites par référence à leur nomenclature sérotype traditionnelle (David E. Swayne, 2013).

Compte tenu des données internationales disponibles, l'incidence de la salmonellose peut être estimée entre 14 et 120 cas pour 100 000 personnes en 1997. Selon les estimations de US centers for disease control and prevention (CDC), il y a tous les ans, 1,4 million de cas, 16 430 hospitalisations et 582 décès aux Etats-Unis d'Amérique (Mead et al., 1999). On estime que 96% du nombre total de cas est causé par des aliments. Plus de 2 000 sérotypes de *salmonella* ont été identifiés, les plus fréquents étant *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* (Wayne A., 2004).

Depuis la fin des années 70, *S. Enteritidis* est apparu comme la principale cause de salmonellose en Amérique du Nord, en Europe et en Afrique du sud. Une nette augmentation de l'incidence de l'infection par *S. Enteritidis* a aussi été signalée en Yougoslavie, ne

Finlande, en suède, en Norvège et au Royaume-Uni. Les œufs de poule sont devenus la source principale du pathogène. L'émergence de *S. Enteritidis* en tant que cause principale de salmonellose humaine dans de nombreux pays est attribuée à la capacité inhabituelle de ce sérovar de coloniser le tissu ovarien des poules et d'être présent dans le contenu d'œufs en coquille intacts (wayne A., 2004).

Depuis les années 80s, et dans le but de pallier à un déficit de protéines animales et ainsi répondre aux besoins de la population en denrées alimentaires et produits dérivés, l'aviculture algérienne a connu une grande évolution. Ainsi de nombreuses régions du pays ont vu fleurir leurs investissements dans ce secteur. De ce fait, l'Algérie est passée d'un pays importateur d'œufs de consommation et de viande blanche durant les années 1980, à une production nationale qui couvre largement les besoins du pays dans le début des années 1990 (Ayachi et al., 2010).

A ce jour, la production avicole en Algérie est estimée entre 330 et 342 millions de tonnes de viande blanche (soit environ 240 millions de poulets par an) et plus de 3 milliards d'œufs de consommation par an (Ayachi et al., 2010).

Cependant, toutes ces mutations, le manque d'investissement ainsi que la prise de conscience ont rendu la chaîne alimentaire dans notre pays risquée en multipliant les possibilités de prolifération d'agents pathogènes, et causant ainsi, d'importantes épizooties dans les élevages (Ayachi et al., 2010). Malheureusement, la présence de ces épizooties dans nos élevages, et surtout leur impact sur la santé publique n'est pas à ce jour évalué, et cela en raison de la nette déficience de systèmes de surveillance épidémiologique (Ayachi et al., 2010).

Dans ce sens, le travail effectué a été réalisé dans l'optique d'évaluer le pouvoir pathogène de *salmonella*. Ce travail a été subdivisé en deux parties dont la première bibliographique concerne une étude traitant les parties suivantes (historique, taxonomie, caractères morphologiques, culturels et biochimiques...) .La deuxième partie quant à elle relève un aspect pratique avec en premier lieu l'isolement et l'identification de la bactérie et en 2ème lieu, l'infection de jeunes poussins et la recherche *in vivo* des lésions pathognomoniques de la salmonellose.

Eude bibliographique :

I. Notion général :

Les *Salmonelles* sont des bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et au genre *salmonella* (Grimont, P.A.D., 2007). Ce sont des bactéries naturellement présentes dans l'intestin des animaux, en particulier chez les volailles et les porcs. Elles vivent également dans l'environnement (ICMSF., 1996).

Les manifestations cliniques de la maladie dépendent de l'hôte et du sérotype. Il existe présentement 2 610 différents sérotypes de *Salmonella* (Guibourdenche et coll., 2010). Comportant plusieurs espèces. De celles-ci, 2 sont à déclaration obligatoire (MDO), *Salmonella pullorum* et *Salmonella gallinarum* considéré comme les plus pathogène chez les poulets (Boulianne, M. and J. P. Vaillancourt., 2011).

Leur propension à provoquer des maladies systémiques et intestinales chez les humains et les animaux ont fait d'eux des pathogènes importants et en dépit de l'amélioration hygiénique dans l'industrie des aliments ; ils demeurent parmi les principaux germes causant les toxi-infections alimentaires (TIA) et les zoonoses, responsables de deux types de pathologies, la fièvre typhoïde et para-typhoïdique (plus grave des pathologies et la Gastro-entérites aiguës(Anderson and Ziprin in Hui and Gorham. ,2001).

II. Historique :

En 1880 : Le premier bacille fut observé par un médecin allemand du nom d'Eberth dans des coupes de rates et de ganglions lymphatiques mésentériques d'un patient mort de typhoïde.

En 1884 : Mise au point de la culture *in vitro* de cette bactérie par Gaffky.

En 1886 : Salmon et Smith isolèrent l'actuelle *Salmonella Enterica* subsp.*Enterica*

1925-1930 : White et Kauffmann, base de la classification antigénique : diversité antigénique (2400 sérotypes) (Le Minor & Véron, 1989).

III. Taxonomie :

Deux espèces font partie du genre *Salmonella*: *Salmonella Enterica* et *Salmonella Bongori*.*Salmonella Enterica* a été subdivisée en 6 sous-espèces :

- S. Enterica* subsp. *enterica*
- S. Enterica* subsp. *salamae*
- S. Enterica* subsp. *arizonae*
- S. Enterica* subsp. *diarizonae*
- S. Enterica* subsp. *houtenae*
- S. Enterica* subsp. *indica*

Une septième sous-espèce, *S. Enterica* subsp. *subterranea*, a été nouvellement décrite en 2004 puis officiellement reconnue en 2005. Les souches de *S. Enterica* subsp. *Enterica* sont généralement isolées des humains et autres animaux à sang chaud, tandis que les autres sous-

espèces et *S. Bongori* sont généralement isolées des animaux à sang froid et de l'environnement (Anon., 2005; Shelobolina et coll., 2004).

IV. Caractères morphologiques :

Le genre *Salmonella* est défini par le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (9^{ème} éd. 1984), comme suit: Les *salmonella* sont des bacilles de 0,5 à 1,5 μ x 2,0 à 5,0 à Gram négatif, anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche mais des mutants immobiles peuvent exister.

V. Caractères cultureux et biochimiques :

Les *salmonella* sont des entérobactéries aéro-anaérobies facultatives, gram - présentes chez l'animal mais aussi chez l'Homme. Elles fermentent le glucose en produisant souvent du gaz, réduisent les nitrates en nitrites et donnent un test des oxydases négatif. La plupart des *salmonella* sont mobiles, sauf quelques exceptions telles que *S. Gallinarum* (Freney et al, 1994). Les caractéristiques suivantes des *salmonella* sont utilisées pour l'identification de *Salmonella*: elles n'hydrolysent pas l'urée, ne désaminent pas le tryptophane et la phénylalanine, ne fermentent pas le lactose, sucrose et adonitol, produisent du sulfure dihydrogène (H₂S) à partir de thiosulfate, décarboxylent la lysine et l'ornithine (Grimont et al, 2000) (Tableau 1). Les hybrons ADN-ADN ont montré que le genre *Salmonella* ne comprend que trois espèces: *S. Bongori*, *S. Subterranea*, assez rares, et *S. Enterica*. Cette dernière comprend six sous-espèces : *Enterica* (qui comprend un très grand nombre de souches), *Salamae*, *Arizonae*, *Diarizonae*, *Houtanae* et *Indica*. 99,7% des souches de *Salmonella* isolées en pathologies humaines ou animales appartiennent à la sous-espèce *Enterica*. Les souches sont aussi classées par leurs sérotypes qui sont caractérisés par des antigènes somatiques (O), flagellaires (H) et capsulaires (K) (Laval et al, 1991).

Tableau 1: Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella* (Grimont 2000).

Caractères biochimiques	<i>Salmonella Enterica</i>						<i>Salmonella Bongori</i>
	Subsp. <i>enterica</i>	Subsp. <i>salamae</i>	Subsp. <i>arizonae</i>	Subsp. <i>diarizonae</i>	Subsp. <i>houtanae</i>	Subsp. <i>indica</i>	
O.N.P.G.	-	-	+	+	-	v	+
Gélatinase (36 °C)	-	+	+	+	+	+	-
culture sur milieu KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol fermentation	+	+	-	-	-	v	+
Malonate (utilisation)	-	+	+	+	-	-	-
Sorbitol fermentation	+	+	-	+	-	+	-

Bêta-glucuronidase	v	v	-	+	-	v	-
Alphaglutamyl transférase	v	+	-	+	-	+	+

v: variable ou plus tardivement; +: plus de 90 % des souches positives;-: moins de 10 % des souches positives.

VI. Pouvoir immunogène :

Il apparaît d'après Mastroeni et coll (1993), qu'à la fois l'immunité cellulaire et humorale, jouent un rôle dans la protection contre l'infection à *Salmonella*, bien que l'importance de chacune dans l'ultime protection de l'hôte reste encore controversée.

En effet les anticorps produits par les lymphocytes B fournissent l'effecteur d'activité de la fonction pour l'immunité humorale, ces anticorps protègent l'hôte 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 (Holt, 2000).

L'immunité cellulaire par contre est induite par les lymphocytes T, qui peuvent servir d'effecteurs directs de la fonction (cytolytique par les lymphocytes: LTct ou de régulation: LTh (helper) ou de suppression: LTs).

En modifiant l'activité des lymphocytes B ou d'autres lymphocytes T. 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).

VII. Propriété antigénique :

Comme toutes les Entérobactéries, les *salmonella* peuvent posséder différents types d'antigènes présentant un intérêt diagnostique plus ou moins important.

1. Les antigènes somatiques (antigènes O) :

Les antigènes somatiques sont constitutifs de la membrane externe de la paroi bactérienne, sont de nature lipopolysaccharidique (L.P.S.) et représentent l'endotoxine de la bactérie. Ils sont thermostables, alcoolostables, mais sensibles au formol (Humbert., 1998).Les antigènes O sont constitués de trois éléments, de l'intérieur vers l'extérieur:

- Le lipide A (Endotoxine), responsable du pouvoir pathogène et donc des effets toxiques.
- Le core ou noyau polysaccharidique de base semblable pour toutes les *salmonella* (Grimont., 1992).

- Des chaînes spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2 à 6 monosaccharides (Le Minor et coll. 1982).

2. Les antigènes flagellaires (antigènes H) :

Les antigènes H sont des polymères de flagelline: protéine de structure des flagelles, qui présente une composition en acides aminés constante pour un type antigénique donné (Euzéby, 1982). L'antigène H n'est présent que chez les *salmonella* mobiles, il est thermolabile et résistant au formol à 0,5 % et détruit par l'alcool. L'agglutination H est rapide et facilement dissociable par agitation, qui casse les flagelles (Humbert, 1998).

3. Les antigènes d'enveloppe Vi(capsulaires ou antigènes K) :

Le seul antigène d'enveloppe reconnu chez les *salmonella* est l'antigène Vi (de virulence), qui n'a été identifié que chez trois sérovars: *Salmonella Typhi*, *S.Paratyphi* et *S.Dublin* (Euzéby, 1982 et Rycroft, 2000).

A côté des antigènes d'enveloppe, existent des structures protéiques de surface, les PILI qui se différencient en pili communs et en pili sexuels intervenant dans la conjugaison bactérienne et dont la présence est codée par les plasmides. Le portage de ce polysaccharide capsulaire ne permet pas l'agglutination avec l'antisérum anti O, il convient de l'éliminer (1 h à 60 °C) pour révéler la présence des antigènes somatiques (Gledel et Corbion 1991; Rycroft 2000).

VIII. Facteur de pathogénicité :

1. Les toxines :

Différents produits de la bactérie dont les toxines sont responsables des lésions ou symptômes observés chez l'hôte.

- L'endotoxine (lipide A du LPS) :

Le LPS est constitué par le lipide A, le core oligosaccharidique et des chaînes latérales O. La toxicité du LPS est portée par le lipide A, ancré dans la membrane externe. Ses effets sont liés à l'activation de phénomènes inflammatoires importants. L'endotoxine est ainsi responsable de la plupart des symptômes de la fièvre typhoïde et du choc septicémique consécutif à une bactériémie (Bille, J. 1996).

- L'entérotoxines :

Jouent probablement un rôle dans les diarrhées des formes gastro-entéritiques. Une entérotoxine de *Salmonella Typhimurium*, reliée sur les plans immunologique et génétique à la toxine cholérique CT-like, thermolabile de type II, est active sur des anses iléales ligaturées de lapin. Une autre entérotoxine, thermolabile et non CT-like, active sur cellules CHO (lignée cellulaire issue d'ovaires de hamster de Chine) et sur anses iléales ligaturées de lapin, décrite par Rahman et al (Deplano, A. 2002).

2. Les Adhésines :

L'adhésion des *salmonella* aux cellules épithéliales se décompose en deux phases, dont la première est réversible. L'interaction bactérie-cellule hôte induit pendant la première phase la synthèse d'ARN et de protéines bactériennes, indispensables à l'adhésion irréversible et à l'invasion (Goater, E. 1981).

Les fimbriae contribuent essentiellement à la première phase de l'adhésion des bactéries à la surface des cellules épithéliales de l'hôte. Ce sont des appendices flexibles ou rigides également appelés pili, exprimés à la surface de nombreuses espèces bactériennes, généralement composés par polymérisation d'une sous-unité protéique majeure (fimbrilline ou piline).

Le rôle des fimbriae dans l'infection est controversé. Un certain nombre d'études *in vitro* ont montré que les fimbriae interviennent dans l'adhésion des *salmonella* à un grand nombre de lignées cellulaires aviaires ou de mammifères et contribuent à l'invasion de ces cellules.

L'adhésion de certains fimbriae à des protéines de la matrice tissulaire a été également décrite (Brugère-Picoux, 1989). Cependant l'adhésion par des fimbriae à des lignées cellulaires *in vitro* ne reflète pas forcément l'infektivité *in vivo* chez la souris.

Peu d'études ont été entreprises *in vivo* pour élucider le rôle de ces organelles. Des travaux préliminaires de Duguid et al. en 1976, ont décrit des différences d'infektivité, d'excrétion fécale et de pathogénicité pour la souris, liées aux fimbriae de type 1. La présence de fimbriae LPF (long polar fimbriae) semble indispensable à l'expression de la typhoïde. Une implication des fimbriae de type 1, et peut-être de type 3, dans l'adhésion et la pathogénie chez la souris a été suggérée (Bouvet, P. 1995).

3. Plasmide de virulence :

La plupart des sérotypes spécifiques à l'hôte et quelques autres moins spécifiques *Dublin*, *Pullorum*, *Gallinarum*, *Choleraesuis*, *Abortusovis* et quelques souches de *Typhimurium* et *Enteritidis* portent des plasmides de virulence qui codent pour les gènes nécessaires à la capacité de provoquer la maladie systémique (Libby et coll., 2004).

4. Système de captation du fer :

Certaines *salmonella* sont capables de synthétiser l'entérochéline, ou entérobactine, un sidérophore sécrété dans des conditions limitantes en fer, telles que celles rencontrées dans l'organisme hôte. Toutefois le système entérochéline semble jouer un rôle dans la fièvre typhoïde (Funnan M., 1994).

Benjamin et al. ont montré que ce sidérophore favorise la croissance dans le sérum murin mais n'est pas indispensable à la virulence pour la souris. La localisation intracellulaire de *Salmonella* permettrait à la bactérie de conserver sa virulence en l'absence de sidérophore (Bouvet, P. 1995).

Le système entérochéline est contrôlé par le régulon Fur (fury uptake regulator) répondant à la carence en fer. Certains de ces gènes sont impliqués dans la réponse adaptative à l'acide ou ATR (acid tolerance response), laquelle joue un rôle dans la virulence (Garcia-del Portillo F., 1993).

IX. Signes cliniques et lésions post-mortem :

A. Signes cliniques :

L'infection par les sérotypes ubiquitaires chez la volaille est surtout associée à la maladie des très jeunes oiseaux. Les signes de sévères infections chez les poussins sont généralement similaires à ceux observés chez les autres salmonelloses aviaires (pullorose et typhose) ou ayant de très étroites analogies avec des signes de maladies septicémiques (Shivaprassad 2003).

La contamination des œufs par les *salmonella* peut mener à un niveau très élevé de mortalité embryonnaire et une mort rapide des poussins nouvellement éclos, avant l'observation de signes cliniques (Gast 2003). Les signes de la maladie sont rarement observés après les deux premières semaines de la vie. La maladie clinique à sérotypes ubiquitaires n'est normalement pas associée aux volailles adultes mais certaines *salmonella* par exemple *Salmonella Enteritidis* et *Salmonella Typhimurium* qui sont douées d'un pouvoir invasif et passent dans le système lymphoïde grâce aux macrophages, dans le foie et la rate puis dans le sang et envahissent les organes (ovaires et oviductes) peuvent être responsables de somnolence avec yeux clos, d'anorexie, de retards de croissance, de chutes de ponte, entérites, hépatites et parfois des malformations. Les animaux très affectés sont regroupés autour des sources de chaleur ; ils présentent une diarrhée liquide profuse. La mortalité est généralement faible mais peut atteindre 10 % des animaux malades.

Dans la plupart des cas, les volailles sont des porteurs sains ou la maladie évolue sous forme chronique et les *salmonella* sont excrétées de façon intermittente (Humbert 1998; Carlier et coll. 2001).

B. Lésions :

Chez les très jeunes poussins, il y a développement d'une septicémie rapide qui peut causer une très forte mortalité avec peu ou pas de lésions. Quand le cours de la maladie est plus long ou infection à certains sérotypes, on a parfois l'apparition de sévères entérites accompagnées de foyers nécrotiques de la muqueuse de l'intestin grêle. Les caecae, la rate et le foie sont congestionnés (foie bronzé après oxydation à l'air) et tuméfiés avec des suffusions hémorragiques ou des foyers nécrotiques. Les reins sont parfois tuméfiés et congestionnés. On peut également observer des péricardites, des omphalites, des lésions génitales dégénératives et des inflammations pulmonaires, des ovaires et des oviductes.

Chez les adultes, lors de la forme aiguë on aura une Pâleur de la carcasse, Sang dilué, Hépatomégalie et splénomégalie, Foie bronzé plus ou moins nécrosé, Lésions nécrotiques sur la rate et sur le myocarde, Atrophie de la grappe ovarienne et déformation des ovules, Entérite ulcéreuse de l'intestin grêle. Dans la forme chronique, une myocardite nodulaire, péricardite, grappes ovariennes atrophiées, déformées, et hémorragiques et testicules atrophiés (Gast 2003).

X. Importance économique et sanitaire :

1. Importance économique :

Les infections salmonelliques des volailles sont souvent inapparentes. Leur importance est essentiellement liée à leur impact hygiénique, justifiant l'élimination en Europe des troupeaux reconnus infectés par les sérovars les plus dangereux et aux limitations commerciales (J-P GANIERE ENVN, 2008).

2. Importance hygiénique :

La filière avicole, par le biais de la consommation d'œufs et d'ovoproduits (contaminés notamment par *S. Enteritidis* ou *Typhimurium*), ou celui de la consommation de viande de volailles, est une source importante de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Les sérovars les plus fréquemment incriminés sont *Typhimurium*, *Enteritidis*, *Hadar*, *Virchow* et *Infantis*. La prévention des TIAC chez le consommateur est devenue une préoccupation nationale et européenne. Elle implique une maîtrise de l'infection dès la production primaire et la transmission aux abattoirs des informations sanitaires d'élevage (J-P GANIEREENVN, 2008).

XI. Épidémiologie :

1. Facteur déterminant :

Espèce : Toutes les espèces aviaires sont affectées par *salmonella*.

Age : La maladie se déclare seulement lorsque les poussins (poulets ou dindonneaux) sont infectés dans les heures qui suivent l'éclosion. Une maladie systémique sévère ne peut pas être reproduite chez des adultes immunocompétents.

L'environnement : Toute contamination résiduelle d'un bâtiment avant la mise en place des poussins constitue une source très importante de *salmonella* (Liebana et coll.2003). L'épandage de fumier contaminé sur les pâtures présente un double risque: Celui de la contamination des cours d'eau et celui de la contamination directe des animaux placés sur cette parcelle (Villate, 2001).

2. Facteur prédisposant :

Plusieurs facteurs favorisent à l'apparition de la maladie tels que le stress de transport qui fait augmenter le niveau de contamination des animaux, les mauvaises conditions de nettoyage et de désinfection des camions et des caisses de livraison qui ne sont pas spécifiques n'arrangent rien (Kimura et coll. 2004; Rostagno et coll. ,2006). Aussi l'alimentation qui jouent un rôle important comme véhicules de *salmonella*, notamment ceux contenant des farines d'os, de viandes ou de poissons, des tourteaux de soja et des tourteaux de tournesol (Carlier et coll. 2001; Van Immerseel et coll. ,2005) .Enfin le mode d'élevage peut exercer une influence sur la contamination des animaux et la vitesse de diffusion d'une infection: la densité trop importante des élevages au sol (cas des reproducteurs et poulet de chair), présentent une grande susceptibilité aux *salmonella*, les variations brusques de température ou une hygrométrie trop basse sont des facteurs de stress, une ventilation insuffisante des locaux permet l'accumulation de gaz toxiques mais surtout un confinement favorable à la dissémination des *salmonella* (Villate, 2001).

XII. Diagnostic:

1. Clinique :

Le diagnostic clinique de la pullorose et la typhose est fondé sur l'histoire du troupeau, les signes et lésions cliniques, et la mortalité, néanmoins le diagnostic de laboratoire reste le meilleur moyen de confirmation (David E. Swayne, 2013).

2. De laboratoire :

a) Culture :

Dans un échantillon soumis à l'analyse bactériologique, les *salmonella* peuvent non seulement être présentes en petit nombre par rapport à une flore bactérienne nombreuse et variée mais aussi se trouver dans un état physiologique précaire. En principe, leur recherche nécessite donc quatre étapes : pré-enrichissement, enrichissement, isolement, identification. L'examen complet comprend en outre l'antibiogramme. L'ensemble requiert au moins 96 heures, mais des résultats partiels peuvent être obtenus dans des délais plus courts et communiqués en cas d'urgence.

Les organes normaux ou atteint prélevé en post-mortem doivent être mise en culture sur du bouillon nutritif ou sur gélose vert brillant, puis incubé à 37°. De plus le poids des organes prélevé doit être déterminé, et 10 fois du volume de ces dernier doit être identifier en bouillon, le tout est vortexé puis 10ML du culot sont remis en suspension dans 100ML du brouillon nutritif puis incubé à 37°, le bouillon est ensuite ensemencé sur gélose vert brillant et examiner après 24 à 48h. Si une contamination est Proteus ou Pseudomonas est observé, il vaut mieux ensemencer sur milieu vert brillant additionné a du sulfapyridine.

Le tractus digestive devrai être mise en culture en utilisant des écouvillons pour la partie supérieur, moyenne et basse du tractus intestinal, en incluons à la fois le caecum et le rectum, les écouvillons sont ensuite déposé dans 10ML de bouillon TBG (bile tétrathionate gélose), incubé puis ensemencer comme précédemment citer.

Les colonies suspectées sont ensuite repiquer sur milieu TSI (Triple Sugar Iron) puis incubé à 37° à 24h. Les cultures caractéristique d'une *salmonella* observée sur TSI doit être indiqué par la suite sur des tests biochimiques puis sérologique. Les colonies de *salmonella Pullorum* apparaissent lisses, petites, transparentes sur gélose vert brillant après 24h d'incubation, et les colonies de *S. Gallinarum*, apparaissent lisses, bleu gris, humides, circulaires et bombés.

b) Identification biochimique :

La détermination de ces caractères peut être effectuée grâce à des galeries classiques en tubes ou des systèmes d'identification standardisée du type galeries API 20E, ID 32E ou RAPID ID 32E. L'utilisation d'une galerie minimum comprenant un milieu de Hajna-Kligler, un milieu lysine-fer et une gélose nutritive en pente permet d'avoir les caractères principaux d'identification.

c) Antibiogramme :

La détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries pathogènes est essentielle pour détecter les souches résistantes et orienter le clinicien dans le choix de l'antibiotique. La méthode de diffusion en gélose utilisant des disques chargés d'antibiotiques est particulièrement adaptée à la détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne à croissance rapide comme les *salmonella* vis-à-vis de plusieurs antibiotiques (en principe, on utilise au moins une molécule représentative de chacune des principales familles d'antibiotiques).

Cette méthode est standardisée afin d'être interprétable et de permettre l'exploitation de l'ensemble des résultats obtenus.

Le diamètre d'inhibition est comparé à la valeur critique proposée pour chaque anti-infectieux pour définir la catégorie des sensibilités critiques. En général, 2 valeurs critiques (d et D) permettent de définir 3 catégories de sensibilité.

d) Identification sérologique :

La recherche des antigènes Vi (somatiques d'enveloppe), O (somatiques) et H (flagellaires) des *Salmonella* est effectuée par des agglutinations sur lames avec les sérums appropriés à partir de souches bactériennes identifiées comme étant *Salmonella*. Il est souhaitable de pouvoir sérotyper 2 à 3 souches pures issues de colonies différentes identifiées biochimiquement. En effet, la présence de 2 sérotypes différents sur un même prélèvement n'est pas rare (David E. Swayne, 2013).

3. Différentiel :

Les signes et les lésions cliniques produits par la pullorose et la typhose ne sont pas pathognomoniques, d'autres maladies peuvent produire des lésions semblables tel que : la mycoplasma synoviae, multocida de staphylococcus aureus, pasteurella, erysipelothrix rhusiopathiae, maladie de marek et yersinia pseudotuberculosis (David E. Swayne, 2013).

XIII. Traitement :

Un traitement antibiotique permet de limiter les conséquences des symptômes. C'est cependant par des mesures de sécurité sanitaires à tous les niveaux de la filière, associées à une vaccination que la lutte contre les *salmonella* et le portage des *salmonella* est le plus efficace. L'objectif de la lutte contre les *salmonella* en filière avicoles est la prévention des toxi-infections alimentaires par l'intermédiaire des produits avicoles.

Divers sulfamides, nitrofurannes, chloramphenicol, tétracyclines, et des aminoglycosides sont avérés efficaces en réduisant la mortalité des poulets ; cependant, aucune dose ou la combinaison des doses a été trouvée capable d'éliminer l'infection d'un troupeau traité (David E. Swayne, 2013). Cependant le traitement antibiotique des salmonelloses visées par la réglementation est interdit.

XIV. Prophylaxie :

L'introduction de *salmonella* de l'extérieur doit être minimisé en appliquant un système de biosécurité, des oiseaux en liberté sont souvent considéré comme porteur et réservoir de *salmonella*, bien que rarement *S.pollurumet S.Gallinarum* soit déceler comme étant des bactéries propager par ces oiseaux, les bâtiments d'élevages doivent être dépourvu de oiseaux (David E. Swayne, 2013).

1. Prophylaxie sanitaire:

Les locaux, le personnel et l'environnement doivent répondre à certains principes généraux, Un isolement rigoureux des locaux vis à vis de l'extérieur, pour protéger les locaux, les équipements et les animaux, La propreté, la désinfection et le bon état d'entretien des équipements et du matériel, La propreté et le lavage des mains, le changement et désinfection des bottes sont essentiels pour la protection des bâtiments d'élevages (Bell, 2002).

Les aliments et l'eau, peuvent être contaminés par les matières premières animales mal stérilisés ou par des matières végétales contaminées par des vecteurs tels les rongeurs, soit pendant leur stockage ou leur distribution. Il faut pour cela une qualité de matière première et des conditions de stockage satisfaisantes, une désinfection spécifique des silos de l'élevage et une qualité d'eau irréprochable ainsi que l'installation de pédiluves (Goater, 1981; ICMSF, 1998).

2. Prophylaxie médical:

A. La vaccination :

La vaccination en élevage de poulet de chair ne serait pas justifiée, vu la durée de vie très courte des animaux, néanmoins la vaccination pourrait venir compléter l'ensemble des mesures préconisées en prophylaxie sanitaire et en aucun cas ne peut suffire à elle seule.

En revanche, la vaccination des futurs reproducteurs au moyen de vaccins tués, d'autovaccins ou de vaccins atténués ont montré une certaine efficacité qui se traduit par une réduction nette du portage et de l'excrétion. Mais en aucun cas cette prévention n'est suffisante et durable si le contexte environnemental n'est pas satisfaisant.

L'innocuité doit être la qualité première des vaccins. Les vaccins tués doivent tout simplement subir une inactivation correcte alors que les vaccins vivants, d'utilisation plus risquée pour la santé humaine, doivent être stables (non- sujets à des mutations).

D'une manière générale, les vaccins vivants sont considérés comme plus efficaces que les vaccins tués et surtout les vaccins vivants peuvent être distribués dans l'eau de boisson, alors que les vaccins tués nécessitent une ou deux injections.

Les autovaccins donnant des résultats assez satisfaisants, mais ne permettent pas l'élimination totale des *salmonella* car le portage persiste au niveau des organes (foie, rate et colon) et l'excrétion des *salmonella* se poursuit dans les fientes des animaux vaccinés (Proux, 1996).

B. Additifs Alimentaires anti-*Salmonella*:

1. L'acidification de l'eau de boisson :

Consiste à supplémenter l'eau de boisson avec un acide organique (acide butyrique), qui non seulement abaisse le pH de l'eau, mais surtout abaisse le pH du contenu intestinal.

L'acidification agit comme un agent modifiant le milieu intestinal, le rendant défavorable à la multiplication des *salmonella*, son action est limitée dans le temps, ce qui implique des administrations répétées et régulières tout au long du lot. Le but de la supplémentation n'est pas d'éliminer toutes les *salmonella*, mais de les empêcher de se développer (Chataigner, 2000; Van Immerseel et coll. 2005).

2. Les prébiotiques :

Ce sont des ingrédients des aliments non digestibles qui ont un effet favorable par la stimulation sélective de la croissance ou de l'activité d'un nombre restreint d'espèces bactériennes déjà présentes dans l'intestin. La flore intestinale transforme ces prébiotiques par fermentation, en acide gras volatils, ce qui peut conduire à une modification de l'ensemble de la flore (Van Immerseel et coll.2005).

3. Les probiotiques:

C'est une autre classe de composants utilisables dans l'aliment: Des micro-organismes vivants, inclus dans les aliments qui ont un effet favorable sur l'hôte par amélioration de l'équilibre de la flore intestinale. Chez la volaille, des tests avec des probiotiques et en particulier certaines souches de Bacillus et des Lactobacilles, ont permis de réduire le niveau de colonisation de l'intestin par Salmonella (Van Immerseel et coll.2005).

4. L'antibio- prévention:

Elle est basée sur l'administration d'anti-infectieux à de faibles doses, cependant l'antibio-prévention est depuis quelques années interdite aux Etats Unis, en Europe et particulièrement en France (Le coanet,1992).

Matériels et Méthodes :

I. Objectif :

L'objectif de ce travail est :

1. D'isoler les espèces de *Salmonella* associées aux cas de salmonelloses observées dans les élevages avicoles de la région Lakhdaria et Sidi moussa.
2. Caractérisation biochimique par galerie api et api web des espèces et souches isolées.
3. Évaluer le pouvoir pathogène des espèces isolées en les inoculant à des poussins SPF (specific pathogen free).

II. Échantillons et méthodes de prélèvements :

Différents prélèvements ont été recueillis après autopsie de poulets présentant les signes cliniques et lésionnels d'une salmonellose. Les analyses bactériologiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de Microbiologie médicale de l'ENSV d'Alger.

Toutes les informations relatives au type d'élevage, l'âge des animaux prélevés ont été notées.

III. Enrichissement et mise en culture :

III.1. Pré-enrichissement sur bouillon BHIB :

Cette étape a pour objectif d'amplifier et augmenter le nombre de bactéries à isoler puis à caractériser.



Figure1 : échantillons de foie et de rate

Technique :

L'anse de platine est introduite de manière stérile à l'intérieur de l'organe cible de façon stérile puis plongée dans du bouillon BHIB. Les tubes sont ensuite incubés dans une étuve à 37°C pendant 18h à 24h.

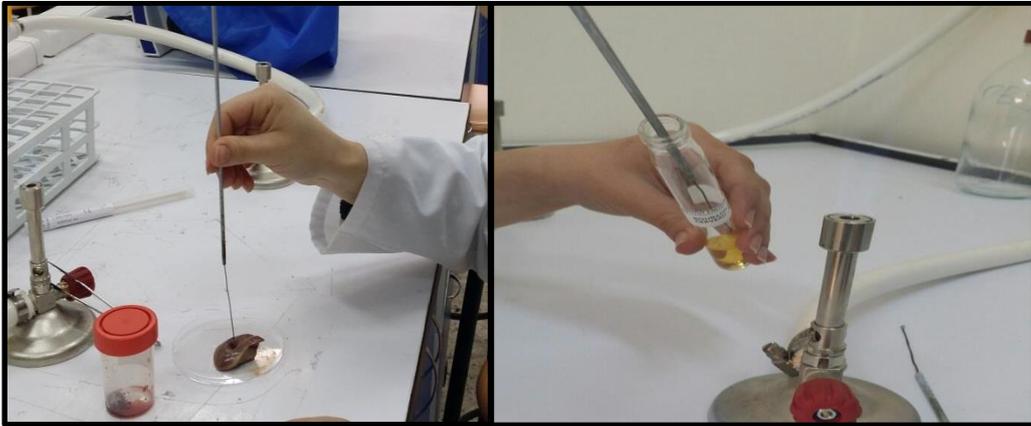


Figure 2 : pré-enrichissement dans du bouillon BHIB

III.2. Coloration de gram :

Une coloration de Gram est réalisée pour l'examen microscopique des bactéries isolées.

Technique :

Un frottis est préparé à partir de la suspension bactérienne. Il est ensuite coloré selon les étapes suivantes :

1. Violet de gentiane (1mn).
2. Réactif de Lugol (1mn).
3. Alcool à 95% (30sec).
4. Rinçage à l'eau.
5. Fushine (1mn).

On termine par l'observation du frottis au microscope optique (Grossissement x100) après addition d'une goutte d'huile à immersion.



Figure 3: Coloration de gram

III.3. Ensemencement sur gélose :

Les milieux utilisés pour l'isolement des espèces de Salmonella ont été le milieu Hektoen et SS-Agar. Les tableaux 2 et 3 ci-dessous illustrent la composition de ces milieux.

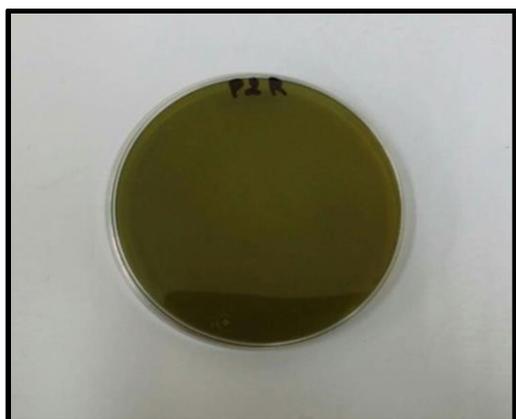


Figure4 : milieu Hektoen

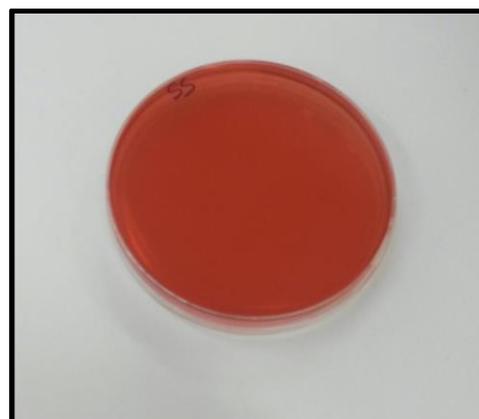


Figure5 : milieu SS-Agar

Tableau 2 : Composition du milieu Hektoen

Composant	g/l
Protéose peptone	12
Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Thiosulfate de sodium	5
Sels biliaires	9
Citrate de fer ammoniacal	1,5
Salicine	2
Lactose	12
Saccharose	12
Fuchsine acide	0,1
Bleu de bromothymol	0,065
Agar	14

PH=7,5

Préparation :

Dissoudre le milieu déshydraté dans de l'eau distillée (soit 76 g/l) en chauffant légèrement ; laisser bouillir quelques secondes mais ne pas autoclaver puis les laisser refroidir à une température de 50°C maintenue ainsi au bain marie

Tableau 3 : Composition du milieu SS-Agar

Composant	g/l
peptone	10,0
Lactose	10,0
Fiel de bœuf déshydraté	8,5
Citrate de sodium	10,0
Thiosulfate de sodium	8,5
Citrate d'ammonium fer	1,0
Vert brillant	0,0003
Rouge neutre	0,025
Agar-agar	12,0

Ph=7,0 +/- 0,2 à 25°C.

Préparation :

Dissoudre complètement 60 g dans 1 litre d'eau distillée dans un bain marie bouillant ou sous vapeur fluente. Ne pas autoclaver rapidement et couler sur des boîtes en couche épaisse.

Technique :

Quelques gouttes de la suspension bactérienne sont prélevées de manière stérile à l'aide d'une anse de platine. Elles sont ensuite ensemencées sur gélose Hektoen et SS-Agar puis incubées à l'étuve pendant 18h à 24h à 37°C.



Figure 6 : incubation des milieux ensemencés dans étuve bactériologique adaptées

III.4. Galerie API :

La galerie API® 20E est un outil standardisé d'identification de l'espèce salmonella à travers vingt tests biochimiques.



Figure 7 : Galerie API®20E

Technique :

Près du bec benzène, on commence par humidifier la base de la galerie API.

Des colonies bactériennes sont prélevées à partir des boîtes de Pétri puis remises en suspension dans un milieu vendu avec le kit (inoculum). La suspension est homogénéisée puis vortexée. Les microtubules de la galerie sont remplis par cette suspension à l'aide de pipettes Pasteur stériles. Pour les tests ADH et URE une anaérobiose est obtenue en rajoutant de l'huile de paraffine. La galerie est mise en incubation à 37°C pendant 18h à 24h.



Figure 8: inoculum

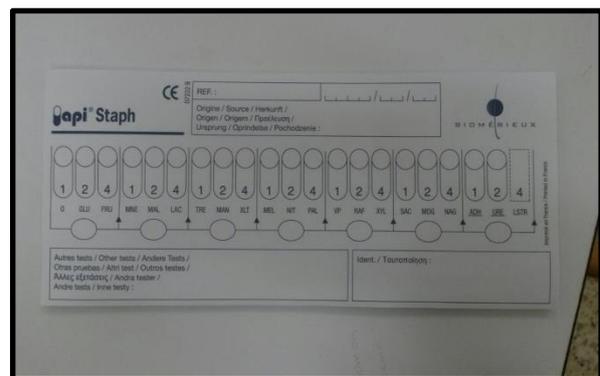


figure 9 : chèque API® 20E

L'identification se fait en convertissant les résultats obtenus en code qu'on introduit dans un inde numérique (API web®20E).

III. Évaluation du pouvoir pathogène des espèces de *Salmonella* isolées:

Un total de 13 poussins âgés de 16 jours (SPF) ont été inoculés avec les espèces de *Salmonella* caractérisées. L'inoculum a été obtenu, en réalisant un raclage des souches préalablement repiquées sur des milieux appropriés. Le contenu du raclage a été suspendu dans 1 ml d'eau physiologique stérile puis vortexé soigneusement avant inoculation aux poussins en utilisant seringue à insuline (1ml)



Figure 10 : les poussins à J1



Figure 11 : les poussins à J16

Etapes de préparation de l'inoculum (figures ci-dessous) :

Etape1 :

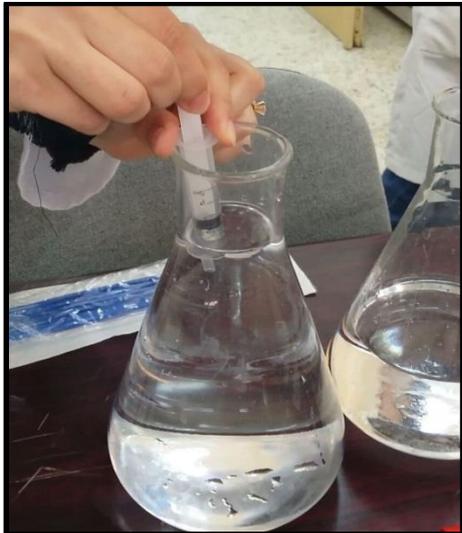


Figure12: prélèvement de 1mL d'eau physiologique



Figure 13 : tubes stériles

Etape 2 :



Figure 14 : prélèvement de colonies



Figure15 : mélange des colonies à l'eau physiologique



Figure 16: mettre les tubes stériles au vortex

Etape 3 :



Figure 17 : prélèvement de la solution



**Figure 18 : inoculation *peros* des
poussins à inoculer**

Résultat :

I. Prélèvement :

Le tableau ci-dessous montre le nombre et le pourcentage obtenus des différents types de prélèvements réalisés sur des sujets atteints de salmonellose.

Tableau 4 : nature des prélèvements

Nature de prélèvements	Nombre de prélèvements	Pourcentage
Foie	15	55,56%
Rate	9	33,33%
Ecouvillon	2	7,40%
TOTAL	27	100%

II. Pré-enrichissement des prélèvements :

Une foisensemencés, les bouillons BHIB ont présenté après 24heures d'incubation (37°C) un aspect trouble évocateur d'une croissance bactérienne.

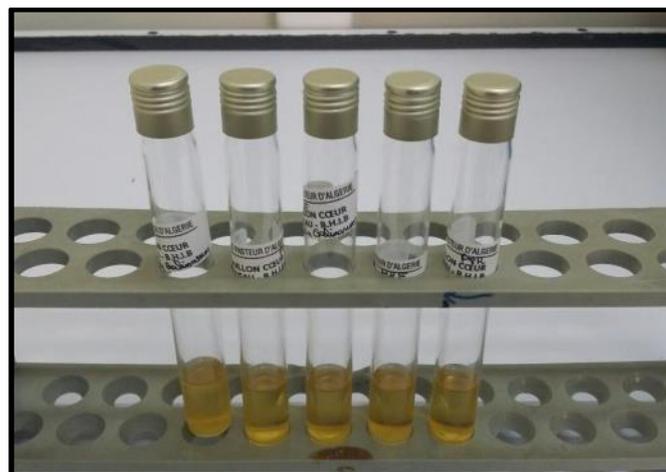


Figure19 : Bouillons BHIB après incubation

III. Analyses bactériologique :

III.1. Coloration de gram :

À l'examen microscopique les bactéries se présentent sous la forme de bacilles isolés ou regroupés. Ils apparaissent colorés en rose, les bactéries sont identifiées comme étant Gram négatif.

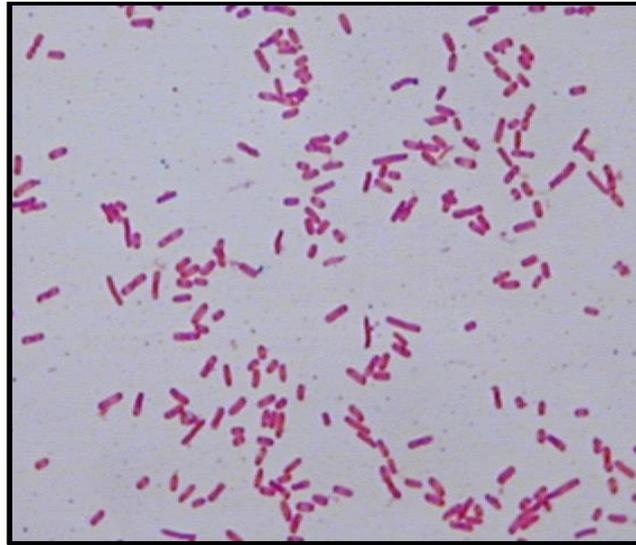


Figure 20 : Aspect microscopique

IV. Isolement et caractérisation des espèces obtenues :

Un total de 27 souches de *Salmonella spp.* a été obtenu après la culture et l'isolement des échantillons recueillis. Parmi les 27, 03 ont été caractérisés comme étant l'espèce *Gallinarum* et 10 comme l'espèce *Arizonae*. La caractérisation définitive des souches a été obtenue par api web (site internet)

1. Isolement sur milieu Hektoen :

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les colonies de *Salmonella* ont présentées une couleur bleu-vert à centre noir et une couleur jaune saumon évocatrice de *Salmonella Arizonae*.

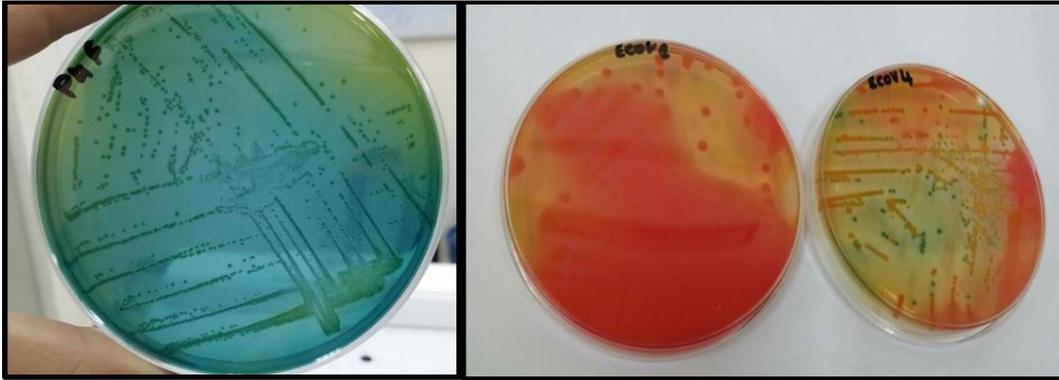


Figure 21 : Aspect des colonies de *Salmonella* sur milieu Hektoen

2. Isolement sur milieu SS-Agar :

Après incubation à 37°C pendant 24heures, les colonies de *Salmonella* sont apparues sans couleur mais à centre noir.

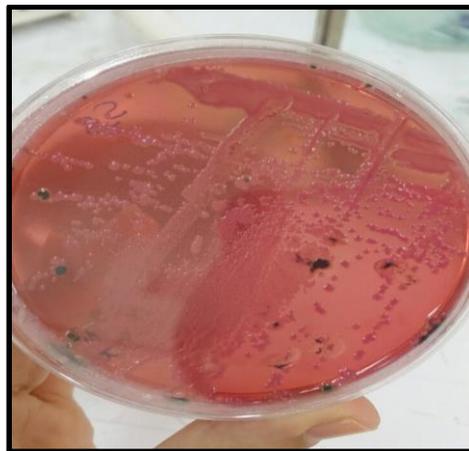


Figure 22 : Aspect des colonies de *Salmonella* sur milieu SS-Agar

3. Identification biochimique par API®20E :

Des galeries API®20E ont été utilisées pour caractériser les 13 souches isolées. L'identification a été confirmée à l'aide du site internet www.apweb.com. Les principales caractéristiques biochimiques de la souche *Salmonella* ont été mises en évidence.



Figure 23 : Résultat de la Galerie API® 20E pour les souches de *Salmonella*

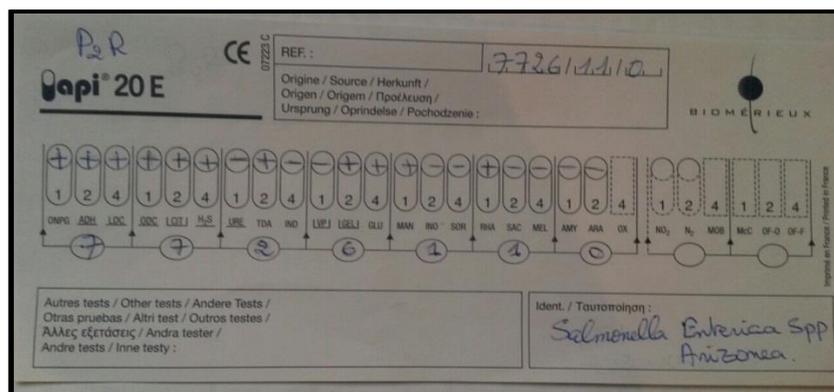


Figure 24: Résultat de la galerie Api (*Salmonella Arizonae*)

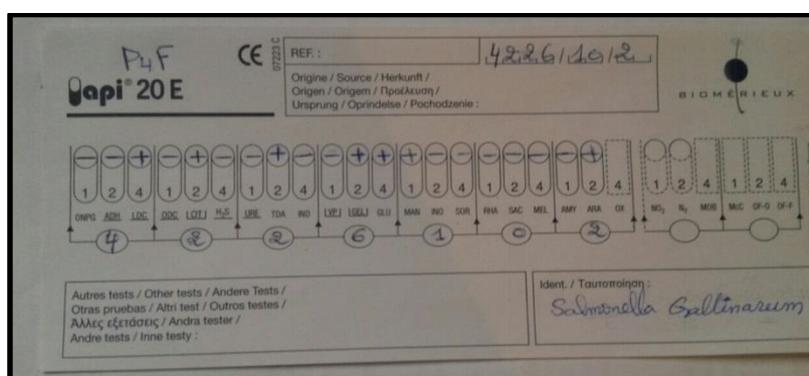


Figure 25: Résultat de la galerie Api (*Salmonella Gallinarum*)

PROFIL INACCEPTABLE										
Galerie	API 20 E V5.0									
Profil	7726110									
Note(s)										
Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre							
Salmonella enterica ssp arizonae			TDA	0%	GEL	1%	SOR	99%	MEL	78%
			ARA	99%						

Figure 26: Identification sur Apiweb

Les différents tests (20) que compte la galerie API®20 E permettent d'identifier avec certitude les souches bactériennes de *Salmonella*. Ces tests sont détaillés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : tableau de lecture de la galerie API® 20E

Tests	composants actifs	Qte Mg/cup	réactions-enzymes	résultats	
				négatif	positif
ADH LDC ODC URE	L-arginine L-lysine L-omithine Urée	1,9 1,9 1,9 0,76	Arginine DiHydrolase Lysine DéCarboxylase Omithine DéCarboxylase UREase	Jaune	Rouge/ orangé
ONP G	2-nitrophényl- βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (Ortho NitroPhényl- βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune
CIT	Trisodium citrate	0,756	utilisation du CITrate	Vert-pale / jaune	Bleu-vert/ bleu
H₂S	Sodium thiosulfate	0,075	Production d'H ₂ S	Incolore- grisatre	Depot noir – fin liseré
TDA	L-tryptophane	0,38	Tryptophane DésAminase	TDA-immédiat	
				jaune	Marron- rougeatre
IND	L-tryptophane	0,19	Production d'INDole	JAMES-immédiat	
				Incolore-vert pâle-jaune	rose
VP	Sodium pyruvate	1,9	Production d'acétoïne	VP 1+VP 2/10min	
				Incolore- rose pâle	Rose-rouge
GEL	Gélatine (origine bovine)	0,6	Gélatinase (GELatine)	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	Fermentation-oxydation (GLUcose)	bleu/ bleu- vert	jaune
MAN	D-mannitol	1,9	Fermentation-oxydation (MANnitol)		
INO	Inositol	1,9	Fermentation-oxydation (INOsitol)		
SOR	D-sorbitol	1,9	Fermentation-oxydation (SORbitol)		
RHA	L-rhamnose	1,9	Fermentation-oxydation (RHAmnose)		
SAC	D-saccharose	1,9	Fermentation-oxydation (SACcharose)		
MEL	D-melibiose	1,9	Fermentation-oxydation (MELibiose)		
AMY	Amygdaline	0,57	Fermentation-oxydation (AMYgdaline)		
ARA	L-arabinose	1,9	Fermentation-oxydation (ARAbinose)		

V. Résultat de l'examen post-mortem :

Vingt-quatre heures après l'inoculation nous avons constaté la présence d'une diarrhée aqueuse verdâtre parfois blanchâtre et un plumage ébouriffé chez les poussins.



Figure 27 : Diarrhée aqueuse



Figure 28 : poussin à plumes ébouriffées

L'autopsie des 13 poussins inoculés par les souches de *Salmonella Gallinarum* et *Salmonella Arizonaea* été réalisée au laboratoire de Microbiologie. Une analyse et une comparaison de l'aspect macroscopique des organes pour lesquels les espèces de *Salmonella* ont un tropisme a été réalisée(foie, rate et intestin).



Figure 29 : Autopsie de poussin

Autopsie :

L'euthanasie des animaux a été effectuée par saignée. Une section de la veine jugulaire et de l'artère carotide a été réalisée. Les étapes de l'autopsie ont été les suivantes :

- Placer l'animal en décubitus dorsal.
- Ecarter latéralement les membres postérieurs jusqu'à la désarticulation des hanches, pour rendre la carcasse plus stable.
- On commencera le dépouillement de la carcasse par une incision cutanée en regard de la pointe du bréchet.
- Puis la peau est séparée des plans musculaires, la peau est réclinée jusqu'à la base du cou et le long de celui-ci.
- Une boutonnière est réalisée au ciseau à la base du bréchet, puis l'ouverture de la cavité thoraco-abdominale est effectuée de chaque côté en remontant de l'arrière vers l'avant.
- Les côtés sont coupés à mi-hauteur au niveau de leur articulation
- Enfin le bréchet est délicatement récliné vers l'avant.

Examen des viscères abdominaux :

- Le foie est retiré en coupant ses insertions. On Notera l'aspect, la couleur, le volume et la consistance.
- La rate située en regard de la jonction entre le proventricule et gésier, est prélevé. On observera son aspect, sa couleur, son volume, sa section.
- Les anses intestinales sont ensuite soigneusement déroulées et déposées en dehors de la carcasse. On Examinera la muqueuse, la paroi, le contenu.

Tableau 6 : Lésions macroscopiques observées en *post mortem*.

	Poulet A <i>Arizonae</i>	Poulet B <i>Gallinarum</i>	Poulet C <i>Gallinarum</i>	Poulet D <i>Gallinarum</i>	Poulet E <i>Arizonae</i>	Poulet F <i>Arizonae</i>
FOIE	Couleur : foie très pâle (figure 30) Hépatomégalie	Hépatomégalie	Couleur : foie pâle Hépatomégalie	Hépatomégalie	Couleur : foie pâle	Couleur: foie très pâle
RATE	Hypertrophie (figure 30)	Splénomégalie	Couleur, aspect, et taille normale	Couleur, aspect et taille normale	Couleur, aspect et taille normale	Splénomégalie (Hypertrophie Plus importante)

INTESTIN	<p>-Entérite -Ballonnement des cloaques (figure 31)</p> <p>-AMYGDALE CÆCALE: réactionnels de volume augmenté</p> <p>(situées au voisinage du carrefour caecal, ne sont fonctionnelles qu'après des sollicitations antigéniques) (figure 33)</p>	<p>-Entérite -Ballonnement des cloaques</p> <p>-AMYGDALE CÆCALE: réactionnels</p>	<p>-Entérite -Ballonnement des cloaques</p> <p>-AMYGDALE CÆCALE: réactionnels</p>	<p>-Entérite -Ballonnement des cloaques</p> <p>-AMYGDALE CÆCALE: réactionnels</p>	<p>-Entérite- Ballonnement des cloaques</p> <p>-AMYGDALE CÆCALE: réactionnels</p>	<p>-Entérite -Ballonnement des cloaques</p> <p>-AMYGDALE CÆCALE: réactionnels</p> <p>-Congestion plus ou moins généralisée</p> <p>-DIVERTICULE DE MECKEL: Hypertrophié (petit nodule, parfois visible sur le bord concave d'une des courbures de l'iléon) (figure 34)</p>
----------	--	--	--	--	---	--



Figure 30: Foie et rate de 6 poulets infectés par *salmonella*



Figure 31 : Entérite et ballonnement des intestins de 6 poulets infectés par *salmonella*



Figure 32 : portion d'intestin congestionné



Figure 33: Amygdale caecal réactionnel



Figure 34: diverticule de Meckel hypertrophié

Discussion :

Le genre *Salmonella* se compose de bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, ce sont des bacilles Gram négatifs ne formant pas de spores, mobiles (ciliature péritriche) (McDonough et coll., 2000). Naturellement présentes dans l'intestin des animaux, en particulier chez les volailles et les porcs et des humains (porteurs sains), donnant fréquemment des TIAC (1500 cas déclarés /an). Elles vivent également dans l'environnement. Elles sont responsables chez le poulet de la pullorose et de la typhose provoquant des lésions nécrotiques, des entérites, des hépatomégalies et splénomégalie (ICMSF, 1996).

Depuis les premières observations, rapportées en 1880 par EBERTH, jusqu'à nos jours, le genre *Salmonella* n'a pas cessé de présenter une importance considérable dans les domaines vétérinaire et médical, tant par les pertes économiques dues à la maladie animale, que par la forte incidence chez l'homme des fièvres typhoïdes et des toxi-infections à *salmonella*. En effet très largement implantées dans les élevages de volailles, de sorte que leur élimination nécessite la mise en œuvre de moyens considérables.

La typhose et pullorose représentaient il y a une trentaine d'années, un véritable fléau. Des mesures de lutte draconiennes appliquées en particulier dans les élevages de poule où la maladie était très répandue, ont permis, du moins en Europe et en Amérique du Nord, leur quasi-disparition ; mais le vide biologique créé aurait favorisé le développement des autres salmonelles (J-P GANIERE – ENVN, 2008).

L'aviculture algérienne a bénéficié dès les années 70 d'importants investissements qui lui ont permis d'évoluer très rapidement vers un système de production de type intensif et de ce fait, assurer à la population un apport privilégié en protéines animales. Malheureusement actuellement, le fonctionnement du secteur avicole, reste anarchique (élevages prives extensifs, grand retard technologique, processus de production ne répondant pas aux normes zootechniques, faible productivité) (ferrah, 1997).

Très peu de données expérimentalement vérifiables existent sur la prévalence des *salmonella* en Algérie; néanmoins, certaines données laissent augurer d'un danger en expansion (même si cela reste à discuter entre une expansion réelle et une meilleure détection), notamment les archives de l'institut Pasteur d'Algérie, le nombre de gastro-entérites enregistré dans les Centres Hospitalo-universitaires algériens qui se réduit très peu malgré tous les efforts déployés pour la prévention (Aboun et coll. 2003).

Dans notre travail de recherche, nous avons voulu d'une part inoculer à des poussins, des espèces de *salmonella* isolées à partir d'animaux atteints de salmonellose, d'autre part obtenir un tableau lésionnel avec lequel nous avons pu évaluer le pouvoir pathogène des espèces de *salmonella*.

L'étude menée sur les salmonelloses aviaires dans les élevages de Lakhdaria et de Sidi moussa a montré la présence des espèces bactériennes (*Salmonella gallinarum* et *Salmonella arizonae*) en élevage avicole ce qui permet de confirmer le caractère endémique et cosmopolite de ce pathogène comme stipulé dans le manuel terrestre de l'Office International des Epizooties (OIE) édition 2005.

Les échantillons ont été récoltés dans des élevages de poulets de chair présentant des cas de salmonelloses. Parmi les 27, nous avons prélevé 15 foies (55,56%), 9 rates (33,33%), et 2 écouvillonnages de litière (7,40%). Un total de 13 souches de *Salmonella spp.* a été obtenu après la culture et l'isolement des échantillons recueillis. Parmi les 13, 03 ont été caractérisées comme étant l'espèce *Gallinarum* et 10 comme l'espèce *Arizonae*. Après inoculation des poussins âgés de 16 jours, le lendemain nous avons effectué l'autopsie de 6 poulets, 3 infectés par l'espèce *Gallinarum* et les 3 autres par l'espèce *Arizonae*.

Concernant *Salmonella Gallinarum*, les lésions relevées au terme des autopsies réalisées sont pertinentes et viennent confirmer les résultats obtenus dans les études précédentes. En effet, l'aspect hypertrophié (hépatomégalie) et pâleur du foie a également été noté lors de l'étude Américaine menée par Norton et al. La seule différence réside dans l'absence d'aspect granulomateux dans les lésions causées par les souches autochtones, cela vient confirmer les légères nuances anatomopathologiques existantes entre les différents sérotypes à travers le monde s'expliquant par l'interaction de facteurs intrinsèques à la bactérie (facteurs de virulence et de résistance) et aux animaux (patrimoine génétique, statut immunitaire).

L'entérite et l'aspect réactionnel des amygdales caecales a également été décrit par Casagrande et al. dans un article portant sur l'étude de l'émergence d'une épidémie de typhoïde au Japon. Les lésions notées ont été sensiblement similaires à celles observées lors des autopsies pratiquées à l'ENSV.

Pour ce qui est de la rate, des lésions spléniques ont été démontrées dans 33% des cas (une autopsie sur trois). Même si l'échantillon est trop petit pour être représentatif, cela s'explique par le caractère très spécifique des souches *Salmonella Gallinarum* et de ce fait nous expliquons ce tableau clinique incomplet par le fait que les poussins inoculés ne représentent sans doute pas l'hôte de prédilection des souches bactériennes.

Pour les souches *Salmonella arizonae*, les lésions observées ont été également très évocatrices et en adéquation avec ce qui a été précédemment publié en littérature scientifique. En effet, l'hépatomégalie et la splénomégalie ont déjà été citées comme résultats d'autopsie en Espagne par Orôs et al. avec néanmoins un aspect nécrotique en plus, les entérites avec réactivité des amygdales caecales sont également des lésions observées en routine lors d'examen nécrosique.

Ces résultats ont permis de décrire la présence d'espèces de *Salmonella* pathogènes dans les élevages avicoles en région Algéroise et mettre surtout l'accent sur le potentiel dévastateur de ces affections sur les élevages locaux (lésions non compatibles avec la survie des poussins infectés) et par contiguïté sur la santé du consommateur. Même si les dégâts en santé publique sont relativement infimes (tableau clinique non préjudiciable pour la santé de la personne infectée avec une rémission dans les sept jours sans séquelles), le risque de perdre la confiance du consommateur est par contre bien présente avec tout ce que cela engendre comme répercussions négatives sur l'économie de la filière.

Conclusions et recommandations :

Les résultats de notre expérimentation confirment la présence des souches *Salmonella Gallinarum* et *Arizona* dans nos élevages avicoles mais surtout le pouvoir pathogène de ces espèces chez les jeunes poussins avec notamment la présence de lésions d'entérite à accompagnées d'un ballonnement du cloaque avec réactivité des amygdales caecales. De plus, des changements de conformation et de colorations des organes internes étudiés (foie et rate) avec un tropisme splénique moins marqué pour la souche *Salmonella Gallinarum* (étroit spectre d'hôte) ont été observés.

Les répercussions économiques de ces atteintes bactériennes ne se limitent pas seulement aux pertes de production aviaire, mais également à la perte de la confiance du consommateur, fait qui peut s'avérer fatale à la filière avicole. En effet, l'importance d'une maladie est liée à trois facteurs principaux : sa gravité, sa prévalence mais également à sa perception par l'opinion publique. Cela signifie qu'une maladie aussi rare et inoffensive soit elle, aura de lourdes répercussions économiques si elle est mal perçue par le consommateur.

Suite à cela, il semble évident qu'un certain nombre de dispositions doivent être entreprises pour faire face à ce fléau et anticiper une éventuelle émergence (augmentation réelle de l'incidence) au vu du contexte favorable à cela.

Dans le contexte économique que connaît actuellement le pays, il paraît judicieux de préférer les mesures proactives aux mesures réactives (anticiper les épidémies plutôt que réagir à posteriori après déclaration de foyers, ce qui va s'avérer plus coûteux au service public). Dans ce sens, la première recommandation et l'implantation de mesures de biosécurité au niveau des élevages pour prévenir l'introduction ou le confinement de la maladie, par mesures de biosécurité nous faisons allusion à tous les bonnes pratiques d'élevage à même de prévenir la déclaration d'un foyer de salmonellose (contrôle du statut sanitaire des nouveaux animaux et œufs entrant, gestion des bâtiments et de la litière, prévention des potentiels vecteurs de la maladie...). Cela relève plus du bon sens mais a montré des résultats très satisfaisants notamment en Asie du sud-est durant les pandémies d'influenza expliquent sa mention dans le code terrestre de l'OIE.

L'autre recommandation qui semble pertinente est la vaccination, l'effet recherché est celui d'une vaccination altruiste. Une vaccination altruiste est une mesure qui va protéger non seulement les animaux vaccinés mais également leur descendance (contamination verticale) et le consommateur (en diminuant la prévalence des carcasses contaminées). Il est à préciser que les pays qui ne préconisent pas la vaccination à l'instar de la France sont des pays avec des mesures d'éradications drastiques et de ce fait une vaccination n'est pas compatible avec les mesures en vigueur (si la vaccination est pratiquée lors d'un plan d'éradication, la distinction sérologique entre les animaux malades et vaccinés ne sera plus possible, ce qui est préjudiciable à l'efficacité du plan).

Nous recommandons en plus : de contrôler les nuisibles, rongeurs, reptiles, oiseaux sauvages, insectes volant et rampants, appliquer des mesures de prophylaxie sanitaire et de désinfection pour diminuer les risques de contagion des élevages avicoles et d'éviter la consommation de leurs produits par l'homme, par ailleurs il faut respecter les règles d'utilisation de l'antibiothérapie afin d'éviter de sélectionner des souches microbiennes multi résistantes aux antibiotiques, au niveau des abattoirs effectuer des traitements des carcasses au moment de l'échaudage, l'éviscération et la réfrigération, pour les couvoirs : Le programme de lutte doit

reposer sur l'application de la méthodologie HACCP aux différents maillons de la chaîne de production avicole, appliquer aux œufs, incriminés dans la contamination humaine par *S. Entéritidis*, des programmes de contrôles d'assurance qualité.

Pour finir, cette étude ne représente qu'une ébauche et devrait être complétée par d'autres recherches complémentaires pour mieux caractériser le contexte et les souches locales. La transmission verticale ainsi que les facteurs de virulences des souches autochtones de *Salmonella spp.* sont des potentiels sujets de recherche à investiguer.

Reference:

David E. Swayne, 2013: disease of poultry 13th edition, page1, 10

wayne A., 2004: Evaluation des risques liés à salmonella dans les œufs et les poulets de chair, page1

Grimont, P.A.D., 2007: Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9th Edition, page3

ICMSF., 1996:(International commission on microbiological specifications for foods). Salmonellae. Microorganisms in foods.5. Microbiological specifications of food pathogens.Blackie academic & professional edition, page3

Guibourdenche et coll., 2010: Salmonella in Domestic Animals 2nd edition, page3

Boulianne, M. and J. P. Vaillancourt., 2011:DMV 4133 - Médecine des volailles, page3

Anderson and Ziprin in Hui and Gorham.,2001: Epidemiologic and biological characteristics of salmonellosis in three dairy herds. J Am Vet Med Assoc 2001, page3

Le Minor & Véron, 1989: Bactériologie médicale 2^{ème} Ed Flammarion Sciences Paris, page3

Anon., 2005: Shelobolina et coll. ; 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, page4

Grimont, 2000: Molecular basis of the diversity in the genus Salmonella.In: Salmonella in domestic animals. Wray and col, page4

Pilet et coll.1997 : Bactériologie médicale et vétérinaire.Systématique bactérienne. Paris, page4

Holt, 2000:Host susceptibility, resistance and Immunity to Salmonella in Animals. In: Salmonella in domestic animals.eds. London, U.K., page5

Humbert.,1998: Les Salmonelloses. dans Manuel de Bactériologie Alimentaire,ed. Polytechnica. Paris, page6

Grimont., 1992 : Les marqueurs épidémiologiques des Salmonella. Méd. et Mal. Inf.22, numéro spécial, page6

Euzeby,1982 et Rycroft, 2000 : Structure,function and synthesis of surface polysacharids in Salmonella in domestic animals, page6

Gledel et Corbion 1991: Microbiologie Alimentaire,Bourgeois et Mescle, 1ere edition, Paris, page6

Bille, J. 1996: WHO International Multicenter *Listeria monocytogenes* subtyping study-rationale and set-up of the study. *Int. J. Food Microbiologie*, page7

Deplano,A. 2002:Méthodes moléculaires de typage et de comparaison des bactéries. 2ème Colloque International Francophone de Bactériologie Vétérinaire. Zoopole Saint Brieu-Ploufragan. France, page7

Goater,E. 1981:L'ensemble des mesures nécessaires à une bonne prophylaxie sanitaire. « Poulettes et poules pondeuses». Tiré à part du guide de l'élevage de la pondeuse. Institut de sélection animale. France, page7

Brugère-Picoux,. 1989 : Les Salmonelloses Aviaires. Cours supérieurs de pathologie aviaire, E.N.V. Alfort. Paris, page7

Bouvet, P. 1995 : Salmonelles et Salmonelloses en France. Dans: Sécurité alimentaire du consommateur (Collection STAA). Moll, M. et Moll, Editions Lavoisier, page7

Libby et coll., 2004 : The *spv* genes on the *Salmonella* dublin virulence plasmid are required for severe enteritis and systemic infection in the natural host, *Infect. Immun*, page7

Funnan M.,1994 : *Salmonella typhi* iron uptake mutants are attenuated in mice, *Infect. Immun*, page8

Garcia-del Portillo F.,1993 : Role of acid tolerance response genes in *Salmonella typhimurium* virulence, *Infect. Immun*, page8

Shivaprassad 2003: Pullorum disease and fowl typhoid. In: *Diseases of poultry*.11th ed. eds.Saif,Y.M. et col. Iowa state press. USA, page8

Gast 2003: Paratyphoid infections in: *Diseases of poultry*,11thed.,chap.16.Iowa state press,Blackburn publishing company, page9

Humbert 1998: Les Salmonelloses. dans *Manuel de Bactériologie Alimentaire*,ed. Polytechnica. Paris, page8

Carlier et coll.2001: *Salmonella*, service d'information alimentaire, H.C.S. International. Paris, page9

J-P GANIERE ENVN, 2008:Maladiesréputées contagieuses ou à déclaration obligatoire (SALMONELLOSE DE LA POULE ET DE LA DINDE), page9

Liebana et coll.2003: Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. *J. Appl. Microbiol*, page9

Villate, 2001:Maladies des volailles. 2eme édition France agricole. Paris, page9

Kimura et coll. 2004; Rostagno et coll., 2006: Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella enterica* serotype Enteritidis infections in the United States : a case control study in FoodNet sites. *Clin. Infect*, page9

Carlier et coll. 2001: Salmonella, service d'information alimentaire, H.C.S. International. Paris, page10

Van Immerseel et coll., 2005:Salmonella dans la viande de volaille et dans les oeufs: Un danger pour le consommateur, page10

ICMSF, 1998:(International commission on microbiological specifications for foods). Poultry and poultry products. Microorganisms in foods.6. Microbial ecology of food commodities. Blackie academic & professional edition, page11

Proux, 1996:Vaccins contre salmonelles: Une prévention fiable. Exposé à la réunion de pathologie aviaire, organisée par l'Association Mondiale Vétérinaire d'Aviculture et le CNEVA Ploufragan. Rennes. Filières Avicoles, octobre 1996, page12

Chataigner, 2000:Le groupe chène verte-Synthèse élevage. Edition la plume verte. Http://www.chen-vert.com, page12

Lecoanet,1992: Salmonelloses Aviaires. Manuel de pathologie aviaire. Ed. Brugère Picoux, J. et Silim, A. E.N.V. Alfort. Paris.Faculté de Med. Vét. De Montréal, Quebec, page13

FERRAH, 1997: Bases économiques et techniques de l'industrie d'accoupage « chair » et « ponte », en Algérie. ITPE, page33

Aboun et coll. 2003:Archives de l'institut Pasteur d'Algérie, 2000/2003. Ed. ANDS, page33

Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C., 1994: Elsevier, Manuel De Bactériologie Clinique, page 4

Laval A, Morvan H, Deperez G, Corbion B, 1991: La salmonellose du porc, page 4

Norton RA¹, Ricke SC, Beasley JN, Skeeles JK and Clark FD 1996:A survey of sixty turkey flocks exhibiting hepatic foci taken at time of processing, page 33

Orós J¹, Rodríguez JL, Fernández A, Herráez P, Espinosa de los Monteros A and Jacobson ER 1998: Simultaneous occurrence of *Salmonella arizonae* in a sulfur crested cockatoo (*Cacatua galerita galerita*) and iguanas, page 33

Deshmukh S¹, Asrani RK, Ledoux DR, Rottinghaus GE, Bermudez AJ and Gupta VK 2007: Pathologic changes in extrahepatic organs and agglutinin response to *Salmonella Gallinarum* infection in Japanese quail fed *Fusarium verticillioides* culture material containing known levels of fumonisin B1, page 33

Casagrande RA, Wouters AT, Wouters F, Pissetti C, Cardoso MR and Driemeier D 2014: Fowl typhoid (*Salmonella Gallinarum*) outbreak in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*), page 33