



173THV-2

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad DAHLEB de Blida

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques

Département des Sciences Vétérinaires

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

De Docteur en Médecine Vétérinaire

Thème

**Recherche de la contamination du poulet de chair par Salmonella spp.
dans les points de vente de la Wilaya de BLIDA**

Réalisé par : Melle karima OUALI

Membres du jury :

| | | |
|------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| <u>Président</u> : | Mr. BERBER | Maitre de conférences |
| <u>Examineur</u> : | M. BACHIR PACHA. M | Maitre de conférences |
| <u>Promoteur</u> : | M. BOUYOUCF A. | Maître de conférences |
| <u>Co-promoteur</u> : | Dr. MEDJBAR | Chargé de TP |

Promotion : 2007 – 2008

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad DAHLEB de Blida

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département des Sciences Vétérinaires

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
de Docteur en Médecine Vétérinaire

Thème

**Recherche de la contamination du poulet de chair par Salmonella spp.
dans les points de vente de la Wilaya de BLIDA**

Réalisé par : Melle.karima OUALI

Membres du jury :

| | | |
|-----------------------|--------------------|-----------------------|
| <u>Président :</u> | Mr. BERBER | Maitre de conférences |
| <u>Examineur :</u> | M. BACHIR PACHA. M | Maitre de conférences |
| <u>Promoteur :</u> | M. BOUYOUCEF A. | Maître de conférences |
| <u>Co-promoteur :</u> | Dr. MEDJBAR | Chargé de TP |

Promotion : 2007 – 2008

REMERCIEMENTS :

Au terme de ce modeste travail, il m'est sincèrement agréable d'exprimer ma reconnaissance à l'égard de tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à m'aider, en particulier à :

M. BOUYOUCEF A., qui a assuré mon encadrement et orienté tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude pour m'avoir fait partager sa grande expérience scientifique. Merci pour votre aide et vos encouragements je n'oublierais jamais.

Mme KAIDI A. pour sa gentillesse, son aide et ses orientations en or qui m'ont été utiles et indispensables, je lui souhaite à elle ainsi qu'à sa petite famille une heureuse et longue vie pleine de bonheur et de bonnes surprises, merci.

M. BERBER A., chef de département à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, qui m'a été disponible à tout moment pour me faciliter le travail, merci Monsieur.

M. MEDJBER M., pour ses orientations qui m'ont été utiles et le temps qu'il a pu me consacrer, je lui souhaite une bonne réussite dans la vie, merci.

Aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail et d'assister à ma soutenance :

- *M. BERBER A.* (maître de conférences, enseignant du module de biochimie à l'Université Saad DAHLEB de Blida) ;

- *M. BACHIR PACHA M.* (maître de conférences, enseignant du module de la pathologie aviaire à l'Université Saad DAHLEB de Blida) ;

S O M M A I R E

Introduction générale

CHAPITRE I : ETUDE GENERALE SUR LES SALMONELLES

| | page |
|--|------|
| I. Historique | 1 |
| II. Définition des salmonelles..... | 2 |
| III. Taxonomie et nomenclature | 2 |
| IV. Etude de l'agent pathogène | 4 |
| 1. Habitat..... | 4 |
| 2. Résistance dans le milieu extérieur..... | 6 |
| 3. Caractères morphologiques..... | 7 |
| 4. Caractères cultureux..... | 7 |
| 5. Caractères biochimiques..... | 8 |
| 6. Caractères antigéniques..... | 10 |
| 6.1. Antigène de la paroi « Ag O » | 11 |
| 6.1.1. Les facteurs O majeurs | 13 |
| 6.1.2. Les facteurs O accessoires | 13 |
| 6.2. L'antigène flagellaire « Ag H » | 14 |
| 6.3. L'antigène de virulence « Ag Vi » | 14 |
| 7. Le tableau de Kauffmann-White | 15 |
| 8. L'action pathogène des salmonelles | 18 |
| 9. La spécificité d'hôte | 19 |

Chapitre II : Epidémiologie des salmonelles

| | | |
|------|--|----|
| I. | Définition et importance des salmonelloses | 20 |
| II. | Le portage | 21 |
| III. | Pouvoir pathogène naturel..... | 22 |
| IV. | Pouvoir pathogène expérimental | 23 |
| V. | Mécanismes de virulence | 23 |

Chapitre III : Signes cliniques

| | | |
|------|---|----|
| I. | Les salmonelloses chez les volailles | 26 |
| 1. | Sources de contamination..... | 26 |
| 2. | Symptôme..... | 28 |
| 2.1. | Chez le jeune | 28 |
| • | La pullorose | 28 |
| 1- | Œufs en incubation (prénatale)..... | 28 |
| 2- | Chez le poussin | 29 |
| 2.2. | Chez l'adulte | 29 |
| • | Les typhoses | 29 |
| • | Les paratyphoses | 30 |
| 3. | Lésions | 30 |
| 3.1. | Les jeunes..... | 30 |
| 3.2. | Les adultes..... | 32 |
| II- | Les salmonelloses chez l'homme..... | 32 |
| • | Les formes septicémiques | 33 |
| • | Les formes purement digestives ou gastro-entérites..... | 33 |
| • | Les formes extra-digestives..... | 35 |

Chapitre IV : Techniques de diagnostic

| | | |
|------|--|----|
| I. | Diagnostic clinique..... | 36 |
| II. | Diagnostic de laboratoire | 36 |
| 1. | Diagnostic bactériologique | 36 |
| 2. | Diagnostic histologique | 42 |
| 3. | Diagnostic sérologique (diagnostic indirect) | 42 |
| 4. | Diagnostic par des méthodes moléculaires | 46 |
| 4.1. | L'hybridation | 46 |
| 4.2. | E.L.I.S.A. (Enzym linked immuno sorbent Assay) | 46 |
| 4.3. | Amplification en chaine par polymérase (ACP) | 47 |
| 4.4. | Technique immunologique (Immuniband-Salmonella 1-2 test).. | 47 |

Chapitre V : Prophylaxie 50

| | | |
|------|---------------------------------|----|
| I. | Prophylaxie sanitaire | 51 |
| 1. | Volailles adultes..... | 51 |
| 2. | Oeufs – Incubation | 52 |
| 3. | Poussins | 52 |
| 4. | Elevages | 53 |
| 5. | Transport | 53 |
| 6. | Abattoirs, transformation | 53 |
| 7. | Aliment | 53 |
| 8. | Eau..... | 54 |
| 9. | Locaux — matériel | 54 |
| 10. | Déchets | 54 |
| II. | Prophylaxie médicale | |
| 1. | Chimio prévention | 55 |
| 2. | Vaccination | 55 |
| 2.1. | Vaccins tués | 56 |

| | |
|----------------------------|----|
| 2.2. Vaccins vivants | 57 |
| 3. Flore de barrière | 58 |

Chapitre VI : Partie expérimentale

| | |
|---|----|
| I. Introduction | 59 |
| II. Matériels et méthodes | 60 |
| III. Résultat et discussion des analyses microbiologiques | 78 |
| Conclusion et recommandations | 87 |
| Références bibliographiques | |

liste des figures

| | | |
|---------------------|--|----|
| Figure n°1: | Réservoirs et circulations des Salmonelles entre l'homme, les animaux et l'environnement..... | 5 |
| Figure n°2: | Paroi bactérienne d'une Salmonelle Représentation schématique de la position des antigènes O sur les chaînes polysaccharidiques du LPS et des antigènes H sur les flagelles..... | 12 |
| Figure n°3: | Muqueuse intestinale..... | 25 |
| Figure n°4: | Foie « vert bronze » dans la typhose de la poule [60]..... | 31 |
| Figure n°5: | Typhose de la poule, aspect lésionnel du foie, de la rate, et de la grappe ovarienne [60]..... | 31 |
| Figure n°6: | Typhose de la poule, aspect lésionnel de la « ponte intra abdominale » [60].. | 32 |
| Figure n°7: | Salmonella typhi, Gram négatif | 37 |
| Figure n°8: | Salmonella Galerie api 20E..... | 40 |
| Figure n°9: | Aspect du frottis..... | 67 |
| Figure n°10: | Taux de présence de Salmonella dans les différentes régions..... | 79 |
| Figure n°11: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « BLIDA centre »..... | 79 |
| Figure n°12: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « SOUMAA »..... | 80 |
| Figure n°13: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « OULED YAICH »..... | 80 |
| Figure n°14: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « BOUFARIK »..... | 81 |
| Figure n°15: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « BENI MERED »..... | 81 |
| Figure n°16: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « EL- AFFROUN »..... | 82 |
| Figure n°17: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « CHEFFA »..... | 82 |
| Figure n°18: | Taux de présence de Salmonella au niveau de « MOUZAIA »..... | 83 |
| Figure n°19: | Taux de présence de Salmonella Spp. dans la Wilaya de BLIDA | 84 |

liste des tableaux

| | | |
|----------------------|---|----|
| Tableau n°1: | Tableau représentant l'ancienne et la nouvelle nomenclature de Salmonella..... | 3 |
| Tableau n°2: | Caractères phénotypiques particuliers de certains sérovars de Salmonella [47, 81]..... | 10 |
| Tableau n°3: | tableau de Kauffmann-White | 16 |
| Tableau n°4 : | Etapas des méthodes bactériologiques utilisées pour la mise en évidence des salmonelles en fonction de l'origine du prélèvement [94]..... | 41 |
| Tableau n°5: | Lieux d'échantillonnage..... | 61 |
| Tableau n°6 : | Différentes étapes de la coloration de Gram..... | 68 |
| Tableau n°7 : | Résultats d'analyses bactériologiques par régions analysées..... | 78 |
| Tableau n°8 : | Répartition des résultats après analyses microbiologiques..... | 83 |

R é s u m é

En Algérie, les salmonelles représentent l'agent pathogène bactérien le plus important, la filière avicole a enregistré en 2006 un nombre de cas de 56 foyers, mettant ainsi en péril notre cheptel avicole et par conséquent la santé publique suite au nombre important de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) déclarés chaque année.

La contamination du poulet de chair par les salmonelles peut être due à divers facteurs situés à différents niveaux de la filière aviaire, l'existence de porteurs sains pose un réel problème difficile à résoudre. D'où l'importance du diagnostic bactériologique.

La présente étude a porté sur des analyses bactériologiques par la méthode classique couramment utilisée dans nos laboratoires.

Nous avons ciblé 8 communes de la wilaya de Blida, pour chaque commune nous avons choisi deux points de vente de volaille et nous avons effectué des prélèvements de trois peaux de cou rassemblé en un seul échantillon pour chaque point de vente visité.

Au total nous avons réalisé 16 échantillons chacun composé de trois peaux de cou. Les prélèvements sont acheminés sous froid au laboratoire et analysés afin de rechercher la présence ou l'absence de *Salmonella Spp*.

Les résultats de l'analyse bactériologique indiquent la présence de salmonelles dans 4 échantillons de peaux de cou soit un pourcentage de 25%. Ces résultats sont importants vis-à-vis d'un germe dont la présence n'est pas tolérée par la législation algérienne.

Mots clef : *Salmonella*, point de vente, poulet de chair, peau du cou, portage asymptomatique.

Summary:

In Algeria, salmonella represent the most important bacterial pathogen, in 2006 the poultry industry has registered the number of 56 homes endangering our livestock and poultry therefore public health following the significant number of cases of food borne illness Collectively (TIAC) reported each year.

The contamination of chicken meat with salmonella may be due to various factors at different levels of avian industry, the existence of healthy carriers make a real problem difficult to solve. Hence the importance of bacteriological diagnosis.

This study focused on bacteriological analyses by the conventional method commonly used in our laboratories.

We have targeted 8 communes in the wilaya of Blida. For each town we chose two points of sale of poultry and we made levies three skins neck together into one sample for each outlet visited. In total we made 16 samples each composed of three skins neck. Samples are sent under cold laboratory and analyzed to determine the presence or absence of Salmonella spp.

The results of the bacteriological analysis indicate the presence of salmonella in 4 samples of neck skin or a percentage of 25%. These results are important vis-à-vis a germ whose presence is not tolerated by the Algerian legislation.

Keywords: Salmonella, point of sale, chicken meat, skin of the neck, port asymptomatic.

ملخص

في الجزائر ، تعتبر السالمونيلا من أهم الجراثيم ، إن صناعة الدواجن في عام 2006 قد سجلت 56 منزل تعرض للخطر مهددا الثروة الحيوانية والدواجن وبالتالي الصحة العامة إثر العدد الكبير من حالات التسمم الغذائي الجماعي (tiac) عن كل سنة.

إن إصابة لحم الدجاج بسالمونيلا قد يرجع إلى عوامل مختلفة على مستويات مختلفة من فرع إنتاج الطيور ، فان وجود حامل لا تظهر عليه أعراض المرض يشكل مشكلة حقيقية يصعب حلها. ومن هنا تأتي أهمية التشخيص البكتريولوجي.

ركزت هذه الدراسة على تحليلات بكتريولوجية بالطريقة التقليدية الأكثر استعمالا في مختبراتنا. إستهدفنا 8 بلديات بولاية البليدة. كل بلدية اخترنا محلين من بيع الدواجن وجعلنا الرسوم ثلاثة جلود الرقبه معا في عينة واحدة لكل منفذ زيارتها. في مجموع العينات التي قطعناها على انفسنا 16 يتألف كل منها من ثلاثة جلود الرقبه. وترسل عينات المختبر تحت الباردة وتحلل لتحديد وجود او عدم وجود السالمونيلا pps.

تشير نتائج التحليل البكتريولوجية إلى وجود السالمونيلا في 4 عينات أو نسبة مأوية 25%. تعتبر هذه النتائج ذات أهمية كبيرة تجاه جرثوم لا يسمح وجوده من قبل التشريع الجزائري.

الكلمات المفتاحية : السالمونيلا ، محلات بيع الدجاج واللحوم ، جلد الرقبه ، حامل لا تظهر عليه أعراض المرض.

Introduction

A la fois fléau économique et zoonose majeure, la salmonellose est une maladie infectieuse, contagieuse, inoculable, due à la multiplication dans l'organisme de bacilles Gram négatif du genre *Salmonella spp.* appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* [12]

Depuis de nombreuses années, *Salmonella* constitue la cause majeure des infections du tractus digestif humain, liées, entre autres, à la consommation du poulet de chair qui est l'aliment le plus impliqué.

Malgré les efforts des Services Vétérinaires et des producteurs de volaille, le taux de contamination asymptomatique de la volaille vivante par *Salmonella* reste toujours très élevé.

Les salmonelles constituent une préoccupation majeure dans la plupart des filières de production poulet de chair. Leurs omniprésences dans le règne animal et dans l'environnement ainsi que leur pouvoir pathogène rendent la problématique « salmonelles » très complexe.

Un pourcentage important de volailles sont colonisées par les salmonelles durant la croissance, la peau et la chair des carcasses sont fréquemment contaminées durant l'abattage et la transformation.

Ces mêmes poulets de chair sont retrouvés sur les étales des différents points de ventes, ce qui fait que la contamination de la viande de volailles par *Salmonella spp.* constitue une menace permanente pour la santé publique, puisque les produits de volailles sont souvent incriminés comme source d'épidémies salmonellique (Center for Disease Control, 2000)

De nombreuses études se sont penchées sur la prévalence des Salmonelles sur les produits de volailles [98, 99, 110, 24].

Notre étude a pour objectif de rechercher et d'évaluer la contamination des carcasses de poulet de chair par *Salmonella Spp.* au niveau de la peau du cou selon la méthode ISO 17.604 et cela dans divers points de vente des communes de la Wilaya de BLIDA.

Chapitre I

CHAPITRE I :

Etude générale sur les salmonelles

I. Historique :

Les salmonelles sont des bactéries étudiées depuis le début du XIX^{ème} siècle [41]. La fièvre typhoïde, la plus grave des salmonelloses humaines, a été associée à la mise en évidence de bacilles dans des coupes de rate et de ganglion dès 1880 par Eberth [47], et en 1884 Gaffky en réussit la culture [57].

En 1896, Widal à Paris, permit la mise en évidence de la diversité antigénique des souches de salmonelles en montrant que le sérum d'un animal immunisé par une culture de bacille typhique acquérait des propriétés agglutinantes pour celle-ci.[57]

En 1918, Félix étudia des antigènes somatiques et flagellaires et les appela « O » et « H » avec Weil, et en 1934 découvrit l'antigène « Vi ».

En 1925, White jeta les bases d'une classification basée sur les caractères antigéniques, travail qui sera poursuivi par kauffmann (1930) qui le développa considérablement [57]

Le nom de Salmonella a été donné par Lignière (1900) à ce groupe bactérien, choisi en l'honneur de Daniel Elmer Salmon qui avec Smith 1885, isola au Etat Unis de porcs atteints de « Hogcholera », la bactérie qui porte maintenant le nom de S.Cholerasuis, et lui attribua à tort le rôle étiologique de cette maladie virale. [57].

Plus de 2501 sérotypes différents de *Salmonella* ont été identifiés jusqu'en 2004 contre seulement une centaine en 1940. [79-57]

II. DEFINITION DES SALMONELLES :

Les bactéries du genre SALMONELLA appartiennent à la famille des ENTEROBACTERIACEAE dont elles possèdent les principaux caractères. [71]

Ce sont des bacilles Gram négatifs, non sporulés, ayant en moyenne 2 à 3 micro.m de longueur et 0.6 micro.m de largeur [50] , mobiles à l'exception de celles appartenant à un sérovar aviaire Gallinarum-Pullorum [57].

Cette mobilité est assurée par leurs ciliatures péritriches avec des flagelles dont leurs longueurs sont comprises entre 15 et 20 micro.m et un diamètre de 20nm (Silverman et Simon, 1977) [50].

Elles fermentent le D-glucose avec production de gaz, réduisent les nitrates en nitrites et possèdent une catalase [94, 50].

Les personnes qui consomment des aliments contaminés par *Salmonella* sont susceptibles de contracter la salmonellose.

III. TAXONOMIE ET NOMENCLATURE :

La classification et la nomenclature des salmonelles, longtemps controversées, sont évolutives et complexes. [21, 83].

Selon la dernière nomenclature qui reflète les avancées récentes en taxonomie, le genre Salmonella comprend 3 espèces : *S. enterica* , *S. bongori*, *S.subterranea*

La nomenclature actuelle et la nomenclature précédente des salmonelles sont présentées dans le tableau suivant [Tindall et al, 2005 ; Euzbézy, 2005...][21]

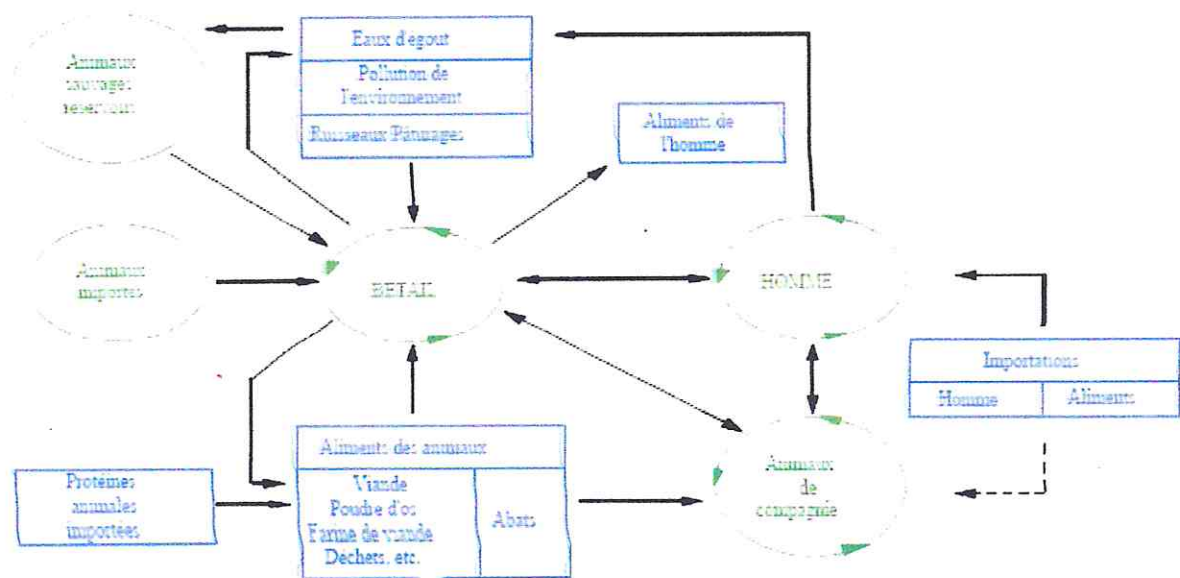
| Nomenclature précédente | Nouvelle nomenclature (2005) |
|---|--|
| <i>Salmonella bongori</i> | <i>Salmonella bongori</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> | <i>Salmonella enterica</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>Arizonae</i> | <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>arizonae</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i> | <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>choleraesuis</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>Diarizona</i> | <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>diarizona</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>Houtenae</i> | <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>houtenae</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>Indica</i> | <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>Indica</i> |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>Salamae</i> | <i>Salmonella entérica</i> subsp. <i>salamae</i> |
| <i>Salmonella subterranea</i> | <i>Salmonella subterranea</i> |
| <i>Salmonella paratyphi</i> | deviennent des synonymes hétérotypiques de <i>salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> , « paratyphi, enteritidis, typhi, typhimurium... » désignant uniquement les sérovars |
| <i>Salmonella enteritidis</i> | |
| <i>Salmonella typhi</i> | |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | |

Les souches de *Salmonella* sont classées en sérovars sur la base de la diversité des antigènes (O) des lipo-polysaccharidiques (LPS) et des protéines flagellaires (H) en accord avec le schéma de Kauffmann-White ;

En plus des animaux à sang chaud, les salmonelles sont présentes chez ceux à sang froid [2] qui fournissent aux chercheurs bactériologistes et épidémiologistes un réservoir encore inépuisé de souches nouvelles rares ou atypiques [60].

Le réservoir par lequel les salmonelles se multiplient activement est constitué par tous les tubes digestifs de leurs hôtes potentiels.

Par contre, les différents supports ne constituent que des réservoirs secondaires où les salmonelles survivent très longtemps (plus d'un an dans des poussières) mais ne se multiplient qu'accidentellement (multiplication dans un plat mal préparé par exemple) [47].



– Figure 1: Réservoirs et circulations des Salmonelles entre l'homme, les animaux et l'environnement.

Actuellement, environ 2 500 sérovars sont reconnus [84, 83], ce nombre est en croissance constante. Les « sérovars » les plus fréquemment impliqués dans les infections humaines et animales appartiennent à la sous-espèce « *enterica* ».

Les sérovars des autres sous-espèces sont habituellement associés aux animaux à sang froid et à l'environnement, bien que certains « sérovars » de *S. arizonae* and *S. diarizonae* aient été associés à des infections chez la dinde et le mouton.

La classification des salmonelles ne présente pas qu'un intérêt taxonomique, car l'habitat et le pouvoir pathogène des salmonelles varient selon les sérovars [73].

IV. Etude de l'agent pathogène :

1. Habitat :

A réservoir très vaste [8, 47], les salmonelles sont essentiellement parasites intestinaux de l'homme et des animaux [57].

Ces hôtes sont susceptibles non seulement d'héberger mais aussi de multiplier et d'excréter les bactéries [47], en permettant ainsi leurs disséminations dans l'environnement [57] (terre, eau, matière première pour l'alimentation du bétail...), ou dans les aliments destinés à l'homme [47].

Certains sérotypes sont adaptés à une espèce « hôte », des sérotypes de la sous-espèce *enterica*, la seule espèce à avoir un intérêt médical; sont strictement humains (*salmonella* Typhi, *salmonella* Sendai...). D'autres concernent seulement les animaux (*salmonella* Gallinarum-Pullorum, *salmonella* Abortus-Ovis...).

Les plus nombreux sont ubiquistes, mais certains sérotypes tel que *salmonella* Heidelberg, Hadar, Saint-Paul, ... se retrouvent chez les volailles (poules, dindes) [21, 81].

2. RESISTANCE DANS LE MILIEU EXTERIEUR :

Par comparaison avec d'autres bacilles Gram-négatifs, les salmonelles sont relativement résistantes à différents facteurs de l'environnement [79].

Elles poussent à des températures situées entre +5° C et +47° C, avec un optimum de croissance de 35-37° C [71].

Elles supportent des PH allant de 4,5 à 9,0, avec un optimum de 6,5 à 7,5, et se développe bien pour des valeurs d'AW (activité de l'eau) de 0,945 à 0,999 [71].

La bactérie est également capable de se multiplier dans un environnement contenant peu ou pas d'oxygène [79].

Les salmonelles survivent très bien à basse température (réfrigération, congélation) mais sont relativement sensibles à la chaleur et la pasteurisation (72°C/15sec), et assurent leurs disparitions du lait.

Il a été démontré que les salmonelles résistent à la sécheresse durant des années, en particulier dans les matières fécales desséchées, la poussière, et d'autres produits secs tels que les aliments pour les animaux et certaines denrées alimentaires humaines [79].

Par contre, les salmonelles sont assez sensibles à l'irradiation bêta et gamma, et peuvent souvent être tuées par une irradiation de 2 à 7 kGy en fonction du type d'aliment et de sa température [79].

Leur développement est limité par une forte teneur en chlorure de sodium et les compétitions consécutives à la croissance d'autres flores [47].

Enfin, il est à signaler que les agents conservateurs ont une efficacité limitée et variable pour contrôler les salmonelles dans un aliment.[52]

La majorité des salmonella sont prototrophes et produisent des gaz de fermentations de glucose.

A partir d'un milieu monomicrobien (tel que le sang ou le liquide céphalorachidien), une gélose ordinaire suffira à leur croissance.

Par contre dans le cas de prélèvements polymicrobiens (selles par exemple), l'utilisation de milieux sélectifs est indispensable. [41]

La gélose d'Héktoen est inventée pour éliminer *Proteus Vulgaris* (saccharose+) où les colonies de salmonella apparaissent verdâtres ou grise bleus avec ou sans centre noir [57]

Sur les milieux sélectifs de type S S ensemencés directement à partir de milieux de moeller_Kauffman, les colonies de salmonelles apparaissent incolores à centre noir car elles ne fermentent pas le lactose et produisent du H₂S [7].

5. CARACTERES BIOCHIMIQUES :

Les salmonelles ont les caractères généraux de la famille des enterobacteriaceae [94]

Ces caractères généraux sont :

- Réduction de nitrate +
- Oxydase –
- Fermentation du glucose avec gaz+ [10]

Les principaux caractères permettent l'identification biochimique du genre salmonella [94].

Ce sont :

- Glucose+
- Lactose -
- Adonitol -
- Gélatinase -
- RM+ [57]
- Utilisation du citrate +
- Production d'hydrogène sulfuré h₂s +
- Uréase –
- LDC+
- ADH – rarement +
- Phenylalanine APP –
- Tryptophane –
- Tetrathionate- réductase +
- Mannitol+
- Indole-
- Acetyl methyl carbonil VP – [10]

Quelques sérovars font exceptions et ont des caractères phénotypiques remarquables dont les plus importants sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 1.4. Caractères phénotypiques particuliers de certains sérovars de *Salmonella* [47, 81]

| Gallinarum | Immobile |
|----------------------------------|---|
| Typhi | Ne décarboxyle pas l'ornithine (ODC-) Ne produit pas de gaz à partir du glucose Est auxotrophe donc ne pousse pas sur milieu au citrate |
| Paratyphi A | Ne décarboxyle pas la lysine (LDC-) Ne produit pas d'H ₂ S Est auxotrophe donc ne pousse pas sur milieu au citrate |
| S.Abortus ovis S.Abortus equi | Généralement ne produisent pas d'H ₂ S |

6. CARACTERES ANTIGENIQUES :

Comme toutes les Entérobactéries, les salmonelles peuvent posséder 3 types d'antigènes présentant un intérêt de diagnostic [47, 81] permettant de différencier le genre salmonella en sérotypes [58, 71]

On distingue des antigènes des antigènes (Ag) somatiques O, des antigènes Vi et des antigènes flagellaires H.

Les dénominations, antigènes O et H, proviennent d'observations faites à propos des *proteus* : les souches flagellées, mobiles, forment un film (en allemand Hauch) à la surface des géloses d'où le nom d'antigène H.

Alors que les non flagellées, immobiles, cultivent en colonies isolées sans former le film (Ohne hauch) d'où le terme d'antigène O.

Pour l'antigène Vi, son appellation revient à Félix et Pitt qui l'ont découvert chez des souches de S.typhi et qui avaient pensé que la virulence (Vi) était conditionnée par cet antigène [57, 59]

6.1. Antigène de la paroi « Ag O » :

Constitutif de la paroi bactérienne de nature lipo-polysaccharidique (LPS), il représente l'endotoxine de salmonella [10]

C'est un antigène somatique, thermostable et résistant à l'alcool ; l'agglutinabilité est entravée par le formol à 0,5% [80]

Il résiste au phénol pendant deux heures et demi à la température de 100°C [26] .

Les formes R, ce sont des mutants, non pathogènes qui ont perdu par délétion une grande partie de la chaîne polysaccharidique responsable de la spécificité O.

Ces souches ne sont plus sérotypables et sont auto-agglutinables dans l'eau physiologique ou mieux en eau hyper salée à 20 p. mille de Nacl [71]

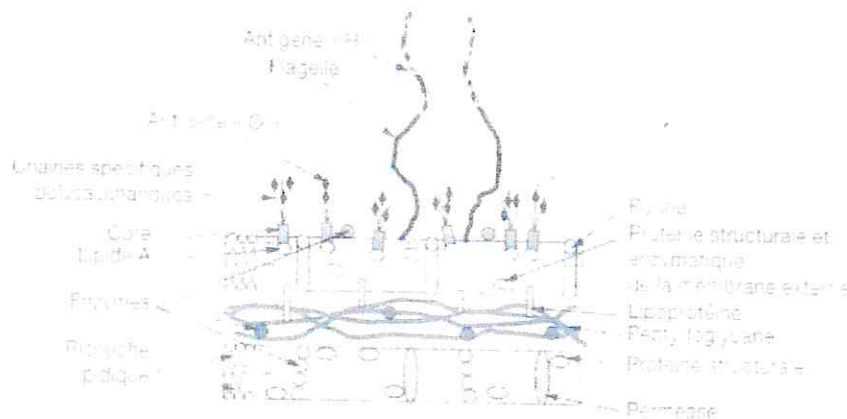
Les formes T (de transition), ces souches sont rares et donnent des colonies ayant l'aspect S, mais elles ont perdu leur spécificité O, comme les formes R [2]

Le LPS est constitué, de l'intérieur vers l'extérieur de la bactérie de 3 structures:

- Le lipide A, responsable du pouvoir pathogène (également appelé endotoxine) qui est vraisemblablement identique chez toutes les Entérobactéries,
- Le core ou noyau polysaccharidique de base dont la structure est semblable pour toutes les Salmonelles,
- Des chaînes spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2 à 6 monosaccharides.

Quatre-vingt-sept facteurs O différents sont distingués selon la nature des osides terminaux et l'ordre dans lequel ils se trouvent dans les unités répétitives de la chaîne polysaccharidique.

Ces antigènes sont classés en facteurs O majeurs et en facteurs O accessoires [47, 57]



– figure 2: Paroi bactérienne d'une Salmonelle — Représentation schématique de la position des antigènes O sur les chaînes polysaccharidiques du LPS et des antigènes H sur les flagelles

6.1.1. Les facteurs O majeurs

Ils permettent de définir des groupes et toutes les souches possédant en commun un facteur O majeur qui sont placées dans le même groupe [94].

Les facteurs O majeurs sont liés à la présence de certains sucres (abéquose pour O : 4, tyvélose pour O :9,...) [48, 94]

Ainsi, toutes les souches possédant le facteur O:2 appartiennent au groupe A, celles possédant le facteur O:4 au groupe B, celles possédants le facteur O:9 au groupe D. [47]

6.1.2. Les facteurs O accessoires :

D'intérêt diagnostique mineur quand ils sont liés à un facteur O caractéristique de groupe [57]

Parmi les facteurs « O mineurs ou accessoires, certains ne sont exprimés qu'en présence d'un bactériophage (conversion lysogénique).

D'autres résultent de la modification du polysaccharide par une enzyme à déterminisme chromosomique (ex : 05 dérivant de 04), ou d'une information donnée par des plasmides.

Au laboratoire, les anticorps anti-O, c'est-à-dire des sérums hyperimmuns obtenus sur des lapins, puis purifiés et commercialisés par différents fournisseurs, agglutinent les Salmonelles par leurs parois et l'agglutinat qui se forme, sur une lame de verre (type lame de microscope), est fin et difficile à dissocier [71]

6.2. L'antigène flagellaire « Ag H »

Les antigènes H sont d'origines flagellaires, de nature protéique, la *Flagelline* dont la composition en acide aminé est constante pour un type antigénique, l'agglutination est rapide, floconneuse, facilement dissociable [71].

Ils sont thermostables et ne se rencontrent que sur les formes mobiles. Ils sont détruits par l'alcool, insensibles à l'action du formol [80].

Cet antigène est détruit par la chaleur à 100°C, par les ferments protéolytiques, son développement optimum s'obtient sur les milieux mous après un séjour de 8 heures à 37°C.

Les salmonelles d'un même sérotype peuvent posséder leurs facteurs H sous deux formes différentes.

Dans une même souche, certains bacilles peuvent avoir des antigènes H dits en « phase 1 » et désignés généralement par des lettres minuscules, et d'autres bacilles des antigènes H dits en « phase 2 » et désignés le plus souvent par des lettres arabes.

Dans une même colonie, les deux phases coexistent généralement [80]

6.3. L'antigène de virulence « Ag Vi » :

L'antigène Vi est un antigène somatique d'enveloppe et qui se rencontre que chez *S.Typhi*, *S.Paratyphi C* et *S.Dublin* [80]

Les souches de ces sérovars ne possèdent pas forcément cet antigène [48, 2].

Il est thermostable et masque l'antigène O [104]

L'agglutinabilité n'est pas détruite par l'alcool ou le formol, mais elle l'est par un chauffage à 100°C [80]

Les souches Vi + sont O- inagglutinables, elles deviennent habituellement O-agglutinables après un chauffage à 100°C qui fait passer l'antigène Vi dans le surnageant [2]

On distingue selon la quantité d'antigène Vi 03 formes :[80]

- V, initial du mot allemand « viehl » qui signifie « beaucoup », dans ce cas l'antigène O est masqué par l'antigène Vi ;
- W, initial du mot allemand « wenig » qui signifie « peu », dans ce cas l'agglutinabilité O est préservée ;
- VW, intermédiaire, agglutinable aussi bien par les anticorps O que par les anticorps Vi

7. Le tableau de Kauffmann-White :

Les formules antigéniques des *Salmonella* figurent dans un catalogue dénommé « Schema de Kauffman- White ». la classification de Kauffman- White répertorie environ 2000 sérovars [28].

A chaque sérovar, est attribuée une formule antigénique qui aligne, dans l'ordre, les antigènes O, Vi, et H [92].

Dans ce tableau, les sérovars qui ont des antigènes O communs caractéristiques sont rassemblés pour former un groupe O désigné par une lettre A, B, C, D, ... etc.

A l'intérieur de chaque groupe O, les sérovars apparaissent d'après l'ordre alphabétique de la phase 1 de l'antigène H.

Lorsqu'ils sont à déterminisme chromosomique, mes facteurs O sont indiqués entre crochets (ex : O [5]. Lorsqu'ils sont liés à un bactériophage ou un plasmide, les facteurs O sont soulignés (ex : O : 1) [2].

| Sérovar | Antigène O | Antigène H | |
|-----------------------|-----------------------------|------------|-----------|
| | | Phase I | Phase II |
| | Groupe A | | |
| <i>S. Paratyphi A</i> | <u>1</u> , 2, 12 | a | - |
| | Groupe B | | |
| <i>S. Paratyphi B</i> | <u>1</u> , 4, [5], 12 | b | 1, 2 |
| <i>S. Wien</i> | <u>1</u> , 4, 12, 27 | b | 1, w |
| <i>S. Duisburg</i> | <u>1</u> , 4, 12, 27 | d | e, n, z15 |
| <i>S. Saint-paul</i> | <u>1</u> , 4, [5], 12 | e, h | 1, 2 |
| <i>S. Derby</i> | <u>1</u> , 4, [5], 12 | f, g | - |
| <i>S. Agona</i> | 1, 4, [5], 12 | f, g, s | - |
| <i>S. Typhimurium</i> | <u>1</u> , 4, [5], 12 | i | 1, 2 |
| <i>S. Bredeney</i> | <u>1</u> , 4, 12, <u>27</u> | 1, v | 1,7 |
| <i>S. Brandenburg</i> | <u>1</u> , 4, 12 | 1, v | e, n, z15 |
| <i>S. Heidelberg</i> | <u>1</u> , 4, [5], 12 | r | 1, 2 |
| <i>S. Coeln</i> | 4, 5, 12 | y | 1,2 |
| <i>S. Indiana</i> | <u>1</u> , 4, 12 | z | 1,7 |
| | Groupe C1 | | |
| <i>S. Ohio</i> | 6, 7 | b | 1, w |
| <i>S. Isangi</i> | 6, 7 | d | 1, 5 |
| <i>S. Livingstone</i> | 6, 7 | d | 1, w |
| <i>S. Braenderup</i> | 6, 7, <u>14</u> | e, h | 1, 2 |
| <i>S. Montevideo</i> | 6, 7, <u>14</u> | g | m, s |
| <i>S. Thompson</i> | 6, 7, <u>14</u> | k | 1, 5 |
| <i>S. Infantis</i> | 6, 7, <u>14</u> | r | 1, 5 |
| <i>S. Virchow</i> | 6, 7 | r | 1, 2 |

| | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------------------|-----------------|
| | Groupe C2 | | |
| <i>S. Manhattan</i> | 6, 8, <u>20</u> | d | 1, 5 |
| <i>S. Newport</i> | 6, 8 | e, h | 1, 2 |
| <i>S. Litchfield</i> | 6, 8 | l, v | 1, 2 |
| <i>S. Bovismorbificans</i> | 6, 8 | r | 1, 5 |
| <i>S. Hadar</i> | 6, 8 | z10 | e, n, x |
| | Groupe D | | |
| <i>S. Panama</i> | <u>1</u> , 9, 12 | l, v | 1, 5 |
| <i>S. Typhi</i> | 9, 12[Vi] | d | - |
| <i>S. Enteritidis</i> | <u>1</u> , 9, 12 | g, m | - |
| <i>S. Dublin</i> | <u>1</u> , 9, 12[Vi] | g, p | - |
| <i>S. Gallinarum Pullorum</i> | <u>1</u> , 9, 12 | - | - |
| Sérovar | Antigène O | Antigène H | |
| | | Phase I | Phase II |
| | Groupe E | | |
| <i>S. Anatum</i> | 3, 10 | e, h | 1, 6 |
| <i>S. Mleagridis</i> | 3, 10 | e, h | 1, w |
| <i>S. Senftenberg</i> | <u>1</u> , 3, 19 | g, s, t | - |
| <i>S. London</i> | 3, 10 | l, v | 1, 6 |
| <i>S. Give</i> | 3, 10 | l, v | 1, 7 |

8. L'action pathogène des salmonelles :

Les salmonelles font parties des bactéries entéropathogènes invasives [57].

L'invasion de la muqueuse intestinale par les *Salmonella* requiert, l'adhésion des bactéries à des récepteurs cellulaires spécifiques.

Un des sites de l'adhésion est le récepteur cellulaire à l'EGF (*epithelial growth factor*).

La fixation des *Salmonella* sur ce récepteur active une protéine-kinase, la phosphorylase A2, et déclenche ainsi une série de réactions aboutissant au remaniement du cytosquelette.

On note le gonflement des microvillosités ; une vacuole d'endocytose se forme, les *Salmonella* s'y multiplient en déclenchant leurs cycles infectieux, salmonella sécrète dans le cytoplasme du macrophage des protéines de virulence, qui comme des toxines modifient le fonctionnement de la cellule infectée.

Ainsi elle prend le contrôle d'un moteur moléculaire (la kinésine) et régule les échanges de membrane entre sa vacuole et les autres compartiments de la cellule infectée [9]

La vacuole migre vers la membrane latérobasale et expulsée de la cellule.

Les bactéries sont prises en charge par les macrophages des follicules lymphoïdes et des ganglions mésentériques.

Si elles sont éliminées, l'infection reste localisée et n'atteint pas le stade de la septicémie (coproculture positive et hémoculture négative).

Dans le cas inverse, les *Salmonella* sont déversées dans le sang et sont responsables d'un épisode septicémique (coproculture et hémoculture positives).

On n'observe pas de destruction des entérocytes vue la faible intensité de la réaction inflammatoire.[63]

9. La 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 : *Salmonella* Typhi, paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C et Sendai ;
- Les sérovars étroitement adaptés à certains animaux ou exprimant une pathologie particulière chez certaines espèces animales : *Salmonella* Dublin chez les bovins (mais aussi chez l'homme), *Salmonella* Cholerasuis et Typhisuis chez le porc, *Salmonella* Abortus ovis chez les ovins, *Salmonella* Abortus equi chez les chevaux et *Salmonella* Gallinarum-pullorum chez les volailles ;

Les sérovars dits ubiquistes qui colonisent indifféremment différentes espèces animales et qui sont les plus nombreux : Enteritidis, Typhimurium, Infantis, etc. [2]

Chapitre II

Chapitre II : Epidémiologie des salmonelles

I. Définition et importance des salmonelloses :

La salmonellose figure parmi les maladies les plus anciennement connues puisque sa description remonte à 1880. [31]

La salmonellose est une maladie infectieuse, contagieuse et inoculable. Elle est due à la multiplication dans l'organisme de bacilles Gram négatif du genre *Salmonella*. Appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, communes à de nombreuses espèces animales [60] et transmissible à l'homme [2],

Quelques sérovars sont spécifiquement humains : Typhi et Paratyphi. D'autres ne se rencontrent que chez l'animal, comme le sérovar Gallinarum Pullorum.

Toutefois, la majorité des sérovars ont un spectre d'hôte assez large, peuvent infecter l'Homme et diverses espèces animales [74].

Tous les animaux sont porteurs potentiels de salmonelles dans leur tube digestif qui sont toutes virtuellement dangereuses :

Salmonellose = Péril fécal

Fientes = Réservoirs potentiel permanent [60],

D'où l'importance de la salmonellose quant à la dispersion, par les fèces des animaux, de Salmonelles dans l'environnement, par la contamination des produits d'origine animale (viandes, lait, œufs...) et par ces bactéries fécales au cours des opérations d'abattage et de transformation, entraînant ainsi deux conséquences préoccupantes :

- **conséquence économique :**

Liée aux entraves commerciales imposées aux lots de denrées contaminées, tant dans les échanges nationaux qu'internationaux, aux mortalités, et aux saisies au niveau des abattoirs.

- **conséquence hygiénique :**

Liée à l'importance des salmonelloses humaines. [47, 64].

Les conséquences des salmonelloses, chez l'espèce aviaire, sont difficiles à apprécier avec précision car elles sont multiples [12] :

- ❖ La mortalité intéressant surtout les jeunes sujets ;
- ❖ Aux saisies à l'abattoir ou à l'élimination de troupeaux infectés : en 1989, en Grande Bretagne, on a éliminé environ 700 000 oiseaux ;
- ❖ Aux litiges survenant lors de fournitures d'animaux ou d'aliments, sources éventuelles de contagion ;
- Aux répercussions sur la santé publique et sur la consommation des produits avicoles.

II. Le portage :

Les Salmonella peuvent être trouvées chez tous les animaux, de la « puce à l'éléphant » selon l'expression de KAMPELMACHER (1983).

Ceci est en relation avec le rôle majeur tenu par le Règne animal dans la pérennité de l'infection salmonellique.

En simplifiant, on peut considérer que les Salmonelloses revêtent chez les animaux producteurs d'aliments deux formes essentielles :

- **Infection**, avec signes cliniques divers y compris des avortements.
Elles peuvent survenir chez les Bovins, les Equidés, les Ovins mais aussi parfois chez les volailles et les porcs.
- **Portage**, sans signes cliniques.
C'est souvent le cas chez les volailles et les porcs.

Le portage peut être intestinal et/ou intéresse la sphère génitale comme avec S.Enteritidis chez les poules pondeuses.

Le premier cas pose un problème d'ordre économique alors que le second pose un problème de Santé Publique par la suite de la contamination renouvelée de la chaîne alimentaire (book rouge de microbiologie alimentaire)

III. Pouvoir pathogène naturel

Les rapports développés par ces Salmonelles ubiquistes avec leurs hôtes peuvent entraîner :

- **Un portage sain strictement limité au tube digestif :**

Avec des nombres de Salmonelles excrétées par gramme de matière fécales allant de moins de 10^1 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 inapparent ;

- **Un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents.**

Les Salmonelles sont alors hébergées dans les monocytes et les macrophages où elles sont capables de survivre et de se multiplier.

A ce titre, elles sont considérées comme des bactéries à multiplication intracellulaire facultative ;

1_une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie :

Lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient, 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),
- ❖ 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 ou d'un déséquilibre de l'écosystème digestif (stress, pathologie intercurrente).

Dans ce cas, l'ingestion des Salmonelles peut être très antérieure à l'expression de la pathologie elle-même [47].

IV. Pouvoir pathogène expérimental :

Le pouvoir pathogène expérimental varie considérablement suivant le sérovar, l'animal d'expérience et la voie d'introduction des bactéries [57]

Les sérovars strictement humains ne sont évidemment pas pathogènes dans les conditions naturelles d'infection (absorption per os d'un petit nombre de bactéries) pour les animaux de laboratoire [57].

C'est le cas pour *S. Typhi*, les animaux de laboratoire sont insensibles à ces bactéries, sauf si elles sont absorbées en très grande quantité (chimpanzé) ou injectées en doses importantes par voie intra péritonéale (souris), ou chorioallantoïdienne à l'embryon de poulet.

Mais l'on ne peut pas produire chez l'animal, en faisant absorber par voie orale un petit nombre de bactéries, une maladie comparable à celle de l'Homme [30].

V. Mécanismes de virulence :

De nombreux facteurs de virulences ont été décrits :

- Présence de pili,
- Rôle des flagelles,
- Structure des LPS,
- Système de captation du fer,
- Toxine,
- Capacité de survivre dans les macrophages,
- Présence d'un plasmide de virulence,... [47]

En vue de contrecarrer les mécanismes de défense de l'hôte, un nombre considérable de gènes (de l'ordre de quelques centaines) doit être mobilisé par *Salmonella*.

Tous les sérotypes de salmonelles peuvent, en théorie, causer une infection systémique chez les humains au statut immunitaire diminué.

La plupart engendreront une diarrhée fébrile, des vomissements, des douleurs abdominales et chez les sujets âgés ou immuno-déficients des bactériémies, des septicémies et des localisations extradiigestives, en particulier vasculaires [6].

Lorsqu'il y a localisation de l'infection, les salmonelles restent souvent cantonnées dans les ganglions lymphatiques mésentériques.

Les premiers mécanismes de défense utilisés par l'hôte sont constitués par le degré d'acidité de l'estomac et les sels biliaries de l'intestin grêle, qui exercent un effet bactéricide. Une fois dans l'intestin grêle, les salmonelles doivent le plus rapidement possible adhérer à la muqueuse intestinale.

Elles vont la traverser au niveau des follicules lymphoïdes de l'iléon (plaques de Peyer, situées au fond des cryptes intestinales). A cet endroit de l'intestin, l'épithélium est caractérisé par la présence, parmi les entérocytes, de cellules M et par l'absence de cellules sécrétant du mucus.

Il semblerait que des fimbriae (adhésines) doivent être présentes pour permettre la reconnaissance et la liaison des *Salmonella* aux plaques de Peyer [23, 96].

(Ces fimbriae jouent un rôle essentiel dans la pathologie, l'adaptation et la spécificité de certains sérotypes à telle ou telle espèce animale).

L'entrée dans les plaques de Peyer requiert la présence de systèmes de sécrétion de type III. Ils sont codés par des ensembles de gènes de pathogénicité («îlots de pathogénicité»), appelés SPI-1 et SPI-2 [16, 23, 20, 51, 25].

SPI-1 est généralement nécessaire pour permettre le passage à travers les cellules M de la muqueuse intestinale alors que SPI-2 est impliqué dans le caractère systémique de l'infection [46].

Consécutivement à la pénétration des salmonelles dans les cellules M, ces dernières vont être tuées par apoptose, entraînant la transmigration à travers la muqueuse de cellules inflammatoires de type poly-morpho-nucléaires (PMN) et une gastro-entérite aigue

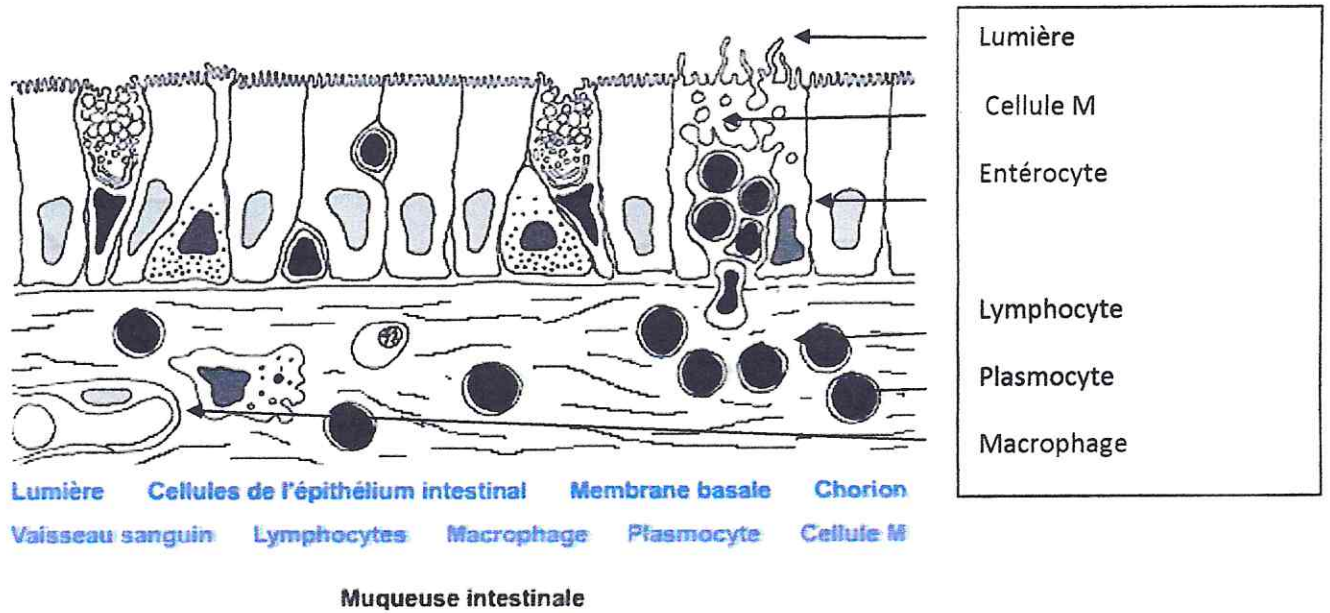


Figure N° 3 : Muqueuse intestinale.

Chapitre III

Chapitre III : Signes cliniques

I - Les salmonelloses chez les volailles :

Depuis bien longtemps, il est connu que la volaille peut héberger de nombreux sérotypes de *Salmonella*.

Cependant, l'émergence du sérotype Enteritidis a fortement attiré l'attention sur cette problématique, principalement parce qu'il est facilement *transmissible* à l'homme chez qui il peut causer des symptômes cliniques d'une grande sévérité.

Salmonella Enteritidis a une affinité particulière pour le tractus génital de la volaille, ce qui explique la contamination des œufs et, par voie de conséquence, son introduction dans la chaîne alimentaire [61 ; 86] si bien qu'en 20 ans, *Salmonella* Enteritidis est devenu le sérotype le plus commun chez la volaille [85].

Le sérotype Typhimurium, quoique moins spécifique des volailles, est aussi très fréquemment rencontré dans les élevages de poulets, de dindes et de canards [87].

1- SOURCES DE CONTAMINATION :

Les exploitations de volailles peuvent s'infecter par différentes voies. On distingue de manière générale la voie verticale et la voie horizontale

- **Par la voie verticale**, très fréquente, on entend la transmission trans-ovarienne et donc la contamination de l'œuf fécondé, lors du passage de la bactérie des parentales aux poussins.

Par conséquent, le contrôle de l'infection chez les parentales est capital dans un programme de lutte.

Par souillure de la coquille de l'œuf lors du passage dans le cloaque ou dépôt des œufs sur des litières sales, des fientes et surtout lors de diarrhées [64],

- **La voie de transmission horizontale :**

Elle est tout aussi importante que la voie verticale, et peut jouer dans tous les cas, par des vecteurs inanimés tel que la persistance de l'infection dans les bâtiments d'élevage et dans les couvoirs joue certainement un grand rôle [64, 3, 40].

Par les aliments, eau de boisson, matériel d'élevage, de stockage ou de transport des œufs ou des animaux ; ou par des vecteurs animés en effet, les rats et les souris peuvent être porteurs de l'infection et contaminer les bâtiments et les aliments.

En effet, il a été démontré que les souris capturées dans les environs d'un bâtiment hébergeant des poules pondeuses infectées, étaient 4 fois plus souvent trouvées positives pour *Salmonella* que les souris capturées aux alentours d'un bâtiment hébergeant des poules pondeuses non infectées [37].

Les insectes peuvent aussi constituer des réservoirs de *Salmonella*. Dans 14 bâtiments pour poussins à l'engrais, les coléoptères hébergeaient la même souche de *Salmonella* que les poussins [93].

Il a également été démontré que les moustiques et les vers de farine dans les élevages de volaille peuvent héberger des *Salmonella* [42, 78].

2- Symptôme :

Ils diffèrent selon l'âge du sujet atteint:

2.1. Chez le jeune :

❖ La pullorose :

Elle se manifeste cliniquement, chez le poussin, par une septicémie avec une entérite entraînant une très grande mortalité, aussi bien chez le fœtus que chez les nouveau-nés.

Cette affection est l'une des plus anciennement connues.

En 1880 la pullorose a été responsable de 50% de mortalité de poules dans un intervalle de deux mois dans un élevage en Angleterre [1].

L'agent fut identifié en 1907 par Rettger sous l'appellation de *Bacterium pullorum* plus tard remplacé par celle de *S.pullorum*.

Alors qu'en 1965 était dénommée « Diarrhée blanche » par Klein [35], Nom écarté entre-temps vu que la diarrhée blanche n'est un signe ni constant ni caractéristique chez le poussin, et que cette expression ne pouvait convenir à une maladie qui sévit sous forme inapparente chez les porteurs latents [62, 39].

1- Œufs en incubation (prénatale)

Chez l'embryon, les premières manifestations peuvent s'observer dès le 6^{ème} jour d'incubation: on peut voir, au mirage, des embryons doués de peu de vitalité, mais au 15^{ème} jour, on constate que la chambre à air est anormalement développée et que l'embryon est voué à la mort avant l'éclosion [62]

2- Chez le poussin :

Dans l'ensemble, les symptômes ne sont pas très caractéristiques; les premiers morts se produisent après la naissance et ne sont souvent précédés d'aucun symptôme clinique [67, 22],

Aussi, la maladie se prononcera avec deux pic de mortalité au 4^{ème}- 5^{ème} jour puis vers le 15^{ème} jour de vie respectivement l'infection pré-éclosion, puis post-éclosion.

Les symptômes s'observés dans les formes d'évolution aiguë, comprennent des symptômes généraux d'intensité variables, mais surtout une diarrhée blanche, crayeuse, collante au point d'obstruer l'anus en séchant [60].

Les épizooties de forme chronique prennent souvent, des boiteries accompagnées d'une tuméfaction de l'articulation tarso-métatarsienne, en plumage déficient et un développement insuffisant, avec un taux de mortalité de 10 à 20% [39, 60].

2.2. Chez l'adulte :

La maladie sévit sous forme chronique de la grappe ovarienne par *Salmonella Gallinarum pullorum* avec ovarite, salpingite, ponte abdominale, production de poussins contaminés.

Certaines femelles peuvent pondre des œufs contenant des salmonelles (*S. Enterica*).

❖ **Les typhoses :**

Les formes aiguës c'est la « fièvre typhoïde » des volailles ou typhose de la poule autrefois appelée « leucémie infectieuse ».

Maladie septicémique, contagieuse des adultes, due à *Salmonella gallinarum*, très proche de *Salmonella pullorum*, dont on peut le distinguer sérologiquement, à tel point que certains auteurs estiment que la pullorose et la typhose sont deux formes de la même maladie. [62, 39].

Les oiseaux sont prostrés, assoiffés, cyanosés (crêtes, barbillons, caroncules bleuâtres) présentent une diarrhée jaunâtre striée de sang accompagné parfois de troubles respiratoires et nerveux [104].

❖ Les paratyphoses :

Elles peuvent être dues à de nombreux sérotypes ubiquistes.

Les plus souvent rencontrés sont : *S.Typhimurium*, *S.Saint Paul*, *S.Enteritidis*, *S. Anatum*, *S.Arizona* [70].

Elle se déclare souvent à la faveur d'un stress, provoquant de la mortalité chez les jeunes, des retards de croissance et de la diarrhée [22]

Si la maladie intervient dans un élevage de reproducteurs, elle peut provoquer une chute de ponte, une diminution de la fertilité, de l'éclosabilité et une mortalité accru des jeunes.

C'est pour cela, que les symptômes sont impossibles à distinguer de ceux de la pullorose, la différence ne pouvant se faire que par un exam bactériologique [22, 39].

Cependant, il est difficile de certifier la fréquence exacte de la maladie, car la mortalité qu'elle provoque est généralement si faible que les cadavres ne sont pas soumis au diagnostic [39]

3- Lésions :

Les lésions des salmonelloses aviaires sont très caractéristiques quant elles existent, mais elles sont inconstantes et varient avec l'âge des malades, ainsi que l'acuité de l'infection.

3.1. Les jeunes

- Non résorption du sac vitellin de contenu grumeleux vert foncé sur les très jeunes oiseaux ou aspect cuit jaune verdâtre.
- Les reins sont pâles, et présentent des dépôts d'urates.
- Le rectum est dilaté par un liquide blanchâtre (diarrhée+urates).
- Le foie est hypertrophié avec des lésions nodulaires et dégénératives. Les coeca sont dilatés par un magma caséeux.
- Il y a parfois péricardite, aérosaculite, méningite. *Salmonella Enteritidis* provoquerait une péricardite spécifique chez les poussins.

3.2. Les adultes

Les lésions caractéristiques de la typhose sont :

- Foie hypertrophié vert bronze (congestion et rétention biliaire),
- Rate hypertrophiée, souvent énorme,
- Aérosaculite à *Salmonella Arizonae* du dindon,
- Arthrite à *salmonella Typhimurium* var. Copenhagen du pigeon [104]



Figure 4: Foie « vert bronze » dans la typhose de la poule [60]

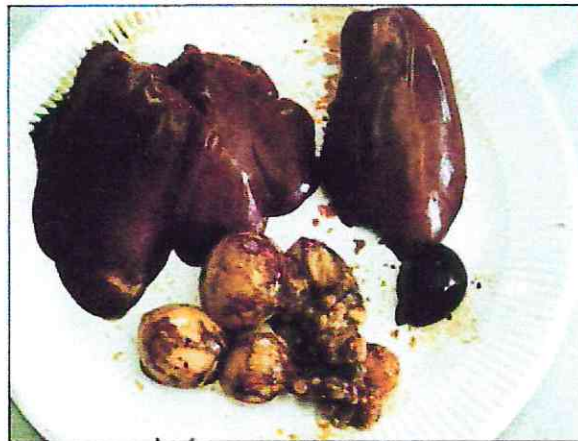


Figure 5: Typhose de la poule, aspect lésionnel du foie, de la rate, et de la grappe ovarienne [60]



Figure 6: Typhose de la poule, aspect lésionnel de la « ponte intra abdominale »

Pour la Paratyphose, les lésions ne sont ni constantes ni caractéristiques, elles sont très comparables, qu'il s'agisse de typhose, pullorose ou de paratyphose.

Chez les poulets de deux ou trois semaines :

- Le foie, peut être hypertrophié et porter des zones de congestions et même d'hémorragie,
- Les caecums, sont remplis de magma jaunâtre de pus caséux,
- Dégénérescence de l'ovaire des poulettes est rare alors qu'elle est plus fréquente chez la poule adulte,
- Les reins, sont pâles avec dépôts d'urates et éventuellement une péricardite exsudative.

II- Les salmonelloses chez l'homme

Dans le monde, les mortalités humaines engendrées par la fièvre typhoïde sont évaluées à 600.000 par an [45].

Les cas, estimés entre 17 et 20 millions par an, sont essentiellement répertoriés dans les pays du Tiers- Monde.

Dans les pays développés, les cas sont généralement importés, via les voyageurs, les immigrants ou la nourriture.

Cinq pour cents des patients infectés par *S. Typhi* deviennent des porteurs chroniques, asymptomatiques

Ceci pose d'énormes problèmes s'ils sont employés dans des entreprises agro-alimentaires.

Les salmonelloses peuvent revêtir trois aspects :

- **Les formes septicémiques :**

Ce sont d'abord les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes dues aux sérotypes *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, B et C. Elles sont caractérisées par une bactériémie avec fièvre, tufhos et des signes digestifs.

Les signes cliniques peuvent varier considérablement en fonction de l'état de réceptivité de l'hôte : de l'infection asymptomatique à une entérite grave pouvant mimer la fièvre typhoïde [103].

C'est-à-dire que tous les types sérologiques de *Salmonella* Paratyphi A, B et C peuvent entraîner des septicémies à la suite d'une atteinte digestive, chez des sujets porteurs d'un déficit et/ou d'une maladie digestive préalablement favorisante [32].

- **La fièvre typhoïde**

- **Les formes purement digestives ou gastro-entérites:**

Chez l'homme adulte, sans maladie intercurrente, les salmonelles dites « Ubiquitaires », non adaptées à l'espèce humaine, provoquent des troubles moins graves que ceux observés lors de fièvre typhoïdes et paratyphoïdes [52].

Les toxi-infections alimentaires se manifestent après une incubation de 12 à 36h, si la dose ingérée est de l'ordre de 10^5 à 10^8 , par :

- ❖ Des diarrhées parfois sanglantes
- ❖ Des vomissements
- ❖ De la fièvre élevée
- ❖ Des douleurs abdominales

Aussi le jeune âge des sujets ainsi que le déficit immunitaires sont d'autant de facteurs capables de diminuer la dose infectante nécessaire à l'expression d'un tableau clinique et évoluer parfois vers la mort [94, 47]

On recense donc régulièrement, tous les ans, un ou deux décès consécutifs aux cas de TIAC à Salmonella, et parfois plus si un de ces foyers se déclare dans un groupe à risques (hôpital, maison de retraite,...) [47]

Les premiers signes surviennent 8 à 10 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. L'évolution de ces gastro-entérites évolue généralement favorablement en deux ou trois jours [28].

La consommation des aliments reste la principale source de salmonellose pour l'homme avec un pourcentage de transmission estimé à 95% [95, 52].

En général, tous les animaux de rentes peuvent être contaminés et donc constitué un risque pour l'homme [82]

L'homme s'infecte aussi par le lait et ses dérivés, coquillage, viande, plus rarement par l'intermédiaire de fruit ou de légumes souillés par des excréments d'animaux [33].

La contamination peut être aussi d'origine humaine lors de la manipulation des aliments par du personnel porteur de salmonelles [74]

De très nombreux sérotypes de salmonelles en cause (S.Typhimurium, enteritidis, Wien, dublin, saintpaul, newport, panama, stanleyville, havana) parmi les plus fréquentes sont responsables de ces infections qui restent habituellement localisées au tube digestif. [7].

Cependant, il reste que plus de 70% des salmonelloses humaines sont dues aux sérovars : enteritidis et typhimurium [104].

Le recours aux antibiotiques est en général suffisant chez les individus adultes sans maladie intercurrente. Le recours aux antibiotiques, parfois utile, tendrait à augmenter la fréquence du portage et à en prolonger la durée. [71].

- **Les formes extra-digestives**

Rares et très polymorphes dans leurs expressions, surviennent plus volontiers chez les sujets à risques, atteints de maladies intercurrentes ou immunodéprimés.

Elles se développent souvent sur des terrains fragilisées : méningites, Ostéites, infections urinaires [32]. Elles représentent 7 à 8% des cas de salmonelloses.

Chapitre IV

Chapitre IV : Techniques de diagnostic.

I. Diagnostic clinique :

Un examen clinique révèle des sujets adynamiques, très amaigris et présentant de la diarrhée. Une fois la suspicion de maladie parasitaire abandonnée, l'hypothèse de l'origine microbienne est alors émise.

On passe alors au diagnostic de laboratoire.[58]. voir chapitre (symptôme et lésion)

II. Diagnostic de laboratoire :

1. Diagnostic bactériologique :

La recherche de salmonelles d'origine aviaire revêt deux aspects :

- 1) Soit cette recherche a un intérêt diagnostic, elle utilise alors un prélèvement à partir des organes atteints en :
 - Isolant les salmonelles à partir des lésions si elles ne sont pas très anciennes.
 - Sérogroupant et sérotypant les salmonelles isolées.
 - Réalisant des antibiogrammes pour cibler des éventuels traitements.
- 2) Soit il s'agit de détecter les porteurs chroniques ou sains de salmonelles (essentiellement Entertidis et Typhimurium dans les troupeaux de volailles) et on prélève soit la poussière lors d'un prélèvement réalisé par chiffonnage des bâtiments et de matériel d'élevage, soit un mélange de fèces [47, 88].
 - Prélèvements : L'isolement et l'identification des *Salmonella* serait fait essentiellement sur deux types de prélèvements : à partir du sang et des selles.

Les prélèvements provenant d'animaux en vue d'un examen bactériologique sont :

❖ Prélèvements avant le sacrifice de l'animal ou sur les animaux vivants :

- Ecouvillonnages cloacaux
- Le duvet (0,75 g)
- Le sang

❖ **Prélèvements après le sacrifice de l'animal ou sur les morts le plus vite possible :**

- Prélèvement de : foie, rate, poumons, cœur, vitellus, sang et cerveau.
- Prélèvement du duvet.

❖ **Autres prélèvements :**

- Les œufs.
- La litière dans les différents endroits et sur les différentes profondeurs et les fonds des boîtes.
- L'alimentation et l'eau d'abreuvement [17].

○ **Etude bactériologique :**

❖ **Etat frais :**

Il consiste à observer les bactéries à l'état vivant entre lame et lamelle au microscope optique, permettant de rechercher la morphologie et la mobilité.

❖ **Coloration de Gram :**

C'est une coloration des bactéries tuées et fixées sur lame. Les salmonelles sont des bacilles gram négatifs, et apparaissent donc colorées en rose.

Cette coloration nous renseigne sur le nombre de bactéries Gram+ et Gram- présentes dans l'échantillon prélevé et donc d'orienter le diagnostic.

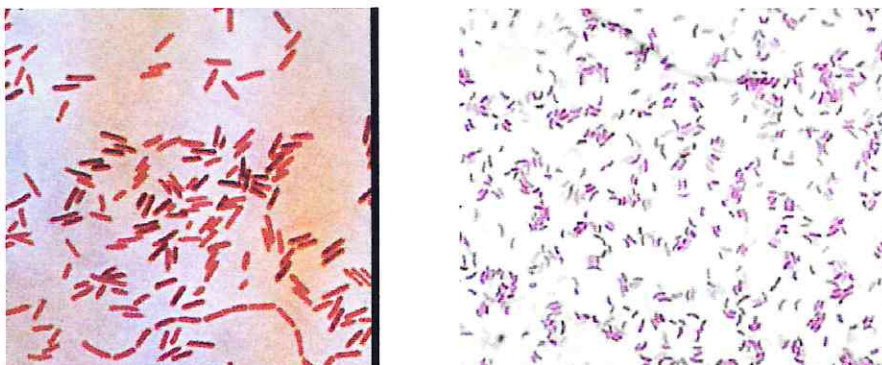


Figure7: *Salmonella typhi*, Gram négatif

De nombreuses méthodes sont largement utilisées à travers le monde pour l'isolement de *Salmonella* [27, 35, 43, 65, 108].

Ces méthodes ont été permises grâce à des travaux inter-laboratoires coordonnés en Europe par EDEL et KAMPELMACHER (1969) qui ont fournis les données reprises dans les Normes nationales et internationales (ISO 6579).

Celles qui sont les plus communes sont décrites ci-dessous.

- Pré enrichissement (6 à 20h).
- Enrichissement en milieux sélectifs liquides (24-48h).
- Isolement sur milieux sélectifs gélosés (24-48h).
- Identification biochimique et sérologique.

➤ **Pré-enrichissement :**

C'est une phase non sélective qui utilise un bouillon riche (eau peptonnée tamponnée, ou bouillon lactosé) dans lequel l'échantillon est dilué en général au 1/10 et pour laquelle l'incubation dure une vingtaine d'heures à 35°C ou 37°C [94].

Au terme de cette phase, toutes les salmonelles (mais aussi les autres bactéries contenues dans l'échantillon) qui peuvent être initialement dans un état physiologique précaire parce que soumises à des conditions d'environnements très éloignés de celles de leur milieu de prédilection, le tube digestif, ont récupéré leur faculté à se multiplier rapidement [47]

➤ **L'enrichissement :**

Afin de minimiser la croissance des autres bactéries associées au prélèvement et de poursuivre la multiplication sélective des salmonelles alors que la croissance des autres bactéries est inhibée. une portion du milieu de pré-enrichissement est transférée dans un ou plusieurs milieux d'enrichissement.

Selon les facteurs sélectifs qui entrent dans leur composition, ces milieux sont classés dans trois familles :

- le bouillon au Sélénite, ceux à base de tétrathionate et enfin les Rapport-Vassiliadis (qui contiennent du vert de malachite et du chlorure de magnésium).

L'incubation de la majorité de ces milieux a lieu à une température élevée, également sélective (42°C). après 24 heures, on procède à l'isolement [105]

➤ L'isolement :

Il s'agit également d'une phase sélective mais qui utilise cette fois des milieux solides coulés en boîtes de Pétri.

Les milieux d'isolement préconisés pour la recherche de salmonelles contiennent une telle variété d'associations de facteurs sélectifs que l'on ne dénombre pas moins de 30 formules commerciales disponibles dont aucune, cependant, n'est totalement sélective.

Les salmonelles apparaissent sous forme de colonies "caractéristiques" par leur forme, leur couleur et leur morphologie. [94].

A titre d'exemple, on peut citer le milieu de Rambach, les géloses Hektoen, Salmonelle-Shigelle ou le milieu Xylose-Lysine-Tergitol 4, ou encore la gélose au vert brillant et au rouge de phénol, et tout récemment le milieu Compass *Salmonella* agar. Les résultats sont lus après 24 et 48 h d'incubation à 37°C [43].

Salmonella Abortusovis est un sérovar à croissance lente et il est fréquent d'incuber les boîtes jusqu'à 72 h et d'utiliser des géloses au sang non sélectives

➤ Identification des biochimique :

Doit être réalisée sur des souches pures. On procède à une vérification de l'appartenance au genre Salmonella, par détermination des caractères biochimiques spécifiques.

Des systèmes miniaturisés sont disponibles ; tel que les galeries API. [94,71]



Figure n°8 : Salmonella Galerie API 20E

Tableau n° 4 : Etapes des méthodes bactériologiques utilisées pour la mise en évidence des salmonelles en fonction de l'origine du prélèvement [94]

| Méthodologie utilisée en fonction de l'origine du prélèvement | | | |
|--|--|-------------------------|---|
| Hygiène alimentaire et environnement | Pathologie (humaine ou animale) | | |
| Pré-enrichissement (16 à 20 heures) | Enrichissement (24 heures) | | Isolement direct (24 heures) |
| Enrichissement (24 heures) | Isolement (24 heures) | Ou | Identification (1 à 3 jours) |
| Isolement (24 heures) | Identification (1 à 3 jours) | | Antibiogramme (24 heures) |
| Identification (1 à 3 jours) | | | |
| Type de résultat obtenu | | | |
| Qualitatif (présence ou absence) | | Semi-quantitatif | |
| Limite de détection (estimation) | | | |
| 1 à 10 salmonelles par prise d'essai (classiquement 10 g) = 0,1 à 1 Salmonelle/g | 10 à 100 salmonelles par prise d'essai (classiquement 2g) = 5 à 50 salmonelles/g | | 1 salmonelle par anse calibrée (classiquement 0,002g) = 500 salmonelles/g |

2. Diagnostic histologique :

Les prélèvements qu'on peut réaliser sont :

- Echantillons d'organe le plus vite possible après la mort de l'animal pour éviter les autolyses.
- Organes : foie, cœur, cerveau, qui peuvent être prélevés en totalité.

Cet examen histologique permet de « rattraper » ou incite à poursuivre et à améliorer un examen bactériologique initialement infructueux, en mettant en évidence dans le foie, plus particulièrement, des lésions caractéristiques de l'infection salmonella. [60]

3. Diagnostic sérologique (diagnostic indirect) :

Effectuer sur sang total, prélevé de la veine alaire ou par ponction cardiaque avant le sacrifice de l'animal [12],

Test sur sang total qui utilise un antigène coloré, et le test d'agglutination du sérum SAT (*Serum Agglutination Test*) ont été utilisés avec succès depuis plus de 50 ans pour l'identification des élevages infectés par *S. Pullorum/Gallinarum*.

Du fait que *S. Enteritidis* possède le même groupe antigénique somatique D que *S. Pullorum/Gallinarum*, le test sur sang total et les tests reliés peuvent être utilisés pour le diagnostic de l'infection mais la sensibilité est faible.

Il est possible, seulement, si la souche présente un caractère invasif pour l'hôte considéré, vue que la réponse sérologiques à l'infection par *Salmonella* à caractère invasif conduit à la production d'IgG [4].

La concentration des IgG produites persiste même pendant la phase intermittente d'excrétion fécale de la bactérie infectante.

L'inconvénient vient du fait que les concentrations d'IgG produites juste après l'infection peuvent être faibles, alors que l'excrétion bactérienne est à son maximum.

Plus récemment, d'autres tests tels que les **ELISA** [5] ont été développés pour le diagnostic d'infections à *S. Enteritidis* et à *S. Typhimurium* en volaille et pour d'autres sérovars pour les animaux d'élevage

• **Facteurs impliqués dans le diagnostic sérologique**

1. Des méthodes sérologiques peuvent être utilisées pour identifier un élevage/troupeau infecté plutôt que d'identifier individuellement l'animal, bien que des tests répétés puissent être utilisés en élevage comme une aide dans l'élimination sélective des animaux porteurs chroniques.

Des épreuves sérologiques sont habituellement connues pour détecter un nombre limité de sérovars ou de sérogroupes de *Salmonella*.

Il est maintenant bien reconnu que certains animaux présentant une réponse positive peuvent ne plus être infectés avec le micro-organisme *Salmonella*.

De même et à l'inverse, des animaux qui sont excréteurs actifs de salmonelles, peuvent être sérologiquement négatifs.

Néanmoins, aucune de ces situations ne doit être considérée comme un problème majeur, si des tests sont réalisés.

Des animaux qui sont sérologiquement positifs peuvent avoir cessés d'excréter des salmonelles bien que des taux élevés d'immunoglobulines puissent circuler. D'autres animaux de l'élevage peuvent être encore infectés.

Des animaux sérologiquement négatifs peuvent être la conséquence d'une infection récente avec une excrétion avant la production maximale d'immunoglobulines ou d'infection avec des sérotypes moins invasifs.

Des animaux infectés récemment devraient, en toute probabilité, être détectés sérologiquement par un programme de surveillance approprié durant toute la durée de vie de l'élevage/troupeau.

2. Les animaux nouveau-nés sont immunologiquement immatures et ne répondent pas sérologiquement au LPS de l'antigène somatique jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines. Ils doivent, néanmoins, produire une réponse sérologique à la protéine de l'antigène flagellaire.

Les poulets peuvent aussi acquérir des anticorps anti-*Salmonella* passivement à partir des parents par l'intermédiaire de la vésicule ombilicale ; cela peut signifier un élevage de parentaux infectés. Les mammifères peuvent acquérir les anticorps maternels par le colostrum.

3. Suite à une infection à *Salmonella*, le taux d'immunoglobulines peut se maintenir élevé pendant 2 à 3 mois. Une réponse à IgM indique une infection récente.

4. L'immunisation a été utilisée depuis de nombreuses années pour contrôler l'infection à *Salmonella* dans les élevages, et si le diagnostic sérologique est utilisé, il est nécessaire de différencier la réponse vaccinale d'une infection en cours.

Beaucoup de vaccins vivants par voie orale ne donnent pas de réponse significative en anticorps.

5. Il existe approximativement 2 500 sérovars différents de *Salmonella*. En fonction de l'antigène et du test utilisé, des réactions sérologiques croisées entre différent sérovars peuvent se produire, par exemple entre *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis*.

a) Test sur sang total

Le test sur sang total fourni un test rapide de détection de la typhoïde aviaire et de l'infection à pullorum qui peut être mis en oeuvre à la ferme. La sensibilité du test sur sang total est faible et des résultats faux positifs et faux négatifs liés à l'inexpérience peuvent survenir.

b) Test rapide d'agglutination sur lame

Le sérum (0,02 ml) est mélangé avec un antigène polyvalent coloré au cristal violet (0,02 ml). Le mélange est doucement agité pendant 2 min, après cela, le test est lu.

Les réactifs du test sont gardés à 4°C doivent être remis à température ambiante avant d'être utilisés
Les sérums à tester doivent être exempts de contamination ou d'hémolyse.

Il peut être utile de réaliser une centrifugation des échantillons qui ont été conservés pendant un certain temps.

Si des réactions faussement positives non spécifiques sont redoutées, les sérums suspects positifs doivent être re-testés après un traitement à la chaleur à 56°C pendant 30 min.

Grâce aux méthodes sérologiques de dépistage que l'on a pu éliminer la typhose et la pullorose à *S. Gallinarum Pullorum* des parquets de reproducteurs malgré les interactions antigéniques [104] malgré les interférences antigéniques qui ne permettent pas au test de donner assez de précisions sur l'infection salmonellique du troupeau et de l'individu.

Mais, du point de vue de la sensibilité, ni le test d'agglutination rapide sur lame ou ARL ni la miro-agglutination lente ou MAL ne conviennent chez les sujets de trois à cinq semaines.

Les animaux de dix à douze semaines ont une réponse anticorps supérieure mais la sensibilité de l'ARL est inférieure à celle de la MAL et la dilution au 1/8 qui peut être choisie comme seuil de positivité oblige à prendre en compte de nombreuses réactions non spécifiques

En conclusion, le diagnostic sérologique de la pullorose n'est pas fiable chez les jeunes animaux, ce qui explique les directives officielles américaines et françaises qui préconisent respectivement comme date d'intervention initiale 16 semaines et 30% de ponte.

Chez les animaux de 5 à 6 semaines l'ARL, très sensible, évite la plupart des réactions faussement positives à la dilution 1/4 et surclasse sur ce point la MAL qui donne des résultats assez comparables à la dilution 1/32 [12].

Pour les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, on utilise le sérodiagnostic de Widal et Félix qui est un diagnostic de présomption et d'investigation rétrospective.

Il est utilisé lorsque les sérotypes Typhi et Parathyphi n'ont pas été isolés dans les hémocultures et/ou les coprocultures. [104]

4. Diagnostic par des méthodes moléculaires :

4.1. L'hybridation :

Elle est basée sur l'utilisation de sonde à ADN, constituée par des séquences d'acide nucléique, marquée soit avec un radionucléide, soit avec un système enzymatique, simple brin (monocaténaire).

Ces séquences sont exactement complémentaires des acides nucléiques de l'organisme cible.

Mise en présence de celui-là, la sonde s'hybride en reconstituant un système bicaténaire double brin marqué, donc détectable [38]

4.2. E.L.I.S.A. (Enzym linked immuno sorbent Assay) :

Technique capable de reconnaître les antigènes somatiques des salmonelles et d'évaluer la quantité d'anticorps produite par l'organisme contre l'infection [67],

Elle permet une détection spécifique des IgG dans le sérum; et une adaptation du test peut permettre la détection des IgM. Mais des quantités importantes n'étaient détectables que plusieurs semaines après l'infection [75].

La présence d'un antigène, c'est-à-dire un virus ou une bactérie dans l'organisme d'un animal entraîne des réactions immunitaires.

Cette technique présente une image définie de l'action des anticorps sur l'agent pathogène et aussi permet de dénombrer les anticorps utilisés pour se défendre afin d'assurer une bonne protection à l'échelle du troupeau [22]

Le principal antigène utilisé comme cible de production d'anticorps parfois associé aux antigènes flagellaires, est le lipopolysaccharide (LPS).

Grâce à sa composition, il peut offrir des spécificités discriminatoires, mais un risque de confusion persiste en raison des antigènes communs possédés par différents sérovars de *Salmonella*. [75].

4.3. Amplification en chaîne par polymérase (ACP) :

L'ACP ou encore PCR « Polymerase Chain Reaction », est une technique de réplication ciblée in vitro. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie.

L'ordre de grandeur à retenir est celui du million de copies en quelques heures. C'est généralement suffisant pour une utilisation ultérieure.

Le principe et les conditions expérimentales qui en découlent sont très simples. Il s'agit de réaliser une succession de réaction de réplication d'une matrice double brin d'ADN.

Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3-prime pointent l'une vers l'autre. Les amorces ou « primers » en anglais définissent alors, en la bornant, la séquence à amplifier [38].

Elle est basée sur la répétition d'un processus en trois étapes :

- ❖ Dénaturation de l'ADN double brin en ADN simple brin,
- ❖ Hybridation des amorces à l'ADN simple brin,
- ❖ Extension enzymatique des amorces par une ADN polymérase thermostable qui synthétise un brin d'ADN complémentaire à celui servant de cible pour les amorces oligonucléotidiques [16]

4.4. Technique immunologique (Immuniband-Salmonella 1-2 test) :

Il s'agit d'un système comportant une chambre contenant un milieu non sélectif favorisant la mobilité et une autre chambre perpendiculaire contenant un milieu sélectif d'enrichissement.

Un réseau polyvalent anti-flagelles est ajouté dans la chambre de mobilité.

En cas de présence de salmonella, on observe une ligne blanche d'immuno précipitation, seules les salmonelles mobiles peuvent être décelées. [38]

Cependant, les méthodes rapides sont souvent plus coûteuses que la méthode bactériologique conventionnelle, mais peuvent être économiquement intéressantes pour le tri d'échantillons :

- lorsqu'il existe une faible prévalence de contamination
- ou lorsque les produits tels que les produits pour l'alimentation animale sont attendus négatifs au test.

Actuellement, aucune méthode rapide n'est capable de réaliser une détection directe des *Salmonella*, si bien que des étapes d'enrichissement sélectif ou non sélectif sont nécessaires [77]

Chapitre V

Chapitre V : Prophylaxie.

Toute une série de mesures de prévention et de traitement sont disponibles à l'heure actuelle chez la volaille.

La lutte contre les **maladies d'origine digestive** met en jeu :

- l'hygiène et la lutte contre le [péril fécal](#)
- le traitement des malades
- la vaccination

- Prévention :

La **prévention des salmonelloses humaines est excessivement simple**. Elle repose sur le respect de recommandations élémentaires (conditions de transport, de stockage et de préparation des aliments, respect de la chaîne du froid, cuisson "à coeur" des viandes hachées et des viandes de volailles) et de l'hygiène familiale (propreté du frigidaire et de la cuisine, lavage des mains).

- Populations animales

À l'inverse, la **prévention du portage digestif des Salmonelles par les animaux de rente est très complexe**.

Sachant que les salmonelloses animales sont très rares, mais que le portage digestif est à l'origine de la contamination des produits livrés à la consommation et donc des salmonelloses humaines. [47]

La réduction de la prévalence des salmonelles chez les volailles constitue le moyen le plus efficace pour réduire la contamination des denrées alimentaires incriminées et le nombre de cas humains de salmonellose.

La lutte contre les salmonelles vise donc en premier lieu à réduire cette prévalence.

La prévalence est une notion statistique représentant le nombre de cas recensés dans une population sans distinction entre les cas nouveaux et les cas anciens, c'est le nombre de cas à une date donnée divisé par le nombre total d'individus soumis au contrôle

Les différents axes de la lutte contre les Salmonelles

Dans la lutte contre les épidémies à salmonelles, il existe de nombreux angles d'attaque possibles.

Les points d'entrée des salmonelles sont nombreux dans la filière volailles du producteur au consommateur. Il convient donc de mener les actions à plusieurs niveaux :

Aux différents étages de la filière, aux différentes phases de l'élevage jusqu'à la vente, de son transport et de sa manipulation en magasin et par le consommateur.

D'une part, il faut repérer et agir sur les troupeaux infectés, les éliminer ou les traiter afin de les rendre sains : l'épidémiosurveillance, l'assainissement et les traitements sont les outils de la lutte contre les salmonelles.

D'autre part, pour maîtriser la prévalence de l'infection salmonellique, il faut bien sûr empêcher les troupeaux sains de devenir infectés.

La prophylaxie sanitaire, la prophylaxie médicale, sont indispensables

I. Prophylaxie sanitaire :

1. Volailles adultes

Chaque année, tous les coqs et poules de 5 mois et plus seront soumis à une épreuve sérodiagnostic.

Dans les exploitations infectées, l'épreuve sera répétée à intervalles de 4 à 6 semaines jusqu'à ce que les résultats en soient négatifs. En général, le but est atteint après 2 ou 3 tests.

Tous les sujets réagissant, sans exception, seront détruits ou abattus de manière à réduire le plus possible le risque de propagation des salmonelles, même si ce sont des poussins d'un jour.

Les œufs d'une telle exploitation qui se trouvent dans le couvoir doivent également être détruits ou traités comme décrit ci-dessous, de désinfecter et de repartir sur des bases saines.

La première mesure est de n'introduire que des poussins indemnes dans les bâtiments, ce qui implique que les parentales et les grands parentales soient indemnes de *Salmonella* afin d'éviter la transmission verticale. [72, 29, 18, 107, 44]

- Eviter la réintroduction de volailles ayant quitté l'exploitation pour quelque motif que ce soit (participation à des expositions, concours, etc.).

Les aliments pour volailles seront achetés en emballages perdus.

2. Oeufs – Incubation :

- Seules les oeufs de volailles saines seront seuls mis en incubation.
- On n'introduira pas dans un même incubateur, des oeufs de poules saines et des oeufs d'élevages non contrôlés ou des oeufs d'autres espèces.
- La salle d'incubation et la couveuse seront nettoyées à fond et désinfectées avant et après chaque incubation.

Les fumigations au formol sont particulièrement recommandables.

Au besoin, on peut désinfecter extérieurement les œufs, qui visent à réduire la contamination de la surface des œufs, avant l'incubation et procéder, en fin d'incubation, à trois fumigations au formol, espacées de 12 heures et dont la première se situe au début de l'éclosion.

3. Poussins :

- Les poussins, répartis en lots d'importance en rapport avec l'effectif, seront élevés sans contact direct ou indirect avec les adultes.
- Seront élevés sur treillis à mailles de 8 mm pendant les 10 à 12 premiers jours, puis de 14 mm.
- Aucune nourriture ne sera distribuée pendant les 4 premiers jours : le reliquat de vitellus suffit.
- Les sujets malades ou chétifs seront immédiatement isolés ou mieux, sacrifiés [100]

4. Elevages :

- Isolement le meilleur possible
- La protection des bâtiments contre les insectes et rongeurs en tant que vecteurs des salmonelles.
- La désinfection et le vide sanitaire entre bandes successives.
- La propreté de l'environnement immédiat (pas d'épandage de litière à proximité de l'élevage)
[60]

5. Transport :

Il est nécessaire de prévoir un matériel facile à nettoyer et à désinfecter.

6. Abattoirs, transformation :

Comportement hygiénique absolu : hygiène, mains propres, lavabos.

Les salmonelles sont des entérobactéries donc des germes de contamination fécale.

Il faut exiger le lavage des mains après chaque séjour aux toilettes.

Le respect de la chaîne du froid doit être absolu [104, 106]

7. Aliment :

On retrouve sur le marché une gamme impressionnante d'additif alimentaire anti-*Salmonella* utilisé chez la volaille et grâce auxquels une réduction du niveau de contamination de *Salmonella* est espérée.

Ces produits sont destinés à réduire l'excrétion fécale et à réduire aussi la colonisation du tractus digestif.

Cette réduction de l'excrétion fécale amènera une diminution des taux de contamination de l'environnement et par conséquent le risque de contamination horizontale devrait diminuer [56, 101]

En ce qui concerne l'aliment et plus particulièrement les aliments d'origines animales, la présence de salmonelles dépend largement de la qualité (bactériologique) initiale du produit, des traitements mécaniques ou thermiques qu'il subit, mais aussi du soin apporté à son stockage pour éviter les (re)contaminations ultérieures.

On peut aussi être amené à proscrire les farines d'origine animale pour les reproducteurs.

L'acidification d'aliment par adjonction d'une solution d'acide formique, d'acide sorbique ou d'un mélange acide formique/acide propionique (à raison respectivement de 0,6 et 0,5-0,8%) permet de réduire considérablement le danger que représente pour le poulet un aliment contaminé « naturellement » ou expérimentalement par des salmonelles.

8. Eau:

Source et moyen de diffusion du contagement dans l'espace et le temps, doit faire l'objet de contrôles rigoureux et systématiques, sa qualité bactériologique étant sujette (quelle que soit sa provenance) à des « fluctuations » aussi importantes que fâcheuses et inattendues [60] d'où nécessité de décontaminations physiques ou chimiques de l'eau de boisson et des aliments.

L'acidification de l'eau de boisson est une mesure de décontamination qui peut être prise dans les fermes, tandis que l'irradiation et la pasteurisation des aliments sont des mesures à prendre par les firmes d'aliments.

9. Locaux — matériels :

Locaux et matériel doivent être nettoyés et désinfectés régulièrement (eau de Javel, chloramine, créoline, acide phénique,...). Avant, pendant et après usage.

10. Déchets :

Tous les déchets (cadavres, viscères, plumes) d'oiseaux morts ou préparés pour la vente seront brûlés [101]

II. Prophylaxie médicale

Elle peut utiliser plusieurs méthodes :

1. Chimio prévention :

Basée sur l'utilisation à titre préventif *des* anti-infectieux utilisés pour le traitement, elle combat plus les contre-performances économiques des lots infectés qu'elle n'empêche l'apparition épisodique de manifestations cliniques ou élimine le portage chronique des germes.

Elle a ainsi, dans le cadre de programme d'assainissement de milieux infectés, *été* appliquée avec des résultats variables :

* A l'oeuf : sous forme

- d'injection antibiotique in ovo.
- de trempage des oeufs dans une solution antibiotique, méthode efficace surtout pour les contaminations superficielles.

* Au poussin d'un jour : 2 mg par voie sous cutanée [60]

2. Vaccination :

La mesure préventive la plus répandue est sans doute la vaccination. La vaccination est certainement efficace pour les poules pondeuses, tandis que pour les poulets à l'engraissement, l'utilité de la vaccination peut être mis en doute, vu la courte durée de vie de ces animaux.

On trouve sur le marché des vaccins atténués et inactivés qui permettent de réduire l'excrétion et la circulation de *Salmonella* [72, 29, 18, 107, 44].

Permet une protection variable en durée et en intensité selon :

- le type de vaccin utilisé.
- l'état sanitaire des oiseaux.
- l'immunité de l'oiseau.
- la technique de vaccination elle-même.

Elle pose, initialement, un problème d'induction, et doit systématiquement être proscrite lorsqu'elle risque d'interférer avec un programme d'assainissement basé sur la détection et l'élimination des sujets infectés : c'est le cas de la pullorose pour les reproducteurs où l'on a choisi la « voie sanitaire » [60]

Un cas particulier mérite d'être évoqué : celui des vaccins non agglutinogènes, ou du moins réputés tels, dont la souche vivante avirulente 9R, de *S. Gallinarum Pullorum* est l'exemple type.

Vaccin efficace puisqu'il diminue considérablement la gravité de l'infection chez le poulet, il possède un certain pouvoir pathogène résiduel et surtout persiste dans quelques organes dont l'ovaire, ce qui peut provoquer sa transmission verticale.

Des résultats intéressants ont été cependant obtenus aux USA en 1987 avec des vaccins en solution huileuse contenant une fraction protéique purifiée de *S. Gallinarum Pullorum*.

Il est à noter en outre que dans les pays où la prophylaxie sanitaire de la pullorose n'est pas aussi codifiée et rigoureusement appliquée qu'en France, certains vaccins, anti *S. Gallinarum Pullorum* (standard et variant) sont employés sur une assez grande *échelle* et semblent donner des résultats intéressants.

Pour les autres salmonelles : d'innombrables essais d'immunisation ont été et sont conduits avec des résultats très variables. Les techniques utilisées consistent à administrer aux animaux :

- Des extraits bactériens (soniqués) ou des bactéries tuées, par voie buccale, mélangés à l'aliment.
- Des vaccins qui, pour l'essentiel, se répartissent en deux catégories : vaccins tués (inactivés) et vaccins vivants [60]

2.1. Vaccins tués :

Ce sont les plus anciennement utilisés. Leur efficacité a souvent été discutée mais des progrès techniques semblent possibles si l'on considère les récentes expérimentations effectuées aux USA qui permettent d'obtenir des résultats intéressants avec des vaccins en solution huileuse contenant une fraction protéique purifiée de *Salmonella Pullorum Gallinarum* (typhose).

Ces vaccins inactivés se révèlent parfois plus efficaces lorsqu'ils sont utilisés par voie buccale (cas de *S. typhimurium* par exemple), ce qui n'est pas étonnant si l'on considère l'importance fondamentale des mécanismes de l'immunité locale en matière de salmonelles.

Quoi qu'il en soit, les vaccins ne peuvent apporter qu'une solution partielle, voire ponctuelle aux problèmes des salmonelloses aviaires, compte tenu de la multiplicité des sérovars qui interviennent.

Il convient encore de ne pas oublier que certaines vaccinations peuvent avoir un effet négatif et accroître la sensibilité des sujets vaccinés à l'infection naturelle ou expérimentale [60]

2.2. Vaccins vivants :

Préparés à partir de souches non virulentes de salmonelles, ils peuvent être utilisés par *voie parentérale ou buccale, ce dernier mode d'administration* permettant d'exploiter au mieux les possibilités d'immunisation générale et locale de l'individu_

Nous avons cité comme exemple la souche 9R dans le cas de la pullorose, nous nous contenterons de remarquer que les réactions des volailles vis-à-vis de ce type de vaccins semble très comparables à celles des autres espèces animales l'efficacité est assez souvent bonne et même supérieure à celle des vaccins tués.

Signalons à cet égard que la souche rough 9R utilisée dès 1956 par Smith contre la typhose de la poule *a été* récemment testée par Borrow et collaborateur vis-à-vis de *S. Enteritidis* PT4 (lysotype), souche hautement pathogène pour la volaille et pour l'homme. Les résultats obtenus chez la poule pondeuse sont intéressants [60]

Si possible administré aux poulets âgés de neuf à dix semaines, ce vaccin n'entrave pas la production ultérieure des œufs, procure une immunité qui reste entière pendant cinq à six mois puis s'affaiblit tout en restant efficace pendant un temps suffisamment long pour que les sujets traversent la période où ils sont le plus sensibles [39].

Remarque

L'avenir appartient peut être aux vaccins de nouvelle génération qui pourraient résulter de l'atténuation ou de la suppression du pouvoir pathogène de certaines bactéries dont les salmonelles.

Les vaccins en général semblent donc, en l'état actuel des connaissances et des techniques, incapables d'apporter une solution satisfaisante au problème de la protection des oiseaux contre l'infection salmonellique. par manque d'efficacité, par spécificité trop étroite ou par effets secondaires indésirables en divers domaines.

A l'heure actuelle aucun vaccin n'est satisfaisant [55, 60]

3. Flore de barrière :

L'implantation de la flore de barrière fait jouer le mécanisme « d'exclusion compétitive » dont le principe était connu de puis longtemps mais dont l'intérêt pratique a été mis en évidence en 1973 par Nurmi.

A sa naissance le poussin ne possède aucune flore intestinale, L'utilisation de « flore de barrière » consiste à l'administration aux poussins d'une culture de flore intestinale naturelle non pathogène de poulet adulte, qui colonisera plus rapidement la lumière intestinale (une semaine au lieu de six semaines) et empêchera l'adhésion et l'implantation des germes provenant du milieu extérieur.

Elles sont administrées par pulvérisation. Leur utilisation n'est qu'un complément supplémentaire d'une prophylaxie rigoureuse.

L'intérêt des chercheurs ne serait donc se relâcher vis-à-vis d'une technique qui pourrait permettre de réunir les vertus cardinales que sont en matière d'immunisation : innocuité, efficacité, polyvalence avec en « prime » réduction de la pression d'infection au niveau de l'animal comme de l'environnement voire un effet bénéfique sur la croissance [47, 60].

Partie expérimentale

INTRODUCTION :

Nombre d'animaux, en particulier, le poulet de chair peut être infecté par les salmonelles, sans présenter pour autant de signes cliniques.

Ces animaux jouent alors un rôle important en tant que source de contamination des aliments et à l'origine de l'infection humaine [66].

Ces Salmonelles apparaîtront lorsque ces animaux entreront dans la chaîne alimentaire conduisant à des produits alimentaires contaminés [108, 109]

En effet, ce pathogène utilise les volailles comme animal hôte, en colonisant leur tractus intestinal, et ce de manière asymptomatique pour les oiseaux

Jusqu'alors, de nombreux travaux ont été consacrés au portage intestinal et à l'excrétion de germes pathogènes [14] et le phénomène le plus préoccupant est, semble-t-il, l'existence d'animaux porteurs sains [54].

« Par conséquent, le relargage massif de ces germes dans l'environnement constitue un potentiel énorme de contamination pour la peau. »

Dans le cadre d'un travail de recherche scientifique, ayant pour objectif le déterminisme et la recherche de la prévalence de salmonella à différent niveau de production des volailles destiné à la consommation humaine.

Notre travail a ciblé un seul niveau, qui consiste en la recherche d'une contamination à salmonelle au niveau des points de ventes de la Wilaya de BLIDA et cela à partir d'échantillons de peau de cou.

L'intérêt de la recherche de salmonella Spp. au niveau de la peau du cou des volailles selon la norme internationale, ISO 17.604 (Organisation internationale de normalisation, 2003) qui précise les méthodes de prélèvement en vue de la recherche et du dénombrement des microorganismes à la surface de carcasses d'animaux de boucherie venant d'être abattus, réside d'une part, dans le fait que l'excision de peau de cou est plus pratique, plus rapide,

moins chère, plus reproductible, et d'autre part, que le cou est le meilleur endroit pour prélever la peau qui y contient un nombre représentatif de *Salmonella* et dont le prélèvement ne déprécie pas la valeur de la carcasse [53, 49]. Et le fait qu'elle représente, selon certains auteurs, une véritable niche bactériologique

II- MATÉRIEL ET METHODE :

1- Matériel :

1-a : Peaux de cou de poulet de chair.

1-b- milieux de cultures et réactifs.

1. Bouillon nutritif
2. Solution aqueuse de vert brillant
3. Eau peptonée tamponnée (EPT)
4. Bouillon au tétrathionate additionné de vert brillant
5. Bouillon de sélénite additionné de cystine
6. Gélose SS associée à celle de vert brillant
7. Gélose nutritive
8. Gélose aux trois sucres et au fer (TSI)
9. Gélose lysine-fer
10. Gélose à l'urée de Christensen
11. milieux d'analyses biochimique
12. Eau physiologique
13. Mélangeur, Stomacher ou autre homogénéisateur
14. Incubateur ou bain-marie

2-Méthode

- Méthode d'échantillonnage :

1- PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS ;

1.1. Échantillonnage :

Le choix de l'échantillon a été axé sur des produits qui présentent des risques importants pour la santé des êtres humains, et particulièrement la peau du cou de poulet de chair.

1.2. Lieux de prélèvements

Les prélèvements ont été effectués au niveau des différents points de vente de volailles des différentes communes de la wilaya.

1.3. Mode opératoire des prélèvements

- **Période de réalisation des prélèvements**

Les prélèvements ont été réalisés du 1^{er} mars au 15 avril 2008.

- **Réalisation des prélèvements**

- **Nombre de communes concernées**

Compte tenu, de la nécessité d'effectuer les prélèvements sur les poulets de chair au niveau des points de ventes de la wilaya de BLIDA.

Il a été nécessaire d'effectuer l'échantillonnage au niveau des différentes communes de la wilaya de BLIDA, à savoir :

Blida centre, SOUMAA, OULED YAICH, BOUFARIK, BOUGARA, BENI MERED, AFFROUNE, CHEFFA, MOSAIA.

Tableau N°5 : LIEUX D'ECHANTILLONNAGE

Nombre de prélèvements (de 3 unités ou 3 peaux de cou)

| Communes | Nombre de prélèvements effectués au niveau des points de vente |
|--------------|--|
| Blida centre | 6 (peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| SOUMAA | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| Ouled yaich | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| BOUFARIK | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| BOUGARA | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| BENI MERED | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| EL- AFFROUN | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| CHEFFA | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |
| MOUZAIA | 6(peaux de cou) prélevés dans 2 points de vente |

- **Types d'échantillons prélevés :**

Peau de cou de poulet de chair,

Pour la recherche de *Salmonella*, de chaque point de vente, chaque échantillon prélevé est constitué de 3 peaux de cou de 15 grammes chacune.

Sur chaque "échantillon" de peau de cou de volaille, il a été prélevé, 10 grammes pour une seule recherche bactériologique.

Deux (2) prélèvements ont été effectués par commune.

Les prélèvements ont été analysés au sein du :

- Laboratoire de Microbiologie Médicale Vétérinaire de l'université SAAD DAHLEB- Blida

Identification des échantillons :

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche d'analyse commémorative (Voir annexe n°...)

- Méthode de diagnostic :

La méthode comporte six étapes distinctes. La manipulation initiale de peau de cou et l'enrichissement au milieu non sélectif (pré-enrichissement) varient selon le type d'aliment examiné.

.1 Enrichissement en milieu non sélectif (pré-enrichissement).

Afin de favoriser la récupération et la croissance de salmonelles soumises à un stress ou endommagées par des facteurs externes comme l'exposition à la chaleur, la congélation, la déshydratation, les agents de conservation, une forte pression osmotique ou d'importantes fluctuations de température, nous avonsensemencé d'abord l'échantillon à analyser dans un milieu liquide non inhibiteur (Eau peptonée tamponnée).

Technique :

- Transférer 10gr de chaque échantillon dans 90ml d'eau peptonée (dilution au $1/10^{\text{ème}}$)
- Puis broyer dans un blinder (Stomacher) et Incuber à 37°C durant 24h



37° C
24h





.2 Enrichissement en milieu sélectif.

Afin de favoriser le développement des salmonelles tout en retardant ou en inhibant celui des micro-organismes qui leur font concurrence.

Technique :

- A l'aide d'une pipette pasteur, nous avons transféré 1ml de la culture de pré-enrichissement dans 9ml de bouillon au sélénite additionné de cystéine et d'additif
- incubation des bouillons au sélénite cystine 24h à 37°C



Mode d'action :

Le sélénite de sodium est un inhibiteur de coliformes Gram – (dont *Escherichia coli*) et d'entérocoques, principalement dans les 6 à 12 premières heures d'incubation.

Les salmonelles, *Proteus* et *Pseudomonas* ne sont pas inhibés. Il est en général recommandé de ne pas dépasser 24 heures d'incubation.

Avant incubation :



après incubation :



Lecture

Après 6 à 12 heures et si nécessaire de 18 heures à 24 heures d'incubation, la culture est enrichie **en salmonelles**.

.3 Isolement sur milieu sélectif

- Nous avons ensemencé en stries une goutte du milieu d'enrichissement sur des géloses sélectives différentielles qui sont Gélose Hektoen et Gélose Salmonella-Shigella (SS) de façon à obtenir des colonies isolées, puis incubé à 37°C pendant 18 h. à 24h.

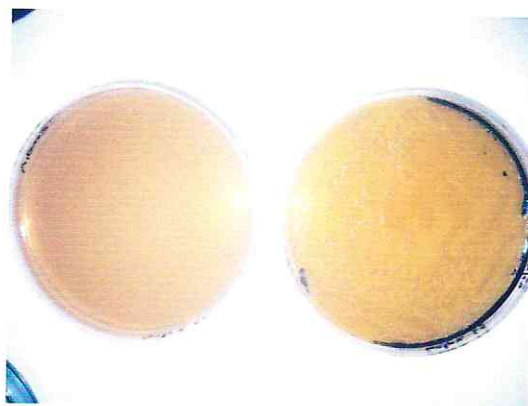


Lecture:

Aspect du milieu avant utilisation Aspect du milieu après utilisation



Sur
Gélose SS



Sur Gélose
Hektoen

Après incubation, nous avons examiné les boîtes pour déceler la présence de colonies présumées de *Salmonella*

- Sur Gélose Hektoen, selon que :

Les colonies sont bleu-vert à centre noir : Suspicion de *Salmonella*, à différencier de *Proteus mirabilis*. Les colonies sont bleu-vert ou vertes : Suspicion de *Shigella* ou de *Salmonella*.

- Sur Gélose Salmonella-Shigella, selon que :

Les colonies sont rouges : lactose +

Les colonies sont incolores : lactose-

Les colonies sont à centre noir : H₂S +

.4 Purification

C'est un repiquage des colonies suspectes sur gélose Hektoen et/ou Gélose SS.

- Les colonies suspectes ont été repiquées.

Nous avons repéré les colonies pouvant être des salmonelles (lactose- ; H₂S+ ; colonies vertes à centre noir, sur gélose SS.

Les colonies suspectes sont transparentes à centre noir. Nous avons examiné 5 à 10 colonies suspectes à l'état frais, ensuite nous avons procédé à la coloration de Gram, puis à l'identification biochimique.

Par contre, les colonies bien isolées sur les géloses sélectives n'ont pas nécessité un repiquage.

Par conséquent, nous avons procédé directement à l'identification biochimique



Sur Gélose Hektoen



Sur Gélose SS

L'état frais :

Afin de mettre en évidence la forme et la mobilité des germes, nous avons :

- Déposé une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame porte objet propre à laquelle nous avons rajouté une colonie de culture prélevée sur milieu gélose (Hektoen ou SS) puis mélangé.
- Couvert la lame avec une lamelle
- Et observer sous microscope optique à Gx40.

Coloration de Gram :

La technique repose sur la mise en évidence du type morphologique et tinctorial de la bactérie, et nécessite l'utilisation de cultures jeunes et la préparation d'un frottis.

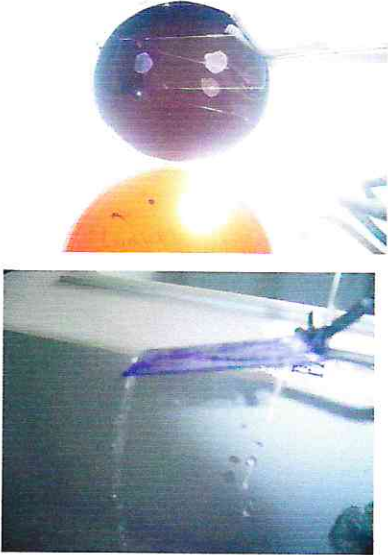
- Préparation d'un frottis : Que nous avons réalisée :
 - A l'aide d'une goutte d'eau physiologique stérile déposé sur une lame porte objet propre à laquelle nous avons rajouté quelques colonies pures, bien mélangé et laissé séché un moment à l'air.
 - Puis passer trois fois rapidement dans la flamme.




Figure N°9 : Aspect du frottis

- Après réalisation du frottis, la coloration de Gram est effectuée en quatre étapes.

Tableau N° 6 : les différentes étapes de réalisation de la coloration de Gram.

| Etapes | Modes opératoires | Temps |
|--------------|---|----------|
| Coloration I | Coloration par le violet de Gentiane Rincer à l'eau  | 1 minute |
| Mordançage | Recouvrir le frottis de Lugol Rincer | 1 minute |

| | | |
|---------------|---|----------------|
| |  | |
| Décoloration | La lame est ensuite décolorée à l'alcool absolu Rincer à l'eau | 30 secondes |
| Coloration II | Le frottis est recoloré à la fuchsine de Ziehl au 1/10 Rincer à l'eau | 1 minute |

Lecture

L'observation se fait au microscope optique, à l'objectif 100, après avoir séché la lame et ajoutée une goutte d'huile à immersion sur le frottis.

Les bactéries Gram « - » apparaissent en rose.

Les bactéries Gram « + » apparaissent en violet.

5 Identification biochimique

Les isolats sont identifiés en fonction de réactions biochimiques déterminantes

5.3. Test de la catalase

Technique:

- Après avoir placé séparément deux gouttes d'une solution d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame propre, nous avons prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile une colonie qu'on a émulsionnée dans une des deux gouttes.
- Si la souche est catalase positive, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses.

Résultat :

- Il y a dégagement de bulles d'air, les salmonelles sont catalase positives.

5.4. Test de l'oxydase :

Technique :

- Effectué après prélèvement de la colonie à identifier, que nous avons déposé sur un disque d'Oxydase précédemment imbibé d'eau physiologique et laisser réagir pendant 10 à 30 secondes.

Résultats :

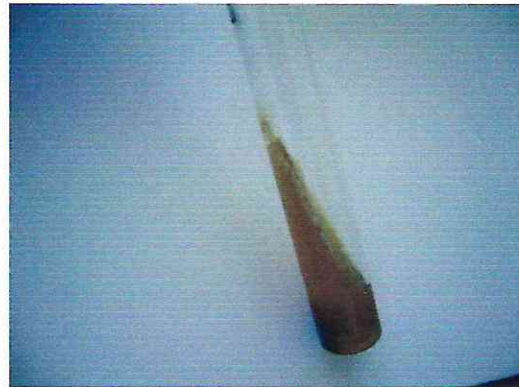
- Pas de virage de couleur au violet ce qui signifie que la bactérie est oxydase négative.

5.5 Test sur milieu TSI (Triple Sugar Iron) :

Technique : A été réalisé en,

- Ensemencant le culot par piqure centrale puis en stries en surface de la ponte du milieu, puis incuber à 37°C pendant 24h.

La lecture est effectuée selon le virage de l'indicateur de pH suite à la fermentation qui induit l'acidification du milieu par coloration du milieu en jaune.



Milieu TSI en tube

Lecture :

- Les TSI obtenus sont Glucose positif, Lactose et Saccharose négatifs, H₂S négatif ou positif, avec ou sans production de gaz.

Galerie biochimique classique

Pour la caractérisation biochimique, nous avons utilisé la galerie biochimique classique qui contient divers tests biochimiques.

Ces tests ont été effectués avec la suspension de Salmonella suspectée.

La préparation de la suspension à partir de colonies prélevées, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, mise en suspensions dans un tube stérile contenant 10ml d'eau physiologique, puis homogénéisation.

Ainsi la suspension est fin prête à l'ensemencement des différents milieux de culture.



a) **Réduction des Nitrates**

Technique

On ensemence un tube de bouillon Nitrate par quelques gouttes de suspension bactérienne et l'incuber à 37°C

Lecture :

Le lendemain, on ajoute 5 gouttes du réactif Nitrate réductase I, puis 5 gouttes du réactif Nitrate réductase II :

- S'il y a apparition d'une coloration rouge ou rose : il y a eut réduction des nitrates.
- Si le milieu reste incolore : on ajoute un peu de poudre de zinc (réducteur de Nitrate), on agite un peu puis on dépose le tube ouvert sur la pailleasse en position inclinée puis on attend 5 minutes :
- ❖ S'il y a apparition d'une coloration rouge ou rose : cela signifie qu'il restait dans le tube des nitrates qui n'avaient pas été réduits, donc la réaction est négative.
- ❖ Si le milieu est incolore : cela signifie qu'il restait plus de nitrates dans le tube et que les bactéries les avaient réduits au de- là du stade nitrites, donc la réaction est positive.
- Le bouillon nitrate devient rouge lorsqu'on rajoute les deux réactifs nitrate réductase I et II, donc les salmonelles sont nitrates réductases positifs

b) **Réaction de Voges Proskauer (VP) et Rouge de Méthyle (RM)**

Technique :

Après avoirensemencé un tube contenant le milieu Clark et Lubs par quelques gouttes de la suspension bactérienne, on incube à 37° C pendant une nuit.



Lecture :

Le lendemain, nous avons versé la moitié du tube dans un autre tube stérile ;
L'un, nous a servi à la recherche de la réaction VP,
L'autre servira à la recherche de la réaction RM

VP : après l'addition des réactifs VPI puis VP II, environ 3 minutes après, le test VP est négatif (milieu de couleur jaune)

RM : après l'addition du réactif RM, le test est positif (couleur rouge)



Addition du réactif RM



RM positif



VP négatif

- ❖ Les salmonelles sont VP négatif et RM positif

Indole positif

c) Urée-Indole :

Technique

- On ensemence par quelques gouttes de la suspension bactérienne, un milieu Urée-Indole qu'on incube à 37°C pendant 24h.

Lecture

Recherche d'Uréase après incubation :

- ❖ Rouge : Urée positive
- ❖ Orange ou clair : Urée négative

Nous avons versé la moitié du tube dans un autre tube stérile :

- L'un pour la recherche d'Indole (quelque soit la réaction de l'urée), additionné de 2 à 3 gouttes de réactifs de Kovac's.

La lecture est immédiate, c'est-à-dire s'il y a présence :

- Anneau rouge en surface du milieu : Indole positif ou il y a production d'indole
- Absence d'anneau rouge : Indole négatif



d) Recherche de TDA (Tryptophane Désaminase)

L'autre servira à la mise en évidence de TDA : mettre quelques gouttes (6-7 gouttes) de TDA

Coloration brune : TDA positif

Coloration jaune-orange : TDA négatif

Les salmonelles sont Uréase et TDA négatif

e) Test Mannitol-Mobilité :

Ce test a été effectué par ensemencement sur milieu Mannitol mobilité, à l'aide d'une pipette Pasteur scellée, par piqûre centrale dans le culot jusqu'au fond du tube, puis incubé à 37° C pendant 18-24h.



Lecture

Fermentation du mannitol positive : Virage au jaune du milieu

Fermentation du mannitol négative : milieu reste rouge

Mobilité + : diffusion des cellules à partir de la ligne d'ensemencement

Mobilité - : pas de diffusion des cellules à partir de la ligne d'ensemencement



Mannitol (+) , Mobilité (+)

f) Utilisation du Citrate :

Technique :

Ce test a été effectué par ensemencement en strie de la pente avec l'inoculum et mis à incuber pendant 24h à 37° C.

Lecture :

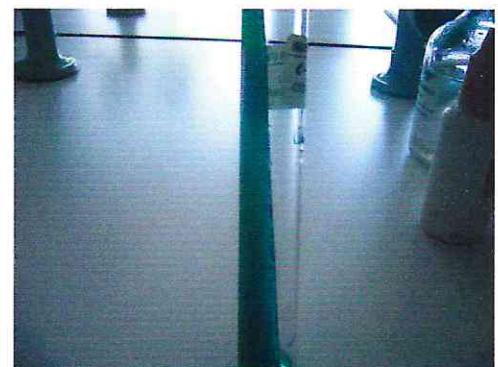
- ❖ Seules les bactéries possédant une Citrate perméase peuvent se développer avec alcalinisation du milieu révéler par le bleu de bromothymol.

Si le citrate est utilisé le milieu vire au bleu.

S'il n'est pas utilisé le milieu reste vert.



Citrate (-)



Citrate (+)

Les salmonelles utilisent les citrates (réaction positive).

g) Recherche de la B-galactosidase :

Technique : nous avons,

- Ajouté au reste de la suspension un disque d'ONPG
- Placé le tube dans une étuve à 37°C pendant 24h.

Lecture :

- ❖ La libération d'Ortho- nitrophenol dans la suspension initiale incolore, entraîne l'apparition d'une coloration jaune, le test est dit positif.
- ❖ Les salmonelles sont ONPG négatifs (Suspension bactérienne reste incolore).

h) Recherche de la lysine décarboxylase

Technique:

- Préparer 4 tubes en remplissant le 1^{er} de LDC, le 2^{ème} d'ODC, le 3^{ème} d'ADH et le 4^{ème} tube est considéré comme témoin.
- Ensemencer tous les tubes avec une suspension dense de la bactérie à étudier, recouvrir d'huile de vaseline et fermer les tubes
- Incuber le tube à 37°C pendant 24h.

Lecture :

- ❖ Si la bactérie possède une décarboxylase, le milieu reste violet, réaction positive
- ❖ Si la bactérie ne possède pas de décarboxylase, le milieu vire au jaune, la réaction dans ce cas est négative



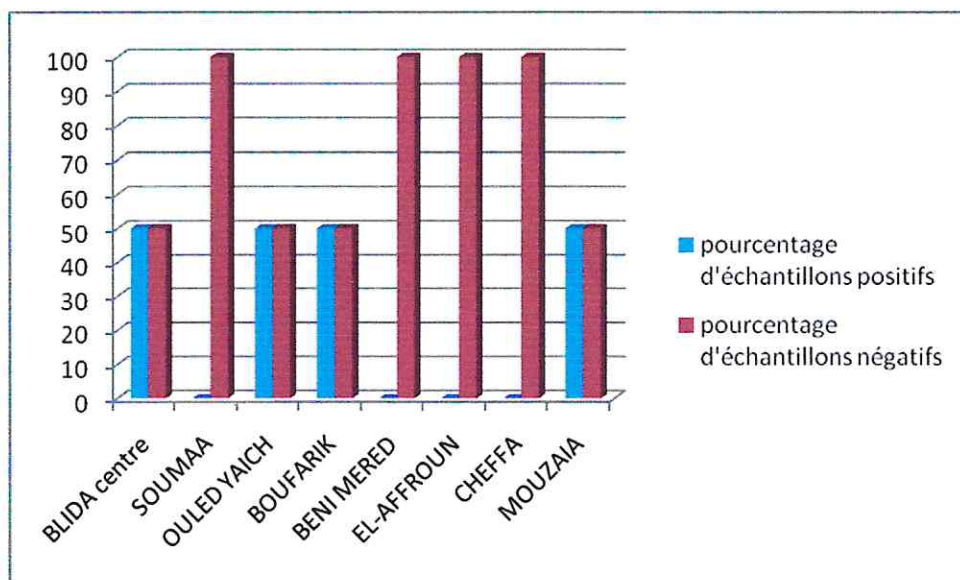
Résultat des analyses microbiologiques :

Les résultats de l'analyse bactériologique des 16 échantillons de peau de cou de volailles prélevés au niveau des différents points de vente de volaille de la Wilaya de BLIDA ont montré après les étapes de pré- enrichissement et d'enrichissement, d'isolement ainsi que d'analyse biochimique, la présence d'une contamination à *Salmonella Spp.*

Tableau N°7 : Résultats d'analyses bactériologiques par régions analysées

| Communes | Nombre d'échantillons positifs | Nombre d'échantillons négatifs | Nombre total des échantillons | % |
|--------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----|
| BLIDA centre | 1 | 1 | 2 | 50 |
| SOUMAA | 0 | 2 | 2 | 0 |
| OULED YAICH | 1 | 1 | 2 | 50 |
| BOUFARIK | 1 | 1 | 2 | 50 |
| BENI MERED | 0 | 2 | 2 | 0 |
| EL-AFFROUN | 0 | 2 | 2 | 0 |
| CHEFFA | 0 | 2 | 2 | 0 |
| MOUZAIA | 1 | 1 | 2 | 50 |

Selon ce tableau, nous constatons la présence de foyer de *Salmonella* au niveau de quatre communes, qui sont BLIDA centre, OULAD YAICH, BOUFARIK et MOUZAIA.

Figure N°10 : Taux de présence de *Salmonella* dans les différentes régions

Ce diagramme illustre les pourcentages d'existence de Salmonella dans les différentes communes de la Willaya de BLIDA

Remarque :

Pour mieux discuter nos résultats nous avons préféré dissocier notre diagramme en plusieurs.

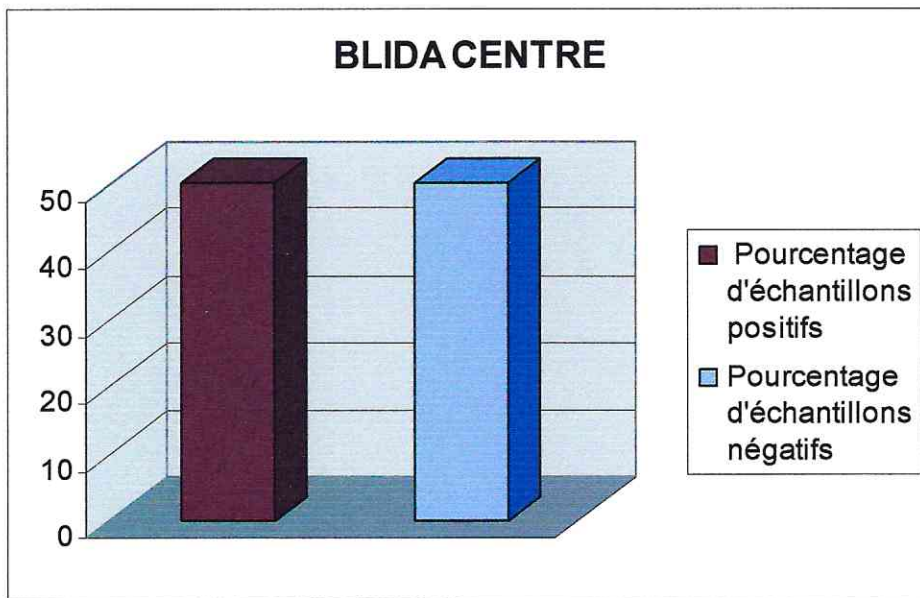


Figure N°11 : Taux de présence de Salmonella au niveau de « BLIDA centre ».

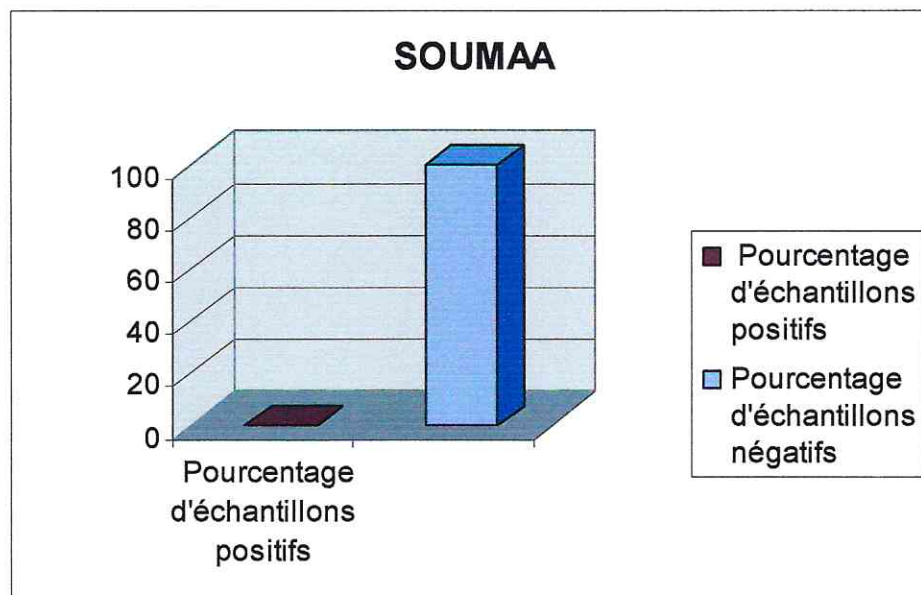


Figure N°12 : Taux de présence de Salmonella au niveau de « SOUMAA ».

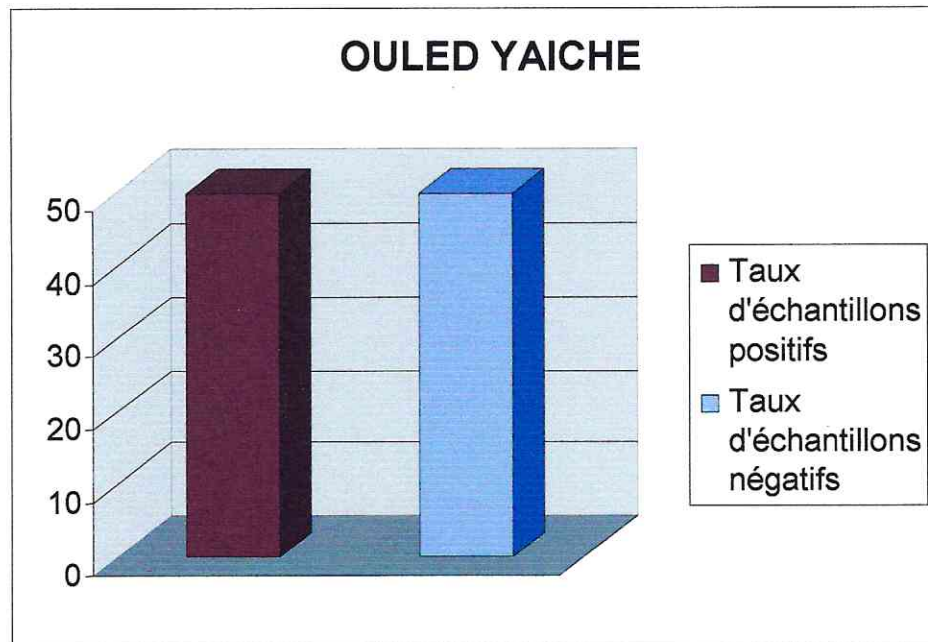


Figure N°13 : Taux de présence de Salmonella au niveau de « OULED YAICH ».

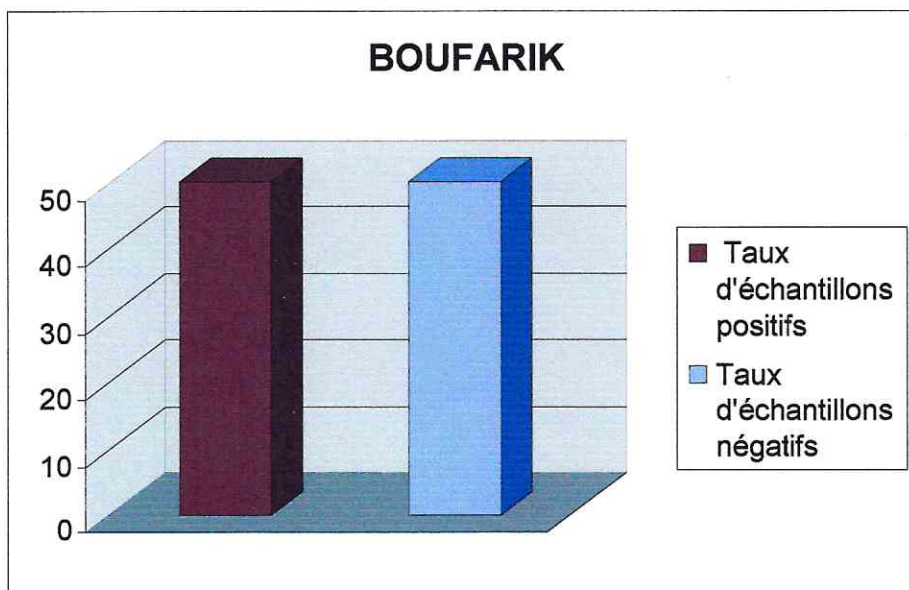


Figure N°14: Taux de présence de Salmonella au niveau de BOUFARIK.

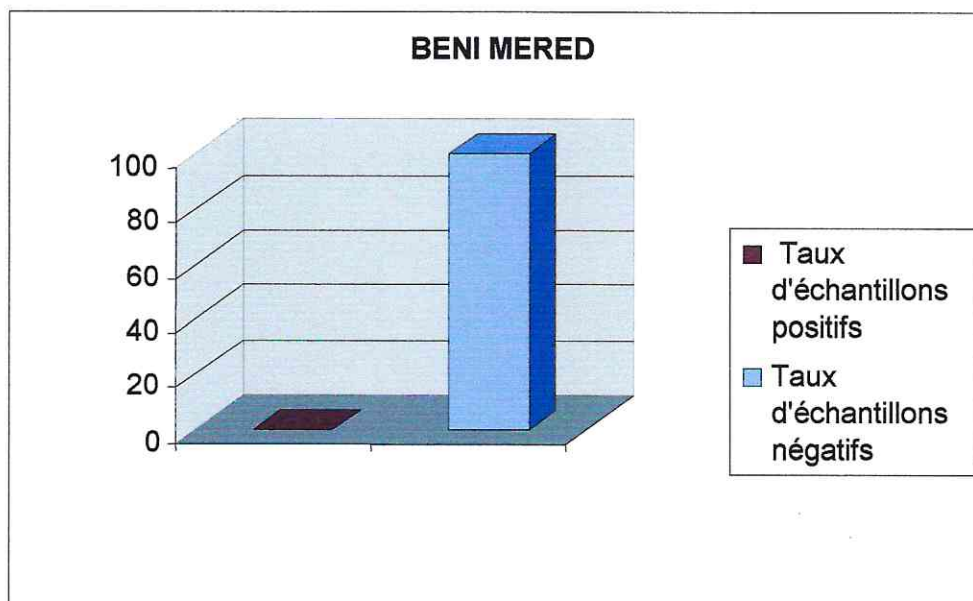


Figure N°15: Taux de présence de Salmonella au niveau de BENI MERED.

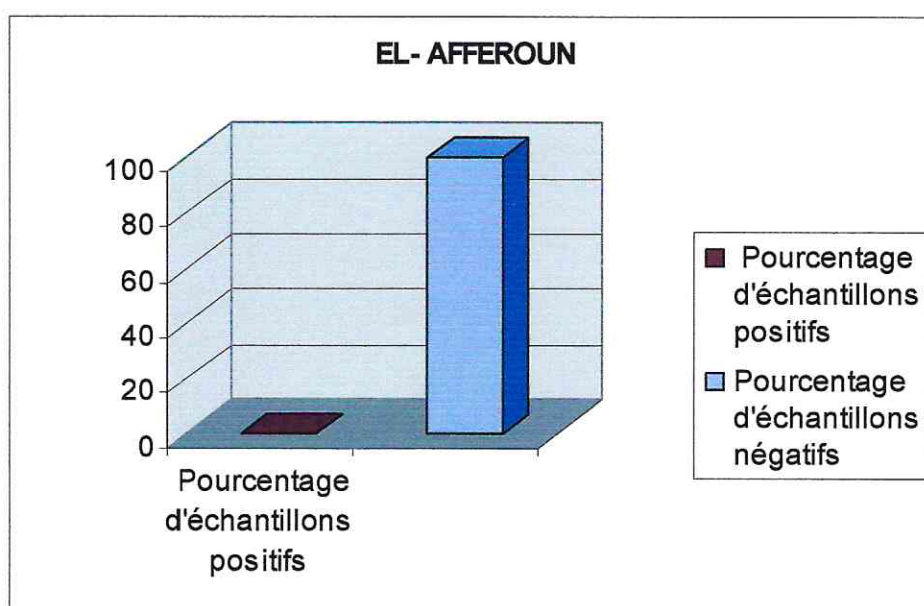


Figure N°16: Taux de présence de Salmonella au niveau de « EL- AFFROUN ».

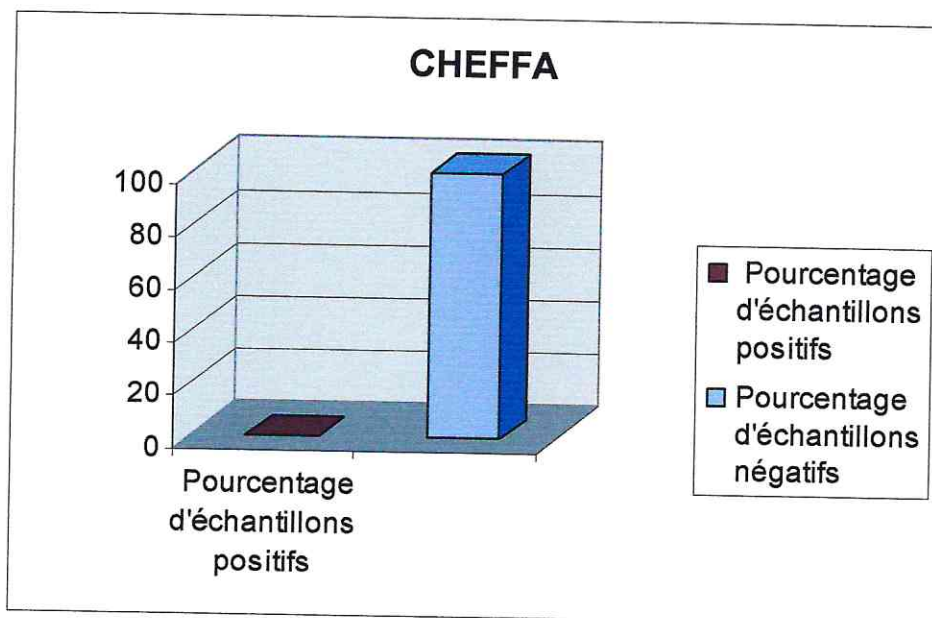


Figure N°17: Taux de présence de Salmonella au niveau de CHEFFA.

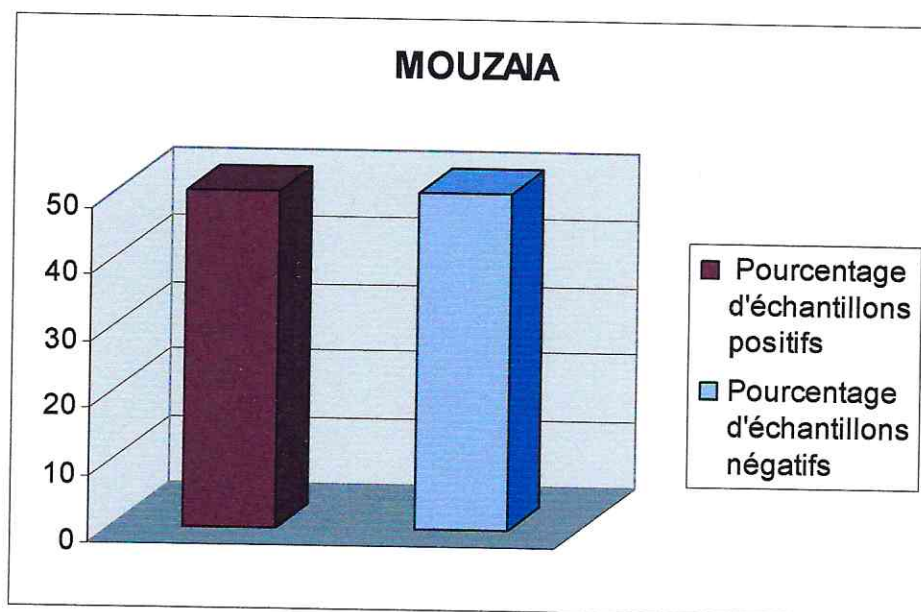


Figure N°18: Taux de présence de Salmonella au niveau de MOUZAIA.

Tableau N° 7 : Répartition des résultats après analyses microbiologiques.

| | Nombre | Taux % |
|---------------------|--------|--------|
| Echantillon négatif | 12 | 75 |
| Echantillon positif | 4 | 25 |
| Total | 16 | 100 |

Les résultats montrent que sur les 16 prélèvements de peau de cou analysés, 4 se sont révélés positifs donc présence de Salmonella Spp. soit un taux de 25% et 12 échantillons révélés négatifs (absence de salmonelle) soit un taux de 75%.

Ces résultats sont présentés dans la figure suivante.

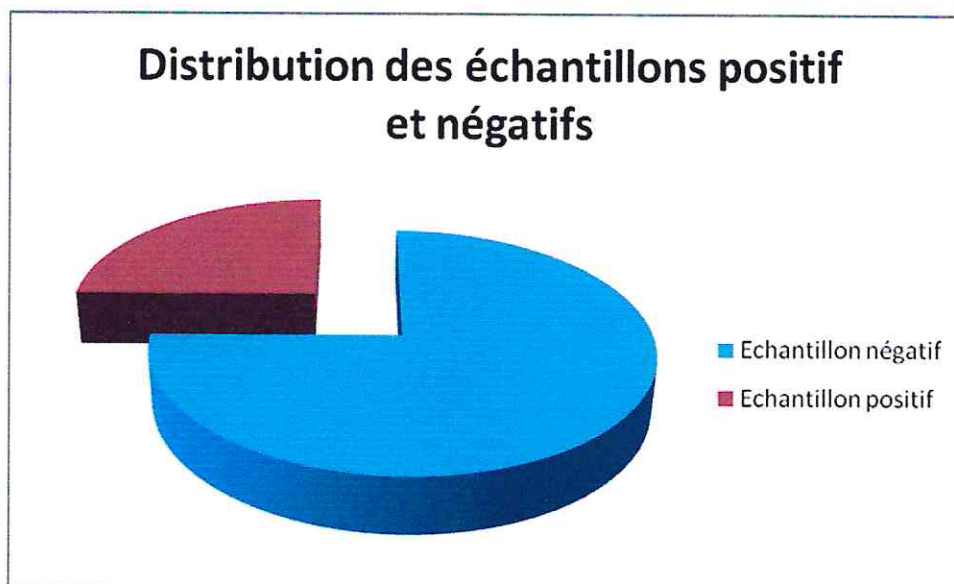


Figure N°19: taux de présence de Salmonella Spp. dans la Wilaya de BLIDA

Discussion

Les résultats obtenus suite à notre étude montre que 25% des échantillons se sont révélés positifs et 75% négatifs.

Et au vue de l'importance que revet la contamination du poulet de chair par *Salmonella spp.* sur le plan de la sécurité public et économique, et que leurs présence soit révélateur d'un non respect des bonnes pratiques d'hygiènes a fait que selon l'Ordonnance sur l'hygiène du 26 juin 1995 ; RS 871.051, *Salmonella spp.* ne doit pas être décelable dans les denrées alimentaires prêtes à la consommation (échantillon de 25g) [11].

Nos résultats avec un taux de contamination de poulet de chair de 25% sont relativement faibles à côté de la Belgique, où des analyses réalisées sur des carcasses et produits de volailles dans un dépôt de supermarché ont montré une contamination par *Salmonella* de 28,5 % [98]. Ou en Afrique du Sud, avec un pourcentage s'élevant à 32,3 % pour des carcasses de poulets provenant du commerce de détail [102].

Une étude sénégalaise a montré une contamination à salmonella de 32%. nombreux auteur ont trouvé des taux élevés de contamination à *Salmonella Spp.* dans divers pays d'Europe : 51.2% en Argentine, 68.2% en Ethiopie, et 72% en Thaïlande, et seulement 25.9% des poulets de chair en Corée ce qui concorde le plus avec nos résultats. Dans les pays développés , le niveau de contamination de poulet de chair varie de 15 à 70% avec une moyenne de 35% : 16% en Ireland , 22% aux USA et 55% en Espagne [13].

Cependant le risque reste toujours le même.

Les résultats positifs ont été retrouvé dans les communes de :

- BLIDA centre,
- OULED YAICH,
- MOZAIA,
- BOUFARIK.

Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait qu'au stade de la vente, les contaminations croisées sont élevées et s'effectuent le plus souvent de façon indirecte par [8] :

Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait qu'au stade de la vente, les contaminations croisées sont élevées et s'effectuent le plus souvent de façon indirecte par [8] :

- Transfert de contamination d'une denrée vers une autre, éventuellement avec d'autres produits tel que : volailles, gibiers, abats, viande de bovins
- L'utilisation de même plan de travail ou de planches à découper, peut également être source d'une contamination croisée, notamment pour la vente ;
- Mauvais conditionnement, tel que observé surtout au niveau de la commune de BOUFARIK où les carcasses étaient exposées au soleil, entraînant un défaut de conservation, par rupture de la chaîne du froid, qui peut provoquer la multiplication de quelques salmonelles initialement, ou encore l'absence de réfrigérateurs ou de matériel de froid.
- l'intermédiaire des mains des opérateurs, que ce soit au niveau du point de vente, du transport, ou de l'abattage qui est un élément qui constitue la principale source de contamination des carcasses [34, 14].

C'est pourquoi, entre la mise en vente des produits et leur achat par un consommateur, la charge bactérienne ne peut que s'accroître par suite des développements bactériens.

Cette évolution est fonction du type de conditionnement employé et de la température [94]. Et que les principes d'hygiène du personnel, des locaux, du matériel, la pratique du nettoyage et de la désinfection, influent pour de possible contaminations [19].

Selon ROSSET 1982, ROSSET et LIGER 1982, FOURNAUD 1982, les bactéries sont introduites dans la chaîne de transformation et de vente des viandes par les animaux eux-mêmes qui les véhiculent au niveau de leur tube digestif et de leur peau [89,90].

Une étude menée en Belgique de 1993 à 1996 dans des abattoirs de poulets de chair révèle un taux de contamination superficielle des carcasses variant de 17,6 % à 27,2 %, tandis que 34,6 % à 49,0 % des produits de découpe sont porteurs de salmonelles [8].

Pour LAVAL le transport des animaux de la ferme au lieu d'abattage offre des conditions favorables aux contaminations croisées entre animaux, et par suite à une relative homogénéisation des contaminations au sein du lot d'animaux [54] ce qui expliquerait la présence de Salmonelles au niveau des points de ventes.

Selon CARTIER (1994), le transport joue un rôle mineur dans le transfert de contamination des animaux les plus contaminés vers les animaux les moins contaminés mais risque de représenter une source majeure de contamination sans le nettoyage et la désinfection réguliers des camions n'est pas pratiquée [15].

Ce qui fait que l'abattoir reste le point critique majeur et le dépôt des germes est difficilement évitable. Du fait des diverses manipulations par les abatteurs

- Et nous ne pouvons, selon les résultats obtenus, déduire que la contamination a pu se faire à différents niveaux :
- Du vivant de l'animal, par un portage asymptomatique
 - A l'abattage ;
 - Chez le boucher ;
 - Contamination croisée.

D'où importance du repérage et d'élimination par l'éleveur des animaux porteurs sains. Indépendamment de l'impact économique d'une telle mesure, lorsque, à l'image de la contamination Salmonellique, la colonisation de l'environnement est importante et le portage par des animaux sauvages très fréquents.

Seule la maîtrise raisonnée à chaque stade de la filière constitue donc le moyen logique pour réduire au maximum la contamination des viandes de volaille

Conclusion :

Les salmonelloses représentent un véritable danger pour la santé animale ainsi que pour la santé publique vu qu'elles sont à l'origine des Toxi-infections alimentaires collectives qui peuvent être parfois mortelles.

La recrudescence et la gravité des cas de toxi-infections alimentaires collectives dues à la consommation de poulet de chair contaminés par *Salmonella Spp.* font de la connaissance des modalités de contamination du poulet de chair un atout majeur dans la lutte contre cet agent.

La salmonellose maladie est éradiquée dans les pays développés, mais la notion du portage asymptomatique reste préoccupante et constitue la cause d'intoxication alimentaire chez l'Homme.

A la lumière de notre étude nous avons constaté l'importante contamination des points de vente de volailles de la Wil aya de BLIDA, par les salmonelles, contrairement à ce qui rapporté par les données officielles, qui notent une absence totale, d'où l'importance des mesures prophylactiques en vue d'éradiquer cette pathologie.

Mon travail s'inscrit dans le cadre d'un sujet de recherche relatif à la caractérisation des salmonelles isolées chez la volailles. Il a été effectué par la méthode classique utilisée couramment dans les laboratoires de contrôle qualité alimentaire.

Néanmoins, il en ressort qu'elle s'avère moins sensible que l'utilisation de nouveaux milieux plus sensible et plus sélectifs à savoir le RVS (Rappaport vassiliadis Soja) recommandé dans la méthode de référence 6579 et le milieu modifié semi solide de Rappaport Vassiliadis (MSRV, Modified Semi-Solid Rappaport Vassiliadis) qui est recommandée par le laboratoire de référence de l'UE pour les salmonelles, situé à Bilthoven, aux Pays-Bas, faisant suite à une modification de la norme ISO 6579 (2002) utilisée au sein du groupe, qui a été plus rapide, et plus sensible. Cependant, l'aspect économique revêt une importance considérable vu le coût que ca engendre.

Recommandation :

- Vu les résultats obtenus au sein du groupe, comparés à la méthode classique, nous tenons à recommander aux laboratoires ayant les moyens d'utiliser cette nouvelle méthode.

DEDICACES :

Je tiens à dédier mon travail à :

Mes parents qui ont été présent tout au long de mon parcours, et qui ont su me soutenir et m'approuver dans mes choix et mes décisions, c'est grâce à vous que je suis là. Merci.

A mes frères, Sihem, Yacine, Salim pour leur amour et leurs soutiens

A ma deuxième famille, avec qui j'ai passé 5 ans de purs bons moments qui resteront à jamais gravé dans ma mémoire. Inoubliable

A anouar, rachid, la suisse, kahina, radja, mahmoud, nazih, aïssa, ali, ...

A KADER mon meilleur ami 5 ans avec toi c'était super

A Imène , ma meilleur amie. Pour son soutiens indéfectible, ces 5ans sans toi n'aurais pas été aussi bien, entre nos fous rire, nos délires, et nos études t'as toujours été là. merci

Merci au corps administratif ;

A Samir, qui m'a toujours été d'une grande aide, sans qui je n'aurais jamais eut le surnom de « Samta », merci pour ta gentillesse et ta disponibilité, je te souhaite à toi et ta petite famille beaucoup de bonheur

A MES ENSEIGNANTS ? MERCI DE NOUS AVOIR TANS APPRIS

POUR FINIR sinon la liste risquerait d'être longue

MERCI à toute la promo vétérinaire 2007-2008

Et on reste toujours en contact.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ABADI .K ; 1988**, contrôle sérologique en aviculture par séro agglutination sur lame rapide (ARL) des salmonelles (pullorose, typhose) et mycoplasme, mémoire docteur vétérinaire page 55 (tlemcen).
2. **Avril J.L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H, 2000**. Bactériologie Clinique 3éme édition, ellipses, p: 189-207.
3. **BAILEY J.S., COX N.A., CRAVEN S.E., COSBY D.E., 2002**. Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations. *J. Food Prot.*, **65**, 742-745.
4. **BARROW P. A., LOVELL M. A., 1991**, experimental infection of egg-laying hens with *salmonella* enteritidis phage type 4. *avian pathology*. 20: 335-348.
5. **BARROW P.A.** (1994). Serological diagnosis of *Salmonella* serotype Enteritidis infections in poultry by ELISA and other tests. *Int. J. Food Microbiol.*, **21**, 55–68.
6. **BÄUMLER A., TSOLIS R., HEFFRON F, 2000**. Virulence Mechanisms of *Salmonella* and their genetic basis. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 57-72.
7. **Berche P, Gaillard J-L, Simonet M ; 1988**. Bactériologie, édition Médecine-sciences Flammarion, p 78-88.
8. **Bornert, G., 2000**, le poulet sans salmonelles : mythe ou réalité ? *Revue Méd. Vét.* 151(12), 1083-1094.
9. **Boucrot, E., Henry T., Borg J.P., Gorvel, J.P. and Méresse, S.(2005)** The intracellular fate of salmonella depends on the recrutement of kinesin. *Science*, 308 : 1174-1178.
10. **Bourgeois CM, Mesle J-F, Zucca J ; 1996**. Microbiologie : aspect microbiologique de la sécurité de la qualité des aliments, Technique et documentation, p62-73.
11. **BRIAND P., 2007**. Avis de l'Agence française de Sécurité sanitaire des Aliments relatif à la demande de création de documents de référence concernant des flores microbiennes

- utilisables en tant qu'indicateur d'hygiène des procédés. Agence française de Sécurité sanitaire des Aliments (Afssa) : Paris, p : 9.
12. **Brugère-Picoux J., Silim A., 1992**, Manuel de pathologies aviaires, 1^{ère} édition, p. 225-234.
 13. **Cardinale E., Perrier Gros-Claude F J.D., Tall M. Cissé E.F. Guèye G. Salvat : 2003** .Prevalence of Salmonella and Campylobacter in Retail Chicken Carcasses in Senegal. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 56 (1-2) : 13-16.
 14. **CARTIER P. 1997**. Le point sur de la qualité microbiologique de la viande bovine. Collection Interbev « le point sur ».
 15. **CARTIER P. 1997**. Le point sur de la qualité microbiologique de la viande bovine. Collection Interbev « le point sur ».
 16. **CHINA B., GOFFAUX F., 1999**. Secretion of virulence by *Escherichia coli*. *Vet. Res.*, **30**, 181-202
 17. **CHINOL C., 1992**. Le laboratoire de bactériologie : prélèvement, démarche, interprétation des résultats Z.I.N.01012 BOURG EN BRESSE CEDEX (France), p : 219-224.
 18. **CLIFTON-HADLEY F.A., BRESLIN M., VENABLES L.M., SPRIGINGS K.A., COOLES S.W., HOUGHTON S., WOODWARD M.J., 2002**. A laboratory study of an inactivated bivalent iron restricted *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Typhimurium dual vaccine against Typhimurium challenge in chickens. *Vet. Microbiol.*, **89**, 167-179.
 19. **CNBCT 1999**. Guide de Bonnes Pratiques Hygiéniques Boucher. Les éditions des journaux officiels. 267 pp.
 20. **CORNELIS G., 2000**. Type III secretion: a bacterial device for close combat with cells of their eukaryotic host. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **355**, 681-693.
 21. **Delarass Camille jan.2007** : microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire, 249-250.

22. **DESCHMIDT M., UYTTEBROCK, HAESBROUK F., 1993.** les infections par *Salmonella* Enteritidis chez les volailles et leurs impacts pour l'homme, PFIZER, p : 7.
23. **DIBB-FULLER M., ALLEN-VERCOE E., THORNS C., WOODWARD M., 1999.** Fimbriae- and flagella-mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *Salmonella* enteritidis. *Microbiology*, **145**, 1023-1031.
24. **Dominguez C., Gomez I. et Zumalacaregui J., 2002.** Int. J. of Food Microbiol., vol 72, p.165-168.
25. **DOUBLET B., BOYD D., MULVAYM., CLOECKAERTA. , 2005.** The *Salmonella* genomic island is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*, in press.
26. **Dumas J ; 1958.** Tribu des salmonella, In : Bactériologie Médicale. Flammarion et Cie, p 399-433.
27. **ELLIS E.M., WILLIAMS J.E., M ALLINSON E.T., S NOEYENBOS G.H. & M ARTIN W.J. (1976).** Culture Methods for Detection of Animal Salmonellosis and Arizonosis. Iowa State University Press, Ames, USA.
28. **FAUCHERE J.L, AVRIL J.L, 2002.** BACTÉRIOLOGIE Générale et médicale, édition Ellipses, p.242-248.
29. **FEBERWEE A., DE VRIES T.S., HARTMAN E.G., DE WIT J.J., ELBERS A.R., DE JONG W.A., 2001.** Vaccination against *Salmonella* enteritidis in Dutch commercial layer flocks with a vaccine based on a live *Salmonella* gallinarum 9R strain : evaluation of efficacy, safety, and performance of serologic *Salmonella* tests. *Avian Dis.*, **45**, 83-91.
30. **Ferron A., 1979,** Bactériologie médicale, à l'usage des étudiants en médecine, 10ème édition, Edition CROUAN et ROQUES, p. 1-2-5
31. **FLAMARIO ; 1981.** Oies et Canards, pages 284.
32. **FLANDRIS JP, 1997 ;** Bactériologie médicale. Collection AZAY. Press universitaire de Lyon, p.181-187.
33. **Fontaine G; 1993.** Vademecum du Vétérinaire, XV é édition, Office des Publication Universitaires (OPU), p 1073-1138.

34. **FOURNAUD J. 1982.** Contamination aux différents stades. In « Hygiène et technologie de la viande fraîche ». Edition du CNRS
35. **FRICKER C.R., 1987.** The isolation of salmonellas and campylobacters. *J. Appl. Bacteriol.*, **63**, 99–116.
36. **FRISCHE B et Gerriets E.,1995.** Maladie des volailles, la pullorose édition vigot frère page 225 et 241.
37. **GARBER L., SMELTZER M., FEDORKA-CRAY P., LADELY S., FERRIS K. , 2003.** *Salmonella* enterica serotype enteritidis in table egg layer house environments and in mice in U.S. layer houses and associated risk factors. *Avian Dis.*, **47**, 134-142.
38. **GLEDEL J. et CORBION B., 1991.** Le germe Salmonella in Bourgois et Leveau J.Y., Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire, Le contrôle microbiologique, Lavoisier tech doc Paris, p : 261.
39. **GORDON, TARD, AUTHEVILLE d., 1977.** Pathologie des volailles, édition Maloine S.A. éditeurs, p :19-36.
40. **GRADEL K.O., RATTENBORG E. A , 2003.** Questionnaire-based retrospective field study of persistence of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in Danish broiler houses. *Prev. Vet. Med.*, **56**, 267-284
41. **GRIMONT P.A.D., GRIMONT F. et BOUVET P.J.M., 1994:** Salmonella In: J. Freney et al.: Manuel de bactériologie clinique Vol. 2. coll. Option Bio, Paris, 1017-1037.
42. **HALD B., OLSEN A., MADSEN M., 1998.** Typhaea stercorea (Coleoptera: Mycetophagidae), a carrier of *Salmonella* enterica serovar Infantis in a Danish broiler house. *J. Econ. Entomol.*, **91**, 660-664.
43. **HARVEY R.W.S. & P RICE T.H., 1974.** Isolation of Salmonellas. Public ealth Laboratory Service. Monograph Series 8. Her Majesty's Stationery Office, London, UK
44. **HOLT P.S., GAST R.K., KELLY-AEHLE S., 2003.** Use of a live attenuated *Salmonella* typhimurium vaccine to protect hens against *Salmonella* Enteritidis infection while undergoing molt. *Avian Dis.*, **47**, 656-661.
45. **Hu, L., Kopecko, D., 2003,** typhoid salmonella., Bier J., International Handbook of Foodborne pathogens. Edition. Milotis N, New York, 151-165 pp.

46. **HUECK C., 1998.** Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbial. Mol. Biol. Rev.*, **62**, 379-433.
47. **Humbert F, 2005,** bactériologie alimentaire, 2ème édition, P.11, 5-6.
48. **Humbert F, Sutra L, Federighi M, Jouve J-L; 1998.** Les salmonelles, in : Manuel de bactériologie alimentaire, p27-52.
49. **HUTCHISON M.L., WALTERS L.D., MEAD G.C., HOWELL M., ALLEN V.M., 2006.** An assessment of sampling methods and microbiological hygiene indicators for process verification in poultry slaughterhouses. *J. Food Prot.*, **69**, 145-153.
50. **JOLY B., RAYNAUD A., 2003:** Entérobactérie, Systématique et méthode de diagnostic, Edition Tec et Doc , p :119, 4_9.
51. **JONES M., WIGLEY P., PAGE K., HULME S., BARROW P.** The role of Type-III secretion in the virulence of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum and *Salmonella enterica* serovar Pullorum. In: Colin P., Clement G. (Eds.), Proceedings of International *Salmonella* and Salmonellosis, 29-31 may 2002, Ploufragan, France. Zoopole développement: Ploufragan, 2002. Ispaia : Ploufragan, 2002, 145-149.
52. **Korsak, N., Clinquart, A., Daube, G., 2004,** Salmonella spp dans les denrées alimentaires d'origine animale: un réel problème de santé publique? *Ann.Med.Vet.* **148**, 174-193.
53. **KOTULA K.L., DAVIS M.E., 1999.** Broiler skin sampling for optimum recovery of *Salmonella* spp. *J. Food Prot.*, **62**, 284-286.
54. **LAVAL. A. FOURNAUD F. CARTIER P. 1997.** Salmonellose et filière viande bovine. Séminaire Salmonelles et Ruminants. Paris.
55. **LAVAL.A** Aviculture française: maladies à tropisme génital majeur, 1988, p52.
56. **LAWHON S.D., MAURER R., SUYEMOTO M., ALTIER C., 2002.** Intestinal short-chain fatty acids alter *Salmonella typhimurium* invasion gene expression and virulence through BarA/SirA. *Mol. Microbiol.*, **46**, 1451-1464.
57. **Le Minor L et Veron M ; 1990.** Bactériologie médicale, 2ème édition Médecine-science Flammarion, p412-420.
58. **LE MINOR L ; Salmonella,** dans LE MINOR L. VERON M. : Bactériologie médicale 2ème édition, Flammarion Médecine sciences, 1989, p : 258-274.

59. **LECLERCH H., GAILLARD J.M et SIMONET M. 1995.** Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, édition : p : 73, 74, 118, 466, 469, 477, 478.
60. **LECOANET J.1992 :** salmonellose aviaire, Ecole nationale vétérinaire de Nantes, B.P.527, 44026 Nantes Cedex (France), P : 225-235.
61. **LEE J.A., 1974.** Recent trends in human salmonellosis in England and Wales: the epidemiology of prevalent serotypes other than *Salmonella typhimurium*. *J. Hyg.*, **72**,185-95.
62. **LESBOUYRIES G., 1965.** Salmonelloses, édition vigot frères, p : 164-199.
63. **Leyral G et Vierling E ; 1997.** Microbiologie et toxicologie des aliments hygiènes et sécurité alimentaires. Dion édition, p100-120.
64. **MagVet revue N° 54; Avril 2006,** les maladies émergentes « Salmonelloses », p. 33-37
65. **MALLINSON E.T. & S NOEYENBOS G.H., 1989.** Salmonellosis. *In:* Isolation and Identification of Avian Pathogens, Third Edition, Purchase H.G. *et al.*, eds. American Association of Avian Pathologists. Kendall Hunt Publishing, Iowa, USA, 3–11
66. **Manuel terrestre de l'OIE 2005** 1177-1184.
67. **MARTHEEDAL .H.C.1968,** salmonellose de volailles (pullorose et typhose), encyclopédie vétérinaire, diagnostic et traitement, volume 14, page 2720-2774.
68. **MELDRUM R.J., SMITH R.M., WILSON I.G., 2006.** Three-year surveillance program examining the prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* in whole retail raw chicken. *J. Food Prot.*, **69**, 928-931.
69. **MELDRUM R.J., TUCKER I.D., SMITH R.M., EDWARDS C., 2005.** Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003. *J. Food Prot.*, **68**, 1447-1449.
70. **MOLLEREAU .H, PROCHER C,H, NICOLAS.E et BRION.a ; 1988 :** salmonella des contaminations off broiler carcasses with lactic acide, poultry science, volume 66, page 1555-1557.
71. **MULTON J.L., février 1996.** Microbiologie alimentaire, Tome I, Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, p : 61-77.

72. **NASSAR T.J., AL-NAKHLI H.M., AL-OGAILY Z.H., 1994.** Use of live and inactivated *Salmonella* Enteritidis phage type4 vaccines to immunise laying hens against experimental infection. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, **13**, 855-867.
73. **NAUCIEL C., VILDE J.L., 2005.** Bactériologie médicale: connaissances et pratique 2ème édition, M. Masson Paris, p : 127-131.
74. **Nauciel, C., 2001,** Bactériologie médicale, Edition MASSON, p. 133-137.
75. **NICHOLAS R.A.J., CULLEN G.A., 1991,** Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella* Enteritidis in chickens flocks, *Veterinary record*, 128: 74-76.
76. **Olds R.J ; 1979.**Atlas en couleur de microbiologie, Maloine s.a. éditeur 133- 137.
77. **OLIVEIRA S.D., R ODENBUSCH M.C. C E, R OCHA S.L.S. & C ANAL C.W., 2003.** Evaluation of selective and non selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. *Lett. Appl. Microbiol.*, 36, 217–221.
78. **OLSEN AR, HAMMACK TS., 2000.** Isolation of *Salmonella* spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. *J. Food Protect.*, **63**, 958-960.
79. **Organisation mondiale de la santé, Genève 1988 : lutte contre les salmonelloses : le rôle de l'hygiène appliquée aux animaux et aux produits, P 15-16.**
80. **pilet C, Bourdon J-L, Toma B, Marchal N, Balbastre C, Person J-M ; 1987.** Bactériologie médicale et vétérinaire, systématique bactérienne, édition Doin, p 91-103.
81. **Pilet C. : abrégé de bactériologie médicale et vétérinaire.**
82. **Plummer RSA, Blisset S.J, Dodd C.E.R; 1995.** Salmonella contamination par Retail Chiken Products Sold in the UK.*J.Food Producte.* 58, p 843-846.
83. **POPOFF M.Y., 2001.** Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovars. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Pasteur Institute, Paris, France).
84. **POPOFF M.Y., BOCKEMUHL J. & MCWHORTER-MURLIN A., 1994.** Supplement 1993 (No. 37) to the Kauffmann–White scheme. World Health

- Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Unite des Enterobacteries, U389 INSERM, Institute Pasteur, Paris. *Res. Microbiol.*, 145, 711–716.
85. **POPPE C.** *Salmonella* infections in the domestic fowl. In: **Wray, C. and Wray, A. (eds.)**, 2000. *Salmonella* in domestic animals. CAB International: Oxon, 107-132.
86. **RABSCH W., HARGIS B.M., TSOLIS R.M., KINGSLEY R.A., HINZ K.H., TSCHAPE H., BAUMLER A.J., 2000.** Competitive exclusion of *Salmonella* enteritidis by *Salmonella gallinarum* in poultry. *Emerg. Infect. Dis.*, 6, 443-8.
87. **Rajashekra, G., Haverly, E., Halvorson, D., Ferris, K., Lauer, D., Nagaraja, K., 2000,** Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT 104 in poultry. *J.Food prot* 63 (2), 155-161.
88. **REISSBRODT R., 1995.** Conventional and alternative methods for isolation and identification of *Salmonella* – an overview. *Biotest Bull.*, 5, 143–156.
89. **ROSSET R., 1982.** Etat des animaux avant abattage. In « Hygiène et technologie de la viande fraîche ». Edition du CNRS.
90. **ROSSET R. et LIGER R., 1982.** Nature des porteurs de germes. In « Hygiène et technologie de la viande fraîche ». Edition du CNRS.
91. **Salm-Surv, G., 2005.** Un réseau de l'OMS pour la surveillance des maladies d'origine alimentaire,. In note d'information INFOSAN N°6 / - Programme Global Salm-Surv de l'OMS.
92. **Singleton P.,** Bactériologie, édition DUNOD, p.246-360.
93. **SKOV M.N., SPENCER A.G., HALD B., PETERSEN L., NAUERBY B., CARSTENSEN B., MADSEN M., 2004.** The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. Between broiler flocks. *Avian Dis.*, 48, 9-18.
94. **Sutra L, Federighil M, Jouve J-L ; 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire, Polytechnica, p32-39.
95. **Tauxe R.V ; 1991.** *Salmonella* à post modem pathogène. *J.Food Project* ; 54, p 563-568

96. **THORNS J., WOODWARD M., 2000.** Fimbriae of *Salmonella*. In : Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 35-55.
97. **UYTTENDAELE M., DE TROY P., DEBEVERE J., 1999.** Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *J. Food Prot.*, **62**, 735-740.
98. **Uyttendale M., De Troy P. et Debevere J.M., 1999.** *J. Food Prot.*, Vol 62, n° 7, p.735-740.
99. **Uyttendale M.R., Debevere J.M., Lips R.M. et Neyts K.D., 1998.** *Int. J. of Food Microbiol.*, vol. 40, p.1-8.
100. **VAN GOIDSENHOVEN Ch., SCHOENAERS F., 2001.** *Maladies infectieuses des animaux domestiques*, Paris, p: 370-388.
101. **VAN IMMERSEEL F., FIEVEZ V., DE BUCK J., PASMANS F., MARTEL A., HAESBROUCK F., DUCATELLE R., 2004.** Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. *Poult. Sci.*, **83**, 69-74.
102. **VAN NIEROP W., DUSE A.G., MARAIS E., AITHMA N., THOTHOBOLO N., KASSEL M., STEWART R., POTGIETER A., FERNANDES B., GALPIN J.S. , BLOOMFIELD S.F. , 2005.** Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. *Int. J. Food Microbiol.*, **99**, 1-6.
103. **VARNAM A., EVANS M., 1996.** Chapter 4 – *Salmonella*. In: Varnam A., Evans, M. (Eds.) *Foodborne pathogens – an illustrated text* 2nd ed. Manson Publishing : London, 51-86.
104. **Villate D; 2001.** Manuel pratique, Maladie des volailles, 2ème édition France agricole, p 244-259.
105. **VOOGT N., RAES M., WANNET W.J.B., HENKEN N.M. & VAN DE GIESSEN A.W., 2001.** Comparison of selective enrichment media for the detection of *Salmonella* in poultry faeces. *Lett. Appl. Microbiol.*, **32**, 89.
106. **WAYNE DU, 2003.** Fil de programme de garantie de la qualité de 66 PARC /MAAO.

107. **WOODWARD M.J., GETTINBY G., BRESLIN M.F., CORKISH J.D., HOUGHTON S., 2002.** The efficacy of Salenvac, a *Salmonella enterica* subsp. Enterica serotype Enteritidis iron-restricted bacterin vaccine, in laying chickens. *Avian Pathol.*, **31**, 383-392.
108. **WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 1994.** Guidelines on Detection and Monitoring of *Salmonella* Infected Poultry Flocks with Particular Reference to *Salmonella enteritidis*, Wray C. & Davies R.H., eds. WHO, Geneva, Switzerland
109. **WRAY C. & WRAY A., EDS., 2000.** *Salmonella* in Domestic Animals. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
110. **Zhao Cuiwei, Beilei Ge, Juan de Villena, Robert Sudler et al., 2001.** App. and Env. Microbiol., vol. 67, n° 12, p. 5431-5436.

LISTES DES ANNEXES :

**ANNEXE
FICHE D'ANALYSE**

Plan de surveillance Salmonella dans les volailles

Référence du prélèvement.....
Prélèvement effectué.....
Date du prélèvement.....
Etablissement : nom.....Adresse.....
Remarques : (niveau d'hygiène).....