

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

Université Mentouri Constantine

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Vétérinaires

N° d'ordre.....

N° de série.....

THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Vétérinaires

Option : Biologie Animale

THEME

**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.**

Présentée par : M. ELGROUD RACHID

Directeur de thèse : Prof. F. SMATI

Co-Directeur de thèse : Dr. J. Millemann

Devant le jury :

Président :	R. OUZROUT	Prof. Centre Universitaire d'ELTARF
Rapporteurs :	F. SMATI	Prof. C.H.Universitaire de CONSTANTINE
	Y. MILLEMANN	M. C. E. N. V. Alfort, FRANCE
Examineurs :	D. ZOUGHAILECH	Prof. C.H.Universitaire de CONSTANTINE
	A. H. BENSOUILAH	Prof. Université d'ANNABA
	A. G. DJAHOUDI	M. C. Université d'ANNABA

Année Universitaire 2008-2009

Remerciements

Je remercie particulièrement mes co-directeurs de thèse, le professeur F. SMATI et Y. MILLEMANN pour avoir dirigé mes travaux et m'avoir guidé tout au long de cette période de recherche, j'aimerais souligner le support exceptionnel, le respect immense qu'ils portent à leur entourage, la confiance qu'ils m'ont accordée et les compétences qu'ils ont montrées. Leur dévouement est un exemple à suivre.

Je tiens à remercier le professeur CARLIER de l'école nationale vétérinaire d'Alfort de m'avoir accueilli dans son service, conseillé, soutenu et offert les conditions à la réalisation de ce travail.

Je remercie le professeur R. OUZROUT, le professeur D. ZOUGHAILECH, le professeur A. H. BENSOUILAH et le maître de Conférences A.G. DJAHOUDI qui m'ont fait l'honneur de constituer le jury. Je les remercie très sincèrement, et apprécie l'attention et le temps qu'ils ont consacré à l'évaluation de ce travail malgré leurs lourdes obligations.

Je remercie infiniment le docteur A. BRISABOIS, Mme A. KEROUANTAN, Mme S. GRANIER, Mme M. MARAULT, Mme S. FREMY et tous les membres du laboratoire de Caractérisation et Epidémiologie Bactérienne, de l'AFSSA, Maisons Alfort, ainsi que Mme BOUZITOUNA-BENTCHOUALA et les membres du laboratoire de microbiologie du C.H.U. IBN BADIS de Constantine, le Professeur D. SATTI, du département de Biologie Animale, qui ont contribué, avec beaucoup de compétence et de gentillesse, à l'élaboration technique de ce travail.

Je remercie également le Professeur J. C. AUGUSTIN et les techniciennes : S. OPICCI et N. CHERGUI, du laboratoire de recherche en Microbiologie Alimentaire, Sécurité et Qualité des Aliments de l'école vétérinaire d'Alfort, pour la précieuse aide qu'ils m'ont apportée.

Je remercie aussi les collègues du département des sciences vétérinaires, de la direction des sciences vétérinaires, du C.H.U. IBN BADIS, ainsi que tous les éleveurs et abatteurs de volaille, ayant été impliqués de près ou de loin, dans toutes les étapes de cette thèse.

Mes remerciements vont enfin, à mes collègues et ami(e)s Mme Z. CHARI, Mme H. KENANA, M. F. ZERDOUMI et R. CHAOUAOU, ainsi que mes étudiants qui se reconnaîtront, sans qui le travail n'aurait jamais abouti.

Que ma femme (Hanna) et mes enfants (Karim, Zinou et Nourhane), trouvent ici le témoignage de mon profond amour et de mon affection. Ce travail leur est dédié.

Que mes parents (Que dieu me les garde), frères, sœurs, oncles, tantes, cousins et cousines trouvent ici un témoignage d'affection. Que mes beaux parents, beaux frères et belles sœurs soient remerciés pour leur aide et leur gentillesse.

Je tiens aussi à rendre un vibrant hommage à la famille Caussy (Ramesh et Rahima), à toute la famille Bencheikh lehocine et particulièrement à mustapha et sa femme, Yamina, Ouarda, Nejla et Riad, pour leur soutien et leur gentillesse. Que les princesses Myriam et Memmouna soient le bonheur et la fierté de leurs familles, autant qu'elles m'ont donné de sourire et de joie.

Table des matières

Pages

Liste des tableaux et figures

Lexique

Introduction	1
---------------------------	---

Partie bibliographique:

Chapitre 1: LES SALMONELLES.

<u>1: Historique</u>	3
<u>2: Taxonomie et nomenclature</u>	4
<u>3: Bactériologie</u>	6
3.1: Caractères microbiologique.....	6
3.2: Caractères antigéniques.....	9
3.2.1: Antigène O.....	9
3.2.2: Antigène H.....	10
3.2.3: Antigène Vi.....	10
3.2.4: Antigènes R et M.....	11
3.2.5: Fimbriae.....	11
3.3: Schéma de Kaufmann-White.....	11
<u>4: Habitat et spécificité de l'hôte</u>	12
4.1. Habitat.....	13
4.2. Spécificité de l'hôte.....	13
<u>5: Résistance et sensibilité aux agents physiques et chimique</u>	13
<u>6: Pouvoir pathogène</u>	14
6.1: Pouvoir invasif.....	15
6.2: Pouvoir toxique.....	15
<u>7: Pouvoir immunogène</u>	16
<u>8: Résistance aux antibiotiques</u>	16
8.1: Support de l'antibiorésistance.....	17
8.2: Modalités d'acquisition et de diffusion.....	17
8.3: Mesure de l'antibiorésistance et antibiogrammes.....	18

Chapitre 2: LES SALMONELLOSES.

<u>1: Généralités</u>	19
<u>2: Clinique</u>	19
2.1: Chez l'homme.....	19
2.1.1: Les formes septicémiques.....	20
2.1.2: Les formes extra-digestives.....	20
2.1.3: Les formes purement digestives.....	20
2.1.3.1: Gastro-entérites du nourrisson.....	21
2.1.3.2: Toxi-infections alimentaires de l'adulte et de l'enfant.....	21
2.1.4: Les porteurs de germes.....	23
2.2: Chez la volaille.....	23
2.2.1: Symptômes.....	24
2.2.2: Lésions.....	24
<u>3: Epidémiologie</u>	25
3.1: Chez les humains.....	25
3.2: Chez la volaille.....	27

3.3: Sur les carcasses de poulet de chair.....	32
<u>4: Sources et transmission des salmonelles.</u>	34
4.1: Sources de contamination.....	34
4.1.1: Au niveau du couvoir.....	34
4.1.2: Au niveau des élevages.....	34
4.1.3: Au niveau de l'abattoir.....	35
4.2: Voies de transmission.....	37
4.2.1: Transmission verticale.....	37
4.2.2: Transmission horizontale.....	37
<u>5: Détection des salmonelles.</u>	39
5.1: Méthodes principales en bactériologie des aliments.....	39
5.2: Méthodes rapides validées AFNOR	41
<u>6: Moyens de lutte.</u>	42
6.1: Lutte thérapeutique.....	42
6.2: Prophylaxie.....	42
6.2.1: Prophylaxie sanitaire.....	42
6.2.1.1: Mesures générales d'hygiène.....	43
6.2.1.2: Approvisionnements.....	43
6.2.1.3: Nettoyage et désinfection.....	43
6.2.1.4: Mesures spécifiques.....	44
6.2.2: Prophylaxie médicale.....	44
6.2.2.1: Les additifs alimentaires.....	44
6.2.2.2: Les flores de barrière.....	45
6.2.2.3: L'antibio-prévention.....	45
6.2.2.4: La vaccination.....	45
<u>7: Systèmes de surveillance en Algérie.</u>	46

Chapitre 3: LES MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES:

<u>1. Les qualités d'un marqueur épidémiologique:</u>	48
1.1: La capacité de typage.....	48
1.2: La reproductibilité.....	48
1.3: La stabilité.....	49
1.4: Le pouvoir discriminant.....	49
<u>2. Les marqueurs phénotypiques</u>	50
2. 1: La sérotypie	50
2. 2: La lysotypie.....	50
2. 3: La biotypie.....	51
2. 4: La bactériocinotypie.....	51
2. 5: L'antibiotypie:.....	52
2. 6: Electrophorèse d'iso-enzymes.....	52
<u>3. Les marqueurs génotypiques.</u>	53
3. 1: Marqueurs liés à l'ADN plasmidique.....	53
3. 2: Marqueurs liés à l'ADN chromosomique.....	54
3.2.1: Profils de restriction de l'ADN génomique:(<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> :RFLP).....	54
3.2.1.1: Restriction classique:.....	54
3.2.1.2: Restriction modifiée par diminution du nombre de fragments de restriction.....	54
3.2.1.2.1: Macrorestriction et PFGE (<i>Pulsed Field Gel Electrophoresis</i>) ou Pulsotypage.....	54

3.2.1.2.2:Macrorestriction et hybridation sélective (utilisation de sondes).....	55
a : La ribotypie:.....	55
b : L'IS- Typie:.....	56
c : Autres sondes.....	56
3.2.1.2.3: Amplification sélective de fragment de restriction (<i>Selective Restriction Fragment Amplification: SRFA</i>).....	57
3.2.2: Profils d'amplification de l'ADN génomique.....	57
3.2.2.1: Polymorphisme de l'ADN amplifié au hasard ou RAPD (<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>).....	57
3.2.2.2:Amplification spécifique de séquences répétées (REP-PCR et ERIC -PCR)...	58
3. 3: Marqueurs liés aux gènes:.....	58
3.3.1: Polymorphisme de restriction (RFLP).	58
3.3.2: Polymorphisme par amplification- Exemple de la ribotypie par PCR.	58
4. Interprétation et analyse des résultats du typage moléculaire.	59
5. Applications.	60

Partie expérimentale :

<u>Introduction</u>	62
<u>Chapitre1. Matériels et méthodes</u>	63
<u>1.1. Echantillonnage</u>	63
<u>1.2. Questionnaires</u>	63
<u>1.3. Prélèvements</u>	65
1.3.1 : 1ere campagne.....	65
1.3.1.1 En élevages.....	65
1.3.1.2. En abattoirs.....	65
1.3.2 : Deuxième campagne.....	66
1.3.2.1 : En élevages.....	66
1.3.2.2 : En abattoirs.....	66
<u>1.4. Méthodes d'analyses</u>	68
1.4.1. Analyses bactériologiques	68
1.4.2. Sérotypage.....	69
1.4.3. Antibiogrammes.....	71
1.4.4. Polymérase Chain Reaction (PCR).....	72
1.4.5. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE).....	73
<u>1.5. Salmonelles humaines</u>	76
<u>1.6. Analyses statistiques</u>	76
<u>Chapitre 2 : Résultats</u>	77
<u>2.1. Etude des questionnaires</u>	77
2.1. 1. Caractérisation des élevages de poulet de chair.....	77
2.1. 2. Caractérisation des abattoirs de volailles	79
<u>2.2. Prévalence de contamination des élevages et des abattoirs</u>	80
<u>2.3. Distribution des sérotypes de salmonelles</u>	82
<u>2.4. Résistance aux antibiotiques</u>	83
2.4.1 : Profils de résistance aux antibiotiques.....	84
2.4.2 : Sources et profils de résistance aux antibiotiques.....	85
<u>2.5. Facteurs de risques potentiels liés à la contamination</u>	86
<u>2.6. Salmonelles humaines</u>	86
2.6.1 : Distribution des sérotypes humains du C.H.U.....	87
2.6.2 : Résistance aux antibiotiques des sérotypes humains du C.H.U.....	87

2.6.3 : Profils de résistance aux antibiotiques des sérotypes humains du C.H.U.	88
<u>2.7. Réaction de polymérisation en chaîne</u>	88
<u>2.8. Pulsotypage ou P.F.G.E.</u>	91
<u>Chapitre 3 : Discussions :</u>	95
<u>3.1. Questionnaires</u>	95
3.1.1. En élevages	95
3.1.2. En abattoirs	96
<u>3.2. Prévalence de contamination des élevages et abattoirs</u>	97
<u>3.3. Distribution des sérotypes</u>	99
<u>3.4. Résistance aux antibiotiques</u>	100
<u>3.5. Facteurs de risques potentiels</u>	102
<u>3.6. Salmonelles humaines du C.H.U. de Constantine.</u>	103
<u>3.7. Analyse des profils génotypiques.</u>	104
3.7.1. Analyse des profils génotypiques et comparaison aux profils d'antibiorésistance.	
3.7.1.1. Profils homogènes	104
3.7.1.2. Profils mixtes	105
3.7.1.3. Profils hétérogènes	106
3.7.2. Comparaisons des résultats de PFGE par sérotype à la banque de données de l'AFSSA.	107
3.7.3. Evaluation de la discrimination obtenue par PFGE à l'aide de l'indice de Simpson.	113
<u>Conclusion générale :</u>	115
<u>Bibliographie :</u>	117
<u>Annexes :</u>	135

Liste des tableaux et figures :

Tableaux :	Page
Tableau n° 1 : Caractéristiques générales des entérobactéries.....	6
Tableau n° 2 : Caractéristiques biochimiques communes aux salmonelles.....	7
Tableau n° 3 : Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces du genre <i>Salmonella</i>	8.
Tableau n° 4 : Formules antigéniques de quelques sérotypes de <i>Salmonella enterica</i>	12
Tableau n° 5 : Données de prévalence en salmonelles des élevages de poulet de chair.....	31
Tableau n° 6 : Prévalence en salmonelles des portions et carcasses finies de poulet de chair.....	33
Tableau n° 7 : Principales méthodes rapides ou simplifiées validées AFNOR, pour la détection des salmonelles dans certaines matrices alimentaires.....	41
Tableau n° 8 : Caractéristiques des principales techniques de typage bactérien appliquées à <i>Salmonella</i>	61
Tableau n° 9 : Organisation des prélèvements en élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine.....	67
Tableau n° 10 : Typologie des élevages de poulet de chair de la wilaya de Constantine.....	78
Tableau n° 11 : Typologie des abattoirs de volaille de la wilaya de Constantine.....	80
Tableau n° 12 : Prévalence des salmonelles dans les élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine.....	81
Tableau n° 13 : Principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> isolés des élevages de poulet de chair et abattoirs de volaille de la wilaya de Constantine.....	82
Tableau n° 14 : Résistance aux antibiotiques des souches de salmonelles isolées des élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine.....	83
Tableau n° 15 : Caractéristiques de l'antibio-résistance des sérotypes isolés.....	84
Tableau n° 16 : Sources des profils de résistance aux antibiotiques.....	85
Tableau n° 17 : Facteurs de risques liés à la contamination par les salmonelles, statistiquement significatifs.....	86
Tableau n° 18: Résistance des salmonelles humaines aux molécules d'antibiotiques testées.....	87
Tableau n° 19 : Tableau Synoptique des différents profils de PCR, de résistance aux antibiotiques et de PFGE pour la totalité des sérotypes.....	94
Tableau n° 20 : Evaluation de l'indice de discrimination de Simpson (D) pour quelques salmonelles.....	114

Figures :	Page
Figure n° 1 : Cycle de diffusion des salmonelles dans l'environnement.....	34
Figure n° 2 : Schéma du système d'information en surveillance sanitaire vétérinaire.....	42
Figure n° 3 : Localisation des élevages et abattoirs étudiés dans la wilaya de Constantine.....	64
Figure n° 4 : Schéma de sérotypage.....	70
Figure n° 5 : Photo du système d'électrophorèse en champ pulsé : CHEF DR III.....	74
Figure n° 6 : Profils eric-PCR représentatifs de différents sérotypes de salmonelles.....	89
Figure n° 7 : Profils is-PCR représentatifs de différents sérotypes de salmonelles	90
Figure n° 8 : Photo de gel d'électrophorèse en champ pulsé.....	92
Figure n° 9 : Dendrogramme des principaux sérotypes aviaires et humains.....	93
Figure n°10 : Profils PFGE de <i>S. Albany</i>	107
Figure n°11 : Profils PFGE de <i>S. Kentucky</i>	108
Figure n°12 : Profils PFGE de <i>S. Infantis</i>	108
Figure n°13 : Profils PFGE de <i>S. Hadar</i> par <i>XbaI</i>	108
Figure n°14 : Profils PFGE de <i>S. Hadar</i> par <i>BlnI</i>	109
Figure n°15 : Profils PFGE de <i>S. Agona</i>	109
Figure n°16 : Profils PFGE de <i>S. Blockley</i>	109
Figure n°17 : Profils PFGE de <i>S. Enteritidis</i>	110
Figure n°18 : Profils PFGE de <i>S. Senftenberg</i>	110
Figure n°19 : Profils PFGE de <i>S. Indiana</i>	111
Figure n°20 : Profils PFGE de <i>S. Virchow</i>	111
Figure n°21 : Profils PFGE de <i>S. Montevideo</i>	111
Figure n°22 : Profils PFGE de <i>S. Typhimurium</i>	112
Figure n°23: Profils PFGE de <i>S. Heidelberg</i>	112
Figure n°24 : Profils PFGE de <i>S. Carnac</i>	113
Figure n°25 : Profils PFGE de <i>S. Anatum</i>	113

Lexique:

Clone ou lignée clonale (applicable aux études épidémiologiques):

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

Le seuil quantitatif de similitude utilisé comme définition de travail d'un clone, doit être ajusté à l'espèce bactérienne étudiée, au système de typage utilisé et aux paramètres espace-temps de l'enquête épidémiologique.

Isolat:

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

Souche:

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

Type:

Profil spécifique ou ensemble de profils que présente une souche bactérienne lors de l'application d'un système de typage.

Allèle:

C'est un terme qui désigne chacune des différentes formes possibles d'un même gène. On note que les allèles sont au nombre d'au moins deux et qu'ils occupent le même emplacement (locus) sur une paire de chromosomes homologues. Les allèles gouvernent des aspects différents d'un même caractère, dont l'expression dépend des rapports de dominance et de récessivité entre les allèles.

Loci:

Pluriel de « locus », c'est l'emplacement qu'occupe un gène ou un allèle sur un chromosome ou, par extension, sur la carte factorielle qui le représente. La localisation des gènes sur les chromosomes est définie et constante pour toutes les cellules d'une même espèce.

Dendrogramme : Représentation graphique des matrices de similitude, obtenues après comparaison 2 à 2 de différents profils bactériens.

Introduction

La sécurité alimentaire est devenue un enjeu majeur pour les pouvoirs publics, les consommateurs et les professionnels de produits destinés à la consommation humaine. En effet, la santé publique et le contexte économique de plus en plus concurrentiel du marché agro-alimentaire en sont les principales motivations, même s'il est un peu choquant de mettre ces deux concepts sur le même plan.

Le secteur concurrentiel est féroce, et des marchés gigantesques peuvent être enlevés sur une marge d'un ou deux dinars au kilogramme (surtout dans le secteur de la volaille). La tentation est grande de jouer sur certains aspects de la qualité, dont la maîtrise impacte fortement les coûts de production (présentation, service...). Mais la qualité sanitaire (la sécurité) n'est en théorie pas négociable. Elle doit être assurée quel que soit le niveau de qualité commerciale ou d'usage du produit. Cette sécurité passe, en particulier, par la maîtrise de la contamination des produits alimentaires par les bactéries pathogènes.

Les maladies d'origine alimentaire sont une cause importante de morbidité et de mortalité à travers le monde. En effet, l'organisation mondiale de la santé (O.M.S.) estime que 2 millions de personnes meurent chaque année de diarrhées infectieuses (Anonyme 2006a).

Parmi celles-ci, les salmonelloses représentent un problème réel ou potentiel dans toutes les parties du monde. Elles sont l'objet de préoccupations dans de nombreux secteurs et continuent à inquiéter les opinions publiques, à mobiliser les circuits de consommation, de production et de commercialisation des produits d'origine animale et à accaparer les chercheurs et les responsables de la santé publique. En effet, elles ont une importance considérable dans les domaines vétérinaire et médical, tant par les pertes économiques, liées aux diminutions de productions, aux saisies et aux coûts des moyens et contrôles de préventions, que par la forte incidence des toxi-infections alimentaires collectives, dans un contexte actuel où une sécurité sanitaire absolue est exigée par le consommateur. La maîtrise de la contamination salmonellique des viandes de volailles est devenue un pré-requis indispensable pour le consommateur et un argument économique pour les industriels (Carlier et coll. 2001).

Les salmonelloses sont la principale cause apparente de gastro-entérite d'origine alimentaire chez l'homme (Anonyme 2002). Elles provoquent des symptômes d'une large gamme de sévérité, allant de légers maux de ventres à des degrés divers d'entérites, jusqu'à la septicémie et dans les cas extrêmes la mort. Les contaminations peuvent rester inapparentes, mais le portage latent asymptomatique avec dissémination par intermittence des salmonelles est courant.

L'accroissement et l'accumulation des résistances aux antibiotiques est un autre aspect du problème de santé publique des salmonelloses, car il est admis actuellement dans les pays développés mais aussi dans les pays en voie de développement, qu'une partie des *Salmonella* multi-résistantes retrouvées chez l'homme sont d'origine animale et ont acquis leurs gènes de résistance en élevages avant de les transmettre aux humains à travers les aliments (Ungemach et coll.2006). L'infection est d'ailleurs très communément associée à la consommation de viande et de produits carnés, surtout ceux à base de volaille. En effet, les volailles jouent un rôle prépondérant en tant que vecteurs de transmission dans les cas humains de salmonellose (Anonyme 2002). Il semble qu'il y'ait un joyeux mélange entre ce qui est d'origine alimentaire et ce qui ne l'est pas !

Par ailleurs, la consommation des viandes de volailles a connu un formidable essor universel sur tous les continents (Prin et coll. 2001), avec une progression des volumes commercialisés dans le monde de 10 % par an, une progression de l'offre mondiale de 5 % par an et une progression de la consommation individuelle mondiale de 3,7 % par an et cela sur la dernière décennie: (Beaumont, 2004).

En Algérie, la filière avicole « chair » a connu depuis 1980 un développement notable, soutenu par une politique incitative. Cependant, les pratiques d'élevage et d'abattage accusent un retard technologique considérable par rapport aux pays industrialisés, ceci retentissant non seulement sur la productivité des ateliers avicoles, mais aussi et surtout sur la santé publique. En effet, la

problématique de la filière avicole sur le plan sanitaire reste toujours tributaire des conditions d'élevage en général, et plus particulièrement de l'hygiène des bâtiments (Kaci et coll. 2001).

Les ateliers d'élevage et d'abattage sont exclusivement privés dans la wilaya de Constantine et ne répondent nullement aux exigences hygiéniques et sanitaires recommandées par la législation nationale et internationale, tout cela pour un pays en négociations avancées pour l'adhésion à l'organisation mondiale du commerce.

La barrière sanitaire au niveau des élevages et tueries est tellement faible, qu'elle est à l'origine de taux de mortalités excessifs, d'utilisation abusive des produits vétérinaires et de la propagation de diverses maladies (Kaci et coll. 2001).

Très peu de données expérimentalement vérifiables existent sur la prévalence des salmonelles en Algérie; néanmoins, certaines données laissent augurer d'un danger en expansion (même si cela reste à discuter entre une expansion réelle et une meilleure détection), notamment les archives de l'institut Pasteur d'Algérie (Aboun et coll. 2003), le nombre de gastro-entérites enregistré dans les Centres Hospitalo-universitaires algériens qui se réduit très peu malgré tous les efforts déployés pour la prévention, depuis l'un des premiers travaux sur les salmonelles à Constantine de Zoughailech, 1986 à celui de Bouzitouna-Bentchouala , 2006 (résultats non publiés) , les bulletins sanitaires vétérinaires (Anonyme 2002a, Anonyme 2003b, Anonyme 2004 et Anonyme 2005) et la presse écrite. Il nous est donc paru important de défricher ce sujet important, en étudiant l'épidémiologie des contaminations salmonelliques aviaires dans la Wilaya de Constantine.

Le premier objectif de notre travail est d'objectiver cette contamination en évaluant la prévalence de contamination des élevages et abattoirs privés de la wilaya de Constantine.

Nous avons également précisé la nature de cette contamination, en déterminant les sérotypes, antibiotypes, mais aussi les profils génotypiques des souches isolées par deux techniques de réaction de polymérisation en chaîne (eric-PCR et is-PCR) puis par une technique de pulsotypage (PFGE)

Nous nous sommes également attachés à l'évaluation des facteurs de risques liés à la contamination des élevages et des abattoirs.

Enfin, afin d'évaluer la contribution du poulet de chair aux salmonelloses humaines dans la wilaya de Constantine, nous avons procédé à la comparaison des profils phénotypiques et génotypiques des souches recueillies en élevages et abattoirs à ceux recueillis gracieusement au C.H.U. de Constantine.

C'est dans ce sens que le travail a été subdivisé en une première partie: Bibliographique dont le premier chapitre est consacré aux salmonelles, leur historique, nomenclature, taxonomie, leurs caractéristiques microbiologiques, antigéniques, leur habitat, leurs pouvoirs pathogènes et immunogènes ainsi que les supports, les modalités d'acquisition et de diffusion de l'antibiorésistance. Le deuxième chapitre traite des salmonelloses en relatant les tendances mondiales et nationales, la clinique, le portage, l'épidémiologie, les sources et modes de transmission, le diagnostic, les traitements, les différents moyens de prophylaxie et le système de surveillance des maladies animales en Algérie. Le troisième chapitre comporte les principes et les différentes applications des techniques de typage bactérien dont l'emploi est devenu incontournable pour l'étude des sources et voies de transmission des bactéries pathogènes dans les systèmes de production.

La deuxième partie: Pratique, comporte une enquête sous forme de questionnaires, sur les élevages et les tueries de la wilaya de Constantine, pour les caractériser et évaluer les facteurs de risques liés à leur contamination par des salmonelles, puis un travail expérimental consistant à lever un coin du voile qui entoure les salmonelloses non typhiques, leur prévalence, les sérotypes prédominants, leurs profils d'antibiorésistances et leurs profils génotypiques qui seront déterminés par des techniques fondées sur la *Polymerase.Chain.Réaction* (eric-PCR et is-PCR) d'une part et d'autre part par l'électrophorèse en champ pulsé, appelée aussi *Pulsed.Field.Gel.Electrophoresis* (PFGE) pour être comparés entre eux et avec des salmonelles, responsables de toxi-infections alimentaires, récupérées au C.H.U. de Constantine et seront présentés en chapitres: matériel et méthodes, résultats, discussions, conclusions.

Chapitre 1 : LES SALMONELLES:

1. Historique:

Selon Le Minor et coll. (1994), le bacille a été observé pour la première fois en 1880 par un médecin allemand du nom d'Eberth. L'observation s'est faite sur des sections de rate et de noeuds lymphatiques mésentériques d'un patient mort de typhoïde. Le bacille a été ensuite cultivé en 1884 par Gaffky.

En 1886, Salmon et Smith isolèrent l'actuelle *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérotype choleraesuis, autrefois appelée «Bacterium Sui- pestifer » à partir d'un porc atteint de « Hog cholera» (Le Minor et coll.1994 ; Yan et coll. 2003).

Quelques années plus tard, 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; l'organisme isolé est appelé le bacille paratyphoïdique par Achard et Bensaude (Grimont et coll. 2000).

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.

Dans un passé proche, les souches de salmonelles isolées de différents hôtes et différentes conditions cliniques étaient considérées comme différentes espèces et les bactériologistes les appelaient aux noms des pathologies qu'elles provoquent ou au nom de l'espèce animale dont le bacille provenait, c'est ainsi qu'on a: *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Abortusovis* , *Salmonella Typhimurium*..., puis sont arrivés les noms des lieux où ces germes ont été découverts: *Salmonella Panama*, *Salmonella Montevideo*, *Salmonella London*...etc (Le Minor et coll.1994).

Pour les aliments, Carlier et coll. (2001), rapportèrent que l'observation «princeps» semble avoir été effectuée par le médecin belge Van Ermenghem en 1896; En effet le professeur Jean Verge avait écrit un mémorable article paru en 1931 (Les Toxi-infections alimentaires d'origine carnée et l'inspection bactériologique des viandes. Recueil de médecine vétérinaire, 1931, n° spécial, pp: 804-851), qui relate l'événement, « Le Samedi 25 octobre 1895, un vétérinaire très distingué, inspecteur sanitaire des viandes de la ville de GAND, recevait à expertiser des saucissons fabriqués le 19 du même mois. La police, les considérant comme suspects – Deux ou trois personnes étaient devenues malades après en avoir mangé – les avait saisis. Constatant l'excellente apparence de ces saucissons, leur bonne odeur, leur couleur bien rosée, l'expert n'hésita pas à les déclarer bons pour la consommation. Fort de sa conviction, il les goûte, en ingère trois rondelles; son collègue, directeur de l'abattoir en fait autant, un domestique en prend une ou deux rondelles et un autre un très petit morceau. Dix à douze heures après, tous sont malades; ils ont de la fièvre, des vomissements et une forte diarrhée.

Le 27 au matin, le vétérinaire fait venir son médecin et lui déclare qu'il est empoisonné par des ptomaines. Son état s'aggrave rapidement et il succombe dans la nuit du 31 octobre au premier novembre. Les constatations nécropsiques sont les suivantes: L'estomac et l'intestin grêle révèlent des altérations inflammatoires extrêmement accusées qui en beaucoup d'endroits, ont abouti à la gangrène. Dans tous les organes, on constate la présence de très nombreux microbes. Dans le foie, dans les reins, dans les vaisseaux, les bactéries siègent en de nombreux points réunis en amas d'un volume tel qu'on peut facilement, sur les coupes colorées, les distinguer à la loupe.

Des saucissons saisis du cadavre du vétérinaire, des selles diarrhéiques d'un singe qui succomba lui aussi après avoir consommé une petite quantité de ces saucissons, Van Ermenghem isola la même bactérie pathogène pour les animaux d'expérience et qu'il rapprocha du germe de la fièvre typhoïde humaine ».

2. Taxonomie et nomenclature:

Initiée par White en 1926 et finalisée par Kauffmann en 1941, 1961, 1972, 1978 et par LeMinor (Bouvet 1995), l'étude systématique des antigènes O (de l'allemand *Ohne Hauch*), flagellaires H (de l'allemand *Hauch*) et capsulaires K (de l'allemand *kapselle*, appelés aussi Vi (pour virulence), permet de démontrer qu'il existe 87 facteurs antigéniques O et 96 facteurs antigéniques H (Bouvet 1995). Les combinaisons des différents déterminants antigéniques entre eux offrent en théorie plus de 20 000 possibilités. L'étude permit aussi de décrire beaucoup d'espèces (sérovars actuels), c'est pourquoi le concept de sérovar égal à une espèce ne pouvait plus tenir car il était devenu impossible de les séparer par les tests biochimiques usuels (Grimont 2000).

Différents auteurs dont Kaufmann et Edwards en 1952, Ewing en 1963 et Borman et coll. en 1994 proposèrent différentes solutions et finirent par s'accorder sur le fait que mises à part *Salmonella typhi* et *Salmonella choleraesuis*, tous les autres sérovars doivent être versés dans une seule espèce à savoir *Salmonella enterica*, *Salmonella kauffmannii* ou *Salmonella enteritidis* (Grimont 2000).

Entre temps, en 1952 Kaufmann et Edwards considérèrent que les souches capables de liquéfier lentement la gélatine et de fermenter le lactose, formaient un genre séparé appelé Arizona; après certaines confusions de nomenclature, le nom est finalement admis depuis la publication d'Ewing en 1969 mais avec une seule espèce: *Arizona hinshawii*.

En 1966, Kauffmann divisait le genre *Salmonella* en quatre sous genres sur la base de réactions biochimiques et désignés par des chiffres romains et sans nomenclature formelle (I à IV) et le genre Arizona constituait le sous genre III. Plus tard LeMinor et coll. (1970), considéraient que les sous genres de Kauffmann correspondaient bien aux espèces appelées : *Salmonella Kauffmanii* (sous genre I), *Salmonella salamae* (sous genre II), *Salmonella arizonae* (sous genre III) et *Salmonella houtenae* (sous genre IV).

La nomenclature bactérienne prit une toute autre considération en 1980, avec la publication des «Approved Lists of Bacterial Names» (Skerman et coll.1980), ou les noms de bactéries qui n'apparaissaient pas sur les Approved Lists perdaient leur rang dans la nomenclature. Ces dernières listes avaient compris cinq espèces de salmonelles à savoir: *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*.

Dans les trente dernières années, des études basées sur l'hybridation de l'A.D.N. montrèrent que les sous genres I à IV constituaient en fait un groupe d'une seule hybridation d'A.D.N. Cela a été démontré par l'étude de la stabilité thermique de l'A.D.N. hybridé (Corsa et coll.1973, Stolero et coll.1976, Le Minor et coll.1982 et 1986), qui conclurent que les genres correspondaient aux sous genres I à IV, excepté le sous genre III qui a été divisé en sous groupe III a et III b.

Plustard un autre groupe fût identifié avec quelques rares sérovars, c'est le groupe VI ou *Bongori* (Le Minor et coll.1982, 1986).

En 1982, Le Minor et coll. considéraient que tous les sérovars de salmonelles constituaient une seule espèce qui serait *Salmonella choleraesuis* (nom d'espèce du genre *Salmonella*) et qu'elle contenait 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*.

Une nouvelle sous espèce a été rajoutée par la suite, c'est la sous espèce *indica* (Le Minor et coll.1986).

Cette nomenclature qui respecte strictement les règles du code international de nomenclature des bactéries a sérieusement reculé depuis que le nom de *Salmonella choleraesuis* s'est avéré être aussi un nom de sérovar; A partir de là Le Minor et Popoff (1987) proposèrent 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*.

La taxonomie se base aussi sur l'espèce génomique, qui est définie maintenant 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 (Wayne et coll.1987). Ces hybridations ont montré qu'il n'y avait que deux espèces génomiques dans le genre *Salmonella*: *Salmonella enterica* (espèce habituelle) et *Salmonella bongori* (espèce rare) (Reeves et coll. 1989 ; Yan et coll. 2003); *Salmonella enterica* était subdivisée en six sous espèces:

Salmonella enterica subsp.*enterica*, *Salmonella enterica* subsp.*salamae*, *Salmonella enterica* subsp.*arizonae*, *Salmonella enterica* subsp.*diarizonae*, *Salmonella enterica* subsp.*houtenae* et *Salmonella enterica* subsp.*indica*.

En 2004, un autre groupe très rare, *Salmonella subterranea*, représentant une autre espèce de *Salmonella* est décrit par Shelobolina et coll.2004, liste de validation n°.102, 2005 (Heyndrickx et coll.2005); mais la validation des instances internationales n'est pas encore effective (Guibourdenche M. 2005).

La nomenclature actuelle bien que non encore accréditée officiellement et qui semble satisfaire la communauté scientifique, en prenant l'exemple de *Salmonella* Typhimurium, s'établit comme suit (Grimont 2000; Bell 2002):

Genre: *Salmonella*, espèce: *enterica*, sous espèce: *enterica*, sérotype: Typhimurium ou simplement *Salmonella* Typhimurium.

Pour des raisons pratiques, les noms attribués aux sérotypes sont conservés pour la sous espèce *enterica*, mais ces noms n'ont pas de statut taxonomique. C'est la raison pour laquelle ils ne sont pas écrits en italique et débutent par une majuscule (Brenner, et coll.2000).

Les sérovars des autres espèces, autres que *enterica* sont désignés par la formule antigénique de Kauffmann-White, exemple: *Salmonella houtenae*, c'est *Salmonella enterica* subsp.*houtenae* sérotype 43:z4, z23:- (Bouvet 1995; Brenner et coll.2000).

3- Bactériologie:

3-1: Caractéristiques microbiologiques des salmonelles:

Le genre *Salmonella* est l'un des 32 genres de la famille des *Enterobacteriaceae* dont les caractéristiques générales sont rappelées dans le tableau n°1.

Bacilles Gram négatif, non sporulés Dimensions moyennes:0,5μ sur 3 μ.
Immobiles ou mobiles à ciliature péritriche.
Développement facile en milieu ordinaire.
Aérobies facultatifs et fermentant le glucose avec ou sans production de gaz.
Ne possèdent pas d'oxydase.
Réduisent les nitrates en nitrites.

Tableau n°1: Caractéristiques générales des entérobactériaceae (d'après Pilet et coll.1997)

Les salmonelles sont phylogénétiquement et phénotypiquement proches des *Escherichia* et des *Citrobacter* alors que la divergence entre salmonelles est presque aussi grande qu'entre *Salmonella* et *Citrobacter* ou entre divers *Citrobacters* (Humbert, F. 1998 et Christensen et coll. 1998).

C'est ainsi que grâce à l'étude de la diversité des A.R.N. ribosomiaux, différents auteurs pensent qu'il soit possible que les salmonelles aient divergé des *Citrobacters* après l'apparition des amphibiens et reptiles il y a plus de 300 millions d'années puis la sous espèce I des salmonelles se serait différenciée après l'émergence des animaux à sang chaud, il y a 200 millions d'années; Enfin le sérotype Typhi serait apparu avec l'homme, il y' a 3 millions d'années et que le berceau du sérotype Typhi pourrait être l'Indonésie, où des souches diphasiques de ce sérotype normalement monophasique, ont été retrouvées (Grimont 1992).

Le genre *Salmonella* est défini par le *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (9ème éd.1984), comme suit: Les salmonelles sont des bacilles de 0,5 à 1,5 μ x 2,0 à 5,0 μ, à Gram négatif, anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche mais des mutants immobiles peuvent exister. Ils cultivent bien sur les milieux nutritifs ordinaires et donnent en 18 à 20 heures, des colonies de deux à trois millimètres de diamètre à l'exception de certains sérovars donnant toujours des colonies naines (*Abortus ovis* et *Abortus equi*). Ils présentent un G + C % de 50 – 53.

Les salmonelles se présentent aussi par des caractéristiques biochimiques communes à l'espèce (voir tableau n° 2) et se différencient entre elles par d'autres (voir tableau 3).

Salmonelles	Caractéristiques biochimiques	Expression
Toutes	Uréase	-
	Tryptophane désaminase	+
En majorité	O.N.P.G.	-
	Gaz en présence de glucose.	+
	H ₂ S.	+
	Lactose.	-
	L.D.C.	+
	Indole.	-
	Citrate de Simmons.	+
	Gélatine.	-
	D-tartrate (en plusieurs jours).	+

Sauf, *Salmonella* Typhimurium: agazogène, H₂S + faible et Citrate de Simmons - .

Salmonella Paratyphi : L.D.C. -, Citrate de Simmons – et H₂S – le plus souvent.

Salmonella Abortus equi: H₂S -

Salmonella Abortus ovis: H₂S -

Salmonella Senftenberg: Lactose +.

Tableau 2: Caractéristiques biochimiques communes aux salmonelles (Pilet et coll. 1997).

Caractères biochimiques	<i>Salmonella Enterica</i>						<i>Salmonella Bongori</i>
	<i>Subsp. enterica</i>	<i>Subsp. salamae</i>	<i>Subsp arizonae.</i>	<i>Subsp. diarizonae</i>	<i>Subsp. houtenae</i>	<i>Subsp. indica</i>	
O.N.P.G.	-	-	+	+	-	v	+
Gélatinase (36 °C)	-	+	+	+	+	+	-
culture sur milieu KCN	-	-	-	-	+	-	+
Dulcitol fermentation	+	+	-	-	-	v	+
Malonate (utilisation)	-	+	+	+	-	-	-
Sorbitol fermentation	+	+	+	+	+	+	-
Bêta-glucuronidase	v	v	-	+	-	v	-
Alphaglutamyl transférase	v	+	-	+	-	+	+
Lyse par le phage 01.	+	+	-	+	-	+	+

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

Tableau 3: Caractéristiques biochimiques différentielles des espèces et sous espèces du genre *Salmonella* (Grimont 2000).

Quelques propriétés phénotypiques des salmonelles sont si spécifiques, qu'elles sont utilisées pour l'enrichissement, la sélection, l'isolement et la différenciation des colonies. En effet les salmonelles et autres genres d'entérobactéries sont plus résistantes à la novobiocine, sélénite, tergitol et les sels biliaires, spécialement le désoxycholate. Les salmonelles sont aussi résistantes au vert brillant et au vert malachite que les autres entérobactéries.

Cependant ces caractéristiques ne sont pas suffisantes pour un véritable isolement sélectif et aucun milieu n'est à présent disponible avec la capacité d'isoler seulement les salmonelles. C'est ainsi que les milieux qui tendent à être les plus sélectifs exigent du lactose, saccharose, cellobiose ou glycérol et de la salicine avec des indicateurs de pH. Le thiosulfate et les sels ferriques permettent la production et la détection de H₂S à moins que le pH. soit acide.

Ainsi en milieu Salmonelles-Shigelles (S.S.), les agents de sélection sont les sels biliaires et le vert brillant, les substrats d'intérêt sont le lactose et le thiosulfate de sodium et les indicateurs sont le rouge neutre et les citrates de fer.

Les souches de salmonelles typiques dans le cas de milieu S.S. donnent des colonies décolorées avec centre noir.

La gélose Hektoen contient les sels biliaires (agents sélectifs), lactose, saccharose, salicine et du thiosulfate de sodium (substrats) et le bleu de bromothymol, la fuschine et les citrates d'ammonium ferrique (indicateurs), les colonies sont dans ce cas vertes à centre noir. (Grimont 2000). Ces milieux sont en pleine perte de vitesse face aux milieux dits « chromogènes » dont le premier est la gélose de Rambach.

3-2- Caractéristiques antigéniques:

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

3-2-1: Les antigènes somatiques: (antigènes O):

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

Les antigènes O sont constitués de trois éléments, de l'intérieur vers l'extérieur:

- Le lipide A (Endotoxine), responsable du pouvoir pathogène et donc des effets toxiques.
- Le core ou noyau polysaccharidique de base semblable pour toutes les salmonelles, qui comprend outre le Cétodésoxyoctonate: K.D.O. et le lipide A, un heptose, du glucose, du galactose et de la N-acétylglucosamine (Grimont 1992)
- Des chaînes spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2 à 6 monosaccharides.

Le monosaccharide se compose de galactose, de rhamnose, de mannose et selon le sérotype d'abéquose (facteur O 4 du groupe B), de paratose (groupe A) ou de tyvélose (facteur O 9 du groupe D) branché en 1-3 sur le mannose du chaînon répété.

La spécificité est donc liée à la nature des sucres constitutifs et à celle de leurs liaisons sur le chaînon monosaccharidique pour les formes lisses (Smooth ou S.) (Le Minor et coll. 1982).

Les antigènes O sont distingués selon la nature des oses terminaux et l'ordre dans lequel ils se trouvent dans les unités répétitives de la chaîne polysaccharidique, en facteurs majeurs et en facteurs accessoires (Humber 1998). Le facteur O accessoire diffère selon les sérovars appartenant à un même groupe; Il peut être commun à plusieurs facteurs O majeurs, c'est le cas du facteur O accessoire O: 12, lié aux facteurs majeurs O 2, O 4 et O 9 (Euzeby 1982), il est donc présent dans les groupes A, B et D.

Le facteur O accessoire peut provenir d'une modification d'un facteur O dont le déterminisme peut être selon Humbert (1998):

- chromosomique: un gène codant pour une acétylase ajoute un radical acétyl à un facteur O majeur (exemple: le facteur O:5 résulte d'une acétylation sur le facteur O:4).
- lié à la présence d'un bactériophage, c'est à dire à une conversion lysogénique (exemple: le phage 22 modifie la liaison 1- 4 entre le glucose et le galactose en liaison 1-6, ce qui fait apparaître la spécificité O:1).
- enfin, plus rarement dû à la présence d'un plasmide (exemple: cas du facteur O:54).

Lorsqu'ils sont à déterminisme chromosomique, les facteurs O sont indiqués entre crochets (exemple O:[5]), et varient seulement par mutation; Lorsqu'ils sont liés à la présence d'un bactériophage ou d'un plasmide, ils sont soulignés (exemple O: 1), ils peuvent dans ce cas être perdus ou acquis à tout moment (Grimont 1992).

L'agglutination obtenue avec les sérums anti O, s'effectue par les parois, elle est lente, granulaire mais fine et difficile à dissocier (Gledel et coll.1990-1991).

3-2-2: Les antigènes flagellaires:

Les antigènes H sont des polymères de flagelline: protéine de structure des flagelles, qui présente une composition en acides aminés constante pour un type antigénique donné.

La flagelline est sous la dépendance de 2 gènes de structure correspondants à la phase 1 et à la phase 2. La majorité des salmonelles sont diphasiques et peuvent donc exprimer alternativement deux spécificités différentes car elles possèdent deux systèmes génétiques. Cependant un certain nombre de salmonelles sont monophasiques, car à un temps donné, un seul de ces deux gènes s'exprime et les flagelles seront soit en phase 1, soit en phase 2.

De manière aléatoire, toutes les 1000 à 10000 générations, le gène qui n'est pas exprimé s'exprime et l'autre cesse de s'exprimer (Euzéby 1982).

Le fait que les salmonelles aient deux systèmes de synthèse codant pour des flagellines différentes (gènes localisés à des endroits différents du chromosome), pourrait donner un avantage pour la survie face aux défenses de l'hôte (Macnab 1987); Les gènes codant pour ces deux sortes de flagelline sont très homologues mais non identiques, ce qui laisse penser qu'ils résulteraient d'une duplication d'un même gène initial. C'est le système de conversion de phase (Grimont 2000).

L'alternance de l'expression des gènes est due à l'inversion d'un segment d'ADN de 750 paires de nucléotides, situé en amont du gène *fljB* et qui contient le promoteur de *fljB*. Dans une certaine orientation, le promoteur peut initier la transcription; Dans l'autre orientation, il ne peut pas.

La région d'inversion est bordée par des séquences répétées (*INVERTED REPEAT*) qui permettent la recombinaison homologue. Elle contient aussi le promoteur et la séquence codante du gène *hin* (anciennement *vh2*), dont le produit (une protéine) est nécessaire à l'inversion. Dans le cas de rares souches triphasiques, les gènes de la troisième phase étaient portés par un plasmide (Grimont 1992,2000).

Il est à signaler qu'une *Salmonella* peut avoir les gènes de structure *fliC* et *fljA* (pour la transcription de la flagelline en phase 1 et en phase 2) mais être immobile suite à la mutation sur les gènes codant pour l'assemblage des diverses parties du flagelle et qu'une *Salmonella* monophasique peut être bloquée sur une phase et avoir les gènes correspondant aux deux phases. L'antigène H n'est présent que chez les salmonelles mobiles, il est thermolabile et résistant au formol à 0,5 % et détruit par l'alcool.

L'agglutination H est rapide, floconneuse et facilement dissociable par agitation, qui casse les flagelles (Humbert 1998).

3-2-3: Les antigènes d'enveloppe Vi:(capsulaires ou antigènes K).

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

Toutes les souches de ces trois sérovars ne possèdent pas cet antigène (Euzéby 1982 et Rycroft 2000).

A côté des antigènes d'enveloppe, existent des structures protéiques de surface, les PILI qui se différencient en pili communs et en pili sexuels intervenant dans la conjugaison bactérienne et dont la présence est codée par les plasmides.

Le portage de ce polysaccharide capsulaire ne permet pas l'agglutination avec l'antisérum anti O, il convient de l'éliminer (1 h à 60 °C) pour révéler la présence des antigènes somatiques.

La présence dans la bactérie de deux gènes (Vi A et Vi B) est indispensable à son expression (Gledel et Corbion 1991; Rycroft 2000)

3-2-4: Les antigènes R et M:

Ce sont des antigènes plutôt rares et surtout ne présentant pas d'intérêt pour l'identification des salmonelles.

L'antigène R est avirulent, dérivé de l'antigène O, ses colonies sont rugueuses (forme Rough:R), il est plus aisément phagocyté et plus sensible aux activités bactéricides cellulaires et sériques.

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

3-2-5: Fimbriae:

Les fimbriae sont des formations en appendices cellulaires, disposés de manière péritriche, d'une longueur variant de 0,2 à 2 μm et dont la largeur est de 7 nm. Ils peuvent être de 100 à 300 unités par cellule bactérienne, alors qu'un fimbriae est constitué d'un millier de sous unités d'un unique polypeptide d'environ 17 Kda, contenant environ 160 acides aminés (Eisenstein, 1996).

Ils ont été classés pendant longtemps d'un point de vue fonctionnel par leur capacité à agglutiner des érythrocytes de différentes espèces et de façon dichotomique suivant qu'une incubation préalable avec le D-mannose empêche ou non l'agglutination (Eisenstein, 1996); Cette classification avait été abandonnée un certain temps car plusieurs nouveaux fimbriae sont morphologiquement similaires et ne semblent pas intervenir dans l'hémagglutination (Thorns et col. 2000); Mais les tests immunologiques rapides utilisant les anticorps monoclonaux spécifiques ont remplacé les traditionnelles méthodes d'hémagglutination et la microscopie électronique pour la détection des différents types de fimbriae en se basant sur la morphologie (fimbriae rigides et longilignes ou fibrillaires), sur le diamètre (de 7 à 8 nm ou de 3 à 5 nm), sur le poids moléculaire (14, 17, 21 ou 22 Kda), sur les réactions d'hémagglutination en présence de D-mannose et sur le déterminant génétique et sa localisation (chromosome ou plasmide) (Thorns, 2000).

Les fimbriae joueraient un rôle évident dans les premiers événements de l'invasion de l'intestin (Eisenstein 1996; Thorns 2000), mais ils semblent être importants pour la maintenance et la survie de l'organisme bactérien dans l'hôte et son environnement par la production de matières hydrophobes pour envelopper et protéger la bactérie (Thorns, 2000).

Enfin, ils semblent jouer un rôle d'évasion des défenses immunologiques spécifiques de l'hôte (Thorns, 2000).

3-3: Schéma de KAUFFMANN-WHITE:

Selon Le Minor et coll. (1987b), le schéma constitue une nomenclature des sérovars, classés selon la formule antigénique. Il se base sur des facteurs nécessaires à une identification pratique et peu de facteurs accessoires.

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

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

Les facteurs liés à une lysogénéisation sont soulignés et les facteurs accessoires sans relation avec la présence d'un bactériophage sont placés entre crochets. C'est d'ailleurs pour tenir compte du fait que la possession des facteurs liés à la lysogénéisation avait peu d'intérêt taxonomique que certains sérovars ont été supprimés et sont maintenant signalés comme des variants d'un autre sérovar. Exemple : le sérovar Minneapolis est inclus dans Anatum var 15+ 34+ (Le Minor et col. 1987b).

Le tableau 4 donne quelques exemples de formules antigéniques de *Salmonella*.

Sérotypes	Antigène somatique	Antigène flagellaire H de phase 1	Antigène flagellaire H de phase 2
Typhimurium	<u>1</u> , 4, 5, 12 :	i :	1, 2
Infantis	6, 7 :	r :	1, 5
Brandenburg	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	1,v	e, n, z ₁₅
Bredeney	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	1,v	1, 7
Derby	<u>1</u> , 4, [5], 12	f,g	[1, 2]
Golcoast	6, 8	r	1, w
London	3, 10 [15]	1, v	1, 6
Enteritidis	1, 9, 12	gm	[1, 7]

Tableau 4: Formules antigéniques de quelques sérotypes de *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica*, d'après le schéma de Kauffmann-White (Le Minor et Popoff, 1997).

Le nombre de sérotypes serait supérieur à 2500 sérotypes, dont seulement 21 sérotypes pour *S. Bongori* (Yan et coll. 2003). Selon l'institut Pasteur de Paris, le nombre de sérotypes répertoriés dans chaque sous-espèce, jusqu'à fin 2005 est le suivant :

enterica subspecies *enterica* : 1533

enterica subspecies *salamae* : 508

enterica subspecies *arizonae* : 98

enterica subspecies *diarizonae*: 341

enterica subspecies *houtenae* : 72

enterica subspecies *indica* : 13

Bongori : 21

Subterranea : 1 (l'espèce n'étant pas encore validée, le sérotype ne peut être comptabilisé)

Soit un **total** : **2587 sérotypes** jusqu'à la **fin 2005** (Guibourdenche M. 2005, résultats non publiés).

4 : Habitat et spécificité d'hôte:

4-1: Habitat:

Le réservoir des salmonelles est très large; elles se retrouvent aussi bien chez les animaux à sang chaud, malades ou porteurs sains (oiseaux, mammifères dont l'homme et les rongeurs), que chez les animaux à sang froid (reptiles, poissons et insectes) (Humbert 1998).

Les salmonelles possèdent deux caractéristiques qui expliquent probablement leur très large distribution:

- la diversité des animaux susceptibles de les héberger.

- la capacité de survie des salmonelles dans leur environnement (Bouvet 1995).

Elles peuvent se retrouver dans le milieu extérieur (terre, eau, aliments pour animaux) ou dans les aliments destinés à l'homme et proviennent en très grande majorité d'une contamination fécale ou elles peuvent persister quelque temps et même s'y multiplier suite à des conditions favorables. En effet elles peuvent survivre de 4 à 9 mois (selon la température: 4 à 20 °C) dans le sol ou en eau d'étang, pendant plus d'un an dans les poussières, jusqu'à 28 mois dans les fientes sèches de volailles, jusqu'à 5 ans dans le duvet de couvoirs et jusqu'à 13 mois sur des carcasses de poulets congelés à - 21 °C (Euzeby 1982).

Le réservoir principal dans lequel les salmonelles se multiplient activement est constitué par le tube digestif de leurs hôtes potentiels au point qu'ils sont actuellement considérés par certains auteurs comme hôtes normaux du tube digestif et leur seul habitat naturel (sauf *S.typhi*, *S.paratyphi* A, B et C, qui sont considérés comme parasites de l'intestin), et que leur présence

ailleurs dans l'environnement ou l'eau, ne serait due qu'à des contaminations fécales (Bornert 2000).

Ainsi tous les animaux sont des porteurs potentiels de salmonelles dans leur tube digestif, qui sont toutes virtuellement dangereuses et leur diffusion dans l'environnement est très importante, on parle de cycle des salmonelles (Bornert 2000).

Chez les poulets, leur lieu d'élection est constitué par le caecum, ce qui explique leur diffusion dans les fientes caecales. Les animaux porteurs sains excrètent de façon intermittente les salmonelles à raison de 10^7 bactéries par gramme de fèces (Euzeby 1982, Humbert 1998).

4-2: Spécificité d'hôte:

Des critères cliniques et épidémiologiques ont pu être envisagés pour classer les salmonelles, trois catégories écologiques ayant été distinguées selon leurs hôtes préférentiels:

- les sérovars spécifiques de l'homme: *Salmonella* Typhi; S.Paratyphi A, B, C et S. Sendai et qui sont responsables respectivement de la fièvre typhoïde et paratyphoïde: maladies, qui font encore des ravages dans les pays en voie de développement où l'hygiène alimentaire est peu ou pas respectée.

- les sérovars spécifiques de certains animaux ou qui peuvent exprimer une certaine pathologie particulière chez certaines espèces animales: exemple, *Salmonella* Dublin chez les bovins (mais aussi chez l'homme), *S. Abortus ovis*, *S. Abortus equi*, *S.Typhimurium* variant Copenhagen chez les pigeons et *S. Pullorum-Gallinarum* chez les volailles (Humbert 1998).

- les sérovars dits ubiquistes: ce sont les plus courants. Ils se retrouvent indifféremment chez plusieurs espèces à la fois, c'est le groupe des principaux agents de salmonelloses actuelles pouvant être dangereux pour l'homme et les animaux, exemple: *S.Enteritidis*, *S.Typhimurium*, *S.Infantis* et *S.Saint paul* (Humbert 1998).

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

5 : Résistance et sensibilité aux agents physiques et chimiques:

Les salmonelles se multiplient dans une large plage de température, entre 5 °C et 47 °C avec un optimum de 37 °C (Doyle et coll.1990; Le Boucher et coll.1997). En effet, elles peuvent survivre à des températures très basses, alors que des alternances congélation-décongélation partielle, appliquées à un aliment contaminé peuvent, par effet mécanique, détruire une proportion non négligeable des salmonelles présentes. Mais les dégâts mécaniques infligés aux aliments sont considérables, et incompatibles avec leur utilisation ultérieure (Doyle et coll.1990).

Beaucoup de facteurs affectent la destruction des salmonelles par la chaleur; un de ces facteurs est la souche, pour l'exemple *Salmonella* Senftenberg résiste 10 à 12 fois plus que le temps moyen de résistance de *Salmonella*. Spp. (Doyle et coll.1990; Bell 2002). La composition de l'aliment intervient aussi, en effet la valeur D (Temps de réduction décimale) à 60 °C est de 0,27 minutes pour des oeufs entiers contaminés par *Salmonella* Typhimurium, en leur ajoutant 1 % de saccharose (= sucrose), la valeur D double et devient 0,6 minutes.

L'activité de l'eau dans l'aliment et l'humidité de l'environnement interviennent dans l'inactivation des salmonelles par la chaleur, pour l'exemple *Salmonella* est 650 fois plus résistante à la chaleur dans le blanc d'oeuf séché (en poudre) que dans des oeufs à l'état liquide (Doyle et coll.1990; Bell 2002). Les salmonelles évoluent assez bien à des pH entre 4 et 9, le pH optimum étant de 7 (Euzeby 1982; Grimont 2000), mais là aussi tout dépend de la souche, de la température d'incubation, de l'activité de l'eau (qui doit être comprise entre 0,945 et 0,999), du nombre d'organismes présents et de la composition de l'aliment (Doyle et coll.1990 ; Bell 2002).

Le potentiel d'oxydo-réduction est aussi important, bien que *Salmonella* peut croître aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose, la croissance est ralentie et parfois inhibée par le potentiel d'oxydo-réduction en dessous de - 30 mV (Doyle et coll.1990).

Les salmonelles sont peu sensibles au sel (NaCl), elles ont été isolées de saumures à 3,2 % (Peiffer

1999), leur développement est limité par les compétitions consécutives à la croissance d'autres flores. Elles sont sensibles au crésyl et aux désinfectants courants en élevage: glutaraldéhydes associés aux ammoniums quaternaires à 1 ou 2 % mais aussi aux vapeurs de formaldéhyde, utilisés pour la fumigation des oeufs (Doyle et coll.1990; Peiffer 1999).

Par ailleurs, les salmonelles sont capables de survivre dans les effluents d'élevages (fumier, lisier), les eaux, les rongeurs, les animaux porteurs et l'homme mais résistantes de quelques semaines à quelques mois dans le milieu extérieur en général (Peiffer 1999).

6 : Pouvoir pathogène:

On a pu distinguer (même si cette distinction est aujourd'hui obsolète) d'un point de vue pathologique:

- Les salmonelles majeures (adaptées à l'homme):Ce sont les fièvres typhoïdes à *Salmonella* Typhi mais aussi les fièvres paratyphoïdes à *Salmonella* Paratyphi A, B et C (surtout B) (Euzeby 1987).

Ces fièvres sont graves, souvent mortelles si elles ne sont pas traitées ; c'est l'antigène somatique (Ag O) qui est responsable du syndrome typhique par choc endotoxique.

- Les salmonelles mineures dites aussi ubiquitaires ou ubiquistes et plus souvent non typhoidiques: toutes les salmonelles sont potentiellement pathogènes mais la gravité de l'affection provoquée est fonction de la souche et de la quantité de bactéries ingérées. Ce sont toutes les autres salmonelles qui provoquent des affections variées en pathologie animale et des gastro-entérites infectieuses en pathologie humaine, parfois des septicémies chez les immunodéprimés, les jeunes enfants, les vieillards, les malades chroniques et les femmes enceintes.

Ce sont les agents des T.I.A.C. (Toxi-Infections Alimentaires Collectives), qui sont les plus à craindre, la contamination a toujours lieu par voie digestive; l'invasion de l'organisme se fait par un processus entéro-invasif. Des localisations organiques diverses ont été décrites.

En général, les salmonelles peuvent entraîner selon Gledel (1995);Humbert (1998); Carlier (2001):

- soit un portage sain, strictement limité au tube digestif, avec une excrétion de salmonelles allant de moins de 10^4 à 10^7 germes par gramme de fécès. L'excrétion fécale peut être intermittente: on parle de porteur inapparent.

- soit un portage sain avec passage de quelques bactéries dans l'organisme mais sans symptômes apparents, les salmonelles sont hébergées dans les monocytes et les macrophages ou elles sont capables de survivre sans se multiplier (bactériémie).

-soit une maladie avec symptômes diarrhéiques et hyperthermie,lorsque le système immunitaire de l'hôte est soit déficient, soit dépassé par le nombre de salmonelles envahissant l'organisme, cette pathologie peut s'exprimer.

A la faveur d'ingestion d'une dose de l'ordre de 10^5 à 10^8 germes.

A la suite d'une multiplication importante dans le tube digestif, d'une quantité initiale faible; la multiplication survient suite à des perturbations ou déséquilibres de l'écosystème digestif par un stress ou par une pathologie intercurrente, dans ce dernier cas, l'ingestion des salmonelles peut être très antérieure à l'expression de la pathologie elle même (Humbert 1998).

Certains sérovars ubiquistes sont très spécifiques de l'hôte, exemples: *S.Abortus equi* et *S.Abortus ovis*,qui provoquent des tableaux cliniques très particuliers tel que les avortements ou un syndrome de fièvre entérique chez la volaille pour *S.Pullorum-Gallinarum* (Humbert 1998).

La virulence des souches semble être due à de nombreux facteurs, les uns sont liés à la souche tels les pili ou fimbriae, le rôle des flagelles, la structure du L.P.S., le système de captation du fer, les toxines, la capacité de survie dans les macrophages et la présence d'un plasmide. D'autres sont plutôt liés à l'hôte comme la dose infectante, la voie d'inoculation et l'état immunologique de l'individu (Murray et coll.991), mais les bases moléculaires qui permettent la transgression de la barrière digestive puis la survie et la multiplication dans les cellules de défense d'un hôte donné sont encore mal connues (Humbert,1998). En revanche Rhen et coll.(1992), rapportent que le pouvoir pathogène d'une bactérie correspond à l'association d'un pouvoir invasif et d'un pouvoir toxique, dépendants de bases moléculaires plus ou moins bien définies.

6-1 : Pouvoir invasif:

Les différences dans le pouvoir invasif entre différentes souches et même entre différents phagotypes sont souvent associées à plusieurs facteurs, comprenant la capacité des souches à se multiplier et coloniser la région iléo-caecale du tube digestif mais aussi à une quantité importante de bactéries dans la lumière intestinale.

La virulence est exercée par l'Ag O du L.P.S. qui participe toujours à la phase initiale de l'invasion. La localisation aux organes internes tel que le foie et la rate, s'explique par la richesse de ces organes en tissu réticulo-endothélial (les cellules phagocytaires captent les salmonelles à partir du sang) Carroll et coll. 2004).

L'acidité du pH de l'estomac est déjà un stress important pour les bactéries et nécessite l'expression de certains gènes de résistance contre l'acidité, malgré cela seul 1 % de l'inoculum va survivre (Bearson et coll.1997) et qu'en plus durant l'infection 80 % des bactéries qui survivent à l'acidité de l'estomac, va être évacué avec les fécès dans les 6 à 10 heures post-infectieuses et approximativement 15 % vont atteindre la lumière intestinale du caecum et le gros intestin et seulement 5 % vont arriver à pénétrer la paroi intestinale et parvenir au tissu lymphoïde (Baumler et col.2000).

Les protéines flagellaires de surface et les organes adhésifs semblent avoir un rôle moins important (Rhen et coll.1992). La virulence est aussi associée aux systèmes de régulation, la mise en oeuvre de ce circuit de régulation aboutit à la transcription d'une cascade de gènes participant à la virulence. Les cellules phagocytaires utilisent en plus de leurs défenses, des composés oxygénés et l'acidification pour se débarrasser de leurs hôtes, c'est pourquoi certains mutants dont la sensibilité aux oxydants est accrue *in vitro*, sont avirulents chez les souris d'après les travaux de Fields et coll., Miller et coll.(Rhen et coll.1992).

Des travaux de Taira et Rhen, Gulid et coll. (Rhen et coll.1992), ont montré que la virulence de *salmonella* Enteritidis était associée à un plasmide, exemple le plasmide 38 MD était associé à la virulence chez les souris; le plasmide 60 MD de *Salmonella* Typhimurium contribue à la virulence chez les souris aussi, ces plasmides sont sous la dépendance d'un déterminant virulent commun de 4 à 5 gènes regroupés sous l'appellation Spv gènes (Baumler et coll.2000).

La virulence est également associée à des fonctions internes à la cellule. Si la bactérie se retrouve dans des milieux (dans l'hôte) possédant des concentrations limitées en nutriments essentiels, elle peut perdre certaines fonctions métaboliques par mutation dans certains gènes, intervenant aussi pour la virulence. Par exemple: les gènes ARO mutent en moins virulents mais leurs bactéries ne sont pas éliminées par les macrophages, par contre ils sont incapables de se multiplier dans les cellules (les ARO sont responsables de la synthèse de l'acide folique, indispensable à la synthèse de bases nucléotides des gènes codant pour la virulence) (Baumler et coll. 2000).

6-2 : Le pouvoir toxique:

Selon les travaux de Reitmeyre et coll., Copra et coll., Groisman et coll. (Rhen et coll.1992), trois types de toxines ont été associées aux infections à salmonelles.

L'endotoxine ou toxine glucidolipidoprotéique est certainement responsable des symptômes toxiques dans une salmonellose invasive; L'action de cette toxine sur les paramètres biologiques aboutit à une hypotension artérielle, l'installation d'un collapsus cardio-vasculaire et dans certains cas l'installation d'un état de choc pouvant aboutir à la mort. L'action toxique est supportée par le lipide A.

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

7 : Le pouvoir immunogène:

Il apparaît d'après Mastroeni et coll. (1993), qu'à la fois l'immunité cellulaire et humorale, jouent un rôle dans la protection contre l'infection à *Salmonella*, bien que l'importance de chacune dans l'ultime protection de l'hôte reste encore controversée. En effet les anticorps produits par les lymphocytes B fournissent l'effecteur d'activité de la fonction pour l'immunité humorale, ces anticorps protègent l'hôte en s'attachant à la surface de l'organisme infecté pour le prévenir de l'attachement puis l'invasion des cellules de l'hôte par l'organisme infectant, en augmentant leur internalisation puis leur destruction par les phagocytes; L'activité protectrice des anticorps a donc lieu pendant la phase extracellulaire de l'infection bactérienne (Holt 2000).

L'immunité cellulaire par contre est induite par les lymphocytes T, qui peuvent servir d'effecteurs directs de la fonction (cytolytique par les lymphocytes: LTct ou de régulation: Lth: helper ou de suppression: Lts), en modifiant l'activité des lymphocytes B ou d'autres lymphocytes T. Ces éléments de réponse immunitaire sont importantes pour la protection contre les pathogènes intracellulaires et agissent à travers la destruction directe des cellules infectées de l'hôte ou l'activation de la phagocytose (Holt 2000).

8 : Résistance aux antibiotiques:

Chez les animaux, les agents antimicrobiens sont utilisés pour le traitement des maladies, leur prophylaxie et la croissance; Ils sont parfois utilisés de façon anarchique, sans diagnostic précis, en doses insuffisantes ou en surdosage, constituent une forte pression de sélection dans les élevages intensifs (Ungemach et coll.2006).

La résistance antimicrobienne est l'un des problèmes majeurs de santé en médecine humaine et animale, elle est aussi reconnue par l'O.M.S., comme un problème émergent de santé publique, depuis, le phénomène est d'autant plus important qu'il concerne des germes pathogènes pouvant être transmis à l'homme. Le monde bactérien s'est avéré capable de s'adapter aux antibiotiques et on a pu observer que les bactéries isolées d'infections humaines et animales progressivement et de plus en plus fréquemment résistaient aux antibiotiques successivement apparus (Helmuth 2000; Davis et coll. 2002; Garnier 2006).

A tout instant, une pression de sélection est imposée aux populations bactériennes et les antibiotiques contribuent à cette pression; c'est l'exemple des tétracyclines qui sont les plus utilisées et continuent à être utilisés comme additifs alimentaires dans certaines parties du monde (Helmuth 2000; Ungemach et coll.2006).

Les salmonelles d'origine animale, humaine ou de l'environnement n'échappent pas à cette tendance à l'antibiorésistance et à la multirésistance (Davis et coll. 2002; Granier 2006). C'est ainsi que *Salmonella* Typhimurium, la plus fréquemment isolée derrière *Salmonella* Enteritidis, serait particulièrement multirésistante, il s'agit du sous type lysotypique DT 104, résistant à l'ampicilline, chloramphénicol, streptomycine, sulfonamides et tétracyclines (c'est le profil de résistance: ACSSuT), un profil largement rapporté de par le monde (Gorman et coll.2004).

L'antibiorésistance des salmonelles réduit l'efficacité thérapeutique et prophylactique des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire et pose un problème à l'hygiéniste, car ces bactéries résistantes peuvent être transmises à l'homme; Cette contamination est rapportée pour la première fois par Bulling et coll.1973, puis d'autres auteurs et surtout Van Leeuwen et coll.1979,(cités par Helmuth 2000), qui décrivent l'émergence de la résistance aux tétracyclines et la coïncidence de leur déclin avec leur interdiction entre les années 1959 et 1974 aux Pays Bas. Anderson en 1968, cité par Helmuth (2000) décrit suite à une épidémie de *Salmonella* Typhimurium lysotype 29, apparue chez des veaux anglais, la pentarésistance, commençant par l'acquisition de la résistance à la streptomycine et aux sulfamides en 1963 et l'acquisition de la résistance aux tétracyclines, ampicilline, néomycine, kanamycine et furazolidone.

Une récente revue des études (Butaye et coll.2006) réalisée ces dernières années, montre l'évolution de la prévalence de certains sérotypes qui émergent, persistent pendant une certaine période puis diminuent rapidement; C'est le cas du phage type de S.Typhimurium DT 104, multirésistant notamment aux fluoroquinolones et céphalosporines de 3eme génération, qui montre une augmentation globale depuis les années 1990.

Un fort pourcentage de résistance semble être fréquemment rencontré en élevage avicole surtout pour la sulfadiazine, mais aussi pour la néomycine, tétracyclines et streptomycine (Carraminana et coll.2004). Antunes et coll. (2004) rapportent que 75 % des souches isolées à Porto (Portugal) sont résistantes à un antibiotique ou plus et particulièrement à l'acide nalidixique et l'enrofloxacin.

8-1 : Support de l'antibiorésistance:

Les gènes de résistance aux antibiotiques se situent soit sur le chromosome bactérien, soit sur des éléments extrachromosomiques: les plasmides. Ils peuvent être échangés entre différents réplicons (ADN chromosomique, plasmidique ou bactériophagique) par le phénomène de transposition. La plupart des gènes de résistance sont capables de transposer et sont portés par des plasmides qui codent généralement pour la résistance à plusieurs antibiotiques (Helmuth 2000).

Certains de ces plasmides sont autotransférables par conjugaison entre bactéries, indépendamment des pressions de sélection et leur diffusion est ainsi favorisée. Chez les bactéries pathogènes d'origine animale, la résistance multiple est principalement plasmidique, souvent transférable (Conjugaison) et la transposition est aussi possible.

Toute pression de sélection par les antibiotiques amplifie et oriente les réarrangements génétiques sur les salmonelles et ainsi leur résistance.

Il existe donc des réservoirs de bactéries résistantes, des plasmides et des gènes d'antibiorésistance dont la circulation souvent méconnue contribuent au maintien et à l'évolution de l'antibiorésistance (Gebreyer et coll.2005).

8-2 : Modalités d'acquisition de l'antibiorésistance :

Indépendamment des supports génétiques, différents mécanismes conduisent à la manifestation de la résistance :

- Non-fixation de l'antibiotique par modification de sa cible.
- Synthèse d'enzymes bactériennes modifiant ou inactivant l'antibiotique.
- Utilisation d'une nouvelle voie métabolique remplaçant la voie inhibée par l'antibiotique.
- Diminution de la perméabilité ou efflux de la bactérie à l'antibiotique.

L'acquisition de l'antibiorésistance s'opère grâce à deux événements génétiques:

- Acquisition d'un gène étranger, où il y a transfert horizontal de plasmides, transposons ou intégrons (Gebreyer et coll.2005), entre bactéries donneuse et receveuse, par transformation, transduction et conjugaison (Schwarz et coll. 2001).
- Mutation: Elle survient suite à une altération du génome bactérien mais elle reste rare et d'apparition spontanée (Catry et coll. 2003).

8-3: Mesure de la résistance aux antibiotiques ou Antibiogrammes:

L'antibiogramme est conçu pour prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques, il permet de catégoriser une souche pathogène en catégorie clinique sensible (S), intermédiaire(I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (Anonyme 2006).

Différentes techniques sont utilisées, notamment : la méthode de diffusion en milieu gélosé pour évaluer l'activité inhibitrice de plusieurs anti-infectieux représentatifs des principales familles d'antibiotiques sur une souche bactérienne en mesurant les diamètres d'inhibition autour de disques chargés en antibiotique.

La surface d'un milieu de culture (généralement Mueller-Hinton), estensemencée en nappe avec une culture bactérienne pure, un disque de papier buvard imprégné d'antibiotique estensemencé sur la surface de la gélose qui commence à diffuser au sein de la gélose en créant un gradient de concentration décroissant au fur et à mesure que l'on s'éloigne du disque, après incubation de 24 heures, le diamètre d'inhibition suit une loi inverse à la valeur de la CMI (concentration minimale inhibitrice).

Si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre critique inférieur, la souche est résistante.

Si le diamètre mesuré est supérieur ou égal au diamètre correspondant au seuil critique supérieur, la souche est sensible.

Si le diamètre est compris entre les deux valeurs, la souche est considérée comme intermédiaire.

Ces règles sont applicables selon les recommandations relatives à la technique et aux modalités d'interprétation suivies par des référentiels nationaux tels : Le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie pour la France (CA-SFM), National Committee of Clinical Laboratory Standards pour les Etats-Unis (NCCLS), British Society of Antimicrobial Chemotherapy pour la Grande Bretagne (BASC) et Deutsches Institut für Normung (DIN) pour l'Allemagne (Anonyme 2006).

Chapitre 2 : LES SALMONELLOSES:

1- Généralités:

Les salmonelloses sont des maladies infectieuses, contagieuses, transmissibles à l'homme et à diverses espèces animales, dues à la présence d'un germe du genre *Salmonella* et de la famille des *Enterobacteriaceae* (Lecoanet 1992).

Les salmonelloses peuvent être responsables chez l'homme, selon le sérotype en cause et en fonction de l'état physiologique de l'hôte, d'une simple diarrhée accompagnée ou non de fièvre ou d'une infection généralisée parfois mortelle ou à la simple infection inapparente.

En effet, les salmonelloses sont la première cause de toxi-infection alimentaire dans les pays industrialisés et particulièrement en France (Moury 2005), où 14 235 souches de salmonelles ont été recensés par le réseau *Salmonella* de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (A.F.S.S.A.) durant l'année 2004, les transmissions de données sont particulièrement importantes pour les régions de l'ouest de la France, qui sont également les grands bassins d'élevage de volailles. Les souches se répartissent dans trois secteurs importants: le secteur Santé et Productions Animales (animal malade ou porteur sain et environnement de l'élevage) est prédominant avec 74 % de la totalité des souches, suivi du secteur Hygiène Alimentaire (matières premières d'aliments en cours de préparation ou finis destinés à la consommation humaine ou animale, mais aussi les souches isolées de l'environnement d'abattoirs, d'ateliers de découpe et de transformation) avec 24 % et enfin 3 % provenant de l'écosystème naturel (eau de mer, eau de rivière, boues et stations d'épuration)

Le recensement des souches de *Salmonella* en élevage et dans les denrées alimentaires ne préjuge en rien de l'incidence de la maladie chez l'homme.

La fréquence relative des salmonelloses observées chez l'homme s'explique (en partie) par l'existence d'un réseau de surveillance opérationnel depuis longtemps, ainsi que par l'existence de méthodes de laboratoires performantes, normalisées et à la portée des laboratoires « de routine ».

2- Clinique:

2-1- Chez l'homme :

Classiquement, deux types de salmonelloses humaines sont reconnus:

- Les gastro-entérites à salmonelles: C'est un syndrome qui s'exprime suite à l'ingestion d'un aliment contaminé par une souche de *Salmonella* subsp. *Enterica* autres que les sérotypes Typhi, Paratyphi A, B, C et Sendai.

Les signes cliniques sont essentiellement de la diarrhée avec douleurs abdominales, de la fièvre et des nausées, des myalgies, des vomissements et des maux de tête, ils s'expriment après 12 à 36 heures d'incubation et ont une issue habituellement favorable sauf dans de rares cas de personnes en très mauvais état ou enfants très jeunes.

- La fièvre typhoïde ou paratyphoïde: Elle est due à l'ingestion d'un aliment contaminé par une souche de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* appartenant à l'un des sérotypes suivants: *Salmonella* Typhi, Paratyphi A, B, C et *Salmonella* Sendai.

Le syndrome se caractérise par une incubation de 7 à 28 jours, avec des maux de tête intenses, fièvre élevée et persistante, douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, de la diarrhée (absente chez un cas sur deux), une transpiration abondante, des frissons, des saignements intestinaux et un épistaxis, des taches cutanées blanc rosées et surtout un état de torpeur «Tuphos » entrecoupé de périodes de rémission. L'issue peut être fatale. En cas d'issue favorable, la convalescence est longue de plusieurs semaines avec souvent un portage durable.

La classification actuelle, permet de reconnaître les salmonelloses humaines selon leurs sérotypes respectifs et de la susceptibilité des individus infectés, c'est ainsi que la physiopathologie des infections à *Salmonella*, permet de distinguer plusieurs tableaux cliniques.

Selon Carlier et coll.2001, l'infection qui débute par le tube digestif avec une action destructive de la bordure en brosse de la muqueuse intestinale est à l'origine des symptômes de toxi-infection alimentaire du nourrisson et de l'adulte; secondairement, l'extension du processus par la traversée de la barrière intestinale et diffusion lymphatique et sanguine, provoquent une septicémie pouvant être cliniquement évidente ou latente, révélée par des formes localisées extra digestives.

Ces formes sont classées comme suit par Carlier et coll. (2001):

2-1-1: Les formes septicémiques:

Ce sont des septicémies en très forte régression dans les pays développés (la plupart des cas observés surviennent chez des patients ayant séjourné dans des pays endémiques), du fait de l'amélioration des conditions d'hygiène mais surtout de la qualité des eaux de boisson et la généralisation des traitements des eaux usées.

Dans les pays sous développés, la situation reste préoccupante : Ces infections évoluent sous forme endémique et peuvent provoquer la mort chez les jeunes enfants, les nouveaux nés, les femmes enceintes, les vieillards et les immunodépressifs.

Les formes septicémiques sont en général dues à l'ingestion d'aliments pollués par des eaux usées contaminées par des souches de *Salmonella* Typhi, *Salmonella* paratyphi B, C et *Salmonella* Sendai. Le syndrome septicémique peut s'exprimer aussi chez les nouveaux nés et les jeunes enfants par d'autres sérotypes comme *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Panama et *Salmonella* Wien, avec une fièvre oscillante et élevée, des frissons, une tachycardie, la diarrhée, les douleurs abdominales, les vomissements et altération de l'état général.

La septicémie peut aussi avoir un aspect pseudo-typhoïdique avec fièvre constante à 39- 40 °C, céphalées, tymphos, des signes digestifs et un pouls dissocié.

La septicémie peut aussi passer totalement inaperçue, seul un pic thermique isolé peut être signalé.

2-1-2: Les formes extra digestives localisées:

Ce sont des formes considérées comme rares mais de plus en plus observées de nos jours, elles surviennent en général chez des individus immunodépressifs (cancers, greffes d'organes, corticothérapies à long cours, hémopathies malignes, V.I.H.) et succèdent à un épisode septicémique ou à une bactériémie, généralement discret voire inapparent (Gledel 1995).

Les formes les plus fréquentes sont pleuro-pulmonaires, uro-génitales et cardio-vasculaires, arrivent ensuite les atteintes ostéo-articulaires et les formes neuro-méningées, en particulier les méningites purulentes du nourrisson.

2-1-3: Les formes purement digestives:

Ce sont des gastro-entérites succédant généralement à une contamination massive, elles sont caractérisées par un syndrome digestif (diarrhée et vomissements), associé à des signes infectieux généraux et modérés; Ces manifestations gastro-intestinales sont de loin les épisodes les plus rencontrés chez les individus ayant un système immunitaire normal et sont plutôt communes à la plupart des affections à entérobactéries. L'involution se fait spontanément vers la guérison en quelques jours du moins chez l'adulte (Gledel 1995). Ces gastro-entérites sont classées en deux catégories:

2-1-3-1- Les gastro-entérites du nourrisson:

Elles s'expriment selon deux aspects:

- Des épidémies dans les collectivités tels les crèches ou les hôpitaux.
- des cas sporadiques isolés.

Elles touchent généralement des enfants dans leur première année et particulièrement entre le troisième et sixième mois. Elles sont provoquées par deux espèces bactériennes: *Escherichia Coli* entéro-pathogène et les salmonelles ubiquitaires. Elles s'expriment par des diarrhées, des vomissements, de la fièvre élevée et irrégulière, de la déshydratation avec atteinte des voies aériennes et atteintes neuro-méningées avec trouble du comportement.

Les sérotypes en cause sont variés suivant les régions géographiques; L'évolution est favorable si la prise en charge est précoce, les complications sont surtout la manifestation méningo-encéphalique et les surinfections.

2-1-3-2- Les Toxi-Infections alimentaires de l'adulte et de l'enfant:

Elles sont dues aux salmonelles ubiquitaires et se distinguent des précédentes par leur fréquence (en constante augmentation), par leur évolution (généralement favorable) et par leurs circonstances de survenue (liées aux denrées alimentaires).

Les toxi-infections salmonelliques se déclarent 12 à 24 heures après l'ingestion des aliments contaminés et se caractérisent par les symptômes suivants: Une diarrhée constante (10 à 15 selles par jour), fétide et liquide parfois muco-sanglante, les douleurs abdominales peuvent évoquer de façon trompeuse une urgence chirurgicale. La fièvre est fréquente souvent élevée à plus de 39 °C, accompagnée de frissons et de malaise général. La soif et l'anorexie signent une déshydratation inquiétante chez les vieillards ou les très jeunes enfants.

L'évolution est en règle générale spontanément favorable en trois à cinq jours sans aucun traitement antibiotique. Selon l'expression clinique on distingue:

- **Les formes atténuées:** maladies peu ou pas symptomatiques qui se limitent à quelques selles diarrhéiques mais d'intérêt épidémiologique car il y a excrétion de salmonelles dans les selles et donc possibilité de contamination de l'entourage.

- **Les formes très graves:** Elles sont pseudo-cholériques avec fréquence de selles et déshydratation secondaire. Elles peuvent être responsables d'une certaine mortalité (1 %) (Carlier et coll.2001), chez les jeunes enfants ou les vieillards.

-**Les formes trompeuses:** dites pseudo-chirurgicales, car elles sont sporadiques et en absence de données anamnésiques, elles présentent un tableau pseudo-appendiculaire avec défense abdominale fébrile nécessitant le recours à un chirurgien.

Ces toxi-infections alimentaires de l'adulte et des enfants surviennent selon deux modalités épidémiologiques:

Les cas groupés: Toxi-Infections Alimentaires Collectives: T.I.A.C.

C'est la survenue dans un espace de temps et d'espace groupé d'au moins deux cas de toxi-infections alimentaires ayant une symptomatologie similaire dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire.

Elles sont à déclaration obligatoire et conduisent à une enquête administrative sous l'égide de la direction de la santé et de la population et la direction des services vétérinaires, la déclaration est obligatoire pour tout médecin qui en a constaté l'existence ou pour le principal occupant, chef de famille ou d'établissement des locaux où se trouve le malade.

Les salmonelles ubiquitaires restent la cause principale des T.I.A.C., déclarées en France (au moins 3 fois sur 4) avec prédominance du sérotype *Salmonella* Enteritidis et une forte progression de *Salmonella* Typhimurium mais aussi *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Virchow, *Salmonella* Senftenberg et *Salmonella* Heidelberg. L'augmentation de *Salmonella* Typhimurium est d'autant plus préoccupante qu'il existe une progression de l'antibiorésistance de ce sérotype (Weil, 2006).

Les aliments les plus fréquemment en cause sont les oeufs et les ovoproduits, les viandes et les volailles. L'évolution des T.I.A.C. est généralement bénigne mais peut être grave aux âges extrêmes de la vie et nécessitent l'hospitalisation, parfois associée à une mortalité non négligeable (Carlier et coll. 2001).

Les cas sporadiques: Toxi-Infections Alimentaires sporadiques.

Elles sont très fréquentes, ainsi aux Etats Unis d'Amérique, leur nombre annuel est de 2 millions avec un nombre de morts estimé entre 500 et 2000 (0,05 à 0,10 %); Les aliments incriminés sont les oeufs, les poulets, la viande et d'autres aliments consommés crus (Swerlow et Atekruse, 1998).

En France, ils sont estimés entre 800 000 et 1 million entre juin et septembre 1997, même si seulement 7 % des cas sont confirmés par des isolements bactériens (Letrilliart et Flahault, 1998).

Les sérotypes dominants sont là aussi, *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis avec des pourcentages respectifs de 35 et 34 %, alors que *Salmonella* Hadar ne représente que 7 %. Il faut signaler que parmi les souches de *Salmonella* Typhimurium isolées en France, comme dans de nombreux pays de l'Europe de l'ouest, il existe une variété prédominante caractérisée par son sous type lysotypique: le type D.T.104 (Definitive Type 104), retrouvé pour plus de 70 % des souches de *Salmonella* Typhimurium isolées.

Cette souche est caractérisée par sa résistance étendue aux antibiotiques usuels, ce qui explique en partie le facteur de risque associé à la prise d'antibiotiques dans le mois précédant l'épisode de diarrhée infectieuse permettant l'implantation plus facile chez ces enfants ayant une flore digestive fragilisée et incapable d'établir une barrière efficace contre les salmonelles (Carlier et coll.2001).

2-1-4: Les porteurs de germes:

Les plus célèbres des porteurs de germes sont Marie Cholet et Mary Typhoïde, les histoires de deux dames, cuisinières de leurs états, respectivement à deux différents endroits (France et Etats Unis) et en temps différents (1913 et 1906), ont provoqué chacune des fièvres typhoïdiques mortelles par contamination des aliments. Les investigations les ont confondues grâce à la démonstration de leur portage respectivement par le professeur CHANTEMESSE et par SOPER (Carlier et coll. 2001).

Le portage asymptomatique peut résulter de plusieurs événements:

- La guérison d'épisode clinique est souvent suivie d'une excrétion pendant quelques semaines à toute la vie de l'individu si les germes colonisent l'endothélium des canaux biliaires et de la vésicule.

- L'ingestion de salmonelles à des doses insuffisantes pour provoquer un état pathologique, le portage est généralement assez bref (3 à 5 semaines) s'il y a colonisation de l'intestin sans épisode de dissémination systémique.

- Suite à des contacts répétés avec des sources de salmonelles : c'est juste un transit et pas vraiment un portage.

En cas de portage, l'excrétion des salmonelles dans les selles est intermittente et l'événement déclenchant peut être l'émotion, le stress, la fatigue, les traitements médicamenteux ou des maladies intercurrentes.

Selon Carlier et coll.2001, environ une personne sur 100 est porteuse saine de salmonelles dans la population générale, ce chiffre s'élève à plus d'une personne sur dix si elle travaille au contact de denrées alimentaires, sachant que les traitements antibiotiques n'ont aucune efficacité sur le portage, ils sont même déconseillés car ils peuvent contribuer à la sélection des souches multirésistantes.

La solution pour lutter contre les porteurs sains est l'application des mesures générales d'hygiène, à savoir hygiène corporelle et vestimentaire, nettoyage soigneux des mains, port de gants et masque bucco-nasal, information et éducation des manipulateurs et vérification d'efficacité de ces mesures à travers la validation de procédures d'assurance de la sécurité inspirés du système H.A.C.C.P. (Analyse des dangers, points critiques pour leur maîtrise).

2-2: Chez la volaille:

Chez la volaille comme chez l'homme, il existe des différences fondamentales dans les relations hôtes – bactéries, la salmonellose peut aller d'une maladie fatale à un portage sain (Bell et coll. 2002).

Les volailles sont en général des porteurs sains (Rostagno et coll. 2006), et l'incidence technico-économique du portage en poulet de chair semble être minime, en fait, c'est le rôle des salmonelles dans les toxi-infections alimentaires collectives qui explique leur importance dans la filière. En effet beaucoup de sérovars (plus de 156 selon ICMSF, 1996), isolés des poules et des canards aux Etats Unis sont largement la source la plus importante des contaminations alimentaires.

Certains sérovars particulièrement *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium, se sont avérés redoutables (ICMSF, 1996), ceci est expliqué par les méthodes de sélection très sévères qui diminuent la diversité génétique et favorisent ainsi la colonisation par quelques sérovars bien adaptés. De la même manière, l'intensification ou l'industrialisation des élevages semblent accentuer le phénomène.

Les salmonelles ubiquitaires peuvent engendrer des symptômes non spécifiques, donc similaires quelque soit le sérovar chez les volailles. Elles peuvent donner des septicémies chez les jeunes sujets ou alors des entérites banales chez les adultes (AIT ABDELOUHAB 2001).

En France, comme en Europe les enquêtes et les différents réseaux de surveillance soulignent en particulier l'important portage salmonellique chez l'animal et la prédominance, toutes espèces confondues, de *Salmonella* Typhimurium, S. Hadar, S.Enteritidis, S.Virchow, S.Indiana, S.Heidelberg et S.Infantis (CHEMALY et coll. 2006, GHAFIR 2006).

L'extension des salmonelloses ubiquitaires dans les élevages pourrait avoir été favorisée par le vide biologique consécutif à l'éradication de la pullorose et la typhose (Ganière et coll.2001).

Deux sérotypes de salmonelles sont adaptés aux volailles: *Salmonella* sérotype Gallinarum et *Salmonella* sérotype Pullorum et provoquent un syndrome pouvant ravager les élevages (ICMSF 1996), une maladie qui revêt un intérêt considérable et une importance économique pour les producteurs de volailles (NISBET 2001).

2-2-1: Symptômes:

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

La contamination des oeufs par les salmonelles peut mener à un niveau très élevé de mortalité embryonnaire et une mort rapide des poussins nouvellement éclos, avant l'observation de signes cliniques (Gast 2003). Les signes de la maladie sont rarement observés après les deux premières semaines de la vie.

La maladie clinique à sérotypes ubiquitaires n'est normalement pas associée aux volailles adultes mais certaines salmonelles par exemple *Salmonella* Enteritidis et *Salmonella* Typhimurium qui sont douées d'un pouvoir invasif et passent dans le système lymphoïde grâce aux macrophages, dans le foie et la rate puis dans le sang et envahissent les organes (ovaires et oviductes) peuvent être responsables de somnolence avec yeux clos, d'anorexie, de retards de croissance, de chutes de ponte, entérites, hépatites et parfois des malformations. Les animaux très affectés sont regroupés autour des sources de chaleur ; ils présentent une diarrhée liquide profuse. La mortalité est généralement faible mais peut atteindre 10 % des animaux malades (Humbert 1998; Carlier et coll.2001).

Dans la plupart des cas, les volailles sont des porteurs sains ou la maladie évolue sous forme chronique et les salmonelles sont excrétées de façon intermittente.

2-2-2: Lésions:

Chez les très jeunes poussins, il y a développement d'une septicémie rapide qui peut causer une très forte mortalité avec peu ou pas de lésions. Quand le cours de la maladie est plus long ou infection à certains sérotypes, on a parfois l'apparition de sévères entérites accompagnées de foyers nécrotiques de la muqueuse de l'intestin grêle. Les caecas, la rate et le foie sont congestionnés (foie bronzé après oxydation à l'air) et tuméfiés avec des suffusions hémorragiques ou des foyers nécrotiques. Les reins sont parfois tuméfiés et congestionnés. On peut également observer des péricardites, des omphalites, des lésions génitales dégénératives et des inflammations pulmonaires, des ovaires et des oviductes (Gast 2003).

3: Considérations épidémiologiques générales:

Les salmonelloses représentent chez l'homme, la source majeure des maladies d'origine alimentaire dans les pays développés, la volaille et les produits d'origine aviaire sont une cause importante de ces toxi-infections alimentaires (Bell et coll. 2002). Ces dernières sont dues aux salmonelles ubiquistes (n'ayant pas d'hôte particulier), les volailles sont surtout des porteurs sains, mais sont d'une importance considérable pour l'industrie vétérinaire et agro-alimentaire, aussi bien par la maladie qu'ils provoquent pouvant entraîner des pertes économiques considérables (Pullorose-Typhose), que par leur association avec les toxi-infections d'origine alimentaire chez l'homme.

D'autre part, les salmonelles sont universellement répandues géographiquement et chez toutes les espèces animales; elles ont aussi une formidable capacité de résistance aux antibiotiques, amplifiée par la transmission de résistance par des plasmides. C'est ainsi que différents auteurs parlent de colonisation intestinale très fréquente, particulièrement chez la volaille, mais il reste hasardeux de parler de prévalences précise en raison des variations des résultats selon la région, le plan d'échantillonnage et la méthode d'analyse (Anonyme, 2002c).

3-1: Fréquence des cas chez les humains:

Il est très difficile d'obtenir une estimation précise de proportion de cas humains attribués à la volaille, car un cas donné peut être attribué à n'importe quelle source à la maison, y compris les animaux, alors que le patient a tendance à associer la maladie avec les aliments récemment consommés. Néanmoins l'estimation peut varier de 7,5 à 37 %, selon la méthode utilisée (Nisbet et coll. 2001).

En Europe en 2005, un total de 176 395 cas de salmonelloses humaines ont été rapportés dans les pays de l'union européenne, l'incidence est de 38,2 cas de salmonellose par 100 000 personnes (4,4 à 321,5 cas par 100 000 personnes). Le plus grand nombre de cas concerne le groupe d'âge 0-4 ans, représentant 21 % de l'ensemble des cas, suivi par le groupe 5-14 ans et 25-44 ans représentant 15 % de l'ensemble des cas. Sept états membres de l'union européenne ont vu leur incidence augmenter de 9,5 % comparativement à 2004, parmi eux l'Allemagne enregistre une augmentation de 30 % (Anonyme 2006a).

Selon Van Immerseel et coll. (2005), il y aurait eu 145 000 cas de salmonellose en 2002, (en Europe des 15), ce qui représente un recul important, comparé aux 200 000 cas de 1997. De la même manière que chez la volaille et sur les carcasses, les pays du sud semblent être plus exposés et notent des augmentations, alors que la France et le Royaume Uni notent une diminution. Les pays scandinaves eux aussi notent une légère augmentation qui serait expliquée par l'augmentation des voyageurs revenant avec des salmonelloses des pays du sud ou des pays en voie de développement.

70 % des cas européens seraient dus à *S. Enteritidis*, (dont 32,1 % de PT 4), 17 % à *S. Typhimurium*;

S. Enteritidis semble être facilement transmissible à l'homme et responsable de symptômes sévères (Van Immerseel et coll. 2005).

Selon de Jong et Ekdahl (2006) pour une étude réalisée entre 1997 et 2003, sur des voyageurs suédois de retour de pays d'europe, 15. 864 cas de salmonelloses ont été associés à leur voyage. L'étude a permis d'estimer que le plus lourd fardeau est porté par la Bulgarie (2741 cas pour 100.000 voyageurs), suivie de la Turquie avec 2344 cas pour 100.000 voyageurs et Malte avec 2141 cas pour 100.000 voyageurs. *S. Enteritidis* était le sérotype dominant avec 66,9 % de tous les cas.

L'étude a permis aussi de démontrer qu'on pouvait utiliser les touristes de retour de vacances comme population sentinelle pour la prévention des salmonelloses et que la prévention devait s'orienter sur les œufs et la volaille associés aux infections à *S. Enteritidis* qui va avoir un impact majeur sur la santé publique (de Jong et Ekdahl, 2006).

Une étude conjointe de la FAO et de l'OMS a permis d'estimer les risques de maladie en fonction de la prévalence: Pour une prévalence de 20 % de carcasses contaminées à la sortie de l'atelier de transformation, le nombre de malades estimé est de 29,26 cas de salmonelloses pour 100 000 consommateurs exposés. Il est aussi estimé qu'une réduction de 50 % du taux de contamination d'oiseaux infectés sortant de la transformation par des pratiques de gestion, réduirait au moins proportionnellement le risque de maladie; En effet si la prévalence passe de 20 à 10 % chez le détaillant, le nombre de malades ou de cas de salmonelloses est réduit de 50 % (Anonyme 2002).

En France, 559 foyers de TIAC ont été déclarées en 2001, il a été remarqué que depuis 1998, le nombre de TIAC déclarées a diminué de 15 %. L'agent le plus fréquemment isolé est dans 64 % des cas *Salmonella*, dont *Salmonella* Enteritidis (52 %), que le taux d'hospitalisation est de 10 % et trois décès chez des personnes âgées. 58 % des TIAC à salmonelles sont survenus en milieu familial et 20 % en restauration collective.

Pour les TIAC à salmonelles, les aliments incriminés sont toujours les oeufs et les ovoproduits, laits et produits laitiers, les viandes et la volaille. Alors que les facteurs ayant contribué à l'incident restent par ordre décroissant: Les contaminations par l'environnement, contamination des matières premières, non respect de la chaîne du froid ou du chaud, erreurs dans le processus de préparation et délai trop important entre préparation et consommation (Haeghebaert et coll. 2002a).

Selon les estimations de l'INVS (Institut National de Veille Sanitaire), il y aurait entre 51 000 et 82 000 cas de maladies infectieuses d'origine alimentaire, où 31 000 à 41 000 cas seraient dus à des salmonelles avec 90 à 540 décès, sachant que Wheeler,1999, cité par Augustin 2006, déclare qu'il y a toujours une sous déclaration, ainsi pour un cas détecté, il estime qu'il y a 136 cas réels.

Même si les TIAC montrent un recul comparativement à 1997 et 1998, elles continuent à provoquer de 239 000 à 269 000 cas par an avec 10 000 à 18 000 hospitalisations par an et 230 à 700 décès par an où les salmonelles sont mises en cause dans plus de 60 % des cas (Augustin,J.C. 2006).

En 2005, Weill 2006, rapporte que depuis 1988, le centre national de référence des salmonelles d'origine humaine de l'institut Pasteur à Paris, a toujours enregistré plus de 10 000 souches annuellement avec l'observation d'un pic avoisinant les 20 000 souches en 1997 et un nombre de 11439 souches en 2005, les sérotypes les plus fréquents restent plus ou moins stables avec *S. Enteritidis* (4144 souches en 2003, 3897 souches en 2004 et 3638 en 2005), il est détrôné ainsi par *S. Typhimurium* de la première place (3222 souches en 2003, 3635 en 2004 et 3992 en 2005), *S.Agona*, *Infantis* et *S.Virchow* (très fréquents chez la volaille), *S. Hadar*, etc... Ce dernier est semble t-il très fréquent en Afrique de l'ouest et Afrique du nord et en nette régression en France. Il rapporte également que le nombre de cas groupés de salmonelloses signalés au C.N.R. (Centre National de Référence) est de 382 foyers en 2003 (193 à *S. Enteritidis* et 93 à *S. Typhimurium*), 317 foyers en 2004 (163 à *S.Enteritidis* et 79 à *S.Typhimurium*) et 311 foyers en 2005 (104 à *S.Enteritidis* et 124 à *S.Typhimurium*).

En France, les viandes de volailles sont suspectées dans 16 % des foyers de salmonellose documentés survenus en 1997 (Bornert 2000).

En Belgique, en 2003, *S. Enteritidis* est toujours le sérotype le plus fréquent (71,7 %) des souches isolées, (dont 34,1 % sont du lysotype 21, contre 27,6 % du lysotype 4), suivi de *S.Typhimurium* (19,5 %) (Van Immerseel et coll. 2005).

Aux Etats Unis, il est enregistré 1,4 millions de cas de salmonelloses par an dont 35 000 cas sont confirmés par des isolations et sérotypages par les laboratoires (Brenner et col. 2000).

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

Encore aux Etats Unis, une étude de la période 1996 à 1999, montra que les salmonelles (11 225 isolats, 33 %) sont les plus fréquemment isolés après les *campylobacters* (15181, 44 %) de

l'ensemble des pathogènes bactériens déclarés. Les salmonelles ont causé 9905 hospitalisations et se sont avérées impliquées dans 38 % des 153 cas de décès associés à différents pathogènes. 47 % des hospitalisations concernaient des personnes de plus de 60 ans et 26 % entre 50 et 59 ans et enfin 25 % d'enfants. Le sérotype le plus isolé parmi les patients isolés est *S.Typhimurium* (31 %), *S. Enteritidis* (13 %), des taux sensiblement similaires à ceux concernant les malades et à ceux ayant décédé (Kennedy et coll.2004).

Toujours aux Etats Unis, 40 000 cas humains de salmonellose non typhique sont déclarés chaque année. Le chiffre réel estimé par le CDC-Atlanta (*Center for Disease Control and Prevention*) serait de 1,4 millions de cas par an (Mead et col. 1999), alors que l'impact économique est estimé entre 500 millions et 2300 millions de dollars, couvrant les frais de 16 000 hospitalisations et 500 décès (Kennedy, 2004). Les sérotypes les plus fréquents sont *S. Enteritidis* (24,7 %) et *S. Typhimurium* (23,5 %).

Selon l'OMS, les sérotypes les plus fréquents chez les humains et à travers le monde seraient globalement *S.Enteritidis* et *S.Typhimurium*; En Afrique c'est plutôt *S.Typhimurium* qui est le plus fréquent avec 31 % de tous les sérotypes isolés, suivi de *S.Enteritidis* (19 %), *S.Isangui* (10 %), *S.Livingstone* (8 %) et *S.Corvalis* (5 %), etc...(Anonyme 2006b)

Les volailles sont rarement consommées crues, mais les contaminations croisées, les cuissons hétérogènes et les recontaminations après cuisson peuvent être fréquentes. Les approches quantitatives, indiquent que dans la plus part des cas, une double faute est nécessaire pour qu'apparaisse un accident consommateur : Contamination initiale et multiplication (Carlier 2001).

En Algérie et particulièrement à Constantine, une étude prospective entreprise en 1986 a permis d'isoler 185 souches de salmonelles mineures chez 2000 enfants de 0 à 1 an révolu, présentant une diarrhée et résidant à Constantine. Les sérotypes les plus fréquents étaient *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Wien* et *S. Typhimurium* (Zoughailech, 1986).

3-2: Chez la volaille:

L'existence d'un fort taux d'infection salmonellique des animaux est un phénomène largement décrit en aviculture (voir tableau V).

En Europe, la Commission européenne organise la lutte contre les salmonelles et fixe chaque année des objectifs de prévalence aux différents états membres, l'enquête sur la prévalence des salmonelles dans les élevages de poulet de chair, trois semaines avant leur abattage, menée d'octobre 2005 à septembre 2006 par l'*European Food Safety Authority* (EFSA), montre que la prévalence moyenne de *Salmonella spp.* s'élève à 23,7 %. Mais les taux varient considérablement selon les états membres. Ainsi, alors que la prévalence est nulle en Suède, elle s'élève à un maximum de 68,2 % en Hongrie. Des pourcentages importants sont également notés en Pologne (58,2 %), au Portugal (43,5 %), en Espagne (41,2 %), Grèce (17,3 %), Tchéquie (16,1 %). La France présente une prévalence de 6,2 %. L'enquête fait apparaître qu'un élevage sur quatre en moyenne est contaminé par au moins une salmonelle. Les sérovars les plus souvent retrouvés dans les élevages positifs sont *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Mbandaka* et *S. Hadar* (Devos, 2007).

Dans une autre étude au niveau de tous les états membres de l'Union européenne, *Salmonella* est signalée en 2005 chez des espèces animales variées. Cependant les isolements les plus fréquents proviennent des volailles (Anonyme 2006a).

En effet, le programme de contrôle obligatoire des salmonelles en élevages de volailles (*Gallus gallus*), assure des données relativement comparables à l'intérieur de la communauté européenne. Environ 5 % des parentaux d'élevages de poulets de chair sont trouvés infectés de salmonelles en 2005. La prévalence observée chez le poulet de chair est comprise entre 0 % et 18 % (Anonyme 2006a). Ces chiffres sont obtenus par différents programmes d'études et de surveillance et reflètent donc les différences entre les schémas d'échantillonnage et de prélèvements utilisés et démontrent l'utilité d'une harmonisation des protocoles pour comparer les résultats d'un pays à un autre (Anonyme 2003, Anonyme 2006a).

Dans un article de synthèse, Van Immerseel et coll. (2005), rapportent que les taux de contaminations des élevages et abattoirs restent toujours très élevés en Europe, particulièrement en Europe du sud (Grèce, Espagne et Italie), alors que les pays scandinaves rapportent des taux très bas. *S. Enteritidis* est le sérotype le plus fréquent dans le secteur avicole, mais différents sérotypes sont isolés chez le poulet de chair. Il semble que *S. Enteritidis* ait une affinité pour le tractus génital de la volaille d'où contamination des œufs (Humphrey, 1999 ; Saeed et al. 1999).

En 2002, des chiffres communiqués par la commission européenne (Van Immerseel et coll. 2005) indiquent que les exploitations de reproduction ou d'accouaison présentent des contaminations assez basses en Europe occidentale (moins de 3 % et proche de 0 % en Scandinavie); Dans le sud de l'Europe (Grèce, Espagne, Italie), la contamination va de 7 % à 10 %. Les sérotypes les plus isolés sont : *S. Enteritidis* (42%), *S. Mbandaka* (8,8%), *S. Livingstone* (6,4%), *S. Typhimurium* (4,5%) et *S. Senftenberg* (3%).

En élevages de poulet de chair, la prévalence varie de 1 % à 11 %, et toujours des taux très bas en Scandinavie et plus importants dans les pays du sud (Grèce, Espagne et Italie).

Van Immerseel et coll. 2005, rapportent que les dernières années, deux phénomènes ont émergé: La résistance des salmonelles à de multiples antibiotiques, c'est l'exemple de *S. Typhimurium* DT 104, et l'émergence du sérotype *S. Enteritidis*, comme pathogène lié à la volaille et particulièrement aux dans les oeufs.

En France, les volailles sont reconnues être la troisième cause de T.I.A.C à salmonelles après les oeufs et les ovoproduits d'une part et les viandes d'autre part.

Au premier trimestre 2003, le réseau *Salmonella*, de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments qui s'occupe des salmonelles animales a recensé 3317 souches, il a été observé une diminution importante du nombre de souches par rapport au quatrième trimestre 2002, particulièrement pour les souches isolées du secteur «santé et production animale». Les souches les plus fréquemment isolées sont *Salmonella* Typhimurium (468) dont 108 des volailles, *Salmonella* Indiana (435) dont 69 des volailles, *Salmonella* Senftenberg (338) dont 92 des volailles, *Salmonella* Enteritidis (204) dont 30 des volailles (Moury 2005).

En 2004, le même réseau *Salmonella* signale qu'en dépit des mesures de surveillance et de contrôle, les *Salmonella* sont encore la première cause de toxi-infections alimentaires. Sur un ensemble de 14235 souches inventoriées durant l'année 2004, 74 % des souches proviennent du secteur de la santé animale, 24 % du secteur de l'hygiène des *aliments* et 2 % de l'environnement.

Les sérotypes les plus fréquemment isolés sont *Salmonella* Typhimurium, soit 1983 souches et surtout 1665 provenant des volailles, suivi de *Salmonella* Senftenberg, soit 1953 souches provenant toutes de la volaille puis *Salmonella* Indiana avec 1642 souches dont 1634 provenaient de la volaille, suivent dans l'ordre *Salmonella* Kottbus (807 souches), *Salmonella* Enteritidis (503) et ainsi de suite mais toujours une provenance très importante des volailles (Moury 2005).

En 2005, le réseau *Salmonella* a répertorié 12 835 souches et résultats de sérotypage transmis surtout des régions ouest de la France, qui sont également les grands bassins d'élevages de porcs et de volailles. 73 % de ces données provenaient d'animaux malades ou porteurs et de leur environnement; 25 % des données provenaient des carcasses ou aliments destinés à l'homme ou de l'environnement des abattoirs et ateliers de fabrication et enfin 2 % provenaient de l'écosystème naturel. Le sérotype Typhimurium est le plus fréquent, suivi de Senftenberg, Indiana, Kottbus, Enteritidis, Saintpaul, Hadar et Virchow. Certains sérotypes sont fortement liés à la volaille et produits dérivés de volaille, comme Indiana, Kottbus, Brandenburg et Livingstone. Il est remarqué aussi une légère augmentation comparativement à 2004, des sérotypes Typhimurium et Enteritidis, souvent impliqués dans les toxi-infections alimentaires (Moury 2006).

En 2006, une enquête communautaire sur la prévalence de *Salmonella* en filière avicoles, a montré une prévalence de 9 % en élevage de poulet de chair (5 stérilisations, en dernière semaine d'élevage et portant sur 390 élevages), les sérotypes les plus fréquents sont S.Hadar et S.Infantis, qui représentent à eux deux plus de 40 % des sérotypes isolés, suivis de S.Virchow (Chemaly 2006),

alors que *S.Typhimurium* (0,3 %) et *S.Enteritidis* (0,6 %), semblent reculer comparativement aux résultats de 2005 (Moury 2006).

En Algérie, Les médias ne cessent de rapporter des épidémies qui surviennent à travers le territoire: Annaba, Eltarf, Skikda, Setif, Sidi belabes, Oran et Blida. C'est le cas du Quotidien d'Oran du 19.01.2006, p:32 où 30.000 poussins sont détruits à Sidi Bel-Abbès et des dégâts estimés à plusieurs millions de dinars; Elkhobar du 08.04.2004, p:5 où 50.000 poussins (en 2 endroits différents de la wilaya d'Oran) et 7.000 poulettes de la wilaya d'Annaba, sont détruits, tout en précisant que c'est *Salmonella* Enteritidis qui est en cause.

Les bulletins sanitaires vétérinaires trimestriels et annuels, édités par la direction des services vétérinaires, du ministère de l'agriculture et du développement rural, signalent de leur côté et de manière très régulière des foyers nombreux et dispersés sur les différentes wilayas du pays:

En 2002, le bulletin annuel a signalé une sensible augmentation du nombre de foyers surtout à *Salmonella* Pullurum Gallinarum (42 foyers), comparativement à l'année 2001, de même pour les autres types de Salmonelloses, notamment à *Salmonella* Enteritidis et ceci à travers toutes les régions du territoire national en dépit du renforcement de la réglementation en la matière (Anonyme, 2002a).

En 2003, ce dernier bulletin, révèle une baisse sensible du nombre de foyers à *Salmonella* Pullurum Gallinarum (soit 25 foyers contre 42), mais aussi 4 foyers à *Salmonella* Enteritidis, et 20 foyers d'autres salmonelloses, particulièrement dans les régions du nord du pays dont 2 foyers à *Salmonella* Ohio à Sidi Bel Abbes sur des poulettes démarrées et un autre à *Salmonella* Newport à Médéa sur un élevage de poulet de chair (Anonyme, 2003b).

En 2004, le même bulletin a constaté une certaine amélioration en matière de salmonelloses à *Salmonella* Pullurum Gallinarum. En effet, seuls 19 foyers ont été enregistrés contre 25 déclarés en 2003. Par ailleurs, une augmentation de foyers à *Salmonella* Enteritidis a été relevée, soit 19 foyers contre 4 foyers l'année précédente mais aussi 18 foyers de salmonelloses dues à d'autres sérotypes non précisés.

Toujours en 2004, le bulletin sanitaire vétérinaire trimestriel de la direction des services vétérinaires, signale trois foyers de salmonelloses à *Salmonella* Pullurum Gallinarum sur des élevages de poulet de chair repartis sur les wilayas de Jijel, Constantine et Mila. Par ailleurs, deux foyers de salmonellose à *Salmonella* Enteritidis ont été recensés à Oran sur des poussins ponte et chair, il a été aussi signalé un foyer à *Salmonella* Ohio sur un élevage de poussin ponte dans la même wilaya (Anonyme, 2004).

En 2005, le même bulletin rapporte que les salmonelloses continuent à sévir dans notre pays sous forme enzotique et signale 21 foyers à *Salmonella* Enteritidis, contre 19 recensés en 2004, répartis au niveau des wilayas de l'Est et l'Ouest du pays (Anonyme 2005).

En 2006, 26 foyers sont signalés, concernant particulièrement *Salmonella* Enteritidis, mais aussi *Salmonella* Typhimurium, répartis sur différentes régions du nord du pays et touchant des poussins de chair, des poulettes démarrées, poules pondeuses et poulet de chair (Anonyme 2006c).

Aboun et coll.(2003), à l'institut Pasteur d'Alger, pour une étude de 1998 à 2002 portant sur 1759 lots de prélèvements, soit 51826 échantillons, provenant des secteurs étatiques et privés et des 3 régions du pays (centre, est et ouest) a permis l'isolement de 232 souches durant les 5 années, dont 112 souches (48,28 %) de *S.Enteritidis*, 27 souches (11,64 %) de *S.Virchow*, 26 souches (11,21 %) de *S.Pullorum-Gallinarum*, 14 souches (6,03 %) de *S.Hadar* et *S.Livingstone*, 5 souches (2,15 %) de *S.Dublin*, 4 souches (1,72 %) de *S.Typhimurium*, *S.Heidelberg*, *S.Isangui*, *S.Brunei* et 3 souches (1,29 %) de *S.Senfenberg*, *S.Montevideo*, *S.Brunei*, *S.Newport* et d'autres sérotypes à des pourcentages inférieurs à 1 %.

Ces résultats sont obtenus sur des prélèvements de diverses natures organes de volailles (foie, rate, coeur, grappe ovarienne, intestins, poumons), oeufs, aliments, éclosiers, litières et fientes, des différentes régions du pays, et de différents types de productions aviaires (reproducteurs chair et ponte, poulet de chair, pondeuses, poussins et oeufs). La méthode de recherche consistait en un enrichissement sur bouillon sélénite-cystéine ou par re-vivification pendant 24 h sur bouillon

lactose mannitol tamponné, puis enrichissement sur bouillon sélénite-cystéine pour les échantillons d'aliments. L'isolement est réalisé sur gélose Hektoen, ou gélose S-S (shigelle-salmonelle). L'identification biochimique est faite grâce aux galeries classiques et le sérotypage selon le schéma de Kauffmann-White.

Les antibiogrammes, ont montré que la résistance concerne surtout *S. Enteritidis* et à un degré moindre *S. Pullorum-Gallinarum*, *S. Hadar*, *S. Dublin*, *S. Virchow* et *S. Senftenberg*. Cette résistance s'exprime surtout vis à vis des quinolones (Ac.nalidixique, Ac.oxolinique, Fluméquine, Pefloxacin/Ofloxacin et Ciprofloxacine), excepté l'enrofloxacin, et vis à vis de la Nitrofurantoïne de la famille des Furanes.

Beaucoup de sérotypes présentent aussi des résistances à l'ampicilline, à certains aminosides: streptomycine et néomycine, et aux tétracyclines et sulfamides.

Boudilmi et coll. (1997) rapportent dans une étude rétrospective sur 9 ans (1988-1996) dans la région Ouest de l'Algérie, où les prélèvements ont été effectués sur des animaux en majorité *Gallus gallus*, poussins ou adultes; Le foie, la rate et les intestins font l'objet d'un examen bactériologique par mise en culture en milieu d'enrichissement: bouillon nutritif au tetrathionate et au vert brillant, suivi d'un transfert sur gélose S.S. (*salmonella-shigella*) ou gélose Hektoen et enfin une identification morphologique, biochimique et sérotypique. 173 souches ont été isolées.

S. Gallinarum-Pullorum représente près de 54 % (93 souches dont 3 sur des lots de volaille importées de Hongrie). *S. Enteritidis* constitue un peu plus de 12 % (21 souches, dont 2 sur des lots importés de Hongrie, 2 d'Espagne et 1 de France). *S. Arizonae* a été isolée 9 fois (5,2 %). Pour les autres sérotypes, *S. Typhimurium* (5 souches), *S. Virchow* (4 souches), *S. Heidelberg* (3 souches), *S. Blockley*, *S. Infantis*, *S. Montevideo* (1 souche) et 34 souches (20%) n'ont pas pu être typées par manque de réactifs monovalents.

Benelmouffok (1997), cité par Aboun et coll.(2003), durant la période 1988-1997, rapporte que la fréquence d'isolement de *S. Gallinarum-Pullorum* était de 18,94 %, suivie de *S. Enteritidis* (11,57 %), *S. Newport* (12,63 %), *S. Montevideo* (10,52 %), *S. Dublin* (7,63 %), etc.....

Au Maroc, Maaroufi et coll., cité par Aboun et coll. (2003), pour la période de 1994 à 1998, ont isolé 179 souches, dont 105 souches de *S. Enteritidis* (59 %) et 11 souches (6 %) de *S. Pullorum-Gallinarum* et d'autres souches non complètement sérotypées.

Au Ghana, Sackey et coll.2001, ont isolé 7/97 (7,2 %) salmonelles du contenu intestinal de poulets vivants à la ferme et 13/87 (6,8 %) souches, des carcasses de poulet en morceaux.

Toutes les salmonelles étaient résistantes à plusieurs antibiotiques et particulièrement à l'erythromycine.

Globalement, il apparaît que la prévalence des élevages de poulet de chair est très variable d'un pays à un autre. En revanche, il faut reconnaître que différentes méthodes de prélèvement sont utilisées dans les différentes études; La comparaison de ces données doit donc être effectuée avec précaution. Les informations sur la prévalence à l'intérieur des élevages de poulet de chair sont très limitées, au contraire de la prévalence des troupeaux qui est très utilisée; Cette dernière est définie comme la proportion de troupeaux ou bandes contenant un poulet ou plus infecté de *Salmonella*. On notera qu'on doit prendre en compte, le nombre et les méthodes de prélèvements utilisées mais aussi les pratiques de production, si l'on doit comparer les prévalences. Le tableau n° 5 présente les prévalences d'un certain nombre de pays, recueillies en général par un appel de la commission européenne en 1998, où l'on remarque des variations très importantes du nombre de prélèvements, du nombre d'élevages et du type de prélèvement (Anonyme 2002, Anonyme 2006a).

Pays et année d'étude	Type de prélèvement	Nombre d'élevages testés	% d'élevages positifs	référence
Australie				
1984	Caeca	7	86	Soerjadi* et
coll.1984				
1984	-	13	46	Soerjadi* et
coll.1984				
Autriche				
1998	Cloaque	5029	3,4	C. E* 1998
2005	-	6021	3,3	Anonyme 2006a
Belgique				
1998	Feces	122	36,1	C.E.* 1998
2005	-	14768	3,4	Anonyme 2006a
Danemark				
1998	Stéribottes	4166	6,5	C.E.* 1998
2005	-	4083	2,1	Anonyme 2006a
France				
1986	Murs, abreuvoirs	180	53,3	Lahellec* et
coll.1999				
2006	litière, aliment			
coll.2006	Stéribottes	390	9,0	Chemaly et
Allemagne				
1999	-	58	12,0	Hartung*, 1999
2005	-	1521	18,1	Anonyme 2006a
Italie				
1998	-	1093	3,1	C.E.* 1998
2005	-	57	0	Anonyme 2006a
Japon				
1995-96	Feces	35	57,1	Murakami*et
coll.2001				
Hollande				
1998	-	192	31,8	C.E.* 1998
1998	Caeca	181	27,0	Jacobs-Reitsma*1998
2005	-	58635	2,8	Anonyme 2006a
Suède				
1998	Feces	2935	0,03	C.E.* 1998
2005	-	2368	0	Anonyme 2006a
Royaume-Uni				
1999	Litière	3073	18,5	Anon, 1999
Danemark, Japon	-	5067	5,0- 27	D'Aoust* 2000
Suisse et Hollande				
Sénégal	Fientes	70	28,6	Cardinale et coll.2004
2000-2001				

- : Non recueilli. * : cités par Anonyme, 2002.

Tableau n° 5: Données de prévalence en salmonelles des élevages de poulet de chair.

3-3: Sur les carcasses de poulet:

Les salmonelles sont sur la peau, les plumes et dans les fientes d'une petite proportion des poulets de chair au moment de l'abattage, mais les conditions à l'abattoir tendent à permettre l'augmentation de ces bactéries parmi les carcasses, d'où des degrés de contaminations relativement élevés (Bell et coll. 2002). L'estimation varie autour de 21 % aux Etats Unis d'Amérique. Dans le même pays, une étude menée à l'abattoir sur 800 échantillons, ont montré que 77 % des carcasses étaient contaminées au poste de coupe automatique des pattes et que 58 % sont contaminées au poste de pré-éviscération (Nisbet et coll.2001).

Les volailles contaminées au cours de l'élevage sont une source très importante de dissémination des salmonelles, au cours des différentes étapes de leur préparation et de leur transformation.

Ainsi, la prévalence des carcasses contaminées est toujours plus élevée que celle des poulets vivants. La contamination horizontale des carcasses se faisant sur toute la ligne de transformation depuis le transport jusqu'à l'éviscération, l'échaudage et le refroidissement (Bell 2002).

En filière volaille, une fois un lot contaminé est introduit dans l'abattoir, il est très difficile d'empêcher la contamination des autres animaux à cause du niveau élevé de contamination à travers tous les équipements (Bell 2002).

En 2005, les états membres de l'Union Européenne ont signalé des isolements positifs entre 0 % et 18 % des échantillons de poulets de chair testés. Comme en 2004, les plus bas niveaux d'échantillons positifs en *Salmonella* chez la volaille sont rapportés par les pays nordiques (Anonyme, 2006a). Bien que quelques pays obtiennent de très bas niveaux d'incidence, notamment en suède, où l'incidence est inférieure à 1 %, la majorité des autres pays développés signalent une incidence variant de moins 10 % à 100 %, même si les méthodes de prélèvements ne sont pas toujours comparables et varient de 25 g de peau, à de la peau avec muscles et à l'eau de rinçage de toute la carcasse (Bell 2002).

En Belgique, une étude menée de 1993 à 1996 dans les abattoirs de poulets révèle un taux de contamination superficielle des carcasses variant de 17,6 % à 27,2 %, tandis que 34,6 % à 49,0 % des produits de découpe sont porteurs de salmonelles (Bornert 2000).

En 2002, une étude de l'union européenne, rapporte des prévalences de contamination sur les carcasses à l'abattoir, variables selon les pays, c'est ainsi qu'on a 17,4 % en Autriche, 14,9 % en Espagne, 12,2 % en Belgique, 8,8 % en Hollande, 14,2 % en Grèce, 13,6 % en Italie et 8,5 % au Portugal (Anonyme 2003).

Selon D'aoust, 2000, cité par un comité d'experts européens (Anonyme 2003), la contamination sur les carcasses serait de 10 à 55 %, suite à un travail de 15445 prélèvements, dont 10 études à Cuba et 2 études pour le Danemark, les Etats Unis, l'Italie, le Japon et le Portugal.

L'Organisation Mondiale de la Santé, avait particulièrement signalé un certain nombre de cas de salmonelloses qui ont été attribués à l'ingestion de viandes de volaille insuffisamment cuites dans différents pays (USA, Grande Bretagne, Pays Bas, Danemark). La demande croissante de viande de volaille ainsi que les profits faibles de l'industrie avicole ont entraîné l'utilisation de méthodes intensives d'élevage à faible coût, rentables et on a négligé la contamination des carcasses par des organismes pathogènes (Anonyme, 2006a).

En Tunisie, Guellouz (1997) pour la période de 1992 à 1996, a isolé 239 souches de salmonelles de viande rouge et de viande de volaille de la ville de Tunis, dont 109 souches provenaient de la viande de volaille, le sérotype le plus fréquent est S.Corvallis (49/109), S.Zanzibar(12/109), S.Anatum(11/109), S.Enteritidis(11/109), S.Agona, S.Typhimurium, S.Infantis, etc. S.Corvalis et S.Enteritidis sont les plus isolées chez la volaille.

La résistance à la streptomycine est de l'ordre de 13,8 % et elle est toujours associée à celle d'un autre antibiotique.

La résistance au sulfaméthoxazole-triméthoprim est de l'ordre de 11,4 % et atteint 20 % pour les souches isolées chez la volaille et concerne 33,3 % des souches de S.Corvalis.

La résistance aux furanes et fluméquine est plus fréquente chez les souches issues de volailles et signale qu'aucune souche n'est résistante à la colistine et à l'imipenem.

Les prévalences en salmonelles pour certains pays sont réunies dans le tableau n° 6, pour remarquer les disparités d'un pays à un autre, d'où l'intérêt d'homogénéiser les protocoles de prélèvements et d'analyses.

Pays et année d'étude	Type de prélèvement	Nombre de prélèvements	% de positifs	Référence
Argentine coll.2002	Ecouvillonnage de	96	31,3	Trissoto* et
1990	Surface de carcasse			
1998	Rinçage de carcasse	39	15,4	FAO/WHO*
Autriche 1998	Prélèvements de peau	1207	22,2	C.E.* 1998
Belgique 1998	-	127	28,4	C.E.*1998
2005	-	228	5,7	Anonyme 2006a
Bresil coll.2000 2000	25g de chair et de peau	60	42,0	Fuzihara* et
Danemark 1998	Peau du cou	4985	11,1	C.E.*1998
2005	-	1174	2,3	Anonyme 2006a
Hollande 1998	Peau du cou	-	41- 50	C.E. 1998
Portugal coll.1990	Ecouvillons de surface et cavités abdominales	300	57	Machado et
Espagne 2005	-	203	13,8	Anonyme, 2006a
Etats Unis 1996	Rinçage de carcasse	1297	20	USDA-FSIS* 1996
Suede 2005	-	3506	0	Anonyme, 2006a

- : Non recueilli. * : Cités par Anonyme, 2002.

Tableau n° 6: Prévalences en salmonelles des portions et carcasses finies de poulet de chair.

4- Sources et transmission:

4- 1 Sources de contamination: (voir figure n° 1)

La source principale est bien sûr l'animal malade ou porteur qui excrète les bactéries, que ce soit en couvoir, en élevage ou en abattoir, qui propage le germe par les excréments ou par les oeufs infectés.

La contamination de l'environnement par les salmonelles est une évidence; Ces germes peuvent être retrouvés à peu près partout: déjections animales, sols, les points d'eau, effluents, animaux sauvages, et domestiques, flore sauvage etc...Il suffit de les chercher pour les mettre en évidence.

4- 1-1: Au niveau des couvoirs:

Des transmissions horizontales entre poussins à l'éclosoir peuvent se produire. Dans une même salle où il y a plusieurs éclosoirs, une salmonelle invasive telle *S.Enteritidis* peut essaimer par l'intermédiaire des poussières en général et du duvet, dans différents éclosoirs, à partir d'un seul point de départ.

Les couvoirs dont les conditions hygiéniques sont défectueuses peuvent être des réservoirs pour certaines souches (Gradel et coll.2003).

Les œufs infectés, provenant de porteurs, perpétuent le cycle animal- animal, lors de l'éclosion, grâce aux coquilles, duvet et déjections, mais aussi par la voie respiratoire en inhalant la poussière (Acha Pedro et coll. 1989; Van Immerseel et coll. 2005).

Les caisses de livraison en plastique, de plus en plus utilisées, augmentent le risque d'inter-contaminations quand elles sont mal désinfectées entre deux livraisons de poussins (Riggi 1999; Villate 2001; Van Immerseel et coll.2005).

4- 1-2: Au niveau des élevages:

- **L'environnement:** Toute contamination résiduelle d'un bâtiment avant la mise en place des poussins constitue une source très importante de salmonelles (Liebana et coll.2003).

L'épandage de fumier contaminé sur les pâtures présente un double risque: Celui de la contamination des cours d'eau et celui de la contamination directe des animaux placés sur cette parcelle (Villate 2001).

- Les poussins eux même:

- La qualité des poussins: s'ils sont issus de jeunes reproducteurs, de petite taille ou fragiles.
- La mise en place d'un traitement antibiotique au démarrage qui peut ralentir la maturité de la flore digestive du poussin.
- Stress au démarrage.
- Maladies intercurrentes.

- Le transport:

Le stress de transport fait augmenter le niveau de contamination des animaux. Les mauvaises conditions de nettoyage et de désinfection des camions et des caisses de livraison qui ne sont pas spécifiques n'arrangent rien (Kimura et coll. 2004; Rostagno et coll. 2006).

- **L'alimentation:** Les aliments jouent un rôle important comme véhicules de salmonelles, notamment ceux contenant des farines d'os, de viande ou de poisson, des tourteaux de soja et des tourteaux de tournesol (Carlier et coll. 2001; Van Immerseel et coll.2005).

- **L'eau:** L'eau peut être un vecteur des salmonelles, il est largement connu que l'eau de réseaux de distribution publique ou de source privée est souvent le véhicule de la paratyphoïde et moins fréquemment d'autres infections à salmonelles.

La nature de la diffusion de ces germes est difficile à apprécier mais elle existe car la pollution par les déjections de l'eau d'abreuvement est souvent responsable des salmonelles du troupeau. On retrouve d'ailleurs beaucoup plus les salmonelles dans les sédiments de cette eau que dans l'eau elle-même (Villate 2001; Carlier et coll. 2001; Van Immerseel et coll. 2005).

- **La litière:**

La litière contaminée permet la diffusion rapide d'une souche de salmonelle introduite dans un élevage. Le plus grand danger viendrait d'une litière sèche, car les salmonelles résistent longtemps dans des environnements secs. Dans une litière humide, colonisée par de nombreuses espèces bactériennes et contenant de la matière organique en décomposition, l'antagonisme microbien et la production d'ammoniac, donc un pH élevé, favorisent la destruction des salmonelles; Une situation qui n'encourage pas l'hygiène (ICMSF, 1998; Carlier et coll.2001).

-**Les nuisibles:** La présence des rongeurs, des oiseaux sauvages et insectes est souvent la source principale de contamination des aliments, car les rongeurs peuvent être des porteurs durables de sérotypes variés, notamment S.Enteritidis. Les insectes semblent ne jouer qu'un rôle de vecteur passif (Carlier et coll.2001; Skov et coll.2004).

- **Le mode d'élevage:** Il peut exercer une influence sur la contamination des animaux et la vitesse de diffusion d'une infection: La densité trop importante des élevages au sol (cas des reproducteurs et poulet de chair), présentent une grande susceptibilité aux salmonelles. Les variations brusques de température ou une hygrométrie trop basse sont des facteurs de stress, une ventilation insuffisante des locaux permet l'accumulation de gazs toxiques mais surtout un confinement favorable à la dissémination des salmonelles (Villate 2001).

- **Matériel d'élevage:** Les bâtiments, leurs abords, les camions de transport et tracteurs, les cages, le sol, les murs, les systèmes d'aération, les ustensiles, les mangeoires, les abreuvoirs, les incubateurs et les vêtements sont sources de contamination et de transmission de l'infection à salmonelles (Gradel et coll.2003).

4-1-3: Au niveau de l'abattoir:

Certaines étapes de l'abattage entraînent des intercontaminations entre les lots, notamment par les ustensiles, le personnel et les équipements d'abattage. Les salmonelles présentes dans le tube digestif, peuvent polluer les carcasses si leur intégrité n'est pas respectée (Rostagno et coll.2006).

Les salmonelles peuvent être apportées par l'environnement à toutes les phases de l'abattage (Villate 2001). Les postes les plus contaminant lors des opérations d'abattage, sont l'échaudage par trempage, qui constitue en réalité un bouillon de culture, si la température n'est pas maintenue autour de 55 °C, mais aussi la plumaison et l'éviscération par dissémination du contenu du tube digestif contaminé (Le Boucher et coll.1997; Rostagno et coll. 2006).

Déjà au cours du transport, les camions favorisent le contact des excréments d'un poulet contaminé aux plumes et pattes des autres poulets (ICMSF, 1998; Bell, 2002; Anonyme, 2002c). Le temps d'attente pour l'abattage est un moment où les animaux sont soumis à un stress intense qui affaiblit les défenses immunitaires, facilitant la dissémination mais encore les conditions de transport tels: la chaleur, le froid, l'éloignement et les battements d'ailes peuvent être une source de contamination remarquable.

La saignée manuelle ou automatique est peu propice à la contamination (ICMSF, 1998; Anonyme, 2002c), c'est plutôt à l'accrochage des animaux et pendant leurs débattements que l'air ambiant est pollué de salmonelles et les risques de contamination sont accrus (Carlier et coll.2001).

Lors de l'échaudage les poulets sont trempés dans de l'eau à température comprise entre 50 et 58 °C pour ramollir l'épiderme et les follicules plumeux. Même si les salmonelles ne se multiplient pas et commencent même à se détruire dès 50°C, l'eau n'est pas toujours maintenue à cette température mais chaque poulet apporte environ 50 g d'impuretés diverses: si le renouvellement de l'eau n'est pas suffisant, la contamination du bac ne cessera d'augmenter à chaque échaudage de poulet et le risque de contamination par les salmonelles augmentera de manière exponentielle, la contamination s'effectue en surface par les matières fécales susceptibles de contenir des salmonelles au moment du passage dans l'eau du bac d'échaudage (ICMSF,1998; Carlier et coll.2001; Bell 2002; Anonyme,2002c).

Au cours de la plumaison, la chaîne portant les poulets passe au travers de deux rampes séparées d'environ 50 cm, sur lesquelles sont montées des plumeuses rotatives à doigts, munies de languettes de caoutchouc (flagelleuses) montées sur des têtes tournant à grande vitesse; Les têtes opposées tournent en sens inverse, les têtes contiguës tournent en contre sens. Les languettes viennent frapper les volailles et en arracher les plumes. La contamination s'opère principalement par les doigts de plumeuses contaminées par les plumes et les pattes contaminées par les matières fécales mais aussi par les salmonelles retrouvées dans l'air ambiant suite à la projection dans l'air des plumes arrachées avec force par les plumeuses (ICMSF, 1998; Anonyme, 2002c).

L'éviscération consiste à enlever les viscères thoraciques (poumons et cœur) et abdominaux (proventricule, jabot, gésier, foie et intestins) automatiquement grâce à une machine ou manuellement. L'éviscération automatique peut être à l'origine de souillure de la carcasse suite à la rupture de l'intestin quand l'appareil est mal réglé ou par les manipulateurs (Anonyme 2002c). Les matières fécales sont le réservoir principal des salmonelles car la rupture de la paroi intestinale entraîne une contamination de la carcasse, du matériel et du personnel. Ces derniers peuvent être alors des vecteurs importants de la dissémination des salmonelles par manipulation des carcasses ou par manque d'hygiène lorsque l'homme est porteur sain de salmonelles. L'éviscération est généralement suivie d'un lavage pour enlever les matières organiques présentes à la surface des carcasses mais également pour diminuer la contamination superficielle en salmonelles (ICMSF, 1998 ; Anonyme, 2002c).

Le refroidissement des poulets s'effectue soit par trempage dans de l'eau glacée ou par passage dans des couloirs où est introduit de l'air froid par ventilation (Anonyme, 2002c).

Lors de refroidissement à l'eau glacée, la contamination croisée est d'autant plus fréquente que le nombre de bactéries présentes sur les carcasses à l'entrée est élevé. La contamination survient par contact entre les carcasses par l'intermédiaire de l'eau. Pour limiter ce risque, il est recommandé d'utiliser un système à contre courant où les carcasses cheminent à partir d'une zone contaminée, vers une partie très propre où s'effectue l'arrivée d'eau froide (ICMSF, 1998).

Le refroidissement à l'air, utilisé seulement pour des carcasses destinées à être vendues à l'état réfrigéré, ne provoque pas de modification notable de la contamination par les salmonelles. Le trempage des carcasses dans un bac d'eau glacée assure un refroidissement plus rapide, mais les contaminations croisées par l'eau du bac de refroidissement est possible et même fréquent. Le taux de contamination des carcasses varie en fait de 4 % à 100 % en fonction des méthodes d'étude et des abattoirs (Carlier et coll. 2001).

4- 2: Transmission: (voir figure n°1)

4- 2- 1: Transmission verticale:

Elle résulte d'une infection de l'ovaire ou de l'oviducte de la pondeuse par un sérotype adapté de salmonelles. C'est essentiellement *S.Enteritidis* et plus rarement *S.Typhimurium*, Heidelberg, Hadar, qui ne se traduit pas nécessairement par des signes cliniques, mais par un décrochement de la courbe de ponte suivi d'un rattrapage rapide. Les salmonelles colonisent les milieux intérieurs de l'œuf. Les poussins issus de ces œufs infectés sont viables et éclosent infectés par la souche de salmonelles d'origine maternelle (Carlier et coll.2001; Van Immerseel et coll.2005; Lieljebjelke et coll. 2005).

4- 2- 2: Transmission horizontale:

Elle peut débuter dès le couvoir, où les œufs sont contaminés au niveau des coquilles à la ponte, sans pénétrer dans l'œuf, mais persiste sur la cuticule. Le poussin est infecté dès l'éclosion par contact avec la coquille infectée. De plus, dans les claies des couvoirs, une inter contamination par création et diffusion d'un aérosol contaminé est prouvée (Gradel et coll.2003; Skov et coll.2004). Les pratiques de gestion dans toute la filière volaille ont un effet profond sur la transmission et la persistance des salmonelles dans les systèmes de production de la volaille (Lieljebjelke et coll. 2005). C'est aussi le cas des modes de transmission par la litière, l'eau, l'alimentation, les nuisibles, le personnel, etc...(Carlier et coll.2001).

5- Détection des salmonelles:

Les méthodes conventionnelles de détection des salmonelles sont fondées sur un pré-enrichissement, des enrichissements sélectifs, suivis d'isolement en milieu sélectif solide et identification biochimique et/ou sérologique. Ces méthodes peuvent prendre de 4 à 6 jours. Elles sont spécifiques et constituent les méthodes de référence bien qu'elles présentent le principal désavantage d'être assez «longues» alors que l'analyse de produits alimentaires nécessiterait une plus grande célérité. L'isolement et l'identification de salmonelles à partir d'échantillons cliniques par des cultures microbiologiques conventionnelles sont coûteux en temps ou requièrent des procédures souvent complexes.

D'autres méthodes de détection de salmonelles plus rapides ont été développées mais beaucoup d'entre elles souffrent d'un manque de sensibilité et/ou de spécificité, peuvent nécessiter des équipements onéreux ou encore un haut niveau de capacité technique afin d'être appliquées (Favrin et coll.2001).

La présence de salmonelles sur les aliments se traduit généralement par un faible nombre distribué de manière hétérogène, un nombre important de prélèvements doit être pris pour avoir un haut degré de confiance de détection (Bell, 2002).

Des efforts ont été réalisés en matière de diagnostic microbiologique afin de réduire le temps d'identification des différents sérovars de salmonelles. L'identification biochimique ou encore sérologique tend à céder la place aux essais de détection directe dans les échantillons par test ELISA et PCR. Bien que les méthodes bactériologiques demeurent une méthode de référence, la PCR est devenue une technique importante pour une détection rapide dans les fèces ou échantillons environnementaux quand un isolement n'est pas nécessaire (Feder et coll.2001; Oliveira et coll.2002).

5-1- Principales méthodes classiques

5.1.1. En bactériologie alimentaire:

Les deux principales méthodes utilisées pour la recherche des salmonelles dans les produits alimentaires sont: La méthode de routine NF V08-052 de mai 1997, longtemps utilisée mais non valide depuis 2006 et la méthode de référence ISO 6579 de 2001.

- La méthode de routine NF V08-052 de Mai 1997.

Les références normatives suivantes comportent les dispositions qui par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la méthode NF V08-052.

NF ISO 7218, Microbiologie des aliments- Règles générales pour les examens microbiologiques.

NF V 08-010, Microbiologie des aliments- Règles générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.

Elle comprend les étapes suivantes:

- Préenrichissement en milieu non sélectif liquide:

Le pré-enrichissement se fait en eau peptonée tamponnée, servant également de diluant et incubation durant 16 à 20 heures à 37°C.

- Enrichissement en milieux sélectifs liquides:

Enrichissement en bouillon Sélénite-cystine et en bouillon au vert malachite et au chlorure de magnésium (Rappaport-Vassiliadis). Les bouillons sont incubés durant 18 h à 24 h respectivement à 37 °C et à 42 °C.

- Isolement:

A partir des cultures obtenues après enrichissement, un milieu sélectif solide au choix est ensemencé, incubé à 37 °C, puis examiné après 24 h et si nécessaire après 48 h, pour contrôler s'il y a présence de colonies présumées de *Salmonella* (en raison de leurs caractéristiques).

- Confirmation: Repiquage des colonies présumées être des *Salmonella* isolées et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

Cette méthode n'est plus valide depuis 2006.

- La méthode horizontale de référence ISO 6579 de 2001.

Les références normatives suivantes contiennent les dispositions qui par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la méthode horizontale ISO/FDIS 6579.

ISO 6887-1, Microbiologie des aliments- Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique- Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

ISO 7218, Microbiologie des aliments- Règles générales pour les examens microbiologiques.

ISO TR 11133, Microbiologie des aliments- Lignes directrices pour la préparation et la production des milieux de culture.

- Préenrichissement en milieu non sélectif liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans l'eau peptonée tamponnée, à température ambiante, puis incubation à 37 °C pendant 16 à 20 h + ou – 2 h.

- Enrichissement en milieux sélectifs liquides

Ensemencement du bouillon Rappaport-Vassiliadis modifié- peptone de soja/chlorure de magnésium/vert malachite (bouillon RVS) et d'un bouillon Muller-Kauffmann au tétrathionate/novobiocine (bouillon MKTTn) avec la culture obtenue en préenrichissement. Incubation du bouillon RVS à 41,5 °C + ou – 1 °C, pendant 24 h + ou – 3 h et du bouillon MKTTn à 37 °C + ou – 1 °C pendant 24 h + ou – 3 h.

- Isolement et identification

A partir des cultures obtenues en enrichissement, ensemencement de deux milieux sélectifs solides:

- gélose xylose lysine désoxycholate (XLD), incubé à 37 °C + ou – 1 °C, puis examen après 24 h + ou – 3 h.

- un autre milieu sélectif solide approprié, laissé au choix du laboratoire, complémentaire du milieu XLD, permettant la recherche de *Salmonella* lactose positive incluant *Salmonella* Typhi et *Salmonella* Paratyphi, incubé selon les recommandations du fabricant.

5.1.2. En santé animale (NF U47-100, NF U47-101):

D'autres méthodes standardisées et validées AFNOR, sont utilisées en santé animale pour l'isolement et l'identification des salmonelles ou recherche de sérovar(s) particulier(s) dans l'environnement des productions animales, c'est le cas de la N.F U 47-100 : Février 2005, et la N.F U 47-101 : Février 2005, utilisées respectivement pour la détection des salmonelles dans l'environnement des productions animales et chez les oiseaux.

Les procédures classiques sont en quatre étapes successives:

- Pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée.

- Enrichissement en 2 milieux sélectifs au choix, liquides: Bouillon de Rappaport-Vassiliadis Soja (RVS), Bouillon au tétrathionate (Muller-Kauffmann), Bouillon sélénite-cystine ou semi solide: Milieu semi-solide de Rappaport-Vassiliadis (MSRV).

- Isolement sur au moins un milieu sélectif solide parmi, le milieu XLT4 et le milieu Hecktoen.

- Identification biochimique et sérologique des colonies précédemment isolées et présentant des caractéristiques de *Salmonella* grâce aux galeries classiques d'identification ou galeries miniaturisées d'orientation et d'identification biochimique, ainsi que les sérums permettant l'identification des principaux sérovars isolés des filières avicoles et de l'environnement des élevages.

5- 2: Méthodes rapides validées AFNOR:

D'autres méthodes existent par ailleurs, n'ayant pas été validées AFNOR, ne sont pas considérées à priori équivalentes aux méthodes bactériologiques de référence (voir tableau 7). Même si certaines sont très utilisées en pratique en raison de leur rapidité ou de leur facilité de mise en oeuvre (Carlier et coll. 2001).

Type de méthode	Nom de la méthode	Distributeur
Milieu de culture	Print Salmonella	OXOID-69572 DARDILLY Cx
Test immunologique	Salmonella rapid test Dynabeads Salmonella	OXOID-69572 DARDILLY Cx SYNAL France-60200 COMPIEGNE
Réaction immunoenzymatique	Transia Plate Salmonella SEP	IFFCHAMB-69007 LYON
Test immunoenzymatique	vidas Salmonella kit Transia kit Tecra kit Locate fastazyme Salmonella vidas ICS-SLM vidas ICS-Boite IA Foss	biomérieux-69280MARCYL'ETOILE IFFCHAMB-69007 LYON TECRA Dg-ROSEVILLE.Australie Rhône Diag-69370 StDIDIER au Mtd'or fast Diagnostics- 80000 AMIENS biomérieux-69280MARCYL'ETOILE biomérieux-69280MARCYL'ETOILE ross France-92000 NANTERRE
Test d'hybridation	lumiprobe 24 Salmonella	URALAM-69429 LYON Cx03
PCR	Probelia Salmonella système BAX Salmonella	bioRad-92430MARNES LA COQUETTE Qualicon- 68740 NAMBSHEIM

Tableau n° 7 : Principales méthodes rapides ou simplifiées, validées AFNOR, pour la détection des salmonelles dans certaines matrices alimentaires d'après Carlier et coll.2001.

6- Moyens de lutte:

6-1: Lutte thérapeutique:

L'efficacité de la médication par les antibiotiques pour traiter et prévenir les infections à salmonelles ubiquitaires est le sujet d'importants débats; En effet l'utilisation des antibiotiques a montré l'efficacité pour contrôler l'évolution des salmonelles mais l'utilisation anarchique est souvent à l'origine de graves problèmes de résistance bactérienne et ainsi d'une plus grande dissémination pendant des temps plus allongés de la part des volailles.

Cependant et sauf cas exceptionnel, on ne traite pas le poulet de chair car sa durée de vie courte et le risque de sélection de certains sérotypes et d'antibiorésistance qui représentent une menace pour la santé publique, ne le justifient pas (Anonyme, 2003; Anonyme, 2006). Cependant des éleveurs prennent des initiatives, pour traiter des troubles digestifs assimilés à des salmonelloses, par des antibiotiques qui déséquilibrent la flore intestinale pouvant déclencher des salmonelloses, prolonger l'excrétion, faciliter l'épidémie et sélectionner des bactéries résistantes (Humbert et coll.1997).

L'administration buccale des antibiotiques pose aussi un problème de surdosage thérapeutique éventuellement dangereux avec certaines indications à posologie stricte (sulfaquinoxoline), il est dû à la soif inextinguible qui accompagne certaines salmonelloses aiguës. Sachant que les antibiorésistances sont suffisamment nombreuses pour imposer le recours systématique à l'antibiogramme, elles laissent dans la plus part des cas le choix entre un nombre suffisant d'antibactériens actifs tels que l'ampicilline ou association spectinomycine et colistine mais aussi la fluméquine ou furaltadone (Humbert et coll. 1997).

Pour diminuer le taux de portage de poulets destinés à la consommation, il est théoriquement possible d'utiliser cette pratique mais il faut préciser les risques pour la santé humaine en matière de résistance des bactéries et le caractère dangereux des nitrofuranes (cancérigène) ; On peut mêler à leur ration 0,04 % de Furazolidone pendant 10 jours de suite, très efficace et diminue fortement le taux de porteurs, mais ce traitement n'est qu'un complément de la prophylaxie sanitaire. Les antibiotiques les plus utilisés sont les sulfamides, l'enrofloxacin, la streptomycine, la gentamicine, les tétracyclines et la fluméquine etc...(Lecoanet, 1992; Singer et coll.1992; Humbert et coll.1997; Anonyme, 2006).

Il est toujours recommandé d'utiliser les antibiotiques avec parcimonie, au bon moment, à la bonne dose et pendant une durée appropriée.

6-2: Prophylaxie:

6-2- 1: Prophylaxie sanitaire:

A travers le monde entier et particulièrement en Scandinavie, il a été démontré que l'application et les programmes de contrôle peuvent contribuer de manière considérable à la réduction de la prévalence des salmonelles chez la volaille, par le biais des mesures telles les bonnes pratiques d'élevage et la biosécurité.

En Algérie l'arrêté interministériel n° 006 du 20 janvier 2003 (Anonyme, 2003a), définissant les mesures de prévention et de lutte spécifiques aux salmonelloses aviaires à S.Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Arizona, Dublin, Paratyphi et Pullorum Gallinarum, doit être pris en considération, pour une lutte efficace.

Les barrières sanitaires représentées par les mesures générales d'hygiène sont les premiers éléments à mettre en place avant l'emploi des procédés spécifiquement adaptés à la lutte contre le danger *Salmonella* ou tout traitement (Anonyme, 2001; Carlier et coll. 2001).

6-2- 1-1- Mesures générales d'hygiène:

Les locaux, le personnel et l'environnement doivent répondre à certains principes généraux (Lecoanet, 1992 ; Carlier et coll.2001):

- Un isolement rigoureux des locaux vis à vis de l'extérieur, pour protéger les locaux, les équipements et les animaux.
- le respect du principe de la marche en avant avec délimitation d'une zone propre et d'une zone sale.
- Le non entrecroisement des courants de circulation (matières premières et produits finis ou produits avec déchets).
- La propreté, la désinfection et le bon état d'entretien des équipements et du matériel.
- La propreté et sensibilisation à l'hygiène du personnel.
- La propreté et le lavage des mains, le changement et désinfection des bottes sont essentiels pour la protection des bâtiments d'élevages (Bell, 2002).

6-2- 1-2- Approvisionnements:

Les aliments et l'eau, peuvent être contaminés par les matières premières animales mal stérilisés ou par des matières végétales contaminées par des vecteurs tels les rongeurs, soit pendant leur stockage ou leur distribution. Il faut pour cela une qualité de matière première et des conditions de stockage satisfaisantes, une désinfection spécifique des silos de l'élevage et une qualité d'eau irréprochable. les véhicules de transport et tous les «intrants» doivent être contrôlés rigoureusement, notamment par l'installation de pédiluves et des nettoyages et désinfections des véhicules et des cages (Goater, 1981; ICMSF, 1998; Anonyme, 2001).

6-2- 1-3- Nettoyage et désinfection:

Les opérations de nettoyage et de désinfection doivent suivre un protocole complet, comportant des étapes fondamentales et précises (Anonyme, 2001; Carlier et coll. 2001):

- Pré-nettoyage : Qui consiste en des opérations de rangement, de balayage, de râclage et de dépoussiérage.
- Nettoyage : Généralement à l'eau chaude additionné d'un détergent et aboutit à la propreté visuelle.
 - Rinçage intermédiaire.
 - Désinfection: En utilisant des désinfectants efficaces en agro-alimentaire tels les alcalins chlorés, les peroxydes acides, les produits iodés, les biguanidines et à un moindre degré les ammoniums quaternaires, qui doivent être employés conformément aux spécifications des fabricants en matière de dose, de température, de temps de contact et de nettoyage préalable.
 - Rinçage final.
 - Séchage.

Ce protocole doit être appliqué à la lettre à chaque fin de temps de travail (généralement en fin de journée), car l'omission d'une quelconque étape peut aboutir à l'inefficacité relative, sachant que l'emploi des détergents n'est pas compatible avec les désinfectants, ce qui peut entraîner la persistance des contaminations croisées.

Enfin, les opérations du protocole doivent être formalisées, décrites et gérées en plan de nettoyage de qualité et vérifiées régulièrement par des analyses bactériologiques (Drouin et col. 2000).

Les mains du personnel doivent être nettoyées avant la prise du travail, après les pauses, après manipulation d'aliments ou objets souillés, toutes les 45 minutes à 1 heure au cours du travail et surtout après usage des toilettes. Le nettoyage des mains consiste en un savonnage soigneux des mains et des avants bras pendant 30 secondes, suivi d'un rinçage et d'un séchage au moyen d'essuie mains à usage unique. Les produits irritants, les essuie mains à air chaud, les savonnettes, l'eau trop chaude ou trop froide et les robinets à commande manuelle sont proscrits (Carlier et coll. 2001).

6-2- 1-4: Mesures spécifiques:

- En élevages:

- Des infrastructures, équipements et matériel appropriés.
- Clôture et isolement strict des élevages.
- Protection des bâtiments contre les insectes et les rongeurs.
- Désinfection et vide sanitaire entre bandes successives : système tout plein-tout vide (ALL IN ALL OUT, Van Immerseel et coll. 2005).
- Propreté de l'environnement immédiat en évitant l'épandage de litière à proximité des élevages.
- Elimination des porteurs au moyen d'examen sérologiques.
- Evacuation des salissures vers des fosses septiques ou réseaux d'eau usée.
- Sur les sols en terre battue, il est possible d'améliorer la pénétration des désinfectants par addition de fuel (Goater, 1981).
- Dératisation et désinsectisation.
- La propreté et le lavage des mains, le changement et désinfection des bottes sont essentiels pour la protection des bâtiments d'élevages (Bell, 2002).

-En Abattoirs:

- Des infrastructures, équipements et matériel appropriés.
- Prévoir une salle de repos pour la volaille avant l'abattage.
- L'eau d'échaudage doit être renouvelée régulièrement et maintenue à la température voulue (entre 51 et 58 °C).
- Nettoyage et désinfection soigneux des flagelleuses et des plumeuses rotatives à la fin de chaque journée de travail et après le passage de chaque lot.
- Veiller à ne pas souiller les carcasses particulièrement par rupture de l'intestin lors de l'éviscération.
- Veiller à la continuité de l'application du froid (Bell, 2002).

6-2-2: Prophylaxie médicale:

6-2-2-1: Additifs Alimentaires anti-Salmonella :

- Acidification de l'eau de boisson:

L'acidification de l'eau de boisson consiste à supplémenter l'eau de boisson avec un acide organique (acide butyrique), qui non seulement abaisse le pH de l'eau, mais surtout abaisse le pH du contenu intestinal le plus loin possible dans l'intestin pour avoir un effet également dans les caeca. Les études réalisées, ont utilisé un mélange stabilisé d'acide organique et de peroxyde d'hydrogène, cette stabilisation est fondamentale dans le cadre de la lutte contre les salmonelles. L'acidification n'agit pas comme un antibiotique, mais comme un agent modifiant le milieu intestinal, le rendant défavorable à la multiplication des salmonelles, son action est limitée dans le temps, ce qui implique des administrations répétées et régulières tout au long du lot.

Le but de la supplémentation n'est pas d'éliminer toutes les salmonelles, mais de les empêcher de se développer en agissant le plus tôt possible et de maintenir cette population de salmonelles en dessous d'un seuil d'excrétion et donc d'empêcher la contamination du lot entier (Chataigner, 2000; Van Immerseel et coll. 2005).

- Les prébiotiques :

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

- Les probiotiques:

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

6-2-2-2: Les flores de barrière:

Les flores de barrière sont un mélange complexe de bactéries différentes, en équilibre relativement stable dans le tube digestif des volailles en absence d'agression extérieure (Schneitz, 2001).

La composition de la flore peut être définie ou pas, néanmoins nous citerons quelques genres de bactéries composant une flore de barrière: *Bacteroides*, *Citrobacter*, *Clostridium sporogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Fusobacterium*, *Eubactérium*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Ruminococcus*, *Propionobacterium*, *Streptococcus faecalis* (Riggi, 1999).

Concept de NURMI et RANTALA:

Les poulets sont connus pour être très sensibles aux infections à salmonelles durant la première semaine de vie parce que le développement de la flore intestinale est progressif (Schneitz, 2005).

Le principe de la flore de barrière consiste à donner à l'animal le plus précocement possible, en général à 1 jour d'âge, une flore équilibrée non pathogène qui va coloniser la lumière intestinale des poussins. En s'implantant la première, cette flore va empêcher l'adhésion et donc l'implantation ultérieure de germes issus du milieu extérieur, donc peu contrôlés et susceptibles d'être pathogènes (colibacilles, salmonelles) ou indésirables (salmonelles) (Schneitz, 2005).

La flore anaérobie est dominante, elle baisse la tension en oxygène et favorise ainsi les anaérobies; En acidifiant le milieu par les bactéries lactiques en produisant des acides gras volatils, qui inhibent la croissance des entéropathogènes et en produisant des bactériocines dont l'action est proche de celle des antibiotiques, mais aussi les entéropathogènes qui entrent en compétition avec les salmonelles pour la consommation des acides aminés et des sucres.

Ces germes constituent une barrière entre des germes exogènes et la muqueuse intestinale, d'où leur nom de flore de barrière (Pivnick et coll.1982; Schneitz et coll. 2001; Van Immerseel et coll. 2005).

6-2-2-3: L'antibio- prévention:

Elle est basée sur l'administration d'anti-infectieux à de faibles doses, d'habitude utilisés pour le traitement des salmonelloses, elle combat plus les contre-performances économiques des lots infectés que l'apparition épisodique de manifestations cliniques, ni le portage chronique des bactéries (Lecoanet,1992), ce qui constitue un risque de sélection et un problème pour le bon usage, prudent et rationnel des antibiotiques. L'antibio-prévention est depuis quelques années interdite aux Etats Unis, en Europe et particulièrement en France (Anonyme, 2006).

6-2- 2-4: La vaccination:

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

En revanche, la vaccination des futurs reproducteurs au moyen de vaccins tués, d'autovaccins ou de vaccins atténués ont montré une certaine efficacité qui se traduit par une réduction nette du portage et de l'excrétion. Mais en aucun cas cette prévention n'est suffisante et durable si le contexte environnemental n'est pas satisfaisant. Aujourd'hui, il est utopique de vouloir élever des oiseaux sans salmonelles mais chacun des acteurs de la filière volaille doit se mobiliser pour diminuer la prévalence et éradiquer les sérotypes les plus pathogènes (Anonyme, 2001).

L'innocuité doit être la qualité première des vaccins. Les vaccins tués doivent tout simplement subir une inactivation correcte alors que les vaccins vivants, d'utilisation plus risquée pour la santé humaine, doivent être stables, non- sujets à des mutations réversibles, incapables de survivre dans l'environnement et surtout avirulents. D'une manière générale, les vaccins vivants sont considérés comme plus efficaces que les vaccins tués et surtout les vaccins vivants peuvent être distribués dans l'eau de boisson, alors que les vaccins tués nécessitent une ou deux injections. Les autovaccins donnant des résultats assez satisfaisants, mais ne permettent pas l'élimination totale des salmonelles car le portage persiste au niveau des organes (foie, rate et colon) et l'excrétion des salmonelles se poursuit dans les fientes des animaux vaccinés (Proux, 1996).

7 - Système de surveillance en Algérie.

Selon Anonyme,(2003), la surveillance des salmonelles en Algérie s'inscrit dans le cadre d'un vaste programme de surveillance des maladies animales; En effet, afin de permettre une évaluation des programmes de prévention et de lutte mis en place et l'analyse des risques liés à l'importation des animaux, des produits d'animaux et des produits d'origine animale, un réseau d'épidémiosurveillance a été initié en 1984, consolidé en 1988 suite à la promulgation de la loi régissant la médecine vétérinaire et la protection de la santé animale.

La réglementation en vigueur impose à tout vétérinaire quelque soit son secteur d'activité, la déclaration obligatoire de toute maladie animale contagieuse tant celles confirmées ou celles fortement suspectées. Ainsi, les vétérinaires privés ou les vétérinaires fonctionnaires, en poste au niveau des bureaux d'hygiène communaux, des abattoirs, des postes frontières et des centres de quarantaine, récoltent les données, et les transmettent à l'inspection vétérinaire, aux autorités locales et à la direction des services vétérinaires. Ces informations sont véhiculées à travers le formulaire officiel de déclaration, les rapports de suivi des foyers et les rapports mensuels des activités vétérinaires. Les laboratoires sollicités pour une éventuelle confirmation ou infirmation de la maladie, assurent le retour d'informations aux vétérinaires demandeurs par des bulletins d'analyses, et à la direction des services vétérinaires à travers les bilans mensuels (voir figure n° 2). Aussi, dans le cadre de renforcement du réseau d'épidémiosurveillance au sud du pays, il a été mis en place des observatoires (Adrar et Tamanrasset), qui ont pour tâche principale, la création de base de données relatives aux maladies sévissant dans les régions respectives et celles menaçant le cheptel Algérien à partir des frontières Sud, ainsi que la mise en place d'un système de diagnostic précoce permettant l'intervention rapide des services concernés.

Par ailleurs, afin de renforcer l'intégration totale des praticiens privés dans le réseau d'épidémiosurveillance, des mandats sanitaires leur ont été attribués dès l'année 2004, pour la réalisation de certains programmes de prophylaxie officiels ordonnés par l'autorité vétérinaire nationale.

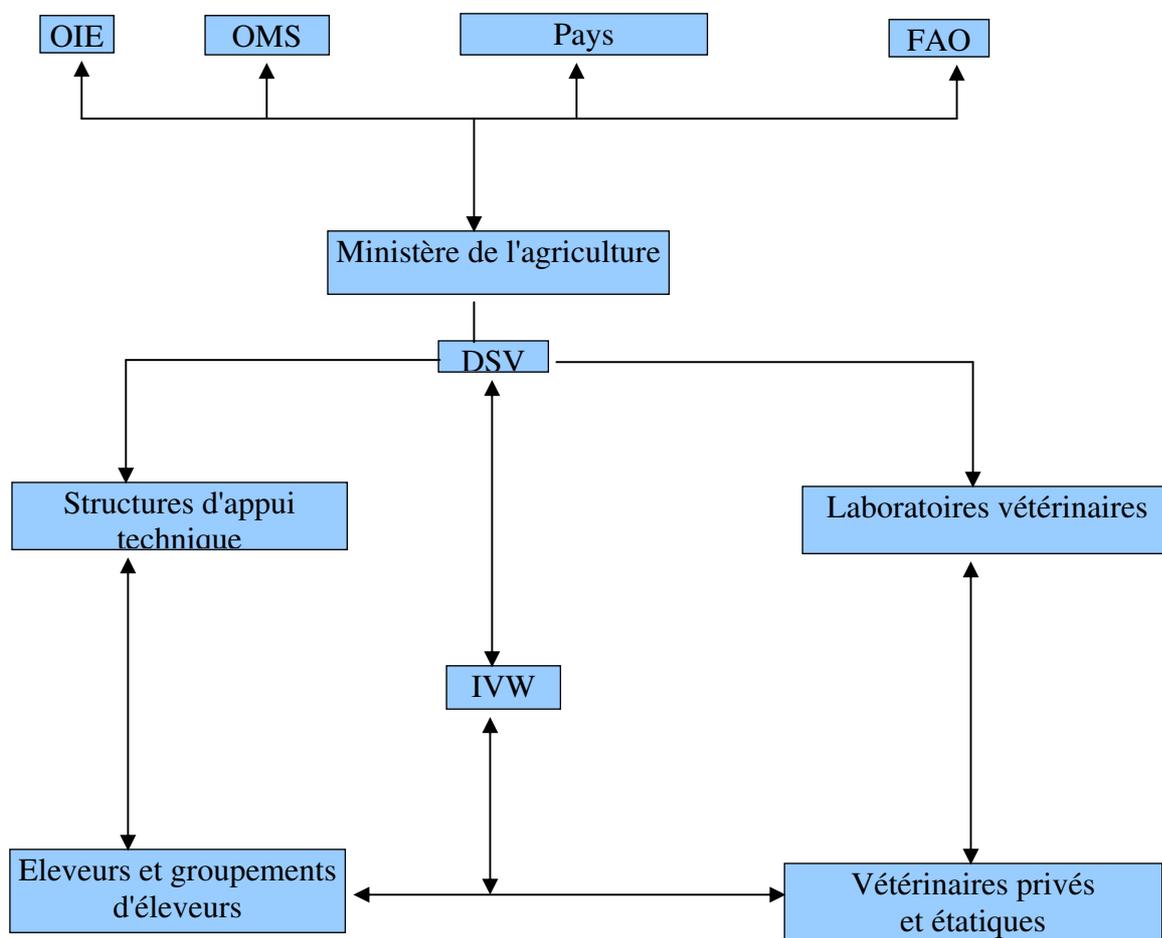


Figure N° 2: Schéma du système d'information en surveillance sanitaire vétérinaire (Anonyme, 2003a).

OIE: Office International des épizooties.
OMS: Organisation Mondiale de la santé.
FAO: Food
DSV: Direction des services vétérinaires.
IVW: Inspection Vétérinaire de Wilaya.

CHAPITRE 3: LES MARQUEURS EPIDEMIOLOGIQUES DES SALMONELLES.

Les marqueurs épidémiologiques sont des caractères discriminants qui permettent de distinguer au sein d'une espèce bactérienne les souches d'origine distincte (Deplano, A.2002).

Dans le but de retrouver puis maîtriser les sources des bactéries pathogènes pouvant jouer un rôle étiologique dans une épidémie mais aussi, pour connaître les voies de contamination et de suivre la diffusion géographique d'une souche, l'emploi des techniques de caractérisation se sont avérées nécessaires car l'identification des *Salmonella*, au niveau de l'espèce était insuffisante et il était important de subdiviser l'espèce en entités «infrasubspécifiques» ou «types» (GRIMONT, 1992; Liebana, 2002).

L'objectif du typage est de montrer que des souches d'une espèce bactérienne reliées épidémiologiquement ont des caractères communs différents de ceux de souches non reliées.

En subdivisant les espèces à un degré inférieur à l'espèce, cela nous permettra de les comparer finement entre elles, de déterminer la dissémination d'un clone* donné dans un environnement et de reconnaître les contaminations originelles (Liebana, 2002).

Les examens bactériologiques classiques se limitent généralement à l'identification de l'espèce et à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, d'où l'utilité de marqueurs stables dans une souche* et variables dans une espèce permettant une différenciation fine.

Plusieurs techniques de discrimination ont été utilisées, basées surtout sur les caractéristiques phénotypiques mais aussi plus récemment, sur des caractéristiques génotypiques (Deplano, 2002).

1- LES QUALITES D'UN MARQUEUR EPIDEMIOLOGIQUE:

L'intérêt des techniques de typage dépend des objectifs de l'utilisation et doit répondre à quatre conditions (Struelens et coll. 1996), Ce sont les critères d'évaluation d'un système de typage bactérien, qui s'appliquent à des degrés variables aux systèmes de typage qui vont être décrits ci après.

1-1 - La capacité de typage: Elle représente la proportion d'isolats*, classés dans un type* par une technique de typage donnée (Dijkshoorn et coll. 2001). La capacité de typage T est exprimée par la formule:

$$T = N_t / N$$

Où : N_t est le nombre d'isolats affectés à un type,
 N le nombre total d'isolats testés.

Pour qu'un marqueur de typage soit utile, T doit être le plus proche possible de 1.

1-2 - La reproductibilité: La technique de typage doit être capable de classer un isolat dans le même type bactérien pour des essais séparés et indépendants (Dijkshoorn et coll. 2001). La reproductibilité R est exprimée par la formule:

$$R = N_r / N$$

où: N_r est le nombre d'isolats affectés à un même type lors d'essais indépendants.
 N est le nombre total d'isolats testés.

Dans l'idéal R est supérieur à 0,95 pour toutes ses applications et plus près de 1 pour un typage définitif.

1-3 - La stabilité: La technique de typage doit être capable de classer dans le même type bactérien, des souches ayant dérivées in vivo ou in vitro d'une souche parentale commune, malgré les variations phénotypiques ou génotypiques pouvant arriver au cours du stockage, manipulations, épidémies ou variations clonales naturelles particulièrement sur de longues périodes de temps. En effet des mutations et des recombinaisons peuvent survenir par intégration ou mobilisation de plasmides, de phages ou d'ADN transposable (Dijkshoorn et coll.2001).

La stabilité S est exprimée par la formule:

$$S = N_s / N$$

où: N_s est le nombre de tests ayant permis de classer correctement les mêmes souches dans les mêmes types lors des essais répétés,

N est le nombre total de tests effectués.

La stabilité est évaluée par exemple en comparant des souches testées avant et après passage dans un modèle animal adapté.

1-4 - Le pouvoir discriminant: C'est la probabilité moyenne que la technique de typage conduise à classer deux souches non reliées, choisies au hasard au sein de la population microbienne, dans des types différents. Cette probabilité est exprimée d'après Hunter (1990) par la formule de l'indice de diversité de Simpson:

$$D = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^s (n_j - 1)$$

Où : D est l'indice du pouvoir discriminant,

N est le nombre de souches non reliées testées,

S est le nombre de types différents,

n_j est le nombre de souches du type j , en admettant que les souches soient classées dans des catégories mutuellement exclusives.

Idéalement, chaque souche doit avoir un type différent ($D = 1$). Les souches non typables peuvent pour des raisons de calcul, être exclues ou regroupées, mais cette dernière approche n'implique pas que ces souches de même type. Généralement, le pouvoir discriminant D et la reproductibilité R évoluent en sens inverse.

Le pouvoir discriminant d'une technique n'est pas statique mais dépend de la population bactérienne typée (Dijkshoorn et coll. 2001).

2- LES MARQUEURS PHENOTYPIQUES:

Ils se basent sur les caractéristiques phénotypiques exprimées par les bactéries et sont qualifiés de techniques «traditionnelles». Ces dernières sont pionnières dans le domaine du typage et sont toujours mises en œuvre en épidémiologie descriptive et particulièrement dans le cadre de la surveillance épidémiologique des salmonelloses (Moore et coll.2003).

2-1: La sérotypie:

La sérotypie est la détermination des antigènes de surface par l'utilisation d'une série de sérums contenant des anticorps mono ou polyclonaux permettant ainsi de classer les souches en sérotypes, selon le schéma de KAUFFMANN-WHITE. C'est la méthode la plus utilisée, même si la discrimination est grossière.

En effet les salmonelles sont classées selon leurs antigènes somatiques O (lipopolysaccharidiques) et leurs antigènes flagellaires H (région centrale de la flagelline, hautement antigénique) d'ou l'intérêt de la détermination combinée de plusieurs variétés d'antigènes pour une même souche (Fields et coll.2006; Van Duyne et coll.2006).

La sérotypie permet de démontrer l'importance des sérotypes et leur fréquence mais également de comparer les sérotypes isolés chez les animaux et chez l'homme (Uchi Orji, 2005).

Elle est toujours utilisée en surveillance préliminaire avant d'engager une épidémiologie approfondie (Ruiz et coll.2003). En effet pour la traçabilité des salmonelles et la recherche des sources de contamination dans une production donnée ou impliqués dans les toxi-infections alimentaires, elle demeure un excellent outil pour effectuer un premier classement d'isolats de *Salmonella* avant la mise en oeuvre de techniques de typage plus fines. L'inconvénient réside au fait que cette technique nécessite de nombreux sérums (Dijkshoorn et coll.2001).

Beaucoup de sérotypes sont rarement isolés et ne sont donc pas importants du point de vue épidémiologique (Millemann, 1998), bien que pour l'apparition de sérotypes inhabituels (exemple *Salmonella* Berta), la sérotypie peut apporter la preuve du lien épidémiologique entre des isolats collectés au niveau d'une région donnée (OLSEN, 1992).

2-2: La lysotypie:

La lysotypie consiste à étudier la sensibilité des isolats à un panel de bactériophages; La plupart des bactériophages sont dits sauvages car ils sont isolés d'eaux d'égouts ou proviennent de bactéries lysogéniques.

Divers schémas internationaux ont été développés, nous citerons entre autres le schéma de COLINDALE, très répandu, utilisant 37 bactériophages et distinguant 210 lysotypes pour *Salmonella* Typhimurium. Le schéma de WARD et coll. le plus largement utilisé avec 16 phages et distingue 65 lysotypes pour *Salmonella* Enteritidis. Le schéma de VIEU et coll., mis au point d'abord pour *Salmonella* Dublin, utilise 14 phages, identifiant 85 lysotypes de *Salmonella* Enteritidis et 101 lysotypes de *Salmonella* Dublin, le lysotype 33 de VIEU et coll., correspond au lysotype 4 (Phage Type 4: PT 4) de WARD alors que le plus répandu pour *Salmonella* Typhimurium est le système COLINDALE (31 bactériophages pour 211 lysotypes (Grimont, 2000).

La lysotypie est une méthode plus discriminante que la sérotypie car elle permet de distinguer des types à l'intérieur de sérotypes donnés. Elle est aussi reproductible et rapide mais sa capacité de typage est parfois limitée car le lysotype peut être modifié après acquisition d'un plasmide ou d'un bactériophage ou modification du LPS (Lipopolysaccharide), toutes les souches ne sont pas lysotypables. Par ailleurs la lysotypie perd son intérêt lorsqu'un type particulier devient prédominant, c'est le cas avec *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis qui dominent certaines régions géographiques pendant certaines périodes. (Barrow, 1991; Maré et coll.2001; Gorman, 2004)

La lysotypie a permis de mettre en évidence l'origine de certains foyers épidémiques et la répartition mondiale de certains clones (Boonmaer et coll.1998; Nygard et coll. 2004).

Cette technique est rapide, peu onéreuse et d'une grande valeur pour déterminer les sources de toxi-infections alimentaires collectives (T.I.A.C.) dans des études épidémiologiques, mais nécessite une main d'oeuvre qualifiée et une disponibilité de phages pas toujours évidente, c'est pourquoi cette technique reste réservée aux centres de références (Grimont, 1992; Dijkshoorn et coll.2001).

2-3: La biotypie:

La classification des salmonelles en biotypes repose sur la recherche des caractères biochimiques qui sont variables dans une même espèce.

Des tests biochimiques tels la présence de la gélatinase, la betaglucuronidase ou la fermentation du dulcitol et du lactose permettent de subdiviser l'espèce enterica en six sous espèces.

Beaucoup de laboratoires ont commercialisé des galeries de tests tel: API 20E système (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), pour permettre de reconnaître les profils biochimiques des différents biotypes. Cependant les variations dans la durée d'incubation et la taille de l'inoculum peuvent affecter l'interprétation des résultats, tandis que les souches fraîchement isolées peuvent exhiber des réactions différentes comparées aux souches conservées. La reproductibilité et le pouvoir de discrimination sont ainsi mis en cause pour certaines souches (Dijkshoorn et coll.2001). Cette technique a été utilisée pour la surveillance épidémiologique de *Salmonella* Typhimurium (Wray et coll. 1987), et *Salmonella* Enteritidis (Stubbs et coll.1994). La distinction entre les biotypes n'est parfois pas satisfaisante (Grimont, 1992; Dijkshoorn et coll. 2001).

C'est une technique simple, d'approche empirique, peu coûteuse mais dont la reproductibilité reste à confirmer. Le système de biotypage doit être évalué lors d'épidémies et comparé à d'autres techniques de typage pour le juger de manière définitive.(Giovannacci, 1999)

2-4: La Bactériocinotypie:

Elle est fondée sur la sensibilité des Salmonelles aux bactériocines ou à la recherche de leur production par certaines souches microbiennes. Les bactériocines sont des protéines codées par des plasmides, produites par des bactéries létales pour d'autres bactéries de même espèce.

La bactériocinotypie s'est montrée très peu discriminante dans des études épidémiologiques de souches de sérotype Typhimurium (Millemann, 1996), l'intérêt de son emploi serait de l'associer à la lysotypie pour mettre en évidence une grande variété à l'intérieur d'un même sérotype (Giovanacci, 1999).

Toutefois en matière de typage, la bactériocinotypie reste d'un usage aussi réservé que la lysotypie. C'est en plus une technique très lourde, parfois peu reproductible. Son utilisation semble être exceptionnelle (Grimont, 1992; Dijkshoorn et coll. 2001).

2-5: L'antibiotypie:

De très nombreuses études ont montré la résistance des salmonelles aux antibiotiques (White et coll. 2001; Davis et coll. 2002; Zhao et coll. 2003; Juan, 2004; Mayrhofer et coll. 2004; Gorman et coll. 2004 ; Davos et coll. 2006).

Chez les salmonelles, la résistance est en général codée par des gènes plasmidiques. Connaissant l'utilisation abusive des antibiotiques en médecine vétérinaire et surtout l'instabilité des plasmides et des transposons, les antibiogrammes ne peuvent pas être considérés comme une méthode fiable de typage. Néanmoins, si c'est une résistance à un nouvel antibiotique ou un nouveau mécanisme de résistance à un antibiotique déjà largement utilisé, elle peut être utile et satisfaisante du point de vue épidémiologique (Millemann, 1996).

Toutefois l'antibiotypie peut être utile en investigations localisées et limitée à de courtes périodes (Dijkshoorn et coll. 2001), elle est surtout d'intérêt médical, car elle permet un suivi plus précis des souches, particulièrement pour *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis (Wray, 1987 ; Stubbs, 1994 ; Davis, et coll. 2002 et Moore, 2003).

2-6: Electrophorèse d'iso-enzymes (M.E.E.):

Souvent appelée *Multilocus Enzyme Electrophoresis* (MEE), elle se base sur l'analyse phénotypique du polymorphisme électrophorétique d'un ensemble d'enzymes.

Les expressions électrophorétiques de chaque enzyme sont comparées avec les allèles* se trouvant sur les loci* des gènes de structure. Par conséquent, les types électrophorétiques obtenus de l'ensemble des enzymes permettent de mesurer la variation allélique de gènes multiples pour définir la structure phylogénétique de lignées clonales* des salmonelles (Caugant, 2001).

Cette technique est une méthode génotypique indirecte, employée pour suivre l'évolution des populations de certains sérotypes de *Salmonella* Enteritidis (Stanley et coll. 1994, Cox et coll. 1996) et *Salmonella* Typhimurium, qui s'avère être monophylétique par cette technique (Beltran et coll. 1988) alors que pour *Salmonella* Derby et Enteritidis, une diversité de types électrophorétiques (Electrophoretic Types: ETs, en anglais) est révélée entre les souches (Beltran et coll. 1988, Cox et coll. 1996).

Toutefois, elle présente les inconvénients d'être peu discriminante avec certains marqueurs enzymatiques (Kerouantan et coll. 1998), comparativement aux techniques de typage génotypique, et peu utilisée pour son long délai de réponse et la lourdeur de sa mise en oeuvre.

3: LES MARQUEURS GENOTYPIQUES:

Les techniques utilisant les marqueurs génotypiques ont connu un développement très important dans le cadre de la vulgarisation des techniques de biologie moléculaire au niveau des laboratoires. Le principe consiste à étudier le polymorphisme de séquences d'ADN ou la composition génétique de plasmides ou de chromosomes de façon indirecte.

Différentes techniques ont été développées, se basant toutes sur les profils plasmidiques ou mettant en évidence le polymorphisme de l'ADN chromosomique des bactéries.

Ce sont des techniques de séparation potentielle très fine des souches, variables selon les espèces.

3-1: Marqueurs liés à l'ADN plasmidique:

Les salmonelles possèdent des plasmides de tailles allant de 1 à 200 kb. Il s'agit en fait d'analyser le nombre et la taille de ces plasmides par électrophorèse en gel d'agarose ou alors la comparaison de leurs profils de restriction, ce qui accroît le pouvoir discriminant entre plasmides de tailles similaires et permet de mesurer les liens de parenté entre les souches concernées.

Le profil plasmidique (de restriction) est un outil épidémiologique intéressant; Les plasmides sont des molécules d'A.D.N. Circulaires et extrachromosomiques, elles ne sont pas constantes et ne portent pas d'informations génétiques essentielles à la survie des bactéries, d'ailleurs elles peuvent les perdre ou les intégrer de façon spontanée (Wachsmuth et coll.1991); Ce sont des structures autorépliquatives contenant souvent des gènes de résistance aux antibiotiques et/ou des gènes de virulence (Popoff et coll.1992).

Pour les enquêtes épidémiologiques, l'A.D.N. Plasmidique est extrait et grâce à l'électrophorèse en agarose, les molécules d'A.D.N. migrent à une vitesse d'autant plus grande que leur taille est plus petite, si les souches étudiées sont les mêmes, le nombre et la taille des molécules d'ADN plasmidiques sont identiques (à souligner que les souches doivent avoir au moins un plasmide). Cette technique a permis de subdiviser les sérotypes Typhimurium et Enteritidis en lysotypes (on parle de lysotype car il y 'a une forte corrélation entre le profil plasmidique spécifique et les phages-types (Singer et coll.1992; Threlfall, 1994).

Les profils plasmidiques ont été mis en oeuvre en différentes investigations épidémiologiques pour caractériser les souches de *Salmonella* de divers sérotypes et de diverses origines (Millemann, 1998; Wachsmuth, 1991; Olsen, 1992; Maré et coll.2001; Olsen, 2004 et Brown et coll.2006).

Toutefois, pour certains cas, les plasmides sont tellement fréquents dans une espèce qu'ils ne permettent plus de les subdiviser, c'est le cas pour *Salmonella* Typhimurium avec un plasmide de 90 kb (Baggesen, 1992) et pour *Salmonella* Enteritidis chez l'homme et les animaux avec un plasmide de 55 kb (Threlfall, 1994). Millemann et coll. 1995, ont montré que le typage plasmidique était plus discriminant que le ribotypage et l'IS200-typage pour *Salmonella* Enteritidis isolée de la filière aviaire mais moins intéressante pour *Salmonella* Typhimurium.

Les marqueurs plasmidiques souffrent d'une insuffisance de stabilité car les plasmides peuvent être perdus ou acquis ou encore modifiés (transposition). Il serait beaucoup plus intéressant de les associer à des techniques basées sur les marqueurs chromosomiques. Par contre les profils plasmidiques sont très intéressants pour les souches résistantes aux antibiotiques et doivent permettre à chaque fois de préciser l'emplacement des transposons et gènes portés par les plasmides et codant pour la résistance aux antibiotiques. Les profils plasmidiques peuvent avoir un faible pouvoir discriminant si les bactéries hébergent seulement 1 ou 2 plasmides (Gorman et coll. 2004). Lors d'infection humaine par une souche aviaire multiplasmidique, seul un plasmide sérospécifique est retrouvé, les autres sont perdus au cours de l'infection humaine. Il est possible que les petits plasmides perdus, jouent un rôle dans la persistance de ces souches dans l'environnement, dans la virulence et dans le pouvoir invasif ou qu'ils soient nécessaires pour l'infection et la colonisation des humains (Singer et coll. 1992, 2004) mais la majorité des souches isolées appartiennent à un nombre faible de lysotypes (Maguire et coll.2006). L'indisponibilité des phages et le savoir faire exigé, limitent son utilisation aux centres nationaux de référence.

3-2: Marqueurs liés à l'ADN chromosomique:

Les techniques de typage liées à l'ADN génomique sont nombreuses et fondées sur la restriction ou l'amplification.

3-2-1: Profils de restriction de l'ADN génomique:(Restriction Fragment Length Polymorphism.)

Le principe consiste à analyser des fragments obtenus après coupure par des enzymes de restriction de l'ADN bactérien total afin de déterminer leur nombre et leur taille par électrophorèse conventionnelle en gel d'agarose.

L'inconvénient réside dans la difficulté de lecture car le nombre de bandes est très élevé ou alors dans la perturbation possible par la présence de plasmides.

3-2-1-1: Restriction classique:

Les enzymes utilisées possèdent la faculté de reconnaître et de digérer l'ADN à des sites bien précis, ces derniers sont parfois très nombreux, on obtient alors plus d'une centaine de fragments qui sont ensuite séparés par électrophorèse. La comparaison des profils obtenus (*Restriction Endonucléase Analysis*) est très difficile en raison du grand nombre de fragments.

Les variations de taille sont le reflet du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction :RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Stanley et coll.1994), ces variations sont dues à la présence ou l'absence de certaines paires de bases qui sont des sites de restriction ou alors résulter d'insertions, délétions ou réarrangements de l'ADN dans les régions comprises entre les sites de restriction habituels.

3-2-1-2: Restriction modifiée par diminution du nombre de fragments de restriction:

3-2-1-2-1: Macrorestriction et PFGE (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*) ou pulsotypage:

C'est la méthode de choix pour l'étude d'épidémiologie moléculaire des bactéries pathogènes, au moins au niveau des études d'épidémies et d'épidémiologie hospitalière (Tenover et coll.1997; Struelens et coll.1998).

La technique consiste à utiliser des enzymes à sites de digestion rares (macrorestriction) afin de diminuer le nombre de fragments de restriction (20 à 30 fragments). Les fragments obtenus sont de grandes tailles (de 50 à 1000 kb), ce qui nécessite une technique d'électrophorèse spéciale: Electrophorèse en champs pulsés ou *Pulsed-Field Gel Electrophoresis*: PFGE (Chu et coll. 1986; Dijkshoorn et coll.2001).

La PFGE consiste à soumettre les fragments d'ADN à des champs électriques alternatifs pendant des temps de pulsation précis qui permettent aux fragments de s'orienter, de se réorienter et de migrer selon leurs tailles (Struelens et coll.2001).

Parmi les techniques développées, la méthode CHEF (*Contour-Clamped Homogeneous Electrophoretic Field*) mérite l'intérêt car c'est la plus utilisée et consiste en des champs électriques alternatifs homogènes orientés à des angles de 90 à 120°, permettant une migration en trajectoire rectiligne des molécules d'ADN et ainsi une très bonne résolution (Struelens et coll.2001).

La technique est très utilisée mondialement pour le typage des nombreux sérotypes de *Salmonella*, lors d'enquêtes épidémiologiques, suite à une épidémie de salmonellose, pour déterminer les voies de transmission et les sources de contamination de produits alimentaires. (Olsen, 1992; Boonmar et coll.1998; Brown, 2006) mais aussi dans le cadre d'investigations épidémiologiques (Moore 2003; Kerouanton, 2006).

La technique de pulsotypage est actuellement la technique de référence pour le typage bactérien, en effet elle est très discriminante, reproductible, sûre et efficace (Boonmar et coll.1998; Struelens

et coll.2001; Moore et coll. 2003; Eriksson et coll. 2005). Toutefois, certains auteurs précisent que son interprétation exige une très grande prudence, particulièrement pour des isolats collectés sur de longues périodes de temps. De petites variations de profils observés par cette technique, peuvent cacher des modifications complexes (Boerlin et coll. 1996). D'autre part, les résultats obtenus par cette technique ne concordent pas toujours avec ceux obtenus par d'autres techniques telles la ribotypie (Olsen et coll. 1997).

Les enzymes les plus souvent retenues sont *Xba*I, *Spe*I et *Not*I (Millemann, 1998; Struelens et coll.2001)

3-2-1-2-2: Macrorestriction et hybridation sélective:(utilisation de sondes)

Le principe consiste à utiliser des sondes nucléiques universelles ou spécifiques d'une espèce ou de plusieurs sérotypes, marquées, qui sont complémentaires et hybrident avec des éléments répétés présents seulement sur quelques fragments du génome.

Les fragments obtenus sont alors visualisés et seuls les fragments contenant les éléments répétés sont mis en valeur par les sondes marquées.

a- La ribotypie (profil de restriction de l'ADN pour les ARN ribosomaux):

L'ARN (l'acide ribonucléique) ribosomique est organisé en opérons ubiquitaires chez beaucoup d'espèces bactériennes et hautement conservé. La ribotypie consiste en l'utilisation des opérons 16S et 23S de l'ARN ribosomique *d'Escherichia coli* pour hybrider les gènes correspondants des autres bactéries (Grimont, et coll.2001).

La ribotypie a permis de déterminer les relations phylogénétiques entre les souches de nombreux sérotypes de *Salmonella* (Old et coll.1999).

La comparaison de profils obtenus par les sondes ribosomiques 16s ou 23s a permis de constituer des arbres phylogénétiques.

Dans des conditions standardisées, la ribotypie est très bien reproductible et d'un grand pouvoir de discrimination et permet avec beaucoup d'efficacité la taxonomie des espèces mais également le typage moléculaire des espèces génétiquement hétérogènes (Millemann, 1996, Eriksson et coll. 2005).

La ribotypie offre la possibilité de varier la nature de la sonde (ADN ou ARN), la taille de l'opéron ribosomique recherché, mais aussi le type et le nombre d'enzymes de restriction.

Millemann (1996) a utilisé la ribotypie pour l'étude épidémiologique des *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis isolées en élevage avicole, qui présentaient entre elles de probables liens de clonalité. En utilisant 4 enzymes choisies (*Hind*III, *Bgl*II, *Pvu*II et *Sma*I), 9 ribotypes ont été recensés parmi les *Salmonella* Typhimurium prouvant les liens de clonalité. Au contraire les *Salmonella* Enteritidis n'ont pas montré de liens dans ce cas précis.

Eriksson et coll.(2005) ont démontré l'efficacité de la ribotypie et de la PFGE pour la détermination des sources et les voies de contamination lors d'épidémie de salmonellose en Suède et en Norvège.

b- IS-typie (Typage par les Séquences d'Insertion, profil de restriction de l'ADN pour les séquences d'insertion) :

Les séquences d'insertion (*insertion sequence*: IS) sont des éléments transposables du génome insérées à des régions moins conservées que les ARN ribosomiques. Ce sont des séquences variables en nombre de copies (de 1 à 100 copies) et en taille (0,7 à 2,5 kb) (Saunders, 2001).

Les séquences IS sont utilisées comme sondes d'hybridation des fragments de restriction pour discriminer des souches reliées d'espèces variées.

En effet plusieurs espèces bactériennes possèdent des séquences pouvant être hybridées à des régions du génome de certains sérotypes de *Salmonella*; C'est le cas de l'IS1 et l'IS3 d'*Escherichia coli* et IS630 de *Shigella sonnei* (Matsutani et coll.1993, Millemann, 1998).

L'IS200 a été identifiée à l'origine sur des mutants de *Salmonella*, à savoir *Salmonella* Typhimurium LT2 (Lam et Roth 1983), c'est une séquence d'environ 700 pb (paires de bases), retrouvée sur le chromosome de la plupart des salmonelles mais aussi sur l'ADN plasmidique de quelques sérotypes.

En 1997, Olsen et coll. rapportent que *Salmonella* Typhimurium peut avoir entre 5 et 20 copies de la séquence IS200 sur son génome alors que *Salmonella* Enteritidis ou *Salmonella* Dublin ne comportent que 2 ou 3 copies et pas de copies du tout chez *Salmonella* Agona, *Salmonella* Hadar ou chez la sous-espèce Arizona (Lam et Roth 1983).

Les enzymes les plus souvent utilisées pour fragmenter le génome sont *Bgl*III, *Pvu*II et surtout *Pst*I qui donne des profils clairs et bien lisibles (Millemann 1998).

L'IS200 est considérée comme un marqueur pouvant être un très bon indicateur de l'évolution à court et moyen terme, à l'interface entre la phylogénie et l'épidémiologie des souches de salmonelles particulièrement pour *Salmonella* Typhimurium (Millemann et coll. 2000) et *Salmonella* Enteritidis qui ont un intérêt médical indéniable, avec un très bon pouvoir discriminant car les profils de l'IS200 sont obtenus grâce au polymorphisme des fragments de restriction des sites d'insertion mais aussi des réarrangements de l'ADN suite aux transpositions (Stanley, 1993; Olsen, 1997).

Cette technique est généralement utilisée en épidémiologie en association avec d'autres techniques, telles que la PFGE et la ribotypie (Chadfield et coll.2001, Millemann et coll. 2000).

c- Autres sondes:

Plusieurs types de sondes sont utilisés, se basant sur le génome ou sur les plasmides.

Les sondes génomiques sont utilisées pour le typage de souches de *Salmonella*, en fait les sondes ciblent des gènes codant pour le LPS (Lipopolysaccharide ou la sous-unité majoritaire des fimbriae de type 1 (Stanley et coll. 1992). Ces sondes sont aussi utilisées pour caractériser des souches ayant des aptitudes pathogènes particulières en recherchant les gènes de virulence tels: *invA* ou *pagC* (Nolan et coll. 1995).

Les sondes plasmidiques sont utilisées pour révéler des gènes de virulence (Gulig et coll.1993) ou impliqués en antibiorésistance. C'est ainsi que le gène plasmidique *spv* est choisi pour son absence ou sa présence pour caractériser les sérotypes à plasmides spécifiques et ainsi donner des indications précises pour les enquêtes épidémiologiques (Stanley et coll.1992, Schwarz et coll.1994).

3-2-1-2-3- Amplification sélective de fragments de restriction (*Selective Restriction Fragment Amplification: SRFA*):

Il s'agit de réduire le nombre de fragments de restriction par amplification sélective de ces derniers, cela consiste d'abord à lier des adaptateurs aux fragments de restriction pour les amplifier ensuite. Les adaptateurs sont des oligonucléotides à double brins avec une extrémité simple brin possédant une complémentarité totale ou partielle avec les sites de restriction (Janssen, 2001).

La technique dite AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) est une SRFA un peu particulière car elle utilise des amorces marquées qui sont les seules à être amplifiées.

L'AFLP est très récente et semble être très intéressante pour séparer des isolats de *Salmonella* à un degré supérieur ou égal au sérotypage (Aarts et coll.1998; Dium et coll.1999; Lan et coll.2003).

Le pouvoir de discrimination semble être similaire à celui de la PFGE même si cette dernière est plus facilement reproductible, interprétable et consomme moins de temps. L'AFLP est plutôt conseillée pour la surveillance et les enquêtes d'épidémies locales (Torpdahl et coll.2005).

Elle est utilisée avec succès pour caractériser les souches de *Salmonella* Typhimurium (Lan, R. et coll. 2003) et a montré 10 profils correspondants sur l'ensemble aux profils obtenus par d'autres techniques de caractérisation (Mikasova et coll.2005).

3-2-2: Profils d'amplification de l'ADN génomique:

La technique repose sur la réaction de polymérisation en chaîne ou PCR (*Polymerase chain Reaction*), elle permet l'amplification in vitro de séquences d'ADN par synthèse enzymatique.

La technique est automatisée grâce à une enzyme (ADN polymérase: la *Taq* polymérase), thermostable, isolée d'une bactérie thermophile adaptée à la vie dans des sources d'eau chaude: *Thermus aquaticus* (Saiki et coll.1988).

Les profils chromosomiques par amplification peuvent être déterminés de différentes manières:

3-2-2-1: Polymorphisme de l'ADN amplifié au hasard ou RAPD (*Random Amplified polymorphic DNA*):

C'est une technique PCR qui utilise une seule et courte amorce oligonucléotidique dont la séquence est choisie au hasard, ce qui permet l'amplification de nombreux fragments de différentes tailles en donnant des profils d'ADN après électrophorèse en gel d'agarose.

C'est une technique souvent utilisée pour le typage de plusieurs espèces bactériennes et particulièrement *Listeria monocytogenes* (Giovanacci, 1999) et *Salmonella* (Millemann, 1996; Chansiripornchai et coll.2000; Maré et coll.2001; Yan et coll.2003).

La RAPD est décrite comme une technique simple, rapide, efficace et discriminante pour le typage des bactéries mais manque de reproductibilité car elle fait intervenir plusieurs facteurs qui ne sont pas toujours évidents à maîtriser (Towner et coll.2001; Eriksson et coll.2005).

La RAPD est utilisée pour les enquêtes épidémiologiques et donne des résultats très valables, elle est simple, rapide, moins chère et surtout unique pour des résultats préliminaires rapides (Yan et coll.2003).

L'emploi de plusieurs amorces choisies permet aussi d'avoir des profils intéressants surtout pour *Listeria monocytogenes* (Giovanacci, 1999), cette méthode est moins intéressante pour *Salmonella* Typhimurium avec les amorces OPG04, OPG10 et OPH4 car elles ne montrent pas de corrélation avec les ribotypes (Millemann, 1996).

3-2-2: Amplification spécifique de séquences répétées : (rep-PCR et eric-PCR):

Le génome bactérien possède des gènes répétés dont les gènes codant pour l'ARN ribosomal et les séquences d'insertion transposables IS, mais aussi de courtes séquences conservées dites séquences REP (Repetitive Extragenic Palindromic) et ERIC (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus*), retrouvées chez plusieurs espèces.

Des amorces spécifiques (couple REP1R-I/REP2-1) permettent d'amplifier l'ADN compris entre les séquences (ERIC1R et ERIC2) et comme l'espace entre les séquences répétées diffère d'une unité répétée à l'autre, on obtient différents profils par électrophorèse (Versalovic et coll.1991; Towner et coll.2001).

Ces techniques ont été appliquées avec plus ou moins de succès pour le typage des salmonelles (Struelens et coll.1996). En effet elles semblent moins discriminantes que la ribotypie chez *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis d'origine aviaire (Millemann, 1996) pour l'eric-PCR et ne permettent pas de discrimination chez *Salmonella* Dublin (Kerouanton et coll.1996), mais d'autres auteurs ont obtenu des résultats contradictoires (Burr et coll.1998). Une bonne corrélation entre les profils ERIC et les sérotypes de *Salmonella* a été démontrée par ailleurs (Van Lith et coll.1994, Saxena et coll.2002).

Weigel et coll.(2004), ont étudié et conclu que la rep-PCR est capable de différencier les isolats de *Salmonella* du même sérotype avec une moindre reproductibilité et le même nombre de profils que la PFGE, cela est confirmé par Yan et coll.(2003) qui accordent à la rep-PCR un très bon pouvoir de discrimination ,une reproductibilité faible mais une certaine difficulté de mise en oeuvre de la technique.

3-3: Marqueurs liés aux gènes:

L'amplification spécifique grâce à la PCR a permis d'étudier le gène ou un fragment de gène, qu'il soit codé par un plasmide ou par un chromosome.

3-3-1: Polymorphisme de restriction (RFLP).

Le gène ou la portion de gène portant des informations spécifiques de l'espèce par exemple des gènes de virulence ou ceux codant pour les ARN ribosomiques sont amplifiés à l'aide d'amorces spécifiques. Les fragments amplifiés subissent des restrictions et l'électrophorèse se charge de montrer le polymorphisme interne du gène ou de la portion du gène (Vines et coll. 1998). En exemple, deux gènes ou portions de gènes de deux bactéries d'une même espèce, codant tous les deux pour la virulence, peuvent montrer des profils différents.

3-3-2: Polymorphisme par amplification – exemple de la ribotypie par PCR:

L'espace intergénique 16S-23S, des gènes codant pour les ARN ribosomiques, diffère en longueur et en taille selon l'espèce. L'amplification de la région intergénique génère des fragments de différentes tailles, observable sur gel d'agarose classique mais de profils uniques spécifiques pour certains sérotypes de *Salmonella*, alors que d'autres ont montré plusieurs profils (Nastasi, 1997; Millemann et coll. 2000).

4- Interprétation et analyse des résultats de typage moléculaire:

Les méthodes de typage génotypique, fondées sur la taille des fragments d'ADN après séparation par électrophorèse en gel d'agarose, ont permis d'établir les liens de parenté entre les souches bactériennes, en s'appuyant sur le nombre absolu de bandes différentes ou sur le pourcentage de similitude de profils de bandes.

Selon Tenover et col.1995, Struelens et col. 1996, van Ooyen, 2001, la similitude entre profils génomiques S_d est généralement calculée par l'indice de Dice selon la formule suivante:

$$S_d = \frac{2a}{2a+b+c}$$

Où : a est le nombre de fragments communs,

b et c sont le nombre de fragments non communs dans chaque piste d'une comparaison deux à deux.

Selon Giovannacci, (1999), cet indice donne plus de poids aux similitudes qu'aux différences, il serait particulièrement intéressant lorsque le pouvoir discriminant de la technique est élevé. Il convient d'interpréter le nombre de bandes différentes avec attention: Son poids est proportionnel au dénominateur de la formule de l'indice de Dice, qui représente le nombre de fragments d'ADN séparés. Ce nombre est relié au choix et au nombre de sites génomiques sondés et dépend du nombre et de la nature des enzymes ou amorces utilisées, de même que des conditions d'amplification et de séparation des fragments.

L'interprétation du nombre total de bandes différentes peut être améliorée en considérant le nombre minimum d'événements génétiques nécessaires pour produire la variation observée, comme l'ont proposé Tenover et col. (1995). Une différence de une à trois bandes observée dans les profils RFLP ou par analogie dans des profils RAPD avec une résolution supérieure à 10 bandes d'ADN, est équivalente à au moins un événement génétique. Une différence de 4 à 6 bandes devra, de la même façon, être assimilée à au moins deux événements génétiques. Le nombre de bandes différentes considéré pour séparer un groupe clonal, dépend de plusieurs facteurs techniques et biologiques incluant: le pouvoir de résolution du système de typage (dénominateur de la formule de Dice), la plasticité génomique de l'organisme considéré et l'échelle de temps de l'étude. Dans tous les cas, les valeurs de similitude des profils doivent être calculées d'après un nombre, si possible, important de sites génomiques par bandes pour chaque souche.

Les coefficients de similitude de profils peuvent être soumis à des méthodes d'agrégation mathématiques permettant la construction de dendrogrammes, qui reflètent les liens de parenté au sein des populations étudiées. La méthode la plus utilisée est la méthode dite du diamètre moyen, autrement notée UPGMA (*Unweighted-Pair Group Method of Average Linkage*). L'agrégation se fait pas à pas, en regroupant les profils en fonction de leur similitude. Chaque nouveau profil est rattaché à la grappe moyenne la plus proche, c'est à dire que la proximité de la grappe est la moyenne arithmétique de la proximité de tous les profils la composant (Giovannacci, 1999, van Ooyen, 2001).

Après l'obtention du dendrogramme, il est possible de discuter de façon objective des liens entre les souches et de fixer un seuil à partir duquel les isolats devront être considérés comme appartenant à un même type, en tenant compte du contexte épidémiologique de collecte des souches (Giovannacci, 1999, Barrett, 2006).

Selon Deplano, (2002), l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus par les marqueurs épidémiologiques génotypiques est possible par comparaison visuelle seulement pour un nombre restreint (inférieur à 30 profils). Par contre, lorsque le nombre de profils est grand, l'analyse requiert l'utilisation de logiciels tels que BioNumerics ou GelCompar (Applied-Maths, Belgique), BioImage (BioImage, USA) ou Taxotron (Taxolab, France).

5- Applications:

Les principales applications (voir tableau VIII) de ce marqueurs épidémiologiques sont (Deplano, 2002; Liebana, 2002):

- Les investigations d'épidémies causées par des bactéries pathogènes, qui nous permettent de conclure s'il y a ou pas une source commune. Comprendre qu'elle est causée par un ou plusieurs clones et connaître le ou les réservoirs ainsi que le ou les modes de transmission.
- Vérification des mesures de contrôle pour la maîtrise de la transmission des pathogènes.
- Fournir des informations dans le cadre de programmes de surveillances épidémiologiques.
- Etude de la génétique des populations bactériennes.
- Etudes sur les sources et routes de transmission des pathogènes à l'homme.
- Etudes de surveillances spécifiques.

<i>Techniques</i>	<i>Applications</i>	<i>T</i>	<i>S</i>	<i>R</i>	<i>D</i>
Phénotypiques					
Sérotypie	Surveillance, I.E.	++	+++	++	+
Lysotypie	Surveillance, I.E.	+/-	+++	++	+/-
MEE	Laboratoires de référence Phylogénie	+++	+++	++	+
Génétiques					
ADN plasmidique					
analyse du contenu	Tr., I.E.	+++	+/-	++	+/-
restriction des plasmides		+++	+/-	++	+/-
ADN chromosomique					
restriction-Analyse RFLP					
Restriction classique	Tr., I.E.	+++	++	++	+
PFGE	Tr., I.E.	+++	++	++	+++
Ribotypie	Phylogénie	+++	+++	+++	+
	Surveillance				
IS typie	Phylogénie	+++	+++	+++	++
	Tr.				
AFLP	Tr.	+++	?	++	+
amplification					
RAPD ou AP-PCR	Tr., I.E.	+++	++	+	++
REP et ERIC-PCR	Tr., I.E.	+++	++	+	+
Opérons ou régions de gènes					
restriction RFLP					
Ex : Gènes de virulence	Tr.	+++		++	?
amplification					
Ex : Espaces entre 16S-23S	Tr.I.E.	+++		++	+

Tableau 8: Caractéristiques des principales techniques de typage bactérien appliquées à *Salmonella*, principalement d'après Bille et Rocourt (1996), Tenover et coll.(1997), Millemann (1998), Struelens et coll.(1998) et Deplano (2002).

Abréviations et symboles:

T: capacité de typage. S: stabilité. R: reproductibilité. D: pouvoir discriminant.

+++ : Excellent. ++: ++: Bon. +: modéré. +/-: variable. En fonction des espèces bactériennes, des sérotypes, ou de la région géographique. -: mauvais.

Tr.: Traçabilité, étude de la dissémination de populations bactériennes dans un micro-environnement, sur une période de temps limitée (jours à mois).

I.E.: Investigation épidémiologique suite à une épidémie (incrimination d'un aliment).

Surveillance: Contrôle de la dissémination géographique et de la prévalence de clones particuliers, épidémiques ou endémiques sur une longue période (années, décades).

INTRODUCTION

La bibliographie souligne que le poulet de chair constitue une des sources les plus importantes de salmonellose humaine d'origine alimentaire. La présence de *Salmonella* a été en effet mise en évidence à tous les maillons de la filière aviaire, ce qui constitue un risque pour la sécurité alimentaire.

A Constantine, comme sur tout le territoire national, la consommation du poulet de chair n'a cessé d'augmenter dans la dernière décennie, à l'instar de la production, des volumes commerciaux et de la consommation mondiale. Par ailleurs, les isolements de salmonelles impliquées dans les toxi-infections alimentaires diminuent peu au niveau du service de microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Constantine, et ce, malgré les énormes efforts déployés pour la prévention des salmonelloses humaines. Ces dernières données laissent supposer des liens épidémiologiques directs ou indirects entre d'une part la consommation du poulet de chair et toutes les étapes de sa filière et d'autre part le consommateur ou le patient potentiel. La tâche est énorme, c'est pourquoi nous nous limiterons dans notre travail, à la mesure des moyens à notre disposition, à sonder les élevages et leur environnement ainsi que les abattoirs et leur environnement et nous nous bornerons à étudier les souches de salmonelles humaines gracieusement transmises par le service de Microbiologie du C.H.U. de Constantine. Ainsi les objectifs de notre travail ont été les suivants:

- Estimer la prévalence de la contamination des élevages de poulet de chair et des abattoirs avicoles de la wilaya de Constantine par des salmonelles.
- Décrire les sérotypes rencontrés, comparer la fréquence de leur isolement et étudier leurs résistances aux principales familles d'antibiotiques.
- Déterminer les facteurs de risques potentiels liés à la contamination des élevages et des abattoirs et leur environnement.
- Rechercher des liens génétiques pouvant étayer des liens épidémiologiques entre les souches de salmonelles provenant de différentes sources (Elevages et leur environnement; Abattoirs et leur environnement mais aussi les souches recueillies au service de Microbiologie du Centre Hospitalo- Universitaire de Constantine, sur des humains ayant subi des toxi-infections alimentaires), pouvant nous autoriser des hypothèses relatives aux probables sources et voies de transmission des salmonelles et une idée de leur incidence sur les consommateurs. Pour cela, les travaux se sont déroulés en deux phases:

Une première phase de collecte d'isolats dans les élevages de poulet de chair, dans les deux dernières semaines avant l'abattage, puis sur les carcasses de poulet de chair au niveau des tueries et leurs environnements. L'étude s'est déroulée dans la wilaya de Constantine. Les prélèvements ont été réalisés dans des élevages et abattoirs exclusivement privés, les analyses d'isolement, d'identification et de confirmation biochimique se sont déroulées au laboratoire de recherche en pathologie animale, développement des élevages et surveillance de la chaîne alimentaire du département des sciences vétérinaires de l'université de Constantine, alors que la confirmation par agglutination de Wright (sérum polyvalents) s'est réalisée au service de Microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.

Une phase de typage bactérien a consisté à sérotyper tous les isolats recueillis en élevages , abattoirs et ceux gracieusement fournis par le service de Microbiologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine, à réaliser leurs antibiogrammes puis à les caractériser par des techniques de typage génotypiques, notamment ERIC-PCR, IS-PCR et PFGE dans le but de tracer avec précision la diffusion des souches et démontrer d'éventuels liens génétiques, pouvant suggérer d'éventuels liens épidémiologiques.

Chapitre 1 : Matériels et méthodes :

1.1 : Echantillonnage :

La wilaya* de Constantine est située à l'est du territoire Algérien, elle est constituée de 12 communes et possède 103 élevages recensés aux services agricoles, dont seuls 63 sont fonctionnels mais aussi 28 abattoirs agréés par les services vétérinaires, dont 18 sont opérationnels (Anonyme 2006d).

Notre étude a porté sur 30 élevages, tous privés, ayant bien voulu participer volontairement au travail ; nous avons essayé de couvrir toutes les communes avec au minimum un élevage par commune (figure n°3).

Les abattoirs sont par contre concentrés dans leur majorité sur la commune de Constantine : notre travail a porté sur 15 abattoirs qui ont accepté volontairement de participer à l'étude, 3 abattoirs ayant décliné l'offre de participation à l'étude.

Tous les prélèvements ont été effectués par le même opérateur en élevages et par un même autre opérateur pour les abattoirs.

1.2 : Questionnaires :

Une première visite a été effectuée dans chaque élevage et chaque abattoir pour répondre à un certain nombre de questions se rapportant à différentes rubriques, comme l'emplacement et l'environnement de l'établissement, ses infrastructures, son équipement, son fonctionnement, son hygiène (jugée sur différents critères tels que : désinsectisation, dératisation, fréquences de nettoyage des équipements, des infrastructures et du personnel, présence de sanitaires, d'eau et de savon, habits spécifiques etc.), personnel, alimentation, utilisation des médicaments vétérinaires, transport des animaux et livraisons des denrées et une dernière rubrique pour les observations personnelles.

Les questions étaient courtes et précises, ne nécessitant en général que des réponses par oui ou non, présence ou absence, voire des chiffres.

* : Unité territoriale du découpage administratif, constituée de plusieurs communes, la commune étant la plus petite unité de découpage administratif en Algérie.

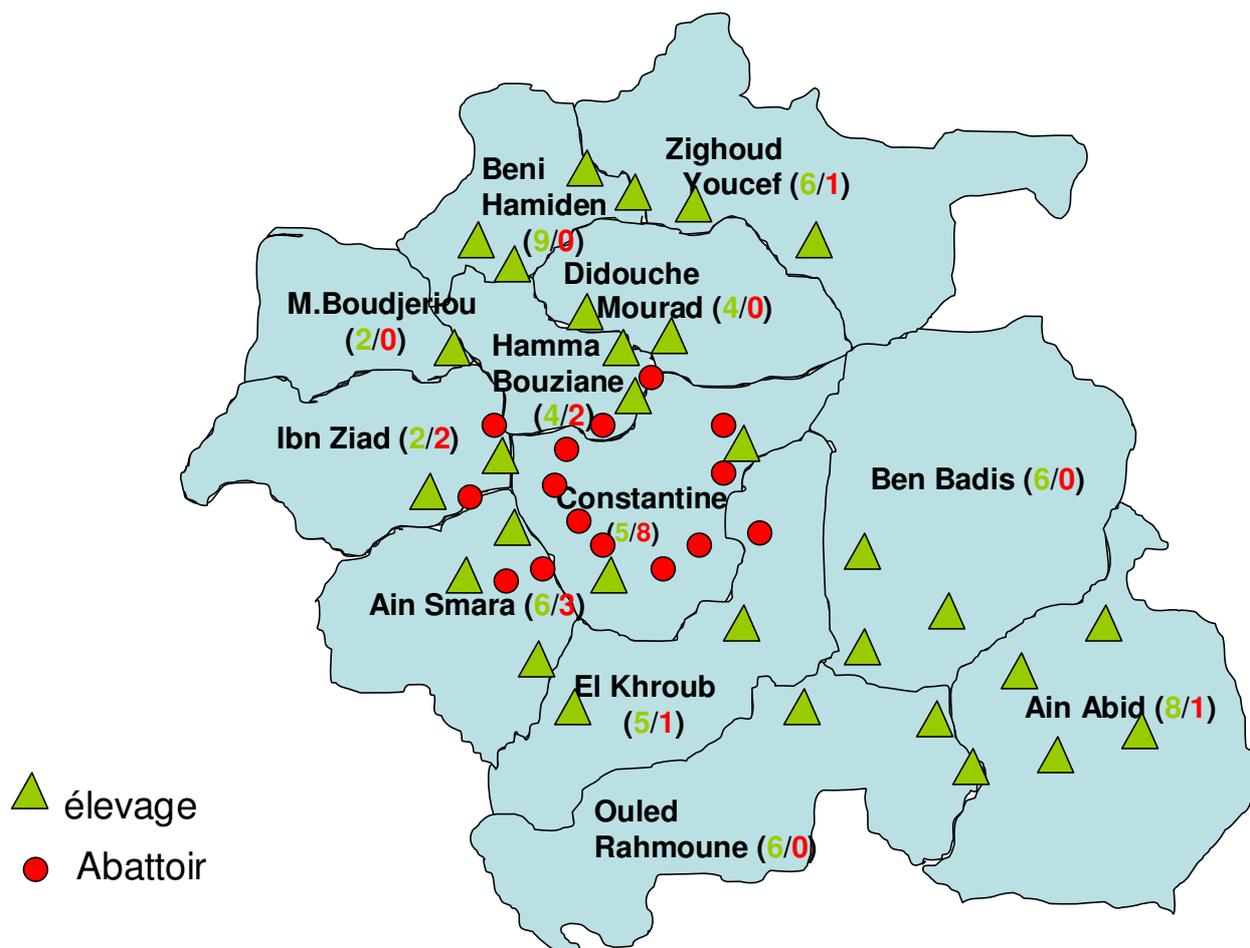


Figure n°3 : localisation des élevages et abattoirs étudiés dans la Wilaya de Constantine. Pour chaque commune est indiqué entre parenthèses le nombre d'élevages et abattoirs opérationnels. Les élevages sont représentés par des triangles verts et les abattoirs par des ronds rouges.

1.3: Prélèvements:

Pour des raisons techniques, les prélèvements se sont déroulés en 2 campagnes bien distinctes. Le matériel nécessaire aux prélèvements est détaillé en annexe n°5.

1.3.1- Première campagne:

1.3.1.1 : En élevages:

450 prélèvements ont été effectués durant la période allant d'octobre 2005 à mai 2006, chaque échantillon était accompagné d'une fiche de suivi comportant les rubriques suivantes: Le nom de l'opérateur, la date, le type et l'heure de prélèvement, la race et l'âge des animaux, leur origine, la température du jour et les signes éventuels de pathologies (voir fiche de suivi des prélèvements en annexe 2).

L'échantillon était constitué de 15 prélèvements: 3 pools de 3 fientes chacun et 2 pools de 3 écouvillons cloacaux chacun, qui sont réalisés pour chaque établissement.

Le prélèvement de fientes était constitué de 3 fientes, prélevées au niveau d'un tiers de la surface totale du bâtiment puis mises dans un sachet stomacher stérile.

Le prélèvement cloacal était constitué de 3 écouvillons (1 écouvillon stérile pour chaque poulet) et étaient introduits ensemble dans un sachet stomacher stérile.

Les prélèvements étaient mis dans un caisson isotherme muni de plaques eutectiques, ne dépassant pas 4°C, ramenés au laboratoire dans un délai ne dépassant pas 1 h, mis au réfrigérateur et traités le lendemain matin.

1.3.1.2 : En abattoirs:

150 prélèvements ont été effectués durant la période allant d'octobre 2005 à avril 2006, ils étaient accompagnés de fiches de suivi des prélèvements (voir annexe 2).

10 prélèvements ont été effectués pour chaque tuerie: 5 prélèvements de peau du cou et 5 prélèvements de foie.

Le prélèvement de peau du cou était constitué d'une pièce de 10 g environ, effectué en fin de chaîne d'abattage puis mis dans un sachet stomacher stérile.

Le prélèvement d'organe était constitué d'un morceau de foie d'environ 10 g, effectué en fin de chaîne d'abattage puis mis dans un sachet stomacher stérile.

Les prélèvements étaient mis dans un caisson isotherme muni de plaques eutectiques, ne dépassant pas 4 °C, transportés dans un délai ne dépassant pas 1 h, et gardés au réfrigérateur jusqu'au lendemain pour être traités en même temps que les prélèvements d'élevages.

1.3.2 : Deuxième campagne: Elle s'est déroulée de septembre 2006 à mars 2007.

1.3.2.1 : En élevages:

1350 prélèvements ont été réalisés et accompagnés de fiches de suivi (voir annexe 2).

45 prélèvements ont été réalisés pour chaque établissement, répartis en 7 pools: 2 pools de chiffonnettes stériles pour contrôle microbiologique des surfaces (AES Laboratoire, Combourg, France), 1 pool pour l'eau, 1 pool pour les aliments et 3 pools de fientes.

Les pools de chiffonnettes étaient constitués respectivement de 3 et 2 prélèvements de chiffonnettes humidifiées et stériles avec lesquelles on essayait respectivement les surfaces des mangeoires – abreuvoirs et les murs, qui étaient ensuite regroupés dans 2 sachets stomacher stériles.

Le pool de l'eau était constitué de 5 prélèvements de 5 ml d'eau, prélevés de 5 abreuvoirs différents et mis ensemble dans un sachet stomacher stérile.

Le pool d'aliment était constitué de 5 prélèvements de 5 g d'aliment, prélevés de 5 mangeoires différentes et mis ensemble dans un sachet stomacher stérile.

Les pools de fientes étaient constitués de 30 prélèvements, recueillis à raison de 10 fientes pour chaque tiers de la surface totale du bâtiment et mis dans 3 sachets stomacher stériles.

Les prélèvements étaient mis dans un caisson isotherme, muni de plaques eutectiques, ne dépassant pas 4 °C, transportés dans un délai ne dépassant pas 1 h au laboratoire et gardés au réfrigérateur jusqu'au lendemain pour être traités.

1.3.2.2 : En abattoirs:

540 prélèvements ont été effectués durant la période allant de septembre 2006 à mars 2007, ils étaient accompagnés là aussi de fiches de suivi des prélèvements (annexe n°2).

36 prélèvements ont été effectués pour chaque abattoir, répartis en 8 pools, dont 2 pools de chiffonnettes, 3 pools de foie et 3 pools de peau du cou.

Les pools de chiffonnettes étaient constitués de 3 prélèvements chacun où 6 chiffonnettes humidifiées et stériles étaient utilisées pour essuyer, respectivement la table de travail et les instruments (3 chiffonnettes) et les murs d'abattoirs (3 chiffonnettes) qui étaient ensuite mises dans 2 sachets stomacher stériles.

Les pools de foie étaient constitués de 15 prélèvements, regroupés en 5 prélèvements de 5 g chacun (de 5 poulets différents) et mis dans 3 sachets stomacher stériles.

Les pools de peau du cou étaient constitués de 15 prélèvements, regroupés en 5 prélèvements de 5 g chacun (de 5 poulets différents) et mis dans 3 sachets stomacher stériles.

Les prélèvements étaient mis dans un caisson isotherme, muni de plaques eutectiques, ne dépassant pas 4 °C, transportés dans un délai ne dépassant pas 1 h au laboratoire et gardés au réfrigérateur jusqu'au lendemain pour être traités.

Elevages	Période	Nombre d'élevages	Type de prélèvement	Nombre de prél./élevage	Modalités de prélèvement
Première campagne	Oct. 2005 à mai 2006	30 (63)	Fientes écouvillons	3 pools de 3 fientes 2 pools de 3 écouvillons	3 fientes par tiers de surface du Bâtiment. 1 écouvillon Par poulet
Total		30		15 prélève.	450 prélèvements
Seconde campagne	Sept.2006 à mars 2007	30 (63)	Chiffonnettes Chiffonnettes Eau Aliment Fientes	3 prélèvements 2 prélèvements 5x5ml d'eau 5x5galiment 3pools de10 fientes	Surfaces 2 mange. et d'un abreuvoir. Surface des murs (20 cm du sol) 5 ml d'eau de 5 abreuvoirs 5 g d'aliment de 5 mangeoires 10 fientes par tiers de surface du bâtiment.
Total		30		45 prélèvements	1350 prélèvements
Abattoirs	Période	Nombre d'abattoir	Type de prélèvement	Nombre de prélèv./abat.	Modalités de prélèvements
Première campagne	Oct. 2005 à mai 2006	15 (18)	Peau du cou Foie	5 prélèvements 5 prélèvements	10 g de peau du cou de chaque poulet 10 g foie / poulet
Total		15		10	150 prélèvements
Seconde campagne	Sept. 2006 à mars 2007	15 (18)	Chiffonnettes Chiffonnettes Foie Peau du cou	2 pools de 2 et 1 prélève 1 pool de 3 prélèvements 3 pools de 5x5g de foie 3 pools 5x5g peau du cou	2 chiff. Pour la table de travail et 1 chiff. pour instruments 3 chif. pour les murs (20cm du sol) 5 g de foie de chaque poulet 5 g peau cou/poulet
Total		15		36 prélèvements	540 prélèvements

Tableau n° 9 : Organisation des prélèvements en élevages et abattoirs.

Prél. : Prélèvement ;

Chiff. : Chiffonnettes

Abat. : Abattoir

1.4 : Méthodes d'analyses:

1.4.1: Analyses bactériologiques:

1.4.1.1 : Première campagne:

Elle s'est déroulée d'octobre 2005 à avril 2006. La méthode d'analyse retenue était inspirée de la méthode française de routine NF V 08-052 de mai 1997, et comportait les étapes suivantes:

Le prélèvement était retiré du réfrigérateur, pré-enrichi au 1 / 10 avec de l'eau peptonnée tamponnée (Difco, le Pont de Claix, France), homogénéisé au Stomacher (Seward, Angleterre) pendant 2 mn, laissé pour revivification à température ambiante pendant 30 mn puis incubé à 37°C pendant 18 à 20 h, c'est le pré-enrichissement.

2 ml et 1 ml du pré enrichissement étaient respectivement transférés pour enrichissement, dans 20 ml de bouillon Sélénite cystine (Diagnolab, Barcelone, Espagne) et 10 ml de bouillon au tétrathionate de sodium de Mueller-Kaufmann (Merck, Darmstadt, Allemagne) et incubés pendant 24 h à 37 et 42°C.

Le lendemain, 0,1 ml de chaque tube était ensemencée dans une boîte de gélose Hecktoen (Biokar, Beauvais, France) et étuvée à 37°C pendant 24 h.

Les boîtes étaient ensuite examinées, après quoi 2 ou 3 colonies suspectes (colonies à contours réguliers, vertes à nuances bleuâtres et à centres noirs) étaient prélevées et réensemencées en gélose Hektoen et incubées à 37°C pendant 24 h en vue de les purifier.

La confirmation biochimique était réalisée grâce à l'ensemencement par piqûre puis en strie d'un tube de T.S.I.: Tri- Sugar Iron Medium (Biokar, Beauvais, France), puis 24 h après d'une galerie API 20E (Bio Merieux, Marcy l'Etoile, France) et incubées à 37°C pendant 24 h.

La confirmation sérologique était faite par les tests d'agglutination sur lame, effectuée au Centre Hospitalo-universitaire de Constantine et consistaient en l'utilisation de sérums polyvalents anti O et anti H (Diagnostic Pasteur, Paris, France) selon le schéma de Kaufmann-White.

1.4.1.2 : Deuxième campagne:

Elle s'est déroulée de septembre 2006 à mars 2007.

La méthode retenue était plutôt inspirée de la norme horizontale de référence ISO 6579 de 2001 et comportait les étapes suivantes:

Le prélèvement était sorti du réfrigérateur, pré-enrichi au 1/10 avec de l'eau peptonnée tamponnée

(Difco, le Pont de Claix, France), homogénéisé au Stomacher (Seward, Angleterre) pendant 2 mn, laissé pour revivification à température ambiante pendant 30 mn puis incubé à 37°C pendant 18 à 20 h, c'est le pré-enrichissement.

1 ml et 0,1 ml du pré-enrichissement étaient respectivement transférés pour enrichissement dans 10 ml de bouillon au tétrathionate/novobiocine de Mueller-Kaufmann (Merck, Darmstadt, Allemagne) et 10 ml de bouillon Rappaport-Vassiliadis modifié au peptone de soja/chlorure de magnésium/vert malachite (bouillon RVS) (Biokar Diagnostics, Beauvais, France) et incubés respectivement à 37 °C et 42 °C pendant 24 h.

Le lendemain, une boîte de gélose Hecktoen (Biokar Diagnostics, Beauvais, France) était ensemencée à l'aide d'une anse de platine à partir des 2 milieux d'enrichissement et étuvée à 37°C pendant 24 h. Les boîtes étaient ensuite examinées, après quoi 2 ou 3 colonies suspectes (colonies à contours réguliers, vertes à nuances bleuâtres et à centres noirs) étaient prélevées et réensemencées en gélose Hecktoen et incubées à 37°C pendant 24 h en vue de les purifier.

La confirmation biochimique était réalisée grâce à l'ensemencement par strie puis en piqûre d'un tube de T.S.I. (Biokar, Beauvais, France), puis d'une galerie API 20E (Bio Merieux, Marcy

l'Etoile, France), et incubées à 37°C pendant 24 h.

La confirmation sérologique était faite par les tests d'agglutination sur lame, effectuée au Centre Hospitalo-universitaire de Constantine et consistaient en l'utilisation de sérums polyvalents anti O et anti H (Diagnostic Pasteur, Paris, France) selon le schéma de Kaufmann-White.

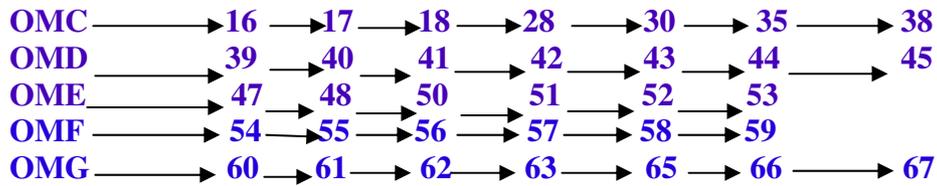
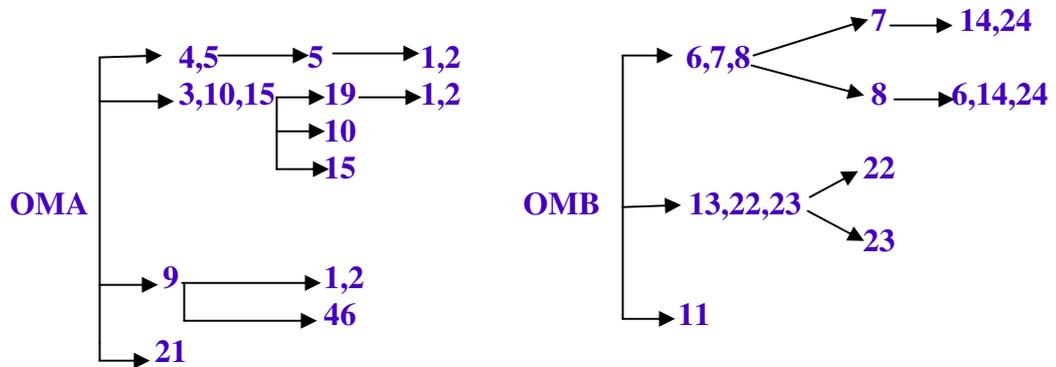
1.4.2: Sérotypage:

Le sérotypage a été effectué au Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur la Qualité des Aliments et des Procédés agroalimentaires (LERQAP) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) de Maisons-Alfort, Paris (France) par agglutination sur lame à l'aide d'une culture fraîche des salmonelles et des sérums appropriés. Il a d'abord été vérifié que les isolats n'étaient pas en phase rugueuse (Rough: R.) ou auto agglutinables, en observant qu'aucune agglutination n'apparaissait en les mélangeant à une goutte d'eau physiologique.

Les sérotypes étaient déterminés en utilisant d'abord les sérums O polyvalents ou sérums mélange: OMA, OMB, OMC, OMD, OME, OMF et OMG puis par les sérums monovalents anti O et enfin par les sérums anti H (HMA, HMB, HMC et H1), selon le schéma de sérotypage suivant (Figure n° 4):

En pratique, les sérums polyvalents OMA et OMB permettent de déterminer 99 % des souches de *Salmonella*. L'utilisation des sérums monovalents anti-O permet de préciser le groupe auquel appartient la salmonelle. Le facteur 12 et le facteur 1 ne sont pas recherchés ou rarement, car ils sont retrouvés chez de nombreux sérotypes et peuvent provoquer des agglutinations gênantes. Enfin le tableau de Kaufmann-White, est utilisé pour la détermination de la formule antigénique et lecture des résultats du sérotypage.

Ag . SOMATIQUES



Ag . FLAGELLAIRES

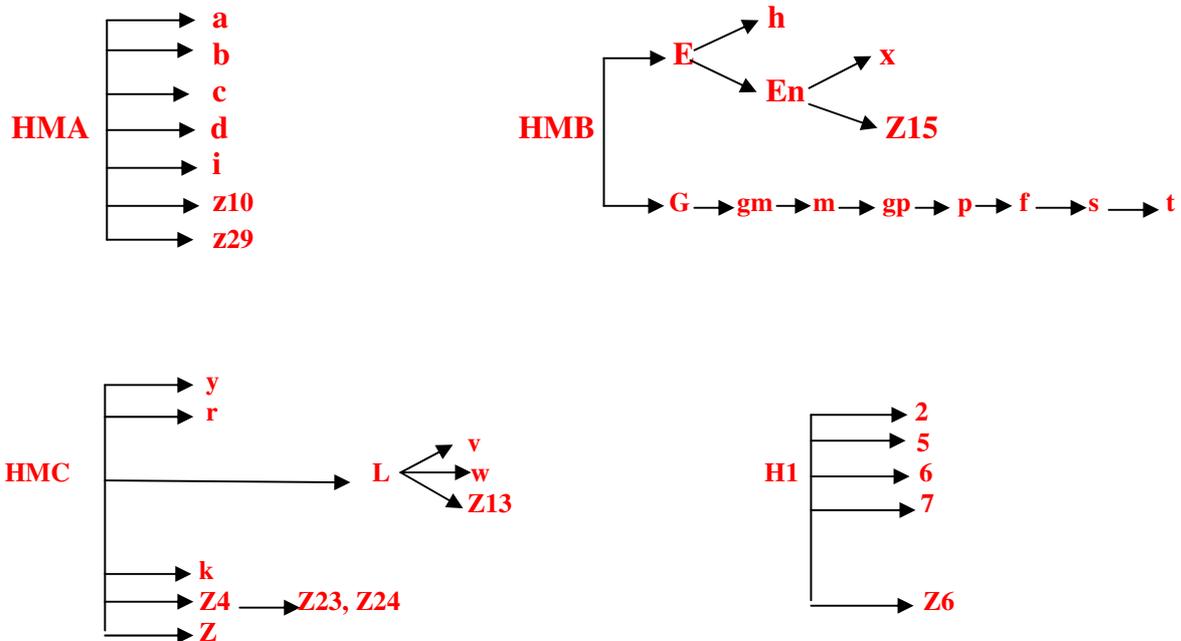


Figure n° 4 : Schéma de sérotypage

1.4.3. Antibiogrammes:

Le matériel nécessaire à la réalisation des antibiogrammes est détaillé en annexe n°5

Les antibiogrammes ont été réalisés au laboratoire d'Etudes et de Recherches sur la Qualité des Aliments et des Procédés Agroalimentaires de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA-LERQAP) de Maisons Alfort, Paris. Ils ont été réalisés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller- Hinton Agar, pour 16 disques d'antibiotiques (BIORAD), selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2006).

Les antibiotiques étudiés sont les suivants: **AM** : ampicilline (10 µg), **AMC** : amoxicilline + acide clavulanique (20/10 µg), **C** : chloramphenicol (30 µg), **SXT** : triméthoprim + sulfaméthoxazole (1,25/23,75 µg), **CF** : céfalotine (30 µg), **CTX** : cefotaxime (30 µg), **CAZ** : ceftazidime (30 µg), **SSS** : sulfamides (200 µg), **S** : streptomycine (10 UI), **TE** : tetracycline (30 UI), **CS** : colistine (50 µg), **K** : kanamycine (30 UI), **GM** : gentamycine (10 UI), **NA** : acide nalidixique (30 µg), **OFX** : ofloxacin (5 µg), **ENR** : enrofloxacin (5 µg).

Après une culture bactérienne de 18 à 24 h en bouillon Trypticase-soja à 37 °C, des géloses « Mueller Hinton » ont été inondées par les suspensions bactériennes, en diluant l'inoculum au 1/1000, pour obtenir l'équivalent de 10⁶ CFU/ml. La lecture s'effectuait après 18 à 20 h d'incubation à 37°C.

Les mesures des diamètres des zones d'inhibition ont été réalisées par un automate de lecture: OSIRIS system (BIORAD), puis les résultats interprétés selon les critères du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie critères CA-SFM).

1.4.4: Réaction de polymérisation en chaîne (P.C.R.):

Le matériel nécessaire à la réalisation de la PCR est détaillé en annexe n°5.

1.4.4.1: Extraction de l'ADN par « Boiling method »:

Après une culture de nuit dans 5 ml de BHI (Brain Heart Infusion): Bouillon Cerveille Cœur, à 37°C. On prélève 1,5 ml du bouillon de souches dans un tube Eppendorf qu'on centrifuge à 12000 tr/mn pendant 10 mn, auquel on élimine le surnageant avec la pipette, puis on re-suspend le précipité dans 100 µl d'eau ultra pure, qu'on re-centrifuge à 12000 tr/mn pendant 10 mn, auquel on élimine le surnageant encore une fois, puis on dissout le précipité dans 100 µl d'eau ultra pure et on le porte à ébullition pendant 10 mn, puis on le re-centrifuge une dernière fois à 12000 tr/mn pendant 10 mn(pour séparer l'ADN des autres constituants de la bactérie) et enfin on prélève délicatement 60 µl du surnageant dans un autre Eppendorf, qu'on répartit en 2 fois 30 µl dans des tubes PCR à 0,5 µl et on les conserve à – 20 °C jusqu'à utilisation.

1.4.4.2: Réalisation de la P.C.R.

- Principe:

C'est l'amplification de manière importante, cyclique et spécifique d'un fragment d'ADN, grâce à une ADN polymérase (*Taq* polymérase : *Thermus aquaticus* polymérase) thermostable, en présence d'amorces spécifiques et de nucléotides.

- Réalisation de la PCR:

Les différents isolats ont été caractérisés par l'IS-PCR (*Insertion Sequence- PCR*) et l'ERIC-PCR (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus- PCR*). Il s'agit pour les deux types de PCR, d'amplifier les segments intergéniques en utilisant pour chacune, un couple d'amorce défini d'après des séquences connues et répétées du génome des bactéries. C'est ainsi qu'on obtient des profils spécifiques de chaque souche, selon l'emplacement et le nombre de copies de ces séquences dans le génome bactérien (Millemann et coll. 2000). Les séquences des amorces oligonucléotidiques sont :

ERIC 1R: ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC

ERIC 2 : AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG

IS 1R : AGGCGCATCTGAAAAACCTCGG

IS 2 : CGGAACCCCCAGCCTAGCTGGG

Les volumes nécessaires à la réaction sont déterminés par une feuille de calcul EXCEL, selon le nombre de souches à traiter, en prévoyant en plus le témoin négatif et le témoin positif.

Les amorces sont diluées selon les volumes nécessaires et le nombre de souches traitées.

Le mélange réactionnel est réalisé sous hotte de biologie moléculaire et comprend:

- Le volume nécessaire d'eau ultra Pure.
- Les volumes nécessaires d'amorces diluées.
- Le volume nécessaire du nucléotide dNTP.
- Le volume nécessaire du Tampon 10X.
- Le volume nécessaire de *Taq* DNA polymérase.

Le mix est ensuite réparti à 22,5 µl dans des tubes PCR, auxquels sont rajoutés 2,5 µl d'extrait d'ADN.

Les réactions sont alors effectuées dans un thermocycleur PERKIN ELMER 9700 (Courtaboeuf, France).

- **Electrophorèse:** Les produits de PCR sont séparés par électrophorèse en gel d'agarose à 2 % contenant du bromure d'éthidium à la concentration finale de 1 µg/ml, et tamponné avec du TBE 1X (Tris Borate Ethylène Diamine Tétracétique Acide). L'ADN migre sous une tension de 120 V, à un ampérage de 200 mA, pendant 2 h. La lecture s'effectue sous une lampe à U.V. (Ultra- Violet) avec un imageur, intégrant le logiciel informatique Alpha Imager (Alpha Innotech Corporation, San Leandro, USA).

1.4.5: Electrophorèse en champ pulsé (*Pulsed Field Gel Electrophoresis* : PFGE)

Le matériel nécessaire à la réalisation de la PFGE est détaillé en annexe n°5

Principe: La technique utilisée est basée sur l'analyse de l'ADN total, un marqueur stable. Initialement, l'utilisation d'enzymes de restriction à haute fréquence de coupure rendait l'interprétation complexe du fait de la présence d'un nombre élevé de fragments sur le gel (Marschal et coll., 1984). Le recours à des enzymes de restriction à faible fréquence de coupure a permis de diminuer le nombre de fragments. Cependant, ces fragments étaient de plus haut poids moléculaire et dans un gel classique, de telles molécules avaient une mobilité restreinte et n'avaient donc pas la possibilité d'être séparées. En 1984, apparaît un nouveau concept de séparation des molécules d'ADN supérieure à 50 Kb. Celui-ci a été proposé par SCHWARTZ et CANTOR (Schwartz et coll., 1984). Il s'agissait d'utiliser des champs électriques activés alternativement (champs pulsés). Cette technologie permet de séparer des molécules d'ADN variant de quelques Kb à environ 10 Mb.

Réalisation : Le protocole utilisé pour cette étude est celui décrit par Peters et coll. en 2003. Ce dernier a été adapté à partir d'un protocole défini pour *Escherichia coli* par le CDC (Center for Diseases Control) d'Atlanta, Etats Unis d'Amérique. Un protocole standardisé a également été publié par Ribot et coll (2006). Il comporte trois grandes étapes :

Extraction d'ADN : Au préalable à l'extraction de l'ADN, il est nécessaire de mettre en culture les bactéries. Un premier ensemencement est réalisé sur gélose Drigalski (Bio Merieux, Marcy l'Etoile, France), afin de vérifier la pureté des souches. Une colonie de cette gélose est ensuite repiquée sur une gélose de TSAYE (Oxoid Basingstoke, Hampshire, England). A partir de ces boîtes, une suspension bactérienne est réalisée dans un tampon CSB (Cell Suspension Buffer). Cette suspension est alors incubée quelques minutes avec de la protéinase K, afin d'améliorer l'étape de lyse en dégradant les protéines. L'électrophorèse en champ pulsé nécessite l'extraction de l'ADN total à partir des souches à analyser. L'un des critères importants du protocole est l'obtention d'un ADN purifié. Il ne doit subir aucune dégradation c'est à dire aucune coupure physique ou enzymatique. Pour ce faire, l'ADN est emprisonné dans des petits blocs d'agarose (plugs) afin de le protéger pour les étapes suivantes. Les plugs sont alors incubés dans une solution de lyse contenant de la protéinase K. L'adjonction d'un détergent (le SDS) au moment de l'inclusion du matériel génétique dans l'agarose permet de délipider la membrane bactérienne et de renforcer l'étape de la lyse. Les plugs sont enfin rincés plusieurs fois à l'eau puis au TE (Tris-Ethylène Diamine Tétracétique Acide) puis stockés à 4°C ou utilisés directement pour la digestion enzymatique.

Digestion enzymatique :

Le choix des enzymes de restrictions est important et il se porte sur celles ayant des sites de restriction rares sur le chromosome bactérien. Elles permettent de couper le chromosome en 10 à 20 fragments de grandes tailles, qui seront alors séparés par l'électrophorèse en champ pulsé. Différents facteurs entrent en jeu pour le choix des enzymes. Le pourcentage en guanine et cytosine (GC %) du génome bactérien à analyser est important à prendre en compte : un ADN avec un faible pourcentage sera coupé en un petit nombre de fragments si on utilise des enzymes

reconnaissant des sites riches en guanine et cytosine. L'utilisation d'enzymes de ce type permettra sur des séquences riches en adénine et thymine d'obtenir un nombre de fragments limité. Pour la même raison, l'utilisation d'enzymes ayant des sites de restriction riches en adénine et thymine telles que *SpeI* ou *XbaI* seront préconisées chez les bactéries à Gram négatif dont le chromosome est riche en guanine et cytosine (Grattard F., 2000). *XbaI* est d'ailleurs l'enzyme majoritairement utilisée pour le pulsotypage des salmonelles, notamment dans notre travail.

Les plugs sont mis à incuber dans une solution contenant l'enzyme choisie au bain-marie, à la température optimale d'action de l'enzyme (37°C pour *XbaI*). La digestion dure au minimum 4 heures mais elle peut être réalisée sur une nuit.

Séparation électrophorétique et révélation des profils de macrorestriction : Une fois la digestion terminée, les plugs sont insérés dans un gel d'agarose. Ce dernier est ensuite déposé dans une cuve à électrophorèse en champ pulsé (CHEF-DR III, Bio-Rad, Marnes La-Coquette, France) dont le générateur est programmé pour la séparation des fragments d'ADN (figure 7). L'électrophorèse dure environ 20 heures. Différents facteurs interviennent dans la séparation des fragments d'ADN lors de l'électrophorèse. La concentration en agarose est notamment un paramètre essentiel : les fragments d'ADN migrent d'autant plus loin que les concentrations d'agarose sont plus faibles.

La concentration est choisie en fonction de la taille des fragments à séparer. Pour des fragments de grandes tailles (jusqu'à 3 Mb), il est préférable d'utiliser une faible concentration d'agarose. Classiquement, les gels sont à 1 % pour permettre une bonne vitesse de migration ainsi qu'une bonne résolution tout en limitant l'éventuelle fragilité du gel. La température du tampon d'électrophorèse a également des effets importants sur la mobilité de l'ADN, en particulier lorsque la migration s'effectue à fort voltage pendant 20-24 heures. Une augmentation de la température augmente la mobilité de l'ADN mais diminue la résolution des profils. Le maintien d'une température entre 12 et 16°C est nécessaire pendant toute la durée de l'électrophorèse pour obtenir un bon compromis entre durée et résolution. Il faut donc adjoindre un dispositif de refroidissement. La température utilisée est, le plus couramment, de 14°C.

Enfin, les cinétiques de pulsation doivent être optimisées pour chaque espèce et pour chaque enzyme afin d'obtenir une séparation adéquate. Pour ce faire la durée des phases de pulsation (correspondant aux inversions alternatives d'orientation du champ électrique) augmente au cours de l'électrophorèse. Les phases de pulsations de faibles durées en début d'électrophorèse vont favoriser la séparation des fragments de petites tailles alors que les phases de longues durées en fin de migration, vont permettre une bonne séparation des fragments de grandes tailles (Grattard F., 2000).

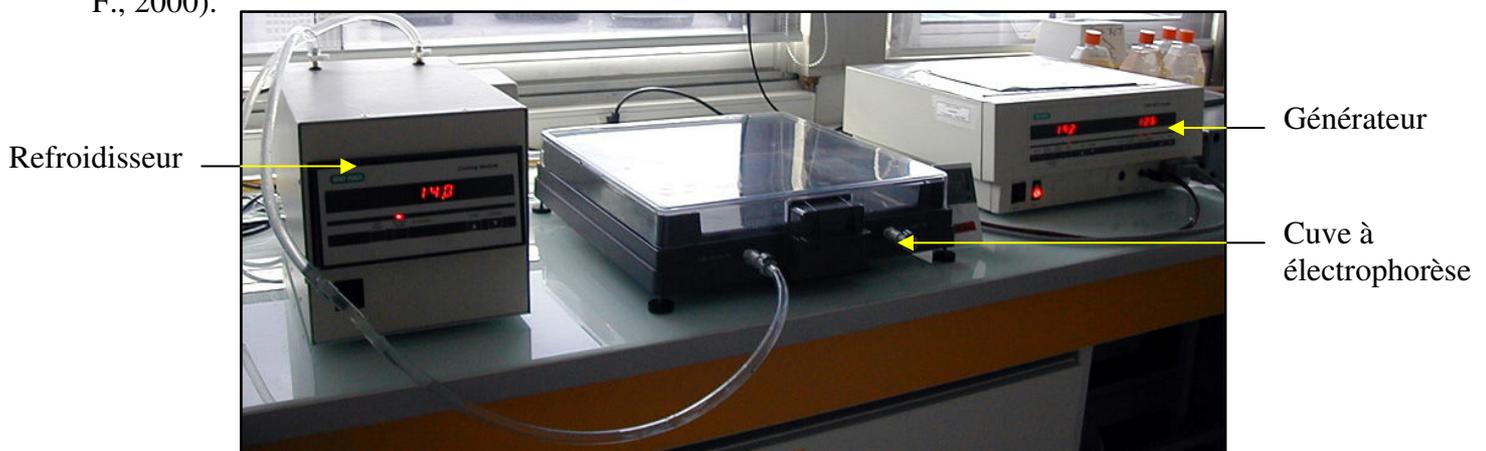


Figure n° 5 : Photo du système d'électrophorèse en champ pulsé CHEF DR III

A la fin de la migration, le gel est enlevé de la cuve et mis à colorer dans une solution de BET (bromure d'éthidium), agent intercalant fluorescent sous lumière ultraviolette, pendant 30 minutes puis rincé 30 minutes à l'eau ultrapure avant la lecture. Le gel est photographié pour disposer d'un document archivable.

Les marqueurs de taille sont essentiels pour interpréter les profils. Des marqueurs commercialisés peuvent être utilisés ou, comme pour ce projet, il est possible de se servir d'une souche de salmonelle dont le poids moléculaire des fragments est connu. La souche sert alors à la fois de marqueur de taille et de témoin d'extraction et de restriction. La souche préconisée est une *Salmonella* Braenderup H9812. Cette étape est primordiale pour la comparaison des souches analysées dans différents gels.

L'ADN de certains sérotypes, de certains clones de salmonelles est sensible à la dégradation (Liesegang et coll. 2002). Le protocole d'extraction et de migration est alors adapté, le Tris présent dans différents tampons est remplacé par de l'Hepes et du thiourée à la concentration finale de 100 μ M, qui est ajouté dans le tampon de migration.

Analyse des résultats:

L'analyse de l'ensemble des résultats a été effectuée à l'aide du logiciel BioNumerics (Biorad, Applied-Maths, Sint-Martens-Latem, Belgique). Ce logiciel permet de créer et gérer des bases de données ainsi que d'analyser de nombreuses expériences. Chaque souche correspond à une entrée dans la base de données et peut être associée à une ou plusieurs expériences.

Les résultats obtenus lors des différentes expériences ou des analyses effectuées permette d'estimer un lien génétique entre les différents isolats. Un numéro de profil est attribué suite à l'analyse des résultats de PFGE, il est propre à la base de données de l'unité Caractérisation et épidémiologie des Bactéries (CEB) où ont été réalisés les typages mais a été défini selon une nomenclature européenne par un code à 6 lettres associé à un numéro de 4 chiffres (Peters et coll., 2003). La première lettre correspond au genre (S pour *Salmonella*), les 3 lettres suivantes correspondent à la codification du sérovar (ENT pour Enteritidis). Les 2 dernières lettres correspondent au code de l'enzyme (XB pour *XbaI*). Par exemple le numéro SENTXB0001 correspond au premier profil observé de *Salmonella* Enteritidis avec l'enzyme *XbaI*. Ce logiciel peut effectuer diverses analyses telles que le calcul de dendrogramme pour visualiser les groupes d'individus semblables.

Pour mesurer quantitativement la similarité entre deux profils d'empreintes moléculaires électrophorétiques, le coefficient de Dice a été utilisé. Il se calcule en multipliant par deux le nombre de fragments communs, divisé par le nombre total de fragments dans les deux profils. Différents paramètres doivent être pris en compte pour l'identification des fragments (l'intensité minimale lors de la recherche automatique, l'élimination des artefacts, l'addition de doubles bandes) et pour la reconnaissance d'homologie de position (degré de tolérance des erreurs résiduelles d'alignement et de position de fragments). Ainsi certains profils qui présentent des différences minimales peuvent avoir le même numéro.

Après la comparaison deux à deux de tous les profils, une matrice de similarité est obtenue. Le logiciel est capable de construire une représentation graphique de ces matrices sous forme de dendrogramme. Nous avons utilisé la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages) basée sur le regroupement suivant la distance moyenne. Cette méthode utilise un algorithme de regroupement séquentiel dans lequel les relations sont identifiées dans l'ordre de leur similarité et la reconstruction de l'arbre suite à cet ordre. Il y a d'abord l'identification des deux séquences les plus proches et ce groupe est ensuite traité comme un tout, puis la séquence la plus proche est recherchée, ainsi de suite jusqu'à ce qu'il n'y ait plus que deux groupes.

1.5 : Salmonelles humaines :

Dans le but d'évaluer la contribution des salmonelles du poulet de chair aux toxi-infections alimentaires dues aux salmonelles non typhiques, nous avons étudié 45 isolats de salmonelles non typhiques parmi les sérotypes les plus fréquemment isolés durant le dernier semestre de l'année 2006 et le premier trimestre 2007, et gracieusement fournis par le Centre Hospitalo-Universitaire Ibn- Badis de Constantine. Le choix et le nombre des isolats prélevés s'est fait en fonction de la fréquence habituelle d'isolement des salmonelles sur les dernières années. En effet, le service de microbiologie du C.H.U. Ibn- Badis, recueille les prélèvements des différents autres services du même centre hospitalier et de tous les patients se présentant avec des symptômes diarrhéiques. Environ, une moyenne de 52 isolats de salmonelles sont récoltés chaque année (42 en 2003, 39 en 2004, 56 en 2005 et 65 en 2006), dont 81,7 % provenaient de prélèvements de coproculture, 8 % d'hémoculture, 6 % de pus et de différentes ponctions et finalement 4,5 % de liquide céphalo-rachidien. Nous avons noté que 80 % des salmonelles provenaient des services de pédiatrie et de néo-natologie.

1.6 : Analyses statistiques :

Les analyses des résultats ont été conduites par des méthodes statistiques classiques, avec les tests du Chi ² et le calcul des odds ratios avec un intervalle de confiance à 95 % à l'aide du logiciel EPI-INFO.

Chapitre 2 : RESULTATS

2.1 : Etude des questionnaires

Les informations obtenues par l'intermédiaire des questionnaires nous ont permis de caractériser les élevages et les abattoirs de la wilaya de Constantine, dans lesquels ont été collectés les prélèvements. Tous les animaux sont de la race ISA, d'âge compris entre 50 et 65 jours, pesant 2,2 à 3 kg, ne présentant aucun signe de maladie, notamment de diarrhée, dans les élevages et toutes les carcasses étaient de conformation moyenne ou bonne.

2.1. 1. Caractérisation des élevages de poulet de chair

Les élevages ont été classés sur la base de leur capacité de production, en 2 catégories : la première catégorie a une production comprise entre 1500 et 3000 sujets par bande de poulets et la seconde catégorie a une production comprise entre 3001 et 5000 sujets par bande élevée. 56 % (9/16) de la première catégorie produisaient 4 bandes par an, 44 % (7/16) avaient une densité d'animaux supérieure à 11 poulets par m², 81 % (13/16) utilisaient une litière en paille hachée. 11/16 (69 %) étaient construits en structure mixte (murs en dur et toit en plaques de zinc), la moitié d'entre eux (8/16) n'avaient qu'un employé, 13/16 (81,2 %) n'avaient pas de clôture et 14/16 (87,5 %) donnaient accès libre à d'autres animaux tels les bovins, ovins, dinde, chiens et chats. Enfin, 10/16 (63 %) ne faisaient pas appel au vétérinaire durant l'élevage et l'hygiène globale était évaluée visuellement comme très mauvaise dans 88 % des cas (13/16) (voir tableau n° 10).

Capacité de production	1500-3000 sujets	3001-5000sujets	Total
Nombre d'élevages	16	14	30
Nombre bandes/an.			
- 2 à 3 bandes	7	7	14
- 4 bandes	9	7	16
Densité des animaux			
- 8 à 10 animaux / m ²	9	7	19
-11 animaux et + / m ²	7	7	11
Taux de mortalité			
- 10 à 20%	8	10	18
- 20 % et +	8	4	12
Abreuvement			
- Eau de robinet	6	3	9
- Autres	10	11	21
Nombre de bâtiments			
- 1 bâtiment	10	11	21
- 2 bâtiments et +	6	3	9
Structure de la ferme			
- Structure en dur	3	4	7
- Mixte ou légère	13	10	23
Sol			
- Béton	11	12	23
- Terre battue	5	2	7
Litière			
- Copeaux de bois	3	5	8
- Paille hachée	13	9	22

Nombre d'employés: - 1 à 2 employés - 3 employés et +	12 4	9 5	21 9
Fréquence de visite du vétérinaire/bande - Aucune visite - 1 à 2 visites ou plus	10 6	4 12	14 18
Hygiène - Pas de sanitaires - Pas de lavabos - Pas de savon - Pas de désinfectant	12 13 15 16	7 8 9 12	19 21 24 28
Nettoyage désinfection environnement –Non - Oui	11 5	5 9	16 14
Isolation-ventilation - Faible - Moyenne	14 2	8 6	22 8
Accès autres animaux - Oui - Non	14 2	12 2	26 4
Clôture - Oui - Non	3 13	4 10	7 23

Tableau n° 10: Typologie des élevages de poulet de chair

2.1.2. Caractérisation des abattoirs de volailles :

Les abattoirs ont été classés là aussi selon leur capacité de production, en 2 catégories : Les abattoirs à petite production (800 à 1500 sujets abattus par jour) et les abattoirs à grande capacité de production (1500 et plus sujets abattus par jour).

La catégorie à petite production était la plus fréquente (11/15) et se caractérisait par l'accès des chiens et /ou des chats à son enceinte, par une pratique de ressuyage à l'air libre dans 8 cas sur 11 (72,7 %). 7/11(63,6 %) des abattoirs n'avaient pas de chambre froide fonctionnelle, 7/11 (63,6 %) étaient entourés d'habitations, 9/11 (81,8) utilisaient une eau provenant de sources ou de puits qui ne sont pas contrôlés ou suivis de manière rigoureuse. Enfin, leur hygiène était visuellement évaluée très faible (voir tableau n°11).

Capacité de production	800-1500 sujets/ j	≥1500 sujets / jour	Total
Nombre d'abattoirs	11	4	15
- Prés des agglomérations.	7	4	11
- Loin des agglomérations	4	0	4
Accès d'animaux - Oui	11	3	14
- Non	0	1	1
Salle d'attente -Oui	0	2	2
-Non	11	2	13
Chaîne mécanique -Oui	0	4	4
-Non	11	0	11
Ressuyage - A l'air libre	8	0	8
- Ventilation	3	4	7
- Présence de sanitaires	4	4	8
- Nettoyage du sol	2	3	5
- Séparation des secteurs	3	4	7
- Renouvellement d'eau	1	4	5
- Présence de désinfectant	2	4	6
- Habits spécifiques	3	4	7
- Présence de savon	4	4	8
Nombre employés:- 6 à 12	5	4	9
- supérieur ou égal à 13	6	0	6
Livraison sous réfrigération	6	4	10
Livraison sans réfrigération	5	0	5
Chambre froide fonctionnelle	4	4	8
- Non fonctionnelle	7	0	7
Eau : - Eau de robi	2	0	2
- Autres	9	4	13

Tableau n° 11: Typologie des abattoirs de volaille

2. 2. Prévalence de contamination du poulet de chair en élevages et abattoirs par *Salmonella* :

Pour les élevages de poulet de chair, seuls 5 élevages parmi les 30 étudiés se sont avérés positifs en première campagne soit 16,66 % des élevages, avec 7 prélèvements positifs parmi les 450 analysés, correspondant à un taux d'isolement de 1,55 %. En seconde campagne, 11 élevages ont été positifs, soit 36,66 %, et 23 prélèvements parmi 1350 étaient positifs soit 1,69 % (Tableau n° 12).

Sur l'ensemble des 2 campagnes, 11 élevages ont été positifs parmi les 30 étudiés, soit 36,66 % avec 30 prélèvements retrouvés positifs pour 1890 analyses effectuées, soit un taux d'isolement de 1,66 % en élevages de poulet de chair.

En abattoirs et pour la première campagne, le nombre d'abattoirs contaminés était de 6, soit 40 % des 15 abattoirs étudiés, et 12 prélèvements positifs parmi les 150 prélèvements réalisés, soit un taux de 8 %. En seconde campagne, nous avons noté 9 abattoirs contaminés, soit 60 % des abattoirs étudiés et 13 prélèvements positifs sur les 540 prélèvements effectués, soit 2,40 % (Tableau 12).

Sur l'ensemble des 2 campagnes, il a été observé 11 (73,33 %) abattoirs contaminés et 25 (3,62 %) prélèvements positifs.

Enfin, sur l'ensemble des prélèvements, à savoir ceux des élevages et des abattoirs, soit 2490 prélèvements, il y a eu 55 prélèvements positifs, soit un taux d'isolement de 2,22 %.

	Elevages			Prélèvements		
	Nombre d'élevages	Positifs	%	Analysés	Positifs	%
- Première campagne:						
1500-3000 sujets	16	3	18,75	240	4	1,6
3001-5000 sujets	14	2	14,28	210	3	1,42
Total :	30	5	16,66	450	7	1,55
- Seconde campagne						
1500-3000 sujets	16	8	50	720	15	2,08
3001-5000 sujets	14	3	21,42	630	8	1,26
Total :	30	11	36,66	1350	23	1,69
- 2 campagnes	30	11	36,66	1800	30	1,66
	Abattoirs			Prélèvements		
	Nombre d'abattoirs	Positifs	%	Analysés	Positifs	%
- Première campagne						
800-1500 sujets	11	6	54,54	120	12	10
1501 sujets et +	4	0	0	30	0	0
Total :	15	6	40	150	12	8
- Seconde campagne						
800-1500 sujets	11	8	72,72	432	12	2,77
1501 sujets et +	4	1	25	108	1	0,9
Total :	15	9	60	540	13	2,40
- 2 campagnes	15	11	73,33	690	25	3,62

Tableau 12. Prévalence des salmonelles dans les élevages de poulet de chair et abattoirs de volailles de la wilaya de Constantine.

2.3. Distribution des sérotypes

Les sérotypes les plus fréquemment isolés ont été *S.Hadar* (36,36 %, n: 20), 8 isolats des élevages de poulet de chair et 12 des abattoirs, *S.Virchow* (16,36 %, n:9), dont 6 des élevages et 3 des abattoirs, *S.Infantis* (10,90%, n:6), *S.Albany* (10,90 %,n:6), *S.Typhimurium* (9,09 %,n:5) etc...(Tableau n°13).

On a comptabilisé 7 isolats de salmonelles isolées des élevages en première campagne, mais 23 isolées en seconde campagne. Au contraire, en abattoirs, on a noté 12 isolats en première campagne et 13 isolats en seconde campagne (Tableau n°13).

	Elevages de poulet		%	Abattoirs		%	Total	%
	Nombre de souches	30		56,6	25			
	Camp.1 Camp.2		Camp.1 Camp.2					
<i>S. Hadar</i>	2	6	26,66	7	5	48	20	36,36
<i>S. Virchow</i>	0	6	20	1	2	12	9	16,36
<i>S. Infantis</i>	4	2	20	0	0	0	6	10,90
<i>S. Albany</i>	0	4	13,33	0	2	8	6	10,90
<i>S. Typhimurium</i>	0	0	0	3	2	20	5	9,09
<i>S. Carnac</i>	0	4	13,33	0	0	0	4	7,27
<i>S. Enteritidis</i>	0	0	0	0	2	8	2	3,63
<i>S. Heidelberg</i>	0	1	3,33	0	0	0	1	1,81
<i>S. Rissen</i>	1	0	3,33	0	0	0	1	1,81
<i>S. Montevideo</i>	0	0	0	1	0	4	1	1,81

Tableau n°13. Principaux sérotypes de *Salmonella* isolés des élevages de poulet de chair et des abattoirs de volaille dans la wilaya de Constantine.

2.4. Résistance aux antibiotiques:

Les isolats des élevages de poulet de chair et des abattoirs ont été résistants dans leur ensemble à 56,36 % (n=31) à la streptomycine, 34,54 (n=19) aux tétracyclines, 27,27 % (n=15) à l'acide nalidixique, 12,72 % (n=7) à l' ofloxacine et 1,8 % (n=1) à l' enrofloxacine (Tableau n°14).

Source du prélèvement	Nombre de souches résistantes aux antibiotiques				Total
	Elevages		Abattoirs		
	1500-3000	3001-5000	800-1500	1501 and +	
Nombre de souches testées	19	11	24	1	55
ampicilline	0	0	0	0	0
amoxicilline-Acide clavulanique	0	0	0	0	0
cefotaxime	0	0	0	0	0
chloramphenicol	0	0	0	0	0
céfalotine	0	0	0	0	0
ceftazidime	0	0	0	0	0
sulfaméthoxazole-trimethoprim	0	0	0	0	0
sulfamides	0	0	0	0	0
gentamicine	0	0	0	0	0
streptomycine	6	7	18	0	31
kanamycine	0	0	0	0	0
tétracyclines	3	5	11	0	19
colistine	0	0	0	0	0
acide Nalidixique	7	4	4	0	15
ofloxacine	3	2	2	0	7
enrofloxacine	1	0	0	0	1

Tableau n° 14. Résistance aux antibiotiques des souches de salmonelles isolées des élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine.

2.4.1 - Profils de résistance aux antibiotiques et sérotypes

Les souches de *S. Hadar* étaient résistantes à 2 antibiotiques (tétracyclines et streptomycine). un tiers des souches (n=2) de *S. Albany* étaient résistantes à 4 antibiotiques (streptomycine, acide nalidixique, ofloxacin et à l'enrofloxacin), les deux tiers restants (n=4) à 3 antibiotiques (streptomycine, acide Nalidixique et ofloxacin). Les souches de *S. Typhimurium* étaient résistantes à un seul antibiotique (acide nalidixique) sauf une, résistante en plus à la streptomycine. 4 souches de *S. Infantis* étaient résistantes à un seul antibiotique (acide nalidixique). 7 souches de *S. Virchow* ne présentaient aucune résistance, les deux autres se révélant résistantes à l'acide nalidixique. La souche isolée de *S. Heidelberg* était résistante à la streptomycine, à l'acide nalidixique et à l'ofloxacin. *S. Carnac*, *S. Enteritidis* et *S. Montevideo* étaient sensibles à tous les antibiotiques testés (Tableau n° 15).

Sérotypes	Nombre d'isolats					Profils
	sensible	res.1 atb.	res.2 atb	res.3 arb.	res.4 atb.	
<i>S. Hadar</i>	0	0	20(100%)	0	0	TE, S
<i>S. Albany</i>	0	0	0	4(66,6%)	2(33,3)	S, NA, OFX, ENR S, NA, OFX.
<i>S. Typhimurium</i>	0	4(80%)	1(20%)	0		S, NA S
<i>S. Infantis</i>	2(33,3%)	4(66,6%)	0	0	0	NA
<i>S. Virchow</i>	7(77,7%)	2(22,2%)	0	0	0	NA
<i>S. Heidelberg</i>	0	0	0	1(100%)	0	S, NA, OFX
<i>S. Rissen</i>	0	1(100%)	0	0	0	NA
<i>S. Carnac</i>	4(100%)	0	0	0	0	Sensible
<i>S. Enteritidis</i>	2(100%)	0	0	0	0	Sensible
<i>S. Montevideo</i>	1(100%)	0	0	0	0	Sensible

Tableau n° 15 : Caractéristiques de l'antibio-résistance des sérotypes isolés

Légendes :

Res : résistance

Atb : antibiotique

2.4.2 - Sources et profils de résistance aux antibiotiques :

Cette étude a montré pour *S. Hadar*, des profils de bi- résistance (TE, S), équivalents en nombre aussi bien en élevages qu'en abattoirs, alors que pour *S. Albany*, même si toutes les souches sont multi résistantes en abattoirs et en élevages, seuls des profils tri-résistants ont été isolés en abattoirs. *S. Virchow* a présenté le même profil en abattoirs et en élevages (NA). *S. Typhimurium* n'ayant pas été isolé en élevage, a montré 2 profils en abattoirs (S, NA et S), alors que *S. Infantis*, *S. Rissen* et *S. Heidelberg*, isolés seulement en élevages ont montré un seul profil (NA pour les deux premiers et S, NA, OFX pour le troisième sérotype) (tableau n° 16).

Sérotypes	Source	Nombre de sérotypes			
		Testés	Résistants	Multi résistants	types de profils
<i>S. Hadar</i>	Elevages	8	8	8	8 TE, S
	Abattoirs	12	12	12	12 TE, S
<i>S. Albany</i>	Elevages	4	4	4	2 S, NA, OFX, ENR
					2 S, NA, OFX
	Abattoirss	2	2	2	2 S, NA, OFX
<i>S. Typhimurium</i>	Elevages	0	0	0	-
	Abattoirs	5	5	1	1 S, NA
					4 S
<i>S. Infantis</i>	Elevages	6	2	0	2 NA, 4 sensibles
	Abattoirs	0	0	0	-
<i>S. Virchow</i>	Elevages	6	1	0	1 NA, 5 sensibles
	Abattoirs	3	1	0	1 NA, 2 sensibles
<i>S. Heidelberg</i>	Elevages	1	1	1	1 S, NA, OFX
	Abattoirs	0	0	0	-
<i>S. Rissen</i>	Elevages	1	1	0	1 NA
	Abattoirs	0	0	0	-

Tableau n°16 : Sources des profils de résistance aux antibiotiques.

2. 5. Facteurs de risques potentiels liés à la contamination par les salmonelles.

A partir des questionnaires, une quinzaine de facteurs de risques potentiels pour les élevages et autant pour les abattoirs ont été recensés ; sur cette base, les cas et témoins ont ensuite été définis et des analyses statistiques réalisées, pour déterminer que seuls quatre facteurs concernant exclusivement les élevages étaient statistiquement significatifs (Tableau n° 17).

Nous définissons les cas comme étant les élevages ou abattoirs ayant présenté au moins un prélèvement positif durant les 2 campagnes, sachant que les élevages et abattoirs positifs en première campagne font partie des élevages et abattoirs positifs en seconde campagne. Au contraire, les abattoirs présentant seulement des prélèvements de foie positifs ne sont pas pris en considération : en effet, la contamination du foie est endogène et ne peut témoigner de la contamination de l'abattoir, on ne peut donc pas les considérer pour l'identification des risques de contamination.

Facteurs de risques	cas	témoins	chi ²	p α	OR	Intervalle de confiance
Densité des animaux						
6 à 10 sujets / m ²	2	12	5,66	< 0,02	7,7] 1,28 – 4,63 [
11 sujets et plus / m ²	9	7				
Taux de mortalité						
10 à 15 % de la bande	1	11	7,17	< 0,01	13,75] 1,45 – 130 [
15 à 20 % de la bande	10	8				
Sol						
Terre battue	6	1	9,2	< 0,01	21] 2 – 223 [
Béton	5	18				
Accès d'autres animaux						
Oui	9	8	4,67	< 0,05	6,18] 1,04 – 36,8 [
Non	2	11				

Tableau n° 17 : Facteurs de risques liés à la contamination par les salmonelles, statistiquement significatifs.

2.6. Salmonelles humaines :

Dans le but de contribuer à la mesure de l'impact des salmonelles du poulet de chair, dans les salmonelloses humaines et notamment dans les toxi-infections alimentaires dues aux salmonelles non typhiques, nous avons étudié 45 salmonelles gracieusement fournies par le service de Microbiologie du Centre hospitalo-universitaire Ibn Badis de Constantine, et isolées durant les années 2006 et 2007.

En effet, ce dernier service recueille les prélèvements de tous les patients souffrant de symptômes diarrhéiques, et qui se présentent aux différents services du C.H.U. Ibn Badis. Les résultats des analyses microbiologiques communiqués (Bouzitouna-Bentchouala 2007, résultats non publiés), ont montré qu'environ 52 isolats de salmonelles étaient identifiés chaque année (42 en 2003, 36 en 2004, 54 en 2005, 61 en 2006 et 65 en 2007), dont 81,7 % provenaient de coproculture, 8 % d'hémoculture, 6 % de ponctions et de pus et finalement 4,5 % de liquide céphalo-rachidien.

Notons que 80 % des isolats de salmonelles provenaient des services de pédiatrie et de néonatalogie. Certaines souches n'étaient visiblement pas pures et nous avons dû les envoyer à l'institut Pasteur de Paris pour confirmation.

2.6.1. Distribution des sérotypes humains du C.H.U. :

Le sérotypage des souches humaines a d'abord été confirmé par le laboratoire d'Etudes et de recherches sur la Qualité des Aliments et procédés agro-alimentaires (LERQAP) de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) de Maisons Alfort (Paris).

Les 45 isolats de salmonelles étaient distribués comme suit :

14 *S. Enteritidis*, 7 *S. Typhimurium*, 6 *S. Senftenberg*, 4 *S. Heidelberg*, 4 *S. Hadar*, 2 *S. Blockley*, 2 *S. Kentucky*, 1 *S. Virchow*, 1 *S. Infantis*, 1 *S. Albany*, 1 *S. Agona*, 1 *S. Anatum* et 1 *S. Indiana*.

2.6.2. Résistance aux antibiotiques des sérotypes humains du C.H.U.:

Antibiotiques	Séotypes										Nombre et %
	S.Ent.	S.Had.	S.Typh.	S.Inf.	S.Heid.	S.Senf.	S.Kent.	S.Agon.	S.Ind.	S.Bloc	
AM	1	1	4	0	0	1	1	1	0	0	9(20%)
AMC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CTX	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	3(6,6%)
C	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4(8,8%)
CF	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	3(6,6%)
CAZ	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1(2,2%)
SXT	2	0	0	0	0	1	1	1	0	0	5(11%)
SSS	2	0	4	0	0	1	1	1	0	0	9(20%)
GM	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	3(6,6%)
S	0	5	4	0	0	6	0	1	1	0	17(37,7%)
K	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	3 (6,6%)
TE	2	5	4	0	0	0	0	0	0	0	11(24,4%)
CS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NA	9	4	2	0	4	6	0	0	0	1	26(57,7%)
OFX	5	5	0	0	3	0	0	0	0	0	13(28,8%)
ENR	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (2,2%)

Tableau n° 18 : Résistance des salmonelles humaines aux molécules d'antibiotiques testées.

AM : ampicilline, **AMC** : amoxicilline + acide. clavulanique, **CTX** : céfotaxime, **C** : chloramphénicol, **CF** : céfalotine, **CAZ** : Ceftazidime, **SXT** : triméthoprime + sulfaméthoxazole, **SSS** : sulfamides, **GM** : gentamicine, **S** : streptomycine, **K** : kanamicine, **TE** : tetracycline, **CS** : colistine, **NA** : acide nalidixique, **OFX** : ofloxacine, **ENR** : enrofloxacine.

2.6.3. Profils de résistance aux antibiotiques des sérotypes humains:

Les différents sérotypes ont donné les profils de résistance aux antibiotiques suivants :

- S. Enteritidis** : 7 profils: - NA, OFX (5); - NA (3); - AM, S, TE, NA, OFX (1);
- S, K, TE, NA, OFX, ENR (1); - AM, NA (1); - AM, CTX, SSS, TE
(2); - Sensible ou phénotype sauvage (1).
- S. Typhimurium**: 3 profils: - NA (2); - AM, SSS, C, S, TE (4); - Sensible (1).
- S. Senftenberg**: 2 profils: - S, NA (5); - AM, CTX, CF, CAZ, SSS, GM, S, K, NA (1).
- S. Heidelberg**: 2 profils: - NA, OFX (3); - NA (1).
- S. Hadar**: 3 profils: S, TE, NA, OFX (1); - AM, S, TE, NA, OFX (2); -
S, K, TE, NA, OFX, ENR (1).
- S. Blockley** : 2 profils : - NA (1) ; - Sensible (1).
- S. Virchow** : 1 profil : - Sensible (1).
- S. Kentucky** : 1 profil : - AM, CTX, CF, SXT, CAZ, SSS, GM, K (2).
- S. Infantis** : 1 profil : - Sensible (1).
- S. Albany** : 1 profil : - S, NA, OFX (1).
- S. Agona** : 1 profil : Multirésistance (1).
- S. Anatum** : 1 profil : - Sensible (1).
- S. Indiana** : 1 profil : S (1).

AM : ampicilline, **AMC** : amoxicilline + acide. clavulanique, **CTX** : céfotaxime, **C** : chloramphénicol, **CF** : céfalotine, **CAZ** : ceftazidime, **SXT** : triméthoprime + sulfaméthoxazole, **SSS** : sulfamides, **GM** : gentamicine, **S** : streptomycine, **K** : kanamicine, **TE** : tétracycline, **CS** : colistine, **NA** : acide nalidixique, **OFX** : ofloxacin, **ENR** : enrofloxacin.

2.7 : Résultats de PCR :

Toutes nos expériences ont été répétées au minimum deux fois par deux opérateurs différents afin de s'assurer de leur fiabilité, avant de les interpréter. Ainsi, pour chaque groupe de souches, une ERIC-PCR et une IS-PCR ont été effectuées, puis d'autres PCR (ERIC et IS) de confirmation ont été réalisées. Les souches représentatives des différents profils ont ensuite été choisies, et caractérisées à nouveau au cours d'une même PCR afin de comparer les profils entre eux, avec une bonne lisibilité. Aussi, nous avons choisi d'illustrer ces résultats par une seule photo d'un gel d'électrophorèse pour chacune des méthodes (ERIC et IS), montrant des profils représentatifs des souches étudiées (figure n°6 et figure n°7).

L'évaluation des tailles des bandes sur le gel d'électrophorèse (annexe n° 4) a été réalisée à partir de la co-migration avec un marqueur de poids moléculaire (Marqueur VIII : DNA Molecular Weight Marker VIII. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Allemagne), dont les tailles des bandes sont comprises entre 19 et 1114 paires de bases (pb).

Cent souches de salmonelles, ont été caractérisées par les deux techniques utilisant la PCR (ERIC-PCR et IS-PCR), dont 55 souches d'origine aviaire et 45 souches d'origine humaine. Les souches aviaires ont été identifiées avec la lettre V suivie d'un chiffre, alors que les souches humaines ont été numérotées, de 1 à 26 pour celles qui ont été recueillies en 2005-2006 et identifiées par la lettre H suivie d'un chiffre (de 1 à 21) pour celles recueillies en 2006-2007.

Les différents profils obtenus en ERIC-PCR ont été numérotés de I à XVI et les profils obtenus en IS-PCR ont été identifiés par des lettres, de A à T (tableau n° 19).

Les 16 profils obtenus en ERIC-PCR, les 20 profils obtenus en IS-PCR et les 20 PCR types correspondants pour la totalité des souches étudiées, sont présentés et rassemblés sur le tableau n° 19..

Parmi tous les sérotypes étudiés, seul *S. Albany* comprenait des souches avec 2 profils ERIC-PCR différents. Par contraste, les souches de *S. Rissen* ont présenté un profil ERIC-PCR identique aux souches étudiées du sérotype *S. Infantis* (tableau n° 19). Avec la méthode d'IS-PCR, 2 profils différents ont été identifiés au sein de chacun des sérotypes suivants : *S. Albany*, *S. Enteritidis*, *S. Senftenberg*, *S. Typhimurium* et *S. Hadar* (tableau n° 19).

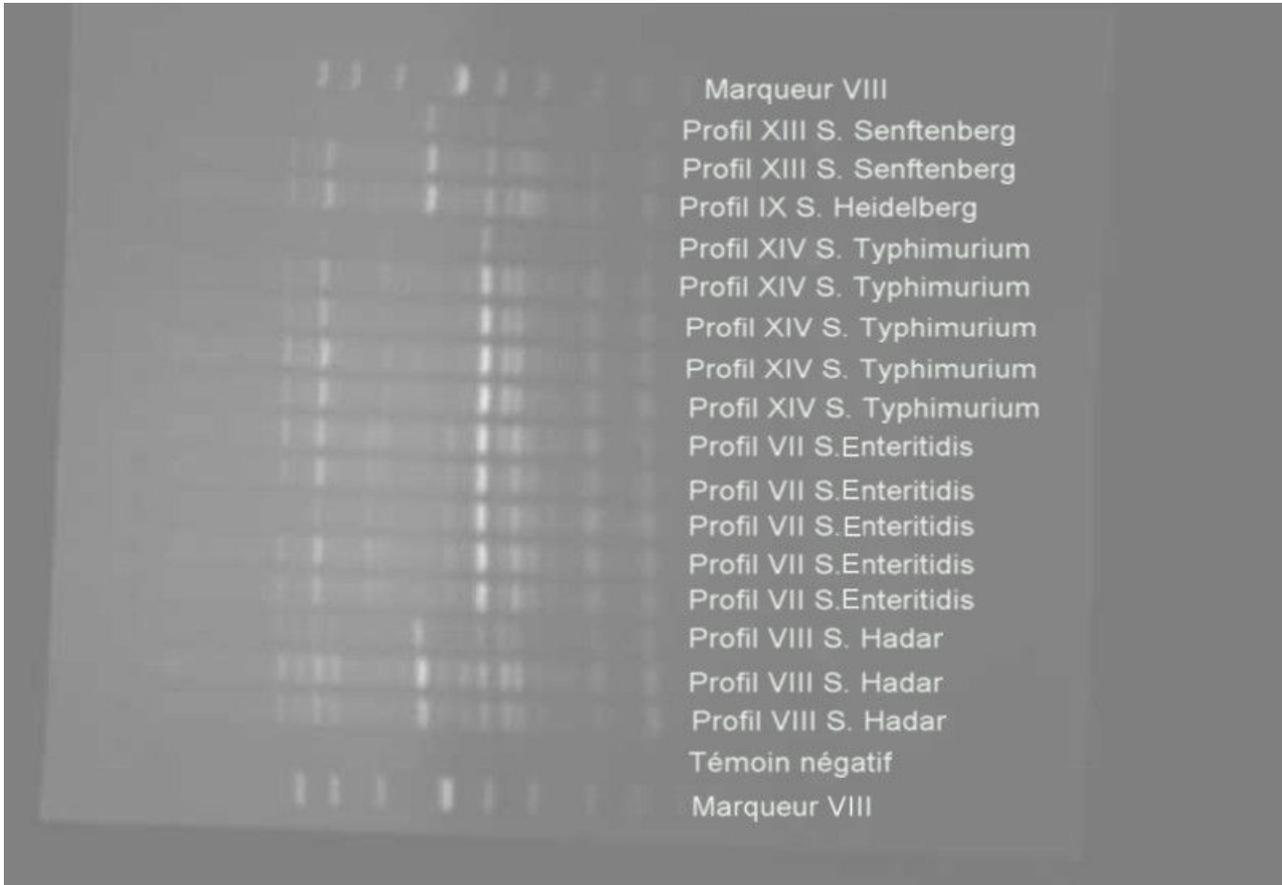


Figure n° 6 : Profils ERIC-PCR de quelques salmonelles.



Figure n° 7 : Profils IS-PCR de quelques salmonelles.

2. 8 : Electrophorèse en champ pulsé :

A notre connaissance, notre étude est le premier travail épidémiologique réalisé en Algérie et utilisant la technique de pulsotypage. L'analyse de l'ensemble des résultats a été effectuée à l'aide du logiciel BioNumerics. Ce logiciel permet de créer et gérer des bases de données ainsi que d'analyser de nombreuses expériences. Chaque souche correspond à une entrée dans la base de données et peut être associée à une ou plusieurs expériences. L'analyse des résultats obtenus lors des différentes expériences ou des analyses effectuées de la totalité des souches nous a permis de construire le dendrogramme (figure n° 9), qui illustre les liens de clonalité entre les différentes souches étudiées. Nous vous présentons en exemple (figure n° 8), une photo de gel d'électrophorèse en champ pulsé pour 8 souches de salmonelles avec des profils représentatifs et des isolats marqueurs (indiquées M) aux puits 1, 6 et 11. Les souches amplifiées aux puits 2, 3, 4 et 5 présentent des bandes communes, de mêmes tailles : elles partagent le même profil ce qui pourrait signifier qu'elles appartiennent à un seul et même clone (SINFXB0001). Par contre, les souches aux puits 7 à 10, présentent deux profils différents (SVIRXB0005 et SVIRXB0017) bien que proches : elles appartiennent donc à deux lignées clonales distinctes, et ont a priori une origine différente.

La totalité des résultats du pulsotypage est présentée sur le tableau n° 19.

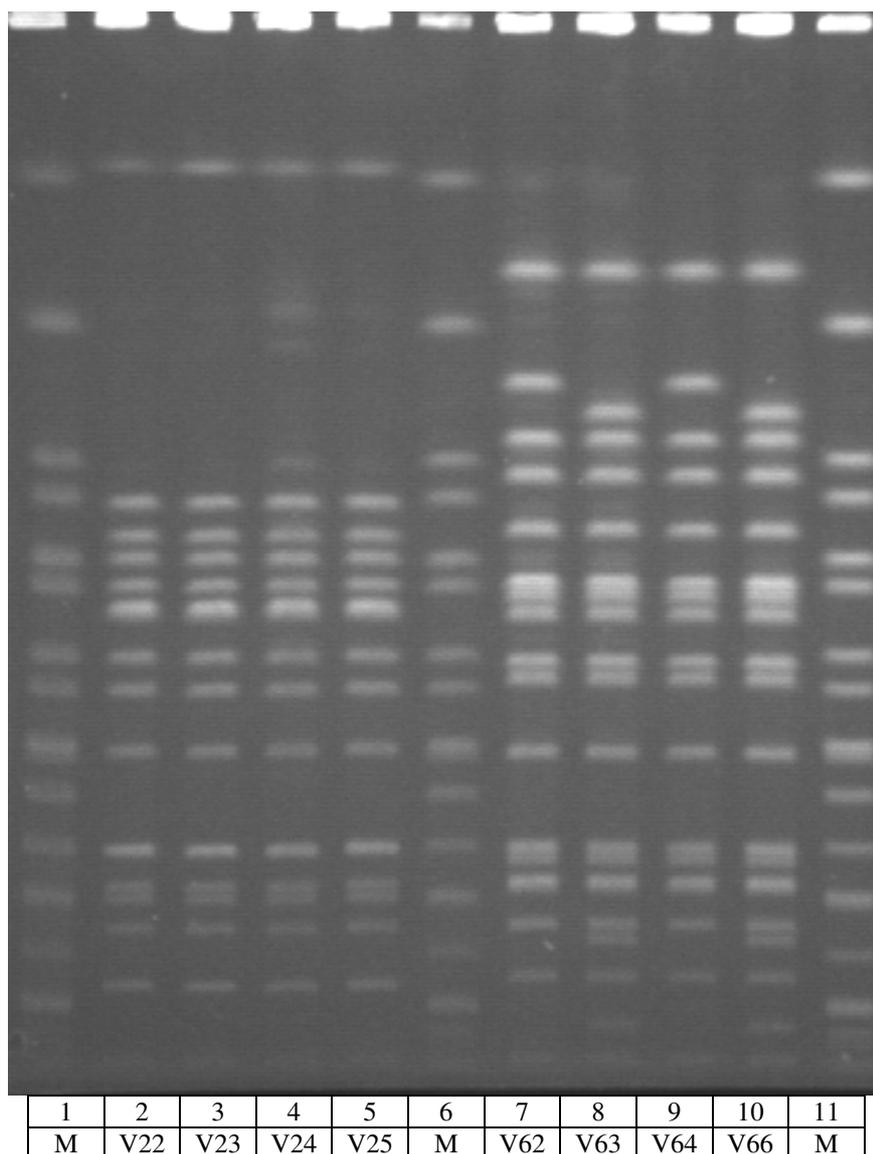


Figure n° 8 : photo de gel d'électrophorèse en champ pulsé.

M : Marqueur : *S. Braenderup* H9812 (CDC Atlanta).

V22, V23, V24, V25 : 4 souches de *S. Infantis* de même profil PFGE (SINFXB0001).

V62, V64 : 2 souches de *S. Virchow* de profil PFGE : SVIRXB0005.

V63, V66 : 2 souches de *S. Virchow* de profil PFGE : SVIRXB0017.

Source

Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H<0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE-XbaI

PFGE-XbaI

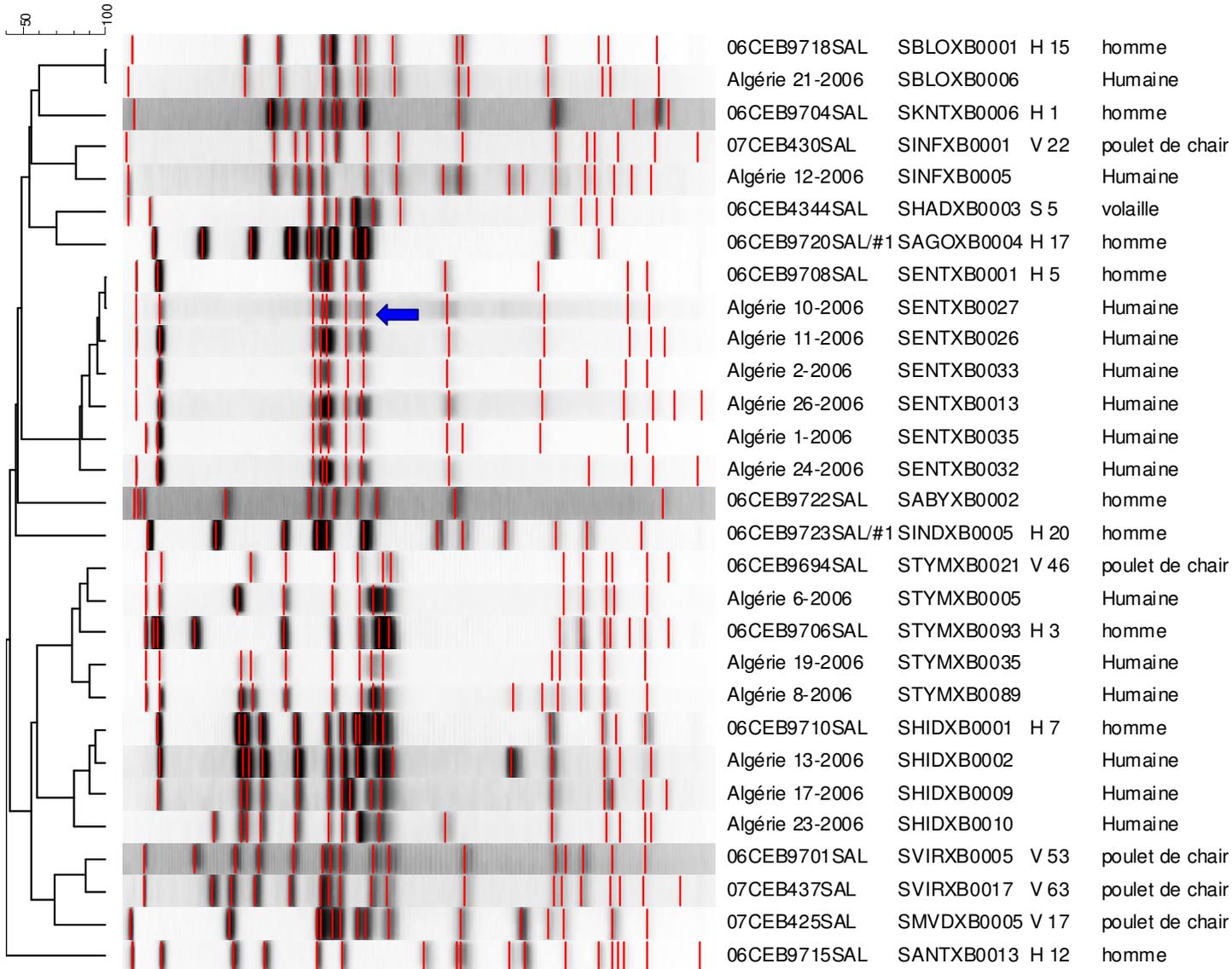


Figure n° 9 : Dendrogramme fondé sur l'analyse des pulsotypes avec XbaI des principaux sérotypes aviaires et humains étudiés.

N.B : Attention les profils SENTXB0001 et SENTXB0027 apparaissent identiques sur le dendrogramme mais il y a une légère différence, une bande (indiquée par le flèche bleue) est un peu plus basse pour le profil 27.

Souche	Sérotype	ERIC PCR	IS PCR	PCR Type	Profil d'antibio-résistance	Pulsotype	Source
H19 V81,V88,V89 V80 V85, V86	S.Albany	I	A	1	S,NA,OFX S,NA,OFX S,NA,OFX,ENR S,NA,OFX	SABYXB0002 SABYXB0003 SABYXB0003 SABYXB0003	Humain Elevage Elevage Abattoir
H17	S. Agona	III	C	3	Multirésistance	SAGOXB0004	Humain
H12	S. Anatum	IV	D	4	Sauvage	SANAXB0013	Humain
21 H15	S.Blockley	V	E	5	NA Sauvage	SBLOXB0001 SBLOXB0001	Humain Humain
V78,V79,V90,V91	S.Carnac	VI	F	6	Sauvage	SCARXB0001	Elevage
11 9 10 25 14,3,H5,H6,H2 1 26 24 V82,V87 2 7	S.Enteritidis	VII	G	7	Sauvage A,CAZ,SSS,TE A,CTX,SSS,TE NA NA,OFX A,NA NA NA,OFX Sauvage NA NA,OFX	SENTXB0026 SENTXB0026 SENTXB0001 SENTXB0001 SENTXB0001 SENTXB0013 SENTXB0032 SENTXB0035 SENTXB0016 SENTXB0033 SENTXB0001	Humain Humain Humain Humain Humain Humain Humain Humain Abattoir Humain Humain
4,5,18,H18 V28,V29,V30,V31,V32, V36, V37 ,V38,V39,V56 V33,V34,V35,V40, V41,V42,V43,V44 V26,V27	S.Hadar	VIII	I	9	Multirésistance S,TE S,TE S,TE S,TE S,TE S,TE	SHADXB0003 SHADXB0003 SHADXB0003 SHADXB0003 SHADXB0003 SHADXB0003 SHADXB0003	Humain Abattoir Elevage Elevage Elevage Abattoir Abattoir
13 V60 17 23 H7	S.Heidelberg	IX	K	11	NA,OFX S,NA,OFX NA NA,OFX NA,OFX	SHIDXB0002 SHIDXB0002 SHIDXB0009 SHIDXB0010 SHIDXB0001	Humain Elevage Humain Humain Humain
H1,H2	S.Kentucky	X	L	12	Multirésistance	SKNTXB0006	Humain
H20	S.Indiana	XI	M	13	Sauvage	SINDXB0005	Humain
V22,V23,V24,V25 V48,V49 12	S.Infantis	XII	N	14	NA Sauvage Sauvage	SINFXB0001 SINFXB0001 SINFXB0005	Elevage Elevage Humain
V21	S.Rissen	XII	N	14	NA	-	Elevage
H8 15 H4 H9,16 H11	S.Senftenberg	XIII	O	15	S,NA Multirésistance S,NA S,NA S,NA	SSFTXB0039 SSFTXB0013 SSFTXB0038 SSFTXB0037 SSFTXB0040	Humain Humain Humain Humain Humain
H3 H10,19,20,22 8 6 V17,V18,V45,V46 V19	S.Typhimurium	XIV	Q	17	NA A,C,SSS,S,TE NA NA S S,NA	STYMXB0093 STYMXB0035 STYMXB0089 STYMXB0005 STYMXB0021 STYMXB0021	Humain Humain Humain Humain Abattoir Abattoir
V63 V66 H14 V20 V53,V65 V62,V64,V77,V92	S.Virchow	XV	S	19	Sauvage NA Sauvage NA Sauvage Sauvage	SVIRXB0017 SVIRXB0017 SVIRXB0005 SVIRXB0005 SVIRXB0005 SVIRXB0005	Elevage Elevage Humain Abattoir Abattoir Elevage
V17	S.Montevideo	XVI	T	20	Sauvage	SMVDXB005	Abattoir

Tableau n° 19: Tableau synoptique des différents profils de sérotypes.

Chapitre 3 : DISCUSSION :

3.1 : Etude des questionnaires :

3.1.1 : Elevages :

Le nombre d'élevages de la première catégorie (1500 – 3000 sujets /bande) était de 16, alors que ceux de la deuxième catégorie (3001 – 5000 sujets /bande) était au nombre de 14.

Les élevages correspondent à des investissements très faibles et sont presque toujours de taille fort modeste (capacité moyenne de 3000 sujets par bande), ne possédant en général qu'un seul bâtiment (21/30) avec une densité variant toujours entre 8 et 12 sujets / m², ils sont de structure généralement (23/30) mixte (murs en dur et toit en plaques de zinc) ou légère (murs en briques de terre ou en bois et toit en plaques de zinc).

L'équipement se limite au strict minimum (mangeoires, abreuvoirs et radiants de chauffage) avec inexistence de systèmes de ventilation et d'isolation pour 22 élevages sur 30 ; Alors que l'hygrométrie est complètement méconnue et se traduit par une absence totale d'hygromètre dans les bâtiments, ce qui se traduit par des problèmes de maîtrise de l'ambiance, notamment en saison chaude.

De la même manière l'éclairage n'est pas maîtrisé, ainsi même si nous avons noté une grande variabilité entre les élevages, une forte intensité lumineuse est enregistrée.

Le sol est dans 23/30 cas en béton et dans 22 cas / 30 couvert par une litière de paille hachée. 23 élevages parmi les 30 étudiés n'avaient pas de clôture et donnaient libre accès aux animaux (bovins, ovins, dinde, chiens et chats) dans 26 cas.

La provenance de l'eau d'abreuvement est pour 21 élevages / 30, les sources et les puits qui ne sont pas contrôlés, ni suivis par les services compétents.

Le niveau de performance de ces élevages privés tient à la nature extensive des processus de production sus cités, qui se traduisent par un allongement du cycle d'élevage, un gaspillage d'intrants et des taux de mortalité excessifs. Par ailleurs, le sous équipement chronique des ateliers, n'autorise pas une utilisation rationnelle et optimale des intrants industriels (aliments avicoles, matériel biologique, produits vétérinaires) par les producteurs dont l'effet transparait à travers une structure de coûts défavorable. En effet, le recours massif à l'usage des produits vétérinaires, considérés par des éleveurs comme la panacée face aux incohérences de la conduite de l'élevage, ne fait que grever leurs coûts de production.

Ces résultats correspondent bien aux résultats relevés par Kaci et coll. 2001, pour un travail réalisé sur 76 exploitations du centre du pays.

3.1.2 : Abattoirs :

Nous relevons d'abord que l'emplacement des abattoirs ne répond pas aux exigences de la législation en matière d'urbanisme et ne tient pas compte de l'environnement, de la direction des vents, des routes d'accès, des oueds ou cours d'eau et surtout pas des moyens d'évacuation des eaux usées. En effet, les propriétaires trouvent d'énormes difficultés et provoquent de graves problèmes par l'emplacement des abattoirs dans des agglomérations ou très proches (odeurs et risques de contamination), avec des accès parfois très difficiles, particulièrement en hiver. Des approvisionnements en eau très pénibles, ce qui les pousse à des restrictions ou à des approvisionnements suspects. L'évacuation des eaux usées est souvent réalisée dans les oueds et les cours d'eau à ciel ouvert.

Les infrastructures se limitent sauf dans de rares cas à un bâtiment avec un nombre limité de locaux, souvent sans respect des principes de marche en avant, de non entrecroisement et de séparation des secteurs souillés et secteurs propres.

Les sols sont toujours cimentés, parfois plats et rugueux avec des anfractuosités, généralement sans caniveaux d'évacuation des eaux usées, ce qui favorise leur stagnation et la multiplication bactérienne. Les murs sont toujours bâtis en dur et recouverts dans 75 % des cas, de carreaux de faïences, alors que les plafonds sont pour 60 % des abattoirs en béton, le reste en plaques de zinc ou de ténit. La majorité des abattoirs ne possèdent pas de vestiaires, pas de sanitaires, ni locaux pour le matériel. Ces conditions ne permettent en aucun cas de répondre aux principes d'aménagement d'un abattoir.

Les équipements sont dans l'ensemble rudimentaires pour 9 abattoirs sur 15, soit un matériel fabriqué traditionnellement en tôle galvanisée, hormis pour la plumaison ou le travail est réalisé par une machine à disques rotatifs portant des doigts en caoutchouc, ce qui rend le travail difficile et nécessitant l'utilisation d'une main d'œuvre plus importante et donc plus de manipulations, d'où risque de contaminations réciproques.

Le fonctionnement est jugé anarchique, désordonné et non hygiénique, ne respectant pas les règles universelles de fonctionnement des abattoirs. En effet, toutes les étapes sont manuelles, l'échaudage n'est pas approprié car la température n'est pas contrôlée, l'eau n'est pas renouvelée et les ruptures des viscères sont très fréquentes. Le sang n'est pas récupéré, pire encore, il est rejeté avec les eaux usées. Les intestins, plumes et autres déchets ne sont pas collectés, ni détruits mais jetés dans les décharges publiques.

L'hygiène est jugée déplorable pour la plupart des abattoirs car les opérations de nettoyage et de désinfection sont insuffisantes par manque d'eau et souvent absence de désinfectants.

75 % du personnel n'est pas du tout instruit et bien qu'en général expérimenté, le personnel n'est pas sensibilisé sur les dangers qu'il encoure ni sur l'importance de l'hygiène. Les ouvriers travaillent avec des effets vestimentaires qui ne sont pas spécifiques et pas du tout appropriés, le manque d'eau ne permettant pas des lavages fréquents des mains et les visites médicales ne se font qu'en cas de soucis sanitaires ou d'urgences.

L'inspection post mortem s'effectue en début de soirée, dans des conditions peu pratiques, en termes de luminosité naturelle et déplacement sur des voies d'accès aux abattoirs très difficiles pour les vétérinaires.

Les abattoirs avicoles surtout ceux de la première catégorie (800 à 1500 sujets par jour) présentent en général des conditions très faibles au regard de la gestion et des techniques pratiquées et sans aucun respect des normes d'abattage. Au contraire de la deuxième catégorie

(1500 sujets et plus par jour) qui présente un fonctionnement avec chaîne mécanisée et pratique des techniques de gestion et d'abattage qui ne sont peut être pas parfaites mais respectent certains principes et normes d'abattage.

3.2 : Prévalence de contamination des élevages et abattoirs :

La prévalence de contamination par les salmonelles dans les élevages de poulet de chair de la wilaya de Constantine pour les 2 campagnes est de 36,66 % (11/30). Ce dernier résultat représente un taux élevé de contamination mais en accord avec des prévalences retrouvées il y a quelques années dans certains pays d'Europe. Ainsi en Belgique, en 1998, la prévalence était évaluée à 36,1 % (prélèvements de fèces dans 122 élevages) ; Aux Pays Bas et toujours en 1998, elle était évaluée à 31,8 % (192 élevages étudiés). En France, en 1986, la prévalence était estimée à 53,3 % (180 élevages, sur des prélèvements de fèces). Dans d'autres pays, telle l'Australie en 1984, la prévalence était de l'ordre de 46 %, mais pour seulement 13 élevages étudiés et de 57,1 % au Japon, en 1995-1996 et pour 35 élevages étudiés (Anonyme, 2002).

En d'autres temps, la prévalence était estimée en France, à 69,8 % (Rose et coll. 1999), à 41,3 % en Turquie (Carli et coll. 2001) et au Sénégal en 2000-2001 à 28,6 % (70 élevages étudiés et prélèvements de fèces) (Cardinale et coll. 2004).

Au contraire, ces dernières années et grâce probablement aux performances des programmes de contrôle de la communauté européenne, les contaminations par les salmonelles semblent décliner dans la plupart des états européens. Ainsi, la prévalence était estimée de 1 à 11 % en 2005, avec des taux très bas en Scandinavie et des taux élevés dans les pays du sud de l'Europe (Grèce, Espagne, Italie) (Van Immerseel et coll. 2005).

En 2006, une étude de surveillance de la communauté européenne, signalait une prévalence autour de 9 % des élevages de poulet de chair pour 390 élevages étudiés (Chemaly et coll. 2006). Encore plus récemment, pour une étude conduite par l'autorité européenne de sécurité alimentaire (EFSA : European Food Safety Authority), d'octobre 2005 à septembre 2006, sur la filière chair, 3 semaines avant l'abattage, a montré une prévalence de *Salmonella* spp. autour de 23,7 %. Les taux étaient considérés variables, allant de 68,2 % en Hongrie, à 0 % en Suède, la France ayant présenté une prévalence de 6,2 % (Devos, 2007).

Bien sûr, notre prévalence d'élevages infectés par *Salmonella* doit être interprétée avec précaution car notre étude n'a pas concerné toutes les régions d'Algérie et par conséquent la comparaison de nos chiffres avec ceux d'autres pays serait abusive. Néanmoins, nous avons prélevé 30 élevages sur les 63 élevages fonctionnels dans la wilaya de Constantine ; en tenant compte des caractéristiques fortement semblables des élevages à travers toute l'Algérie (Kaci et coll. 2001), cela nous laisse penser que notre échantillonnage est représentatif. D'autre part, les prélèvements et toutes les autres données ont été effectués par la même personne, ce qui pourrait contribuer à la répétabilité des résultats.

L'extrapolation de cette prévalence à la prévalence en Algérie pour les raisons sus- citées, serait également entachée d'erreur et sous estimée car nous ne nous sommes pas intéressés au sérotype Pullorum Gallinarum et que nous n'avons étudié que le poulet de chair ; la tâche aurait été énorme, surtout qu'il est connu que les salmonelles non typhiques peuvent être masquées par le sérotype Pullorum Gallinarum, qui est de surcroît le sérotype le plus fréquent en Afrique du nord (Boudilmi et coll. 1997).

Le taux relativement élevé de la prévalence peut être expliqué par plusieurs facteurs : nous citerons en premier, le non respect des normes et les très faibles pratiques de gestion des élevages. Deuxièmement, l'absence des programmes de surveillance et de contrôle des salmonelles non typhiques au niveau des couvoirs et des élevages privés, où les prix les plus attractifs sont proposés aux éleveurs et consommateurs, surtout pour des pathologies sans symptômes apparents et sans des taux de mortalité trop élevés.

En première campagne de notre étude, la prévalence de contamination des élevages de poulet de chair par les salmonelles non typhiques était de 16,66 % (5/30) (I.C à 95 %,] 6,66 – 26,66 [), alors qu'en seconde campagne, la prévalence était de 36,66 % (11/30) (I.C à 95 %,] 24,66 - 48,66[). Les 5 élevages de la première campagne sont inclus dans les 11 élevages de la seconde campagne. La différence entre les deux campagnes était statistiquement significative ($\text{Chi}^2 = 13,61$) et peut être expliquée par le nombre de prélèvements qui a augmenté de 450 en première campagne à 1350 prélèvements et au changement de protocole, réajusté en seconde campagne.

Pour les abattoirs et pour les deux campagnes, la prévalence de contamination des carcasses par les salmonelles était de 73,33 % (11/15). L'étude est quasi exhaustive, puisque 15 des 18 abattoirs fonctionnels de la wilaya de Constantine, ont été prélevés par le même opérateur et que les 3 abattoirs non prélevés sont de même typologie. La prévalence en première campagne était de 40 % (6/15) et de 60 % (9/15) en seconde campagne. Cette augmentation de la prévalence, bien que statistiquement non significative ($\text{Chi}^2 = 3,06$), est expliquée par l'amélioration et la rigueur des protocoles de prélèvements et d'analyses utilisés en seconde campagne.

Nous remarquons aussi, que la prévalence au niveau des abattoirs (73,33 %) est plus importante que celle des élevages (36,66 %), ceci est expliqué par l'accumulation des conditions favorables aux contaminations réciproques par les salmonelles. Entre autres, la multiplication des manipulations que subissent les carcasses, les conditions d'humidité et de chaleur offertes au niveau des abattoirs et permettant la multiplication des salmonelles, mais aussi les conditions d'abattage et d'hygiène tout au long de la chaîne d'abattage. Les résultats sont aussi expliqués par les conditions environnementales de nettoyage et de désinfection insuffisantes, par les conditions d'hygiène insignifiantes et par l'inconscience des propriétaires et des ouvriers.

C'est ainsi que Bell et Kyriakides, en 2002, ont rapporté que la prévalence en élevage était toujours amplifiée en abattoir, car les contaminations survenaient tout au long de la chaîne d'abattage.

D'un autre côté, la proportion de prélèvements positifs, était relativement faible : 30 / 1800 prélèvements (1,66 %) dans les élevages et 25 / 690 prélèvements (3,62 %) dans les abattoirs. Ces résultats sont en accord avec les rares études réalisées en Afrique du nord (Boudilmi et coll. 1997 ; Aboun et coll. 2003, en Algérie ; Guellouz, 1997 en Tunisie et Maaroufi et coll. 1999 au Maroc, cités par Aboun et coll. 2003.

Ces résultats d'isolements peu fréquents peuvent être expliqués également par le stress que subissent les prélèvements lors de leur transport puis leur conservation sous régime de froid, avant d'être analysés. En effet, certaines souches et sérotypes sont affectés ou que de bas niveaux de contamination peuvent ne pas être isolés ou identifiés après mise sous froid. Ces niveaux d'isolement peuvent aussi être expliqués par l'utilisation prophylactique d'antibiotiques contre les salmonelles ou autres pathologies, ce qui limiterait le nombre de salmonelles mais pas l'assainissement des élevages et par conséquent réduit les chances de les isoler. L'exclusion compétitive par toutes les autres flores (Schneitz, 2005), pourrait aussi expliquer la relative faiblesse des résultats. En effet, les conditions très faibles d'élevage et d'abattage de la filière chair de nos abattoirs (Boudilmi et coll. 1997; Kaci et coll. 2001 et Aboun et coll. 2001) favoriseraient la recrudescence des différentes flores bactériennes qui seraient mises en compétition entre elles, selon le principe très connu de Nurmi et Rantala (Schneitz, 2005).

3.3 : Distribution des sérotypes :

La distribution des sérotypes a montré une prédominance de *S. Hadar* (36 %, n=20), suivi de *S. Virchow* (16 %, n=9), *S. Infantis* et *S. Albany* (11 %, n=6 pour chacun), *S. Typhimurium* (9 %, n=5), *S. Carnac* (7 %, n=4), *S. Enteritidis* (4 %, n=2) et *S. Heidelberg*, *S. Montevideo* et *S. Rissen* avec un isolat chacun. Yan et coll. 2003, rapportent que les sérotypes les plus fréquents chez la poule aux Etats-Unis, seraient *S. Heidelberg*, *S. Kentucky*, *S. Hadar*, *S. Typhimurium*, et *S. Thompson*, qui sont aussi retrouvés dans les aliments et chez les humains. Cette distribution est très proche des résultats d'une étude communautaire en Europe, qui rapporte que les sérotypes les plus fréquents chez le poulet de chair seraient *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Virchow*, *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* (Chemaly, 2006).

S. Hadar a été isolé en proportions équivalentes en première et en seconde campagne et aux mêmes proportions en élevages et abattoirs de volailles. Cela peut suggérer que les souches de ce sérotype seraient résidentes dans ces élevages et abattoirs ; cette situation peut être liée aux mauvaises conditions d'élevage et d'abattage et aux nombreuses fautes des pratiques de gestion et de travail. En effet, il est convenu de dire que si l'élevage est infecté par *Salmonella*, la bactérie peut persister si les procédures de nettoyage et de désinfection ne sont pas adéquates (Lahellec et coll. 1986).

S. Hadar est aussi le plus fréquemment isolé dans la filière volaille au Canada (Chambers et coll. 1998) et en France (Rose et coll. 1999; Brisabois et coll. 2006). Dans un récent rapport de l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), il a été rapporté que *S. Hadar* est le sérotype le plus fréquent en filière poulet de chair, suivi de *S. Infantis* et *S. Virchow* (Anonyme, 2007).

Nos résultats ont montré de leur côté que *S. Virchow* n'a été retrouvé qu'une seule fois en abattoirs durant la première campagne. Au contraire, il a été isolé six fois en élevage et deux fois en abattoirs durant la seconde campagne. Ceci peut être expliqué selon plusieurs auteurs par le fait que certains sérotypes peuvent apparaître ou disparaître inexplicablement d'une année à une autre (Ghafir, 2006 ; Chemaly et coll. 2006).

Ces variations de mise en évidence de ce dernier sérotype doivent être interprétées avec précaution, car nous pensons que les protocoles de prélèvements et d'analyses de la seconde campagne sont plus adéquats à l'isolement et à l'identification des salmonelles. Les protocoles utilisés en première campagne étaient dictés par des circonstances purement économiques en ce moment.

S. Infantis a été retrouvé seulement dans les élevages : 4 souches en première campagne et 2 souches en seconde. Ce sérotype est lui aussi commun en filière volaille, cependant les souches de ce sérotype n'ont pas été isolées en abattoirs de la wilaya de Constantine à la même période. Il est possible que cela serait dû au fait que certains élevages abattaient leurs volailles dans des abattoirs de wilayas limitrophes.

S. Enteritidis et *S. Typhimurium* n'ont pas été isolés en élevages, alors qu'ils ont été souvent isolés de prélèvements de volailles à travers le monde (Gorman, 2004) et en Algérie ces dernières années, mais avec des conditions différentes. Dans une étude conduite entre 1998 et 2002 à l'Institut Pasteur d'Alger, sur 51826 prélèvements de la filière volaille, 232 souches ont été isolées durant les 5 années de collecte des données. Parmi les souches recueillies, 48 % (n=112) appartenaient au sérotype *S. Enteritidis*, 12 % (n=27) au sérotype *S. Virchow*, 11 % (n=26) au sérotype *S. Pullorum Gallinarum* et seulement 6 % (n=14) au sérotype *S. Hadar* (Aboun et coll. 2003). Mais dans cette étude les prélèvements provenaient de tous les types d'élevages de volaille et comprenaient les pondeuses, les œufs, les poussins, la dinde, etc...

S. Albany, *S. Carnac* et *S. Rissen* ne sont pas du tout communs chez la volaille, ils proviendraient vraisemblablement de l'environnement et particulièrement des autres espèces animales qui ont libre accès aux élevages (bovins, ovins, dinde, pigeons, reptiles, insectes et rongeurs).

Ces derniers sérotypes n'étaient pas habituellement isolés en Algérie ou même en Afrique du nord. A notre connaissance, leur isolement est une première dans cette partie du monde ; nous pensons qu'ils auraient pu être importés avec le poussin ou dans les œufs.

On note aussi que 15 isolats ont été trouvés sur des prélèvements de foie, ce qui pourrait démontrer le caractère entéro-invasif de certaines souches, même si les contaminations croisées au niveau des abattoirs sont fréquentes. Ce sont particulièrement 9 souches de *S. Hadar*, 3 souches de *S. Typhimurium*, 1 *S. Montevideo*, 1 *S. Enteritidis* et 1 *S. Virchow*.

12 isolats ont été recueillis de prélèvements de fientes, dont 4 souches de *S. Hadar*, 4 *S. Infantis* et 4 *S. Virchow*. 3 isolats ont été identifiés sur des prélèvements d'écouvillons cloacaux, dont 1 souche de *S. Hadar*, 1 *S. Infantis* et 1 *S. Rissen*. Les souches isolées des fientes et des écouvillons cloacaux pourraient indiquer un portage salmonellique important de notre filière chair.

8 isolats ont été identifiés sur la peau du cou, dont 3 *S. Hadar*, 2 *S. Typhimurium*, 1 *S. Enteritidis*, 1 *S. Virchow* et 1 *S. Albany*. 2 sérotypes (1 *S. Virchow* et 1 *S. Albany*) ont été isolés sur les tables de travail des abattoirs. Les sérotypes isolés sur la peau et sur les tables de travail dénotent toutes les contaminations croisées et les faibles pratiques de gestion et d'hygiène des abattoirs notées dans la typologie de ces derniers.

C'est aussi le cas en élevages, où 6 sérotypes ont été isolés à partir de prélèvements de chiffonnettes d'abreuvoirs et mangeoires, dont 3 souches de *S. Hadar*, 1 *S. Heidelberg*, 1 *S. Virchow* et 1 *S. Infantis*.

4 souches ont été isolées de prélèvements d'aliments de volaille, dont 3 souches de *S. Albany* et 1 souche de *S. Virchow*, alors que 4 autres ont été isolées de prélèvements d'eau, toutes de sérotype *S. Carnac*, ce qui démontre que tous les intrants sont susceptibles d'être des sources potentielles de salmonellose. On notera enfin, que certains sérotypes n'ont jamais été isolés en Algérie, notamment *S. Carnac*, retrouvé dans l'aliment et qui pourrait avoir été importé d'Europe avec les aliments, *S. Rissen* pourrait provenir d'importations d'œufs européens. Ces sérotypes ont été régulièrement isolés et rapportés par des études européennes (Ghafir, 2006, Chemalyet coll. 2006, Brisabois et coll. 2006).

3.4 : Résistance aux antibiotiques :

La résistance des salmonelles à la streptomycine est assez commune et a concerné 56 % (n=31) des souches isolées, tandis que 34,5 % (n=19) des isolats ont été résistants aux tétracyclines, 27 % (n=15) à l'acide nalidixique et seulement 7 isolats étaient résistants aux fluoroquinolones. Cette assez importante proportion d'isolats résistants à l'acide nalidixique, n'est pas très surprenante, au regard de l'augmentation importante des résistances à cette molécule observée dans beaucoup de pays au cours de ces dernières années (Aerestrup et coll. 2007).

Un taux élevé (80 %) d'isolats de salmonelles a été trouvé résistant à au moins un antibiotique, alors que presque la moitié des isolats était résistante à deux molécules ou plus, mais leur vaste majorité concernait seulement la streptomycine et les tétracyclines, qui sont d'anciennes molécules largement utilisées en première intention. La résistance à ces molécules est assez connue et serait généralement due à un gène plasmidique qui peut être acquis assez facilement par les bactéries.

La présence d'isolats résistants aux fluoroquinolones est beaucoup plus inquiétante, car ces

molécules antibiotiques sont parmi les derniers recours pour le traitement des salmonelloses humaines sévères. Cela pourrait être lié à l'utilisation non prudente de ces molécules, pourtant assez chères. Fort heureusement, aucune résistance aux céphalosporines de troisième génération (3CG) n'a été mise en évidence dans notre étude. Pourtant, de récentes observations de souches résistantes à ces molécules dans un service de Néonatalogie à Constantine ont été rapportées. Elles ont probablement été sélectionnées par l'usage de ces molécules (Naas et coll. 2004).

D'un autre côté, l'instabilité intrinsèque de l'ADN extrachromosomique, la pression de sélection due à l'utilisation d'antibiotiques différents selon les endroits et les praticiens et la grande période d'observation pourraient expliquer l'hétérogénéité des isolats quant à leurs profils de résistance.

Par ailleurs, aucune différence significative n'a pu être constatée entre les deux catégories d'élevages (grande et petite capacité de production) ; Des chiffres presque équivalents (20 et 18 isolats résistants respectifs) ont été isolés dans les deux catégories d'élevages.

Seuls deux sérotypes à savoir *S. Heidelberg* et *S. Albany*, ont montré une résistance aux fluoroquinolones. Au contraire, tous les isolats de *S. Hadar* se sont avérés résistants au couple de molécules : streptomycine – tétracyclines. En France métropolitaine un tiers des *S. Hadar* étaient résistantes aux fluoroquinolones, et la moitié exprime une bêta-lactamase prouvant leur résistance aux bêta-lactamines; Alors que leur résistance aux tétracyclines et à la streptomycine sont selon les années de l'ordre de 4/5 et 2/3 respectivement. Toujours en France, les salmonelles présentent des pentarésistances de l'ordre de 3,3 % en santé et production animale et de 4,7 % en hygiène des aliments (Brisabois et coll. 2006).

Les isolats de *S. Virchow* étaient presque tous sensibles à tous les antibiotiques testés, néanmoins, 22 % de ces derniers étaient résistants à l'acide nalidixique. Ces isolats étaient exclusivement isolés en seconde campagne, ceci pourrait s'expliquer par un essai de traitement isolé, destiné à une quelconque pathologie.

Les souches de *S. Infantis* se sont avérés presque toutes (67 %) résistantes à l'acide nalidixique et ont été isolées en première campagne, alors que toutes celles isolées en seconde campagne étaient sensibles à toutes les molécules d'antibiotiques testées.

Comparés aux résultats du réseau *Salmonella*, de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (Brisabois et coll. 2006), les salmonelles recueillies en Algérie présentent un degré presque équivalent vis-à-vis des tétracyclines (45 % en Algérie et 50 et 55,5 % respectivement en santé et productions animales et en hygiène alimentaire), par contre, la résistance des salmonelles à la streptomycine est largement en défaveur de l'Algérie avec 65 %, contre 38 et 43,5 % respectivement pour la France. Les salmonelles recueillies dans la wilaya de Constantine se sont avérées toutes sensibles aux sulfamides, à l'ampicilline, à la céfalotine, alors que celles recueillies en France présentaient des résistances à ces molécules variant respectivement de 16 à 1,5 %. Les résistances aux quinolones et fluoroquinolones restent assez basses pour l'Algérie (3 %, n=1), et entre 16 et 1 % respectivement pour la France.

Les différents profils de résistance indiqueraient donc que différents clones ont circulé durant respectivement, la première et la seconde campagne.

Malheureusement, les données sur les antibiotiques utilisés en élevages de poulet de chair ne sont pas disponibles.

C'est ainsi qu'il serait intéressant et nécessaire ultérieurement de connaître avec exactitude les pratiques d'antibiothérapie au cours de ces dernières années en Algérie et de procéder à des caractérisations génotypiques pour confirmer notre hypothèse et vérifier si la plupart des profils ont été présents dans la wilaya de Constantine, durant la période de notre étude.

Au contraire, pour *S. Hadar*, les mêmes profils ont été mis en évidence dans les élevages et dans les abattoirs, ainsi que durant les deux campagnes, d'où la nécessité de caractérisations plus poussées pour confirmer les voies de transmission.

S. Typhimurium a été trouvé seulement dans les abattoirs. Ces isolats ont montré deux profils de résistance différents, leur origine pourrait être le poulet de chair et la dinde ; en effet, cette dernière est abattue dans les mêmes abattoirs que le poulet de chair, ce qui pourrait les contaminer à travers les équipements, les ustensiles de travail ou même les ouvriers.

3.5 : Facteurs de risques potentiels :

L'étude des questionnaires nous a permis de sélectionner quelques facteurs de risques potentiels pour les élevages et les abattoirs. Seuls quatre facteurs associés à la contamination par les salmonelles dans les élevages se sont avérés statistiquement significatifs et aucun pour les abattoirs. Ces derniers facteurs ont été souvent rapportés dans les études et la littérature internationale mais c'est la première fois que ce type de données est disponible en Algérie.

La densité des volailles dans le bâtiment (O.R=7,7 ; I.C à 95 %] 1,28 – 46,3[), montrait une association statistiquement significative aux contaminations par les salmonelles : Les élevages de poulet de chair où la densité est au dessus de 11 sujets / m² avaient un taux de contamination plus faible que celui des élevages de densité inférieure à 11 sujets / m². Ces résultats sont en contradiction avec la littérature, qui rapporte que la forte densité est un facteur de risque favorisant (Heyndrix et coll. 2002, Kaci et coll. 2001 ; mais ce résultat n'est pas du tout surprenant et peut être expliqué par le caractère rudimentaire des élevages à basse densité, où l'investissement est très faible avec de très pauvres conditions hygiéniques qui favoriseraient l'installation et la persistance des salmonelles dans ces élevages (Kaci et coll. 2001, Rose et coll. 1999).

Le taux de mortalité (O.R=13,75, I.C à 95 %] 1,45 – 130 [), a montré que les élevages où le taux de mortalité était élevé (15 % et plus par bande élevée), étaient plus contaminés, que les élevages où le taux était inférieur à 15 %. Le taux de mortalité est probablement un indicateur du niveau de l'hygiène globale de l'élevage. La présence par ailleurs, d'autres pathologies mortelles ou d'un stress, qui seraient liées aux mauvaises conditions de gestion et d'hygiène des élevages, pourraient être responsable de déprime immunitaire, qui favoriserait l'installation des salmonelles (Arsenault et coll.2007 ; Lettelier et coll. 2006 ; Gradel et coll. 2003 ; Bailey et coll. 2002).

Le sol s'est avéré significativement associé à la contamination des élevages (O.R=21 ; I.C à 95 %] 2 – 223[. En effet, seuls 5 sur 23 élevages qui avaient un sol en béton, étaient positifs, alors que 6 parmi les 7 élevages dont le sol était en terre battue, étaient contaminés. Il est évident que le sol en terre battue offre des conditions de chaleur et d'humidité qui sont favorables aux salmonelles ; Au contraire, le béton est facile à nettoyer et à désinfecter et par conséquent peut désavantager la survie et la multiplication des bactéries.

L'accès facile d'autres animaux (bovins, ovins, chiens, chats, reptiles, insectes et rongeurs) aux élevages et dans certains cas même aux bâtiments, paraît contribuer significativement à augmenter le risque de contamination (O.R=6,18 ; I.C à 95 %] 0,64 – 14[. Effectivement, 9 sur 17 élevages donnant accès facile aux autres animaux, sont contaminés.

Cela pourrait refléter directement ou indirectement la contamination de la volaille par ces animaux, ces derniers sont reconnus par différents auteurs pour leur rôle de réservoir et de vecteurs de transmission des salmonelles (Arsenault et coll. 2007 ; Van Immerseel et coll. 2005 ; Rose et coll. 1999).

3.6. Salmonelles humaines:

Le choix et le nombre de sérotypes recueillis au service de microbiologie a été fait en fonction du nombre de sérotypes isolés en 2006 et 2007. Nous remarquons d'abord que 70 % des sérotypes isolés chez le poulet de chair sont retrouvés chez les humains, on citera en exemple *S. hadar*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Albany* etc... quelques sérotypes isolés chez la volaille ne sont pas retrouvés chez les humains, c'est l'exemple de *S. Carnac*, qui pourrait être un nouveau sérotype importé de l'étranger avec les œufs ou les aliments et qui ne serait pas encore arrivé aux consommateurs ou pas encore isolé. D'autre part, des sérotypes recueillis chez les humains n'ont pas été trouvés chez la volaille. C'est l'exemple de *S. Senftenberg*, souvent isolé chez les humains et pas dans notre étude, cela pourrait s'expliquer par une source différente au poulet de chair, même si ce dernier sérotype est très commun à la volaille (Moury, 2005), cela pourrait être la pondeuse ou les reproducteurs (Aboun et coll. 2004).

L'antibiorésistance semble être très inquiétante, car elle concerne la plupart des molécules testées et englobe 82,2 % (n = 37) des isolats, avec notamment 57,7 % (n = 26) de résistance à l'acide nalidixique, 37,7 % (n = 17) à la streptomycine, 28,8 % (n = 13) à l'ofloxacine, 24,4 % (n = 11) aux tétracyclines, 20 % (n = 9) aux sulfamides et à l'ampicilline et 8,8 % (n = 4) pour le chloramphénicol (voir tableau n° 17).

Les profils d'antibiorésistance des souches humaines se sont avérés nombreux, c'est ainsi qu'on dénombre 7 profils (voir tableau n° 18) pour 14 souches de *S. Enteritidis*, dont une souche avec le phénotype sensible ou sauvage, du même profil que celui des souches du poulet de chair. 3 profils de résistance ont été détectés au sein des 7 souches de *S. Typhimurium*, et qui sont différents de celui des souches du poulet de chair. 3 profils ont été retrouvés pour *S. Hadar*, différents des profils des salmonelles du poulet de chair. 1 seul profil sauvage c'est-à-dire multi-sensible a été identifié pour *S. Virchow* comme pour *S. Infantis*, dont on a retrouvé respectivement 7 et 4 souches de même profil chez le poulet de chair. De même, il y a un seul profil de résistance pour *S. Albany*, où l'on a retrouvé 4 souches du même profil.

3.7 : Analyse des PCR et de la PFGE

Toutes les souches ont été caractérisées sur le plan génotypique par trois méthodes (ERIC-PCR, IS-PCR et pulsotypage), afin d'estimer les liens de clonalité et d'en déduire les possibles voies de transmission de nos souches entre les élevages et les abattoirs, mais aussi avec les consommateurs et particulièrement les patients du C.H.U de Constantine, ayant présenté des symptômes de toxi-infections alimentaires à salmonelles. Cette étude est aussi l'occasion de comparer l'efficacité et le pouvoir de discrimination de ces différentes méthodes de caractérisation dans le cadre d'un travail épidémiologique de terrain sur des souches humaines et aviaires en Algérie.

Tous les profils ERIC-PCR, IS-PCR et les PCR types de la totalité des sérotypes étudiés, sont présentés sur le tableau n° 19. On a noté 16 profils ERIC-PCR, 20 profils IS-PCR, 20 PCR types et 34 pulsotypes.

Pour l'ERIC-PCR et parmi tous les sérotypes, seul, *S. Albany* a présenté 2 profils ERIC différents (I et II); Alors que *S. Rissen* a présenté un profil ERIC (VII) qui la confond avec le profil ERIC (VII) du sérotype *S. Infantis* (voir tableau n° 19).

Cela peut vouloir dire que l'ERIC-PCR n'est pas très discriminante pour les souches que nous avons étudiées, ceci est corroboré par les travaux de Millemann et coll. 1996, qui malgré les essais préliminaires d'optimisation des conditions de réaction, n'a obtenu que 2 profils stables et reproductibles parmi 56 *S. Typhimurium* étudiés et un seul parmi 29 *S. Enteritidis*.

L'IS-PCR semble être un peu plus discriminante que l'ERIC-PCR, pour certains sérotypes, notamment *S. Enteritidis*, *S. Hadar*, *S. Senftenberg* et *S. Typhimurium*, qui ont montré chacun 2 profils IS-PCR différents (tableau n°19). Elle pourrait constituer un marqueur épidémiologique supplémentaire pour les salmonelles : en effet, elle a permis de distinguer des souches de *S. Typhimurium* d'un même lysotype et d'analyser les relations génétiques entre souches de divers lysotypes, de démontrer la persistance d'un clone de *S. Typhimurium* chez la volaille et a été utilisée pour caractériser une souche vaccinale (Millemann, 1998).

L'électrophorèse en champ pulsé est une technique qui semble bien plus discriminante pour l'ensemble de nos isolats, les profils génotypiques dénombrés sont divers, comme d'ailleurs les profils d'antibiorésistance, avec 34 pulsotypes et 30 profils d'antibiorésistance.

Le pulsotypage apparaît être un outil très efficace pour déterminer si des isolats ont des liens de clonalité : elle est désormais utilisée comme méthode de référence dans les réseaux de surveillance moléculaire des *Escherichia coli* vérotoxigènes et des *Salmonella* (Mammina et coll. 2003).

3.7.1 : Analyse des profils génotypiques et comparaison aux profils d'antibiorésistance :

Les isolats sont décrits et les profils comparés sérotype par sérotype suivant le degré d'homogénéité des pulsotypes.

3.7.1.1 : Profils homogènes :

S. Blockley : Les 2 souches étudiées présentent le même profil SBLOXB0001, le même profil ERIC (profil V), le même profil IS (profil E) et sont de la même source humaine, il est très probable que ce soient des souches du même clone, circulant dans un territoire quelconque et contaminant différentes personnes à différents moments. Les profils d'antibiorésistance sont par contre différents, cela n'exclut pas l'hypothèse de clonalité car les salmonelles comme d'autres bactéries, sont bien connues pour leur capacité à acquérir des gènes de résistance de manière naturelle ou sous pression de sélection de traitements antibiotiques (Guilot, 1990 ; Cloeckart et coll. 2001).

S. Kentucky : Là aussi, 2 souches d'origine humaine ont été étudiées. Elles ont présenté les mêmes profils PFGE (SKNTXB0006), ERIC (profil X), IS (profil L) et le même profil de multi-résistance aux antibiotiques. Ces profils identiques laissent supposer l'existence d'un clone, lequel persiste chez les patients puisque les souches n'ont pas été recueillies à la même période ; la multirésistance peut être associée à la pression de sélection liée aux traitements antibiotiques, dans un milieu hospitalier.

S. Hadar : Parmi les 24 souches étudiées, un seul profil a été trouvé pour une digestion avec l'enzyme de restriction *XbaI* et un seul profil pour l'enzyme de restriction *BlnI*, ce qui semble démontrer le caractère clonal des souches de ce sérotype aussi bien chez le poulet de chair que chez les humains : ces liens génétiques peuvent suggérer fortement des liens épidémiologiques entre souches humaines et souches isolées du poulet de chair. Le caractère clonal semble aussi démontré par un profil unique en ERIC-PCR (Profil VIII), comme en IS-PCR (Profil I), sauf pour 2 souches provenant des abattoirs : ces dernières pourraient être associées à l'abattage de dindes au sein des mêmes abattoirs.

Ce clone a été isolé à différents niveaux de la filière chair et chez les humains dans la wilaya de Constantine. On peut légitimement s'interroger sur la persistance de ce sérotype de manière épidémique, et éventuellement au niveau national par le biais d'études plus approfondies et à caractère national.

En effet, la technique de pulsotypage (PFGE) est souvent utilisée dans les investigations lors de toxi-infections alimentaires collectives à salmonelles avec beaucoup de succès pour démontrer les liens épidémiologiques entre la source et le patient. Plusieurs travaux illustrent le cas : ainsi Boonmar et coll. (1998), ont démontré grâce au pulsotypage et à la lysotypie, le caractère clonal des souches de *S. Enteritidis* recueillies de la viande de poulet de chair et en élevages d'une part, et chez des humains en Thaïlande, d'autre part. Gorman et coll. (2004) ont souligné les liens génétiques existant entre des isolats de *S. Typhimurium* DT104 humains, alimentaires et de source animale.

Une étude internationale a même mis en évidence les liens clonaux des souches du sérotype *S. Typhimurium* appartenant au lysotype DT104, à travers différents pays : Danemark, Allemagne, Italie, Espagne, et les Etats Unis (Bagessen et coll., 2000). Cardinale et coll. (2005) au Sénégal, ont de leur côté apporté les preuves de la transmission des souches aviaires aux consommateurs.

3.7.1.2 : Profils mixtes :

S. Albany : les souches de ce sérotype présentent 2 pulsotypes, qui ne semblent pas correspondre aux 2 profils ERIC et aux 2 profils IS. Par contre, les pulsotypes séparent clairement les souches en respect avec leurs origines, puisque le profil SABYXB0002, provenait d'une source humaine, alors que le profil SABYXB0003 provenait des élevages et abattoirs. Ce dernier profil suggère des liens épidémiologiques entre les souches isolées en élevages et celles recueillies en abattoirs, même si quelques souches présentent des profils ERIC, des profils IS et des profils d'antibiorésistance différents. Ces profils mixtes démontrent l'intérêt de l'association des techniques de caractérisation et leur complémentarité pour tracer avec précision la dissémination ou la persistance des souches dans une région.

S. Infantis : Le pulsotypage différencie 2 profils (SINFXB0001 et SINFXB0005), correspondant pour le premier profil à des souches isolées en élevages et pour le second à des souches isolées chez l'homme. Les 2 profils semblent se confondre en un seul profil ERIC (XII) et un seul profil IS (N), démontrant l'efficacité du pulsotypage ; Par contre, ils correspondent aux 2 profils d'antibiorésistance (Sauvage et NA).

S. Virchow : Ce sérotype a présenté 2 pulsotypes différents : un profil, SVIRXB0005, rencontré chez la souche humaine et quelques souches aviaires provenant aussi bien d'élevages que d'abattoirs, et un autre profil, SVIRXB0017, rencontré chez les souches de poulet de chair provenant d'élevages. Les méthodes ERIC-PCR et IS-PCR ne sont pas discriminantes pour ce sérotype, avec un seul profil.

Sur la base de ces résultats, l'hypothèse peut être posée de la dissémination des souches de profil SVIRXB0005 du poulet de chair aux consommateurs. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les souches isolées en abattoir avaient toutes ce profil.

3.7.1.3 : Profils hétérogènes :

S. Enteritidis : La technique de pulsotypage semble être très discriminante pour *S. Enteritidis*, avec 7 pulsotypes différents, alors que l'ERIC-PCR ne donne qu'un seul profil (VII) et l'IS-PCR juste 2 profils (G et H). Le pulsotype SENTXB0001 est retrouvé chez des souches humaines recueillies aussi bien en 2005-2006 qu'en 2006-2007, et ces souches ont un même profil en ERIC-PCR (VII) et en IS-PCR (G). Ceci pourrait nous laisser supposer la persistance des souches de ce clone dans la wilaya de Constantine sur les deux années consécutives : il serait intéressant de l'étudier également au niveau national.

En effet, Mammina et coll. (2003) rapportent que la diffusion clonale de certains génotypes prédominants tels *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* est peut être plus répandue qu'on ne le pense habituellement et que la dissémination clonale à l'échelle nationale par le biais de la volaille est possible. En revanche, les souches de poulet de chair ont un profil différent (SENTXB0016) de celui des souches humaines. Les souches humaines, quant à elles, avec pas moins de 6 profils différents, semblent être d'origines variées.

S. Enteritidis est très répandu dans les œufs, certains plats cuisinés (Chemaly, 2006). Au contraire, Cardinale et coll. (2005) ont souligné les similitudes génétiques des pulsotypes de *S. Enteritidis* d'origine humaine et de ceux isolés du poulet de chair au Sénégal. Les profils d'antibiorésistance de nos souches sont eux aussi assez diversifiés, allant de profils sauvages à des profils NA où NA, OFX, jusqu'à des profils de multirésistance.

S. Heidelberg : le pulsotypage a souligné des liens de clonalité et donc des liens épidémiologiques possibles entre une souche humaine et une isolée de poulet de chair (SHIDXB0002) ; ce résultat s'accorde avec les résultats de l'ERIC-PCR et de l'IS-PCR. Les profils d'antibiorésistance sont quand même assez proches : (NA), (NA, OFX) et (S, NA, OFX). Les 3 autres pulsotypes sont uniquement retrouvés dans des souches humaines et pourraient provenir d'autres sources alimentaires que le poulet de chair.

S. Typhimurium : Dans notre étude, les souches de *S. Typhimurium* se sont réparties en 5 pulsotypes différents, mais avec 1 seul profil en ERIC-PCR (XIV), 2 profils en IS-PCR (R et Q) et 4 profils d'antibiorésistance, dont le fameux profil pentarésistant A,C,SSS,S,TE, qui correspond en général au lysotype DT104, qui pose d'énormes soucis pour la santé publique à travers le monde (Cloeckaert et coll. 2001).

Les souches aviaires appartiennent à un seul pulsotype (STYPXB0021), alors que l'on retrouve 4 pulsotypes différents pour les souches humaines, ce qui semble indiquer que les réservoirs de *S. Typhimurium* pour les humains sont diversifiés et que le poulet de chair ne figure pas parmi les sources majeures de contamination par salmonelles de l'homme dans notre région. Cependant, beaucoup de travaux à travers le monde ont démontré l'implication du poulet de chair dans les épidémies à salmonelles et particulièrement le redoutable *S. Typhimurium* DT104 (Cloeckaert et coll., 2001 ; Gorman et coll. 2004).

L'ERIC-PCR semble ne pas être discriminante pour ce sérotype avec un seul profil (Profil XIV) ; cependant, l'IS-PCR nous classe les souches de *S. Typhimurium* en un profil aviaire (Profil R) et un profil humain (Profil Q), ce qui semble écarter la possibilité de liens épidémiologiques et souligne la complémentarité des différentes méthodes utilisées.

S. Senftenberg : Ce sérotype présente 5 pulsotypes pour 6 souches étudiées, 1 profil ERIC (XIII), 2 profils IS (N) et (O) et 2 profils d'antibiorésistance : (S, NA) et 1 profil de multirésistance. La technique semble très discriminante, malgré l'origine seulement humaine des souches, recueillies sur une période de 2 ans et qui pourrait démontrer la diversité des sources de ce sérotype.

3.7.2 : Comparaison des résultats de PFGE par sérotype à la banque de données de l'AFSSA. (Maisons Alfort, France)

Nous avons également profité de notre passage au Laboratoire d'Epidémiologie et Caractérisation Bactérienne de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons Alfort, pour comparer nos résultats de pulsotypage souche par souche, à la banque de données de l'AFSSA Maisons Alfort, afin de nous faire une idée de la fréquence relative des pulsotypes, de leurs origines supposées et de leur diffusion à travers les pays avoisinants et particulièrement la France.

Afin de s'aligner sur des programmes européens de typage moléculaire, l'AFSSA a adopté la nomenclature suivante pour l'attribution des numéros de profils : code à 6 lettres associé à un numéro de 4 chiffres. La première lettre correspond au genre (S pour *Salmonella*), les 3 lettres suivantes correspondent à la codification du sérotype (VIR pour Virchow). Les 2 dernières lettres correspondent au code de l'enzyme (XB pour *XbaI*). Il y a ensuite le numéro de profil (0001 pour le premier, 0002 pour le second etc.). Les profils sont analysés à l'aide du logiciel Bionumerics (V4 Applied maths). Ce logiciel permet d'effectuer des comparaisons avec les profils présents dans la base de données du laboratoire.

La base de données de profils comporte environ 2900 profils, une cinquantaine de sérotypes sont représentés, même si pour certains il n'y a que quelques souches. Ci-dessous, lorsqu'il est indiqué que « x » souches ont été étudiées et qu'il existe « y » profils, nos souches ne sont pas comprises dans ce comptage. En outre, nos commentaires reposent sur les profils identifiés au sein des souches de notre étude.

Salmonella Albany

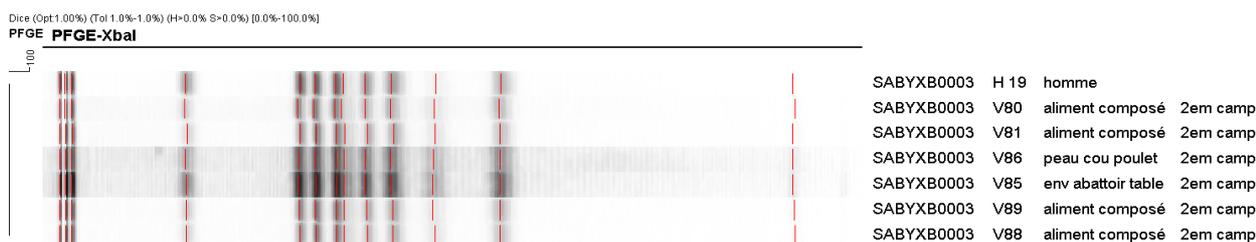


Figure n° 10 : Profils PFGE de *S. Albany*.

Les souches de ce sérotype n'ont pu être différenciées après digestion par l'enzyme de restriction *XbaI*. Nous n'avons aucune souche de ce sérotype dans la base de données jusque là. Nos souches étaient les premières de la base de données.

Salmonella Kentucky

Dice (Opt:1.00%) (Tol:1.0%-1.0%) (H=0.0% S=0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE PFGE-XbaI



Figure n° 11 : Profils PFGE de *S. Kentucky*

Au sein de la base, 32 souches de ce sérotype ont été analysées et 6 profils ont été identifiés. Le **profil 6** que nous avons identifié dans nos souches, n'avait été trouvé auparavant qu'une seule fois en humaine, pour une souche venant de Dakar.

Salmonella Infantis

Dice (Opt:1.00%) (Tol:1.0%-1.0%) (H=0.0% S=0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE-XbaI

PFGE-XbaI

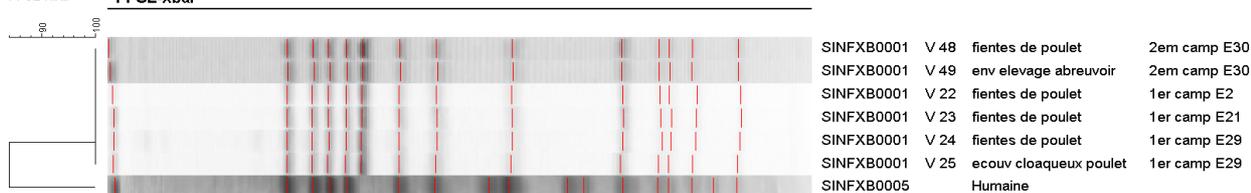


Figure n° 12 : Profils PFGE de *S. Infantis*.

Au sein de la base, 89 souches de ce sérotype ont été analysées et 19 profils ont été identifiés. Le **profil 5** est majoritaire (23 souches), retrouvé dans diverses filières, bovine notamment, porcine, volaille. Le **profil 1** (13 souches) est retrouvé dans les filières volaille, écosystème et épices.

Salmonella Hadar par XbaI

Dice (Opt:1.00%) (Tol:1.0%-1.0%) (H=0.0% S=0.0%) [0.0%-100.0%]

PFGE PFGE-XbaI

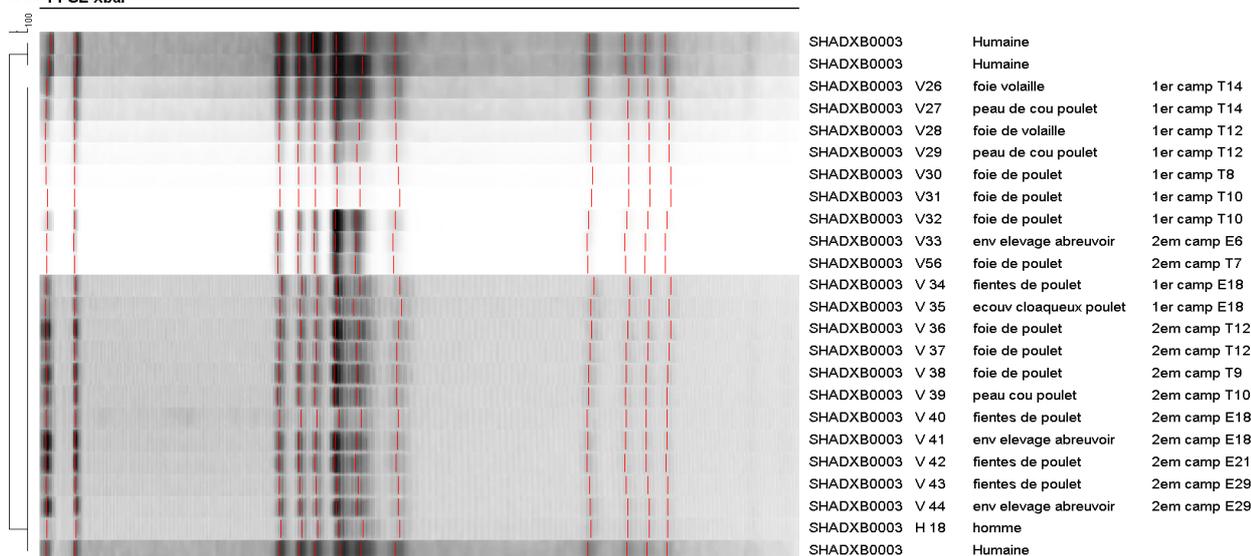


Figure n° 13 : Profils PFGE de *S. Hadar par XbaI*

Les souches de ce sérotype n'ont pu être différenciées par la technique PFGE. Pourtant au sein de la base, 146 souches de ce sérotype ont été précédemment étudiées, et 24 profils ont été identifiés. Le **profil 3** est largement majoritaire. Il a été trouvé dans les filières volaille, bovine, humaine, écosystème, plats cuisinés.

Salmonella Hadar par BlnI

Dice (Opt:1.00%) (Tol:1.2%-1.2%) (H+:0.0% S+:0.0%) [0.0%-100.0%]
 PFGI PFGE-BlnI

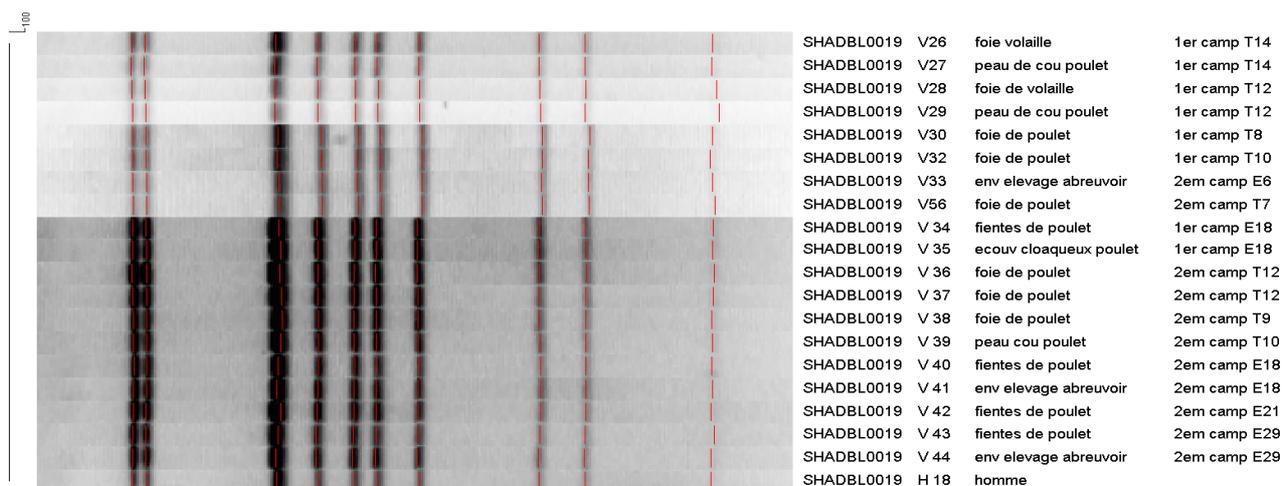


Figure n° 14 : Profils PFGE de *S. Hadar* par *BlnI*

Au sein de la base, 76 souches possédant le profil SHADBL0003 ou SHADBL0003b ont été identifiées après digestion par l'enzyme de restriction *BlnI*, il existe 18 profils. Le profil observé dans cette étude pour toutes les souches étudiées est **nouveau** dans notre base de données.

Salmonella Agona

PFGE-XbaI



Figure n° 15 : Profils PFGE de *S. Agona*

Au sein de la base, 73 souches de ce sérotype ont été analysées par PFGE, et 26 profils ont été identifiés. Le **profil 4** identifié pour la souche H17 est peu fréquent, il n'a été que rencontré 2 fois, et uniquement dans une usine de lait en poudre au Sri Lanka.

Salmonella Blockley

Dice (Opt:1.00%) (Tol:1.0%-1.0%) (H+:0.0% S+:0.0%) [0.0%-100.0%]
 PFG PFGE-XbaI



Figure n° 16 : Profils PFGE de *S. Blockley*

Au sein de la base, 19 souches de ce sérotype ont été étudiées et 6 profils ont été identifiés. Dans notre étude, les deux souches humaines de ce sérotype n'ont pu être différenciées, présentant le profil 1. Le **profil SBLOXB0001** est majoritaire, il a déjà été observé 9 fois pour des souches provenant de la filière volaille notamment mais aussi pour une souche provenant d'un plat cuisiné et une provenant de boue (écosystème).

Salmonella Enteritidis

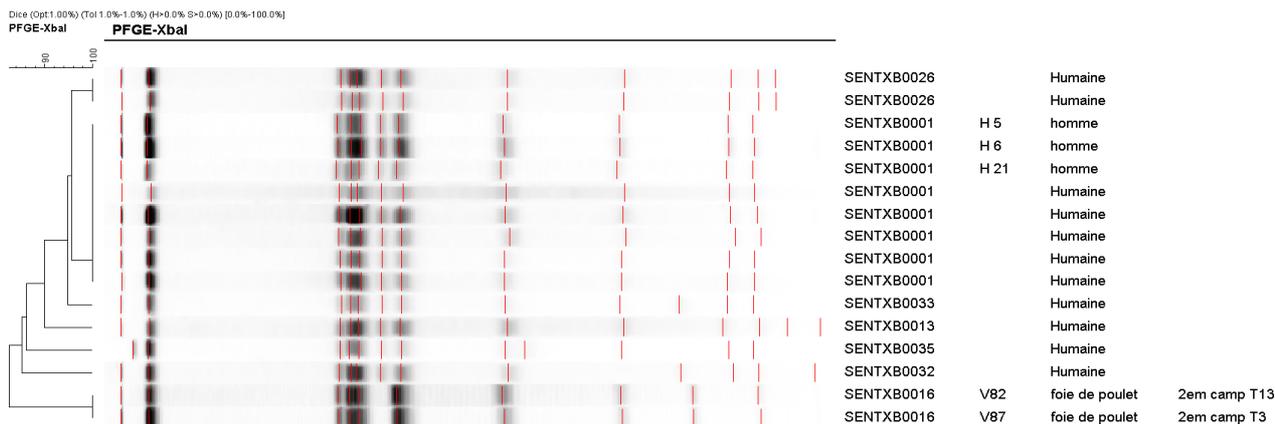


Figure n° 17 : Profils PFGE de *S. Enteritidis*

Au sein de la base, 246 souches de ce sérotype ont été analysées, et 34 profils ont été identifiés. Comme dans notre étude, le **profil 1** est majoritaire dans la base de données AFSSA (82 souches), où les souches possédant ce profil sont d'origine humaine, ou proviennent de volaille, pâtisserie, plats cuisinés, produits de la mer, écosystème etc...Il y a également 1 souche provenant d'un flamand rose en Tunisie. Ce profil a été souvent relié aux souches de phage type PT4.

Trois souches de la base possèdent le **profil 13**, 2 viennent de pâtisserie, la troisième est une souche humaine de Dakar. Deux souches possèdent le **profil 16** et viennent de la filière volaille, 1 souche de ce profil est d'origine humaine. Les profils **32, 33, 35** identifiés dans notre étude sont nouveaux.

Salmonella Senftenberg

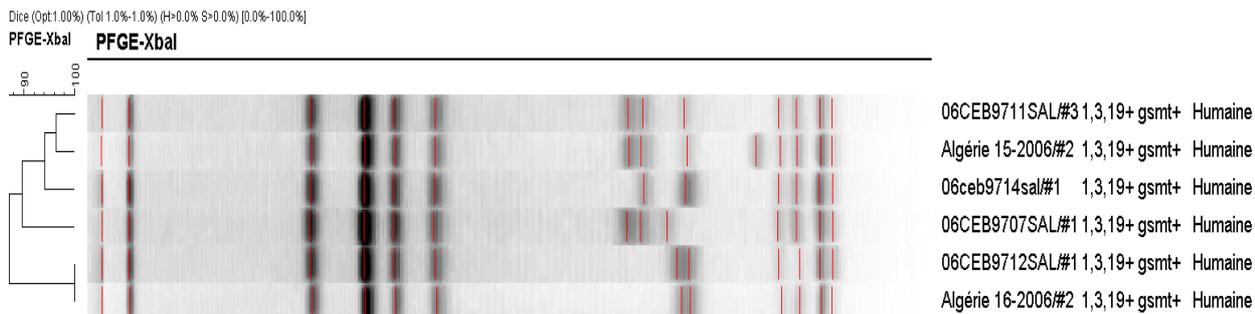


Figure n° 18 : Profils PFGE de *S. Senftenberg*

Ces 6 souches dont la culture n'était manifestement pas pure au départ posaient des problèmes. Elles ont été envoyées à l'Institut Pasteur de Paris. Elles sont proches, deux d'entre elles ont même un profil identique et lorsque nous les comparons avec la base entière, elles se classent près des Senftenberg. Deux d'entre elles avaient d'ailleurs au départ été sérotypées comme étant Senftenberg mais le profil obtenu ne cadrerait pas et après vérification et purification des souches le sérotype semblait être nouveau.

Après pratiquement 6 mois, un rapport de l'Institut Pasteur de Paris a confirmé leur appartenance au sérotype *S. Senftenberg*. Malheureusement, arrivées très tard, elles n'ont pas été comparées à la banque de données de l'AFSSA de Maisons Alfort.

Les souches de notre étude présentaient les profils SSFTXB0013, SSFTXB0037, SSFTXB0038, SSFTXB0039 et SSFTXB0040.

Salmonella Indiana



Figure n° 19 : Profils PFGE de *S. Indiana*

Au sein de la base, 55 souches de ce sérotype ont été analysées. 17 profils ont été identifiés. Le **profil 5** est nouveau dans notre base de données.

Salmonella Virchow

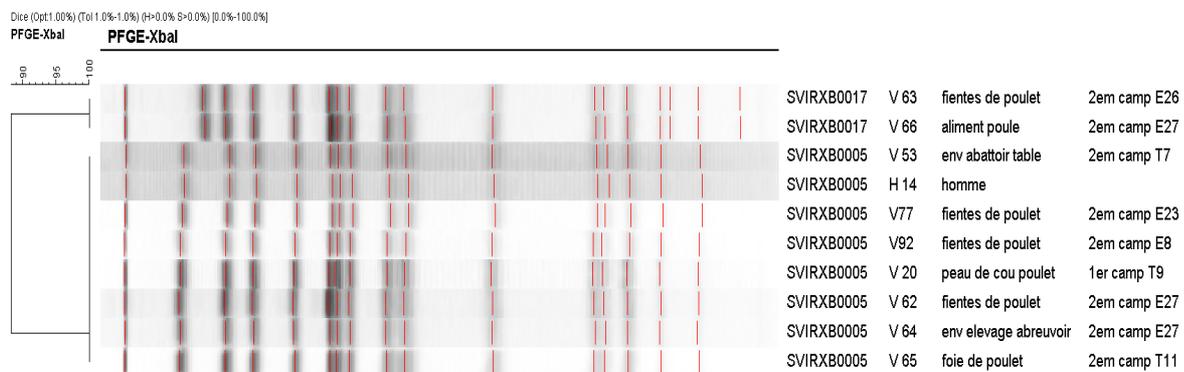


Figure n° 20 : Profils PFGE de *S. Virchow*

Au sein de la base, 109 souches de ce sérotype ont été analysées, et 22 profils ont été identifiés. Le **profil 5** est majoritaire (43 souches), on le retrouve dans la filière volaille, en humaine, écosystème et produits de charcuterie. Le **profil 17** n'a été trouvé que 3 fois, en humaine, boue et volaille.

Salmonella Montevideo



Figure n° 21 : Profils PFGE de *S. Montevideo*

Au sein de la base, 292 souches de ce sérotype ont été analysées. 43 profils ont été identifiés. Le **profil 5** est un des profils majoritaire (80 souches), on le retrouve dans la filière bovine, volaille, plats cuisinés, humaine, lait et fromage, écosystème.

Salmonella Typhimurium

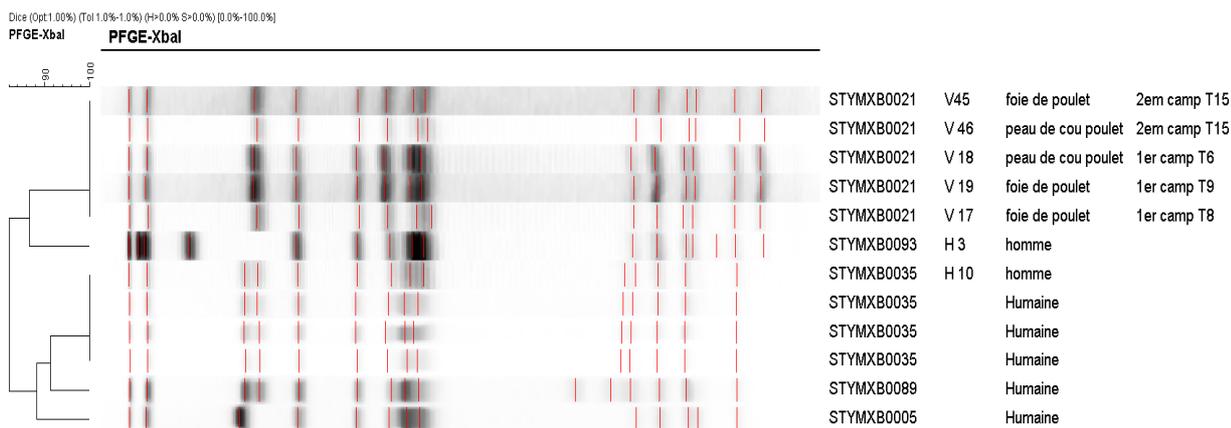


Figure n° 22 : Profils PFGE de S. Typhimurium

Au sein de la base, 396 souches de ce sérotype ont été analysées, 96 profils ont été identifiés. Le **profil 21** a été trouvé 6 fois pour des souches venant de volaille, lapin et produits de la mer. Le **profil 5** a été trouvé 3 fois, 1 souche venant de charcuterie et deux souches de Tunisie, l'une étant d'origine ovine, l'autre venant d'un crocodile. Le **profil 35** a été trouvé 4 fois pour des souches venant de porc, lait et fromage, plats cuisinés et merguez. Les **profils 89 et 93** sont nouveaux.

Salmonella Heidelberg

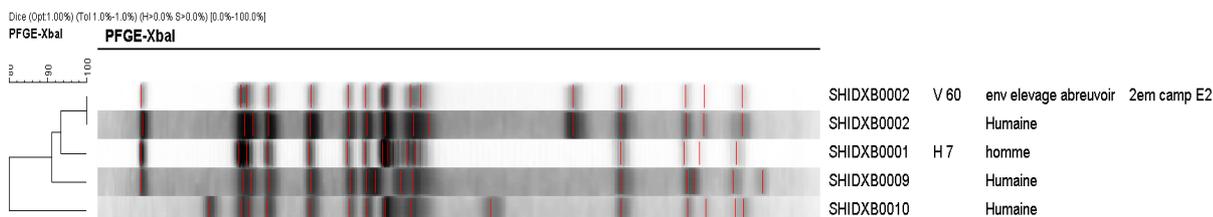


Figure n° 23: Profils PFGE de S. Heidelberg

Au sein de la base, 26 souches de ce sérotype ont été analysées. 8 profils ont été identifiés. Les **profils 9 et 10** sont nouveaux dans la base de données de l'AFSSA. Le **profil 1** est majoritaire (15 souches) et déjà rencontré dans la filière volaille. Le **profil 2** (3 souches) a déjà été rencontré dans la filière volaille.

Salmonella Carnac

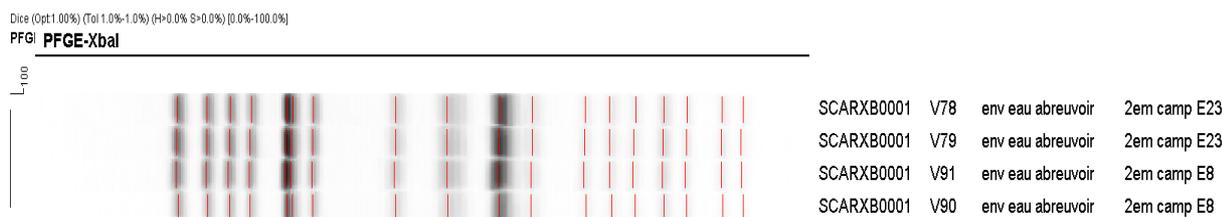


Figure n° 24 : Profils PFGE de S. Carnac

Les quatre souches de ce sérotype n'ont pu être différenciées par la technique PFGE. Ce sérotype n'avait jamais été étudié à l'AFSSA à ce jour.

Salmonella Anatum



Figure n° 25 : Profils PFGE de S. Anatum

Au sein de la base, 39 souches de ce sérotype ont été analysées par PFGE, 16 profils ont été identifiés. Le profil observé pour la souche H12 est nouveau.

3.7.3 : Evaluation de la discrimination obtenue par PFGE à l'aide de l'indice de Simpson (D) :

Le pouvoir discriminant d'une technique de typage représente sa faculté à différencier les souches n'appartenant pas au même groupe. Cela est déterminé par le nombre de profils obtenus par la méthode testée ainsi que par leur fréquence relative. En général ces données ne sont pas présentées en une seule valeur numérique. Par conséquent, elles ne peuvent pas être utilisées pour effectuer une comparaison de différentes techniques (Hunter, P.R. et Gaston, M.A., 1990). Hunter et Gaston ont suggéré d'utiliser une seule valeur d'indice de discrimination (D) pour faciliter les comparaisons. Cet index est basé sur la probabilité que deux souches différentes échantillonnées dans la population testée appartiennent des groupes ayant des profils différents. Cette probabilité peut se calculer par l'indice de diversité de Simpson initialement établi pour décrire la diversité des espèces au sein d'un écosystème. Cet indice est donné par la formule suivante :

$$D = 1 - \frac{1}{N(N-1)} \sum_{j=1}^S n_j(n_j-1)$$

N est le nombre total de souches dans la population étudiée, S est le nombre total de profils décrits et n_j est le nombre de souches appartenant au profil j. L'équation s'explique comme suit : la probabilité qu'une souche tirée au hasard dans la population étudiée appartienne au profil j est n_j / N . La probabilité que deux souches tirées au hasard consécutivement appartiennent à ce groupe est $n_j(n_j - 1) / N(N - 1)$. Ces probabilités peuvent s'additionner pour tous les profils

obtenus et ainsi donner la probabilité d'appartenance à un même profil de n'importe quelles souches tirées au hasard consécutivement (par groupe de deux). Cette somme peut ensuite être retranchée de 1 pour donner l'équation ci-dessus. Plus la valeur obtenue est élevée, plus la technique est discriminante.

Dans le cadre d'un projet analysant une trentaine de sérotypes, le pouvoir discriminant de la technique de typage moléculaire a été calculé en utilisant l'indice de Simpson et il avait été proposé qu'en dessous d'une valeur de 0,95 pour un sérovar donné, d'autres enzymes de restriction devraient être utilisées et/ou éventuellement d'autres types de méthodes moléculaires (Kerouantan et coll.2007).

Ci après un tableau comportant les valeurs obtenues pour les sérotypes correspondant à ceux trouvés dans la wilaya de Constantine :

	Nombre de souches	Nombre de profils	ID
AGONA	26	17	0.92
ANATUM	31	15	0.86
BLOCKLEY	18	6	0.72
HADAR	92	29	0.70
HEIDELBERG	92	20	0.80
ENTERITIDIS	25	8	0.64
INDIANA	42	17	0.88
INFANTIS	43	12	0.88
MONTEVIDEO	17	7	0.83
TYPHIMURIUM	135	46	0.85
VIRCHOW	55	28	0.77

Tableau n° 20 : Evaluation de l'indice de discrimination de Simpson (D) pour quelques salmonelles.

Un indice supérieur à 0.95 est considéré comme très bon.

Un indice entre 0.8 et 0.9 est bon.

Un indice entre 0.7 et 0.8 est intermédiaire.

Un indice inférieur à 0.7 est bas.

Un indice inférieur à 0.6 est très bas.

L'indice de discrimination n'atteint pas dans notre étude la valeur seuil de 0,95 mais on peut s'attendre à ce que cette valeur augmente en analysant un plus grand nombre de souches.

Conclusion générale :

L'étude que nous avons menée sur les salmonelles aviaires et humaines isolées dans la wilaya de Constantine a atteint les objectifs assignés. Elle nous fournit la typologie des élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine, qui correspondent dans leur majorité à des établissements de petite taille et à faible investissement.

Elle porte, à notre connaissance les premières données sur les contaminations de la filière poulet de chair par les salmonelles dans la wilaya de Constantine en Algérie, avec un taux de prévalence élevé aussi bien en élevages (37 %) qu'en abattoirs (73 %). Cette situation peut être due aux conditions précaires d'élevage et d'abattage, mais aussi aux erreurs des pratiques de gestion et d'hygiène dans les élevages et abattoirs de la wilaya de Constantine. Elle nous renseigne sur les sérotypes les plus fréquemment isolés, à savoir *S. Hadar*, *S. Virchow*, *S. Infantis*, *S. Albany* et *S. Typhimurium*. Des études d'envergure nationale sont souhaitées pour déterminer la prévalence nationale et espérer entreprendre un plan de lutte globale à travers le réseau de surveillance national.

Globalement, les isolats de salmonelles étaient souvent résistants à au moins un antibiotique, mais essentiellement à des molécules anciennes, telles que la streptomycine ou les tétracyclines. On retrouve une situation proche de celle de l'Europe dans les années 1980 à 1985, quand les salmonelles multi-résistantes y étaient bien plus fréquentes, posant de sérieux problèmes en santé publique. Plusieurs profils de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence, suggérant des liens épidémiologiques à différents niveaux de la filière volaille et chez les consommateurs.

Quelques facteurs de risques liés à la contamination par *Salmonella* dans les élevages, ont été identifiés : il s'agit de la densité des animaux, du taux de mortalité, du sol en terre battue et de l'accès d'autres animaux aux élevages. Au contraire, aucun facteur de risque ne s'est avéré statistiquement significatif. Ces facteurs sont justifiés par les pratiques de gestion des élevages et les conditions d'hygiène, correspondant à des élevages à très faibles investissements.

D'autres études plus approfondies, seraient nécessaires pour déterminer tous les facteurs de risques potentiels des élevages et des abattoirs et pour évaluer après coup l'effet correctif de ces facteurs.

Les profils de résistance aux antibiotiques nous ont permis d'envisager certaines hypothèses épidémiologiques, mais uniquement en confortant la caractérisation génotypique des souches : 16 profils par ERIC-PCR, 20 profils en IS-PCR et 34 profils par Pulsed Field Gel Electrophoresis (Pulsotypage), Ces trois méthodes complémentaires et particulièrement le pulsotypage, qui s'est confirmé très discriminant, nous ont informé sur les liens génétiques et par conséquent nous ont suggéré des liens épidémiologiques. La clonalité de certains sérotypes a été démontrée, confirmant nos hypothèses de diffusion ou de persistance de certaines souches de *Salmonella* entre les élevages, les abattoirs et les consommateurs. Le polymorphisme d'autres sérotypes nous indique la diversité des sources et réservoirs potentiels des salmonelles. Des études plus poussées sur les différentes sources, nous aideraient sûrement à mieux connaître le cycle de diffusion des salmonelles en Algérie et à mieux les combattre.

La comparaison de nos profils PFGE (pulsotypes), à ceux de la banque de données de l'AFSSA, nous renseigne sur la diffusion à un niveau régional voire international de certains sérotypes, facilitée par la multiplication des échanges commerciaux, à caractères régionaux et internationaux, à la veille de l'adhésion de l'Algérie à l'Organisation Mondiale du Commerce.

La prévalence de la contamination de nos élevages et abattoirs par *Salmonella*, mais aussi la similitude des pulsotypes parmi les isolats humains et du poulet de chair, nous ont démontré

l'importance d'une très large surveillance de l'industrie avicole, pour le respect des normes d'élevage et d'abattage, particulièrement les mesures d'hygiène individuelles et collectives mais aussi le contrôle de tous les intrants. En plus, comme la majorité des souches de salmonelles résistantes aux antibiotiques sont toujours associées à des infections plus graves (septicémiques) et à un taux d'hospitalisations plus élevé (Varma et coll., 2005), il serait capital d'accentuer la surveillance de l'utilisation des antibiotiques, notamment en filière avicole, dans le but de prévenir l'augmentation des résistances aux molécules récentes.

Il est aussi impératif de songer à l'association de techniques phénotypiques et génotypiques efficaces, qui se sont avérées complémentaires, pour tracer avec précision la diffusion ou la persistance des ces sérotypes, dans une région donnée, et particulièrement les multi-résistants aux antibiotiques et les entéro-invasifs, afin d'espérer diminuer leur incidence en santé publique.

Références:

- **Aarts, H.J.M. et Van Lith, L.A.J.T., et Kiejter, J. 1998.** High resolution genotyping of *Salmonella* strains by AFLP-fingerprinting. Letters in applied microbiology. **26** : 131-135.
- **Acha Pedro, N. Et Szyfrés, B. 1989.** *Salmonella* dans: Zoonoses des maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. OIE. 2eme ed., Paris, France : 156-164.
- **Aarestrup, F.M., Hendriksen, R.S., Lockett, J., Gray, K., Teates, K., McDermott, P.F., White, D.G., Hasman, H., Sorensen, G., Bangtrakulnonth, A., Pornreongwong, S., Pulsrikarn, C., Angulo, F.J., Gerner-Smidt, P., 2007.** International spread of multidrug-resistant *Salmonella* Schwarzengrund in food products. Emerg. Infect. Dis. 13, 726-731.
- **Ait Abdelouaheb, N. 2001.** Microbiologie Alimentaire. Université Mentouri, Constantine. Pp: 147
- **Aboun, A.A. Benelmouffok, R., Bougueddour, A., Taril, M., Rezkallah et Selatnia, L. 2003.** Les salmonelloses aviaires diagnostiquées à l'institut Pasteur d'Algérie de 1988 à 2002: Sérotypes rencontrés, leurs antibiorésistances et les aspects réglementaires. Archives de l'institut Pasteur d'Algérie, 2000/2003. Ed. ANDS. T.64: 93-114.
- **Anderson, E.S. 1968.** Drug resistance in *Salmonella* Typhimurium and its implication. Br. Med. J., **3**: 333-339.
- **Anonyme. 2006.** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Afssa: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Impression: Bialec, Nancy (France). pp: 214.
- **Anonyme. 2006a.** The community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, Antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European union in 2005, The EFSA journal, **94**: pp: 234.
- **Anonyme. 2006b.** Progress Report 2000-2005. WHO Global Salm Surv, www.who.int/salmsurv/en/
- **Anonyme, 2006c.** Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2006. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie. pp: 6.
- **Anonyme 2006d.** Evolution des productions animales dans la wilaya de Constantine. Direction des Services Agricoles de la wilaya de Constantine.
- **Anonyme, 2005.** Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2005. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie. pp : 6.
- **Anonyme, 2004.** Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2004. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie. pp : 6 .
- **Anonyme. 2003a.** Arrêté interministériel, n° 006 du 20 janvier 2003, définissant les mesures de prévention et de lutte spécifiques aux salmonelloses aviaires à *Salmonella* Enteritidis, Typhimurium, Typhi, Arizona, Dublin, Paratyphi et Pullorum Gallinarum. Algerie. pp: 9.

- **Anonyme, 2003b.** Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2003. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie. pp: 6.
- **Anonyme. 2003.** *Salmonella* in food stuffs. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health. European commission. Health and consumer protection directorate general.14-15 April 2003: pp: 65.
- **Anonyme. 2002.** Evaluation des risques liés à *Salmonella* dans les oeufs et les poulets de chair. OMS / FAO. Série évaluation des risques microbiologiques.1. Résumé interprétatif. pp: 77 .
- **Anonyme, 2002a.,** Bulletin Sanitaire Vétérinaire Année 2002. Direction des services vétérinaires, Ministère de l'agriculture et du développement rural. Algérie. pp: 6.
- **Anonyme. 2001.** Salmonelles, Salmonelloses et portage : Les moyens de prévention. La plume technique. n° 5/ decembre 2001.
- **Anonyme.1997.** *Salmonella* Typhimurium multirésistante. Aide mémoire n° 139. W.H.O. information. http://www.who.int/inf-fs/fr/am_139.html:1-4.
- **Anonyme. 1988.** Lutte contre les salmonelloses: le rôle de l'hygiène appliquée aux animaux et aux produits. Rapport du comité d'experts de l'OMS, n° 774.. Edition OMS Genève. pp: 172.
- **Anonyme.1984.** Bergery's Manual of systemic Bacteriology, 9th.ed.William & William.:186-187.
- **Antunes, P., Reu, C., Sousa, J.C., Peire, L., et Pestana, N. 2003.** Incidence of *Salmonella* from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. International Journal of food Microbiology. 82: 97-103.
- **Arsenault, J., Lettelier, A., Quessy, S., Morin, J.P., Boulianne, M. 2007.** Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in turkeys slaughtered in Quebec. Canada. Journal of Food Protection 70, 1350- 1359.
- **Augustin, J.C. 2006.** Les toxi-infections alimentaires. Conférence cours HIDAOA. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Paris.
- **Baggessen, D.L., Sandvang, D. et Aarestrup, F.M. 2000.** Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and Comparison with isolates from Europe and the United Staes. J. Clin. Microbiol. 38: 1581-1586.
- **Bailey, J.S., Cox, N.A., Craven, S.E., Cosby D.E., 2002.** Serotype tracking of *Salmonella* through integrated broiler chicken operations. J. Food Prot., 65, 742-745.
- **Barrett, T.J., P.Gerner-Smidt et B.Swaminathan. 2006.** Interpretation of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Patterns in Foodborne Disease Investigations and Surveillance. Foodborne Pathog. Dis., volume 3, n° 1: 20-31.
- **Barrow, P.A. 1992.** Salmonellosis in poultry in: *Salmonella* and Salmonellosis, proceedings, Saint Briec.France.

- **Baumler, A.J., Tsois, R.M. et Heffron, F. 2000.** Virulence mechanisms of *Salmonella* and their genetic bases in: *Salmonella* in domestic animals.eds. Wray, C. And Wray, A. CAB International, U.K. 57-71.
- **Beaumont, N. 2004.** Commerce mondial des animaux d'élevage et des viandes. Principaux flux et facteurs d'évolution. Colloque international de l'association « Animal- Société- Aliment » et Académie vétérinaire de France, sur la mondialisation des échanges, mondialisation des risques sanitaires, dix ans d'accords S.P.S. Proceedings. O.IE. Paris.
- **Bearson, S., Bearson, B. et Foster, J.W. 1997.** Acid stress responses in enterobacteria. FEMS Microbiology letters 147: 173-180.
- **Bell, C. et Kyriakides, A. 2002.** *Salmonella* in: Foodborne Pathogens. Hasards, risk analysis and control. Woodhead Publishing Limited.: 307-334.
- **Beltran, P., Musser, J.M., Helmuth, R., Farmer, J.J.J., Frerichs, W.M., Waschmuth, I.K., Ferris, K., McWorther, A.C., Wells, A.J.G. Et Gravioto, A. 1988.** Toward a population genetic analysis of *Salmonella*: Genetic diversity and relationship among stains of serotype S. choleraesuis, S.derby, S.Enteritidis, S.Heidelberg, S.Infantis, S.Newport, S.Typhimurium. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 7753-7757.
- **Bille, J. et Rocourt, J. 1996.** WHO International Multicenter Listeria monocytogenes subtyping study-rationale and set-up of the study. Int. J. Food Microbiol..32, 251-262.
- **Boerlin, P., Bannerman, E., Jemmi, T., et Bille, J. 1996.** Subtyping Listeria monocytogenes isolates genetically related to the swiss epidemic clone. J. Clin. Microbiol. 34: 2148-2153.
- **Boonmar, S., Bangtrakulnonth, A., Pornrunangwong, S., Terajima, j., Watanabe, H., Kaneko, K.I. et Ogawa, M. 1998.** Epidemiological analysis of *S.Enteritidis* isolates from humans and broiler chickens in Thailand by phage typing and PFGE. J. clin. microbiol. vol. 36, n° 4: 971-974.
- **Bornet, G. 2000.** Le poulet sans salmonelles : Mythe ou réalité? Rev.med.vet.151, 12: 1083-1094.
- **Boudiaf, née Saidi, S. 2001.** *Salmonella* gallinarum pullorum, Identification microbiologique, épidémiologie et incidence économique. Thèse de Magister en médecine vétérinaire. Département des sciences vétérinaires, Université de Constantine, pp: 108.
- **Boudilmi, B. et Chalabi, N. 1997.** Les salmonelloses aviaires en Algérie. Incidence en santé publique. Proceedings, International Symposium Salmonella and Salmonellosis, Ploufragan : 365-366.
- **Bouvet, P. 1995.** Salmonelles et Salmonelloses en France. Dans: Sécurité alimentaire du consommateur (Collection STAA). Moll, M. et Moll, Editions Lavoisier: 1-20
- **Bouzitouna-Bentchouala, C. 2006.** Rapport d'activité du service de microbiologie, Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine. Algérie (**Résultats non publiés**).
- **Brenner, F.W., Villar, R.G., Angulo, F.J., Tauxe, R. et Swaminathan, B. 2000.** *Salmonella* Nomenclature. J. clin. Microbiol., n°7, vol.38: 2465-2467.

- **Brisabois, A., Danan, C., Frémy, S., Granier, S., Moury, F., Oudart, C., Piquet, C., Pires Gomes, C. 2006.** Inventaire du réseau *Salmonella* ; Sérotypage et sensibilité aux antibiotiques, données 2004. Editions AFSSA, Maisons Alfort, France. Pp : 114.
- **Brisabois, A., Fremt,S. et Moury,F. 1996.** Epidémiologie des *salmonella* d'origine alimentaire. Données récentes. Actualités en microbiologie des aliments. Collection société de microbiologie des aliments, vol.10: 93-99.
- **Brown, D.J., Mather, H. et Coia, J.E. 2006.** Three years experience of «Real time» pulsed field gel electrophoresis and plasmid profiling for molecular typing of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* in a national reference laboratory. Glasgow. U.K. Proceedings I3S. Saint Malo.France : 99-100.
- **Brugère-Picoux, .1989:** Les Salmonelloses Aviaires. Cours supérieurs de pathologie aviaire, E.N.V. Alfort. Paris.: 79-93.
- **Burr, M.D., Josephson, K.L. et Pepper, I.L.. 1998.** An evaluation of ERIC-PCR and AP-PCR fingerprinting for discriminating *Salmonella* sérotypes. Letters in applied microbiology.27, 24-30.
- **Butaye,P.,Michael,G.B.,Schwarz,S.,Barrett,T.J.,Brisabois,A. et White,D.G. 2006.** The clonal spread of multidrug-resistant non-typhi *Salmonella* serotypes.Microbes Infect. 8 (7): 1891-1897.
- **Cardinale, E.,Tall,F.,Guèye,E.F.,Cisse,M. et Salvat,G. 2004.** Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* infection in senegalese broiler chicken flocks. Prev. Vet. Med. 63: 151-161.
- **Cardinale, E., Perrier Gros-Claude, J.D., Rivoal, K., Rose, V., Tall, F., Mead, G.C. et Salvat, G. 2005.** Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* spp. *enterica* serovars Hadar, Brancaster and Enteritidis from human and broiler chickens in Senegal using pulsed-field gel electrophoresis and antibiotic susceptibility. J. Appl. Microbiol.; 99 (4): 968-77.
- **Carli, K.T., Eyigor, A., Caner, V., 2001.** Prevalence of *Salmonella* serovars in chicken in Turkey. J. Food Prot. 64 (11), 1832-1835.
- **Carlier,V. et Lagrange,P. 2001.** *Salmonella*, service d'information alimentaire,H.C.S. International.Paris. pp: 84.
- **Carraminana, J.J.,Rota, C.,Augustin,I. et Herrera,A. 2004.** High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. Vet. Microbiol. vol.104,issues 1-2 : 133-139.
- **Carraminana, J.J., Humbert, F.,Ermel,G., et Colin,P. 1997.** Molecular epidemiological investigation of *S.Typhimurium* strains related to an egg-borne outbreak. Res. Microbiol.148: 633-636.
- **Carroll, P., La Ragione, R.M.,Sayers,A.R., et Woodward,M.J. 2004.** The O-antigen of *S.enterica* serotype Enteritidis PT 4: A significant factor in gastrointestinal colonisation of young but not newly hatched chicks. Vet. Microbiol.102: 73-85.

- **Caugant, A.A., 2001.** From Multilocus Enzyme Electrophoresis to Multilocus Sequence Typing.
Dans: New Approaches for the generation and analysis of microbial typing data. Edited by Dijkshoorn et col. Elsevier Science.London. pp: 299-350.
- **Catry, B., Laevens, H., Devriese,L.A.,Opsomer,G. et De Kruif,A. 2003.** Antimicrobial resistance in livestock. J. Vet. Pharmacol. Therp. 26(2): 81-93.
- **Chadfield, M., Skov, M., Christensen, J., Madsen,M., et Bisgaard,M. 2001.** An epidemiological study of S.Enteritidis serovar 4,12:b:- in broiler chickens in Denmark. Vet. microbiol.. 82: 233-247.
- **Chambers, J.R., Bisailon, J.R., Labbe, Y., Poppe, C., Langford, C.F. 1998.** *Salmonella* prevalence in crops of Ontario and Quebec broiler chicken at slaughter. Poult. Sci. 77(10), 1497-1501.
- Chansiripornchai, N., Remasoota, P., Bangtrakulnonth, A.,Sasipreayajan, J., et Svenson, S.B. 2000.** Application of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for typing avian S.enterica subsp. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 29: 221-225.
- **Chalus-Danclas, E. Guillot, J.F. et Lafont, J.P. 1979.** Evolution de l'antibiorésistance bactérienne dans les élevages avicoles. Ann. Rech. Vét. 10(1): 77-86.
- **Chataigner, R. 2000.** Le groupe chène verte-Synthèse élevage. Edition la plume verte.<http://www.chen-vert.com>
- Chemaly,M.,Huneau,A.,Rouxel,S.,Lalande,F.,Bohnert,M.,Petetin,I.,LeBouquin,S.et Fravallo, P. 2006.** Enquêtes communautaires sur la prévalence de *Salmonella* en filières avicoles. Communication, 10eme Réunion annuelle du Réseau *Salmonella*. Afssa,Maisons Alfort, Paris.
- **Christensen,H. Et col. 1998.** Pathogenic relationships of *Salmonella* based on rRNA sequences. Int. J. Systemic Bacteriol. 48: 605-610.
- **Chu,G.,Vollrath,D., et Davies,R.W. 1986.** Séparation of large DNA molecules by contour clamped homogeneous electric field. Science 234: 1582-1585.
- **Cloeckaert, A., et Schwarrz, S. 2001.** Molecular characterization, spread and evolution of multidrug resistance in *Salmonella enterica* Typhimurium DT104. Vet. Res. 32: 301-310.
- **Corkill JE, Graham R, Hart CA, Stubbs S. 2000.** Pulsed-field gel electrophoresis of degradation-sensitive DNAs from Clostridium difficile PCR ribotype 1 strains. J Clin Microbiol. 2000 Jul 38 : 2791-2792.
- **Cox, J.M., Story,L., Bowles,R. et Woolcock,J.B. 1996.** Multilocus enzyme electrophoresis (MEE) analysis of australian isolates of S.Enteritidis. Int. jou. food microbiol.31: 273-282.
- **Davis,M.A.,Hancock,D.A. et Besser,T.E. 2002.** Multiresistant clones of *Salmonella enterica*: The importance of dissemination. J. Lab. Clin. Med. 3,vol.140: 135-141.

- **Davos,D., 2006.** Antimicrobial resistance in *Salmonella* spp. Of human and non human origin in Australia. Proceedings I3S, Saint Malo, France.: 145-148.
- **de Jong, B. et Ekdahl, K. 2006.** The comparative burden of salmonellosis in the European Union member dtates, associated and candidate countries. BMC Public Health, vol. 6, 4 : 1-7.
- **Deplano,A. 2002.** Méthodes moléculaires de typage et de comparaison des bactéries. 2ème Colloque International Francophone de Bactériologie Vétérinaire.Zoopole Saint Briec-Ploufragan.France.: 109-110.
- **de Valk, H., Vaillant, V. 2004.** Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. Institut de Veille Sanitaire. Charenton, France. Pp : 192.
- **Devos, N. 2007.** Salmonelles. Enquête dans les élevages européens. La Semaine Vétérinaire, n° 1267 : 24.
- **Dijkshoorn,L., Towner,K.J. et Struelens,M. 2001.** New approaches for the generation and analysis of microbial typing data. Elsevier Science. Amsterdam, the Netherlands. pp: 353.
- **Dium,B.,Wassenaar,T.M.,Rigter,A., et Wagenaar,J.. 1999.** High-resolution genotyping of campylobacter strains isolated from poultry and humans with amplified fragment lenght polymorphism fingerprinting. Applied and environmental microbiol.65: 2368-2375.
- **Doyle,P. et Cliver,D.O. 1990.** *Salmonella* in foodborne diseases. Ed. Academic press:185-204.
- **Drouin,P.,Fournier,G. et Toux,J.Y. 2000.** La conduite de la décontamination des poulaillers de pondeuses en cage vis à vis des salmonelles. Sciences et techniques avicoles.N° hors série,53-64.
- **Eisenstein,B.I. 1996.** Fimbriae. In: Escherichia Coli and *Salmonella* Typhimurium., Neidhart,F.C.eds. Washington D.C. American Society for Microbiology,84-90;
- **Eriksson,J., Lofstom,C.,Aspan,A.,Gunnarsson,A.,Karlsson,I.,Borch,E.,de Jong,B. et Radstom,A. 2005.** Comparison of genotyping methods by application to S. Livingstone strains associated with an outbreak of human salmonellosis. Int. j. food microbiol.104: 93-103.
- **Euzeby,J.P.1996.**Les Salmonelles et Salmonelloses dûes aux sérovars ubiquistes.Compte rendu d'intervention lors du séminaire de l'UCAAB,nov.1996.
- **Feder, I., Nietfeld, J. C., Galland, J., Yeary, T., Sargeant, J. M., Oberst, R., Tamplin, M. L., and Luchansky, J. B. 2001.** Comparison of cultivation and PCR-Hybridization for detection of *Salmonella* in porcine fecal and water samples. *J. Clin. Microbiol.* 39: 2477-2484
- **Fields,P.,Fitzgerald,C.,McQuiston,J.R.,Collins,M.L.,Bryant,L.T. et Ghessling,L.L. 2006.** Multiplex,bead based suspension arrays for the molecular determination of serotype in *Salmonella*. Proceedings I3S,Saint Malo, France: 43-46.
- **Ganière,J.P.,Ruvoen,N. et André-Fontaine,G. 2001.** Les zoonoses infectieuses des animaux de rente: Infections zoonoses of livestock.Méd. Mal. Inf.,31,suppl.2: 143-158.
- **Gast,R.K. 2003.** *Salmonella*: Paratyphoid infections.In: Diseases of poultry,11th ed.,chap.16.Iowa state press,Blackburn publishing compagny.

- **Ghafir, Y. 2006.** Surveillance des salmonelles isolées de denrées d'origine animale en Belgique: Modalités et résultats. Communication. 10e réunion annuelle du Réseau *Salmonella*. Afssa Maisons Alfort. Paris.
- **Gebreyes, W.A. Et Thakur, S. 2005.** Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Muenchen from pigs and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 49(2): 503-511.
- **Giovanacci, I. 1999.** Origine des *Listeria monocytogenes* et des *Salmonella* présentes sur les produits de découpe de porc. Thèse de doctorat d'université. Université de Bretagne occidentale.: pp: 192.
- **Gledel, J. et Corbion, B. 1995.** Le genre *Salmonella* dans: Microbiologie Alimentaire, Bourgeois et Mesclé, 1ere édition, 2eme tirage, techniques et documentation, Paris.
- **Goater, E. 1981.** L'ensemble des mesures nécessaires à une bonne prophylaxie sanitaire. « Poulettes et poules pondeuses ». Tiré à part du guide de l'élevage de la pondeuse. Institut de sélection animale. France, 37-44.
- **Gorman, R. et Adley, C.C. 2004.** Characterization of *S. enterica* sérotype Typhimurium isolates from human, food and animal sources in the republic Ireland. *Journal of clinical microbiology*, vol. 42, n° 5, 2314-2316.
- **Gradel, K.O., Rattenborg, E. 2003.** A questionnaire-based retrospective field study of persistence of *Salmonella* Typhimurium in Danish broiler houses. *Prev. Vet. Med.*, 56, 267-284.
- **Grimont, P.A.D., Grimont, F. et Bouvet, P. 2000.** Molecular basis of the diversity in the genus *Salmonella*. In: *Salmonella* in domestic animals. Wray et col. CABI Publishing, British Library, London, U.K.: 1-17.
- **Grimont, P.A.D. 1992.** Les marqueurs épidémiologiques des *Salmonella*. *Méd. et Mal. Inf.* 22, numéro spécial, 249-257.
- **Grimont, P.A.D. et Grimont, F. 2001.** Dans Dijkshoorn, L., Towner, K.J. et Struelens, M. 2001. New approaches for the generation and analysis of microbial typing data. Elsevier Science. Amsterdam, the Netherlands. pp: 107-134..
- **Guellouz, H. 1997.** *Salmonella* from food of animal origin (Tunis : 1992-1996). Proceedings, International Symposium *Salmonella* and Salmonellosis, Ploufragan : 419-422.
- **Guibourdenche, M. 2005.** Rapport d'activité. Centre Collaborateur OMS, pour la référence et la recherche des salmonelles. Institut Pasteur de Paris. **Résultats non publiés.**
- **Gulif, P. A., Danbara, D.G., Guiney, A.J., Novel, F., et Rhen, M. 1993.** Molecular analysis of *spv* virulence genes of the *Salmonella* virulence plasmids. *Molecular Microbiology*. 7:825-830.
- **Grattard, F., 2000.** Electrophorèse en champ pulsé. In : FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W. et BOLLET C. (eds.). Précis de Bactériologie clinique. Paris : Editions ESKA. p. 267-277.

- **Haeghebaert,S.,Le Querrec,F., Bouvet,P.,Gallay,A.,Espie,E. et Vaillant,V., 2002a.** Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. Bulletin épidémiologique hebdomadaire.N° 50/2002,pp:1-10.
- **Haeghebaert,S.,Sulem,P.,Deroudille,L.,Bagnis,O.,Vanneroy-Adenot,E.,Bouvet,P., Grimont,F.,Brisabois,A.,Le Querrec,F.,Hervey,C.,Espie,E.,de Valk,H. Et Vaillant,V. 2002b.** Deux épidémies de salmonellose à *Salmonella Enteritidis* en 2001. Bulletin épidémiologique. N°5/2002. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
- **Haeghebaert,S.,Le Querrec,F.Vaillant,V.,Delarocque Astagneau,E. et Bouvet,P. 2001.** Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 1998. Bulletin épidémiologique hebdomadaire.N° 15/2001,pp:1-10.
- **Helmuth,R. 2000.** Antibiotic Resistance in *Salmonella*.In: *Salmonella* in Domestic Animals, edited by Wray,C. And Wray,A. CABI publishing.London,UK.pp:89-106.
- **Heyndrickx,M.,Pasmans,F.,Ducatelle,R.,Decostere,A. et Haessebrouck. 2005.** Recent changes in *Salmonella* nomenclature: The need for clarification.The veterinary journal 170, 275-277.
- **Heyndrickx, M., Vandekerchove, D., Herman, L., Rollier, I., Grijspeerdt, K., De Zutter, L., 2002.** Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. Epidemiol. Infect. 129: 253-265.
- **Holt,P.S. 2000.** Host susceptibility,resistance and Immunity to *Salmonella* in Animals. In :*Salmonella* in domestic animals.eds. Wray,C. And Wray,A.,CAB International, London, U.K. : 73-87.
- **Humbert,F. 1998.** Les Salmonelloses. dans Manuel de Bactériologie Alimentaire,ed. Polytechnica. Paris.
- **Humbert,F. et Salvat,G. 1997.** Risques de transmission des salmonelles en aviculture : Détection et prévention en Europe. Rev. Sci. Tech. O.I.E. 16 (1), 83-90.
- **Humphrey, T.J. 1999.** Contamination of eggs and poultry meat with *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals: Epidemiology, pathogenesis, and control. First edition A.M. SAEED, Iowa State Press, Ames, Iowa, 183-192.
- **Hunter, P.R., et Gaston, M.A. 1990.** Reproductibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods. Journal of Clinical Microbiology, 28,1903-1905.
- **ICMSF: 1998.** (International commission on microbiological specifications for foods). Poultry and poultry products. Microorganisms in foods.6. Microbial ecology of food commodities. Blackie academic & professional edition: 76-129.
- **ICMSF: 1996.** (International commission on microbiological specifications for foods). Salmonellae. Microorganisms in foods.5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackie academic & professional edition.: 217-264.

- **Janssen,P.J.D. 2001.** Selective Restriction Fragment Amplification by AFLP. dans: Dijkshoorn,L., Towner,K.J. et Struelens,M. 2001. New approaches for the generation and analysis of microbial typing data. Elsevier Science. Amsterdam, the Netherlands: 177-206..
- **Kaci, A., Nouri, M., Ferrah, A., Kabli, L. et Azzouz, H. 2001.** Conduite des élevages de poulets de chair en Algérie: Un sous- équipement chronique. Agroligne n° 18. Novembre-Décembre 2001: 17-19.
- **Kauffmann,F.,Toma,B.,Merrier,C. Et Bennett,J.J. 1985.** Épidémiologie et santé animale-Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine. ENV. Alfort n°7: 39 – 70.
- **Kennedy,M., Villar,R.,Vugia,D.J., Rabatsky-Ehr,T., Farley,M.M., Pass,M., Smith,K; Smith,P., Cieslak,P.R., Imhoff,B. et Griffin,P.M. 2004.** Hospitalizations and Deaths due to *Salmonella* infections, FoodNet,1996-1999. Clinical Infectious Diseases;38 (Suppl 3): 142-148.
- **Kerouantan,A., Marault,M., Lailier,A., Berges,M., Weil,F.X., Feurer,C., Lecureuil,C., Espie,E. et Brisabois,A. 2006.** Setting-up a french molecular subtyping database for *Salmonella* surveillance and outbreaks investigations. Proceedings I3S. Saint Malo. France : 53-56.
- **Kerouantan,A.,Brisabois,A.,Grout,J. et Picaed,B..1996.** Molecular epidemiological tools for *S. Dublin* typing. FEMS, Immunological and medical microbiology. 14,25-29.
- **Kerouantan,A., Brisabois,A., Denver,E., Dilasser,F., Grout,J., Salvat,G. et Picard,B.(1998).** Comparison of five typing methods for the epidemiological study of *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology. 43: 61-71.
- **Kimura,A.C., Reddy,V., Marcus,R., Cieslak,P.R., Mohle-Boetani, J.C., Kassenborg, H.D., Segler,S.D., Hardnett,F.P., Barrett,T. et Swerdlow,D.L. 2004.** Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella* enterica serotype Enteritidis infections in the United States : a case control study in FoodNet sites. Clin. Infect. Dis.,38: 244-252.
- **Koort JM, Lukinmaa S, Rantala M, Unkila E, Siitonen A. 2002.** Technical improvement to prevent DNA degradation of enteric pathogens in pulsed-field gel electrophoresis.J Clin Microbiol. 2002 Sept 40 : 3497-3498.
- **Lahellec, C. 1991.** *Salmonella* et filière avicole. L'Aviculteur: 523-526.
- **Lahellec, C., Collin, P., Bennejean, G., Paquin, J., Guillerm, A., Debois, J. C., 1986.** Influence of resident *Salmonella* on contamination of broiler flocks. Poultry science 26, 179-186.
- **Lam, S. et Roth,J.R. 1983.** IS 200: A *Salmonella*-specific Insertion Sequence. Cell, 34: 951-960.
- **Lan, R., Davison,A.M., Reeves,P.R. and Ward,L. 2003.** AFLP analysis of *S.enterica* serovar Typhimurium isolates of phage types DT9 and DT135: Diversity within phage types and its epidemiological significance. Microbes and infections,5: 841-850.
- **Le Boucher, G. et Cohen-Maurel,E. 1997.** Salmonelles: La prévention concerne toute la filière. Filières avicoles. Mai 1997, 577: 18-21.

- **Le coanet,J. 1992.** Salmonelloses Aviaires. Manuel de pathologie aviaire. Ed. Brugère-Picoux, J. et Silim, A. E.N.V. Alfort. Paris.Faculté de Med. Vét. De Montréal , Quebec. 225-235.
- **Le Minor, L. 1994.** The genus *Salmonella*. In: The procaryotes.Ballows and all.Springer, New York: 2760-2774.
- **Le Minor,L. 1988.** Comment désigner les sérotypes de *Salmonella*? Médecine et maladies infectieuses, 12: 859-862.
- **Le Minor,L. et Popoff,M.Y. 1987a.** Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp.nov.,nom.rev.,as the type and only species of the genus *Salmonella* .International journal of systemic bacteriology. 37: 465-468.
- **Le Minor,L et Popoff, M.Y. 1987b.** Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella*. Centre collaborateur O.M.S. de référence et de recherche pour les *Salmonella*. Institut Pasteur. Paris. 1-156
- **Le Minor,L.,Popoff,M,Y.,Laurent,B. et Hermant,D. 1986.** Individualisation d'une septième sous-espèce de *Salmonella*: *S.choleraesuis* subsp.indica subsp.nov. Annales de l'institut Pasteur/ Microbiologie 137B: 211-217.
- **Le Minor,L.,Veron,M., et Popoff,M.Y. 1982.**Taxonomie des *Salmonella*. Annales de Microbiologie 133B: 223-243.
- **Lettelier, A., Arsenault, J., Quessy, S., Boulianne, M., 2006.** Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. caecal colonization in broiler and turkey flocks in Quebec, Canada. International Symposium on Salmonella and Salmonellosis (I3S) Proceedings, Saint Malo, France, 343-347.
- **Letrilliart, L. et Flahault, A. 1998.** Diarrhées estivales : 950.000 cas observés entre juin et septembre 1998. Le quotidien du médecin, n° 6348 : p 21.
- **Liebana,E., Garcia-Migura,L., Clouting,C., Clifton-Hadley,F.A., Breslin,M. et Davies,R.H. 2003.** Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. J. Appl. Microbiol., 94: 1024-1029.
- **Liebana,E. 2002.** Mlecular tools for epidemiological investigations of *S.enterica* subspecies enterica infections.Research in Veterinay Science, 72: 169-175.
- **Liesegang, A. and H. Tschäpe. 2002.** Modified pulsed-field gel electrophoresis method for DNA degradation-sensitive salmonella enterica and Escherichia coli strains. Int. J. Med. Microbiol. 291:645-648.
- **Liljebjelke,K.A., Hofacre,C.L., Liu,T., White,D.G., Ayers,S., Young,S., et Maurer,J.J. 2005.** Vertical and Horizontal transmission of Salmonella within integrated broiler production system. Foodborne Pathogens and Disease. Vol.2, n°1: 90-102.
- **Macnab,R.M. 1987.** Flagella.In:*Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular Biology. Neidhart,F.C. et col. American society for microbiology,Washington : 70-83.
- **Maguire,C., Peters,T. 2006.** Relationship of Pulsed Field profiles with key phage types of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in europe: Results of an international multi-centre study. Proceddings I3S, Saint Malo,France: 101-103.

- **Mamma, C., Talini, M., Pontello, M., Di Notto, AM. et Nastasi, A. 2003.** Circulation clonale de *Salmonella enterica* sérovar Heidelberg en Italie ? Rapport de surveillance. Eurosurveillance vol. 8- n° 11, novembre 2003, pp : 222-225.
- **Maré,L.,Dicks,L.M.T. et Van der Walt,M.L. 2001.** Characterisation of south african isolates of *S.Enteritidis* by phage typing numerical analysis of RAPD-PCR banding patterns and plasmid profiles. International journal of food microbiology 64: 237-245.
- **Mastroeni,P., Villareal,R.B. et Hormaeche,C.E. 1993.** Adoptive transfer of immunity to oral challenge with virulent salmonellae in innately susceptible BALB/c mice requires both immune serum and T-cells. Infection and Immunity 61: 3981-3984.
- **Matsutani,S., et Ohtsubo,,E. 1993.** Distribution of the schigella Sonnei insertion elements in enterobacteriaceae. Gene, 127: 111-115.
- **Mayrhofer,S. et Paulsen,P.,Smulders,F.J.M., et Hilbert,F. 2004.** Antimicrobial resistance profile of five major foodborne pathogens isolated from beef,pork and poultry. International journal of food microbiology, vol. 97, issue 1: 23-29.
- **Mikasova,E., Drahovska,H., Szemes,T., Kuchta,T., Karpiskova,R., Sasik,M. et Turna,J. 2005.** Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strains of vétérinary origin by molecular typing methods. Vetérinary microbiology 109: 113-120.
- **Millemann,Y. 2004.** *Salmonella*: Une bactérie zoonotique et ubiquiste. Cours C.E.A.V. en Hygiène, Qualité et Sécurité des Aliments. E.N.V. Alfort.Paris.
- **Millemann,Y., Gaubert, S., Remy, D., and Colmin, C. 2000.** Evaluation of IS200- PCR and comparison with other molecular markers to trace *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serotype Typhimurium bovine isolates from farm to meat. Journal of food Microbiology, Vol. 38, n° 6 : 2204-2209.
- **Millemann,Y. 1998.** Les marqueurs épidémiologiques des salmonelles. Vet. Res., 29: 3-19.
- **Millemann,Y. 1998.** Pathogenicity of Salmonellae: Virulence factors and study models. Vet. Res. 29: 385-407.
- **Millemann,Y. 1991.** Etude du portage salmonellique chez les dindonneaux et essai de décontamination à l'aide d'une nouvelle fluoroquinolone. Thèse. Méd. vét. ENV Nantes: 81 pages.
- **Moore,J.E.,Murray,L.,Fanning,S.,Cormican,M.,Daly,M.,Delappe,N.,Morgan,B., et Murphy,P.G. 2003.** Comparison of phenotypic and genotypic characteristics of *S. Bredeney* associated with a poultry-related outbreak of gastroenteritics in northern ireland. Journal of infection. 47, 33-39.
- **Moury,F.,Frémy,S. et Brisabois,A.2006.** Épidémiologie des salmonelles d'origine non humaine, Données du réseau *Salmonella* – Année 2005. Bulletin épidémiologique de l'AFSSA, N° 20/ mars 2006: 1-6.

- **Moury,F. 2005.** Epidémiologie-surveillance des salmonelles d'origine non humaine. Données récentes du réseau *Salmonella*. Froid et denrées périssables, n° 1053: 47-52.
- **Murray, C.J. 1991.** *Salmonella* in the environment. Rev. sci. tech. O.I.E. 10 (3): 765-785.
- **Naas, T., Lezzar, A., Bentchouala, C., Smati, F., Scheftel, J.M., Monteil, H., Nordmann, P. 2005.** Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Senftenberg isolates producing CTX-M beta lactamases from Constantine. Algeria. Journal of Antimicrobial chemotherapy 56, 439- 440.
- **Nastasi,A.,Mammìna,C.,Fantasia,M. Et Pontello,M. 1997.** Epidemiological analysis of strains of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis from foodborne outbreaks occurring in Italy, 1980-1994. Journal of Medical Microbiology 46,377-382.
- **Nisbet,D.J. et Ziprin,R.L. 2001.** Salmonellosis in animals. In: Foodborne Disease Handbook. Second edition. Vol. 1: Bacterial Pathogens.edited by Hui,Y.H.et col.Marcel Dekker Inc.,New York-Basel.:265-284.
- **Nolan,L.K.,Giddings,C.W., et Brown. 1995.** The distribution of inVA,pagC et sprC genes among *Salmonella* isolates from animals. Vet. Res.Communication.19:167-177.
- **Norme Française NF U47-100. 2005.** Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales. Association Française de Normalisation, 1er tirage: 1-30.
- **Norme Française NF U47-101. 2005.** Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux. Association Française de Normalisation, 1er tirage:1-34.
- **Nygard,K.,de Jong,B.,Guerin,P.J.,Anderson,Y.,Olsson,A., et Giesecke,J. 2004.** Emergence of new S. Enteritidis phage types in europe ? Surveillance of infections in returning travellers. BMC Medecine 2: 32.
- **Old,D.C.,Rankin,S.C. et Crichton,P.B. 1999.** Assesment of strain relatedness among *Salmonella* serotypes Salinetis,Duisbourg and San diego by biotyping,ribotyping,IS 200 fingerprinting and PFGE. Journal of clinical microbiology.37,1687-1692.
- **Oliveira,S.D.,Santos,L.R.,Schuch,D.M.T.,Silva,A.B.,Salle,C.T.P., et Canal,C.W. 2002.** Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. Veterinary Microbiology. 87, 25-35.
- **Olsen,J.E.,Skov,M.N.,Angen,O.,Threlfal,E.J. et Bisgaard,M. 1997.** Genomic relationships between selected phage types of *Salmonella enterica* subsp.enterica serotype Typhimurium defined by ribotyping,IS 200 typing and PFGE.**Microbiology** 14, 1471-1479.
- **Olsen,J.E.,Sorensen,M.,Brown,D.J.,Gaarslev,K. et Bisgaard,M. 1992.** Plasmid profiles as an epidemiological marker in *Salmonella enterica* sérovar Berta infections. Comparison of isolates obtained from humans and poultry. APMIS,100,221-228.
- **Peiffer,B. 1999.** Salmonelloses et fièvres typhoïdes. [Http://www.liste-hygiene.org/SALMON.html](http://www.liste-hygiene.org/SALMON.html) pages: 1-17.

- **Peters TM, Maguire C, Threlfall EJ, Fisher IS, Gill N, Gatto AJ. 2003.** Euro Surveill. The Salm-gene project - a European collaboration for DNA fingerprinting for Salm-gene project. Feb. 8 :46-50.
- **Pilet,C. Bourdoin,J.L.,Toma,B.,Marchal,N.,Balbastre,C., et Person,J.M. 1987.**Bactériologie médicale et vétérinaire.Systématique bactérienne. Paris.Douin:81-93.
- **Pivnick, H. et Nurmi, E. 1982** : “The Nurmi concept and its role in the control of Salmonellae in Poultry”. In : Developments in Food Microbiology-1- Davies,R. Ed. 1 vol. 220 pages, Applied Science Publishers, Londres.
- **Popoff,M.Y.,Bockemuhl,J. et Geeshlung,L.L. 2003.** Supplement 2001 (n° 45);to the Kauffmann-White scheme. Research in microbiology.154(3),173-174.
- **Popoff,M.Y. et Novel,F. 1992.** Bases moléculaires de la pathogènes des salmonelles. Méd. et mal.inf.1992,22,numéro spécial : 304-324.
- **Prin, S., Bastianelli, D. et Saboulard, M. 2001.** Les productions avicoles dans le monde: Une dynamique forte. Agroligne n° 18. Novembre- Décembre 2001: 11-13.
- **Proux, K. 1996.** Vaccins contre salmonelles: Une prévention fiable. Exposé à la réunion de pathologie aviaire, organisée par l'Association Mondiale Vétérinaire d'Aviculture et le CNEVA Ploufragan. Rennes. Filières Avicoles, octobre 1996: 70-71.
- **Rhen,M. Taira,S.,, Koski,,P.,Hurme,R.,Rikonen,P., et Makela,P.H. 1992.** Virulence factors of *Salmonella*. In:*Salmonella* and Salmonellosis,Saint Brieuc,Guivarch,103-112.
- Reeves,P.R.,Hobbs,M.,Valvano,M.A.,Skurnik,M.,Withfield,C.,Coplin,D.,Kido,N.,Klena,J., Maskell,D.,Raetz,C.R.H. et Rick,P.D.1996.**Bacterial polysaccharid synthesis and gene nomenclature.Trends in microbiology 4,495-503.
- Reeves,M.W.,Evins,G.M.,Heiba,A.A.,Pleikeytis,B.D. et Farmer,J.J. 1989.** Clonal nature of *Salmonella* typhi and its genetic relatedness to other Salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongori* comb.nov. Journal of clinical microbiology 27,313-320.
- **Ribot, E.M., M.A. Fair, R. Gautom, et al. 2006.** Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet. Foodborne Pathog. Dis. 3:59-67.
- **Riggi,A. 1999.** Contribution à l'étude de l'efficacité d'une flore de barrière indéfinie contre la colonisation intestinale par les salmonelles en poulet de chair. Thèse pour le doctorat vétérinaire, E.N.V. Alfort,Paris.
- **Rose, N., Beaudreau, F., Drouin, P., Toux, J.Y., Rose, V., Colin, P., 1999.** Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. Prev. Vet. Med. 39, 265-277.
- Rostagno,M.H.,Wesley,I.,Trampel,D. et Hurd,H. 2006.** Salmonella prevalence in market-age turkeys on farm and at slaughter. Poultry science. 85(10):1838-1842.

- **Ruiz,M.,Rodriguez,J.C.,Sirven,E.,Escribano,I.,Cebrian,L. et Royo,G. 2003.** Usefulness of different techniques in the study of the epidemiology of salmonellosis. *APMIS*,111(9), 848-856.
- **Rycroft,A.N. 2000.** Structure,function and synthesis of surface polysacharids in *Salmonella* in domestic animals. CAB international,eds. Wray,C. and Wray,A.:19-33.
- **Sackey,B.A.,Mensah,P.,Collison,E., et Sakyi-Dawson,E. 2001.** *Campylobacter,Salmonella,Shigella* and *E.Coli* in live and dressed poultry from metropolitan ACCRA. *International Journal of food Microbiology*, 71, 21-28.
- **Saeed, A.M., Thiagarajan, D., and Asem, E. 1999.** Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in laying hens. . In *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals: Epidemiology, pathogenesis, and control. First edition A.M. SAEED, Iowa State Press, Ames, Iowa, 193-211.
- **Saiki,R.K., Gelfand,D.H., Stoffel,S., Sharf,S.J., Higushi,R.,Horn, G.T.,Mullis,K.B., et Erlich,H.A. 1988.** Primer-Directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 487-491.
- **Salvat,G. 2004.** Epidémiologie et écologie de *Salmonella,Campylobacter* et *Listeria Monocytogenes* en filière volaille. Cours C.E.A.V.- H.Q.S.A. E.N.V. Maisons Alfort. Paris.
- **Saunders,N.A.2001.**Insertion Sequence (IS) Typing and Oligotyping.dans:-Dijkshoorn,L., Towner,K.J. et Struelens,M. 2001.New approaches for the generation and analysis of microbial typing data.Elsevier Science.Amsterdam,the Netherlands.pp:249-262..
- **Saxena,M.K.,Singh,V.P.,Lakhcharua,B.D.,Taj,G.,et Sharma,B. 2002.** Strain differentiation of indian isolates of *Salmonella* by ERIC-PCR.*Res.Vet.Sci.*,73 (3),313-314.
- **Schneitz,C. et Mead,G. 2001.** Competitive exclusion. In: *Salmonella* in domestic animals.Edited by Wray,C. et Wray,A.CABI publishing,London,UK.:301-322.
- **Schneitz,C. 2005.** Competitive exclusion in poultry – 30 years of research. *Food Control*,16,657-667.
- **Schwartz D. C., and Cantor C. R., 1984.** Separation of yeast chromosome-sized by pulsed field gradient gel electrophoresis. *Cell* 37. p. 67-75.
- **Schwarz,S., et Chaslus_Danclas,E. 2001.** Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research* 32(3-4),201-225.
- **Schwarz,S. et Liebisch,B. 1994.** Use of ribotyping,IS200 typing and plasmid analysis for the identification of *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium vaccine strain zoo.saloral H and its identification from wild type strains of the same serovar. *ZBL.BaKt.* 281: 442-450.
- **Shivaprasad,H.L. 2003.** Pullorum disease and fowl typhoid. In: *Diseases of poultry*.11th ed. eds.Saif,Y.M. et col. Iowa state press. USA.: 567-582.
- **Singer,J.T. et Optiz,H.M.,Gersman,M.,Hall,M.H.,Muniz,I.G., et Rao,S.V. 1992.**Molecular characterisation of *Salmonella* Enteritidis isolate from maine poultry and poultry farms environnements. *Avian Diseases*.36,324-333.

- **Skerman,V.B.D., Mc Gowan,V.et Sneath,P.H.A.1980.**Approved list of bacterial names.International journal of systemic bacteriology, 30,225-420.
- **Skov,M.N.,Spencer,A.G.,Hald,B.,Petersen,L.,Nauerby,B.,Carstensen,B., et Madsen,M. 2004.** The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella* enterica and thermophilic *Campylobacter* spp. Between broiler flocks. Avian Dis., 48, 9-18.
- **Stanley,J.Baquar,N., et Threlfall,E.J. 1993.** Genotypes and phylogenetic relationships of *S.Typhimurium* are defined by molecular fingerprinting of IS 200 and 16 Srrn loci. Journal of general microbiology,139, 113-140.
- **Stanley,J., et Baquar,N. 1994.** Phylogenetics of *Salmonella* Enteritidis. International journal of food microbiology.Vol. 21, Issue 1-2, 79-87.
- **Stanley,J.,Goldsworthy,M., et Threlfall,E.J. 1992.** Molecular phylogenetic typing of pandemic isolates of *S.Enteritidis*. F.E.M.S Microbiology letters.90,153-160.
- **Struelens,M.J., et members of the European study group on epidemiological markers (ESGEM) .1996.**Consensus guidelines for appropriate use and evaluation of microbial epidemiologic typing systems. Clinical Microbiology and Infection,2,pp: 2-11.
- **Struelens,M.J., De Gheldre,Y. et Deplano,A.1998.** Comparative and library epidemiological typing systems: Outbreak investigations versus surveillance systems. Infection Control and Hospital Epidemiology,19,pp: 565-569.
- **Struelens,M.J.,De Ryck,R. et Deplano,A.2001.**Analysis of Microbial Genomic Macrorestriction Patterns by Pulsed-Field Gel Electrophoresis(PFGE) Typing. Dans New Approaches for Generation and Analysis of Microbial Typing Data.Edited by Dijkshoorn,L.,Towner,K.J. et Struelens,M. Elsevier Science.pp:159-176.
- **Stubbs,A.D.,Hickman-Brenner,F.W.,Caüeron,D.N. et Farmer III,J.J.. 1994.** Differentiation of *Salmonella* Enteritidis phage type 8: Evaluation of three additional phage typing systems,plasmid profile antibiotic susceptibility patterns and biotyping. Journal of clinical microbiology,32,199-201.
- **Swerlow et Atekruse. 1998.** Emerging Infections 2,eds. Scheld,W.M. et col. ASM Press,Washington D.C. :273-294.
- **Tenover,F.C.,R.D.Arbeit,R.V.Goering,P.A.Mickelsen,B.E.Murray,D.H.Persing,et B.Swaminathan. 1995.** Interpreting chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain typing. Journal of Clinical Microbiology, Sept. pp:2233-2239.
- **Tenover,F.C.,Arbeit,R.D.,Goering,R.V. et col. 1997.** How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. Infection control and Hospital Epidemiology,18,pp: 426-439.
- **Thorns,C.J. et Woodward,M.J. 2000.** Fimbriae of *Salmonella*. In: *Salmonella* in domestic animals. eds. Wray,C. And Wray,A.,CAB International,London,U.K.: 35-55.

- **Threlfall,E.J.;Hampton,M.D.,Chart,H., et Rowe,B. 1994.** Use of plasmid profile typing for surveillance of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 from humans. Poultry and eggs. Epidemiology Infection.112, 25-31.
- **Torpdahl,M.,Skov,M.N.,Sandwang,Dorthe et Bagessen,D.L. 2005.** Genotypic characterisation of *Salmonella* by Multilocus sequence typing,PFGE and AFLP. Journal of microbiological methods 63,173-184.
- **Towner,K. Et Grundmann,H.2001.**dans:Dijkshoorn,L., Towner,K.J. et Struelens,M. 2001.New approaches for the generation and analysis of microbial typing data.Elsevier Science.Amsterdam, the Nederlands.pp: 135-158.
- **Uche Orji,M.,Onuigbo,H.C.,et Mbata,T.I. et col. 2005.** Isolation of *Salmonella* from poultry droppings and other environmental sources in Awka,Nigeria. International Journal of Infections Diseases. 9, 86-89.
- **Ungemach,F.R.,Müller-Bahrtd,D., et Abraham,G. 2006.** Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. International Journal of Medical Microbiology 296,S2,33-38.
- **Van Duyne,M.S.,Fitzgerald,C.,Oxford,W.,Fair,M.A.,Virgine,F.Barrett,T.J. et Fields,P. 2006.** *Salmonella* serotyping: Variably expressed O facteur 6 in serogroupe C2. Proceedings I3S, Saint Malo,France: 39-41.
- **Van Immerseel,F., De Buck,J.,Boyen,F.,Pasmans,F.,Bertrand,S.,Collard,J.M.,Saegerman,C., Hooyberchs,J., Haesebrouck,F., et Ducatelle,R. 2005.** *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs: Un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. Ann.Méd.Vét.149,34-48.
- **van Lith,L.A., et Aarts,H.J.. 1994.** Polymerase Chain Reaction for identification of *Salmonella* serotypes. Letters in applied microbiology.19,273-276.
- **van Ooyen,A.2001.** Theoretical Aspects of pattern Analysis.dans: New approaches for the generation and analysis of microbial typing data.Edited by Dijkshoorn,L.;Towner,K.J. Et Struelens,M. Elsevier science;pp:31-45
- **Varma, J.K., Molback, K., Barrett, T. J., Beebe, J. L., Jones, T. F., Rabatsky-Her, T., Smith, K. E., Vugia, D. J., Chang, H. G., Angulo, F. J. 2005.** Antimicrobial-resistant non typhoidal *Salmonella* is associated with excess bloodstream infections and hospitalizations. Journal of Infectious Diseases 191, 554- 561.
- **Versalovic,J.,Koeuth,T. et Lupski,J.R. 1991.** Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. Nucleic Acids Research, 19, 6823-6831.
- **Villate,D.2001.** Maladies des volailles. 2eme édition France agricole. Paris.

- **Vines,A., et Swaminathan,B. 1998.** Identification and characterisation of nucleotide sequence differences in three virulence-associated genes of *Listeria monocytogenes* strains representing clinically important serotypes. *Currents Microbiology* 36,309-318.
- **Voetsch, A.C., Van Gilder, T.J., Angulo, F.J., Farley, M.M., Shallow, S., Marcus, R., Cieslak, P.R., Deneen, V.C., Tauxe, R.V. Emerging Infections Program FoodNet Working Group, 2004.** Food-Net estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 38(Suppl.3), S127-S134.
- **Wachsmuth,I.K.,et Kiehlauch,J.A. 1991.** The use of plasmid profiles and nucleic acid probes in epidemiologic investigations of foodborne diarrheal diseases. *International journal of food microbiology*,12 :77-90.
- **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. et Trüper,H.G.1987.** Report of the ad-hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International journal of systematic Bacteriology* 37,463-464.
- **Weigel, R.M., Qiao, B., Teferedegne, B., Kyun Suh, D., Barber, D.A., Isaccson, R.I. et White,B.A. 2004.** Comparison of PFGE and REP-PCR as genotyping methods for detection of genetic diversity and inferring transmission of *Salmonella*. *Vétérinaire microbiology* 100,issues 3-4,205-217.
- **Weill, F.X. 2006.** Synthèse des résultats du CNR : Souches humaines,2005. 10 eme réunion annuelle du réseau *Salmonella*. Afssa,Maisons Alfort,Paris.
- **White, D.G., Zhao,S. et Sudler, R. 2001.** The isolation of antibiotic resistant *Salmonella* from retail ground meats. *New england journal of medicine* 345, 1147-1154.
- **White, P.L., Baker, A.R., James, W.O., 1997.** Strategies to control *Salmonella* and *Campylobacter* in raw poultry products. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 16, 525-541.
- **Yan, S.S., Pendrak,M.L., Abela-Ridder ,B., Punderson, J.W., Fedorko, D.P. et Foley,S.L. 2003.** An overview of *Salmonella* typing public health perspectives. *Clinical and applied immunology reviews*.4,189-204.
- **Zhao, S., Datta, A.R., Ayers, S., Friedman, S., Walker,R. et White, D.G. 2003.** Antimicrobial resistant *S. sérovars* isolated from imported foods. *International journal of food microbiology*.84, 87-92.
- **Zoughailech, D. 1986.** Salmonelloses mineures et diarrhées aiguës de l'enfant. Etude épidémiologique dans la ville de Constantine. Thèse de doctorat en sciences médicales. I.N.E.S.S.M. Constantine. pp : 18

ANNEXES

Annexe 1 :

Questionnaire Elevages

Identification de l'opérateur:

Date: /__/_/ /__/_/ /__/_/
JJ MM AA

Identification de l'établissement:

propriétaire:

adresse:

n° de tel.

N° d'agrément:

Race du poulet élevé:

1- emplacement et environnement:

Distance des habitations en mètres: /___/ m

Distance de la route ou chemin: /___/m

Distance des cours d'eau: /___/m

l'élevage est-il clôturé oui /___/ non /___/ grillage /___/ mur /___/ autre:.....

Elevages avoisinants:

Espèces élevées: élevage 1: /___/ élevage 2: /___/ élevage 3: /___/

Animaux pouvant avoir accès à l'élevage:

Chiens /___/ Chats /___/ rats /___/ oiseaux /___/ bovins /___/ ovins /___/ insectes /___/ serpents /___/ autres: préciser: /___/

2- Infrastructures:

- nombre de bâtiments: /___/

- superficie de chaque bâtiment: bt 1 /___/ m² bt 2 /___/ m² bt 3 /___/ m²

- nombre de sujets par bâtiment: /___/ /___/ /___/

- type de construction: parpaing en ciment /___/ parpaing de terre /___/ serres /___/ bois /___/

autres: préciser: /___/

Toit:

en: tuiles /___/ tôles /___/ bois /___/ béton /___/ autres /___/

faux plafond: oui /___/ non /___/ préciser la matière: /___/

sol: béton /___/ terre battue /___/ caillebotis /___/

Sanitaires: oui /___/ non /___/

raccordé au réseau: /___/ fosse septique /___/ autres: préciser /___/

- pédiluves: oui /___/ non /___/

3- Equipements:

Ventilateurs: oui /___/ non /___/ autres:préciser..... nombre :/___/

Chauffage: électrique /___/ gaz /___/ autre: préciser..... nombre:/___/

Éclairage:groupe électrogène/___/réseau /___/autres:préciser:.....nbre points lumineux/___/

Couveuses (poussinières): oui /___/ non/___/

Autres équipements: préciser :.....

Puit:oui/___/ non/___/ est-elle traitée Oui/___/Non /___/

Réseau local:oui/___/non/___/est-elle trt Oui/___/ Non /___/

Source: oui/___/non/___/est-elle trt Oui/___/Non /___/

Réseau local : préciser les coupures.....

Autres précisions:.....

4- Fonctionnement:

Type de fonctionnement: chair/___/ ponte/___/ mixte/___/ % de mixité/___/

Traditionnel:/___/

Moderne:/___/

Nombre d'ouvriers: permanents/___/ saisonniers/___/

Est ce que c'est le même ouvrier qui s'occupe tout le temps des volailles: préciser :.....
.....;

Nombre de bandes élevées par an: /___/

Nombre de sujets par bande:/___/ / bande

Age des animaux à l'abattage: /___/jours

Ventilation- aération : statique/___/ mécanique /___/

Litière: paille/___/copeaux de bois/___/ terre/___/ caillebotis/___/ plastique/___/ autres:
préciser.....

Origine des poussins: unique/___/ multiple/___/ combien d'origine/___/préciser
l'origine:.....

Taux de mortalité:

5- Hygiène:

Bâtiments:

Abords du bâtiment: présence de détritus/___/ litière /___/ fumier /___/ autres:préciser /___/

Durée du vide sanitaire /___/jours.

Désinsectisation oui/___/ non /___/

Dératisation oui/___/ non/___/

Ustensiles:

fréquence de nettoyage des ustensiles (bassines , autres)

En fin de travail:/___/ A chaque pause:/___/ plusieurs x /jour Fréquemment:/___/

Equipements:

Fréquence de nettoyage des équipements/mois:

Abreuvoirs:/___/ mangeoires:/___/ couveuses:/___/ ustensiles de travail:/___/

Vestimentaire:

L'ouvrier possède des habits de travail/___/ porte une combinaison sur ses habits/___/

Travaille avec ses habits de sortie /___/ autres: préciser:.....

Bottes:/___/ protège-chaussures:/___/ chaussures civiles:/___/ autres:

préciser:/_____/

Nombre de changements d'habits de travail /sem./_____/

Corporelle:

Présence de douches fonctionnelles: oui/___/ non:/___/

Présence de lavabos: oui/___/ non:/___/

Présence de savon : oui/___/ non:/___/

Présence de javel ou crésyl: oui/___/ non /___/

Sensibilisé vis à vis de l'hygiène: oui/___/non/___/

Connaissent ils des principes d'hygiène: oui/___/non/___/

6- Personnel:

Nombre de personnes s'occupant des animaux:/___/

Fréquence des visites médicales: /___/ / an.

Niveau d'instruction moyen: /_____/

7- Alimentation:

Types d'aliments: miettes /___/ granulés /___/ mixte/___/ autres: préciser:.....

Origine:

Caractéristiques:

Indice de consommation des dernières bandes:

8- Utilisation des médicaments vétérinaires:

Antibiotiques:

ATB	Objectif d'utilisation	dosages	Age des animaux traités
1-			
2-			
3-			
4-			
5-			
6-			

9- Expédition des animaux de l'élevage à l'abattoir (moyens et conditions):

Heure de ramassage:

Type de camion :

Distance: élevage-tuerie: (en km)

10- Remarques et observations personnelles.

Annexe 2 :

Fiche de suivi de prélèvement (Elevages et abattoirs)

Nom de l'opérateur :

Date de prélèvement :

Heure de prélèvement :

Type de prélèvement :

Température du jour :

Etablissement (élevage ou tuerie) :

Type d'établissement (traditionnel, mécanisé ou moderne) :

Noms du propriétaire :

Adresse de l'établissement :

Téléphone :

Nombre de sujets de la bande (en élevage) :

Origine du poussin (en élevage) :

Nombre de sujets abattus / jour (en abattoir) :

Nombre de lots abattus / jour(en abattoirs) :

Age des animaux :

Race des animaux :

Température de la glacière à son retour au laboratoire :

Temps de parcours de retour :

Signes pathologiques (s'il y a lieu) :

**Signature de l'opérateur
laboratoire**

Date, heure et signature du technicien de

Annexe 3 :

Questionnaire Tueries

Identification de l'opérateur:

Date: /__ / __ / __ / __ / __ / __ /
JJ MM AA

Identification de l'établissement:

Propriétaire :

Nom commercial

Adresse:

N° d'agrément:

Race du poulet abattu:

1- emplacement et environnement:

Distance des habitations en mètres: /_____/m

Distance de la route ou chemin: /_____/m

Distance des cours d'eau: /_____/m

La tuerie est-elle clôturée oui /__ / non /__ / grillage /__ / mur /__ / autres:.....

Animaux pouvant avoir accès à la tuerie:

Chiens /__ / Chats /__ / rats /__ / oiseaux /__ / autres: préciser: /_____ /

2- Infrastructures:

- Nombre de bâtiments: /_____/

- Nombre de salles et superficie Lx l: s1 /__ / __ / s 2 /__ / __ / s 3 /__ / __ / s4 /__ / __ /

- Salle de repos: oui /__ / non /__ /

- type de construction: parpaing en ciment /__ / parpaing de terre /__ /

autres: préciser: /_____ /

Etat des murs: lisses /__ / rugueux /__ /

Sol: béton /__ / carrelage /__ / autres: préciser: /_____ /

Inclinaison du sol: oui /__ / non /__ /

Rigoles: /__ / non /__ /

Sanitaires: oui /__ / non /__ /

- autres infrastructures: préciser :.....

3- Equipements:

Type d'équipement ou matériel utilisé:

Chaîne d'abattage/___/ matériel rudimentaire/___/ autres: préciser:/_____/

Equipement pour la saignée: préciser:.....

= l'échaudage:.....

= la plumaison.....

Nombre de déplumeuses : /___/

= l'éviscération : Manuelle /___/ .Mécanique : /___/

= le séchage : Ventilateurs /___/. Air libre : /___/

Chambre froide :

Fonctionnelle/___/ non fonctionnelle /___/ Inexistante /___/

autres équipements: préciser:

Puits: oui/___/ non/___/ est-elle traitée oui/___/non /___/

Source: oui/___/non/___/est-elle traitée oui/___/non/___/

Réseau local: oui/___/non/___/est-elle traitée oui/___/non/___/

Préciser les coupures.....

Autres précisions:.....

4- Fonctionnement:

Type de fonctionnement:

Travail manuel:/___/ Travail mixte: /___/ Chaîne mécanisée:/___/

Nombre d'ouvriers permanents/___/ saisonniers/___/

Nombre de sujets abattus par jour: /___/ espèces /___/

Nombre de lots (animaux d'origines différentes) :/___/

Origine des animaux:/___/ /___/ /___/

Age des animaux abattus:/___/ jours

Séparation des secteurs: propre / souillé: oui/___/ non /___/

Ressuyage: Ventilateurs /___/ Air Libre /___/

5- Hygiène:

Bâtiments:

Fréquence de nettoyage du bâtiment /___/ par sem.

Fréquence de désinfection/___/sem. Désinfectant /___/

Abords du bâtiment: présence de débris/___/ phanères /___/ autres: préciser

/___/

Désinsectisation oui/___/ non /___/

Dératisation oui/___/ non/___/

Désinfection à eau de javel/sem. Sol/___/ murs /___/ équipements. /___/ Ustensiles /___/

Etat hygiénique des équipements:

Fréquence de nettoyage:/___/ / jour.

Etat des habits des ouvriers:

Fréquence de nettoyage des habits:/___/ / mois.

Fréquence de nettoyage des tables pendant le travail. /___/

Après chaque opération de travail. oui/___/ non /___/

Nettoyage des ustensiles: 1x/jour/___/ A chaque pause:/___/ plusieurs x / jour

Nettoyage du sol pendant le travail. Oui/___/ non /___/

Renouvellement de l'eau d'échaudage: oui /___/ non /___/

Renouvellement de l'eau de rinçage des carcasses: oui /___/ non /___/

6- Personnel:

Nombre d'ouvriers: /___/

Changement d'habits/sem.: /___/

Lavage des mains pendant le travail. /___/

Lavabos: oui /___/ non /___/

Savon : oui /___/ non /___/

Niveau d'instruction: illettré /___/ primaire/___/ collège /___/ lycée /___/

Autres: Préciser :

Sont ils sensibilisés vis à vis de l'hygiène: oui /___/ non /___/

Visites médicales et leur fréquence : Nombre de fois /___/ par an..

Remarques personnelles:

7- Transport des animaux et carcasses:

Camion spécifique: /___/ camion usager: /___/ camionnette: /___/

en cagettes : /___/ en cartons: /___/ autres: préciser: /___/

Livraisons:

Camion frigorifique: oui /___/ non /___/

8- Inspection:

Anté -mortem: oui /___/ non /___/

Est- elle régulière oui /___/ non /___/

Post- mortem: oui /___/ non /___/

Est- elle régulière: oui /___/ non /___/

Moyenne des saisies par jour: /_____/

9- Remarques et observations personnelles:

Annexe n° 4

Evaluation de la taille des bandes / ERIC-PCR :

N° souche	Profil ERIC	bande la plus basse	bande la plus haute	bande(s) supplémentaire(s) approximativement à
H17 / S.Agona	I	< 190 pb	> 1114 pb	190 et 692 pb
V80 / S.Albany	II		env. 692 pb	
V85 /	III	242 pb	> 900 pb	320 et 692 pb
H12 / S.Anatum	IV	< 190 pb	env. 501 pb	
21 / S.Blockley	V		> 900 pb	> 242 à 404 pb et à 501 pb
V78 / S.Carnac	VI		> 501 pb	> 320 et > 404 pb
10 / S.Enteritidis	VII		> 900 pb	
4 / S.Hadar	VIII		> 1114 pb	501 et 900 pb
13 / S.Heidelberg	IX		> 900 pb	501 pb
H1 / S.I 8,20;i-	X		> 1114 pb	692 et 900 pb
H20 / S.Indiana	XI		> 320 pb (intense)	
12 / S.Infantis	XII		> 900 pb	501 et 692 pb
V21 / S.Rissen				
15 / S.Senftenberg	XIII	environ 147 pb (double-bande)	1114 pb	< 692 pb
H10 / S.Typhimurium	XIV	< 190 pb	> 900 pb	
V20 / S.Virchow	XV			surtout sous 320 pb et > 404 pb; à 692 pb et < 900 pb

Remarques :

- bande visible environ à 242 pb pour les sérotypes suivants :
 - Enteritidis
 - Hadar
 - Kentucky
 - Infantis
 - Typhimurium
 - Virchow.
- bandes caractéristiques de 320 à 404 pb pour toutes les souches excepté les sérotypes suivants :
 - Albany (de profil III / n° 85)
 - Blockley
 - Indiana.

Evaluation de la taille des bandes / IS-PCR :

N° souche	Profil IS	bande la plus basse	Bande la plus haute	bande(s) supplémentaire(s) approximativement à
H17 / S.Agona	A	environ 67 pb	> 692 pb	692 pb
H19 / S.Albany	B		> 501 pb	< 489 pb
V85 /	C	< 242 pb voire env.124 pb	> 1114 pb	< 489 pb, env. 501 pb et > 900 pb
H12 / S.Anatum	D	env. 67 pb	env. 404 pb	
21 / S.Blockley	E	< 110 pb	env. 692 pb	< 489 pb
V78 / S.Carnac	F	env. 110 pb	> 404 pb	< 404 pb et < 489 pb
1 / S.Enteritidis	G	env. 67 pb	< 692 pb	
2 /	"H"	< 67 pb	/	
4 / S.Hadar	I		< 692 pb	
V26 /		env. 67 pb		242 pb et < 489 pb
13 / S.Heidelberg	K		env. 501 pb	
H1 / S.I 8,20;i:-	L	< 67 pb		
H20 / S.Indiana	M	< 190 pb	très intense à env. 501 pb	(double-bande de 489 à env. 501 pb)
12 / S.Infantis	N	env. 67 pb	env. 489 pb	
V21 / S.Rissen				
15 / S.Senftenberg	O	< 242 pb voire < 67 pb		
H11 /	P ?	< 67 pb	env. 242 pb	190 pb
6 / S.Typhimurium	Q	env. 67 pb	env. 489 pb	< 190 pb (doublée) et > 242 pb
V17 /	R			> 242 pb et surtout à 404 pb
H14 / S.Virchow	S		> 501 pb	> 147 pb; < 404 pb; < 489 pb et > 501 pb

Remarques :

- bandes caractéristiques : sous 404 pb et à 501 pb pour toutes les souches excepté les sérotypes suivants :
 - Albany (de profil C / n° 85)
 - Anatum
 - Carnac
 - Enteritidis (de profil "H" / n° 2)
 - Kentucky
 - Senftenberg (de profil O / n° 15)
- bande visible sous 190 pb pour les sérotypes suivants : - Agona
 - Albany (de profil B / n°H19)
 - Blockley
 - Carnac
 - Hadar
 - Infantis
 - Typhimurium
 - Rissen
 - Typhimurium (n° 6)
 - Virchow.

Annexe n° 5 :

Matériel de prélèvement.

- Caisson isotherme bien étanche, muni de plaques eutectiques.
- Sachets de Stomacher stériles préalablement numérotés et identifiés.
 - Chiffonnettes, imbibées d'E.P.T. (Eau Peptonnée Tamponnée) pour prélèvements sur surfaces.
 - Ecouvillons stériles, pour les prélèvements cloacaux.
 - Abaisse-langues stériles pour les prélèvements de fientes.
 - Flacons gradués et stériles pour les prélèvements d'eau.
 - Bistouri et lames stériles pour les prélèvements de peau du cou et du foie.

Matériels de laboratoire.

Analyses bactériologiques:

Le matériel est constitué essentiellement par le matériel conventionnel d'un service de bactériologie alimentaire, essentiellement: Etuves, bain marie, vortex, agitateur chauffant, réfrigérateur, stomacher et sachets de stomacher standard, bec bunsen, microscope et divers consommables.

Milieux de culture: Eau peptonnée tamponnée, bouillon Sélénite cystine, bouillon Rappaport-Vassiliadis, bouillon au tétrathionate de Muller-Kauffmann et gélose Hecktoen.

Pour la confirmation biochimique: Galeries API 20 E et milieu T.S.I.

Pour le sérotypage: - Sérums anti- antigènes somatiques polyvalents dits sérums mélange : OMA, OMB et OMC.

- Sérums anti- antigènes somatiques monovalents.
- Sérums anti- antigènes flagellaires: HMA, HMB, HMC et H1.

Pour les antibiogrammes: Disques antibiotiques des principales familles d'antibiotiques (voir méthode) et gélose Muller Hinton

Réaction de polymérisation en chaîne « P.C.R »

Dans la salle de bactériologie:

- 1 Pipette GILSON de 20 µl.
- 1 boîte de cônes jaunes.
- 1 portoir de tubes EPPENDORF.
- 1 boîte pour microtubes avec lit de glace.
 - 1 paire de gants à usage unique.

Dans la salle de préparation du mélange réactionnel ou « MIX »

- Des pipettes GILSON de 20 µl, 200 µl et 1000 µl.
- 1 boîte de cônes jaunes et une boîte à cônes bleus.
- Des tubes EPPENDORF de 1,5 ml.
- Des microtubes à PCR.

Réactifs:

- Eau ultra pure stérile.
- dNTP Nucléotides mix (ROCHE DIAGNOSTICS)
- Tampon 10 X (ROCHE DIAGNOSTICS)
- Amorces ERIC 1R, ERIC 2, IS 1 et IS 2 (MWG BIOTECH)
- Taq Dna Polymérase (ROCHE DIAGNOSTICS)
- Thermocycleur.

Electrophorèse en champ pulsé (Pulsed Field Gel Electrophoresis:P.F.G.E.)

- Poste de sécurité microbiologique.
- Matériel classique de bactériologie.
- Tubes Falcon en polypropylène de 50ml.
- Spectrophotomètre » Lightwave » Invent.
- Tubes EPPENDORF de 1,5 ml.
- Bain -marie à 50 °C (BM4).
- Moules pour fabrication d'inserts (BIORAD).
- Jeu de pipettes.
- Bouchons tamisés pour tubes flacons de 50 ml.
- Bain- marie agité (BM5).
- Bain- marie à sec (BS1 et BS2) à 37°C et incubateur à 37°C.
- Appareil pour électrophorèse en champ pulsé CHEF-DR III (BIORAD, INVENT)
- Peignes (BIORAD réf 170-4324 ou réf 170-3628).
- Logiciel d'analyse Quantity One et Bionumerics (BIORAD).
- TSAYE: Tryptone Soja Agar Yest Extract
- Tris 1 M pH8 (SIGMA,réf: T 5941).
- EDTA 0,25 M pH8 (SIGMA,réf E 5134).
- Proteinase K (AMERSHAM, réf E762302).
- Agarose Seakem Gold (FMC Bioproduct, TEBU: réf: 50150) et micro-onde.
- SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) à 20 % (SIGMA, réf L-4509).
- Sarcosine à 10 % (SIGMA,réf L-5777).
- Eau Ultra Pure stérile.
- Enzyme de restriction *Xba*I et son tampon (AMERSHAM, réf : E1093 ZH), BSA (AMERSHAM, réf : E1000BP ou 27-8915-01 dernière référence à diluer au 1/10ème).
- TBE (Tris Borate EDTA) 0,5X (ROCHE,réf 1666703).
- BET (Bromure d'Etidium) 10 mg/ml (SIGMA,réf E1510).
- HEPES (SIGMA, réf H7523) et Thiourée (SIGMA, réf T8656).
- Petites spatules métallique

Abstract :

The present study provides the first data about the prevalence of *Salmonella* contamination of broilers and slaughterhouses in the region of Constantine, Algeria. The serotypes and antibiotic resistance patterns of the isolates were determined, and risk factors contributing to the contamination were evaluated.

A total number of 2490 samples, 1800 originating from 30 broiler farms and 690 from 15 slaughterhouses, were taken during 2 periods: October 2005-June 2006 and September 2006-March 2007. *Salmonella* contamination concerned 37 % of the broiler farms and 73 % of the slaughterhouses.

Among the 55 isolates recovered, ten different serotypes were identified. The most frequently recovered serotypes in both slaughterhouses and breeder farms were *S. Hadar* (36.4%, n=20), *S. Virchow* (16.4%, n=9), *S. Infantis* (10.9%, n=6), and *S. Albany* (10.9%, n=6). *S. Carnac* (7.3%, n=4). Isolates belonging to *S. Heidelberg* (1.8%, n=1), and *S. Rissen* (1.8%, n=1) were found only in farms, while those belonging to *S. Typhimurium* (9.1%, n=5), *S. Enteritidis* (3.6%, n=2), and *S. Montevideo* (1.8%, n=1) were recovered only from slaughterhouses. Thirty nine isolates (79.9 %) were resistant to at least one antibiotic and 50.9 % were multi-resistant, i.e. resistant to two or more antibiotic molecules. Among the 55 isolates, 56.4% (n=31) were resistant to streptomycin, 34.5% (n=19) to tetracyclines, 27.2 % (n=15) to nalidixic acid, 12.7% (n=7) to ofloxacin and 1.8% (n=1) to enrofloxacin. Finally, 7 distinct antibiotic resistance profiles were identified.

In parallel, four risk factors were found that were significantly associated with *Salmonella* contamination. These risk factors highlight the hazards of the broiler channel, particularly linked to poor technical and hygiene practices.

On the another side, the genotypic characterization of the stocks gave us 16 profiles per Eric-PCR, 20 profiles by is-PCR and 34 profiles by PFGE. The 3 methods, and particularly the PFGE, showed the clonality of some sérotypes, confirming the diffusion and the persistence of the same clone through the field, and in our area, but also the polymorphism of others sérotypes indicating the diversity of the potential tanks in nontyphoidal *salmonella*.

The comparison of our PFGE profiles to those of the bank of data of the AFSSA, Maisons Alfort, France, informs us about the diffusion, sometimes international, of some sérotypes, facilitated by the increasing levels of trade, at the eve of the accession of Algeria to the World Trade Organization.

Key words: *Salmonella*; Broiler; Chicken; Prevalence; Serotype; Antibiotic-resistance; Risk factors; eric-PCR; is-PCR, PFGE.

Résumé :

Cette étude nous fournit les premières données de prévalence de la contamination par les salmonelles, des élevages et abattoirs de poulet de chair de la wilaya de Constantine. Les sérotypes et les profils d'antibiorésistance des isolats sont déterminés et les facteurs de risques de contamination sont évalués.

Un total de 2490 prélèvements, dont 1800 recueillis de 30 élevages de poulet de chair et 690 recueillis de 15 abattoirs, ont été récoltés durant 2 périodes : octobre 2005- juin 2006 et septembre 2006 à mars 2007. La contamination à *Salmonella* a concerné 37 % des élevages et 73 % des abattoirs. Parmi les 55 isolats retrouvés, 10 sérotypes différents ont été identifiés. Les sérotypes les plus fréquemment isolés, aussi bien en élevages qu'en abattoirs, étaient *S. Hadar* (36.4%, n=20), *S. Virchow* (16.4%, n=9), *S. Infantis* et *S. Albany* (10.9%, n=6). *S. Carnac* (7.3%, n=4). Les sérotypes *S. Heidelberg* (1.8%, n=1), et *S. Rissen* (1.8%, n=1) ont été trouvés seulement en élevages, alors que les sérotypes *S. Typhimurium* (9.1%, n=5), *S. Enteritidis* (3.6%, n=2), et *S. Montevideo* (1.8%, n=1) ont été isolés seulement en abattoirs. Trente neuf isolats (79.9 %) ont été résistants à au moins un antibiotique et 50.9 % ont été multi-résistants, à deux molécules d'antibiotiques ou plus. Parmi les 55 isolats, 56.4% (n=31) ont été résistants à la streptomycine, 34.5% (n=19) aux tétracyclines, 27.2 % (n=15) à l'acide nalidixique, 12.7% (n=7) à l'ofloxacine et 1.8% (n=1) à l'enrofloxacine. Finalement, 7 profils de résistance aux antibiotiques distincts ont été identifiés.

En parallèle, 4 facteurs de risques ont été trouvés significativement associés à la contamination des élevages et aucun pour les abattoirs. Ces facteurs augurent des dangers de cette filière, particulièrement liés aux faibles pratiques de gestion et d'hygiène.

D'un autre côté, la caractérisation génotypique des souches nous a donné 16 profils par eric-PCR, 20 profils par is-PCR et 34 profils par PFGE (Pulsotypage). Les 3 méthodes et particulièrement la PFGE a démontré la clonalité de certains sérotypes, confirmant la diffusion et la persistance du même clone à travers la filière et dans notre région, mais aussi le polymorphisme d'autres sérotypes indiquant la diversité des réservoirs potentiels en salmonelles non typhiques.

La comparaison de nos pulsotypes à ceux de la banque de données de l'AFSSA, Maisons Alfort, France, nous renseigne sur la diffusion parfois internationale de certains sérotypes, facilitée par les niveaux croissants des échanges commerciaux, à la veille de l'adhésion de L'Algérie à l'Organisation Mondiale du Commerce.

Mots clés : *Salmonella*; Poulet de chair; Sérotype; Antibio-résistance; Facteurs de risques, eric-PCR, is-PCR, PFGE.

العنوان: إصابات دجاج اللحوم ب *Salmonella* غير التيفوئيدية في مزارع ومذابح ولاية قسنطينة

تزودنا هذه الدراسة بالمعطيات الأولى لعدد الحالات السائدة لنسبة الإصابة بالسالمونيلا داخل مزارع دجاج اللحوم ومذابحها لولاية قسنطينة .

لقد تم تحديد الأنواع السيروولوجية ومظاهر المقاومة للمضادات الحيوية للبكتيريا تحت الدراسة، كما تم تقييم عوامل خطورة الإصابة .

تم جمع مجموع 2490 عينة، منها 1800 أخذت من 30 مزرعة لدجاج اللحوم و 690 أخذت من 15 مذبح. قد خص التلوث بالسالمونيلا 37 بالمئة من المزارع و 3 بالمئة من المذابح. كما حددت 10 أنواع سيروولوجية مختلفة من بين 55 سلالة بكتيرية معزولة.

وتبين أن معظم السلالات البكتيرية المعزولة قد أظهرت مقاومة لمضاد حيوي واحد على الأقل .

أخيرا قد عرفت سبعة مظاهر من المقاومات للمضادات الحيوية ، وبالتوازي هناك أربعة عوامل خطورة قد وجدت مرتبطة بصورة معنوية بتلوث المزارع، ولم يوجد أي عامل فيما يخص المذابح.

و من جهة أخرى فإن التصنيف الجيني للسلالات قد أعطى 16 مظهرا عند استعمال تقنية PCR eric و 20 مظهرا عند استعمال تقنية is PCR و 34 مظهرا بتقنية PFGE .

هذه التقنيات وخاصة PFGE أظهرت أحادية التصنيف لبعض الأنواع السيروولوجية ، مما يؤكد إنتشار وتواجد نفس الصنف خلال سلسلة دجاج اللحوم في نفس المنطقة .

كما أن التنوع المظهري لأنواع سيروولوجية أخرى يحدد تنوع المستودعات الممكنة لجنس *Salmonella* غير التيفوئيدية.

إن مقارنة المظهر المحدد ب PFGE (pulsotype) مع بنك المعلومات الخاص ب AFSSA (الوكالة الفرنسية للأمن الصحي الغذائي) تعلمنا حول الإنتشار لبعض الأنواع السيروولوجية الذي يكون عالميا ، حيث تزيد من سهولته التبادلات التجارية الدولية عادة إنضمام الجزائر للمنظمة العالمية للتجارة .

الكلمات المفتاحية :

Salmonella ، دجاج اللحوم ، النوع السيروولوجي ، مقاومة المضادات الحيوية ، عوامل الخطر، PFGE, is-PCR, Eric-PCR