

**UNIVERSITE DE BLIDA 1  
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**

## **MEMOIRE DE MAGISTER**

En Sciences Vétérinaires

Spécialité : microbiologie médicale des maladies zoonotiques.

### **RECHERCHE DES SALMONELLES MULTI- RESISTANTES DANS LES MATIERES FECALES ET LE LAIT D'ORIGINE BOVINE.**

Par

**Amine MSELA**

Devant le jury composé de :

A. BERBER	Professeur,	U. de Blida	Président.
A. BOUYOUCHEF	Professeur,	U. de Blida	Examineur.
A.HAKEM	Maître de Conférences (A)	U. de Djelfa	Examineur.
M. BACHIR PACHA	Professeur,	U. de Blida	Promoteur.

Blida, décembre 2014.

## RESUME

Dans la présente enquête nous avons étudié l'importance du réservoir de *Salmonella* spp. chez les bovins en Algérie à travers l'étude du portage asymptomatique dans les matières fécales (commune de Ouaguenoun wilaya de Tizi-Ouzou) et l'étude de son éventuelle excrétion dans le lait mammitieux.

230 prélèvements de matières fécales issus de 33 élevages et 150 prélèvements de lait mammitieux ont été analysés au niveau du laboratoire régional de Draa-Ben-Khedda durant une période allant de Mai 2013 à Janvier 2014. La méthode ISO 6579 [153 ; 154 ; 155] a été utilisée pour l'analyse des prélèvements de matières fécales et les résultats obtenus sont les suivants :

Six isollements de *Salmonella* spp. ont été effectués sur les prélèvements de matières fécales analysés, soit une prévalence de 2.60%. Les sérovars qui ont été isolés lors de notre étude sont :

*Salmonella* Muenchen (n=2) dans deux élevages différents, *Salmonella* Bovismorbificans (n=3) dans le même élevage et *Salmonella* Kedougou (n=1).

Une résistance aux tétracyclines pour *Salmonella* Kedougou et aux fluméquinés pour les deux souches de *Salmonella* Muenchen ont été mises en évidence.

L'enquête épidémiologique réalisée sur les élevages visités a révélé un plus grand nombre d'isolement de *Salmonella* spp. chez les vaches au tarissement et celles élevées dans de mauvaises conditions de raclage.

Concernant la recherche de *Salmonella* spp dans le lait mammitieux aucun isolement n'a été effectué sur les 150 prélèvements réalisés.

**Mots-clés** : *Salmonella* spp, portage asymptomatique, matières fécales, lait mammitieux, enquête épidémiologique, antibiorésistance.

## ملخص

في هذه الدراسة حاولنا الكشف عن أهمية خزان السالمونيلا عند الأبقار في الجزائر من خلال دراسة الحمل غير العرضي (**asymptomatique**) للسالمونيلا الموجودة في الفضلات (البرازات)، (بلدية واقنون، ولاية تيزي وزو) كما تأخذ، هذه الدراسة، بعين الاعتبار توقع إفرازها في الحليب في حالة التهاب الضرع.

من أجل القيام بهذه الدراسة، عالجنا 230 عينة من الفضلات المأخوذة من 33 حظيرة، و150 عينة من الحليب الناتج عن التهاب الضرع، والتي أجريت لها التحاليل على مستوى المخبر الجهوي لذراع بن خدة، خلال الفترة الممتدة بين : شهر ماي 2013 إلى غاية شهر جانفي 2014. الطريقة ISO 6579 استعملت لإجراء تحاليل لعينات الفضلات، والنتائج المتحصل عليها هي كالآتي:

سنة عينات معزولة من السالمونيلا، والتي توافق نسبة 2.60%، تشير إلى أن أنواع المصل التي تم عزلها أثناء دراستنا هي:

سالمونيلا مونشن (**Salmonella Muenchen**): عددها (02)، ومأخوذة من حظيرتين مختلفتين. سالمونيلا بوفيسمورييفيكان (**Salmonella Bovismorbificans**): عددها (03)، ومأخوذة من نفس الحظيرة. سالمونيلا كيدوغو (**Salmonella Kedougou**): عددها (01).

بالنسبة لسالمونيلا كيدوغو، نسجل مقاومة للنتيتراسيكلين (**Tétracyclines**)، وكذلك للفلوميكين (**Fluméquinés**). يمكن تسجيل الملاحظة نفسها مع أصلي سالمونيلا مونشن.

التحقيق الوبائي (**épidémiologique**) المجرى على الحظائر المزارة، كشف أن أكبر عدد من السالمونيلا تم عزله عند الأبقار في حالة النضوب (**tarissement**)، وفي حالة عيشها في حظائر سيئة التنظيف.

فيما يخص البحث عن السالمونيلا في الحليب الناتج عن التهاب الضرع، لم يتم أي عزل للسالمونيلا في الـ (150) عينة المحللة.

**كلمات مفاتيح:** سالمونيلا / حمل غير عرضي / الفضلات (البرازات) / التحقيق الوبائي / الحليب الناتج عن التهاب الضرع / مقاومة المضادات الحيوية.

## ABSTRACT

The food toxi-infection caused by *Salmonella* is a serious public health in Algeria and throughout the world. The animal origin is a proven fact, so many studies around the world were focused to study the importance of this reservoir. In this study we tried to get a picture of the importance of this reservoir through the study of asymptomatic carriers of *Salmonella* spp in feces in the municipality of Ouaguenoun, Tizi-Ouzou Province and the study of its possible excretion in a clinical mastitis.

For this, 230 fecal samples from 33 farms for which a survey form has been filled, 150 clinical mastitis samples were analyzed at the Regional Laboratory of Draa-Ben-Khedda during a period from May 2013 to January 2014. 6579/A1 ISO method was used to analyze samples of fecal matter and we had the following results:

Six isolates of *Salmonella* spp among 230 samples of feces analyzed, so that we have a prevalence of 2.60%. The serotypes that have been isolated in our study are:

*Salmonella* Muenchen (n = 2) in two different farms, *Salmonella* Bovismorbificans (n = 3) in the same breeding and *Salmonella* Kedougou (n=1).

Resistance to tetracyclines for *Salmonella* Kedougou and to fluméquines for both strains of *Salmonella* Muenchen were highlighted.

Cows at drying and poor scraping were associated with a greater number of isolated salmonella spp.

No isolation of *Salmonella* was performed in 150 samples of clinical mastitis.

**Keywords:** *Salmonella*, dairy cow, asymptomatic carriage, salmonellosis, bacterial culture, clinical mastitis, resistance to antibiotics, Ouaguenoun.

## REMERCIEMENTS

Je ne saurais remercier assez le **Pr BACHIR-PACHA**, mon promoteur, pour m'avoir, proposé ce sujet et dirigé mon travail, pour les conseils qu'il m'a prodigués et enfin pour ses encouragements.

Il m'a octroyé un privilège et un grand honneur en me confiant ce travail.

A Madame **Dr. KECHIH**, ma Co-promotrice pour m'avoir si bien encadrée au cours de notre étude.

**Au Pr A.BERBER,**

Qui m'a fait un honneur d'accepté la présidence du jury de ce mémoire.

Hommages respectueux

**Au Pr A.BOUYOUCEF,**

Pour avoir accepté de participer à mon jury de mémoire. Sincères remerciements.

**A Mr A.HAKEM**, Maître de Conférences à l'Université de Djelfa

Pour avoir accepté de participer à mon jury de mémoire. Sincères remerciements.

Je remercie particulièrement le **Dr : AITBELKACEM et Mr Khaled Hamza** pour leurs conseils et leurs encouragements.

Je remercie **Dr : GHENIM**, directeur du Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa Ben Khedda wilaya de Tizi-Ouzou ; pour son accueil et sa disponibilité tout au long de mon travail.

Un grand merci au personnel du Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa Ben Khedda, wilaya deTizi-ouzou.

Je remercie le **Dr BOUDAUD** et tous les vétérinaires qui ont participé à notre enquête; pour leurs précieuses aides à la réalisation des prélèvements nécessaires à la conduite de notre étude.

Et pour être sûr de n'oublier personne, que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué, par leurs conseils, leurs encouragements ou leur amitié, à l'aboutissement de ce modeste travail, trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

## **DEDICACES**

### **-A la mémoire de ma chère Grand-Mère et ma tante défunte**

Parties beaucoup trop tôt merci pour vos conseils, votre gentillesse, tout ce que vous m'avez offert et que les mots ne peuvent exprimer.

### **-A mes parents-**

Pour m'avoir soutenu et encouragé toutes ces longues années afin de me permettre de réaliser un rêve d'enfance,  
Pour avoir cru en moi et m'avoir appris à avoir confiance en moi  
Pour avoir supporté les moments difficiles, et ma mauvaise humeur de certains jours...  
Et pour partager maintenant ce moment de bonheur,  
Un seul merci même infini ne suffit pas, je vous dédie cette thèse,  
Avec tout mon amour.

### **-A mon frère Mounir à mes sœurs Kenza, Amina, Lydia et son mari**

Merci de m'avoir soutenu dans les moments difficiles.

### **-Amon grand-père**

En remerciement à tes encouragements et ta présence rassurante.

### **-A mes tantes, oncles, cousins et cousines-**

Pour leurs encouragements et leur soutien dans les moments difficiles.

### **-A mes amis-**

**Hamid, Ghiles, Nabil, Madjid, Saleh, Moh, Samir, Zinou, Smail, Hakim,  
Mourad,**

Merci d'avoir toujours été là pour moi.

**A tous ceux qui je n'ai pas cités leur nom et qui sont chers à mon cœur.**

## TABLES DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

14

### CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES SALMONELLES

1.1	Historique.	16
1.2.	Taxonomie et nomenclature	17
1.3.	Habitat	20
1.4.	Spécificité à l'hôte	21
1.5.	Caractères bactériologiques	22
1.5.1.	Caractères généraux	22
1.5.2.	Structure des salmonelles	22
1.6.	Caractères culturels	23
1.6.1.	Résistance et sensibilité aux agents physiques et chimiques	24
1.6.1.1.	Agents physiques	24
1.6.1.2.	Agents chimiques	25
1.7.	Caractéristiques biochimiques	26
1.7.1.	Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier la famille	26
1.7.2	Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier le genre	26
1.7.3	Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier l'espèce	26
1.8.	Propriétés antigéniques	27
1.8.1.	Antigènes de la paroi O	27
1.8.2	Antigène flagellaire H	28
1.8.3.	Antigènes d'enveloppe Vi	28
1.8.4	Antigènes R et M	29
1.9.	Marqueurs épidémiologiques	29
1.9.1.	Biotype	29
1.9.2	Sérotype	29
1.9.3	Lysotypie	30
1.10.	Facteurs de virulences	30
1.10.1	Facteurs d'attachement aux cellules	30
1.10.2.	Invasion et colonisation de l'organisme	31
1.10.3.	Survie intracellulaire	31
1.10.4.	Lipopolysaccharides (LPS)	32
1.10.5.	Flagelles	32

1.10.6.	Plasmides	32
1.10.7.	Pouvoir toxique	32
1.10.8.	Systèmes de captation du fer	33
1.10.9.	Îlots de pathogénicité	33
1.11.	Résistances aux antibiotiques	33
1.11.1.	Antibiotiques	33
1.11.2.	Résistances aux antibiotiques	34
1.11.2.1.	Resistances de <i>salmonella</i> aux antibiotiques	34
1.11.2.2.	Résistances de <i>Salmonella</i> isolées chez l'Homme	34
1.11.2.3.	Résistances de <i>Salmonella</i> isolées chez les animaux	35

## CHAPITRE 2 : LA SALMONELLOSE

2.1.	Notions générales	37
2.1.1.	Définition	37
2.2.	Salmonelloses bovines	37
2.2.1.	Manifestations cliniques	37
2.2.1.1.	Principales formes cliniques	37
2.2.1.1.1.	Forme digestive	38
2.2.1.1.1.1.	Chez le jeune	38
2.2.1.1.1.2.	Chez l'adulte	38
2.2.1.1.2.	Forme génitale	39
2.2.1.1.3.	Forme septicémique	39
2.2.1.1.4.	Forme respiratoire	39
2.2.1.1.5.	Autres formes de salmonelloses	40
2.2.1.1.5.1.	Forme chroniques	40
2.2.2.	Diagnostic	40
2.2.2.1.	Diagnostic clinique	40
2.2.2.2.	Diagnostic lésionnels	41
2.2.2.2.1.	Forme gastrique	42
2.2.2.2.2.	Forme septicémique	42
2.2.2.2.3.	Forme génitale	42
2.2.2.2.4.	Forme pulmonaire	43
2.2.2.2.5.	Forme chronique	43
2.2.2.3.	Diagnostic de laboratoire	43
2.2.3.	Epidémiologique	43
2.2.4.	Traitement	43
2.3.	Epidémiologie des salmonelloses bovines	44
2.3.1.	Source de l'infection	44
2.3.1.1.	Classification épidémiologique	44
2.3.1.1.1.	Porteurs passifs	44
2.3.1.1.2.	Porteurs latents	44
2.3.1.1.3.	Porteurs actifs	45
2.3.2.	Animaux domestiques	45
2.3.3.	Faune sauvage	46
2.3.4.	Homme	46
2.4.	Modalité de transmission	46
2.4.1.	Transmission entre troupeaux	46
2.4.2.	Transmission à l'intérieur du troupeau	47

2.4.2.1.	Directe	47
2.4.2.2.	Transmission indirecte	48
2.6.	Excrétion des salmonelles	48
2.6.1.	Excrétion fécale	48
2.6.2.	Excrétion génitale	48
2.6.3.	Excrétion dans le lait	49
2.8.	Prophylaxie	49
2.8.1.	Sanitaire	49
2.8.2.	Médicale	50

### **CHAPITRE 3 : METHODES DE DETECTION ET DE CARACTERISATION DES SALMONELLES**

3.1.	Prélèvements	52
3.1.1.	Nature du prélèvement	52
3.1.2.	Précautions de réalisation et d'acheminement	52
3.2.	Diagnostique bactériologique	53
3.2.1.	Culture directe	54
3.2.2.	Pré-enrichissement non-sélectif	54
3.2.3.	Enrichissement sélectif	55
3.2.3.1.	Milieux d'enrichissement	55
3.2.4.	Température d'incubation	56
3.2.5.	Temps d'incubation	57
3.2.6.	Enrichissement secondaire retardé	57
3.2.7.	Culture sur une gélose sélective	57
3.2.8.	Identification des colonies suspectes	58
3.2.9.	Identification Biochimique	58
3.2.10.	Classification par sérotype	58
3.2.11.	Méthodes microbiologiques de référence	58
3.2.11.1.	Méthodes alternatives	59
3.2.11.1.1.	Utilisation de milieux semi-solide	59
3.2.11.1.2.	Systèmes automatisés et semi-automatisés	59
3.2.11.1.3	HGMF	59
3.2.11.1.3.	MUCAP	60
3.2.11.1.5.	Détection électrique	60
3.2.11.1.6.	Techniques immunologiques	60
3.2.11.1.6.	Immuno-capture	61
3.2.12.	Méthodes génotypiques	61
3.2.12.1.	Technique PCR d'amplification génomique	61
3.3.	Sensibilité et spécificité de la culture bactériologique des fèces	62
3.4.	Antibiogramme	62

### **CHAPITRE 4 : PARTIE EXPERIMENTALE**

4.1.	Problématique et objectifs	63
------	----------------------------	----

4.2.	Cadre de l'étude	64
4.3.	Matériel et Méthodes	64
4.3.1.	Premier étape : Sur le terrain	65
4.3.1.1.	Echantillonnage	65
4.3.1.1.1.	Prélèvements de matières fécales	65
4.3.1.1.2.	Prélèvements de lait mammitéux	65
4.3.1.2.	Fiche d'enquête	65
4.3.1.3.	Prélèvements	66
4.3.2.	Deuxième étape : Au laboratoire	68
4.3.2.1.	Protocole	68
4.3.2.2.	Méthode bactériologique ISO 6579	68
4.3.2.2.1.	Pré-enrichissement dans un milieu non sélectif liquide	68
4.3.2.2.2.	Enrichissement dans des milieux sélectifs	69
4.3.2.2.3.	Isolement sur milieux sélectifs solides	71
4.3.2.2.4.	Purification	72
4.3.2.2.5.	Identification	72
4.3.2.2.6.	Étude de la sensibilité aux antibiotiques	73
4.3.2.2.7.	Conservation des souches	73
4.3.2.2.8.	Base de données	74
4.3.2.3.	Méthode bactériologique d'analyse des prélèvements de mammites cliniques	74
4.3.2.3.1.	Enrichissement dans le milieu B.H.I.B	74
4.3.2.3.2.	Isolement sur milieux sélectifs solides	75
4.3.2.3.3.	Identification	75
4.3.2.3.5.	Étude de la sensibilité aux antibiotiques	76
4.3.2.3.5.	Conservation des souches	76
4.4.	Résultats	77
4.4.1	Partie : recherche de <i>Salmonella</i> spp dans les matières fécales	77
4.4.1.2	Répartitions des élevages et des animaux	77
4.4.1.3.	Résultats en fonction des régions visitées	78
4.4.1.4.	Résultats en fonction des élevages	79
4.4.1.5.	Résultats par prélèvements de matières fécales	85
4.4.1.5.1	Résultats globaux	85
4.4.1.5.2	Résultats par groupe d'animaux prélevés	86
4.4.1.5.3	Résultats en fonction de l'état physiologique des vaches Laitières (tarissement / lactation).	87
4.4.1.5.	Résultats par espèce de <i>Salmonella</i> isolée	87
4.4.2.	Partie : recherche de <i>Salmonella</i> spp dans le lait mammitéux	88
4.4.2.1.	Répartition des prélèvements en fonction de la taille des élevages	88
4.4.2.2.	Répartition des prélèvements en fonction de la classe d'âge.	88

4.4.2.2.	Répartition en fonction du quartier atteint	89
4.4.2.3.	Résultats en fonction des quartiers atteints par vache	89
4.4.2.4.	Résultats microbiologiques	90
4.5.	Discussion	92
4.5.1.	Discussion des résultats de l'enquête du portage de <i>Salmonella</i> spp. au niveau des matières fécales	92
4.5.1.	Discussion des résultats de l'enquête de l'excrétion de <i>Salmonella</i> spp. dans le lait mammiteux	102
CONCLUSION		106
RECOMMANDATIONS		108
APPENDICE		110
A.	Liste des vétérinaires participant à l'enquête	110
B.	Fiche d'enquête élevage	111
C.	Fiche d'enquête lait mammiteux	115
D.	Techniques de prélèvement	116
E.	Techniques d'identification biochimique	117
F.	Technique de sérotypage	120
G.	Antibiogramme, milieu et technique de réalisation	122
H.	L'antibiogramme de <i>Salmonella</i> isolées dans notre étude	135
I.	Milieus de cultures sélectives pour l'isolement de <i>Salmonella</i>	134
J.	Norme ISO 6579	138
K.	Liste des symboles et des abréviations	139
REFERENCE		140

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 2.1	Cycle épidémiologique schématique des salmonelles	46
Figure 4.1	Situation géographique et communes voisines de la commune d'Ouaguenoun.	65
Figure 4.2	Prélèvements de matières fécales dans des flacons stériles et des sacs stériles.	67
Figure 4.3	Prélèvements de lait mammiteux dans des flacons stériles	67
Figure 4.4	Pré-enrichissement des prélèvements de MT dans d'EPT a 1/10.	69
Figure 4.5	Enrichissement des prélèvements de MT dans le milieu MSR.V.	70
Figure 4.6	Enrichissement des prélèvements de MT dans le milieu MKTTn.	70
Figure 4.7	Aspect des colonies de <i>Salmonella</i> sur milieu XLD	71
Figure 4.8	Aspect des colonies de <i>Salmonella</i> sur milieu Hektoen	71
Figure 4.9:	Galerie miniaturisée API 20E	72
Figure 4.10	Réaction positive d'une agglutination sérologique sur lame	72
Figure 4.11	Enrichissement dans le milieu B.H.I.B	75
Figure 4.12	Colonies <i>E.coli</i> (a gauche), colonies de <i>Pseudomonas spp</i> sur milieu HK.	75
Figure 4.13	Schéma d'identification des colonies qui ont poussés sur HK.	76

Figure 4.14	Pourcentages des élevages positifs par localité d'étude	78
Figure 4.15	Pourcentages des élevages positifs et négatifs à la culture des salmonelles	79
Tableau 1.1	Nomenclature des salmonelles	20
Tableau 1.2	caractères biochimiques permettant d'identifier les espèces et les sous espèces	27
Tableau 2.1	Diagnostic différentiel des principales formes de salmonelloses rencontrées en élevages bovins	41
Tableau 3.1.	Milieux d'enrichissement sélectifs	55
Tableau 4.1	Répartition par localité des élevages visités	77
Tableau 4.2	Répartition des animaux prélevés	78
Tableau 4.3	Résultats en fonction de l'ancienneté des éleveurs	79
Tableau 4.4	Nombre d'élevages positifs par classe d'effectif	80
Tableau 4.5	Résultats en fonction des conditions de distribution des aliments	80
Tableau 4.6	Résultats en fonction des conditions de distribution des aliments après fusion de la classe bonne et moyenne	80
Tableau 4.7	Résultats en fonction des conditions de stockage des aliments	81

Tableau 4.8	Résultats en fonction de la présence de la volaille ou des palmipèdes.	81
Tableau 4.9	Résultats en fonction de la présence des chats domestiques	82
Tableau 4.10	Résultats en fonction de la présence ou de l'absence de chiens domestiques	82
Tableau 4.11	Résultats en fonction des conditions de raclage et de curage	83
Tableau 4.12	Résultats en fonction des conditions de raclage et de curage après fusion de la classe moyenne et bonne	83
Tableau 4.13	Résultats en fonction de la Possibilité de contacts avec les autres bovins	84
Tableau 4.14	Résultats en fonction de la pratique de pensionna ou de prêt.	84
Tableau 4.15	Résultats en fonction de la pratique de la mise en quarantaine des nouveaux animaux.	85
Tableau 4.16	Prélèvements positifs à la culture des salmonelles	86
Tableau 4.17	Résultats par groupe d'animaux prélevés.	86
Tableau 4.18	Résultats en fonction de l'état physiologique des vaches laitières (tarissement / lactation).	87
Tableau 4.19	Souches de <i>salmonella</i> isolées	87
Tableau 4.20	Nombre de prélèvements par classe d'effectif	88

Tableau 4.21	Nombre de prélèvement par classe d'âge	88
Tableau 4.22	Nombre de prélèvement par quartier atteint	89
Tableau 4.23	Résultats en fonction du nombre de quartiers touchés par vache.	89
Tableau 4.24	Nombre de germes par prélèvement	90
Tableau 4.25	Nombre de germes par groupe bactérien	90
Tableau 4.26	Nombre d'espèces d'entérobactéries isolées	91

## INTRODUCTION

Les pathologies causées par *Salmonella* spp. constituent un véritable problème de santé publique dans le monde [1], de par leur fréquence et la nature grave des troubles qu'elles peuvent engendrer. À cela s'ajoute l'aptitude de ce germe à résister aux antibiotiques [1] à l'image de *Salmonella* Typhimurium DT 104 qui peut résister à six antibiotiques (phénotype ACSSuT).

De nombreuses épidémies de gastro-entérite à *Salmonella* spp. se sont déclarées dans le monde, en Algérie où on a enregistré dès la fin des années soixante des épidémies à *Salmonella* spp. multi-résistantes [2]. L'origine animale a été démontrée à plusieurs reprises dans ces foyers dont une dizaine d'espèces animales ont été mises en cause [2].

Les bovins infectés par *Salmonella* spp. sont reconnus comme étant une source importante d'infection pour les humains [3].

Suite à cette situation et afin d'apporter des mesures efficaces et adaptées, de nombreuses enquêtes ont été menées dans le monde pour évaluer l'importance de ce risque, comme aux États-Unis où la prévalence de ce portage est estimé de 27% à 30% des élevages [4].

En Algérie plusieurs études ont été menées dans ce sens, mais ces dernières concernent principalement la volaille. En effet, peu d'études se sont intéressées à l'espèce bovine.

Le cheptel bovin algérien est constitué de 1 650 000 têtes dont 56% sont représentées par des vaches laitières [5], cet effectif est sans cesse en augmentation afin d'assurer nos besoins en lait et en viande, ces bovins constituent une source potentielle de *Salmonella* spp.

L'étude de l'importance que représente le réservoir bovin de *Salmonella* spp. en Algérie aurait un impact positif, car ces études nous donneraient une idée sur la réalité de notre situation et auraient des retombées bénéfiques sur

les mesures préventives à adopter puisque ces dernières seraient adaptées à notre situation.

La présente étude s'inscrit dans cette optique, cela par l'étude de l'importance de ce réservoir bovin à travers une enquête réalisée sur le portage de *Salmonella* spp. dans les matières fécales et ce au niveau d'une commune de la Province de Tizi-Ouzou et son excrétion dans le lait lors des mammites cliniques.

Par conséquent, nous nous sommes fixés comme objectif de caractériser le germe *Salmonella* spp. dans les matières fécales et dans les prélèvements de lait mammitieux.

## CHAPITRE 1

### GENERALITES SUR LES SALMONELLES

#### 1.1. Historique :

L'intérêt porté aux salmonelles n'est pas récent. Dès 1875, KOCH et PASTEUR s'y sont intéressés en mettant en place les bases de la bactériologie [6].

L'histoire des Salmonelles, est longue et s'étale sur une période de plus de 50 ans [12], depuis sa première observation en 1880 [7] par Eberth (médecin allemand) à partir de prélèvements de la rate et de ganglions lymphatiques issus d'un malade décédé suite à la fièvre typhoïde [8 ; 9 ; 10 ; 11] et dénommé *Eberthella typhosa* connu actuellement sous le nom de *Salmonella* Typhi [7 ; 8 ; 11,12], Le bacille a été ensuite cultivé pour la première fois en 1884 par Gaffky [13].

Le groupe bactérien reçoit le nom de *Salmonella* en 1900 [11] en hommage au bactériologiste et directeur des services vétérinaires des Etats-Unis à cette époque [14] Daniel Elmer Salmon (1850-1914), suite à ses travaux sur l'agent causal de la peste porcine (hog cholera) [11] qui isole en 1886 l'actuelle *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* sérotype Choleraesuis autrefois appelée «*Bacterium suipestifer*» [15 ; 16].

Gærtner isola en 1888 *Salmonella* Enteritidis appelée autre fois *Bacterium enteritidis* à partir de la viande d'une vache abattue d'urgence atteinte de gastro-entérite ainsi que des organes d'un être humain ayant consommé cette viande avariée et décédé [12].

KLEIN isola en 1889 l'agent de la typhose aviaire (*S. Gallinarum*) [14].

Le bacille de LOEFFLER (*S. Typhimurium*) a ensuite été isolé à partir de sang de souris atteintes de salmonellose en 1890 [14], De Nobelé l'isola à la suite d'un cas d'intoxication alimentaire chez l'homme, en 1898 [12].

En 1896 Pfeiffer et Colle d'une part et Gruber et Durham de l'autre, découvrent que le sérum des patients atteints de fièvre typhoïde agglutinait les cultures du bacille d'Eberth (bacille de la typhoïde); Au même moment Widal

puis Grunbaum découvrent le même phénomène, ce nouveau test est alors appelé le sérodiagnostic de WIDAL [17].

La même année (1896), deux isolats de bactérie ont été faits par Achard et Bensaude de patients présentant des symptômes cliniques de fièvre typhoïde mais avec un sérodiagnostic de Widal négative, à qui ils donnent le nom de bacilles paratyphiques [17], la même observation fût décrite par Gwynn en 1898 [6].

D'autres bacilles, proches du bacille de la typhoïde et de ceux de la paratyphoïde sont ensuite découverts chez beaucoup d'espèces animales, à différents endroits et continuent à être décrits chaque année [13].

Le premier cas salmonellose bovine a été décrit en 1902 aux Etats Unis par MOHLER et BUCKLER [18] et en Europe par Miessner et Kohlstock en 1912 [19].

En 1919, FRICKINGER décrit une épidémie de dysenterie salmonellique sur un lot de 300 moutons ; la viande provenant de l'abattage d'urgence de ces animaux avait provoqué la toxi-infection de 1500 personnes [20].

## 1.2. Taxonomie et nomenclature :

### 1.2.1. Taxonomie :

Selon la seconde édition du *Bergey's manual of systematic bacteriology* la classification de *Salmonella* est la suivante [12 ; 21 ; 22]:

Domaine : Bacteria.

Embranchement XII ou phylum BXII : Proteobacteria.

Classe III : Gammaproteobacteria.

Ordre XII : Enterobacteriales.

Famille I : *Enterobacteriaceae*.

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des *Enterobacteriaceae* [13] dont les caractéristiques générales sont les suivantes [23 ; 24] :

- Bacilles Gram négatifs non sporulés de Dimensions moyennes: 0,5 $\mu$  sur 3 $\mu$ .
- Immobiles ou mobiles avec une ciliature péritriche.
- Poussent bien sur les milieux ordinaires.

- Aéro-anaérobie facultatif,
- Fermentent le glucose avec ou sans production de gaz.
- Oxydase négative.
- Réduisent le nitrate en nitrite.

#### Genre XXXII : *Salmonella*.

Ce genre est phylogénétiquement proche des genres *Escherichia* et *Citrobacter*, phénotypiquement proche des genres *Citrobacter* et *Hafnia* [25].

#### 1.2.2. Nomenclature :

La nomenclature de *Salmonella* est complexe ce qui amène beaucoup de confusion dans la littérature scientifique [21].

L'analyse de l'antigène O (de l'allemand OhneHauch) et de l'antigène H (de l'allemand Hauch), lancée par White (1926) et Kauffmann (1941), a eu comme conséquence la description d'un grand nombre de sérovars [13 ; 17].

Kauffmann (1961) classe les salmonelles en se basant sur le groupe de sero-fermentatif et le type de phage est considéré chaque serovar comme étant espèce, Ce concept d'espèce / sérovar a été inadapté car la plupart des sérovars ne peuvent pas être séparés par les tests biochimiques [13 ; 17].

Borman et al (1944), Kauffmann et Edwards (1952), Ewing (1963) proposent qu'il y est trois espèces, ces propositions ont eu en commun qu'hormis *Salmonella Typhi* et *Salmonella Choleraesuis* tous les autres sérovars ont été placés dans une espèce, ce qui était embrouillant [13 ; 17].

Kauffmann (1966) a divisé le genre *Salmonella* en quatre sous-genres en se basant sur des caractères biochimiques, désignés par des chiffres romains (I-IV) [13 ; 17].

Le Minor et al (1970) considérait que les sous genres de Kauffmann représentaient des espèces nommées comme suit : *S. kauffmannii* (sous-genre I), *S. salamae* (sous-genre II), *S. arizonae* (sous-genre III) et *S. houtenae* (sous-genre IV) [13 ; 17].

La publication en 1980 des «Approved Lists of Bacterial Names» a présenté cinq espèces de salmonelles à savoir, *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium* [26].

Les études génomiques ont montré que les sous-genres I-IV constituent un simple groupe d'hybridation d'ADN avec cinq sous-groupes [17 ; 27 ; 28 ; 29 ; 30], qui correspondent aux anciens sous-genres sauf que le sous-genre III a été coupé en deux sous-groupes IIIa et IIIb [13 ; 17].

Plus tard, un autre sous-groupe (sous-groupe VI) a été identifié (groupe de Bongor) qui s'avère constituer un deuxième groupe d'hybridation d'ADN [29,30].

Le Minor (1982) considérait que tous les sérovars des salmonelles constituaient une seule espèce appelée *Salmonella choleraesuis*, c'est l'espèce type du genre *Salmonella* avec six sous-espèces : *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *salamae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *diarizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *Houtenae* et *Salmonella choleraesuis* subsp. *Bongori*, puis une nouvelle sous espèce a été rajoutée par la suite, il s'agit de la sous espèce *indica* [29 ; 30].

Le Minor et Popoff (1987) avaient proposé le nom de *Salmonella enterica* pour la seule espèce *Salmonella* avec les sous espèces suivantes: *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*, *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*, *Salmonella enterica* subsp. *Bongori* et *Salmonella enterica* subsp. *Indica* [12].

La taxonomie maintenant se base aussi sur l'espèce génomique, qui est définie comme un groupe de souches reliées par un taux d'hybridation A.D.N. - A.D.N. supérieur à 70 % avec une instabilité thermique des hybrides inférieure à 5 °C [32], l'application de ces directives a permis l'identification de deux espèces dans le genre *Salmonella* [13 ; 17]:

*Salmonella enterica* (espèce habituelle) avec six sous espèces:

- Sous-espèce I : *Salmonella enterica* subsp. *enterica*,
- Sous-espèce II : *Salmonella enterica* subsp. *salamae*,
- Sous-espèce IIIa: *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*,
- Sous-espèce IIIb : *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*,
- Sous-espèce IV : *Salmonella enterica* subsp. *houtenae*
- Sous-espèce VI : *Salmonella enterica* subsp. *indica*.

*Salmonella bongori* (espèce rare) [32 ; 33].

*Salmonella subterranea*, représentant une autre espèce de *Salmonella* décrite par Shelobolina et coll.2004, liste de validation (N°.102, 2005), mais pas encore effective [34 ; 35].

Les sous-espèces sont subdivisées en sérovars ou sérotypes dont la liste constitue le schéma de KAUFFMANN-WHITE [15].

Tableau 1.1 : nomenclature des salmonelles [21].

<b>Taxonomie</b>	<b>nomenclature</b>
<b>Genre (en italique)</b>	<i>Salmonella</i>
<b>L'espèce (en italique)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>entirica</i> inclure les sous espèces (subsp) I, II, IIIa, IIIb, IV, et VI.</li> <li>➤ <i>bongori</i> (autrefois sous espèce V)</li> </ul>
<b>Sérotype</b> <b>écrire le sérotype en lettre romain (majuscule) et non en italique</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Les noms des sérotypes sont précédés par sérotype ou sér.</li> <li>➤ Les sérotypes de la sous espèce I sont désignés par un nom, pour les autres sous espèces et <i>S.bongori</i> sont désignées par une formule antigénique.</li> <li>➤ Les membres de la sous espèce II, IV, et <i>S. bongori</i> sont désignés par un nom, s'ils sont nommés avant 1966.</li> </ul>

### 1.3. Habitat :

Le réservoir des Salmonelles est ubiquiste et de nombreux animaux à sang chaud (oiseaux, mammifères dont l'homme et les rongeurs), ainsi que des animaux à sang froid (reptiles, poissons et insectes) malades ou porteurs sains sont susceptibles d'héberger ces bactéries [13 ; 36], chez ces derniers le principal réservoir est constitué par leurs intestin [25].

La sous-espèce I contient généralement les souches isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud [25], les autres sous-espèces se retrouvent chez des animaux à sang froid comme les reptiles, les batraciens ou les tortues [38 ; 39].

Elles sont aussi retrouvées dans l'environnement (sol, boues) dans lequel elles sont disséminées par les excréta, elles peuvent y survivre pendant plusieurs mois si les conditions de température, de pH et d'humidité sont favorables [39 ; 40].

#### 1.4. Spécificité à l'hôte :

Les sérotypes de *Salmonella* spp. diffèrent par la gamme d'hôtes qu'elles peuvent infecter et par la nature de la maladie clinique qui peut en résulter, mais la plupart des sérotypes de *S. enterica* sont peu spécifiques et peuvent infecter un large éventail d'hôtes et ne causent généralement qu'une légère maladie entérique [3].

À l'opposé, les sérotypes adaptés à une espèce spécifique provoquent généralement une maladie systémique grave et peuvent être responsables de l'excrétion prolongée du germe par des porteurs chroniques asymptomatiques.

Les différents sérotypes de *Salmonella* peuvent être classés en 3 groupes principaux selon leurs hôtes préférentiels [13 ; 25] :

Les sérotypes adaptés à l'humain :

- *Salmonella* Typhi.
- *Salmonella* Paratyphi A.
- *Salmonella* Paratyphi B (*Schottmuelleri*) parfois isolé chez les volailles.
- *Salmonella* Paratyphi C (*Hirschfeldii*).
- *Salmonella* Sendai.

Ils peuvent être transmis par contact direct, ou indirect par de l'eau ou de la nourriture contaminée [25].

Les sérotypes adaptés à un hôte d'une espèce animale spécifique, par exemple

- *Salmonella* Dublin chez les bovins (mais aussi chez l'homme).
- *Salmonella* Choleraesuis chez les porcs.
- *Salmonella* Abortusovis chez les ovins.
- *Salmonella* Abortusequi chez les équins.

Ces sérotypes peuvent aussi occasionnellement infecter un nombre limité d'autres hôtes mais n'y sont pas adaptés [25].

Les sérotypes qui ne sont pas adaptés à une espèce en particulier dont :

- *Salmonella* Enteritidis
- *Salmonella* Montevideo
- *Salmonella* Saintpaul.
- *Salmonella* Panama.
- *Salmonella* Typhimurium est le sérotype qui est le plus souvent responsable de salmonellose clinique chez les animaux autant que chez les humains et sa distribution est mondiale [42]

Néanmoins, tous les sérovars sont potentiellement pathogènes pour l'homme et particulièrement responsables de toxi-infections alimentaires collectives ou de portage sain [13].

#### 1.5. Caractères bactériologiques :

*Salmonella* est le 32<sup>ème</sup> genre sur les 41 que compte la famille des *Enterobacteriaceae* dont elle possède les principaux caractères [12]

##### 1.5.1. Caractères généraux :

Les salmonelles sont des bacilles Gram-, de dimension moyenne (2 à 3 µm par 0.6 à 0.8 µm), intracellulaires facultatifs jamais sporulés, parfois encapsulés [14; 39]. Généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche, quelques sérovars sont cependant immobiles comme *S. Gallinarum-Pullorum* ainsi que certains mutants [14].

##### 1.5.2. Structure des salmonelles :

Le génome de la bactérie est composé d'un ADN chromosomique et d'un ou plusieurs plasmides [14].

La paroi est formée de trois couches [14] :

- La membrane cytoplasmique (membrane intérieure),
- Le peptidoglycane (murein)
- La membrane externe (l'espace periplasmic représente le compartiment entre les deux membranes).

La membrane externe porte des structures qui ont des rôles importants pour la survie de la bactérie et les facteurs de virulence qui sont :

- Le glycocalyx : constitué de polysaccharides, intervient lorsque les bactéries se développent dans le sol ou dans l'eau et participe aussi à l'adhérence de la bactérie sur la cellule hôte [14].
- Les flagelles : constitués d'une protéine (la flagelline), permettent à la bactérie de se déplacer et sont également porteurs d'antigènes H [14].
- Les fimbriaes (ou pili) : constitués essentiellement d'une protéine (la piline) observables au microscope électronique, ils sont de deux types :
  - Les pilis communs: confèrent notamment des propriétés hémagglutinantes aux bactéries qui les portent [14].
  - Les pilis sexuels : sont l'expression de certains plasmides. Toutes les salmonelles n'en possèdent pas et lorsqu'ils sont présents, ils sont peu nombreux (un à quatre) [43], impliqués dans les phénomènes de fixation des bactériophages et de transfert de matériel génétique entre bactéries au cours de la conjugaison [14].
- Le lipopolysaccharide (LPS) : composé de trois parties [7 ; 14] :
  - Le lipide A : fixé à la membrane externe toxique et pyrogène [7] (c'est l'endotoxine des entérobactéries).
  - Le core : oligosaccharide constant dans une même espèce bactérienne [14], chez les souches mutantes rugueuses (ROUGH, R), il est incomplet ou n'est pas lié aux chaînons suivants ; ces souches sont auto-agglutinables en eau salée iso- ou hypertonique [7].
  - Les chaînes polysaccharidiques latérales appelées antigènes O, dotés d'un fort pouvoir immunogène, les mutants R ont perdu ces chaînes latérales et sont moins pathogènes [7 ; 14].

Du fait de sa forte charge électro-négative [14], le LPS confère à la bactérie les propriétés suivantes : résistance aux sels biliaires, aux détergents, aux protéases, aux lipases [7 ; 14 ; 44].

#### 1.6. Caractères culturels :

*Salmonella* sont des bactéries aéro-anaérobies [7; 14; 25] chimiotrophes [12] et prototrophes ; les exceptions sont des souches mutantes ou quelques sérovars présentant une adaptation particulière à une espèce hôte, comme *Salmonella Abortusovis* [7].

Les salmonelles peuvent se cultiver sur milieux usuels et donnent en 18 à 24h à 37°C en atmosphère ambiante des colonies de 2 à 4 mm de diamètre [7 ; 14 ; 25].

A l'isolement, les colonies sont lisses, bombées, brillantes, rondes à bords nets, rarement rugueuses sous cette forme, les salmonelles sont rarement pathogènes [7 ; 14 ; 44].

Des colonies naines correspondent généralement à des mutants à croissance plus lente, de nombreuses souches (sérotypes Abortusovis, Typhisuis...) peuvent présenter une dissociation de la taille des colonies à l'isolement [7 ; 12].

En milieu liquide, elles donnent une culture homogène sur toute la hauteur du tube [12 ; 25].

#### 1.6.1. Résistance et sensibilité aux agents physiques et chimiques:

##### 1.6.1.1. Agents physiques :

###### 1.6.1.1.1. La chaleur :

Les salmonelles sont mésophiles (croissance optimale entre 35 et 37°C) [12] et peuvent se multiplier dans une large plage de température, entre 5 °C et 47 °C avec un optimum de 37 °C [45] et une croissance nettement ralentie pour les températures inférieures à 10°C [25]. L'application d'une température de 72°C pendant 15 secondes, utilisée lors de pasteurisation assure leur destruction dans le lait [12 ; 25 ; 39].

###### 1.6.1.1.2. Le froid :

La réfrigération permet la survie des Salmonelles [25] avec un arrêt de la croissance pour des températures inférieures à 5,2°C [14].

La congélation provoque un abaissement de leur nombre mais n'entraîne pas leur élimination [25].

#### 1.6.1.1.3. L'activité d'eau :

Intervient dans l'inactivation des salmonelles par la chaleur, par exemple *Salmonella* est 650 fois plus résistante à la chaleur dans le blanc d'œuf séché (en poudre) que dans des œufs à l'état liquide [45 ; 46].

Oscillant entre 0,945 et 0,999, dans les aliments, les Salmonelles peuvent se multiplier jusqu'à des valeurs d'Aw de 0,93 [12 ; 13 ; 14 ; 25].

#### 1.6.1.1.4. Le Ph :

Les Salmonelles supportent une gamme de Ph allant de 4,5 à 9 [15 ; 40], avec un optimum entre 6,5 et 7,5 [26].

Concernant le ph minimale certains auteurs rapportent une valeur minimale de pH égale à 4.05 [12], alors que d'autres l'estiment à 4.50, cela dépend :

- Du type d'acide utilisé pour abaisser le pH (l'acide citrique, pH min : 4.05 ; l'acide lactique, pH min : 4.40 ; l'acide acétique, pH min : 5.04) [12].
- Du sérovar : *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Thompson semblent plus résistantes à la destruction acide que *Salmonella* Seftenberg [12].
- Le milieu aérobie semble également favoriser leur croissance à des pH acides [12].

Le ph minimal de croissance revêt un intérêt particulier avec l'apparition de toxi-infections alimentaires liées à la consommation de certains aliments dont la mayonnaise ou une acidification convenable (pH inférieur à 3.6) aboutit à leur élimination [12].

#### 1.6.1.1.4. Les radiations :

Les salmonelles sont inactivées les rayons ionisants [14]

#### 1.6.1.2. Les agents chimiques :

Les salmonelles sont sensibles aux antiseptiques usuels : hypochlorite de sodium [12 ; 14], dérivés iodés, chlorhexidine, ammoniums quaternaires [14].

## 1.7. Caractéristiques biochimiques :

### 1.7.1. Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier la famille :

*Salmonella* possède les caractères biochimiques généraux de la famille des *Enterobacteriaceae* [12 ; 23 ; 24 ; 25].

### 1.7.2. Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier le genre :

Au sein de la famille des Entérobactéries, les caractères permettant l'identification biochimique du genre *Salmonella* sont [12 ; 25] :

- ✓ Absence d'uréase ce qui les différencie des *Proteus*.
- ✓ Absence tryptophane désaminase ce qui les différencie des *Providencia*.
- ✓ Absence de production d'indole.
- ✓ Absence de production d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif).
- ✓ Absence de fermentation du lactose, du saccharose, de l'inositol, de l'amygdaline, de l'adonitol et du 2-cétogluconate.
- ✓ Absence de bêta-galactosidase.
- ✓ Absence d'arginine-déshydrogénase (ADH).
- ✓ La production d'H<sub>2</sub>S à partir du thiosulfate (présence d'une thiosulfate réductase).
- ✓ La décarboxylation fréquente de la lysine et de l'ornithine.
- ✓ La capacité fréquente de croître sur le milieu au citrate de Simmons en l'alcalinisant (caractère citrate positif).

Néanmoins, des exceptions existent pour certains sérovars [12 ; 17] :

- *Salmonella* Typhimurium: agazogène, H<sub>2</sub>S plus faible et Citrate de Simmons (-) ;
- *Salmonella* Paratyphi : L.D.C. (-), Citrate de Simmons (-) et H<sub>2</sub>S(-) le plus souvent ;
- *Salmonella* Abortusequi: H<sub>2</sub>S (-);
- *Salmonella* Abortusovis: H<sub>2</sub>S (-);
- *Salmonella* Senftenberg: Lactose (+) [6].

### 1.7.3. Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier l'espèce :

Les deux espèces du genre *Salmonella* peuvent être différenciées par leurs caractères biochimiques [25].

Tableau 1.2 : Caractéristiques biochimiques permettant d'identifier les espèces et les sous groupes [7 ; 25].

	<b>Pousse sur milieu contenant du KCN</b>	<b>Fermentation du sorbitol</b>
<b><i>Salmonella bongori</i></b>	+	-
<b><i>Salmonella entirica</i></b>	-	+

### 1.8. Propriétés antigéniques :

Comme toutes les entérobactéries, les Salmonelles peuvent posséder trois types d'antigènes ayant un intérêt diagnostique [25 ; 47] en plus de l'antigène commun (Enterobacterial Common Antigen : ECA) appelé antigène de Kunin, présent chez la grande majorité des entérobactéries [12] qui sont :

#### 1.8.1. Les antigènes de la paroi : antigènes O et R.

Portés par le LPS, constituants de la membrane externe de la paroi il existe :

Les facteurs O majeurs : définissent des groupes et toutes les souches possédant en commun un facteur O majeur sont placées dans le même groupe. Ainsi toutes les souches possédant :

- ✓ Le facteur O 2 : appartient au groupe A,
- ✓ Le facteur O 4: appartient au groupe B,
- ✓ Le facteur O 9: au groupe D dans lequel on retrouve les sérovars Enteritidis et Dublin.
- ✓ Le facteur O 3 : au groupe E [25 ; 47; 48].

Les facteurs O accessoires : diffèrent selon les souches appartenant à un même groupe [25 ; 47 ; 48].

L'antigène O est :

- ✓ Thermostable, résiste au chauffage 2h à 100°C ;
- ✓ Alcoolo-stable (non détruit par l'alcool à 50%);
- ✓ inhibé par le formol à 5%, sans pour autant empêcher son agglutinabilité [12].

Ces antigènes fournissent une agglutination fine, granuleuse et difficile à dissocier [13 ; 14].

### 1.8.2. Antigène flagellaire H :

Portés par les salmonelles mobiles, sur les flagelles, de nature protéique [14 ; 47] il est :

- ✓ Thermolabile, détruit après chauffage 30 minutes à 100°C ;
- ✓ Détruit par l'alcool à 50%;
- ✓ Résistant au formol à 5‰ [12 ; 14].

Une minorité de sérovars (Enteritidis, Montevideo) ne peut pas synthétiser des flagelles que d'une seule spécificité, car elles ne possèdent pas l'information génétique pour l'autre spécificité donc l'antigène H est alors monophasique [12 ; 25].

Pour la plupart des sérovars, les flagelles existent sous deux formes antigéniques qualifiées de phase 1 et de phase 2 : les antigènes H sont diphasiques [12 ; 25].

Pour les antigènes dits « en phase 1 » ils sont désignés par des lettres minuscules et les antigènes « en phase 2 » sont désignés par des chiffres arabes [14].

### 1.8.3. Antigènes d'enveloppe Vi, ou capsulaires K :

De nature polysaccharidique [14; 25], forment une mince capsule glycolipidique qui recouvre le LPS [49], il est toujours identique à lui-même [14].

Il existe chez *Salmonella* Typhi, plus rarement chez *Salmonella* Paratyphi C et reste exceptionnel chez *Salmonella* Dublin [14 ; 25 ; 39].

Cet antigène peut masquer l'agglutinabilité de l'antigène O [14] et pour démasquer l'antigène O, il suffit de chauffer les suspensions bactériennes pendant 10 minutes à 100°C [25] ou 1 heure à 60°C [39].

L'antigène **Vi** est résistant à l'action de l'alcool et du formol ; l'agglutination par les sérums correspondants est fine, lente et granulaire [12].

#### 1.8.4. Les antigènes R et M:

Il existe des formes Rough (ou R) avec une perte partielle ou totale de leur spécificité antigénique, Ces souches perdent leur pouvoir pathogène et sont facilement phagocytées [39]. Leurs cultures sont auto-agglutinables en eau physiologique ou mieux en eau hyper salée à 20‰ de NaCl [39].

L'antigène M, existe essentiellement chez *Salmonella* Paratyphi B et est responsable de l'aspect muqueux des colonies [13].

#### 1.9. Marqueurs épidémiologiques :

La grande diversité du genre *Salmonella*, tant au niveau de son habitat naturel qu'au niveau de l'expression de son action sur l'hôte rend insuffisante l'identification de l'espèce seule pour comprendre la pathogénie de cette bactérie [25].

Par les nombreuses méthodes de caractérisation on distingue des marqueurs (Phénotypiques, génotypiques...), Ces marqueurs sont des outils épidémiologiques [48] pour subdiviser les espèces en entités ou types correspondant à des aptitudes associées à la bactérie [25].

##### 1.9.1. Le biotype :

La première étape dans l'identification [48], repose sur la mise en évidence des caractères biochimiques qui permettront de classer les souches selon leur activité métabolique par l'utilisation du sucre et/ou leur activité enzymatique [50],

La technique du biotypage est simple mais la discrimination apportée n'est pas très importante [25].

##### 1.9.2. Le sérotype :

Les premières règles de la classification des souches de *Salmonella* ont été établies par White en 1925 en se basant sur l'identification des facteurs antigéniques, Améliorées par la suite par Kauffmann dès 1930 et connues jusqu'à présent sous l'appellation de schéma de Kauffmann-White [12].

L'identification de chaque sérotype se fait par l'étude des caractères antigéniques au moyen de sérums agglutinants. Chaque sérovar est caractérisé par des antigènes somatiques « O » et des antigènes flagellaires « H » ;

quelques sérovars (*S. Typhi*, *S. Paratyphi C*, *S. Dublin*) possèdent un antigène Vi de surface qui masque parfois l'Ag. « O » [50].

Il existe actuellement 2 610 sérotypes différents de *Salmonella* [51], dont le nombre de sérotypes répertoriés est le suivant :

- *S. enterica* subspecies *enterica* : 1547;
- *S. enterica* subspecies *salamae* : 513;
- *S. enterica* subspecies *arizonae* : 100;
- *S. enterica* subspecies *diarizonae*: 341;
- *S. enterica* subspecies *houtenae* : 73;
- *S. enterica* subspecies *indica* 13 ;
- *S. bongori*. Sérotypes 23 [51].
- *S. subterranea* : 1 (l'espèce n'étant pas encore validée, le sérotype ne peut être comptabilisé) [13 ; 3].

Les réactions d'agglutination s'effectuent sur une lame avec une culture humide, il est conseillé de vérifier que la souche n'est pas auto-agglutinable en testant un peu de culture dans l'eau physiologique.

### 1.9.2. La lysotypie :

Méthode reconnue au niveau international [48], la lysotypie étudie la sensibilité des souches, ou leur résistance, à une série de bactériophages sélectionnés [25 ; 48].

Pour *Salmonella* Enteritidis, 27 lysotypes ont été identifiés, le plus répandu étant le lysotype 4 [48].

## 1.10. Facteurs de virulences :

### 1.10.1. Les facteurs d'attachement aux cellules :

La première étape dans la pathogénie de *Salmonella* est l'attachement à la muqueuse intestinale dans les parties distales de l'intestin [52]. Les protéines, appelées adhésines, sont des molécules de surfaces bactériennes qui permettent à la bactérie de cibler et de coloniser les tissus de l'hôte par la reconnaissance d'un récepteur spécifique ou non [53].

Il existe 2 grandes familles d'adhésines décrites ci-dessous : les fimbriae ou pili, et les adhésines non fimbriaires. Le LPS et le flagelle jouent aussi un rôle dans l'adhésion des salmonelles [53].

➤ Pili ou fimbriae :

Organelles très abondantes à la surface des bactéries (100 à 1000 par bactérie) formées par un grand nombre de protéines identiques appelées fimbrines [53].

Chez *Salmonella*, 13 opérons fimbriaires ont été identifiés jusqu'à maintenant.

De plus, la perte de deux opérons fibrillaires (lpfet, pef) qui sont utilisés pour l'adhérence aux plaques de Peyer ainsi qu'aux villosités intestinales, diminue la capacité de *Salmonella* d'y adhérer [55].

➤ Les adhésines non fimbriaires

Elles permettent d'adhérer aux cellules eucaryotes. A l'heure actuelle, 3 adhésines ont été identifiées : MisL, ShdA et SiiE [56 ; 57 ; 58].

#### 1.10.2. Invasion et colonisation de l'organisme :

Les salmonelles sont des bactéries entéroinvasives, elles peuvent passer la barrière digestive et provoquer une invasion systémique [48].

L'invasion se fait par endocytose pour les entérocytes et par phagocytose pour les macrophages, suivie de formation de phagosomes spécieux, et la fusion avec les lysosomes (formation de phagolysosomes) [48].

Dans certains cas, elles se limitent strictement à la sphère digestive, mais peuvent persister dans les organes internes pendant très longtemps en l'absence de signes de maladie (ex : *Salmonella* Enteritidis) [48].

#### 1.10.3. Survie intracellulaire :

Les Salmonelles survivent dans les macrophages [25] ce qui est indispensable pour l'établissement de *Salmonella* dans l'intestin et dans les organes systémiques. Sa survie exige de résister à la fois aux mécanismes de phagocytose dépendants et indépendants de l'oxygène [3].

De nombreux mécanismes permettent à la bactérie de survivre dans cet environnement hostile: changement de la composition des lipopolysaccharides

(LPS) de la membrane externe afin que celle-ci devienne moins perméable et plus résistante aux peptides antimicrobiens [55].

En outre, elles se protègent de l'action toxique des radicaux oxygénés produits par les macrophages grâce à la synthèse de différents enzymes (catalase, superoxydedismutase, glutathion-réductase) [3 ; 25 ; 55].

#### 1.10.4. Lipopolysaccharides (LPS):

Les LPS de *Salmonella* sont un composant majeur de la membrane externe de la bactérie, agissent comme une toxine (responsable du choc septique, de la fièvre et cause éventuellement la mort) en plus d'être hautement antigénique (antigène O) Les mutants dépourvus d'antigène O (mutant « rough ») ou présentant une altération des antigènes O (mutant « semi-rough ») sont avirulents ou moins virulents [3 ; 25].

#### 1.10.5. Flagelles

La plupart des salmonelles pathogènes sont dotées d'un flagelle biphasiques et peuvent alterner entre deux types de flagelles, ce qui leur permet de se soustraire au système immunitaire de l'hôte [3].

#### 1.10.6. Plasmides

Facteurs de virulence qui codent pour des gènes nécessaires à la capacité de provoquer la maladie systémique sont présents chez la plupart des sérotypes spécifiques à l'hôte et quelques autres moins spécifiques [3].

#### 1.10.7. Le pouvoir toxique :

Selon les travaux de Reitmeyre et coll., Copra et coll., Groisman et coll. [59 ; 13], trois types de toxines ont été associées aux infections à salmonelles.

- L'endotoxine ou toxine glucidolipidoprotéique responsable des symptômes toxiques dans une salmonellose invasive; conduisant à une hypotension artérielle, l'installation d'un collapsus cardio-vasculaire et dans certains cas un état de choc pouvant conduire à la mort [13 ; 48].
- La cytotoxine qui inhibe la synthèse des protéines dans les cellules épithéliales [13 ; 48].

- L'entérotoxine, ressemblant à la toxine cholérique et à la toxine LT d'*E coli* [25], qui augmente la sécrétion d'eau et d'électrolytes dans la lumière intestinale induisant la diarrhée [13 ; 48].

#### 1.10.8. Systèmes de captation du fer

La synthèse de sidérophores (systèmes de captation de fer) permet aux salmonelles d'entrer en compétition avec la transferrine (dans le sérum), la lactoferrine (dans les sécrétions) ou l'ovotransferrine (dans les œufs) [25].

#### 1.10.9. Îlots de pathogénicité

Zones des chromosomes bactériens porteurs de gènes qui codent pour des facteurs de pathogénicité [3].

Cinq îlots de pathogénicité ont été identifiés chez *Salmonella* Typhimurium, nommé SPI (*Salmonella Pathogenicity Islands* ou SPI) :

- **SPI-1** : nécessaire pour l'invasion intestinale mais pas pour l'infection systémique, favorise aussi l'inflammation et elle est important dans l'induction de la diarrhée ;
- **SPI-2** : essentielle pour la survie dans les macrophages ;
- **SPI-3** : permet de croître dans des conditions limitées en Mg<sup>2+</sup> ;
- **SPI-4** : son rôle n'est pas encore connu en détails, mais pourrait jouer un rôle dans l'invasion ;
- **SPI-5** : requis lors de salmonellose entérique mais pas systémique [13 ; 54 ; 60].

### 1.11. Résistance aux antibiotiques

#### 1.11.1. Antibiotiques :

Un antibiotique est une substance, naturellement produite par un microorganisme, ou de synthèse qui a la capacité d'inhiber la croissance voire de détruire d'autres microorganismes : on parle respectivement d'antibiotiques bactériostatiques ou bactéricides [61].

### 1.11.2. Résistances aux antibiotiques :

D'un point de vue bactériologique, une bactérie est dite résistante à un antibiotique si elle possède un mécanisme de défense lui permettant de survivre et de se multiplier en présence de l'antibiotique [61].

D'un point de vue clinique, on parle de résistance quand la concentration en antibiotique nécessaire pour obtenir l'effet voulu (bactériostatique ou bactéricide) est supérieure ou égale à la concentration en antibiotique toxique pour le malade [61].

Deux types de résistances sont identifiées [61 ; 64] :

- La résistance intrinsèque ou naturelle : se définit par une résistance aux antibiotiques due aux propriétés intrinsèques de la bactérie qui sont indépendantes de tout contact avec un antibiotique [61].
- La résistance acquise, comme son nom l'indique, se définit par une résistance acquise en raison d'une pression environnementale [61]. L'acquisition d'une résistance est due soit à une mutation d'un gène existant, soit à l'acquisition d'un nouveau gène [65].

#### 1.11.2.1. Résistances de *salmonella* aux antibiotiques :

Pendant longtemps, les molécules préconisées pour traiter les salmonelloses étaient le chloramphenicol, l'ampicilline, ou l'association triméthoprime/sulfaméthoxazole [66].

Cependant, les problèmes de résistance rencontrés concernant ces molécules ont conduit à utiliser des antibiotiques plus récents, notamment les céphalosporines de 3ème génération (C3G) et les fluoroquinolones [67].

Toutefois, des résistances contre ces dernières molécules ont déjà été mises en évidence chez *Salmonella* [66].

#### 1.1.2.2. Résistance des *Salmonella* isolées chez l'Homme

Les principaux problèmes de résistance rencontrés chez *Salmonella* sont assez récents puisqu'ils datent de la fin du XXème siècle [66 ; 68], représentés par un phénotype de multirésistance aux antibiotiques [13], et des résistances aux deux molécules d'intérêts thérapeutiques (C3G et les fluoroquinolones) [66].

Entre 2000 et 2004 en Europe, cette proportion est passée de 57 à 66% d'isolats résistants [69], représentés principalement par la résistance aux sulfamides, à l'ampicilline, aux tétracyclines, à l'acide nalidixique et à la streptomycine, atteignant en 2004 un pourcentage de 75% pour certains serotypes (Typhimurium et Virchow) [66].

L'un des premiers exemples de multi-résistance a été observé chez un clone épidémique penta-résistants de *Salmonella* Typhimurium de lysotype DT104 qui a émergé au Royaume-Uni au début des années 1990 et qui s'est disséminé partout dans le monde durant les vingt dernières années [66], ce clone présentait un phénotype de résistance de type ACSSuT (Ampicilline, Chloramphénicol, Streptomycine, Sulfamides, Tétracyclines) [13 ; 66 ; 70].

Depuis, différents phénotypes de multi-résistance sont apparus au sein du genre associant des résistances à d'autres antibiotiques (triméthoprime, l'acide nalidixique, la gentamicine, la kanamycine) [66 ; 68].

Le sérotype Typhimurium reste le plus touché par ces problèmes de multi-résistance [68], Cependant, d'autres sérotypes comme Virchow ou Hadar sont également atteints par ces phénomènes [71].

Les résistances aux C3G et aux fluoroquinolones restent peu fréquentes chez *Salmonella* mais elles pourraient devenir un réel problème de santé publique si elles venaient à se propager. Les premiers isolats de *Salmonella* résistants aux fluoroquinolones datent du début des années 1990 ; peu de temps après que cette molécule ait été utilisée en santé humaine et animale [72 ; 73].

Les C3G ont été introduites au cours des années 1980, quelques années après la résistance à ces molécules est apparue [74], avec un pourcentage de résistance faible, dues principalement à des  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) ou à des céphalosporinases [66].

En 2002, une souche de *Salmonella* Choleraesuis était résistante à dix antibiotiques dont le triméthoprime, la ciprofloxacine et le ceftriaxone (C3G) [75].

#### 1.11.2.3. Résistance des *Salmonella* isolées chez les animaux:

Globalement, les mêmes résistances aux antibiotiques sont retrouvées chez les souches de *Salmonella* qu'elles soient d'origine animale ou humaine

[66] avec un phénotype de multi-résistances aux antibiotiques et des résistances aux fluoroquinolones et aux C3G [66].

*Salmonella* TyphimuriumDT104 (phénotype de multi-résistance ACSSuT) est largement distribuée au sein des populations animales utilisées en alimentation humaine [61], favorisées par sa nature zoonotique et une pression de sélection créée par l'utilisation d'antibiotiques dans le domaine vétérinaire puisque quatre des cinq familles représentées dans le phénotype ACSSuT sont utilisées couramment en médecine vétérinaire [61].

Un fort pourcentage de résistance semble être fréquemment rencontré en élevage avicole [61], cependant en Europe les résistances aux antibiotiques qui entrent dans la composition du phénotype ACSSuT sont courantes dans les trois types d'élevages (bovins, ovins, porcins) [66].

Antunes et coll. (2004) rapportent que 75 % des souches isolées à Porto (Portugal) sont résistantes à un antibiotique ou plus [13].

L'introduction d'une nouvelle molécule en médecine vétérinaire ou en agriculture est suivie généralement par l'apparition de résistance à cette molécule [68].

## CHAPITRE 2

### LA SALMONELLOSE

#### 2.1. Notions générales :

##### 2.1.1. Définition :

Le terme de salmonellose regroupe des tableaux cliniques très variés dont sont responsable un très grand nombre de sérovars de Salmonelles [7].

Classiquement, tous les sérovars sont considérés comme pathogènes pour les animaux ou pour l'homme [7].

#### 2.2. Les salmonelloses bovines :

##### 2.2.1. Manifestations cliniques :

*Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Dublin représentent les serotypes les plus couramment isolés en élevages bovins [76].

##### 2.2.1.1. Les Principales formes cliniques :

Dose infectieuse :

Selon Wray et Sojka, 1977 la dose infectieuse par voie orale est entre  $10^6$  et  $10^{11}$  pour *Salmonella* Dublin et entre  $10^4$  et  $10^{11}$  pour *Salmonella* Typhimurium [76].

Pour les veaux l'intensité des symptômes dépend de la dose infectieuse et de l'âge de l'animal, puisque une dose de  $2 \times 10^9$  par voie orale provoque des symptômes graves chez les veaux âgés de 6 à 7 semaines et une dose de  $10^{10}$  provoque une légère dépression de la température chez les veaux âgés de 25 à 28 semaines [77].

Le tableau clinique varie, on peut observer :

- Une infection suraigüe : mortalité sans autres symptômes, observés surtout chez les jeunes animaux [77].

- Une infection aigue : dont on peut observer des formes digestives, pulmonaires, mammaires, des avortements ...etc. [77].
- Une infection chronique observée chez les animaux âgés de plus de 6 a 8 semaines avec une légère dépression de la température, des poils ébouriffés et un retard de croissance [77].

#### 2.2.1.1.1. La forme digestive :

##### 2.2.1.1.1.1. Chez le jeune :

Elle touche les veaux d'une semaine à trois mois d'âge [78], caractérisée par une morbidité élevée (80%) et une mortalité variable selon l'âge de l'animal [111], qui varie entre 20% et 50% [75] et qui peut même atteindre 90% si un traitement n'est pas mis en place selon certains auteurs [79].

Le tableau clinique est caractérisé par :

- Une hyperthermie (41°C) [80] ;
- Une diarrhée jaunâtre à brunâtre nauséabondes qui peut contenir du mucus, du sang et des fragments de muqueuse, s'accompagnant de ténesme et de coliques abdominales [80] ;
- Une perte de l'appétit ;
- une déshydratation rapide [80], anorexie, dépression [81] ;
- Une contagieux (particulièrement dans les élevages intensifs) [3 ; 7 ; 14; 79].
- choc endotoxinique [7 ; 80].

##### 2.2.1.1.1.2. Chez l'adulte :

S'observe chez les vaches laitières hautes productrices, peu après le vêlage [7 ; 79], avec une morbidité de 25 % et une mortalité élevé en l'absence de traitement [14 ; 82].

Le tableau clinique associe une atteinte de l'état général à des symptômes digestifs et une diminution de la production laitière [7 ; 79 ; 80], le rétablissement complet peut prendre jusqu'à 2 mois [80].

#### 2.2.1.1.2. La forme génitale :

Dus essentiellement à *Salmonella* Dublin, se manifeste par des avortements [80], selon Hinton (1971; 1974) ces avortements ont lieu généralement du 6<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> mois de gestation [3], suivis de rétention placentaire [14].

Dans 90% des cas [14 ; 79], l'expulsion du fœtus n'est pas précédée ni accompagnée de symptômes [79], Hinton (1971, 1974) étudie 111 avortement dus à *Salmonella* Dublin, dans 86 cas l'avortement été le seul signe clinique [77 ; 80], mais selon certains auteurs une période fébrile précède l'avortement du a la multiplication de la bactérie au niveau du placenta [80]. La mortalité est quasiment nulle dans cette forme de salmonellose [14; 79].

#### 2.2.1.1.3. La forme septicémique :

Ce développe généralement chez les individus avec un système immunitaire affaibli [14], comme les vaches hautes productrices ou soumises a un stress (mise bas,) et les veaux âgés d'une semaine a sept mois [14 ; 79].

Dus à l'envahissement systémique de la bactérie [3] qui peut être disséminés par voie sanguine vers différents organes (appareil génital, articulations, poumons, mamelle, système nerveux central) [7 ; 83], se manifeste généralement avec les symptômes suivants :

- Fièvre intense accompagnée d'un abattement profond (« tymphos » des fièvres typhoïdes)
- Pression artérielle basse [14],
- Muqueuses cyanosées, peau froide [14] et dans certains cas d'infection des veaux à *Salmonella* Dublin une nécrose des extrémités qui se traduit par une boiterie [3].
- L'évolution est aigue ou suraiguë liée à un choc endotoxinique [7 ; 14].
- La mort peut être brutale sans prodrome ou être précédée de signes généraux (respiratoires, digestifs,) [14 ; 79].

#### 2.2.1.1.4. La forme respiratoire :

Présente dans les élevages intensifs [14 ; 79] avec une contamination aérienne ou conjonctivale [79], se traduit par :

- Une dyspnée, une polypnée, une toux sèche et quinteuse, un jetage chez les veaux accompagné de diarrhée [14], on parle de syndrome « pneumo-entérite » [84].
- Hormis sa grande contagiosité, elle ne présente pas de particularités cliniques par rapport aux autres broncho-pneumonies bactériennes des bovins, avec une évolution mortelle en l'absence de traitement [14].

#### 2.2.1.1.5. Autres formes de salmonelloses :

D'autres formes que celles énumérées précédemment existe mais demeurent rare [85], dont :

- Des Mammites, MESSADI, isole *Salmonella* Typhimurium dans le lait mammitique d'une vache. L'étude portée sur 337 vaches présentant des symptômes de mammitique clinique [86].
- Des arthrites [14 ; 80] avec un liquide synovial jaune foncé et floconneux [7 ; 14].
- Des atteintes du système nerveux central (méningo-encéphalite) [7 ; 14 ; 79 ; 80].
- Ostéite [80], uvéite [14], péritonite [14 ; 79].
- Nécrose des extrémités [80].

#### 2.2.1.1.5.1. Formes chroniques :

Rencontré chez les veaux de plus de 6 à 8 semaines avec des fèces peu formées mais pas diarrhéiques [7], présentant un pelage rêche et terne ainsi qu'une taille et un poids inférieurs à la normale [87].

### 2.2.2. Diagnostic :

#### 2.2.2.1. Diagnostique clinique :

Difficile car aucun symptôme de la salmonellose est pathognomonique et peut prêter à confusion avec d'autres maladies [42].

Tableau 2.1 : Diagnostic différentiel des principales formes de salmonelloses rencontrées en élevages bovins [7 ; 14 ; 79].

Chez le veau	Chez l'adulte
<p><b><u>Forme digestive :</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ virale :rotavirus, coronavirus...etc.</li> <li>➤ colibacilloses</li> <li>➤ cryptosporidiose, coccidiose.</li> </ul> <p><b><u>Forme pulmonaire :</u></b></p> <p><b>Agents de broncho-pneumonie enzootiques à savoir :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ mycoplasmes, pasteurelles,</li> <li>➤ virale : IBR, RSV, BVD.</li> </ul>	<p><b><u>Forme digestive :</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ paratuberculose,</li> <li>➤ colibacillose,</li> <li>➤ entérotoxémie,</li> <li>➤ virale (BVD),</li> <li>➤ strongylose,</li> <li>➤ coccidiose,</li> <li>➤ babésiose.</li> <li>➤ intoxication.</li> </ul> <p><b><u>Avortements :</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ cause bactérienne (<i>Brucella</i>, <i>Listeria</i>, <i>Leptospira</i>....etc.).</li> <li>➤ virale (BVD, IBR).</li> <li>➤ parasitaire (néosporose, toxoplasmose).</li> <li>➤ mycosique (aspergillose).</li> <li>➤ Alimentaire (carence, phytoestrogènes).</li> </ul>

#### 2.2.2.2. Diagnostique Lésionnels :

Le diagnostic nécropsique n'est pas univoque, mais il constitue une forte orientation qui sera confirmée par la suite par l'examen bactériologique des prélèvements réalisés [7].

#### 2.2.2.2.1. Forme gastrique :

- Une entérite catarrhale à hémorragique au niveau de l'iléon et du colon [80] avec des plaques nécrotiques et de la fibrine [14 ; 79].
- Ulcère gastrique chez le veau [79].
- Ganglions mésentériques hypertrophie et hémorragique [14 ; 79 ; 80].
- Hémorragies des séreuses [79; 14].
- Une muqueuse épaissie et hémorragique fréquemment ulcérée [14 ; 79].
- Hypertrophie du foie, de la rate et des reins avec des foyers nécrotiques [14 ; 79 ; 80]
- Contenu intestinal fluide, malodorant, plus ou moins mélangé à du sang [14 ; 79]
- La vésicule biliaire est distendue, épaissie et présente des pétéchies [14 ; 79 ; 80].

#### 2.2.2.2.2. Forme septicémique :

- Une carcasse congestionnée [7 ; 14; 79].
- Des lésions hémorragiques de nombreux organes [7 ; 14 ; 79].
- Des pétéchies sous-muqueuses et sous-séreuses [80], sur la plèvre, l'endocarde, les reins, les méninges [7 ; 14 ; 79].
- Des épanchements dans les grandes cavités [7 ; 14 ; 79].
- Une rate congestionnée [14] et pulpeuse [7 ; 79].
- Une coagulation Intra-Vasculaire Disséminée (CIVD) provoquée par les toxines salmonelliques [7 ; 14].
- 

#### 2.2.2.2.3. Forme génitale :

Caractérisée par :

- Des inflammations peu spécifiques du placenta [14 ; 79].
- Dans certains cas une nécrose ou des hémorragies des cotylédons [14 ; 79].
- Le fœtus présente parfois un œdème sous-cutané, une congestion, une nécrose du foie et des poumons [88].

#### 2.2.2.2.4. Forme pulmonaire :

Une broncho-pneumonie non spécifique avec une atteinte des lobes apicaux [14 ; 79 ; 80], plus ou moins associées à de la pleurésie et de l'emphysème [7 ; 14 ; 79].

Exceptionnellement, des atteintes des voies respiratoires supérieures ont été signalées [88].

#### 2.2.2.2.5. Forme chronique :

Un dépôt fibrineux recouvre une muqueuse ulcéro-nécrotiques [89], qui se coagule donnant de fausses membranes (omelettes fibrineuses) [14].

Présence de plages nécrotiques sur l'intestin grêle et sur le côlon [7]. Des lésions d'ostéomyélite des os des membres distaux étaient décrites dans des cas d'infection chronique à *Salmonella* Dublin [80 ; 89]

#### 2.2.2.3. Diagnostique de laboratoire :

Le recours à l'examen bactériologique sera indispensable pour confirmer la salmonellose [7]. Cette partie sera détaillée dans le chapitre suivant.

#### 2.2.3. Diagnostique épidémiologique :

Il est essentiel de prendre en compte les caractéristiques épidémiologiques de la maladie (morbidity, mortalité, contagiosité...) afin de restreindre le champ d'investigation [14].

#### 2.2.4. Traitement:

Le traitement de la salmonellose se compose de trois volets:

1. Réhydratation afin de remplacer la perte de liquides et d'électrolytes [3].
2. Utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens pour limiter la cascade inflammatoire créée par le relâchement d'endotoxines [3], les corticoïdes ne seront utilisés que dans les cas extrêmes [79].
3. Utilisation judicieuse d'antimicrobiens pour traiter la bactériémie [3], théoriquement les molécules les plus efficaces sont le phénicoles, la colistine, les tétracyclines, les quinolones, les sulfamides, les

pénicillines, les céphalosporines et les aminosides [79], cependant des résistances ont été enregistrées pour certaines antibiotiques (tétracyclines, les sulfamides, les pénicillines) [79], l'utilisation d'antibiotiques pourrait prolonger la durée d'excrétion du germe [3].

### 2.3. Epidémiologie des salmonelloses bovines :

La plupart des maladies résultent de l'interaction collective de facteurs dont l'agent pathogène, l'hôte et l'environnement, formant ainsi un schéma complexe.

Les salmonelloses animales ne font pas exception et présentent elles aussi un schéma complexe qui comprend un ensemble de facteurs et dont l'épidémiologie vétérinaire s'est intéressée afin de réduire ou d'éliminer cette maladie [90].

#### 2.3.1. Source de l'infection :

##### 2.3.1.1. Classification épidémiologique :

Richardson (1973) a décrit 3 types de porteurs : Porteurs passifs, latents et actifs [77].

##### 2.3.1.1.1. Porteurs passifs :

Les Porteurs passifs ingèrent les bactéries, les bactéries traversent l'intestin sans envahir ce dernier, ces animaux excrètent le germe mais cette excrétion cesse quand ils sont éloignés de leur environnement contaminé [77].

##### 2.3.1.1.2. Porteurs latents :

Les bactéries envahissent l'intestin et d'autres organes principalement les nœuds lymphatiques ou elles demeurent en position intracellulaire protégé contre le système immunitaire [77].

Lors d'un stress l'infection peut se réactiver et l'animal devient excréteur [77].

### 3.1.1.3. Porteurs actifs :

Sont les animaux dont l'intestin et les autres organes excrètent de façon continue le germe durant une période prolongée et même demeurent excréteurs à vie [77], on peut distinguer :

- ✓ Les animaux malades et convalescents :

Représentent les sources les moins nombreuses mais les plus intenses de bactéries [23], avec des doses de  $10^8$  à  $10^{10}$  salmonelles/g de fèces ou de tissu placentaire [14 ; 91].

- ✓ Portage asymptomatique :

On distingue alors deux types d'animaux [14] :

Certains présentent une excrétion transitoire, car après passage de la barrière intestinale, les salmonelles sont complètement inactivées par les cellules immunitaires [14].

D'autres deviennent porteurs latents. Les bactéries colonisent et persistent dans les nœuds lymphatiques, notamment mésentériques, et l'infection peut se pérenniser dans l'exploitation. Ces bovins peuvent alors excréter, de façon continue ou épisodique, de l'ordre de  $10^3$  à  $10^6$  bactéries/g de fèces [91].

### 2.3.2. Les animaux domestiques:

Les volailles, Les porcs, les chevaux, Les chats (*Salmonella*. Typhimurium DT104) représentent une source possible de salmonelles pour les bovins [14].

Quoique essentiellement sensibles à *Salmonella* Abortusovis, Les ovins peuvent être porteurs sains d'autres salmonelles telles que *Salmonella* Bovismorbificans auxquelles sont sensibles les bovins, chez ce dernier quelques salmonelloses transmises par les ovins ont été rapportés [92].

Pour la population canine le pourcentage de portage est d'environ 1%, un pourcentage qui augmente à 10% Selon OUZROUT et al (1981) si les chiens souffrent de troubles digestifs, mais il semble y avoir plus d'infectés latents que de malades [14].

Une atteinte simultanée de chiens et de bovins a été rapportée [92].

### 2.3.3. La faune sauvage :

Les rats et les souris représentent les principaux porteurs de salmonelles avec un pourcentage de 22%, d'autres mammifères, oiseaux, reptiles et même les chauves-souris présentent un portage [93 ; 94].

### 2.3.4. L'homme :

La salmonellose est une zoonose [14 ; 77 ; 80], l'homme est susceptible d'être une source via les fèces quand il est malade ou un vecteur de salmonelles pour les bovins a travers ses mains, ses habits, ses bottes [92].

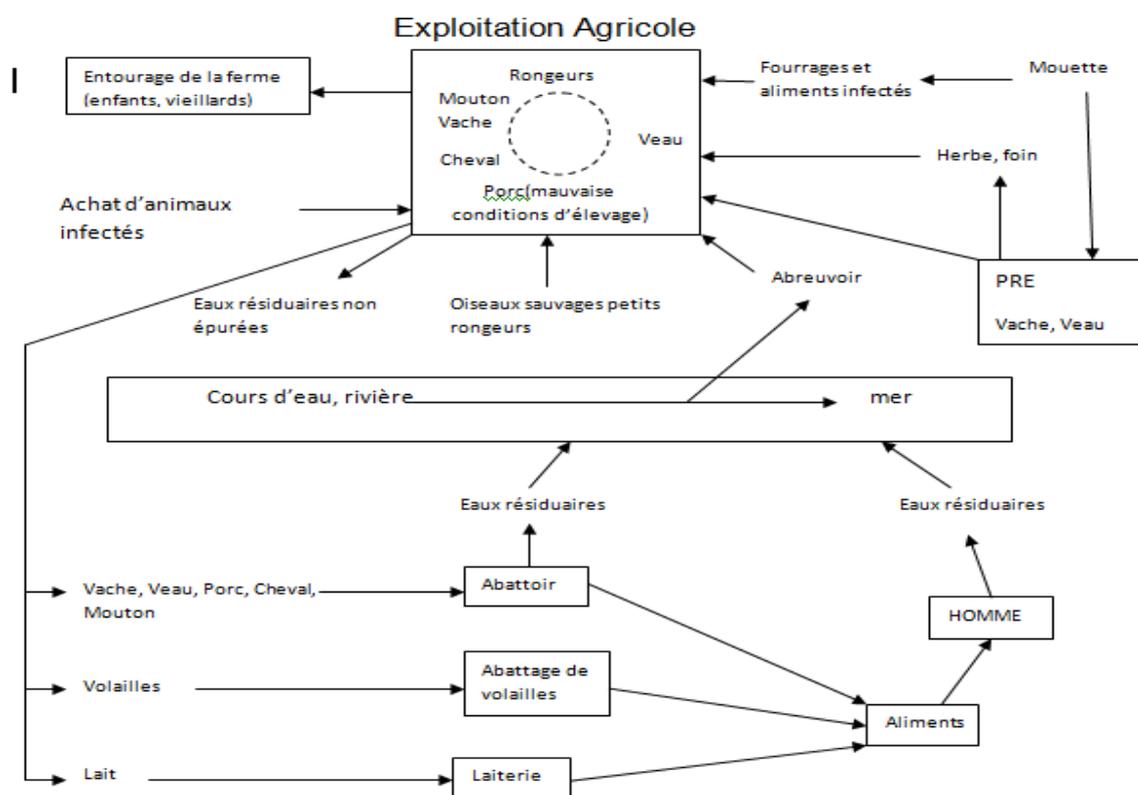


Figure 2.1: Cycle épidémiologique schématique des salmonelles [95].

## 2.4. Modalité de transmission :

### 2.4.1. Transmission entre troupeaux :

L'introduction des salmonelles dans un troupeau dépend de plusieurs facteurs [77], mais en général plus le troupeau est isolé de l'environnement extérieur, plus le risque d'introduction de salmonelles est minime [96].

Le commerce avec les troupeaux infectés est connu pour être la cause principale de l'introduction de salmonelles dans un troupeau sain [97], l'animal peut parvenir d'un troupeau infecté ou être infecté au cours du transport [98 ; 99], avec un risque quatre fois plus élevé quand les animaux transite par les marchés ou les revendeurs [100].

Les porteurs posent un risque important une fois déplacés de leur troupeau d'origine, parce que le stress du transport et le changement d'environnement, de l'alimentation etc. peut mener à augmenter l'excrétion fécale sans symptômes apparents [77].

Le partage des pâturages par différents troupeaux représente un facteur de risque important pour l'introduction de salmonelles dans un troupeau sain [101 ; 102].

La transmission entre troupeaux peut être aussi le fruit d'un vecteur inanimé (tracteur, machine...etc.) ou animé (chats, chiens, rongeurs...etc.) [77].

#### 2.4.2. Transmission à l'intérieur du troupeau :

La transmission à l'intérieur du troupeau dépend de plusieurs facteurs a savoir la structure du bâtiment, la densité, l'hygiène et surtout autour du vêlage [77], la transmission peut être :

##### 2.4.2.1. Directe :

Elle peut se faire soit d'une façon :

###### ➤ Horizontale

Résulte d'un contact direct entre un animal sain et un animal excréteur [14]

Généralement la contamination se fait par les voies suivantes

- ✓ La voie orale représente la voie la plus fréquente avec l'ingestion d'aliments ou d'eau souillée [14 ; 103], léchage, coprophagie [14 ; 104] la tétée (excrétion mammaire) [14].
  - ✓ La voie aérienne, dans certaines conditions d'hygrométrie et de densité élevée [14 ; 105], outre les formes pulmonaires de salmonellose, cette porte d'entrée peut conduire à une atteinte digestive secondaire après bactériémie [14].
  - ✓ La voie conjonctivale (mineures) [14].
- Verticale

Une transmission transplacentaire est possible en particulier avec *Salmonella* Dublin [14 ; 106], provoquant ainsi une naissance prématurée [14] ou un veau mort-né [14 ; 80 ; 107].

#### 2.4.2.2. Transmission indirecte :

Se fait par l'intermédiaire de l'environnement [14 ; 108] c'est-à-dire via le matériel souillé, l'abreuvement, voire l'air [14 ; 109].

### 2.6. L'excrétion des salmonelles :

#### 2.6.1. L'excrétion fécale :

La principale source de salmonelles sont les fèces des animaux malades et des porteurs asymptomatiques [7 ; 14 ; 77 ; 80].

Les traitements antibiotiques n'éliminent généralement pas l'excrétion, mais au contraire pourrait même l'augmenter ou la prolonger [3 ; 7].

L'excrétion fécale de salmonelles chez les bovins est de l'ordre de  $10^2$  à  $10^6$  bactéries par gramme de fèces [77] et peut même atteindre  $10^8$  par gramme de fèces pour certains bovins en phase clinique [7].

L'excrétion peut même se prolonger après un épisode clinique, selon SOJKA (1974) certaines vaches pouvaient excréter entre  $10^5$  et  $10^6$  bactérie par gramme de fèces 30 mois après l'épisode clinique et peut même atteindre  $10^{10}$  [7].

Selon MORISSE (1983), en période péripartum, on assiste à une augmentation spectaculaire du pourcentage des sujets excréteurs (60 à 90 %) [7].

MORISSE (1989) trouve que 6,9 % des 145 des sujets prélevés (sans antécédents cliniques connus de salmonellose) sont également porteurs de salmonelles [7].

#### 2.6.2. L'excrétion génitale :

Elle prend une place importante car elle détermine la contamination in utero du fœtus, et que cet organe présente les titres les plus élevés de salmonelles, de l'ordre de  $10^9$  à  $10^{10}$  germes par gramme [7].

### 2.6.3. L'excrétion dans le lait :

Décrite dans quelques publications [7] une vache peut excréter des salmonelles dans le lait pendant 2,5 ans [14] avec des titres qui peuvent atteindre  $10^2$  à  $10^5$  par ml de lait d'un ou de plusieurs quartiers [77], souvent de façon intermittente [77].

## 2.8. Prophylaxie :

### 2.8.1. Sanitaire :

Les mesures de prévention sanitaire à savoir des mesures d'hygiène et de conduite d'élevage classiques.

La gestion des animaux doit se faire par lot, donc une séparation des espèces et des différentes classes d'âge et très importante, ainsi que l'emploi de pédiluve efficace pour réduire le nombre d'élevage infecté [14 ; 79].

De plus l'emploi d'isolement pour les sujets sensibles ou potentiellement excréteurs, MARTEL (1985) recommande de poursuivre l'isolement des malades et des convalescents pendant au moins deux semaines après la fin des épisodes cliniques [14].

L'eau doit être propre, elle doit être disposée de manière à ne pas être souillée par les matières fécales, des analyses bactériologiques [79] annuelles de l'eau permettent de s'assurer de sa qualité [14].

L'hygiène doit être rigoureuse [79] notamment celle des aliments, protéger les aliments des souillures des bovins, des rongeurs, des oiseaux... tant au niveau du stockage que de la distribution [14].

La maîtrise du risque de salmonelles au pâturage est liée à l'application des bonnes pratiques d'élevage notamment la gestion des effluents et la pratique de l'épandage [14].

Les déjections bovines représentent une des sources de contamination la plus importantes, donc le lieu de stockage doit être suffisamment étanche afin d'éviter de polluer l'environnement ou l'aliment [14 ; 79].

Surveiller certaines interventions stressantes qui favoriseraient l'excrétion de salmonelles (transport, changement de pâture, vaccination...) [14].

Les cadavres et avortons seront au plus vite évacués vers le clos d'équarrissage après un éventuel stockage dans un lieu étanche, inaccessible aux animaux domestiques ou sauvages et que l'on prendra soin de désinfecter [14].

En élevage laitier contaminé, le veau nouveau-né sera retiré à sa mère malade le plus rapidement possible et sera nourri avec du colostrum et du lait provenant d'une vache saine [14].

### 2.8.2. Médicale :

La vaccination en milieu contaminé, les seuls vaccins disponibles contiennent les sérotypes Dublin et Typhimurium (ex : Salmopast ND), sachant que la vaccination n'offre pas d'immunité croisée [14 ; 79].

Le protocole de vaccination comprend deux injections de primo-vaccination espacées de 3 semaines et une injection annuelle de rappel [14].

DESJOUIS et ses collègues (1997) privilégient trois catégories d'animaux pour la vaccination:

- immunisation active des animaux devant être introduits dans un lot où a sévi la salmonellose sous forme clinique.
- immunisation passive des veaux via le colostrum par vaccination des mères.
- immunisation active des veaux issus de mères non vaccinées ou vaccinées (primo-vaccination effectuée à partir de la troisième semaine d'âge) [14].

Les vaccins tués (salmonelles entières ou extraits) confèrent une protection correcte chez l'animal de plus, ce sont des vaccins faciles à utiliser et peu coûteux, mais ils n'induisent pas de réponse de type cellulaire, importante surtout pour la protection à long terme et ils n'entraînent généralement pas de réponse locale sécrétrice d'IgA potentiellement importante pour la protection des muqueuses [14].

L'utilisation de souches atténuées stimulerait les réponses humorales et cellulaires [110], Cependant ces souches conservent une virulence résiduelle [111].

Le portage et l'excrétion sont diminués et la vaccination favorise une protection des animaux contre la maladie et permet ainsi de limiter l'impact économique et la contagiosité [14].

Le recours aux autovaccins assure l'acquisition d'une immunité permettant aux animaux de se protéger non pas contre une infection mais contre la maladie [112].

Le recours au traitement systématique généralisé l'ensemble du troupeau en présence de cas cliniques semble se développer ces dernières années, mais les opinions concernant l'efficacité d'une telle pratique divergente [14].

## CHAPITRE 3

### METHODES DE DETECTION ET DE CARACTERISATION DES SALMONELLES

Le diagnostic de salmonellose ne pourra être établi qu'après confirmation par des examens de laboratoire [14].

Trois éléments concernant les salmonelloses bovines rendent le recours au laboratoire incontournable :

- D'une part, les conséquences économiques dues à la forte morbidité et la mortalité conduisent le praticien à devoir établir un diagnostic de certitude le plus rapidement possible ;
- D'autre part la résistance fréquente des salmonelles aux antibiotiques et la nécessité de prendre des mesures efficaces à moindres coûts obligent la réalisation d'un antibiogramme ;
- Enfin, la possibilité de transmission des salmonelles par la consommation de lait, de viande, ou par contact direct avec des matières contaminées à l'être humain [7]

#### 3.1. Les prélèvements :

Les commémoratifs doivent accompagner l'envoi et tout traitement antibiotique antérieur au prélèvement doit être signalé [14]

##### 3.1.1. Nature du prélèvement :

Des prélèvements de muqueuse rectale ont été proposés afin d'isoler davantage de salmonelles mais cette méthode invasive est risquée [113].

##### 3.1.2. Précautions de réalisation et d'acheminement :

En cas d'autopsie, le prélèvement réalisé doit être aseptique, avant toute ouverture du tube digestif, de façon à ne pas souiller celui-ci par la flore

intestinale, et rapidement après la mort pour les mêmes raisons. Les prélèvements seront conditionnés séparément [7 ; 14]

L'acheminement au laboratoire sera réalisé dans des flacons stériles à bouchon à vis [14], jamais dans un flacon à bouchon à pression, encore moins dans un gant de fouille, car ces deux conditions sont à l'origine de projections lors de leur ouverture au laboratoire, suite aux fermentations qui peuvent apparaître [7].

Les organes sont acheminés sous couvert de froid à 4°C [14] dans un emballage isotherme [7]. La congélation diminue la sensibilité de la méthode bactériologique à cause du stress subi par les bactéries. Ainsi elles perdent la capacité de se re-multiplier directement sur les milieux d'isolement. Cela nécessite, conséquemment, des étapes complémentaires de revivification [7 ; 14].

Un traitement antibiotique préalable rend le diagnostic bactériologique inefficace dans la plupart des cas [7].

### 3.2. Diagnostique bactériologique :

Il y a une quantité conséquente d'informations dans la littérature scientifique au sujet des méthodes d'isolement des salmonelles.

Ces méthodes varient en fonction de la nature du prélèvement, cela en adaptant ce protocole afin d'augmenter les chances d'isoler les salmonelles présentes dans le prélèvement [114].

Ces méthodes peuvent être efficaces pour un type de prélèvement et médiocres pour un autre, Parmi elles, des études montrent une variation significative dans la détection des salmonelles entre ces différents protocoles [114]

Ainsi les micro-organismes pathogènes dans les aliments, dans l'environnement ou bien dans les matières fécales sont généralement présents en petit nombre et peuvent entrer en concurrence avec une flore saprophyte, abondante dans certaines matrices alimentaires [114].

Indépendamment de la nature de l'échantillon, l'isolement des salmonelles inclut généralement :

- Une culture directe ;
- Un pré-enrichissement non-sélectif ;

- Un enrichissement sélectif ;
- La culture sur une gélose sélective ;
- Une confirmation biochimique et sérologique des colonies suspectes [114]

### 3.2.1. La culture directe :

La culture directe sur un milieu solide excepté dans le cas d'une infection aigue est généralement non productive, d'une part à cause du faible nombre de germes et d'autre part à cause de la flore associée [114].

Sachant que les organes internes sont normalement stériles, dans la situation d'une manifestation aigue systémique ou entérique, les échantillons peuvent être cultivés directement sur des milieux de cultures non-sélectifs (par exemple une gélose au sang ou nutritif) ou faiblement sélectifs (Par exemple une gélose MacConkey), ou sélectifs (par exemple gélose vert brillant, gélose XLD) [114].

### 3.2.2. Le pré-enrichissement non-sélectif :

Des études ont montré que la culture directe et l'enrichissement sélectif de certains types de prélèvements ne donnent pas de bons résultats et que l'utilisation d'un pré-enrichissement non sélectif est nécessaire pour la reprise de la croissance optimale des salmonelles [114]

Dans ces prélèvements les salmonelles sont présentes sous forme endommagées, ces derniers s'ils sont placés dans des conditions favorables peuvent provoquer la maladie mais sont facilement détruits s'ils sont placés dans un environnement sélectif et à haute température [115]

Un pré-enrichissement permet aux cellules blessées de se ressusciter avant le transfert dans un environnement sélectif d'enrichissement [116]

La reprise du développement des salmonelles n'est pas dépendante de la valeur nutritive du pré-enrichissement [116], donc ces milieux ont été formulés avec un plus grand pouvoir tampon, par exemple l'eau peptonée tamponnée [117].

De même, des études ont démontré que le pré-enrichissement était utile pour l'isolement des salmonelles dans les fèces et les échantillons de l'environnementaux [118 ; 119].

Pendant longtemps, le pré-enrichissement de ces derniers n'a pas été préconisé, parce qu'on pensait que ce pré-enrichissement non-sélectif permettrait la croissance autres germes que des salmonelles et donnerait des faux-négatifs [114].

Une incubation de 18-24h à une température de 35-37°C est recommandée pour permettre la ressuscitation des salmonelles avant le transfert dans un milieu d'enrichissement sélectif [114]

Plusieurs études ont essayé de raccourcir le temps du pré-enrichissement et ont constaté que pour une durée d'incubation de moins de 18h la sensibilité des résultats était amoindrie [116 ; 120 ; 121 ; 122].

Après incubation, une partie du bouillon du pré-enrichissement est transféré dans 10 ml d'un bouillon d'enrichissement sélectif avec un rapport de 1/10, excepté pour le RV ou le rapport est de 1/100 est recommandé [114].

### 3.2.3. L'enrichissement sélectif:

Les milieux d'enrichissement sélectifs empêchent la croissance d'autres bactéries tout en permettant aux salmonelles de se multiplier et d'atteindre des niveaux détectables [114].

#### 3.2.3.1. Les milieux d'enrichissements :

Les milieux d'enrichissements des salmonelles sont très variés, le tableau qui suit regroupe les plus importants et les plus connus de ces milieux :

Tableau 3.1. : Milieux d'enrichissement sélectifs [14 ; 114].

Milieu d'enrichissement	Principe du milieu	Utilisation	Remarques
<b>Bouillon au Tétrathionate</b>	Elaboré par Muller (1923), modifié par Kauffmann (1930, 1935) en lui rajoutant la bile de bœuf et le vert brillant et Jeffries (1959) lui rajouta la novobiocine afin de supprimer la croissance de <i>proteus</i> et de <i>Providencia</i> . De nombreux coliformes inhibés ainsi que les grams positifs inhibés. Les des <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> et les <i>E. coli</i> lactose négatif échappent à sauvant cette action.	37 °C pendant 24 à 48 heures. Une T°C d'incubation de 43°C peut être intéressante dans le cas de produits très contaminés	Plusieurs études ont montré que l'enrichissement en bouillon tétrathionate est meilleur que l'enrichissement en bouillon sélénite.

<b>Bouillon au Sélénite</b>	Trois formules de ce milieu existent Celle Leifson (1936) a formulé le premier bouillon au sélénite. Celle Du nord et Bartram (1953) qui lui ajouta la cystine (Sélénite de cystine (Sc)). Celle Charge et Osborne (1955) qui changea la source d'hydrate de carbone (lactose) par le mannitol et ajouter le taurocholate de sodium et le vert brillant (bouillon sélénite au vert brillant (SBG)), cela afin de supprimer la surcroissance des espèces <i>de proteus</i> et des coliformes. Le sélénium semble réagir avec les groupements soufrés de certains composés cellulaires. La croissance des <i>Proteus</i> et d' <i>E. coli</i> n'est pas retardé indéfiniment sur les milieux au sélénite.	37 °C pendant 12 à 24 heures	Très bons résultats obtenus avec les prélèvements d'origine bovine. NB : les composants de ce bouillon étant nocifs, des précautions doivent être prises pour sa fabrication.
<b>Bouillon Rappaport-Vassiliadis (Bouillon au vert malachite et chlorure de magnésium)</b>	Rappaport <i>et autres.</i> (1956) élaborent un milieu enrichissement en se basant sur la capacité des salmonelles : <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ A survivre dans les pressions osmotiques relativement élevées</li> <li>➤ A se multiplient à un pH bas (pH 5.2).</li> <li>➤ A survivre dans le vert de malachite.</li> <li>➤ A se développé dans des conditions alimentaires minimales.</li> </ul> <p>Plus tard, Vassiliadis <i>et autres</i> (1970, 1976) modifient le milieu en réduisant la concentration du vert de malachite et en incubant les prélèvements a 43°C.</p>	42 °C pendant 24 à 48 heures.	Ce bouillon semble avoir de meilleurs résultats en isolement que le bouillon au Tétrathionate
<b>Milieu semisolide de Rappaport-Vassiliadis (MSRV)</b>	Goossens <i>et autres.</i> (1984) ont développé un milieu semi-solide basé sur le bouillon sélectif d'enrichissement en RV. La différence entre MSRV et le RV était des nutriments en plus un plus grand pouvoir tampon, une concentration du chlorure magnésium diminué et l'addition de la novobiocine.	41.5°C pendant au maximum 24 heures.	Peu recommandé pour les souches de <i>Salmonella</i> immobiles

#### 3.2.4. La température d'incubation :

Généralement les échantillons d'organes internes ayant des niveaux bas de contamination et par conséquent devront être incubés à 35 –37°C, or pour les échantillons intestinaux et de l'environnement qui présentent généralement des niveaux élevés de contamination, des températures plus élevées (40 – 43°C) sont préconisées car les salmonelles sont plus tolérantes pour des températures plus élevées [114]. Généralement, une température de 41 à 42°C est préconisée [114].

Harvey et Thompson (1953) étaient les premiers à rapporter qu'une incubation du bouillon sélénite à 43°C était meilleure qu'une incubation à 37°C avec les échantillons fécaux humains [114].

### 3.2.5. Temps d'incubation :

Sharma et Packer (1969) ont cultivé le bouillon d'enrichissement pendant 6, 9, 12, 15, 18, 24, 30, 36 et 48h et n'ont pas pu isoler les salmonelles avant 12 h et seulement en petits nombres jusqu'à 24h, Grunnet (1975) a trouvé que des temps d'enrichissement de moins de 24h n'étaient pas efficaces et aucun autre avantage de prolonger le temps d'incubation au delà de 48h n'était prouvé; [114 ; 123]

### 3.2.6. Enrichissement secondaire retardé :

L'enrichissement secondaire retardé (DSE) est un processus dans lequel le bouillon d'enrichissement sélectif original (habituellement le bouillon tétrathionate) est maintenu à une température ambiante après incubation initiale de 24h puis réensemencé à nouveau [114].

Si la culture est négative, le bouillon d'enrichissement est gardé à température ambiante pendant 5 –7 jours ; puis 0.5 –1.0 ml de ce dernier est transféré dans 10 ml de bouillon d'enrichissement sélectif frais et incubé à 37°C pendant 18 –24 h ensuite cultivé sur un milieu solide [114]

### 3.2.7. La culture sur une gélose sélective :

La sélectivité implique l'incorporation des substances inhibitrices dans le milieu qui empêchent sélectivement la croissance d'autres bactéries et comportent aussi l'addition des substances qui différencient les colonies de salmonelles des autres bactéries [114].

On recommande qu'au moins deux composants sélectifs soient employés, Par exemple, la combinaison de vert brillant avec de la novobiocine (BGN), la xylose et le tergitol (XLT4) s'est avérée très efficace pour l'isolement des salmonelles [124 ; 125]

Beaucoup de milieux de cultures sélectives sont disponibles pour l'isolement des salmonelles (voir appendice I).

### 3.2.8. Identification des colonies suspectes :

L'identification bactérienne complète de *Salmonella* est basée sur l'identification biochimique et sérologique d'une souche bactérienne pure [7].

Après l'incubation, Trois à cinq colonies suspectées d'être des salmonelles sont choisies et ensemencées en profondeur et en surface du milieu «*Triple Sugar Iron*» (TSI) durant la nuit à 37°C [114 ; 12].

Ceci donne une probabilité raisonnable de détecter des salmonelles et la possible présence de plusieurs sérovars [114].

L'identité des colonies doit être confirmée en fonction des caractéristiques biochimiques [12].

#### 3.2.9. Identification biochimique :

Il est souvent nécessaire de recourir à une identification biochimiquement car d'une part certaines espèces bactériennes (autres que *Salmonella*) peuvent réagir avec les antisérums, d'autre part quelques souches de *Salmonella* ne peuvent être séparées que sur la base de réactions biochimiques ex *Salmonella Pullorum* et *Salmonella Gallinarum* chez la volaille [126].

Divers systèmes alternatifs ont été créés afin de remplacer les procédures biochimiques classiques tels que :

- Galeries miniaturisés : systèmes d'identification standardisés du type galerie API 20E, ID 32 [7 ; 126]
- Systèmes semi-automatisés et automatisés [126].

#### 3.2.10. Classification par sérotype :

L'identification sérologique repose sur la recherche des antigènes Vi (somatiques d'enveloppe), O (somatiques) et H (flagellaires) de *Salmonella* et sur l'application du schéma de Kauffmann White. Elle est effectuée par des agglutinations sur lames avec les sérums appropriés [7 ; 114 ; 126].

#### 3.2.11. Méthodes microbiologiques de référence :

Les bactériologistes ont sans cesse tenté d'améliorer les techniques de détection des salmonelles. Une des premières voies d'amélioration réside dans l'utilisation de milieux semi-solides, exploitant la propriété de mobilité de la plupart des salmonelles comme le MSR/V qui permet la détection d'un petit nombre de salmonelles présentes dans l'échantillon parmi une flore compétitrice importante (de l'ordre de 10 UFC / 25 g) [10]. L'ISO («*International*

*Standard Organization*) prévoit l'utilisation de MSR/V comme milieu d'enrichissement pour *Salmonella* (voir appendice J) [12].

### 3.2.12. Méthodes alternatives :

Ces méthodes alternatives peuvent être employées à remplacer partiellement ou totalement les méthodes conventionnelles, permettant d'une part un gain de temps et d'autre part le traitement d'un plus grand nombre d'échantillon [126].

Ces méthodes alternatives peuvent être introduites à différentes étapes du protocole classique, mais généralement toutes ces techniques impliquent un pré-enrichissement et parfois même un enrichissement sélectif [126]

#### 3.2.12.1. L'utilisation de milieux semi-solides :

Le MSR/V en plus de la formule classique (RV) il offre la possibilité d'exploiter la propriété de mobilité de la plupart des salmonelles [14 ; 126].

#### 3.2.12.2. Les systèmes automatisés et semi-automatisés :

Ils utilisent différentes technologies comme le système GNI d'AutoMicrobic qui use de différents tests biochimiques, interprétés par un lecteur optique relié à un ordinateur pour donner le profil d'identification de la bactérie [127]

#### 3.2.12.3. HGMF (hydrophobic grid membrane filter) :

Une autre modification des méthodes conventionnelles est la membrane hydrophobe de filtration.

Pour la détection des salmonelles, cette méthode démarre par un pré-enrichissement conventionnel, suivie d'enrichissement sélectif de 6 h.

Ensuite cet enrichissement sélectif est filtré par un HGMF et incubé sur l'agar Ef-18 [128].

Les résultats négatifs sont obtenus en 42 h, pour les résultats positifs (colonies vertes sur agar Ef-18) on n'a besoin que de 24 h additionnel pour la confirmation.

#### 3.2.12.4. MUCAP (methyl umbelliferyl caprylate fluorescence):

Technique facile et rapide, elle permet la détection des salmonelles directement sur des milieux tels que la gélose vert brillant, le milieu Hektoen et le XLD [126].

Une goutte du réactif est ajoutée à chacun des colonies, après 3 minutes une fluorescence bleue forte se produit. Elle est observée sous la lumière ultra-violet (longueur d'onde 366 nm) [126].

#### 3.2.12.5. Détection électrique :

La croissance microbienne dans un milieu de culture se traduit pas un changement de conductibilité, Le temps nécessaire pour atteindre une valeur seuil de détection est inversement proportionnelle au inoculum initial [126].

Ces systèmes sont largement répandus dans l'industrie agro-alimentaire, ils sont faciles à manipuler, entièrement automatisés et permettent d'analyser un grand nombre d'échantillons [126].

#### 3.2.12.6. Techniques immunologiques :

Les techniques immunologiques comportent le plus grand nombre de méthodes alternatives actuellement disponibles [126] :

➤ **ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay):**

Technique basée sur le principe du sandwich elle requiert l'usage d'un anticorps sur lequel est greffé une enzyme (ou d'un antigène) dont la présence est détectée par l'addition du substrat correspondant [12]

Elle requièrent un pré-enrichissement et/ou un enrichissement sélectif durant au moins 16-24 h, la limite de détection varie entre  $10^3-10^5$ cfu ml<sup>-1</sup> [126] De nombreux systèmes automatisés existent (ex : TECRA OPUS) [12].

#### 3.2.12.6. Immuno-capture :

Basée sur l'enrobage de particules magnétiques par des Ac. Anti-*Salmonella* mélangés au liquide suspecté de contenir des salmonelles. Une fois les bactéries cibles capturées elles seront détectées par un KIT Elisa ou des

ensemencements sur géloses sélectives ou par le Test PCR ce qui permet au moins de réduire d'une journée le temps nécessaire à la méthode conventionnelle pour détecter les salmonelles [129].

#### 3.2.12.7. Méthodes génotypiques :

##### 3.2.12.7.1. Technique PCR d'amplification génomique :

Contrairement à ce que l'on pouvait attendre et malgré une meilleure sensibilité (90%), cette technique n'est utilisée que pour confirmer les résultats obtenus par isolement bactérien [12].

#### 3.3. Sensibilité et spécificité de la culture bactériologique des fèces :

Cette méthode souffre d'une faible sensibilité et ce problème est encore plus criant lorsqu'il s'agit de détecter les animaux qui sont porteurs asymptomatiques. De plus, la culture n'est pas non plus parfaitement spécifique à cause de l'existence de porteurs passifs qui peuvent excréter des salmonelles de façon transitoire, sans pour autant être infectés [3].

Les résultats d'une étude expérimentale sur l'effet de la concentration de *Salmonella* Typhimurium dans des échantillons de fèces sur la probabilité d'isolement de *Salmonella* en culture semblent indiquer que la probabilité d'isoler des salmonelles était presque nulle (0 à 4%) pour les concentrations de  $10^{-2}$  CFU/mL ou moins et très élevée (90% et plus) pour des concentrations de  $10^4$  CFU/mL et plus et pour des concentrations intermédiaires ( $10^{-1}$  à  $10^3$  CFU/mL), la sensibilité variait de 16 à 83% [3]

Pour la comparaison de l'écouvillonnage rectal et du prélèvement d'une quantité de fèces pour la culture de salmonelles, une étude sur des porcelets infectés expérimentalement et une autre sur l'être humain ont démontré que le prélèvement de matières fécales était meilleur que l'écouvillonnage [3].

#### 3.4. Antibiogramme :

La détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries pathogènes est essentielle pour détecter les souches résistantes et orienter le clinicien dans le choix de l'antibiotique.

La méthode de diffusion en gélose utilisant des disques chargés d'antibiotiques est particulièrement adaptée à la détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne à croissance rapide comme les salmonelles vis-à-vis de plusieurs antibiotiques (en principe, on utilise au moins une molécule représentative de chacune des principales familles d'antibiotiques) [130]

Cette méthode est standardisée afin d'être interprétable et de permettre l'exploitation de l'ensemble des résultats obtenus, le diamètre d'inhibition est comparé à la valeur critique proposée pour chaque anti-infectieux pour définir la catégorie des sensibilités critiques [130].

## CHAPITRE 4

### ETUDE EXPERIMENTALE

#### 4.1. Problématique et objectifs :

Les intoxications alimentaires peuvent causer des troubles graves tel que les insuffisances rénales, des décès chez les sujets vulnérables (personnes âgées et les enfants), ils font suite à la consommation d'un aliment qui est devenu toxique par la présence et la multiplication d'un germe dans ce dernier.

Plusieurs bactéries peuvent être responsables de ces intoxications dont les salmonelles.

Qu'elle soit d'origines animales, humaines ou d'autres origines, *Salmonella* spp. joue un rôle important dans ces intoxications de part la nature grave des troubles qu'elles peuvent provoquer et de part leur fréquente association à ces intoxications, sans oublier le caractère de multi-résistance aux antibiotiques de certaines souches (*Salmonella* Typhmrium DT104).

Produire un aliment sûr représente un réel défi pour l'industrie agro-alimentaire et pour les acteurs de la restauration, l'apparition de ces intoxications témoigne d'un échec des procédés de fabrication, conséquence probable; d'une mauvaise adaptation des règles d'hygiène, dus à une mauvaise évaluation du risque de contamination.

Limiter ces intoxications passera sûrement par l'évaluation de ce risque, cela à travers l'étude des modalités de contamination, la qualité sanitaire de la matière première ainsi que l'étude du réservoir de ces germes, ces études nous fourniront des particularités propres à chaque situation ce qui se traduira par des mesures plus adaptées.

Tout on s'interrogeant sur ce risque, sa présence, son ampleur et sa possible association avec un phénomène, on a essayé d'apporter notre contribution à travers une enquête dans une commune de la wilaya de Tizi-Ouzou, cette enquête porte sur le portage asymptomatique des salmonelles au niveau des matières fécales et de son éventuelle excrétion dans le lait lors d'une mammite, pas seulement par soucis de curiosité scientifique mais par nécessité d'obtenir des informations sur la situation du terrain algérien.

Et pour cela nous avons fixé comme objectif de :

- ✓ Rechercher et caractériser le germe *Salmonella* spp. dans les matières fécales d'origine bovine avec la méthode de référence nommé ISO 6579 [153 ; 154 ; 155].
- ✓ Rechercher et caractériser le germe *Salmonella* dans le lait mammitieux d'origine bovine.
- ✓ Etudier le profil de sensibilité aux antibiotiques des *Salmonella* spp. isolées.
- ✓ Recueillir des informations sur certaines pratiques d'élevage à travers une fiche d'enquête.

4.2. Cadre de l'étude :

La wilaya de Tizi-Ouzou est limitée au sud par la wilaya de Bouira, au nord par la mer méditerranéenne, à l'ouest par la wilaya de Boumerdès et enfin à l'Est par la wilaya de Bejaia.

Elle est constituée de 67 communes et possède un grand cheptel bovin, la majorité de ces bovins sont détenus par le secteur privé avec un effectif de 104167 têtes dont 14802 bovins laitiers moderne, une centaine de bovins élevés dans les fermes pilotes à savoir la ferme pilote de Draa Ben Khedda (DSV 2011).

4.3. Matériel et Méthodes :

La présente étude a été conduite du mois de Mai 2013 au mois de janvier 2014 et s'est déroulée en deux étapes :

#### 4.3.1. Premier Etape : Sur le terrain :

##### 4.3.1.1. L'échantillonnage :

##### 4.3.1.1.1. Les prélèvements de matières fécales :

Notre étude a porté sur une seule commune de la wilaya de Tizi-Ouzou à savoir la commune d'Ouaguenoun, cela pour des raisons de manque de moyens logistiques, cette commune compte un effectif de 2884 têtes bovines.



Figure 4.1: situation géographique et commune voisine de la commune d'Ouaguenoun.

Les prélèvements ont été effectués dans huit localités sur les douze localités que comporte cette commune à savoir :

- Tikobaine, Djebba, Amallou, Tchala-ouati, Agouni-ouzaraz, Boudchicha., Khechabna, Lazib-ouheddad.

Les prélèvements ont été effectués chez les éleveurs qui étaient joignables au moment de la récolte et qui ont bien voulu participer à ce travail, sur les animaux présent à l'intérieure de l'écurie.

##### 4.3.1.1.2. Les prélèvements de lait mammitieux :

Notre étude a porté sur huit communes de la wilaya de Tizi-Ouzou, dans lesquelles des pots de prélèvements stériles ont été distribués à dix-neuf vétérinaires privés, qui ont voulu participer à ce travail (voir appendice A).

##### 4.3.1.2. Fiche d'enquête:

Nous avons établi une fiche d'enquête par élevage, dans laquelle nous

avons relevé certaines pratiques d'élevage vis-à-vis de la problématique posée (voir appendice B).

Une autre fiche d'enquête accompagnée chaque prélèvement de lait mammitéux était remis aux vétérinaires praticiens (voir appendice C).

#### 4.3.1.3. Prélèvements :

##### ➤ matières fécales

Nous avons effectué nos prélèvements au cours de plusieurs visites dans les régions concernées par l'étude, en moyenne chaque 15 à 20 jours nous programmions une sortie à destination d'une ou deux régions au maximum.

Devant la difficulté d'effectuer un échantillonnage aléatoire vu l'absence de moyens logistiques (impossibilité d'atteindre tous les élevages tirés au sort), de l'absence d'une base de données précise sur la taille des effectifs (vente d'animaux) et la localisation exacte des élevages (surtout les élevages familiaux), de plus le risque de refus de certains propriétaires constitue un réel problème.

Nous nous sommes résignés à faire un échantillonnage à choix raisonné, dans lequel nous contactons un à deux éleveurs qui étaient favorables à la participation à notre étude, puis ces derniers se chargent de nous orienter vers d'autres élevages.

Une fois à l'intérieur des élevages les animaux prélevés sont les animaux accessibles (attachés) et ceux que l'éleveur nous permettait de prélever (dans la plupart des cas la majorité des animaux).

Au minimum 50g de matière fécale directement du rectum était prélevé par animal dans un pot stérile ou un sac à prélèvement stérile, sur lesquelles sont collés des étiquettes où le sexe et l'âge de l'animal est marqué, puis ces prélèvements sont acheminés au laboratoire sous froid et analysés après un délai maximal de 48h après leur récolte.

Au total nous avons effectué 12 sorties à destination de huit régions dans lesquelles chaque fois un nombre moyen de 15 à 30 prélèvements étaient effectués.



Figure 4.2 : Prélèvements de matières fécales dans des flacons stériles et des sacs stériles [Photos personnelles].

➤ Lait mammitieux :

Non avons contacté les vétérinaires qui exercent dans les huit régions concernées par notre étude. Les vétérinaires qui ont voulu participer à notre étude, nous leurs avons fourni des pots de prélèvement ainsi qu'une fiche d'enquête à remplir pour chaque prélèvement, puis nous leurs avons rappelé la méthode de prélèvement à suivre (voir appendice D).



Figure 4.3 : Prélèvements de lait mammitieux dans des flacons stériles [Photos personnelles].

#### 4.3.2. Deuxième étape : Au laboratoire

Les prélèvements sont acheminés sous froid au Laboratoire Régional Vétérinaire de Draa Ben khedda, wilaya de Tizi-Ouzou, au niveau de ce dernier deux type de technique étaient utilisées :

- L'une pour les prélèvements de lait mammitieux, comportant l'utilisation du milieu B.H.I.B pour l'enrichissement, des milieux sélectifs pour l'isolement ainsi qu'une identification adéquate pour chaque espèce bactérienne isolée.
- L'autre qui est la méthode de référence ISO 6579 [153 ; 154 ; 155] pour la recherche de *Salmonella* spp. dans les prélèvements de matières fécales.

##### 4.3.2.1. Protocole :

Les prélèvements de matières fécales sont analysés après un délai de 24h à 48h après leur récolte. Durant cette période, ils sont conservés sous froid a 4°C.

Pour les prélèvements de lait mammitieux, les vétérinaires nous contactaient par téléphone après avoir effectué le prélèvement. S'il y a possibilité de l'envoyer avant 48h il l'envoie, sinon on se déplaçait pour le récupérer. Durant cette période le prélèvement est toujours conservé sous froid a 4°C.

##### 4.3.2.2. Méthode bactériologique ISO 6579:

###### 4.3.2.2.1. Pré-enrichissement dans un milieu non sélectif liquide :

Cette phase correspond à la préparation de la suspension en utilisant de l'eau péptonée tamponnée qui contient essentiellement des peptones trypsiques, source d'azote destinée à revivifier les cellules bactériennes.

En milieu aseptisé et sous bec benzen, nous procédons à la préparation de la solution en ajoutant à 25g de matières fécales 250 ml (ou 12.5g dans 125ml) d'eau péptonée tamponnée de manière à obtenir une dilution de 1/10.

La solution ainsi obtenue est incubée durant 18-20h dans une étuve réglée à 37°C.



Figure 4.4 : Pré-enrichissement des prélèvements de MT dans d'EPT a 1/10 [Photos personnelles].

#### 4.3.2.2.2. Enrichissement dans des milieux sélectifs

##### ➤ Le milieu MSRV:

La préparation du milieu se fait en additionnant 2% de la Novobiocine (inhibition de la croissance des bactéries gram positif) avant de couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

Ensuite 3 gouttes du bouillon de pré-enrichissement sont déposées séparément sur le milieu MSRV (OXOID, ENGLAND), ce qui correspond à une quantité de 0,1ml. Les boîtes sont incubées sous couvercle en haut dans une étuve à une température de  $41,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ , pour une durée de  $24\text{h} \pm 2\text{h}$ .

Le milieu MSRV est un milieu semi-solide par conséquent la lecture des boites se fait par l'examen des zones de migration qui doivent être supérieures à 20 mm (Voir figure 4.6). Si cette migration est confirmée (supérieure à 20mm), un inoculum est prélevé de la zone de migration et ensemencé sur le milieu XLD et Hektoine.

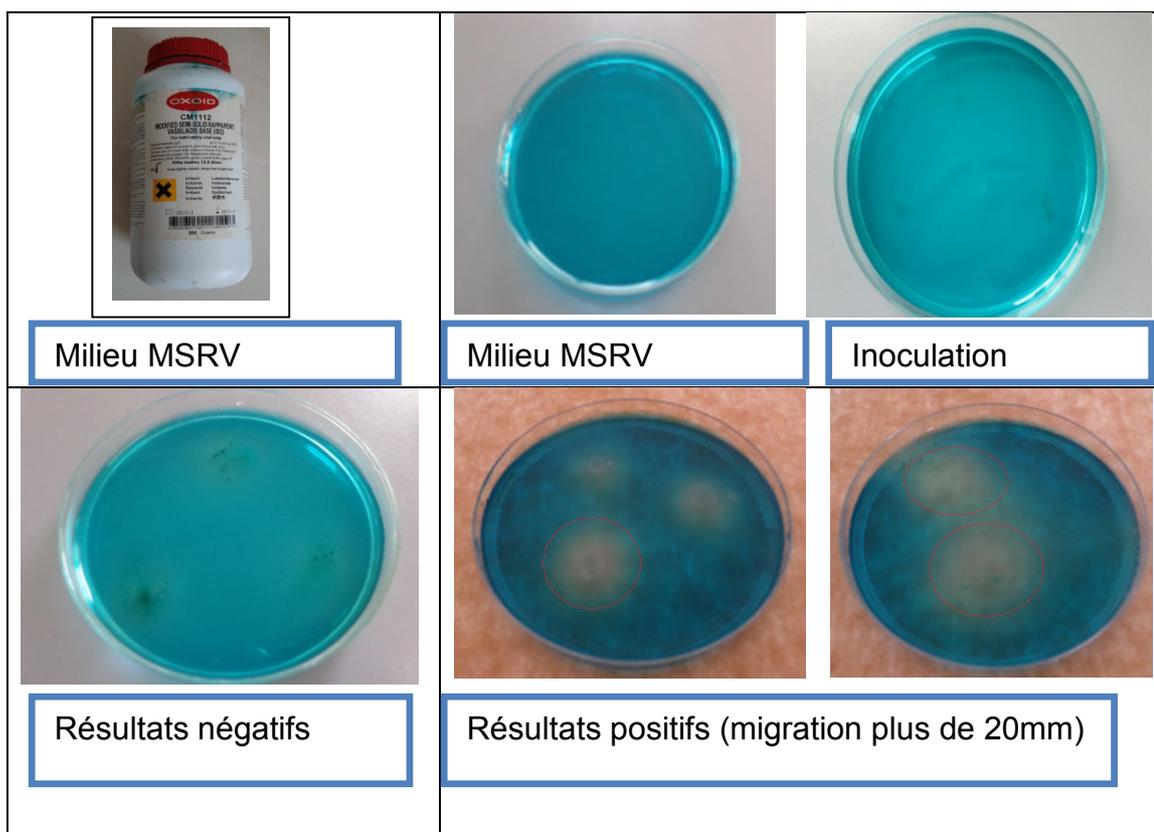


Figure 4.5 : Enrichissement des prélèvements de MT dans le milieu MSRV [Photos personnelles]

➤ Le bouillon MKTTn :

Le bouillon MKTTn est un milieu d'enrichissement sélectif pour *Salmonella*. La voie MKTTn de la méthode U47-100 a été effectuée en parallèle, elle consiste à inoculer 1 ml de la culture du Pré-enrichissement dans 10 ml du bouillon MKTTn (OXOID, ENGLAND) et incubé pendant  $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$  à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .



Figure 4.6 : Enrichissement des prélèvements de MT dans le milieu MKTTn [Photos personnelles]

#### 4.3.2.2.3. Isolement sur milieux sélectifs solides :

La troisième étape consiste à piquer une anse de platine dans la zone externe de migration et à ensemencer cet inoculum dans deux milieux sélectifs :

- Le milieu XLD (BIMERIEUX, FRANCE), l'aspect des colonies est rouge, avec souvent un centre noir (figure 4.7).
- Le milieu Hektoen (HK) (Institut Pasteur d'Alger), l'aspect des colonies de *Salmonella* est bleu verdâtre avec ou sans centre noir (figure 4.8).

L'ensemencement a été fait à l'aide de la méthode de strie, les boîtes de milieux gélosés ainsi ensemencées, seront incubées durant  $24\text{h} \pm 3\text{ h}$  dans une étuve réglée à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .

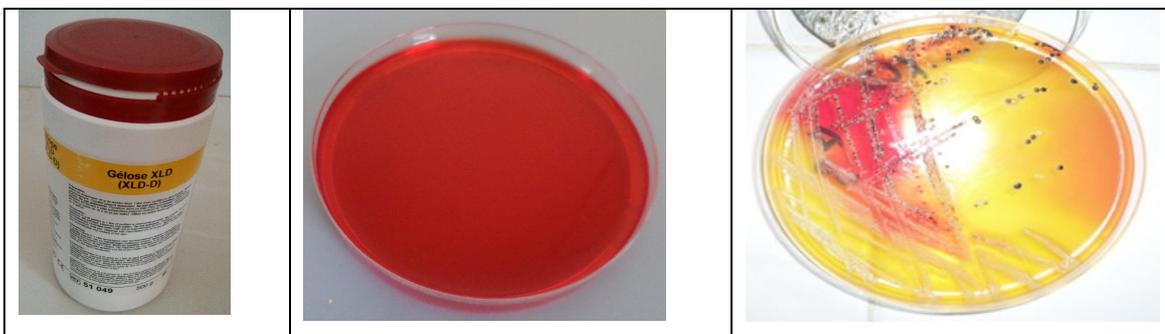


Figure 4.7: Aspect des colonies de salmonella sur milieu XLD (à droite)  
[Photos personnelles].

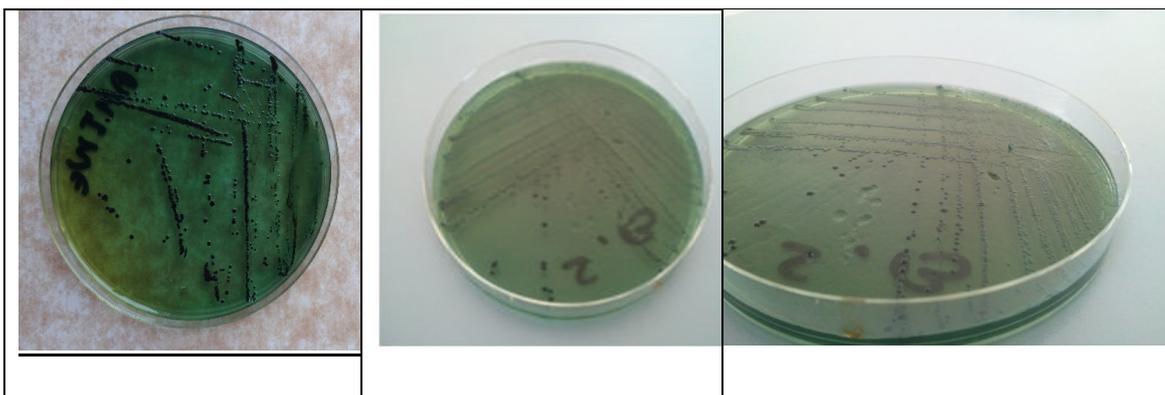


Figure 4.8: Aspect des colonies de salmonella sur milieu Hektoen  
[Photos personnelles].

#### 4.3.2.2.4. Purification :

Les colonies caractéristiques de *Salmonella* spp. (Généralement trois colonies) sont prélevées de chaque boîte du milieu sélectif (XLD et HK) puis purifiées.

#### 4.3.2.2.5. Identification :

##### ➤ Biochimique :

Les caractéristiques biochimiques nous permettent de distinguer les bactéries de genres et d'espèces différentes en détectant les différences entre leurs métabolismes.

Ces caractéristiques biochimiques sont étudiées au niveau du laboratoire par des tests biochimiques différents, chaque test biochimique fournit des informations qui nous permettent de limiter le champ de recherche (caractère de famille, de genre, d'espèce)

Chaque colonie présomptive est ré-isolée sur GN (18-24h à 37°C) et soumise à une mini galerie (KIA/TSI, oxydase, urée indole, citrate de simons, manitol mobilité) biochimiques d'orientation, puis soumise à une confirmation avec une galerie miniaturisée API 20E (voir figure.4.9)

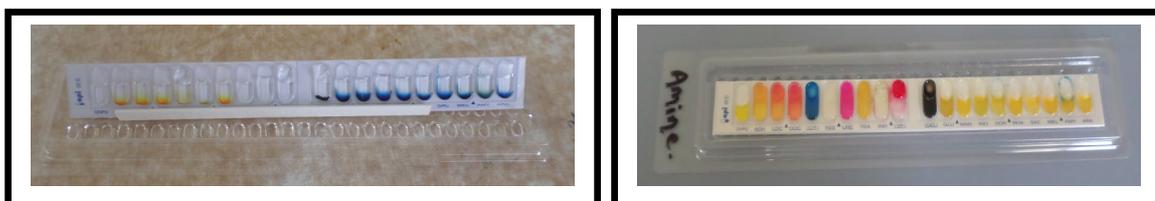


Figure 4.9: galerie miniaturisée API 20<sup>E</sup>  
[Photos personnelles].

##### Sérologique :

On se basant sur le schéma de Kauffmann-White, la méthode d'agglutination sur lame a été réalisée au niveau du laboratoire, en utilisant des sérums d'agglutinants polyvalents et monovalents (Pour la technique voir appendice F).



Figure 4.10: Réaction positive d'une agglutination sérologique sur lame  
[Photo personnelle].

#### 4.3.2.2.6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques :

Le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* identifiées biochimiquement, confirmé sérologiquement a été testé.

Nous avons utilisé la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé Mueller-Hinton, préconisée par le CLSI ,recommandée par l'OMS et adoptée par le réseau national de surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques, cette technique qui figure dans le document de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (6<sup>ème</sup> édition de 2011) et figure aussi dans ce dernier la liste des antibiotiques testés (voir appendice G) [200].

##### ➤ Contrôle de qualité de l'antibiogramme :

Les résultats de l'antibiogramme doivent être constamment surveillés, pour cela des contrôles de qualité ont été effectués selon les indications figurant dans le document de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (6<sup>ème</sup> édition de 2011) [200].

Ces Contrôles de qualité font appel à des souches bactériennes de référence qu'on doit mettre en culture chaque fois qu'un nouveau lot de milieu de Mueller Hinton ou de disques est employé.

On emploie les souches de références suivantes :

- ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922
- ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 25323
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- ✓ *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

#### 4.3.2.2.7. Conservation des souches:

Une fois le profil de sensibiliser aux antibiotiques effectué, nous avons pu conserver chacune des souches de *Salmonella* isolée et sérotypée dans un milieu gélosé en tube (milieu de conservation de l'Institut Pasteur).

Avec une pipette Pasteur bien chargée de culture pure obtenue sur gélose Mueller-Hinton, le milieu de conservation a été ensemencé par piqûre centrale.

#### 4.3.2.2.8. Base de données :

Les résultats des isollements, d'identification, de l'étude du profil de sensibilité aux antibiotiques ainsi que les fiches d'enquête des élevages étaient saisis dans une base de données en utilisant le Logiciel suivant :

- Excel 2007/2010
- Office 2007/2010
- Statistica (logiciel statistique)

Dans la présente étude, la partie recherche de *Salmonella* dans les matières fécales, nous avons recherché la présence ou l'absence des salmonelles dans 230 prélèvements.

#### 4.3.2.3. Méthode bactériologique d'analyse des prélèvements de lait mammiteux:

Nous avons analysé des prélèvements de lait mammiteux prélevés au maximum 72h avant leurs acheminements au laboratoire, ces derniers étaient acheminés sous froid, réceptionnés au laboratoire dans de bonnes conditions (bien fermé). Tous les prélèvements ne répondant pas à ces conditions étaient systématiquement éliminés.

##### 4.3.2.3.1. Enrichissement dans le milieu B.H.I.B:

Le bouillon cœur-cerveille est un milieu nutritif tamponné, il est utilisé pour la culture d'une très grande variété de microorganismes aérobies ou anaérobies, dans la présente étude il est utilisé pour l'enrichissement des germes présents dans le lait et notamment *Salmonella* spp. selon la méthode suivante :

Prélever 1ml de l'échantillon, l'introduire dans un tube (10ml) de bouillon cœur-cerveille (OXOIDE, ENGLAND) et incuber à 37°C pendant 24h.



Figure 4.11: Enrichissement dans le milieu B.H.I.B  
[Photos personnelles].

#### 4.3.2.3.2. Isolement sur milieux sélectifs solides :

À partir du bouillon d'enrichissement, faire un ensemencement sur les milieux sélectifs suivants :

##### 4.3.2.3.2.1. Le milieu Hektoen (HK) :

La lecture des résultats est effectuée après 24h d'incubation à 37°C. En plus de la recherche des salmonelles sur ce milieu, nous avons effectué l'identification des autres espèces qui ont poussé sur ce dernier (voir figure 4.12).

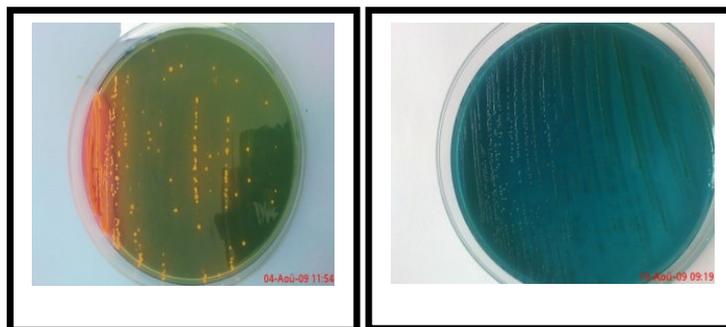


Figure 4.12: Colonies *E.coli* (à gauche), colonies de *Pseudomonas* spp. (à droite) [Photos personnelles].

#### 4.3.2.3.3. Identification :

L'identification bactérienne ne peut se faire que sur des souches pures (constituée d'un seul clone), par conséquent pour l'ensemble des opérations d'identifications nous avons opéré sur des souches préalablement purifiées.

➤ Salmonella spp :

Le protocole d'identification de *Salmonella* spp. est identique à celui figurant précédemment (voire paragraphe N° 4.3.2.2.5).

➤ Les colonies originaires de l'Hektoïne

Ces germes ont subi le schéma\* d'identification suivant :

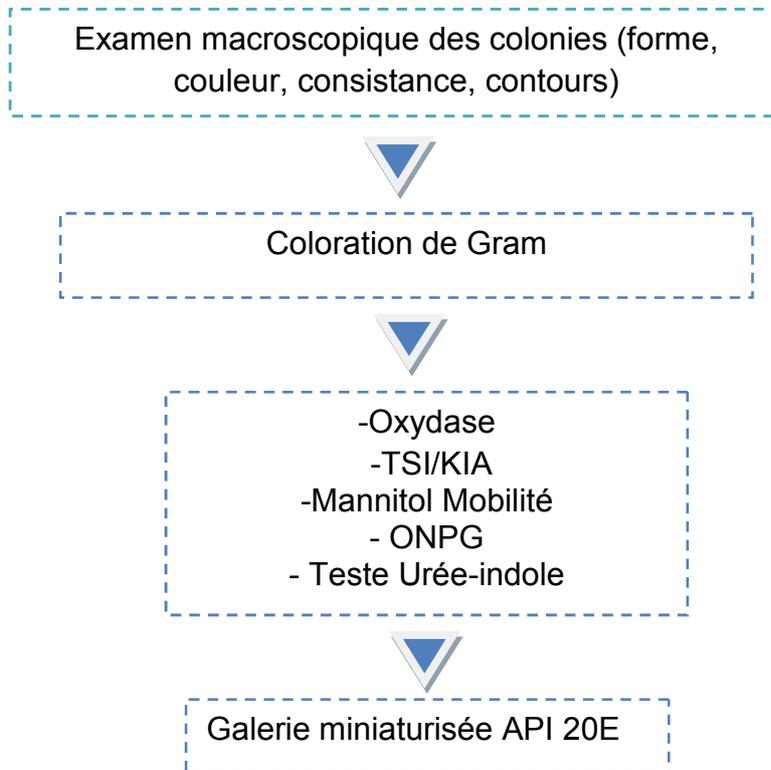


Figure 4.13: schéma d'identification des colonies autres que *Salmonella* ayant poussé sur HK.

\*Pour les détails des techniques utilisées dans ce schéma voir appendice E.

4.3.2.3.4. Étude de la sensibilité aux antibiotiques :

Pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques le même protocole que celui figurant précédemment a été effectué (voire paragraphe N° 4.3.2.2.6).

4.3.2.3.5. Conservation des souches:

Nous avons pu conserver chacune des souches identifiées dans un milieu gélosé en tube (milieu de conservation de l'Institut Pasteur).

#### 4.3.2.3.6. Base de données :

Les résultats des isolements, d'identification, de l'étude du profil de sensibilité aux antibiotiques ainsi que les fiches d'enquêtes lait mammites étaient saisies dans une base de données en utilisant le Logiciel suivant :

- Excel 2007/2010
- Office 2007/2010
- Statistica (logiciel statistique)

Dans la présente étude, dans la partie lait mammites nous avons recherché la présence ou l'absence de salmonelles dans 150 prélèvements

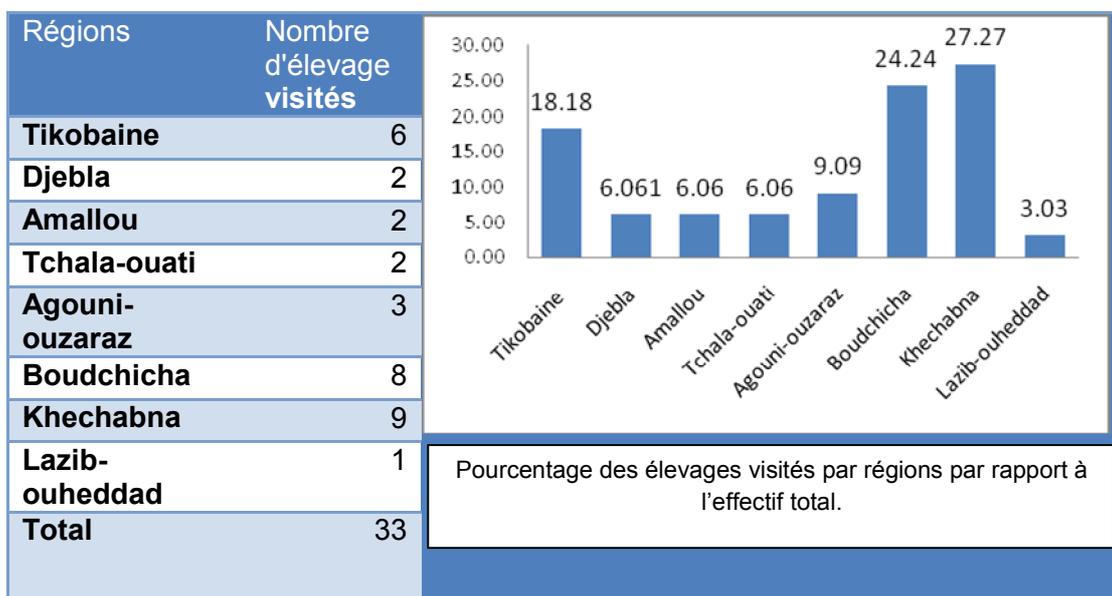
#### 4.4. Résultats :

##### 4.4.1 Partie : Recherche de *Salmonella* spp. dans les matières fécales :

##### 4.4.1.2 Répartition des élevages et des animaux:

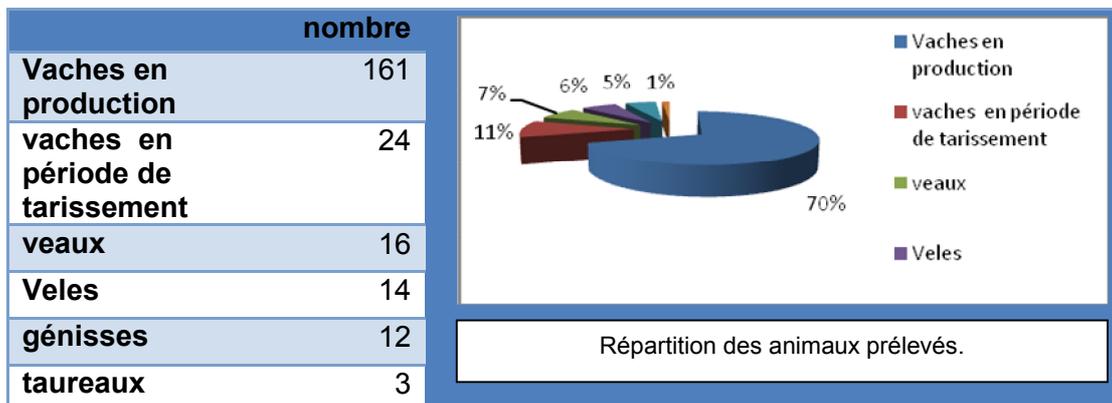
Dans la présente étude 33 élevages ont été visités, leur répartition selon leurs régions respectives est comme suit :

Tableau 4.1 : Répartition des élevages visités par localité.



Dans ces 33 élevages visités un total de 230 prélèvements de matières fécales a été effectué chez 230 bovins repartis comme suit

Tableau 4.2 : Répartition des animaux prélevés.



Les vaches laitières qu'elles soient en production ou au tarissement constituent le pourcentage le plus élevé des animaux prélevés (81%).

#### 4.4.1.3. Résultats en fonction des régions visitées :

Une région est dite positive si au moins un élevage est positif. En fonction des résultats nous avons calculé le pourcentage des élevages positifs, ces derniers sont mentionnés ci-dessous:

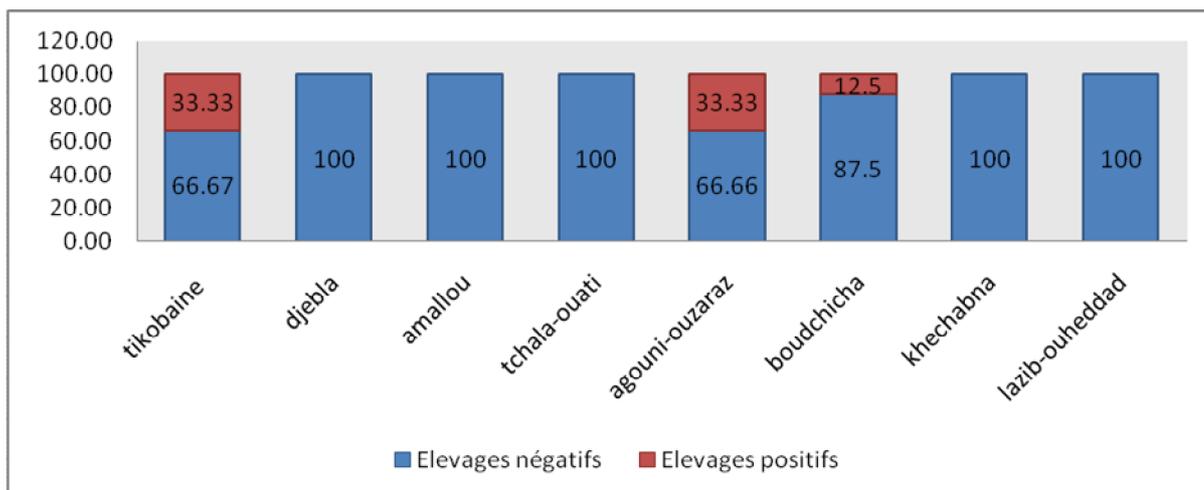


Figure 4.14 : Pourcentages des élevages positifs par localité d'étude.

Nous avons pu isoler *Salmonella* spp. dans trois localités parmi les huit localités visitées, à savoir la localité de Tikobaine avec un pourcentage de 33.33%, la localité de Agouni-Ouzaraz avec le même pourcentage que la

localité de Tikobaine et enfin la localité de Boudchicha avec un pourcentage de 12.5%.

#### 4.4.1.4. Résultats en fonction des élevages :

##### 4.4.1.4.1. Résultats en fonction des élevages positifs :

Un élevage est considéré comme étant positif si au moins un animal de l'élevage en question est positif à la recherche de *Salmonella* spp.

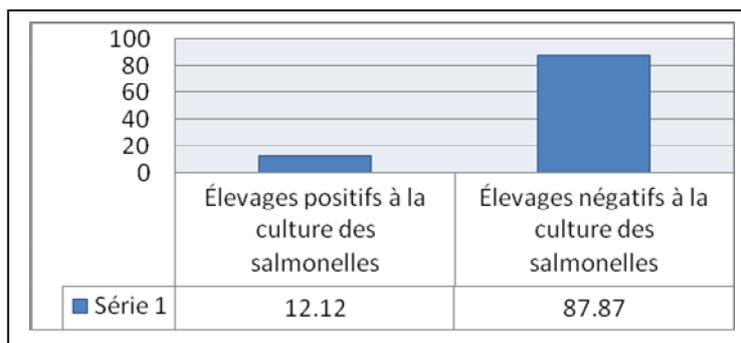


Figure 4.15: Pourcentages des élevages positifs et négatifs à la culture des salmonelles.

12.12% des élevages visités étaient positifs à la recherche de *Salmonella* spp.

##### 4.4.1.4.2 Résultats en fonction de l'expérience professionnelle des éleveurs dans le domaine de l'élevage :

Tableau 4.3 : Résultats en fonction de l'expérience professionnelle des éleveurs.

Ancienneté	Plus de 10ans	Moins de 10ans
<b>Elevages positifs</b>	4	0
<b>Elevages négatifs</b>	13	16
<b>test exact de ficher</b>	P=0.1026	

Expérience	Elevages positifs	Elevages négatifs
Plus de 10ans	23.53	76.47
Moins de 10ans	0	100

23.53% des élevages dont les propriétaires disposent d'une expérience professionnelle de plus de 10 ans étaient positifs à la recherche de *Salmonella* spp., aucun des élevages dont les propriétaires disposent d'une expérience

professionnelle de moins de 10ans n'était positif, la comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0.1026$ .

#### 4.4.1.4.3 Résultats en fonction de la taille des effectifs dans chaque élevage:

Tableau 4.4: Nombre d'élevages positifs par classe d'effectif.

effectifs des élevages	[1-5] têtes	] 5-10] têtes	plus de 10 têtes
<b>Elevages positifs</b>	3 (30%)	0	1 (8.33%)
<b>Elevages négatifs</b>	7 (70%)	11 (100%)	11 (91.66%)

30% des élevages dont l'effectif ne dépasse pas 5 têtes ont montré une culture positive à la recherche de *Salmonella* spp., Par contre seulement 4.35% des élevages qui comprennent plus de 5 têtes ont montré une culture positive. En comparant ces résultats avec le test exact de Fisher le résultat est de  $p=0.0726$ .

#### 4.4.1.4.3 Résultats en fonction des conditions de distribution des aliments :

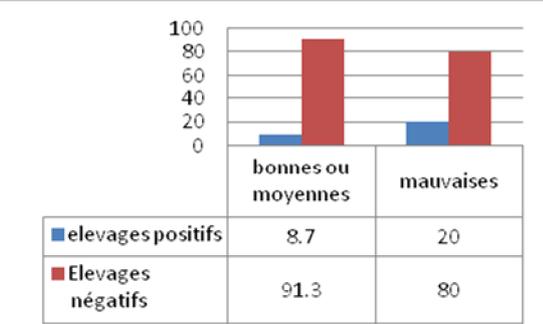
Tableau 4.5 : Résultats en fonction des conditions de distribution des aliments.

-	Bonne	Moyenne	Mauvaise
<b>Elevages positifs</b>	1	1	2
<b>Elevages négatifs</b>	3	18	8

Afin d'effectuer le test exact de Fisher le tableau des résultats doit être de type 2x2. Par conséquent on fusionne entre les différentes cases afin d'obtenir un tableau de type 2x2.

Tableau 4.6 : Résultats en fonction des conditions de distribution des aliments après fusion de la classe bonne et moyenne.

Condition de distribution des aliments	bonnes ou moyennes	mauvaises
<b>Elevages positifs</b>	2	2
<b>Elevages négatifs</b>	21	8
<b>Test exact de Fisher</b>	0.5672	



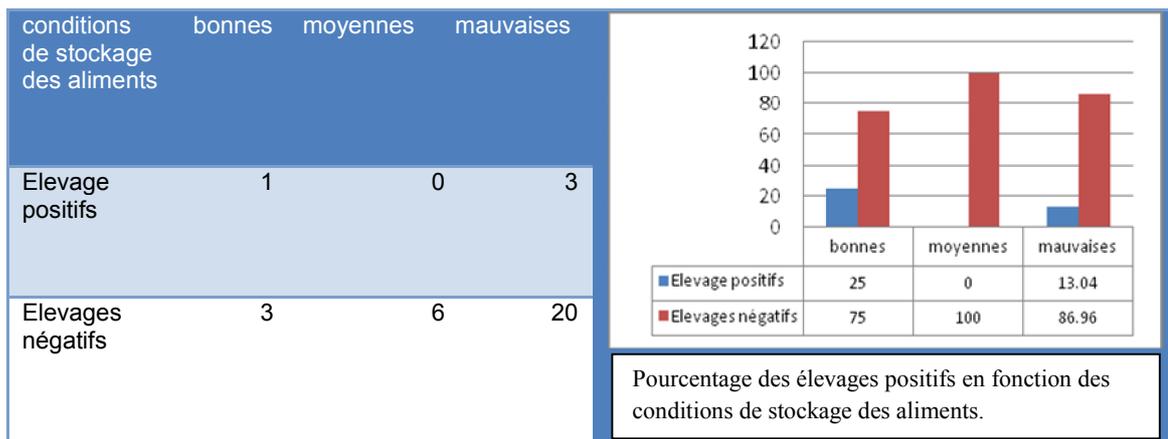
	bonnes ou moyennes	mauvaises
■ élevages positifs	8.7	20
■ Elevages négatifs	91.3	80

Pourcentage des élevages positifs en fonction des conditions de distribution des aliments.

Nous notons plus d'élevages positifs où les conditions de distribution des aliments sont mauvaises avec un pourcentage de 20% par rapport aux élevages où les conditions de distribution des aliments sont bonnes ou moyennes avec un pourcentage de 8.7%, la réalisation du test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0.5672$ .

#### 4.4.1.4.4 Résultats en fonction des conditions de stockage des aliments :

Tableau 4.7: Résultats en fonction des conditions de stockage des aliments.

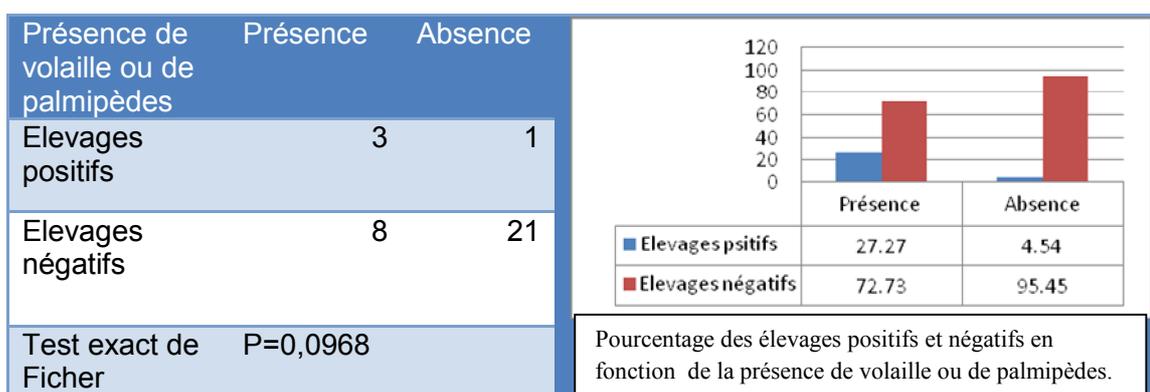


25% des élevages se sont révélés positifs là où les aliments sont stockés dans de bonnes conditions et 13.04% des élevages là où les aliments sont stockés dans de mauvaises conditions. Par contre aucun isolement de salmonelles n'a été effectué dans les élevages où les conditions de stockage des aliments sont moyennes.

#### 4.4.1.4.5 Résultats en fonction de la présence d'autres animaux domestiques dans les élevages :

##### 4.4.1.4.5.1 Résultats en fonction de la présence de la volaille ou des palmipèdes :

Tableau 4.8: Résultats en fonction de la présence de la volaille ou des palmipèdes.



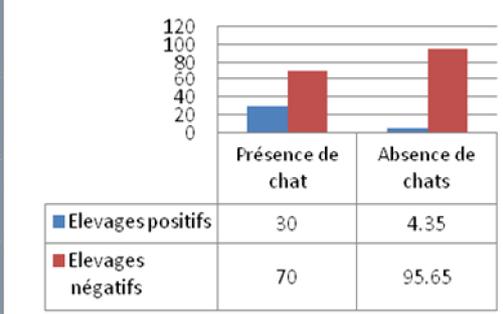
Test exact de Fisher  $P=0,0968$

*Salmonella* spp. était isolée dans 27.27% des élevages où la présence de la volaille ou des palmipèdes a été enregistrée et dans 4.54% des élevages où ces derniers sont absents. La réalisation de test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0,0968$ .

#### 4.4.1.4.5.2 Résultats en fonction de la présence de chats domestiques :

Tableau 4.9: Résultats en fonction de la présence de chats domestiques.

Présence de chats	Présence	Absence
Elevages positifs	3	1
Elevages négatifs	7	22
Test exact de Fisher	P=0,0726	



	Présence de chat	Absence de chats
Elevages positifs	30	4.35
Elevages négatifs	70	95.65

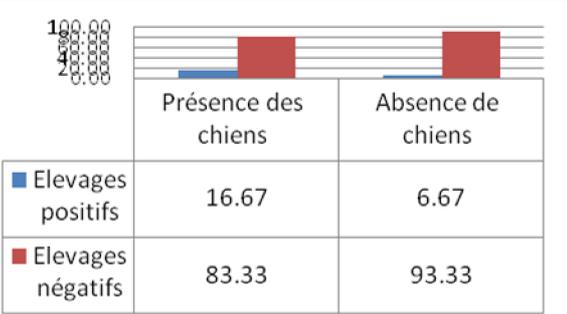
Pourcentage des élevages positifs en fonction de la présence de chats domestiques.

On a isolé *Salmonella* spp. dans 30% des élevages où nous avons la présence de chats et dans 4.35% des élevages où cet animal était absent. En comparant ces résultats avec le test exact de Fisher nous avons eu un résultat de  $p=0.0726$ .

#### 4.4.1.4.5.3. Résultats en fonction de la présence de chiens domestiques dans l'élevage :

Tableau 4.10 : Résultats en fonction de la présence de chiens domestiques.

Présence de chiens domestiques	Présence de chiens	Absence de chiens
Elevages positifs	3	1
Elevages négatifs	15	14
Test exact de Fisher	P=0.6074	



	Présence des chiens	Absence de chiens
Elevages positifs	16.67	6.67
Elevages négatifs	83.33	93.33

Pourcentage des élevages positifs en fonction de la présence de chiens domestiques.

16.67% des élevages dont le propriétaire possède un chien (au moins un) étaient positifs à la recherche de *Salmonella* spp., A l'inverse seulement

6.67% des élevages dont les propriétaires ne possèdent pas un chien étaient positifs. La comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0.6074$ .

#### 4.4.1.4.6. Résultats en fonction des conditions de raclage et de curage:

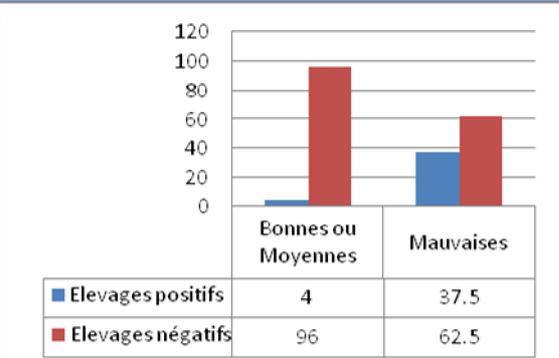
Tableau 4.11 : Résultats en fonction des conditions de raclage et de curage.

Conditions de raclage et curage	Bonnes	Moyennes	Mauvaises
<b>Elevages positifs</b>	1	0	3
<b>Elevages négatifs</b>	6	18	5

Afin d'effectuer le test exact de Fisher le tableau des résultats doit être de type 2x2 donc on fusionne entre les différentes cases afin d'obtenir un tableau de type 2x2.

Tableau 4.12: Résultats en fonction des conditions de raclage et de curage après fusion des classes moyennes et bonnes.

Conditions de raclage et curage	Bonnes ou Moyennes	Mauvaises
<b>Elevages positifs</b>	1	3
<b>Elevages négatifs</b>	24	5
<b>Test exact de Fisher</b>	P=0,0359	



	Bonnes ou Moyennes	Mauvaises
<b>Elevages positifs</b>	4	37.5
<b>Elevages négatifs</b>	96	62.5

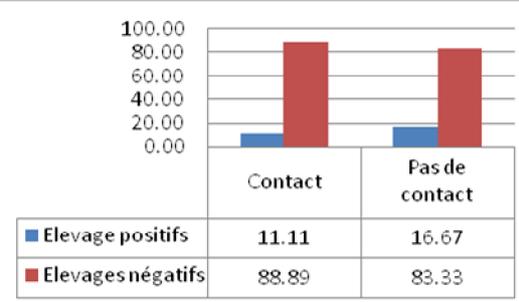
Pourcentage des élevages positifs et négatifs en fonction des conditions de raclage et de curage.

37.5% des élevages où les conditions de raclage et de curage sont mauvaises ont eu un résultat positif à la recherche de *Salmonella* spp., contre seulement 4% des élevages où ces dernières sont bonnes ou moyennes. La comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0,0359$ .

#### 4.4.1.4.7. Résultats en fonction de la Possibilité de contact avec les autres bovins :

Tableau 4.13 : Résultats en fonction de la Possibilité de contact avec les autres bovins.

Possibilité de contact avec les autres bovins (d'autres élevages)	Contact	Pas de contact
Elevage positifs	3	1
Elevages négatifs	24	5
Test exact de Fisher	P=1	



	Contact	Pas de contact
■ Elevage positifs	11.11	16.67
■ Elevages négatifs	88.89	83.33

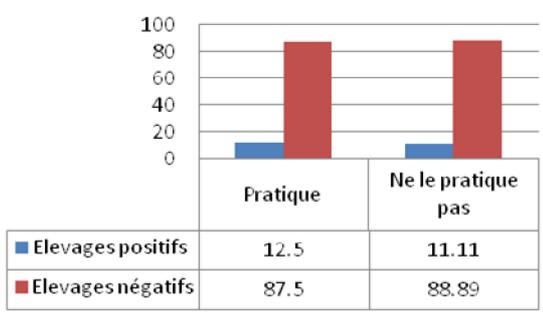
Pourcentage des élevages positifs et négatifs en fonction de la Possibilité de contact avec les autres bovins

16.67% des élevages où il n'y a pas de possibilité de contact avec les autres bovins (d'autres élevages) se sont révélés positifs à la recherche de *Salmonella* spp, par contre seulement 11.11% des élevages où il n'y a pas une possibilité de contact avec les autres bovins (d'autres élevages). La comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=1$ .

#### 4.4.1.4.8. Résultats en fonction de la pratique du pensionnat ou du prêt :

Tableau 4.14 : Résultats en fonction de la pratique du pensionnat ou de prêt.

Pratique du pensionnat ou du prêt	Le pratique	Ne le pratique pas
Elevages positifs	3	1
Elevages négatifs	21	8
Test exact de Fisher	P=1	



	Pratique	Ne le pratique pas
■ Elevages positifs	12.5	11.11
■ Elevages négatifs	87.5	88.89

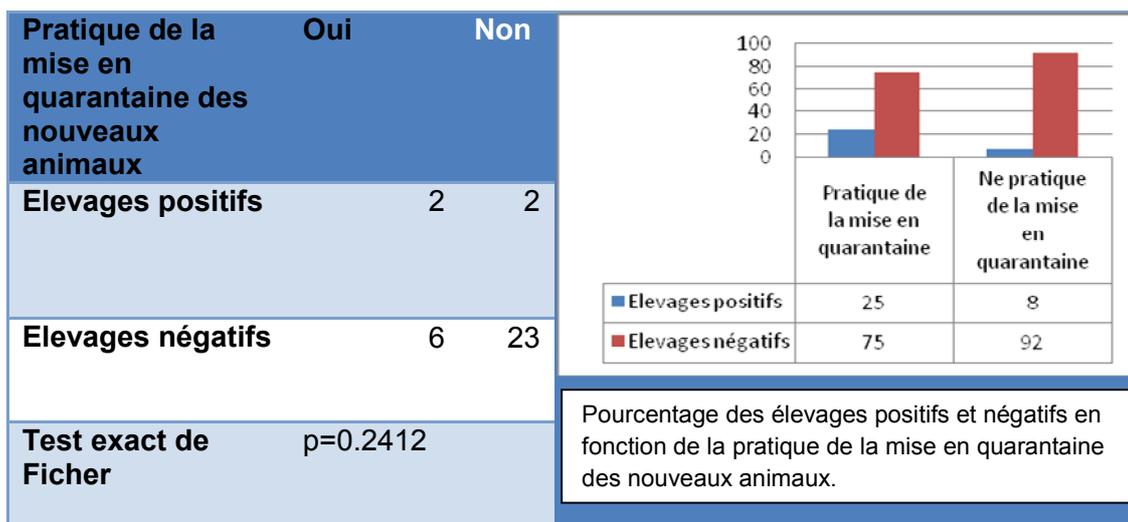
Pourcentage des élevages positifs et négatifs en fonction de la pratique du pensionnat ou du prêt.

11.11% des élevages où il n'y a pas de pratique du pensionnat ou du prêt sont positifs, contre 12.5% des élevages où il y a une pratique du pensionnat (ex : pour la saillie des femelles ou du prêt) étaient positifs à la

recherche de *Salmonella* spp. La comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=1$ .

#### 4.4.1.4.9. Résultats en fonction de la pratique de la mise en quarantaine des nouveaux animaux :

Tableau 4.15 : Résultats en fonction de la pratique de la mise en quarantaine des nouveaux animaux.

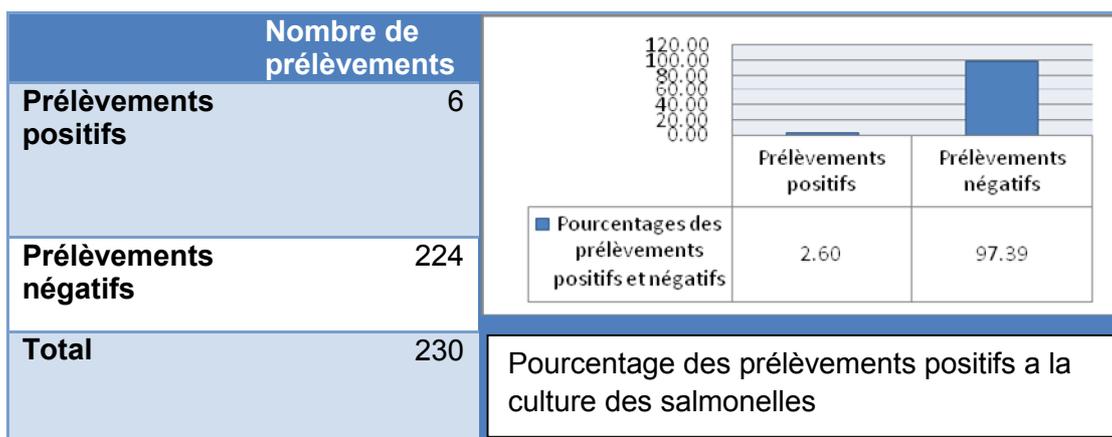


8% des élevages dont les propriétaires ne pratiquent pas la mise en quarantaine des nouveaux animaux étaient positifs à la recherche de *Salmonella* spp., contre 25% des élevages dont les propriétaires pratiquent la mise en quarantaine des nouveaux animaux (généralement une semaine). La comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0.2412$ .

#### 4.4.1.5. Résultats par prélèvements de matières fécales :

##### 4.4.1.5.1 Résultats globaux :

Un prélèvement est considéré comme étant positif si à la fin du protocole d'isolement nous réussissons à isoler et à identifier *Salmonella* spp.

Tableau 4.16: Prélèvements positifs à la culture de *Salmonella* spp.

2.60% des prélèvements ont montré une culture positive vis-à-vis de *Salmonella* spp., soit 6 prélèvements sur les 230 effectués.

#### 4.4.1.5.2 Résultats par groupe d'animaux prélevés :

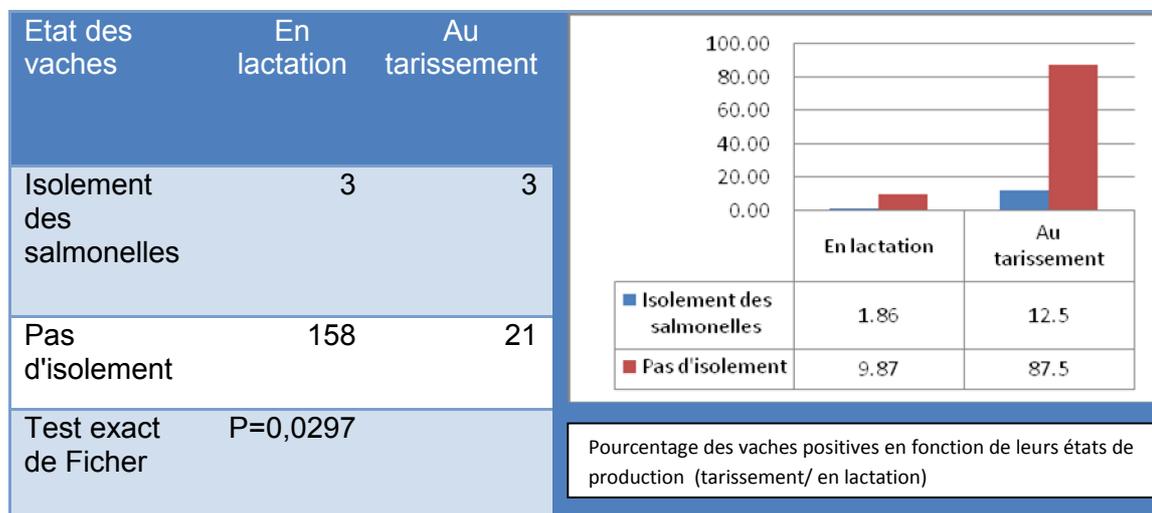
Tableau 4.17: Résultats par groupe d'animaux prélevés.

	nombre de tête	culture positif	pourcentage
<b>vaches laitières</b>	185	6	3.24%
<b>veaux</b>	16	0	0
<b>velles</b>	14	0	0
<b>génisses</b>	12	0	0
<b>taureaux</b>	3	0	0

Parmi les groupes d'animaux prélevés, seuls les prélèvements issus des vaches laitières ont montré un résultat positif à la recherche de *Salmonella* spp. avec un pourcentage de 3.24%.

#### 4.4.1.5.3 Résultats en fonction de l'état physiologique des vaches laitières (tarissement / lactation) :

Tableau 4.18 : Résultats en fonction de l'état physiologique des vaches laitières (tarissement / en lactation)



Un total de trois vaches sur les 24 qui étaient en période de tarissement a montré une culture positive vis-à-vis de la recherche de *Salmonella* spp. cela avec un pourcentage de 12.5%, contre seulement 1.86% des vaches en période de lactation, la comparaison de ces résultats par le test exact de Fisher donne un résultat de  $p=0.0218$ .

#### 4.4.1.5. Résultat par espèce de *Salmonella* isolée :

Durant notre étude nous avons isolé six salmonelles appartenant à trois sérotypes différents.

Tableau 4.19 : Souches de *Salmonella* isolées.

	Nombre	Origine des salmonelles	Age des vaches
<b><i>Salmonella</i> Muenchen</b>	2	Deux élevages différents.	6ans/7ans En production
<b><i>Salmonella</i> Bovismorbificans</b>	3	Même élevage	4ans/4ans/5ans Au tarissement
<b><i>Salmonella</i> Kedougou</b>	1	Même élevage	6 ans/ En production

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Salmonella* spp isolés a donné les résultats suivants :

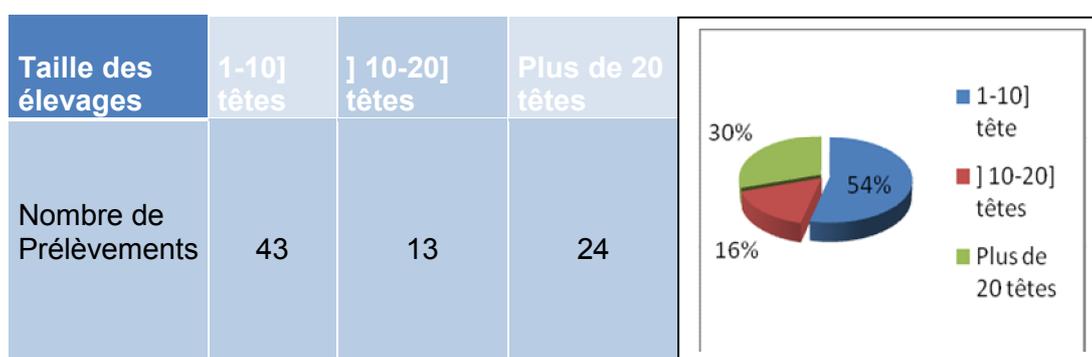
Trois cas de résistance ont pu être mis en évidence, une résistance aux tétracyclines pour *Salmonella* Kedougou et les deux souches de *Salmonella* Muenchen se sont révélées résistantes à la fluméquine (voir appendice H).

#### 4.4.2. Partie : Recherche de *Salmonella* spp. dans le lait mammiteux:

150 prélèvements dont 119 prélèvements ont été recueillis par les vétérinaires qui ont participé à l'enquête, 83 étaient accompagnés de leurs fiches de renseignement (voir annexe). Ces prélèvements ont été analysés par la technique utilisée au niveau du laboratoire régional de Draa Ben Khedda.

##### 4.4.2.1. Répartition des prélèvements en fonction de la taille des élevages :

Tableau 4.20: Nombre de prélèvements par classe d'effectif.



54% des prélèvements sont originaires des élevages où la taille est comprise entre 1 et 10 têtes, 16% issues des élevages avec un effectif compris entre 11 et 20 têtes et enfin 30% des prélèvements proviennent des élevages dont la taille dépasse 20 têtes.

##### 4.4.2.2. Répartition des prélèvements en fonction de la classe d'âge des vaches prélevées:

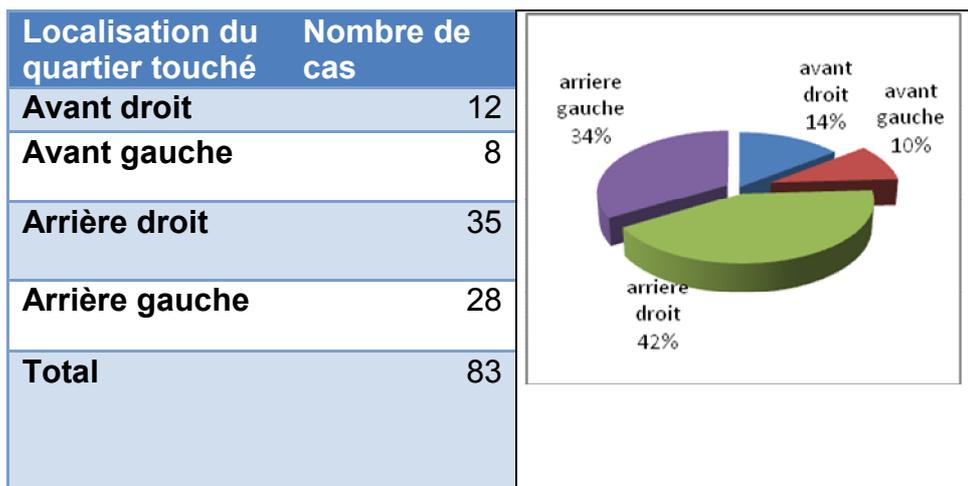
Tableau 4.21 : Nombre de prélèvements par classe d'âge.

Agés des vaches	1-4] ans	] 4-8ans]	plus de 8 ans
Nombre de prélèvements	33	25	13

47% des prélèvements proviennent des vaches âgées de 1 à 4 ans, 35% des vaches âgées de 5 à 8 ans et enfin 18% des prélèvements proviennent des vaches âgées de plus de 8 ans.

#### 4.4.2.2. Répartition en fonction du quartier atteint :

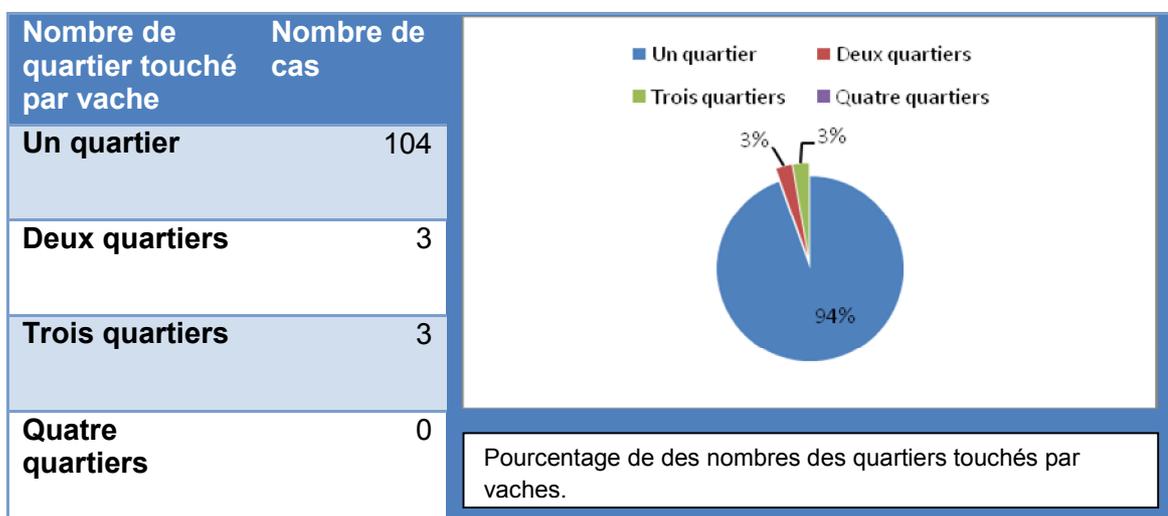
Tableau 4.22 : Nombre de prélèvements par quartier



Le quartier arrière droit est le plus représenté avec un pourcentage de 42%. La partie arrière comptabilise le plus grand nombre de prélèvements avec un pourcentage de 76% par rapport à la partie avant. La partie droite est plus présente que la gauche avec un pourcentage de 56%.

#### 4.4.2.3. Résultats en fonction des quartiers atteints par vache prélevé :

Tableau 4.23 : Résultats en fonction du nombre de quartiers touchés par vache.

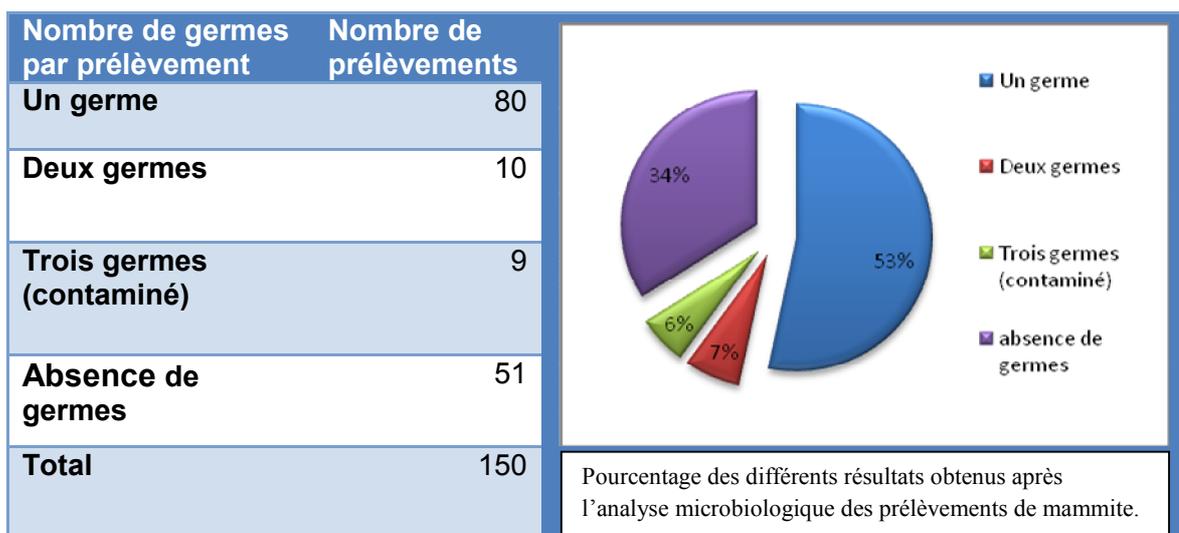


Dans la majorité des cas (94%) un quartier est touché par vache, aucune vache avec les quatre quartiers touchés n'a pu être enregistrée dans notre étude.

#### 4.4.2.4. Résultats microbiologique:

##### 4.4.2.4.1. Nombre de germes présents par prélèvement :

Tableau 4.24 : Nombre de germes par prélèvement.

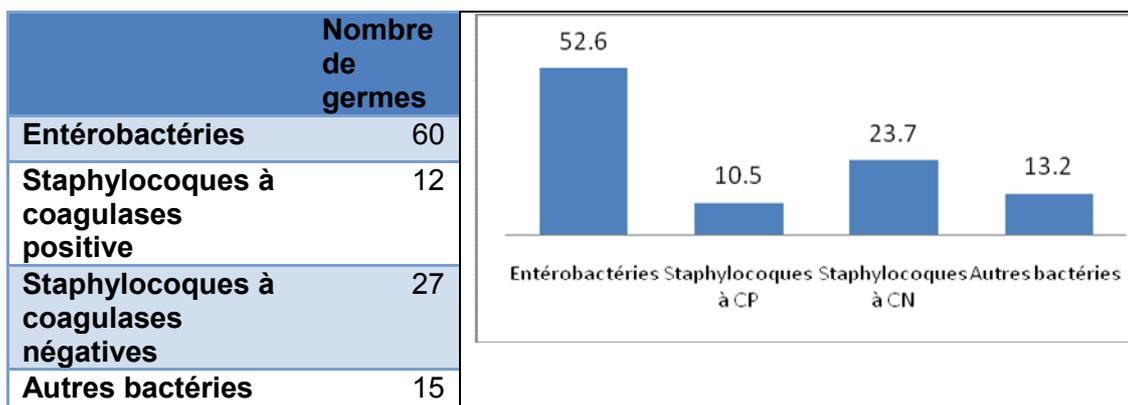


Dans la plupart des prélèvements un seul germe était mis en évidence, avec un pourcentage de 53%.

40% des prélèvements n'ont pas pu être exploités car dans 34% il y'avait une absence de germes et 6% étaient considérés comme contaminés car nous notons l'isolement de trois germes différents.

##### 4.4.2.4.2. Résultats en fonction des groupes bactériens :

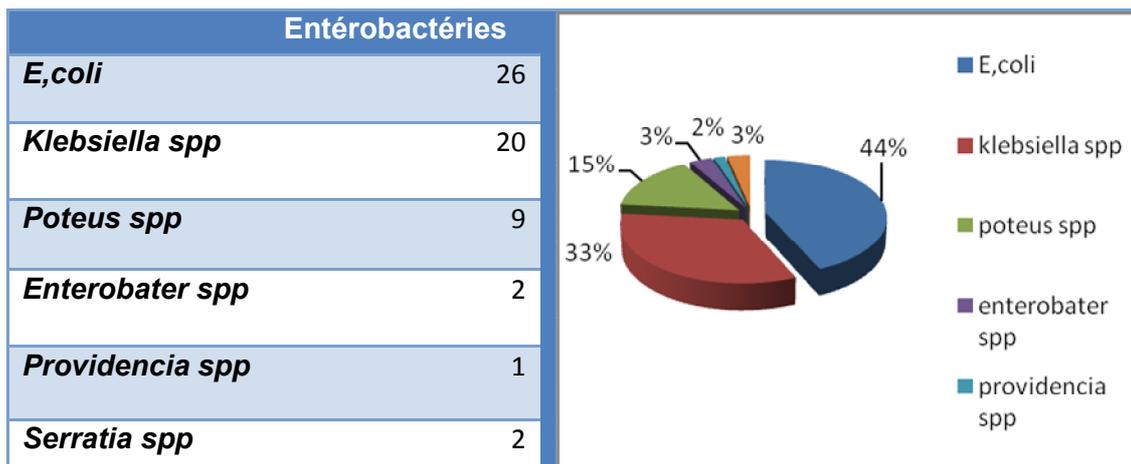
Tableau 4.25: Nombre de germes par groupe bactérien.



Les entérobactéries représentent le groupe bactérien le plus présent dans notre étude avec un pourcentage de 52.6%, les *staphylococcus* spp comptabilisent un pourcentage de 34.2%, parmi ces derniers les staphylocoques à coagulases positifs représentent 10.5% des germes isolés.

#### 4.4.2.4.3. Répartitions des espèces d'entérobactéries isolées :

Tableau 4.26: Nombre d'espèces d'entérobactéries isolées.



Aucun isolement de *Salmonella* spp. n'a pu être effectué parmi les 150 prélèvements analysés. Pour les autres entérobactéries *E.coli* représente l'espèce bactérienne la plus présente avec un pourcentage de 44%, suivie de *klebsiella* spp. avec un pourcentage de 33%.

#### 4.5. Discussion :

##### 4.5.1. Discussion des résultats de l'enquête portant sur le portage de *Salmonella* spp. au niveau des matières fécales :

Cette enquête comporte un double intérêt :

Le premier est de l'ordre de santé publique à travers l'information apportée par cette étude sur le réservoir que constitue les bovins, ceux-là se traduiront par des mesures adaptées qui permettraient de limiter l'impact de ce germe en pathologie humaine, particulièrement dans les toxo-infections-alimentaires où il est fréquemment associé (3 cas d'intoxications alimentaires sur 1000 habitants au Pays-Bas) et peut engendrer des troubles graves (600 décès par ans aux États-Unis) [188].

Le second est d'ordre économique, en pathologie animale ce germe est associé à des troubles graves comme les diarrhées néo-natales et les avortements, Noireterre (2006) s'est intéressé à l'étude de cet impact dans l'élevage laitier et a conclu que *Salmonella* spp. peut être responsable de pertes économiques non négligeables [143].

Par conséquent la classification d'un animal, d'un troupeau ou d'une région contribuerait à limiter la dissémination de ce germe, limiter les mesures de lutte à une zone restreinte, enfin ces informations pourraient répondre à certaines questions en pathologie humaine.

Notre premier souci était de trouver une méthode d'analyse des prélèvements de sensibilité acceptable, cela nous permettrait une classification exacte de l'unité épidémiologique étudiée, de plus cette technique doit être réalisable en Algérie.

Sachant que la culture bactériologique est la seule façon de confirmer un diagnostic de salmonellose et d'identifier précisément le sérotype en cause, nous nous sommes intéressés aux méthodes bactériologiques de caractérisations de *Salmonella* spp. dans les matières fécales, de plus les laboratoires métrisant ces techniques sont disponibles en Algérie.

Cependant, cette méthode souffre d'une faible sensibilité et ce problème est encore plus criant lorsqu'il s'agit de détecter les animaux qui sont porteurs asymptomatiques [3].

Cette sensibilité dépend de la concentration du prélèvement en germe. Ainsi la probabilité d'isoler *Salmonella* spp. était presque nulle (0 à 4%) pour les concentrations de  $10^{-2}$  CFU/mL ou moins et très élevée (90% et plus) pour des concentrations de  $10^4$  CFU/mL et plus [3] et que selon Fegan et al dans la plupart des cas la charge fécale en *Salmonella* spp. était basse [140].

La comparaison de ces méthodes par Jensen et al [133] avec une méthode PCR et notamment l'utilisation du milieu MSR/V dans ces protocoles bactériologiques, son étude a porté sur des prélèvements dans lesquels *Salmonelle* spp. étaient inoculées, la sensibilité des méthodes bactériologiques étaient bonnes (78%), notamment lors de l'utilisation du milieu MSR/V, cependant pour les prélèvements à basse charge bactérienne l'efficacité des méthodes bactériologiques étaient discutables.

Des études similaires [149 ; 161 ; 189] ont conclu que l'approche de PCR était équivalente ou meilleure que la culture bactériologique pour la détection de *Salmonella* spp. dans les échantillons fécaux, en outre selon [190] l'approche moléculaire est plus rapide pour la détection initiale de *Salmonelles* spp.

Nous nous sommes interrogés sur l'importance épidémiologique de détecter ces concentrations basses dans les matières fécales (que les méthodes bactériologiques peinent à détecter), ont elles un intérêt vis-à-vis de la problématique posée, nous avons cherché des travaux dans ce sens mais nous n'en avons pas trouvé.

Avec les méthodes PCR nous aurions vraisemblablement des résultats avec une sensibilité plus élevée (100%) selon l'étude Jensen et al [133], mais nous n'avons pas eu les moyens de concrétiser ces méthodes.

Par conséquent nous avons utilisé la méthode ISO 6579, laquelle a donné de bons résultats selon l'étude Jensen et al [133], cette méthode comprend l'utilisation du milieu MSR/V qui selon Goossens et al [149] améliore

de 22.3% le pourcentage d'isolement de *Salmonella* spp. d'autres milieux sélectifs comme l'Hektoin et le milieu XLD ont été utilisés.

Concernant notre zone d'étude, nous avons travaillé dans une région restreinte de la wilaya de Tizi-Ouzou à savoir la commune de Ouaguenoun, notre souhait était de faire un tirage au sort aléatoire afin de pouvoir extrapoler sur cette localité, cependant une telle démarche est difficilement réalisable au vu des difficultés auxquelles nous avons fait face.

Nous avons visité huit régions parmi les douze localités que comporte cette commune, le manque de contact dans ces régions nous a empêchés d'étendre le périmètre d'investigation. Ainsi le nombre d'élevages visités reflétait le degré de coopération, le nombre de contact et le nombre de personnes joignables au moment de la récolte des prélèvements, cela s'est traduit par un plus grand nombre d'élevages dans certaines régions.

Vu la nature de notre problématique qui s'intéresse au réservoir que constitue l'élevage bovin en général et non pas le réservoir que constitue une catégorie par rapport aux autres, nous n'avons pas ciblé une catégorie en particulier par conséquent notre échantillon était composé principalement de vaches laitières avec un pourcentage de 81%, ce qui reflétait la composition des élevages visités,

Une enquête réalisée au niveau de la Mitidja dans laquelle les prélèvements se sont basés principalement sur des veaux, leurs objectifs différaient des nôtres car ils cherchaient les agents responsables de diarrhée néo-natale entre autres *Salmonella* spp. [134].

Dans d'autres études les prélèvements concernaient principalement les des vaches laitières [152 ; 186], ou de bovins d'engraissements [176]. Leurs objectifs convergeaient tous vers la nécessité d'étudier l'importance du réservoir bovin en *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. étaient isolées dans trois localités parmi les huit visitées à savoir la localité de Tikobaine, Boudchicha et agouni-ouzare, dans lesquelles les deux premières localités ont eu un taux élevé de participation avec six élevages visités et huit élevages respectivement, la localité de

Tikobaine est située en zone urbanisée (chef-lieu de la commune) donc ce portage peut constituer d'une part un éventuel danger pour la population humaine et d'autre part pour la population animale par son éventuelle extension à d'autres élevages du fait de l'urbanisation.

Dans notre étude quatre élevages sur les trente-trois visités étaient positifs pour *Salmonelles* spp, ce qui fait un pourcentage de 12.12%, ce résultat est beaucoup moins important que le résultat obtenu aux États-Unis qui est de 56% ( $p=0.0257$ ) [4], cependant dans cette étude 60 prélèvements étaient effectués par élevage, de plus la prévalence troupeau est estimée entre 27% à 31% aux États-Unis [4]. Quant à notre étude une moyenne de 10 prélèvements par élevage étaient effectués et que la prévalence troupeau en Algérie est inconnue. Une autre étude menée aux États-Unis donne une prévalence 25.3% [167].

Toute au long de notre investigation nous avons essayé de faire un rapprochement entre les résultats du laboratoire et les pratiques et faits observés sur terrain. Ceci à travers des préoccupations qui se sont traduites par une fiche d'enquête élevage, tout en utilisant les tests statistiques nous nous sommes employés à répondre aux questions suivantes :

- L'expérience professionnelle des éleveurs est-elle associée à un plus grand taux d'isolement de *Salmonella* spp ?

Dans la présente étude tous les élevages où nous avons pu isoler *Salmonella* spp. les éleveurs jouissaient d'une expérience de plus de 10ans, aucun isolement de *Salmonella* spp. n'a été effectué dans les élevages où les éleveurs avaient une expérience de moins de 10 ans. Aucune différence n'a pu être mise en évidence par l'emploi des tests statistiques entre ces deux groupes. Conséquemment, ce facteur n'a pas joué un rôle dans le taux d'isolement de *Salmonella* spp. dans notre étude.

- Les conditions au sein des élevages jouent-elles un rôle dans l'isolement de *Salmonella* spp ?

A travers l'étude de la taille des effectifs, les conditions de distribution et de stockage des aliments et les conditions de raclage et curage, nous avons tenté de répondre à cette question.

Nous avons noté plus de prélèvements positifs issus des élevages avec un effectif de moins de cinq têtes (30%), dans de mauvaises conditions de distribution des aliments (20%) et dans les bonnes conditions de stockage des aliments (25%), l'emploi des tests statistiques ne révèle pas une éventuelle implication de ces facteurs dans le taux d'isolement de *Salmonella* spp.

Cependant pour la taille des élevages, des études menées aux Etats-Unis ont démontré qu'il avait un plus grand pourcentage d'isolé *Salmonella* spp. dans les grands effectifs [156 ; 198].

Concernant les conditions de raclage et de curage plus de prélèvements positifs ont été enregistrés dans les mauvaises conditions de raclage et de curage 37.5% ( $p=0.0359$ ), chez le porc une enquête sur les facteurs de risque lié à l'excrétion de *Salmonella* spp. a conclu que le statut sanitaire des porcs par rapport aux contaminants ainsi que le mode de distribution de l'aliment étaient identifiés comme étant facteurs de risque de l'excrétion de *Salmonella* spp. par les porcs [147].

- La présence d'animaux domestiques au sein de l'élevage joue-t-elle un rôle dans l'isolement de *Salmonella* spp ?

Pour cette préoccupation nous nous sommes intéressés à la présence de chiens, de chats, de la volaille ou de palmipèdes au sein des élevages, la présence de ces trois espèces n'est pas en faveur d'un plus grand taux d'isolement *Salmonella* spp. dans notre étude (comparaison effectuée avec le test exact), en Egypte Mohamed et al n'ont pas pu prouver l'implication de ces facteurs dans un plus grand taux d'isolement de *Salmonella* spp [186].

Ainsi, la présence d'animaux domestiques ne joue pas un rôle dans le nombre d'isolement *Salmonella* spp. Toutefois ces animaux peuvent-ils joué un rôle de dissémination de ce germe ?

Des épisodes cliniques humains de salmonelloses transmis par les chats, les chiens ou la volaille ont été enregistrés aux États-Unis (1999, 2000), au Canada (1973), en Suède (1999) et dans d'autres pays [187].

Selon l'agence de santé publique au Canada *Salmonella* spp peut infecter les chats et les chiens à la ferme, ces derniers peuvent jouer un rôle de désamination de ce germe au sein de la ferme [145], des souches de *Salmonella* Typhimurium DT104 ont été rapporté pour la première fois en 1994 chez l'espèce canine [150].

*Salmonella* Kedougou a été isolée chez l'espèce canine [185], ce sérotype a été isolé au cours de notre étude dans un élevage où la présence des chiens domestiques a été observé, d'où le risque potentiel de sa dissémination.

Concernant la volaille des travaux anciens de Guillaume et al (1977) réalisés sur des oies avaient mis en évidence l'importance de ce portage (20,5% et 26,5 % respectivement pour *Salmonella* Thyphimurium et *Salmonella* Enteritidis) [151].

- Y a-t-il un plus grand risque d'isoler *Salmonella* spp. dans les élevages où les animaux sont plus exposés au contact avec les bovins étrangers à l'élevage ?

Pour cela nous sommes intéressés à l'étude de la Possibilité de contact avec les autres bovins (pâturage, chemin), la pratique de la mise en quarantaine des nouveaux animaux et la pratique du pensionnat ou du prêt.

Nos résultats (comparés avec le test exact) ne nous permettent pas de conclure à une implication de ces facteurs dans un plus grand taux d'isolement de *Salmonella* spp.

En Australie une enquête menée à propos des systèmes d'élevage, plus précisément sur les bovins engraisés au champ, censés être plus exposés que ceux engraisés à l'écurie : aucune différence significative entre ces deux modes d'élevage n'a été signalée [140].

Une autre étude menée aux États-Unis a démontré que l'excrétion fécale de *Salmonella* spp. est plus importante chez les vaches laitières présentes au niveau des marchés (14.9%), que celle présentée dans l'étable (5.4%) [156].

L'étude de Vanselow et al a démontré que les nouvelles acquisitions étaient un facteur de risque en faveur d'un plus grand pourcentage d'excrétion fécale de *Salmonella* spp. dans les élevages laitiers [159], cela démontre l'importance de la mise en quarantaine des nouveaux animaux (facteur étudié au cours de notre étude) et le risque encouru par les animaux lors de la fréquentation des endroits communs (marché, chemin).

- Y a-t-il une catégorie de bovins associée à un plus grand taux d'isolement de *Salmonella* spp.?

Dans la présente étude la prévalence troupeau est de 12.12%, celle-ci est moins importante que celle enregistrée dans d'autres études [4 ; 163] qui sont respectivement de 56% ( $p=0.0257$ ), 47.8% ( $p=0.0039$ ).

Une prévalence troupeau de 76% était enregistrée aux États-Unis [182], ce qui est beaucoup plus important que celle enregistré lors notre étude, soulignant que ce travail était effectué sur un plus grand effectif et dans un milieu où la prévalence troupeau est estimée de 27% à 30% [4].

La prévalence individuelle générale est de 2.60%, toutes les salmonelles isolées ont été faites chez les vaches avec un pourcentage de 3.24%.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence pour l'isolement de *Salmonella* spp. chez les différentes catégories d'animaux prélevés (vaches, veaux ...), néanmoins l'étude de Vanselow et al a démontré que les cheptels laitiers étaient plus excréteurs de *Salmonella* spp. dans les fèces [159].

En Égypte on a rapporté une prévalence individuelle respective de 1.73% et de 1.54% chez les troupeaux laitiers [192 ; 186], aux États-Unis une prévalence de 6.3% a été enregistrée (étude portant sur 10417 prélèvements) [176], en Irlande 2% des échantillons fécaux se sont avérés positifs dans les

abattoirs (Prélèvements issues de 133 taureaux, de 75 génisses et de 42 vaches) [139].

D'autres études rapportent des prévalences plus importantes que la nôtre aux États-Unis 37,92% [182] et au Burkina-Faso 52% [197].

En Algérie une étude menée à la Mitidja portant sur 352 prélèvements de matières fécales issues des veaux (dont 126 présentaient des diarrhées) rapporte une prévalence de 0.8% (proche de la nôtre,  $p=0.0989$ ) [134].

Une étude qui a porté sur l'excrétion fécale *Salmonella* spp. chez les porcs, dans laquelle la recherche de *Salmonella* spp. dans les matières fécales puis dans les ganglions mésentériques a été effectuée. Aucun échantillon de matières fécales s'est révélé positif, pourtant 40% des ganglions mésentériques étaient positifs [148].

Une étude menée chez le bovin rapporte un plus grand nombre d'isolement de *Salmonella* spp. Au niveau des ganglions comparés à celui effectué au niveau des fèces, ces études démontrent la difficulté de classer un animal (porteur ou non) sur la base des analyses bactériologiques de matières fécales [193].

Dans notre étude 3.24% des prélèvements issues des vaches laitières étaient positifs à la culture de *Salmonella* spp., cette prévalence est comparable à celle de l'étude de Padungtod et al, avec 3% des vaches laitières positives à la culture *Salmonella* spp [160].

Au sein des vaches laitières la comparaison entre les vaches en production et les vaches au tarissement est en faveur d'un plus grand taux d'isolement de *Salmonella* spp. chez les vaches au tarissement ( $p=0,0297$ ).

Une étude sur les facteurs de risques associés au portage a conclu que les animaux avec le plus gros risque de devenir des porteurs sont ceux infectés au tour du vêlage [141], sachant que le tarissement se fait au dernier trimestre de gestation, de plus La sensibilité de la culture bactériologique augmentait légèrement en période péri-partum [3].

- Et enfin quels sont les sérotypes présents en Algérie ? Sont-ils résistants aux antibiotiques ou associés à des épisodes cliniques chez l'Homme dans le monde ?

Trois sérotypes différents de *Salmonella* spp. ont été isolés, à savoir *Salmonella* Muenchen (n=2) dans deux élevages différents, *Salmonella* Bovismorbificans (n=3) dans le même élevage et *Salmonella* Kedougou (n=1), dans l'étude de Callaway les Sérotypes Montevideo et Muenster étaient les plus réponsus [4].

Dans l'étude menée en 2002 les sérotypes les plus répandus sont le sérotype Dublin et le sérotype Typhimurium DT104 (ACSSuT) multi résistantes aux antibiotiques [139], *Salmonella* Bovismorbificans était isolée au niveau des abattoirs au Maroc [184].

En Egypte les sérotypes les plus réponsus sont le sérotype Typhimurium, Anatum, Concord, Montevideo et Enteritidis [186].

En ce qui concerne l'implication des sérotypes isolés dans notre étude en pathologie humaine, *Salmonella* Bovismorbificans était mise en cause dans des troubles touchant 210 personnes en Finlande (en 1994) [158], cette souche était sensible à la plupart des antibiotiques testés [164], la même année cette souche a été isolée chez des personnes en Suède [166].

L'enquête de Herikstad et al révèle l'importance de certains sérotypes en pathologie humaine, cette étude rapporte l'isolement de *Salmonelle* spp. chez l'Homme dans 104 pays membres de l'OMS, *Salmonella* Bovismorbificans était isolée dans 14 pays, parmi ces derniers certains pays de la Méditerranée orientale, dans la même enquête *Salmonella* Muenchen était isolée dans 11 pays dans lesquelles figurent des pays d'Afrique [165].

En plus d'être associé à des manifestations pathologiques chez l'être humain, *Salmonella* Muenchen était isolée lors d'une salmonellose dans une ferme en Finlande (2006) [174], associée à la contamination des carcasses dans des abattoirs en Grèce et isolée dans les fèces des bovins d'engraissement aux États-Unis [176].

Selon les observations (entre 1979 et 1988) effectuées par le Centre National de Référence de *Salmonella* (NSRC) en France, *Salmonella* Bovismorbificans était constamment identifiée en pathologie humaine durant cette période avec des pics épidémiques en 1981, 1985, 1986 et 1987 [173], également identifiée dans d'autres pays d'Europe et aux États-Unis en pathologie humaine [173].

*Salmonella* Kedougou était détectée en Algérie au niveau de l'hôpital de Constantine service néonatal ; cette souche présentait un caractère de multi-résistances aux antibiotiques [169], ce sérotype a été également détecté au niveau d'Alger dans la viande rouge d'origine bovine avec un phénotype de résistance aux sulfamides [170] et fait partie des nouveaux sérotypes multi-résistants isolés en Algérie récemment [196].

Cette souche a été également enregistrée en Espagne dans les années 2002, 2007, un pic en 2008 avec 21 cas dont 19 enfants due à la consommation du lait en poudre ce qu'il lui a valu la création d'un plan de surveillance, en Norvège liée à la consommation du salami (sorte de saucisson) en 2006, au Royaume-Uni en 1992 liée à la consommation de la viande [177], au pays de Gales [181] entre 1986 et 1998 et rentre dans le top 10 des sérotypes les plus isolés en pathologie humaine en Thaïlande [178].

Concernant les modalités de disséminations de *Salmonella* spp. chez l'homme et l'animal l'isolement de certains sérotypes au niveau des engrais à base de bouse de vache et au niveau des effluent des fermes [191] ainsi que l'aptitude de *Salmonella* spp. à envahir les cellules épithéliales en 1h après le contact [195] peut fournir des explications à ce sujet.

Les données précédentes démontrent l'implication de sérotypes isolés au cours de notre étude en pathologie humaine, au point que *Salmonella* Bovismorbificans a fait l'objet d'un système de surveillance et d'alerte en France [173].

Selon Fey et al aux Etats-Unis le phénotype de multi-résistances évoluait principalement chez le bétail [172], cependant dans notre étude seul trois cas de résistance ont pu être mis en évidence, une résistance aux tétracyclines

pour *Salmonella* Kedougou et les deux souches de *Salmonella* Muenchen se sont révélées résistantes à la fluméquine.

L'étude [168] souligne que le caractère de multi-résistances aux antibiotiques de *Salmonella* spp. était plus présent chez les souches d'origine humaine que celle isolées chez l'animal, fait observé par d'autre étude [152 ; 156 ; 157 ; 169 ; 176] où la plupart des isolas de *Salmonella* spp. étaient sensibles aux antibiotiques testés ; la résistance multiple aux antibiotiques était une occurrence peu fréquente dans ces études.

Selon l'étude de Hassanain et al des niveaux de résistances similaires de *Salmonella* spp. ont été identifiés chez l'animal et l'Homme en Egypte [179], ces différentes observations concernant le niveau de résistance aux antibiotiques de *Salmonella* spp. Peut être dû :

- Premièrement aux pratiques d'élevages effectués dans ces pays concernant l'utilisation des antibiotiques, selon l'étude [180] L'utilisation intensive des antibiotiques à titre curatifs et préventifs peut être responsable de l'apparition de résistances aux antibiotiques.
- Deuxièmement aux sérotypes isolés dans ces pays, vu que certains sérotypes présentent un phénotype multi-résistance plus large que d'autres, exemple *Salmonella* Typhimurium DT 104 qui peut résister à six antibiotiques (phénotype ACSSuT).

#### 4.5.1. Discussion des résultats de l'enquête portant sur l'excrétion de *Salmonella* spp. dans le lait mammitéux :

Notre échantillon comprend 150 prélèvements dont 119 étaient récoltés par les vétérinaires dans huit communes différentes, 31 reçus au laboratoire pendant la période de notre étude.

Les prélèvements récoltés par les vétérinaires proviennent essentiellement des élevages dont l'effectif est compris entre (01) et (10) têtes (54%).

Concernant l'âge des vaches la plupart des prélèvements sont issus des vaches âgées de moins de 8ans, cette tranche d'âge représente la période la plus productive durant la vie d'une vache par conséquent plus susceptible d'être touchée par une mammité.

Dans la majorité des cas un quartier était touché par vache. Par ailleurs, nous avons enregistré trois cas ou deux étaient touchés et trois cas ou trois quartiers étaient touchés. Certains auteurs estiment que les quartiers postérieurs sont les plus fréquemment infectés de par leur localisation (proches de l'anus) [5], dans notre étude les quartiers arrière sont les plus représentés avec un pourcentage de 76% par rapport au quartier avant. Pour la partie droite et gauche à peu près le même nombre de prélèvements est issu de ces deux parties.

Les informations précédentes constituent des critères, ces derniers caractérisent notre échantillon et constituent une base sur laquelle nous extrapolerons nos résultats.

Dans notre étude la plupart des prélèvements étaient exploitables à l'exception de ceux contaminés (présence de trois germes), cela témoigne du respect des vétérinaires des conditions de réalisation des prélèvements, de leur implication et de l'intérêt qu'ils portaient à notre étude.

L'analyse microbiologie des prélèvements révèle la présence des deux principaux groupes bactériens à savoir les *Staphylococcus* spp et les entérobactéries, parmi ces groupes les entérobactéries occupent la première place avec un pourcentage de 52.6%.

Diverses espèces d'entérobactéries ont été isolées mais aucun isolement de *Salmonella* spp n'a pu être constaté dans notre étude.

- Expliquer ce résultat revient à expliquer deux situations :
  - La première : si *Salmonella* spp. n'est pas isolée dans notre étude est-elle fréquemment isolée dans d'autres études ?

Bien que *Salmonella* spp. peut causer des mammites [132], elle n'est pas fréquemment mise en cause dans cette pathologie de ce fait en témoignent plusieurs études. Une étude a été menée en France qui portait sur 5485

prélèvements dans lesquelles 3 *Salmonella* spp. ont été isolées, une autre étude menée au Québec (Canada) pendant une période de 2 ans sur 67642 prélèvements ne fait état d'aucun isolement de *Salmonella* spp [132].

En France aussi de nombreuses études [143 ; 142] qui portaient sur l'isolement des germes responsables de mammites cliniques n'ont pas isolé *Salmonella* spp.

Dans l'étude conduite en Algérie par Gabli, aucun isolement de *Salmonella* spp. dans les mammites cliniques n'a été effectué [144].

Cependant dans l'étude d'Addis et al, six prélèvements parmi les 195 prélèvements effectués étaient positifs pour *Salmonella* spp [163].

En Tunisie MESSADI, isole *Salmonella* Typhimurium dans le lait mammitique d'une vache. L'étude portée sur 337 vaches [86].

- La seconde : si *Salmonella* spp. était responsable d'un cas de mammites dans notre échantillon alors pour quoi on ne l'a pas détectée ?

La première explication concerne les modalités d'excrétion des germes responsables de mammites qui peuvent être intermittentes [135], par conséquent se traduit par une absence de *Salmonella* spp. dans le prélèvement.

La seconde explication concerne les conditions autour des prélèvements, car dans de nombreuses études, les colibacilles diminuent largement avec la congélation [5], cependant selon les vétérinaires aucun des prélèvements n'a été congelé.

L'enkystement du germe qui n'a pas été excrété, se traduira aussi par une absence de germes au niveau du prélèvement [5].

Dans certains cas, particulièrement pour les mammites à Colibacilles, les Entérobactéries sont productrices d'Entérotoxines responsables des symptômes. Alors même que toutes les entérobactéries ont été lysées, les

symptômes persistent : la lyse bactérienne a libéré les endotoxines contenues dans les bactéries qui sont responsables de la persistance des symptômes [136 ; 137].

La présence d'anti-infectieux, notamment les antibiotiques, peut inhiber la croissance bactérienne [136].

On peut avoir une inflammation de la mamelle sans infection ce qui est rare.

La durée d'acheminement des prélèvements au laboratoire, la plupart des prélèvements ont été analysés après un délai maximal de 48h de leurs récoltes. Cependant les prélèvements récoltés le jeudi ont été analysés 72h après leurs récoltes ce qui peut jouer un rôle dans la diminution du nombre de germes.

Enfin les techniques mises en œuvre pour la détection de *Salmonella* spp. peuvent jouer un rôle important et déterminant dans la détection de *Salmonelle* spp.

Nous nous sommes interrogés sur la sensibilité de la technique bactériologique, en Égypte un plus grand nombre de *Salmonella* spp. (21%) a été isolé avec la technique PCR comparée à la méthode bactériologique (12%) [194].

De plus la technique bactériologique est considérée comme une technique lourde nécessitant la viabilité du germe au niveau du prélèvement [146], de faible sensibilité par rapport aux autres méthodes (PCR, ELISA) [146, 1].

## CONCLUSION

Notre étude s'est étalée sur une période de plus d'une année d'investigation, elle avait pour objectif de déterminer le portage de *Salmonella* spp. dans les matières fécales et son excrétion dans le lait lors des mammites cliniques. Notre travail a été complété par une enquête auprès des vétérinaires praticiens et au niveau des élevages visités, nous sommes parvenus aux conclusions suivantes:

Les techniques bactériologiques classiques ne sont pas adaptées à des enquêtes de grande envergure, du fait de leur lourdeur, de la durée d'analyse nécessaire pour avoir un résultat, en plus de leur sensibilité qui fait défaut dans certaines conditions (portage).

Un faible taux de portage au niveau des matières fécales au cours de notre étude (2.60%). Cependant, une enquête de grande envergure, dans différentes régions et sur une longue période s'impose afin de confirmer ce résultat.

Les souches de *Salmonella* spp. isolées au cours de notre étude ne représentent pas un phénotype de multi-résistances aux antibiotiques et l'existence d'un risque potentiel pour la population civile est envisageable vu l'implications des serotypes isolés dans des épisodes cliniques chez l'être humain dans le monde.

Les facteurs qui sont associés à un plus grand taux d'isolement de *Salmonella* spp. au cours de notre étude sont les vaches au tarissement et les mauvaises conditions de raclage et de curage.

Aucun isolement de *Salmonella* spp. au niveau du lait mammitique n'a pu être effectué, ce qui nous permet de minimiser le risque de transmission de ce germe par cette voie. Par ailleurs la souillure du lait par les matières fécales peut conduire à la contamination de l'être humain.

La classification d'une région ou d'un animal sur la seule base de la culture bactériologique semble délicate, vu la difficulté d'obtention d'un

échantillon représentatif les modalités d'excrétions de ce germe ainsi que la sensibilité de cette technique.

La mise en place d'un dispositif de surveillance de *Salmonella* spp. au niveau animal et notamment chez l'espèce bovine représente une nécessité. Ce dispositif nous permet d'une part de surveiller l'évolution de ce réservoir et d'autre part de prévenir le risque d'émergence des souches de *Salmonella* spp. multi-résistantes.

A défaut de présence de ce dispositif et de chiffre précis concernant ce portage en Algérie, l'application des règles d'hygiène strictes semble la méthode la plus appropriée pour la protection de la santé publique.

## RECOMMANDATIONS

Suite à notre étude, les propositions suivantes sont primordiales afin de minimiser les risques liés à l'apparition et à la dissémination de salmonellose humaine d'origine animale. Ces propositions s'adressent à de nombreux acteurs qui peuvent intervenir à des niveaux différents :

- Chercheurs, laboratoire de recherche, service vétérinaire, ministère de l'agriculture ou de la santé :

L'étude du portage asymptomatique de *Salmonella* spp. dans les matières fécales et son excrétion dans le lait mammitique sur un plus grand effectif, dans différentes régions, en plus, étendre cette recherche aux bovins d'importation afin de nous éclaircir sur l'origine de certains sérotypes exotiques.

L'étude des facteurs de risque liés à l'excrétion fécale de *Salmonella* spp. comme la période de l'année la plus propice à cette excrétion, dont l'implication a été démontrée par certaines études.

Étendre ces investigations aux effluents des fermes, cela jouera un rôle important dans la compréhension des modalités de dissémination de ce germe.

- Responsables de la santé publique :

Mettre en place un réseau d'alerte et de surveillance de *Salmonella* spp. afin de limiter la dissémination de ce germe au sein de la population bovine (interdiction du mouvement des troupeaux atteints) et d'autre part alerter les médecins afin qu'ils prennent des mesures pour la protection de la santé publique. De plus, ce réseau nous permettra d'avoir toujours un œil sur l'évolution de l'importance de ce réservoir et de prendre les mesures efficaces au bon moment.

Un tel dispositif existe en France depuis 1999, il surveille la résistance aux antibiotiques chez les animaux de rente, cette surveillance concerne, *Salmonella* spp. ainsi que d'autres espèces bactériennes de nature zoonotique.

La sensibilisation des différentes parties concernant le risque que représente l'émergence de *Salmonella* spp. multi-résistante aux antibiotiques sur la santé publique, d'où la nécessité d'un dispositif de surveillance.

- Laboratoire :

Utilisation des techniques d'analyses plus sensibles et adaptées à l'analyse d'un grand nombre de prélèvements lors de ces enquêtes.

Travailler en collaboration avec les laboratoires de référence afin d'acquérir les techniques les plus adaptées à notre contexte (terrain et objectif d'étude), en plus des échanges d'information cette collaboration permettra la création d'une dynamique de recherche ouvrant la voie à de nouvelles perspectives.

Centralisation des données enregistrées dans les laboratoires régionaux et la création d'un centre de suivi afin de mieux étudier cette problématique et de proposer des solutions.

- Vétérinaire :

Organiser des rencontres dans le but de sensibiliser les vétérinaires sur l'existence des risques liés à la salmonellose et de les intégrer dans un réseau national d'épidémiosurveillance.

- Eleveurs :

Sensibilisation des éleveurs sur le danger que peut présenter ce germe au sein de l'élevage que ce soit pour l'être humain (TIA) ou pour l'animal (pertes économiques).

Formation des éleveurs sur la question de la gestion des élevages et de l'hygiène.

- Population civile :

Organiser des journées de sensibilisation et de vulgarisation sur les risques que peut représenter *Salmonella* spp. d'origine animale sur la population humaine et leur apprendre les mesures d'hygiènes à appliquer afin de minimiser ce risque.

## APPENDICE A

Liste des vétérinaires par région qui ont participé à l'étude portant sur le lait mammiteux :

Régions	Vétérinaires	Nombre de prélèvements
Ouaguenoun.	Dr Boudaoud. Dr Boubeker. Dr Touati. Dr Boussafer.	32
Makouda.	Dr Agadir. Dr Lounis. Dr Chaou.	27
Souk-elhed.	Dr Djioua. Dr Adi. Dr Cherif. Dr Haoua.	7
Draa Ben Khedda.	Dr Irzouni. Dr Chérifi.	13
Sidi-Nammane.	Dr Irid. Dr Zidoud.	4
Oiuadia.	Dr Moussaoui.	4
Lefdahi.	Dr Ouidiai.	3
Freha.	Dr Kacimi. Dr Ammara.	8
Prélèvements réalisé par moi-même.		21
Prélèvements reçu au niveau du laboratoire regional veterinaire de Draa Ben Khedda.		31

## APPENDICE B

Date.....

### Fiche d'enquête élevage

1) Nom et Prénom de l'éleveur.....

2) Région :.....

3) Effectif :.....

4) répartition des effectifs selon :

répartition des effectifs selon	Les vaches laitières en production	Les vaches laitières au tarissement	Veaux	Velles	Mâles
Effectifs					
Nombre d'individus prélevé par groupe					

L'âge de chaque animal prélevé est noté sur une étiquette collé sur le prélèvement.

5) pratique de la mise en quarantaine :

Oui.... Non.....

6) pratique du pensionnat ou du prêt :

Oui Non

7) possibilité de contact avec les autres bovins\* :

Oui..... Non .....

\*Vérifier surtout les pâturages communs avec les autres bovins et la possibilité de contact avec les autres bovins par un chemin commun de retour à l'étable.

8) distribution de l'eau (Type d'abreuvoir) :

Automatique..... Traditionnelle (en dure).....

9) présence d'autres espèces animales dans le bâtiment :

Espèces	Présence	Absence
Chiens domestiques		
Chats domestiques		
Volailles /palmipèdes		
Autres		

10) Conditions de stockage des aliments :

Aliments	Bonne	Moyenne	Mauvaise
Conditions de stockage			

Point à évaluer :

- A l'abri des oiseaux.
- A l'abri des rongeurs.
- A l'abri des souillures.

**Bonne** : un local bien isolé sec et à l'abri de la pénétration des eaux, pas accessible (possède une porte) aux oiseaux et au autres animaux et à l'abri des souillures.

**Moyenne** : possède un local de stockage des aliments sec et à l'abri de la pénétration des eaux, mais accessible aux oiseaux et au autres animaux (sans porte) ex : si un bovins est relâché peut pénétrer dans cette enceinte.

**Mauvaise** : ne possède pas de local destiné à entreposer les aliments, aliments entreposé dans un endroit facilement accessible aux oiseaux et autres animaux et par la même occasion aux souillures.

11) conditions de distribution des aliments :

conditions de distribution des aliments	Bonne	Moyenne	Mauvaise
Note	3 ou 4	2	0 ou 1

Points à évaluer :

Risque de souillure pendant la distribution des aliments :

Propreté des auges :

- propre : attribuer une note de (1), pas propre : attribué une note de (0)

Couloire d'alimentation :

- Présence : attribuer une note de (1), Absence : attribuer une note de (0)

Auges pas facilement escalades par les animaux :

Demander aux éleveurs si les animaux montent souvent sur les auges lors de la distribution des aliments toujours attribuer une note de (1) ou de (0)

Risque de souillure avant la distribution :

Eventuel croisement entre le circuit de déjection et d'alimentation (entrepôt des aliments dans des endroits éloignés ou opposés) toujours attribuer une note de (1) ou de (0).

## 12) Condition de curage ou de raclage :

Condition de curage ou de raclage	Bonne	Moyenne	Mauvaise
	propre	Peu sale	Sale / très sale

Juger selon la propreté de l'écurie et l'état sanitaire des animaux (système de notation de la propreté des animaux).

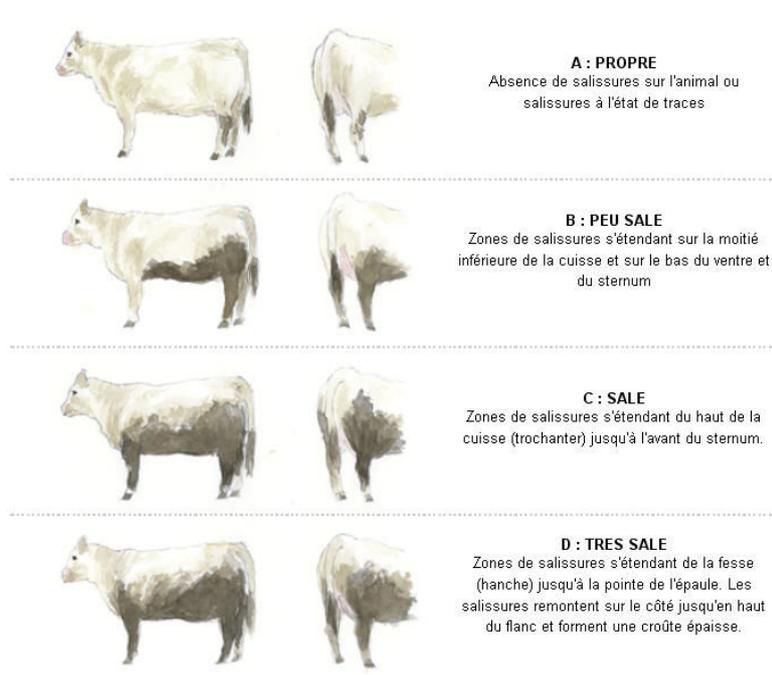


Figure 4.16 : grille d'évaluation de l'état sanitaire des animaux [199].

## APPENDICE C

### Fiche d'enquête lait mammitieux

N° du prélèvement : .....

Date : .....

Quartier	Age	Effectif	Race				
Couchait le quartier atteint <table border="1" style="margin: 5px auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Arrière droit</td> <td style="padding: 5px;">Avant droit</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Arrière gauche</td> <td style="padding: 5px;">Avant gauche</td> </tr> </table>	Arrière droit	Avant droit	Arrière gauche	Avant gauche			
Arrière droit	Avant droit						
Arrière gauche	Avant gauche						

## APPENDICE D

Techniques de prélèvement :

### a. Matériels :

Pots de prélèvements stériles et gants d'examen.

Coton hydrophile ou compresses alcool à 70 °.

Papier absorbant.

Feutre indélébile pour pots de prélèvements sans étiquettes.

### **Technique :**

La première étape est le nettoyage correct du trayon avec de l'eau tiède, du savon et une lavette.

On essuie ensuite avec du papier absorbant et on renouvelle l'opération jusqu'à ce que le papier soit propre. Après avoir vêtu des gants procéder à la désinfection du trayon, surtout le bout, avec un coton imbibé d'alcool à 70°.

Puis, avec un flacon stérile placé entre le pouce et l'index, on oriente le bouchon vers le bas, on dévisse celui-ci avec la main droite. Le bouchon est placé immédiatement entre le pouce et l'index de la main gauche, protégeant l'ouverture du pot.

On rapproche le flacon à l'horizontale du trayon, on élimine les premiers jets sur le sol puis on dirige 3 à 4 jets vers le récipient, on rebouche celui-ci immédiatement. On identifie le pot (quartier et la date du prélèvement). Ce dernier doit ensuite être acheminé dans une glacière.

## APPENDICE E

### Techniques d'identification biochimique

#### 1) Galerie biochimique classique :

Un inoculum (bactéries mélangé à de l'eau distillée) est préparé à partir de la culture obtenue sur GN ; elle est utilisée pour ensemercer les milieux suivants :

##### a. Gélose inclinée au Triple Sugar Iron (TSI) :

L'ensemencement du milieu au TSI s'effectue à l'aide d'une pipette Pasteur, par des stries serrées au niveau de la pente suivi d'une piqûre centrale profonde. Les tubes, ne devant pas être fermés hermétiquement, sont étuvés à 37°C pendant 18-24h.

Une culture typique de *Salmonella* correspond à :

- Une pente alcaline rouge, signe de la non-dégradation du lactose et / ou du saccharose.
- Un culot acide jaune, signe de la fermentation du glucose.
- Un dégagement de gaz qui se traduit par la formation de bulles, soulevant parfois la gélose.
- Une production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S), signe de l'utilisation du chlorure ferreux, d'où le noircissement de la gélose.

##### b. Milieu urée-indole :

Permet la mise en évidence de l'uréase, une enzyme qui hydrolyse l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac responsables de l'alcalinisation du milieu ; elle est décelable par un indicateur coloré.

0.5 ml du milieu urée-indole (milieu de FERGUSON) est abondamment ensemercé avec la culture obtenue sur TSI suspect.

Après 18-24h d'incubation à 37°C, la réaction est positive si la couleur vire au rouge violacé; elle est considérée comme négative si la couleur reste inchangée (jaune).

##### c. Recherche de la production d'indole:

la tryptophanase bactérienne permet la dégradation du tryptophane présent dans le milieu urée-indole, en indole et pyruvate. Les *Salmonella* ne produisent pas d'indole.

Quelques gouttes du réactif de Kovacs sont ajoutées au milieu urée-indole ensemencé et incubé. La présence d'indole est révélée par la formation d'un anneau rouge à la surface du milieu.

d. Milieu Mannitol-Mobilité :

Le milieu gélosé contenant du mannitol est ensemencé par piqûre centrale profonde ; l'incubation s'effectue à 37°C pendant 18-24h.

Le virage de la couleur du rouge à l'orangé indique la dégradation du mannitol ; la mobilité est mise en évidence par la présence d'une culture bactérienne sous forme d'un voile autour de la piqûre centrale.

e. Milieu au citrate de Simmons :

Ce milieu permet de rechercher la citrate perméase, une enzyme qui catalyse la dégradation du citrate de sodium pour donner du pyruvate et du CO<sub>2</sub>.

Ce test détermine si la bactérie est capable d'utiliser l'acide citrique comme seule source de carbone, une spécificité des bactéries prototrophes.

À partir de la suspension bactérienne, nous ensemençons en stries serrées la moitié de la pente du milieu gélosé de citrates de Simmons, puis on incube à 37°C pendant 18-24h.

Ne pas visser à fond le bouchon métallique afin de permettre au Co<sub>2</sub> résultant de la décarboxylation du citrate, de s'échapper.

La présence d'une citrate perméase se traduit par le virage de la couleur du vert au bleu suite à l'alcalinisation du milieu par libération des radicaux hydroxyles (-OH).

f. Réactif pour la recherche de l'oxydase :

But : Différencier chez les bacilles Gram - les Entérobactéries des Pseudomonas

Technique :

- Mettre dans un tube, 1 à 2 ml d'eau physiologique ;

- Ajouter 1 ml de culture (si le milieu est liquide, sinon faire une suspension bactérienne à partir d'un milieu solide)
- Ajouter un disque d'oxydase

Lecture : Coloration rose-violette.

g. Réactif pour la recherche de la  $\beta$ -galactosidase :

Un disque imprégné d'ONPG est placé dans un tube contenant 0.5ml de suspension bactérienne. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 18-24h.

La couleur jaune de la suspension bactérienne traduit la présence d'une  $\beta$ -galactosidase et par conséquent, la faculté de la bactérie à dégrader le lactose. Une suspension bactérienne de couleur inchangée signe l'absence d'une  $\beta$ -galactosidase ; la bactérie est dans ce cas dite, lactose négative.

Tableau : interprétation des tests biochimiques d'orientation pour la recherche de *Salmonella* sur une galerie classique.

Test	Réaction
Fermentation du glucose	+
Formation de gaz	+
Fermentation du lactose	
Formation de sulfure d'hydrogène	+
Décomposition de l'urée	-
Production d'indole	-
Utilisation du citrate	+
Fermentation du mannitol	+
Mobilité	+/-
Recherche de l'oxydase	-

## APPENDICE F

### Technique de sérotypage [12] :

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

Pour chacune des souches isolées, qu'elle soit conservée sur un milieu au TSI ou sur un milieu spécifique de conservation, nous procédons à sa purification en ajoutant d'abord, 0.5ml de bouillon nutritif puis en effectuant un isolement sur gélose HK.

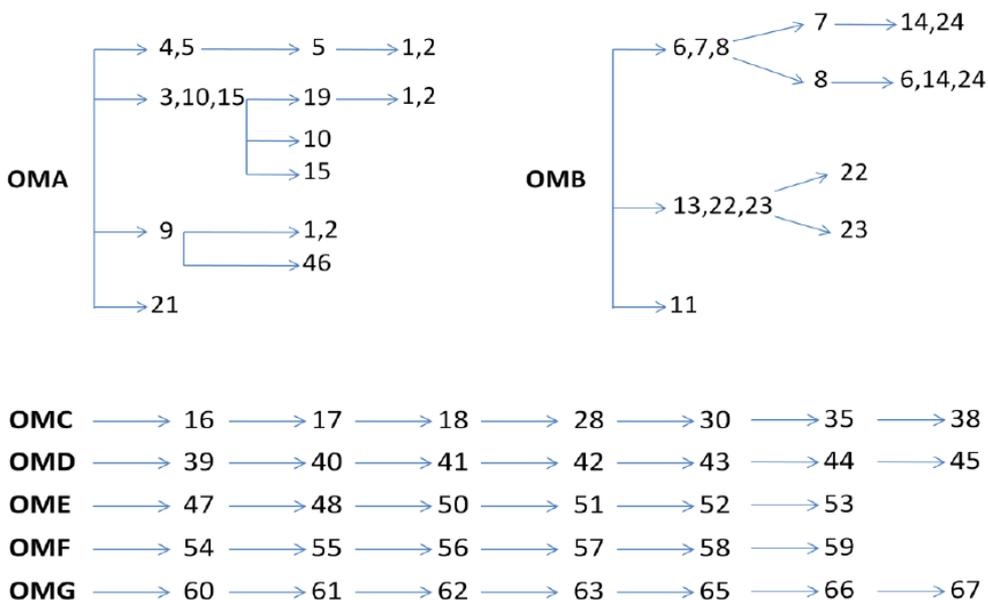
Après une incubation de 18-24h à 37°C, une colonie bien isolée est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur puis repiquée simultanément sur un tube de milieu au TSI et sur un tube de GN inclinée.

Les deux tubes seront incubés à 37°C pendant 18-24h. Nous vérifions d'abord la non-agglutinabilité en sérum physiologique de la souche à sérotyper ; nous opérons ensuite avec méthode en cherchant successivement l'agglutination avec les sérums anti-O, puis anti-H, phase 1 et phase 2.

### Interprétation :

La réaction est positive si au bout de quelques secondes, il y a formation d'agrégats visibles à l'œil nu.

Aq. SOMATIQUES



Aq. FLAGELLAIRES

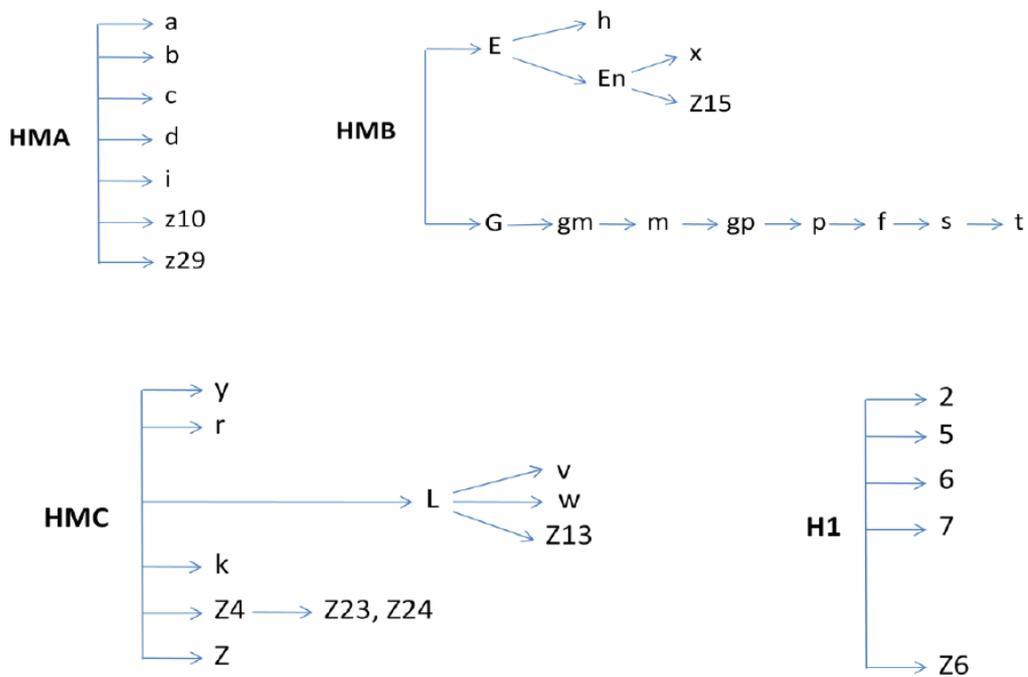


Figure 4.17 : Schéma du sérotypage [12].

## APPENDICE G

### L'antibiogramme (milieu et technique de réalisation) [200] :

#### a) Milieu :

Gélose Mueller Hinton (M.H) coulée en boîtes de pétrie sur une épaisseur de 4mm.

#### b) Inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur le milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 McFarland

- l'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

-l'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum

#### c) Ensemencement :

-tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

-L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi du tube, afin de le décharger au maximum ;

-Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées ;

-Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte à 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

- tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en tournant) sur la paroi du tube, afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées ;
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte à 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

#### Application des disques d'antibiotiques

- il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de pétrie de 90mm de diamètre, les disques d'antibiotique doivent être espacés de 24mm ;

#### d) Incubation :

18h à 35°.

#### e) Lecture :

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse et comparer ces résultats aux valeurs critiques.

Tableau : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour Entérobactéries (en médecine vétérinaire) [200]

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètre critiques (mm)			CMI critique (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14-16	≥17	≥ 32	16	≤8	La réponse pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Chient:								La valeur ≤8 doit être utilisée pour les infections du tractus urinaire, cette valeur correspond à une administration orale de 25.6 mg/kg. Pour l'amoxicilline, elle est de 11 mg / kg administrées cinq doses consécutives à 8 heures d'intervalle. La concentration des urines produites chez le chient est >300 µ/ml
<i>Escherichia coli</i>	.	.	.	.	≥1	.	≤0.25	
Amoxicilline+	20/10 µg	≤ 13	14-17	≥18	≥ 32/16	16./8	≤8/4	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX ou TIO.
Acides clavulanique <sup>+</sup>								une image de synergie indique la présence d'une BLSE, Après confirmation, la souche BLSE+ doit être rendue résistantes à toutes les β-lactamases (sans tenir compte des valeurs critiques).
Céfalotine	30 µg	≤ 14	15-17	≥18	≥32	16	≤8	La réponse à la cefalotine est valable pour toutes les céphalosporines de première génération.
Céftiofur	30 µg	≤ 17	18-20	≥21	≥8	4	≤2	
Bovins (Mammites à <i>Escherichia coli</i> )		≤ 17	18-20	≥21	≥8	4	≤2	
Néomycine/ Kanamycine	30µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16	La réponse pour la néomycine est valable pour la Kanamycine
Gentamicine**	10µg	≤12	13-14	≥15	≥16	8	≤4	
Espèce canine	10µg	≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique ( utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chiens, la dose de gentamicine modifiée est : 10mg /kg /24h en IM.
Espèce équine	10µg	≤12	13-15	≥16	≥8	4	≤2	Ces valeurs sont inspirées de la pharmacocinétique ( utilisant des doses cliniques acceptables) et des données pharmacodynamiques, pour les chevaux, la dose de la gentamicine modifiées est: 6.6mg /kg /24h en IM.

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètre critiques (mm)			CMI critique ( $\mu\text{g/ml}$ )			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Sulfisoxazole	300 $\mu\text{g}$	$\leq 12$	13-16	$\geq 17$	$\geq 512$	.	$\leq 256$	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75 $\mu\text{g}$	$\leq 10$	11-15	$\geq 16$	$\geq 4/67$	.	$\leq 2/38$	La valeur $\leq 2/38$ peut être utilisée pour les isolats des infections du tractus urinaire.
Tétracyclines	30 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-18	$\geq 19$	$\geq 16$	8	$\leq 4$	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines. Les organismes sensibles à la tétracyclines sont aussi considérés comme intermédiaires ou résistants à la tétracyclines peuvent être sensibles à la doxyciline ou à la minocycline ou aux deux
Acide nalidixique/ fluméquine	30 $\mu\text{g}$	$\leq 13$	14-18	$\geq 19$	$\geq 32$	.	$\leq 16$	
Enrofloxacin	5 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	17-20	$\geq 21$	$\geq 2$	0.5-1	$\leq 0.25$	
Aviaire (poulet et dinde)	5 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	17-22	$\geq 23$	$\geq 2$	0.5-1	$\leq 0.25$	
Espèce féline et canine	5 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	17-22	$\geq 23$	$\geq 4$	1-2	$\leq 0.5$	
Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-19	$\geq 20$	$\geq 4$	2	$\leq 1$	
Colistine	10 $\mu\text{g}$	$\leq 10$	.	$\geq 11$	.	.	.	
Nitrofurantoin**	300 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-16	$\geq 17$	$\geq 128$	64	$\leq 32$	
Chloramphénicol**	30 $\mu\text{g}$	$\leq 12$	13-17	$\geq 18$	$32 \geq$	16	$\leq 8$	

\*Antibiotique testé seulement pour la recherche des  $\beta$ -lactamases.

\*\*Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie.

Tableau : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp. (En médecine vétérinaire) [200] :

Antibiotique testés	Charge du disque	Diamètre critiques (mm)			CMI critique ( $\mu\text{g/ml}$ )			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Sulfisoxazole	300 $\mu\text{g}$	$\leq 12$	13-16	$\geq 17$	$\geq 512$	.	$\leq 256$	La réponse pour le sulfisoxazole est valable pour les sulfonamides
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole		1.25/23.75 $\mu\text{g}$	$\leq 10$	11-15	$\geq 16$	$\geq 4/67$	.	
Tétracyclines	30 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-18	$\geq 19$	$\geq 16$	8	$\leq 4$	Le test de sensibilité à la tétracycline est valable pour tester la sensibilité aux chlortétracyclines, doxycyclines et oxytétracyclines. Les organismes sensibles à la tétracyclines sont aussi considérés comme intermédiaires ou résistants à la tétracyclines peuvent être sensibles à la doxyciline ou à la minocycline ou aux deux
Acide nalidixique/ fluméquine	30 $\mu\text{g}$	$\leq 13$	14-18	$\geq 19$	$\geq 32$	.	$\leq 16$	
Enrofloxacin	5 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	17-20	$\geq 21$	$\geq 2$	0.5-1	$\leq 0.25$	
Aviaire (poulet et dinde)	5 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	17-22	$\geq 23$	$\geq 2$	0.5-1	$\leq 0.25$	
Espèce féline et canine	5 $\mu\text{g}$	$\leq 16$	17-22	$\geq 23$	$\geq 4$	1-2	$\leq 0.5$	
Marbofloxacin (même valeurs pour l'espèce féline et canine)	5 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-19	$\geq 20$	$\geq 4$	2	$\leq 1$	
Colistine	10 $\mu\text{g}$	$\leq 10$	.	$\geq 11$	.	.	.	
Nitrofurantoin**	300 $\mu\text{g}$	$\leq 14$	15-16	$\geq 17$	$\geq 128$	64	$\leq 32$	
Chloramphénicol**	30 $\mu\text{g}$	$\leq 12$	13-17	$\geq 18$	$32 \geq$	16	$\leq 8$	

Antibiotique testés	Organisation	Diamètre critiques (mm)		Commentaire
		R	S	
Cefoxitine	S.aureus and S.lugdunensis	≤21	≥22	* Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≤21 mm, la souche de S.aureus est résistante à l'oxacilline. * Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≥22 mm, la souche de S.aureus est sensible à l'oxacilline
	S.C.N sauf S.lugdunensis	≤ 24	≥ 25	* Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≤24 mm, la souche de S.C.N est résistante à l'oxacilline. * Si Si le diamètre de la zone d'inhibition est ≥ 25 mm, la souche de S.C.N est résistante à l'oxacilline.

\*Antibiotique testé seulement pour la recherche des β-lactamases.

\*\*Antibiotique testé uniquement dans le cadre de l'épidémiologie.

## Appendice H

Tableau : antibiogramme de *Salmonella* isolées dans notre étude.

	AMP	AMC	XNL	NEO/ KA	GEN	SUL	SXT	Te	NA/ FLUMEQUINE	ENR	CS
<i>Salmonella</i> Muenchen	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>Salmonella</i> Muenchen	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Salmonella</i> Kedougou	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S

AMP: Ampicilline, AMC : Amoxicilline Acide clavulanique, XNL : ceftiofure, NEO/ KA : Néomycine / Kanamycine, GEN : Gentamycine SXT : Thrimétoprime Sulfaméthoxazole, NA / FLUMEQUINE : Acide nalidixique / Fluméquine, ENR : Enrofloxacin, CS : Colistin

## Appendice I

Tableau : milieux de cultures sélectives pour l'isolement de *Salmonella* [114].

Milieux d'isolement sélectifs solides	Principe du milieu		Utilisation (incubation)	Aspect des colonies de <i>Salmonella</i>	Autres bactéries					
					<i>Proteus spp</i>		Coliforms		<i>Pseudomonas</i>	
					Croissance	Aspects des colonies	Croissance	Aspects des colonies	Croissance	Aspects des colonies
Gélose sulfite de bismuth (BS)			37°C de 18 à 24 heures	noire à éclat métallique	Bonne croissance	Noire	Médiocre	Brun verdâtre	/	/
Gélose vert brillant	<p>La sélectivité de l'agar est liée à la présence du vert brillant et à la présence du lactose et du sucrose. Deux modifications ont été développées pour limiter la surcroissance des <i>proteus</i>.</p> <p>Le premier était l'addition de la sulfadiazine (Galton <i>et autres.</i>&gt;, 1954) ou sulphapyridine (Osborne et charge, 1955) (BGS)</p> <p>L'autre était l'addition de la novobiocine (BGN).</p>	BG	37°C de 18 à 24 heures	Rouge	Médiocre	Rouge	Croissance moyenne	Vert-jaunâtre	Croissance moyenne	Rouge
		BGS		Rouge	Médiocre	Rouge	Absence, ou pauvre	Vert-jaunâtre	Croissance moyenne	Rouge
		BGN		Rouge	Absence, ou croissance faible	Rouge	Médiocre	Vert-jaunâtre	Médiocre	Rouge
Gélose Hektoen	Les agents sélectifs sont les sels biliaires, l'utilisation du lactose présent dans le milieu se traduit par une coloration saumon et les colonies H <sub>2</sub> S (+) apparaissent avec un centre noir.		37°C de 18 à 24 heures	Blue verdâtre avec ou sans centre noir	Bonne croissance	Blue verdâtre avec ou sans centre noir	Médiocre	saumon	Médiocre	Bleu brunâtre

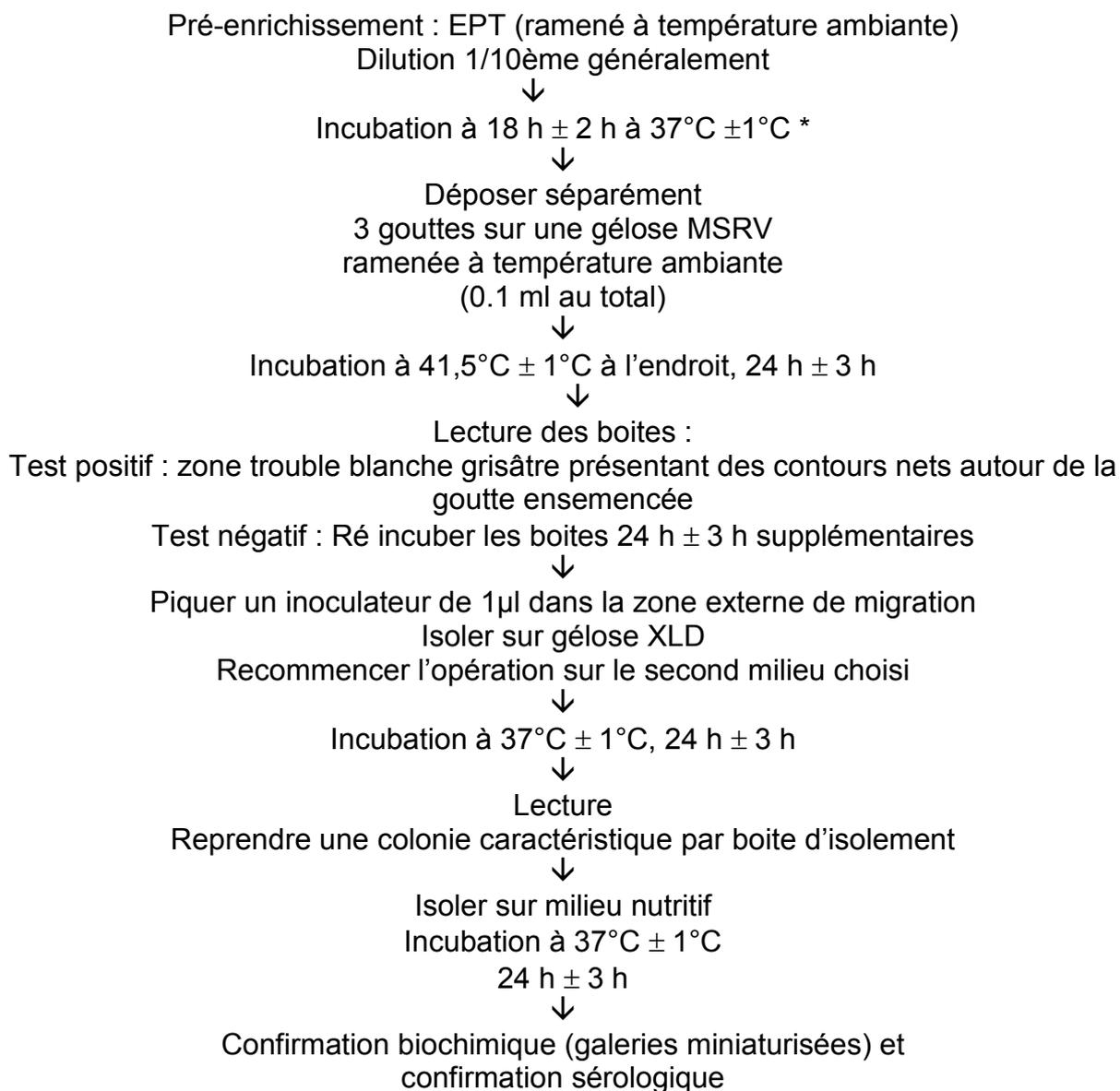
Desoxycolat e citrare lactose (DCL)	la capacité sélective implique la présence du désoxycholate de sodium et, à un moindre degré, citrate sodique. L'utilisation du lactose présent dans le milieu se traduit par une coloration rose et les colonies H <sub>2</sub> S (+) apparaissent avec un centre noir.	37°C de 18 à 24 heures	Incolore ou blanchâtre avec ou sans centre noir	Bonne croissance	Incolore ou blanchâtre avec ou sans centre noir	Croissance moyenne	Rose	Absence, ou pauvre	Verdatre ou brunâtre
Milieu de Rambach	Le sélectif du milieu résulte de : ➤ La présence des sels de biliars. ➤ La formation de l'acide à partir du propylène glycol pour la plupart des <i>Salmonella</i> ➤ La révélation de la présence d'une β- galactosidase par un indicateur coloré pour les <i>Proteus</i> et les membres de la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> autres que les <i>Salmonella</i> (couleur incolore, bleue à violette)	37°C de 18 à 24 heures	Colonies rouge fuchsia (certaines souches de <i>Salmonella</i> peuvent apparaître incolores)	Croissance moyenne	Transpare nt	Croissance moyenne	Blue–violet	Médiocre	Orange
Milieu <i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i> (S.S.)	Les agents sélectifs incluent, les sels de bile, le vert brillant, et à moindre degré le citrate sodique. La formation d'acide à partir du lactose avec révélation du pH acide par virage du rouge neutre colorant en rouge les colonies fermentant le lactose. La production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium qui, en présence de citrate ferrique, produit un précipité noir.	37°C de 18 à 24 heures	Colonies incolores a centre noir pour les souches H <sub>2</sub> S +	Croissance moyenne	Colonies incolores a centre noir pour ou un centre orangé pour <i>Proteus</i> <i>rettgeri</i>	Croissance moyenne	Rose	/	/
Xylose Lysine Decarboxyla se (XLD)	Ce milieu permet : La fermentation du xylose avec un virage au jaune du rouge phénol. La décarboxylation de la lysine en cadavérine entraînant une coloration rouge (toutes les salmonelles possèdent une L.D.C à l'exception de <i>salmonella</i> Paratyphi A) La production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium en présence de citrate ferrique ammoniacal se traduit par un centre noir.	37°C de 18 à 24 heures	Colonies rouge avec ou sans centre noir.	Bonne croissance	Jaune avec un centre noir.	Croissance moyenne	Jaune	/	/

Milieu XLT4	La modification principale par rapport au XLD et l'addition du tergicol 4 qui a un effet inhibiteur sur les <i>proteus</i> , <i>pseudomonas</i> et <i>Providencia</i> .	37°C de 18 à 24 heures	Colonies jaunes rosées à rouges avec un centre noir (sans centre noir pour les Salmonella H2S -)	Absence, ou croissance faible.	/	Médiocre	Jaune	Médiocre	/
----------------	---	------------------------------	---	--------------------------------------	---	----------	-------	----------	---

## Appendice J

➤ la norme EN ISO 6579 :

Méthode de référence ISO 6579  
Recherche des *Salmonella spp.* dans les matières fécales des animaux et dans les échantillons environnementaux au stade de la production primaire



\* La voie MKTTn de la méthode U47-100 a été effectuée en parallèle [153 ; 154 ; 155].

Récemment, une nouvelle formule a été proposée, dérivée du MSRV ; il s'agit du Diasalm [140 ; 10].

**APPENDICE K****LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

° C	Degré Celsius.
H	heure.
ISO	International Organization for Standardization
EPT	Eau Peptonée Tamponée.
MT	matières fécales.
MSRV	Modified Semi-solid Rappaport-Vassiliadis.
RVS	Milieu Rappaport-Vassiliadis Soja.
ml	Millilitre.
mm	Millimètre.
±	Plus au moins.
MKTTn	Milieu Muleur-Kaufman.
XLD	Xylose Lysine Décarboxylase.
HK	Hektoen.
TSI	Triple Sugar Iron.
KIA	Kligler-Hajna.
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute.
B.H.I.B	Brain Heart Infusion Broth.
PCR	Polymerase Chain Reaction.

## REFERENCES

1. J Nyman, A.K., Agren, E.CC., Bergström, K., Wahlström, H ., 'Evaluation of the specificity of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies against Salmonella in bovine bulk milk', Acta Veterinaria Scandinavica, (2013), p 1-7.
2. Weill, F.X., " Salmonelles non-typhiques d'origine animale et résistance aux antibiotiques" Bull. Acad. Vét. Tome. 161, N°3, (2008), France, 14 p.
3. Aubry, P., "La salmonellose chez les bovins laitiers Présentation clinique et culture bactériologique", Université de Montréal Département de pathologie et microbiologie Faculté de médecine vétérinaire Monreale, (2010), canada, p8.
4. Callaway, T.R., et al "Fecal Prevalence and Diversity of *Salmonella* Species in Lactating Dairy Cattle in Four States" J. Dairy Sci. 88:3603–3608, (2005), 6 p.
5. Ghouri, I., (2005). "Etude des mammites subcliniques avec suivi des vaches pendant le tarissement dans la région de la Mitidja" Mémoire de Magister, Université Saad Dahlab De Blida, Faculté des Sciences Agrovétérinaires et Biologiques, Département des Sciences Vétérinaires, (2005), Algérie, 205p.
6. Le Minor, L., Veron M., "Bactériologie médicale". 2<sup>ème</sup> édition, Flammarion, Paris, (1989), p 411-426.
7. Philémon Pouget, M.S., "salmonellose mammaire ovine caractérisation clinique et bactériologique", thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire diplôme d'état présentée et soutenue publiquement devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse,(2006) p 27.

8. Frobisher, M., Fuerst, R., "Microbiologie clinique", Éditions HRW LTÉE, Canada, (1976), 507p.
9. Humbert, F., "Les salmonelles", In "Bactériologie alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments", (Federighi, M.), 2ème Édition Economica, Paris, (2005), p 1-23.
10. Humbert, F., "Les salmonelles ", In "Manuel de bactériologie alimentaire ", (Sutra, L., Federighi, M., Jouve, J-L), 1ère Édition Polytechnica, Paris, (1998), p 27-52.
11. Le Minor, L., "*Salmonella* ", In "Bactériologie médicale" (Le Minor, L., Veron, M.), 2ème Édition Flammarion Médecine-Sciences, Paris, (1989), p 411-427.
12. Medjbar, Mohand.," Caractérisation des salmonelles détectées par une méthode alternative à la méthode classique dans les tueries avicoles de la wilaya de blida", mémoire de magister, université Saad Dahlab de Blida, faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques, département des sciences vétérinaires, (2012), 159 p.
13. Elgroud, rachid M., "Contaminations du poulet de chair par les salmonelles non typhiques en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine : Caractérisations phénotypiques et génotypiques par ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE", Université Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences Vétérinaires, (2009) ,157 p.
14. Camart-Périé, A.," *Salmonella*, salmonelloses bovines : état des lieux, épidémiologie en France". thèse pour le doctorat vétérinaire, faculté de médecine de Créteil, France, (2006), p13.
15. Le Minor, L., "The genus Salmonella. In: The procaryotes. Ballows and all. Springer", New York: (1994), p 2760-2774.

16. Yan, S.S., Pendrak, M.L., Abela-Ridder, B., Punderson, J.W., Fedorko, D.P., Foley, S-L., “ An overview of Salmonella typing public health perspectives”. *Clinical and applied immunology reviews*. (2003) 4, p 189-204.
17. Patrick, A.D., Grimont, F., Bouvet, P., “Taxonomy of the Genus *Salmonella*”, CAB International, *Salmonella* in Domestic Animals, 2000, 474 p.
18. Labbe, J.F., “La salmonellose bovine dans les Côtes d’Armor. Résultats d’une enquête réalisée dans 250 élevages de janvier 1991 à septembre 1993”. Th. : *Med.vet. : Alfort : n°75*, (1994), 76 p.
19. Sojka, W.J., “La salmonellose bovine en rapport avec ses aspects particuliers en Angleterre et aux pays de Galles”, *Ann. Med. Vet.*, (1972), 116, p 497-540.
20. Wray, C., Linklater, K.A., “*Salmonella* infections in sheep”, “*Salmonella* in domestics animals.”, UK: CAB. I. Publishing, 2000, p 209-218.
21. Brenner, F.W., Villard, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R., Swaminathan, B., “*Salmonella* nomenclature”, *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 7, (2000), p 2465-2467.
22. Lederer, J., “Les intoxications alimentaires”, In “Encyclopédie moderne de l’hygiène alimentaire”, Tome IV, Éditions Nauwelaerts, (1970), 156 p.
23. Farmer, J.J., Boatwright, K.D. ., Janda, J.M., “*Enterobacteriaceae*: Introduction and Identification”. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH et al., eds. “Manual of clinical microbiology”. 9th ed. Washington, D.C. ASM Press, (2007), p 649-669.
24. Pilet, C., Bourdoin, J.L., Toma, B., Marchal, N., Balbastre, C., Person, J.M., “Bactériologie médicale et vétérinaire. Systématique bactérienne”. Paris. Douin, (1987), p 81-93.

25. Bertrand, Robert Bonhomme.,“ étude de la contamination des milieux internes de l'œuf par salmonella sérotype enteritidis”, thèse pour le doctorat vétérinaire la faculté de médecine de Créteil France, (2003), 110 p.
26. Skerman, V.B.D., Mc Gowan, V., Sneath, P.H.A., “Approved list of bacterial names.International” journal of systemic bacteriology, (1980), p30, p 225-420.
27. Crosa, J.H., Brenner, D.J., Ewing, W.H., Falkow, S., “Molecular relationships among the salmonellae”. Journal of Bacteriology, (1973) p115, p307–315.
28. Stoleru, G.H., Le Minor, L., L'Heritier, A.M. “Polynucleotide sequence divergence among strains of *Salmonella* sub-genus IV and closely related organisms”, Annales de Microbiologie 127A, (1976), p 477–486.
29. Le Minor, L., Veron, M., Popoff M.Y.,“Taxonomie des *Salmonella*”, *Annales de Microbiologie* 133B,(1982), p 223–243.
30. Le Minor, L., Popoff, M.Y., Laurent, B., Hermant, D., “Individualisation d'une septième sous-espèce de *Salmonella*: *S. choleraesuis* subsp”, Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie 137B, (1986), p 211–217.
31. Wayne, L.G., Brenner, D.G., Colwell, R.R., Grimont, P.A.D., Kandler, O., Krichevsky, M.I., Moore, H., Moore, W.E.C., Murray, R.G.E., Stackbrandt, E., Starr, M.P. , Trüper, H.G , “Report of the ad-hoc commitee on reconciliation of approaches to bacterial systemics”, International journal of systematic Bacteriology, (1987), p 463-464.
32. Reeves, M.W., Evins, G.M., Heiba, A.A., Plikaytis, B.D., Farmer, J.J., “ Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb ”, Journal of Clinical Microbiology,( 1989), p 27, p 313–320.

33. Yan, S.S., Pendrak, M.L., Abela-Ridder, B., Punderson, J.W., Fedorko, D.P., et Foley, S.L., “ An overview of Salmonella typing public health perspectives. Clinical and applied immunology reviews”, (2003), p 4, p 189-204.
34. Heyndrickx, M., Pasmans, F., Ducatelle, R., Decostere, A., Haessebrouck., “Recent changes in Salmonella nomenclature: The need for clarification”.The veterinary journal, (2005), p 170, p 275-277.
35. Guibourdenche, M. “ Rapport d'activité. Centre Collaborateur OMS, pour la reference et la recherche des salmonelles”. Institut Pasteur de Paris, (2005).
36. Humbert, F., “Les Salmonelloses. dans Manuel de Bactériologie Alimentaire,ed. Polytechnica”. Paris (1998).
37. Pardon, P., Sanchis, R., “Les salmonelloses”. In : FASSI-FEHRI, M. “Les maladies infectieuses du mouton”. Tome I. Actes Editions, (1988), p 162-194.
38. Grimont, P.A.D., Grimont, F., Bouvet P.J.M., “Salmonella In Manuel de bactériologie clinique” In FREYNEY J., RENAUD F., HANSEN W. et Bollet C. Vol2, 2<sup>ème</sup> édition Ed. Elsevier, (1994), p1017-42.
39. Castagnos, S., “contribution a l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie (aviguard©) contre les salmonelles sur des poulets labels du sud-ouest”, thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, (2003), 110 p.
40. Le Minor, L., Veron, M., “Bactériologie médicale” 2ème édition Ed. Flammarion, (1990), p 411- 427.
41. Libby, S.J., Halsey, T.A., Altier, C., *Salmonella*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG et al., eds.“Pathogenesis of Bacterial infections in Animals”. 3<sup>ème</sup> édition. Ames, IA: Blackwell Publishing Professional, (2004), p 143-167.

42. Radostits, O.M., Gay ,C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D., "A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats", Veterinary Medicine. 10<sup>th</sup> ed. New York: Elsevier Saunders, 2007.
43. Desprez, C., "La salmonellose du porc", Thèse Méd. Vét., Alfort, (1992), 130p.
44. Lianes, C., Kirchgesner, V., Plesiat, P., "Propagation of TEM- and PSE-type  $\beta$ -lactamases among amoxicillin-resistant *Salmonella* spp. isolated in France. Antimicrob. Agents Chemother", (1999), p 43, p 2430-2436.
45. Doyle, P., Cliver, D.O., "Salmonella in foodborne diseases". Ed. Academic press, (1990), p 185-204.
46. Bell, C., Kyriakides, A., "Salmonella in: Foodborne Pathogens. Hazards, risk analysis and control. Woodhead Publishing Limited", (2002), p 307-334.
47. Cécile, Dominique, Elise Blondelet-Cadot, "*Salmonella* Typhimurium DT104 : Bacteriologie, Epidemiologie, Antibioresistance " faculté de médecine de Créteil France, (2001), 98 p.
48. Laurence, F., "Étude comparée des vaccins et des flores bactériennes dans la lutte contre les salmonelles en élevage de poules pondeuses (étude bibliographique)". faculté de médecine de Créteil France, 2007, 164 p.
49. Berche, P., Gaillard, J.L., Simonet, M., "Bactériologie, bactéries des infections humaines" Ed. Flammarion Chap 6, (1988), p 77-92.
50. Ammar, A., " Épidémiologie de salmonella typhimurium et salmonella enteritidis dans la filière avicole", université de Batna faculté des sciences département vétérinaire Algérie, (2010), p 21.

51. Guibourdenche, M., Roggentin, P., Mikoleit, M., Fields, P.I., Bockemühl, J., Grimont, P.A.D., Weill F.X., Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor schème. *Res Microbiol* (2010), p 26-29.
52. Lockman, H.A., Curtiss, R., “Virulence of non-type 1-fimbriated and non fimbriated non flagellated *Salmonella* Typhimurium mutants in murine typhoid fever.” *Infect Immun*, (1992), p 60, p491-496.
53. Rosselin, M,“ Identification et rôle des mécanismes d’invasion cellulaire indépendants du T3SS-1 chez *Salmonella* Enteritidis”, université François – Rabelais de tours, France, (2011), p 33.
54. Darwin, K.H., Miller, V.L., “ Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa”. *Clin Microbiol Rev*, (1999) p12, p 405-428.
55. Libby, S.J., Halsey, T.A., Altier, C., “*Salmonella*”, In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG et al., eds. “*Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*”. 3rd ed. Ames, IA: Blackwell Publishing Professional, (2004), p 143-167.
56. Dorsey, C.W., Laarakker, M.C., Humphries, A.D., Weening, E.H., Baumler A.J., “*Salmonella* enterica serotype Typhimurium MisL is an intestinal colonization factor that binds fibronectin”, *Molecular Microbiology*, (2005), p 57, p196-211.
57. Kingsley, R.A., Santos, R.L., Keestra, A.M., Adams, L.G., Baumler, A.J., “*Salmonella* enterica serotype Typhimurium ShdA is an outer membrane fibronectin-binding protein that is expressed in the intestine”. *Molecular Microbiology*, (2002,p 43, p 895-905.
58. Morgan, E., Bowen, A.J., Carnell, S.C., Wallis, T.S., Stevens, M.P., “Size is secreted by the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathogenicity island 4-encoded secretion system and contributes to intestinal colonization in cattle. *Infect Immun*” , (2007), p 75, p 1524-1533.

59. Rhen, M., Taira, S., Koski, P., Hurme, R., Rikonen, P., Makela, P.H., "Virulence factors of Salmonella", In: "Salmonella and Salmonellosis", Saint Brieuc, Guivarch, (1992), p 103-112.
60. Schmidt, H., Hensel, M., " Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis", Clinical Microbiology Rev 2004; 17(1): p14-56.
61. Targant, H., " L'îlot de multirésistance aux antibiotiques, Salmonella Genomic Island 1 (SGI1) : variabilité, diffusion interespèces et implication dans la virulence". Université Claude Bernard Lyon 1 école doctorale interdisciplinaire science sante France, (2010), p 24.
62. Enriquez, B., "Sulfamides, quinolones, nitrofuranes et nitroimidazolés à propriétés antibactériennes". Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Pharmacie et Toxicologie. 2002, 70 p.
63. Chatellet, M.C., " Modalites d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin, enquête en anjou" Ecole vétérinaire d'alfort .Thèse pour la doctorale enquête en Anjou, (2007), 231 p.
64. Amara, S., Msela, A., " Contribution a l'étude des échecs thérapeutiques lors des mammites cliniques bovines d'origine bactérienne dans la région du centre", mémoire de fin d'étude, Université Saâd DAHLEB, BLIDA, Faculté des Sciences Agro - Vétérinaires et Biologiques, Département des Sciences Vétérinaires, (2010), 110 p.
65. Azele, F., "Bactériologie a l'usage des Etudiants en Médecine ", (1989), 200 p.
66. Grégory, D., "Mécanismes moléculaires impliqués dans le transfert horizontal de l'îlot génomique de multi-résistance aux antibiotiques *salmonella* genomic island 1". université François – Rabelais de tours France, (2011), p19.

67. Christopher, M.P., Threlfall, E.J., "Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae". *Current Opinion in Infectious Diseases*, (2008), p 531-538.
68. Reiner, Helmuth., "Antibiotic Resistance in *Salmonella*". CAB International, "*Salmonella* in Domestic Animals", (2000), 445 p.
69. Meakins, S., Fisher, I.S., Berghold, C., Gerner-Smidt, P., Tschape, H., Cormican, M., Luzzi, I., Schneider, F., Wannett, W., Coia, J., Echeita, A., Threlfall, E.J., "Antimicrobial drug resistance in human non typhoidal *Salmonella* isolates in Europe 2000-2004: a report from the Enter-net International Surveillance Network". *Microbial Drug Resistance* 14, (2008), p 31-35.
70. Gorman, R., Adley, C.C., "Characterization of *S. enterica* serotype Typhimurium isolates from human, food and animal sources in the republic Ireland". *Journal of clinical microbiology*, vol. 42, n° 5, (2004), p 2314-2316.
71. Threlfall, E. J., "Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections". *FEMS Microbiology Reviews* 26, (2002), p 141-148.
72. Piddock, L.J., Whale, K., Wise, R., "Quinolone resistance in *Salmonella*: clinical experience". *Lancet* 335: (1990), 1459 p.
73. Giraud, E., Baucheron, S., "CloECKaert, Resistance to fluoroquinolones in *Salmonella*: emerging mechanisms and resistance prevention strategies". *Microbes and Infection* 8, (2006), p 1937-1944.
74. Miriagou, V., Tassios, P.T., Legakis, N.J., Tzouveleki, L.S., "Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*". *International Journal of Antimicrobial Agents* 23, (2004), p 547-555.
75. Chiu, C.H., Su, L.H., Chu, C., Chia, J.H., Wu, T.L., Lin, T.Y., Lee, Y.S., Ou, J.T., "Isolation of *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis resistant to ceftriaxone and ciprofloxacin". *Lancet* 363, (2004), p 1285-1286.

76. Robert R. Henry Cherry Valley Farms, North Kelsey Moor, Lincoln LN7 6HH, UK, 2000. CAB International, "Salmonella in Domestic Animals". Ch 9: "Salmonella Infection in Ducks", (2000), 474 p.
77. Liza Rosenbaum Nielsen, "Salmonella Dublin in Dairy Cattle". The Royal Veterinary and Agricultural University, England, (2003), p22.
78. Rings, D.M, "Salmonellosis in calves", Vet. Clin. North Am. Food., Anim. Pract., (1985), p 529-539.
79. Brochet, L., "Etude de la résistance au chloramphénicol dans une population de salmonelles bovines", école nationale vétérinaire de Lyon France, (2001), p71.
80. Clifford, Wray,. Robert, H.D., "*Salmonella in Domestic Animals*". CAB International, Chapter 10: "*Salmonella* Infections in Cattle", (2000), 474 p.
81. Anderson, M., Blanchard, P., "The clinical syndromes caused by *Salmonella* infection". Vet Med (1989), p 816-819.
82. Martel, J.L., Savey, M., " Salmonelloses des ruminants et santé humaine". Point Vét., (1992), p 24, p 145, p 201-206.
83. Martel, J.L., Prave, M.," Evolution du risque salmonellique en médecine vétérinaire". Rev. Med. Vét., (1994), p 145, p 563-569.
84. Martel, J.L, "Forme respiratoire des salmonelloses bovines", Rec. Med. Vet., (1985), p 161, p 1153-1156.
85. Martel, J.L, "Les salmonelloses chez les ruminants", Point Vet, (2001), p 221, p 30-34.

86. Messadi, L., ben-miled, L., Haddad, N., "bacteria responsible and antibiotic resistance" Bovine mastitis in Tunisia, Rev. Med. Vet., (1991), p 42, p 4, p 313-319.
87. Rings, D.M. "Salmonellosis in calves". Vet Clin North Am Food Anim Pract, (1985) 1(3), p 529-539.
88. Caron, B., Menard, M.F., "Les salmonelloses bovines: lésions et diagnostic de laboratoire", Bull. GTV, 1997, 2, 53-65.
89. Santos, R.L., Zhang, S., Tsolis, R.M., Kingsley, R.A, Adams, L.G., Baumler, A.J., "Animal models of *Salmonella* infections: enteritis versus typhoid fever", Microbes Infect., (2001), p 1335-1344.
90. Hollinger, K., " Epidemiology and Salmonellosis", CAB International 2000. Salmonella in Domestic Animals, Ch 20, (2000), 474 p.
91. Corbion, B., Joly, A., Laval, A., Martel, J.L., Pardon, P., Schelcher, F., "Salmonellose bovine", G.D.S. info, (1995), p 120.
92. Carter, M.E., Cordes, D.O., Carman, M.G., "Observations on acute salmonellosis in four Waikato dairy herds", New-Zealand Vet. J., (1983), p 31, p10-17.
93. Gledel, J., "La prophylaxie sanitaire de la salmonellose bovine dans les troupeaux laitiers, *Epidemiol* ", Sante animale, (1985), p 7, p 81-83.
94. Gledel, J., "Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine", Epidemiol. Sante anim., (1985), p 7, p 81-84.
95. Schelcher, F., "Salmonelloses : traitement et prévention thérapeutique", GDS Info, (1995), p 120, p 9-10.

96. Van Schaik, G., Schukken, Y.H., Nielen, M., Dijkhuizen, A.A., Barkema, H.W., Benedictus, G., "Probability of and risk factors for introduction of infectious diseases into Dutch SPF dairy farms: a cohort study". *Preventive Veterinary Medicine* (2002), p 54, p 279-289.
97. Vaessen, M.A., Veling, J., Frankena, K., Graat, E.A., Klunder, T., "Risk Factors for *Salmonella Dublin* infection on Dairy Farms". *The Veterinary Quarterly* (1998), p 20, p 97-99.
98. Wray, C., Todd, N., McLaren, I., Beedell, Y., Rowe, B., "The epidemiology of *Salmonella* infection of calves: The role of dealers". *Epidemiology and Infection*, (1990), p 105, p 295-306.
99. Wray, C., Todd, N., McLaren, I-M., Beedell, Y.E., "The epidemiology of salmonella in calves: the role of markets and vehicles". *Epidemiology and Infection*, (1991), p 107, p 521-525.
100. Evans, S.J., Davies, R.H., "Case control of multiple-resistant *Salmonella typhimurium* DT 104 infection in cattle in Great Britain", *Veterinary Record* (1996), p139, p 557-558.
101. Munch, B., Larsen H.E., Nielsen, B.B., "Forekomst of *Salmonella* in gylle fra danske husdyrbesætninger". *Dansk Veterinærtidsskrift*, (1987), p 70, p 1169-1179.
102. Taylor, R.J., Burrows, M.R., "The survival of *Escherichia coli* and *Salmonella dublin* in slurry on pasture and the infectivity of *S. Dublin* for grazing calves", *British Veterinary Journal*, (1971), p 127, p 536-542.
103. Schelcher, F., Valarcher, J.F., "Physiopathologie des salmonelloses bovines", *Bull. GTV*, (1997), p 2, p 25-30.
104. Clintonna Weaver, R.W., "Transmission of *Salmonella Typhimurium* among feedlot cattle after oral inoculation", *J. Appl. Bacteriol.*, (1981), 50, (1), p 149-155.

105. Wathes, C.M., Zaidan, W.A., Pearson, G.R, Hinton, M., Todd, N., "Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella* Typhimurium", *Vet. Record*, (1988), p 123, p 590-594.
106. Counter, D.F., Gibson, E.A, "*Salmonella* dublin infection in self contained dairy herds in East Anglia: excretion at calving", *Vet. Record*, (1980), p 30, p 191-193.
107. Martel, J.L., Pardon, P., "Les avortements salmonelliques des bovins", *Bull, GTV*, (1980), p 2, p 57-64.
108. Corbion, B., Joly, A., Laval, A., Martel, J.L., Pardon, P., Schelcher, F., "Salmonellose bovine" , *G.D.S. info*, 1995, p 120.
109. Wathes, C.M., Zaidan, W.A., Pearson, G.R., Hinton, M., Todd, N., "Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella* Typhimurium" , *Vet. Record*, (1988), p 123, p 590-594.
110. Mastroeni, P., Chabalgoity, J.A., Dunstan, S.J., Maskell, D.J., Dougan, G., "Salmonella: immune responses and vaccines", *Vet. J.*, (2001), p 132-164.
111. Wallis, T.S., "Salmonella pathogenesis and immunity: we need effective multivalent vaccines", *Vet. J.*, (2001), p 104-106.
112. House, J.K., Ontiveros, M.M., Blackmer, N.M., Dueger, E.L., Fitchhorn, J.B., Mc Arthur, G.R., Smith, B.P., "Evaluation of an autogenous *Salmonella* bacterin and o modified live *Salmonella* bacterin and o modified live *Salmonella* serotype Cholerasuis vaccine on a commercial dairy farm", *Am. J. Vet. Res.*, (2001), p1897-1902.
113. Palmer, J.E., Whitlock, R.H., Benson, C.E., Becht, J.L, Morris, D.D., Acland, H.M., "Comparison of rectal mucosal cultures and fecal cultures in detecting *Salmonella* infection in horses and cattle", *Am. J. Vet. Res.*, (1985), p 697-698.

114. Douglas Waltman, W., "*Salmonella in Domestic Animals, Methods for the Cultural Isolation of Salmonella*", États-Unis, (2000), p 355-368.
115. Corry, J.E.L., Kitchell, A.G., Roberts, T.A., "Interaction in the recovery of *Salmonella* Thyphimurium damaged by heat or gamma radiation. Journal of Applied Bacteriology" (1969), p 32, p 415–511.
116. D'Aoust, J.Y., "Update on preenrichment and selective enrichment conditions for detection of *Salmonella* in foods". Journal of Food Protection, (1981), p 44, p 369–374.
117. Bailey, J.S., Cox, N.A., "Universal preenrichment broth for the simultaneous detection of *Salmonella* and *Listeria* in foods". Journal of Food Protection, (1992), p 55, p 256–259.
118. Edel, W., Kampelmacher, E.H., "Comparative studies on the isolation of sublethally injured' salmonellae in nine European laboratories". *Bulletin of the World Health Organization*, (1973), p 48, p 167–174.
119. Schlundt, J., Munch, B., "A comparison of the efficiency of Rappaport Vassiliadis, tetrathionate and selenite broths with and without pre enrichment for the isolation of *Salmonella*" in animal waste biogas plants, *Zentralblatt für Bakteriologie*, (1993), p 279, p 336–343.
120. D'Aoust, J.Y., Maishment, C., "Pré-enrichment conditions for effective recovery of *Salmonella* in foods and feed ingredients", *Journal of Food Protection*, (1979), p 42, p 153–157.
121. D'Aoust, J.Y., Daley, E., Sewell, A.M., "Performance of the microplante BacTrac ELISA technique for detection of food-borne *Salmonella*". Journal of Food Protection, (1990), p 53, p 841–845.
122. Andrews, W.H., "Resuscitation of injured *Salmonella* spp. and coliforms from foods". Journal of Food Protection, (1986), p 49, p 62–75.

123. Carlson, V.L., Snoeyenbos, G.H., Mc Kie, B.A., Smyser, C.F., “ A comparison of incubation time and temperature for the isolation of *Salmonella*”. *Avian Diseases*, (1967), p 11, p 217–225.
124. Mallinson, E.T., “*Salmonella* monitoring system simplifies evaluation of farms. *Poultry Digest*” (1990), p 46–47.
125. Waltman, W.D., Horne, A.M., Pirkle, C., “Comparative analysis of media and methods for isolating *Salmonella* from poultry and environmental samples”. In “*Proceedings of Symposium on the Diagnosis of Salmonella Infections*”. United States Animal Health Association and American Association of Laboratory Veterinary Diagnosticians, Reno, Nevada, (1995), p 1–14.
126. Van der Zee Henk., Jos H.J Huis in't Veld.,” Methods for the Rapid Detection of *Salmonella*”, Ch 22, *Salmonella* in Domestic Animals, (2000), 474 p.
127. Knight, M.T., Wood, D.W., Black, J.F., Gosney, G., Rigney, R.O., Agin J.R., Gravens, C.K., Farnam, S.M., “Gram-negative identification card for identification of *Salmonella*, *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae isolated from foods”. *Journal of AOAC International*, (1990), p 73, p 729–733.
128. Entis, P., Boleszczuk, P., “Rapid detection of *Salmonella* in foods using EF-18 agar in conjunction with the hydrophobic grid membrane filter”. *Journal of Food Protection*, (1991), p 54, p 930–934.
129. Ayachi, A., “Epidemiologie de salmonella Thyphimurium et salmonella enteritidis dans la filiere avicole”, thèse pour l’obtention du doctorat en sciences option pathologie des animaux domestiques, faculte des sciences departement veterinaire universite de BATNA, Algérie. (2010), p30.35.
130. Millemann, Y., Evans, S., Cook, A., Sischo, B., Chazel, M., Buret, Y., “Salmonellosis”, In: “*Infectious and parasitic disease of livestock*”, Lavoisier, Paris, sous presse.

131. Hanzen, C.H., "Les pathologies infectieuses de la glande mammaire", la production laitière et sa pathologie, Chapitre 3, (2007-2008), 29 p.
132. Hanzen, C.H., "physio-pathologie et propédeutique de la glande mammaire symptomatologie, étiologie et thérapeutique individuelles et de troupeau des mammites", université de Liège, faculté de médecine vétérinaire, Belgique, (2011-2012), 173 p.
133. Jensen, A.N., Nielsen, L.R., Baggesen, D.L., "Use of real-time PCR on faecal samples for detection of sub-clinical *Salmonella* infection in cattle did not improve the detection sensitivity compared to conventional bacteriology", Elsevier, *Veterinary Microbiology*, (2013), 5 p.
134. Hakam, A., Khelef, D., Kaidi, R. "Frequency of isolation of *Cryptosporidium* spp. F5 *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in eight calves dairy farms Mitidja (Algeria)" *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine* (2009), 9 p.
135. Sears, P.M., Gonzalez, R.N., Wilson, D.J., Han, H.R., "Procedures for mastitis diagnosis and control". *Vet. Clin. North Am, Food Anim, Pract*, (1993), p9, p 445.
136. Bouchot, M.C., Catel, J., Chirol, C., Ganiere, J.P., "Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins", *Recueil Médecine Vétérinaire*, (1985), p567-576.
137. Philippon, A., Paul, G., Nevot, P., "Mécanisme de résistance enzymatique aux B lactamases". *Presse Méd*, (1986), p 2290-2295.
138. Callaway, T.R., Keen, J.E., Edrington, T.S., "Fecal Prevalence and Diversity of *Salmonella* Species in Lactating Dairy Cattle in Four States" *J. Dairy Sci.* 88:3603–3608, (2005), 6 p.

139. Mcevoy, J.M., Doherty, A.M., Sheridan, J.J., "the prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir", *Journal of Applied Microbiology* 2003, 94, 693–700, (2003), 8 p.
140. Fegan, N., Vanderlinde, P., Higgs, G., "Quantification and prevalence of *Salmonella* in beef cattle presenting at slaughter", *Journal of Applied Microbiology* (2004), 97, 892–898, (2004), 7 p.
141. Nielsen, L.R., Schukken, Y.H., Grohn, Y.T., "Salmonella Dublin infection in dairy cattle: risk factors for becoming a carrier", *Elsivier, Preventive Veterinary Medicine*, (2004), 16 p.
142. Flache, H., "Cinétique des comptages cellulaires de quartiers après mammites cliniques chez la vache laitière". Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, (2002), 72 p.
143. Noireterre, P., "suivis de comptages cellulaires et d'examens bacteriologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. étude expérimentale au centre d'élevage lucien bizet de poisy ", thèse de doctorat vétérinaire, école nationale veterinaire de Lyon, France, (2006), 96 p.
144. Gabli, A., " étude cinétique des cellules somatiques dans le lait des vaches atteintes de mammites et de vaches saines", thèse de doctorat, université mentouri-constantine, algerie, (2005), 82 p.
145. NM, Institut D'élevage, "origine et moyens de maitrise a la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles", rapport final, (2000), 70 p.
146. Rosenbaum Nielsen, L., " Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of *Salmonella* Dublin in cattle", *Elsevier, Veterinary Microbiology*, (2013), 9 p.
147. Fablet, C., Fravallo, P., Jolly, J.P., " recherche des facteurs de risque de l'excretion de *salmonella enterica* par les porcs en croissance. enquête

- épidémiologique analytique en élevage naisseur-engraisseur”, *epidémiologie et santé animal*, 43, 61-73, (2003), 13 p.
148. Boudry, C., Korsak, N., Jacob, B., “ Ecologie de Salmonella dans le tube digestif du porc à l’abattage et étude de la contamination des carcasses”, *Ann. Méd. Vét.*, , 146, 353-360, (2002), 8 p.
149. Goossens, H., Wauters, G., De-boeck, M.,” Semisolid Selective-Motility Enrichment Medium for Isolation of Salmonellae from Fecal Specimens”, *journal of clinical microbiology*, (1984), 2 p.
150. Guardabassi, L., Schwarz, S., Lloyd, D.H., “ Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 54, 321–332, (2004), 12 p.
151. Sellier, N., Velge, P., Beaumont, C., “ sensibilité au portage asymptomatique de *salmonella* enteritidis chez le canard mulard : modèle d'infection expérimentale et paramètres génétiques”, INRA, France, (NM), 4 p.
152. Adesiyun, A.A., Webb, L., Romain, H., Kaminjolo, J.S., " prevalence of salmonella, listeria monocytogenes, campylobacter spp., yersinia enterocolitica and cryptosporidium spp. in bulk milk, cows' faeces and effluents of dairy farms in Trinidad.", *med vet pays trop*, (1996), 49(4): p 303.
153. N.M., “Rapport de synthèse : Etude de reconduction de la validation de la méthode iQ-Check™ Salmonella II, selon le référentiel EN ISO 16140 dans les produits d’alimentation humaine et animale, les échantillons de l’environnement et les échantillons de production primaire”,travaille effectué en collaboration de ADRIA DEVELOPPEMENT, BIO-RAD et COFRAC, (2012), 86 p.
154. Hendriksen, R.S., “ A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization” Laboratory Protocols Level 1 Training Course Isolation of *Salmonella* 4th Ed, (2003), 22 p.

155. Kagambèga, A., Lienemann, T., Aulu, L., Traoré, A.S, Barro, N., Siitonen, A., Haukka, K, “ Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates”, *BMC Microbiology*, internet: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/13/253>, (2013), 9 p.
156. Wells, S.J., Fedorka-Cray, P.J., Dargatz, D.A., Ferris, K., Green, A., “ Fecal shedding of *Salmonella* spp. by dairy cows on farm and at cull cow markets”., International Association for Food Protection, Journal of Food Protection, (2001) p 3-11.
157. Blau, D.M., McCluskey, B.J., Ladely, S.R., Dargatz, D.A., Fedorka-Cray, P.J., Ferris, K.E., Headrick, M.L., “*Salmonella* in dairy operations in the United States: prevalence and antimicrobial drug susceptibility”, Journal of Food Protection, (2005), p 696-702.
158. Mattila, L., Leirisalo-Repo, M., Pelkonen, P, “ Reactive arthritis following an outbreak of *Salmonella* bovis morbificans infection ”, *Journal of Infection*, Volume 36, (1998), p 289–295.
159. Vanselow, B.A., Hornitzky, M.A., Walker, K.H., “*Salmonella* and on-farm risk factors in healthy slaughter-age cattle and sheep in eastern Australia”, Volume 85, *Australian Veterinary Journal*, (2007), p 498–502.
160. Padungtod, P., Kaneene, J.B., “*Salmonella* in food animals and humans in northern Thailand”, International Journal of Food Microbiology, Volume 108, (2006), p 346-354.
161. Amavisit, P., Browning, G.F., Lightfoot, D., “Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples”, *Veterinary Microbiology*, Volume 79, (2001), p 63–74.

162. Hessam, A.H., Hesam, A., Seifi, M.R., " Bovine salmonellosis in Northeast of Iran: Frequency, genetic fingerprinting and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella spp.*", Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, (2014), p 1-7.
163. Addis, Z., Kebede, N., Worku, Z., Gezahegn, H., Yirsaw ,A., Kassa, T, " Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa: a cross sectional study", BMC Infectious Diseases, (2011), p 1-7.
164. Puohiniemi, R., Heiskanen, T., Siitonen, A., " Molecular Epidemiology of Two International Sprout-Borne *Salmonella* Outbreaks", Journal of Clinical Microbiology, (1997), p 2487–2491.
165. Herikstad, H., Motarjemi, Y., Tauxe, R.V., " Salmonella surveillance: a global survey of public health serotyping", Cambridge University Press, (2002), p 1-8.
166. Mahon, B.E., Ponka, A., Hall, W.N., " An International Outbreak of *Salmonella* Infections Caused by Alfalfa Sprouts Grown from Contaminated Seeds", The Journal of Infectious Diseases, (1997), p 880.
167. Murinda, S.E., Nguyen, L.T., Ivey, S.J., Gillespie, B.E., Almeida R.A., Draughon, F.A., Oliver, S.P "Molecular Characterization of *Salmonella spp.* Isolated from Bulk Tank Milk and Cull Dairy Cow Fecal Samples", Journal of Food Protection, (2002), p 1100-1105.
168. Charles E.C., "Antibiotic Resistance of *Salmonella* in Europe and the United States", Oxford Journals, Medicine & Health, Clinical Infectious Diseases, Volume 3, (1981), p 1105-1126.
169. Oloya, j., Theis, M., Doetkott, D., Dyer, N., Gibbs, P., Khaitso, M.L., "Evaluation of *Salmonella* Occurrence in Domestic Animals and Humans in North Dakota (2000–2005)", Foodborne Pathogens and Disease, volume 4, (2007), p 551-563.

170. Lezzar, A., Bentchouala, C., Smati, F., Scheftel, J.M., Nordmann, P., Lima, S., Naas, T., Naas, T., "Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Senftenberg, Kentucky and Ohio Isolates Producing CTX-M-3  $\beta$ -lactamases from Constantine, Algeria", internet: <https://idsa.confex.com/idsa/2008/webprogram/Paper26136.html>, (2014).
171. Mezali, L., Hamdi, T.M., " Prevalence and Antimicrobial Resistance of Salmonella Isolated from Meat and Meat Products in Algiers (Algeria)", Foodborne Pathogens And Disease, Volume 9, Number 6, (2012), p 9.
172. Fey, P.D., Safraneck, T.J., Rupp, M.E., Dunne, E.F., Ribot, E., "Ceftriaxone-Resistant Salmonella Infection Acquired by a Child from Cattle", internet : <http://digitalcommons.unl.edu/zoonoticpub/44>, Other Publications in Zoonotics and Wildlife Disease, (2000), p 44.
173. Watier, L., Richardson, S., " a time series construction of an alert threshold with application to *S. Bovismorbificans* in france", Statistics in Medicine, Volume10, (1991), page 1493-1509.
174. Ruoho, O., "an epidemic of salmonellosis caused by silage containing *Salmonella* at a dairy farm", The Association for Animal Disease Prevention, (2007), Finland, p 3.
175. Vassiliadis, P., Trichopoulos, D., Papadakis, J., Politi, G., "Salmonella isolations in abattoirs in Greece", J. Hyg., Camb. (1970), Grèce, p 9.
176. Dargatz, D.A., Fedorka-Cray, P.J., Ladely, S.R., Koprak, C.A., Ferris, K.E., Headrick, M.L., "Prevalence and antimicrobial susceptibility of Salmonella spp. isolates from US cattle in feedlots in 1999 and 2000", Journal of Applied Microbiology, ( 2003), p 753–761.

177. Rodriguez-Urrego, J., Herrera-Leon, S., Echeita-Sarriondia, A., Pilar Soler., Simon, F., Mateo, S.,” Nationwide outbreak of Salmonella serotype Kedougou associated with infant formula, Spain, 2008”, Europe’s leading journal on infectious disease epidemiology, prevention and control, Volume 15, (2010), p 41-43.
178. Pornruangwong, S., Hendriksen, R.S., Pulsrikarn ,C., Bangstrakulnonth, A., Mikoleit, M., Davies, R.H., Aarestrup, F.M., Garcia-Migura, L.,”Epidemiological Investigation of Salmonella enteric Serovar Kedougou in Thailand”, Foodborne Pathogens And Disease, Volume 8, Number 2, (2011), p 10.
179. Hassanain, N.A., Siam, M.A., Hamed, O.M., Salman, M.M.,” incidence of antibiotic resistant *Salmonella* species in food producing animals and human contacts”, internet : [http://www.isahsoc.org/documents/2011/PRO\\_2011/files/volume\\_1/022\\_.pdf](http://www.isahsoc.org/documents/2011/PRO_2011/files/volume_1/022_.pdf), Zoonotic Diseases Department (National Research Center) and Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University, Giza, (2011), Egypt ,p 4.
180. Chaslus-Dancla, E., Martel, J.L., Carlier, C., Lafont, J.P, Courvalin, P.,”Emergence of Aminoglycoside 3-N-Acetyltransferase IV in Escherichia coli and Salmonella typhimurium Isolated from Animals in France”, Antimicrobial Agents And Chemotherapy, Volume, (1986), p 239-243.
181. Palmer, S., Parry, S., Perry, D., Smith, R., Evans, M., Nehaul, L., Roberts, R., Walapu, M., Wright, D, “the role of outbreaks in developing food safety policy: population based surveillance of salmonella outbreaks in Wales 1986-98” *Epidemiol. Infect.* Printed in the United Kingdom, (2000), Cambridge University Press, p 467-472.
182. Mollenkopf, D.F., Weeman, M.F., Daniels, J.B., Abley, M.J., Mathews, J.L., Gebreyes, W.A., Wittuma, T.E., “Variable within- and between-Herd Diversity of

- CTX-M Cephalosporinase-Bearing *Escherichia coli* Isolates from Dairy Cattle”, Applied and Environmental Microbiology, Volume 78, (2012), p 4552–4560.
183. Puohiniemi, R., Heiskanen, T., Siitonen, A., “Molecular Epidemiology of Two International Sprout-Borne *Salmonella* Outbreaks”, Journal Of Clinical Microbiology, Volume 19 (1997), p 2487–2491.
184. Bouchrif, B., Paglietti, B., Murgia, M., Piana, A., Cohen, N., Ennaji, M.M., Rubino, S., Timinouni, M, “Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco”, J Infect Developing Countries, (2009), p 35-40.
185. Münch, S., Braun, P., Wernery, U., Kinne, J., Pees, M., Flieger, A., Tietze, E., Rabsch, W., “Prevalence, serovars, phage types, and antibiotic susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from animals in the United Arab Emirates from 1996 to 2009”, Tropical Animal Health and Production, (2012), p 1725-1738.
186. Mohamed, O.N., Farid, A.F., Abaza, A.F., Faltas, R.F., “ Fecal Shedding of Non-typhoidal *Salmonella* Species in Dairy Cattle and their Attendants in Alexandria Suburbs”, Journal of American Science, (2011), p 623-631.
187. Hoelzer, K., Isabel Moreno Switt, A., Wiedmann, M., “Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis”, Veterinary Research, (2011), p 42-34.
188. Hendriksen S.W.M., Orsel, K., Wagenaar J.A., Miko, A., Van Duijkeren E., “Animal-to-Human Transmission of *Salmonella* Typhimurium DT104A Variant”, Emerging Infectious Diseases, volume 10, No12, (2004), p 2225-2227.
189. Feder, I., Nietfeld, J.C., Galland, J., Yeary, T., Sargeant, J.M., Oberst, R., Tamplin, M.L., Luchansky, J.B., “Comparison of Cultivation and PCR-Hybridization for Detection of *Salmonella* in Porcine Fecal and Water Samples”,

journal of clinical microbiology, American Society for Microbiology, Volume 39, No. 7, (2001), p 2477–2484.

190. Jadidi, A., Hosseini, S.D., Homayounimehr, A., Hamidi, A., Ghani, S., Rafiee, B., "Simple and rapid detection of *Salmonella* sp. from cattle feces using polymerase chain reaction (PCR) in Iran", African Journal of Microbiology Research, Volume 6(24), (2012), p 5210-5214.
191. Lailier, R., Sanaa, M., Chadoeuf, J., Fontez, B., Brisabois, A., Colmin C., Millemann, Y., "Prevalence of multidrug resistant (MDR) *Salmonella* in bovine dairy herds in western France", Preventive Veterinary Medicine, (2005), p 177–189.
192. Hamza Mohamed Ibrahim Eid., "Rapid Detection of *Salmonella* in Dairy Cows Using Polymerase Chain Reaction", Journal of American Science, (2006), p 31-39.
193. Gragg, S.E., Loneragan, G.H., Nightingale, K.K., Brichta-Harhay, D.M., Ruiz, H., Elder, J.R., Garcia, L.G., Miller, M.F., Echeverry, A., Ramírez Porras, R.G., Brashears, M.M., "Substantial within-Animal Diversity of *Salmonella* Isolates from Lymph Nodes, Feces, and Hides of Cattle at Slaughter", Applied and Environmental Microbiology, Volume 79, Number 15, (2013), p 4744–4750
194. Gwida, M.M., AL-Ashmawy, M.A.M., "Culture versus PCR for *Salmonella* Species Identification in Some Dairy Products and Dairy Handlers with Special Concern to Its Zoonotic Importance", Veterinary Medicine International, (2014), 5p.
195. Brackelsberg, C.A., Nolan, L.K., Brown, J., "characterization of *Salmonella* Dublin and *Salmonella* Typhimurium (copenhagen) isolates from cattle", Veterinary Research Communications, (1997), p 409-420.

196. Rahal, K., Wang, F., Schindler, J., Rowe, B., Cookson, B., Huovinen, P., Marton, A, Lalitha, M.K., Semina, N., Kronvall, G., Guzman, M., "Reports on Surveillance of Antimicrobial Resistance in Individual Countries", *Clinical Infectious Diseases*, (1997), p 1058-4838.
197. Kagambèga, A., Lienemann, T., Aulu, L., Traoré, A.S, Barro, N., Siitonen, A., Haukka, K., "Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates", *BMC Microbiology*, (2013), 9 pages.
198. NM., "Quantitative Microbial Risk Assessment to Estimate Illness in Freshwater Impacted by Agricultural Animal Sources of Fecal Contamination", U.S. Environmental Protection Agency, (2010), 456 p.
199. Amari, A., Riad, A., "Audite d'élevage", mémoire de fin d'étude, université Saad Dahlab de Blida, faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques, département des sciences vétérinaires, (2010), 67 p.
200. N.M., "Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire)", réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, document édité en collaboration avec l'OMS, 6<sup>ème</sup> édition, (2011), 191 p.