

***Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ?**

KORSAK N., CLINQUART A., DAUBE G.

Département des Sciences des denrées alimentaires
Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège,
Boulevard de Colonster, 20, bât. B43bis, 4000 Liège

Correspondance : Nicolas KORSAK - Tél :32(0)4/366.45.19; fax : 32(0)4/366.40.44 ; e-mail : nkorsak@ulg.ac.be

RESUME: *Salmonella* est une bactérie mésophile qui possède les caractéristiques communes aux *Enterobacteriaceae*. Deux espèces sont décrites : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. Bien qu'il soit établi que l'infection dans les cellules hôtes requiert la présence de systèmes de sécrétion de type III, les mécanismes de virulence sont encore assez mal connus. Parmi les méthodes de détection par culture, l'utilisation de milieux semi-solides semble être parmi les plus performantes. Les techniques d'amplification génétique ont trouvé une nouvelle application dans la caractérisation des souches isolées sur le terrain. *Salmonella* peut être isolée dans l'intestin de nombreuses espèces animales et sa survie dans le milieu extérieur peut être très longue. Divers sérotypes de salmonelles peuvent provoquer des salmonelloses cliniques alors que d'autres sont responsables d'un état de portage sain chez différentes espèces animales. L'influence de la filière porcine sur l'infection de l'homme sera étudiée plus particulièrement. Les nombreuses toxi-infections d'origine alimentaire causées par les salmonelles montrent que la surveillance ne doit pas se relâcher, étant donné les pertes sociales et économiques engendrées. Elle doit permettre d'améliorer la qualité des aliments depuis la production primaire jusqu'à l'assiette du consommateur. Les méthodes de prévention préconisées dans les exploitations et les abattoirs seront également envisagées.

INTRODUCTION

Cette synthèse sera scindée en plusieurs parties. Après un rappel sur la bactérie, les méthodes de détection et de caractérisation les plus usitées seront développées. Ensuite, l'actualité touchant à l'épidémiologie, la surveillance, et la prophylaxie des salmonelloses sera présentée en l'illustrant à partir de l'exemple de la filière porcine.

Les auteurs tenteront de répondre à deux questions essentielles :

- lutter contre les salmonelles est-il un combat d'arrière-garde ? ;
- faut-il organiser des systèmes de surveillance et de remédiation dès le stade de la production primaire ?

LE GENRE *SALMONELLA*

Eléments de taxonomie et règles de nomenclature

Le genre *Salmonella*, qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, doit son nom au Dr. vétérinaire Salmon, bactériologiste américain du 19^e siècle. Ce genre est caractérisé par des bacilles à coloration Gram-négative, non sporulants, la plupart du temps doués d'une mobilité propre grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *Salmonella Gallinarum*). La taille des bâtonnets varie entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur (figure 1). Ils sont aéro-anaérobies, réduisent les nitrates en nitrites, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, fermentent le glucose mais pas

le lactose ni le sucrose et produisent du gaz à partir du glucose (sauf *Salmonella Typhi*). Du sulfure d'hydrogène est généralement produit à partir du milieu communément appelé « triple sucre ». La réaction au test à l'oxydase est toujours négative (Le Minor, 1984 ; International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1996 ; Hanes, 2003). Comme toutes les bactéries à coloration Gram-négative, l'enveloppe des salmonelles est constituée de 3 éléments : la membrane cytoplasmique et la membrane externe étant séparées par un espace périplasmique constitué de peptidoglycanes. Cette dernière structure confère à la bactérie sa forme et sa rigidité et lui permet de résister à une pression osmotique relativement élevée dans l'environnement (Rycroft,

2000). Suite à l'analyse comparative des gènes codant pour les ARN ribosomiaux et grâce à des techniques d'hybridation ADN-ADN, il fut proposé que le genre *Salmonella* soit divisé en deux espèces distinctes : *S. enterica* et *S. bongori*. La première espèce est elle-même subdivisée en 6 sous-espèces : *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica* (Grimont *et al.*, 2000). Un consensus international semble se dégager afin d'accepter cette règle de nomenclature.

En plus de cette subdivision en espèces et en sous-espèces, à l'heure actuelle, 2.541 sérotypes sont reconnus officiellement. Ceux-ci résultent des multiples combinaisons des antigènes somatiques O, de nature polysaccharidique, des antigènes flagellaires H, de nature protéique et, enfin, capsulaires (Vi). Les déterminants génétiques de ces facteurs sont suffisamment stables pour réaliser des enquêtes épidémiologiques fiables. Le type de classement en fonction des antigènes O et H porte le nom de schéma de Kauffmann-White (Grimont *et al.*, 2000).

Les noms des sérotypes doivent nécessairement être écrits en caractères pleins (non italiques) avec une majuscule : *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Typhimurium. Toutefois, les simplifications suivantes sont admises : *Salmonella* Typhimurium ou *S. Typhimurium*.

En résumé les caractéristiques biochimiques générales de la plupart des sérotypes isolés chez l'homme et les animaux à sang chaud sont les suivantes :

- lactose⁻, ONPG⁻, H₂S⁺, gaz (glucose)⁺ ;
- LDC⁺, ODC⁺, ADH⁻, uréase⁻, TDA⁻, indole⁻, gélatinase⁻, DNase⁻ ;
- Absence de production d'acétoïne (test de Voges-Proskauer⁻), RM⁺, citrate de Simmons⁻, adonitol⁻, glycérol⁻, galacturonate⁻.

Il faut noter qu'il existe des exceptions importantes. Le sérotype Typhi

ne décarboxyle pas l'ornithine, ne croît pas sur un milieu composé de citrate de Simmons, est agazogène et ne produit que des traces de H₂S. Le sérotype Paratyphi A ne décarboxyle pas la lysine et ne pousse pas sur milieu au citrate de Simmons. Enfin, *Salmonella* Paratyphi A, Choleraesuis et Gallinarum ne produisent pas de H₂S. Dans ce cas, les colonies n'auront pas de centre noir sur des milieux d'isolement constitué de citrate de fer et de thiosulfate de sodium (ex : XLD, Hektoen, SS).

Facteurs de croissance

Salmonella est une bactérie mésophile : son optimum de croissance est proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35-43°C). La limite de croissance inférieure se situe aux environs de 5 °C ; il est toutefois généralement admis que la plupart des sérotypes ne croissent qu'à partir de 7°C (International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1996 ; Hanes, 2003 ; Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2003). Ceci indique qu'un contrôle efficace de la chaîne du froid en entreprises agro-alimentaires est un des éléments essentiels afin d'éviter une croissance de *Salmonella* dans les aliments. La congélation ou la surgélation a peu d'effets sur la population des salmonelles dans un aliment. Elle ne garantit en aucune manière la destruction d'un nombre suffisant de bactéries viables. Les gammes de températures comprises entre 0 et -10°C paraissent plus délétères envers *Salmonella* que les intervalles compris entre -17°C et -20°C (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000). En définitive, les processus de congélation entraînent l'émergence de bactéries stressées qui devront, pour croître à nouveau, se réadapter aux nouvelles conditions régnant dans le milieu après décongélation.

Les salmonelles sont réputées être peu thermorésistantes puisqu'elles sont tuées rapidement lorsque la tempéra-

ture dépasse 70 °C comme dans le processus de pasteurisation habituellement appliqué dans les entreprises agro-alimentaires. La thermorésistance des micro-organismes est habituellement définie par deux facteurs essentiels. La valeur D indique le temps nécessaire (en minutes) pour obtenir une réduction de 90 % du nombre de micro-organismes viables présents avant le traitement. Cette valeur va dépendre de plusieurs facteurs : le micro-organisme, le milieu dans lequel la bactérie se trouve, la température, le pH, le sérotype et l'*a_w* (mesure de l'eau libre contenue dans une denrée alimentaire, cette eau libre est nécessaire à la croissance des micro-organismes). Un deuxième facteur utile à connaître est le paramètre z. Il s'agit d'une valeur, exprimée en degrés Celsius, permettant de connaître *a priori* l'effet de l'augmentation de température sur l'augmentation de la destruction des bactéries par la chaleur. Pour *Salmonella*, cette valeur est proche de 5° C (Varnam et Evans, 1996). Elle correspond à l'augmentation de température qu'il faudrait appliquer pour diminuer la valeur D d'un facteur 10.

En dehors de la température, les deux autres facteurs pouvant substantiellement influencer la multiplication de *Salmonella*, sont le pH et l'*a_w*. L'optimum de croissance pour ces deux paramètres est 7,2 et 0,99, respectivement. La croissance est stoppée à des pH extrêmes (< 3,8 ou > 9,5) et à une valeur d'*a_w* inférieure à 0,94. Le degré d'acidité d'un produit peut donc constituer un facteur de protection au niveau de sa sécurité (International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1996).

L'ionisation des denrées alimentaires est un autre traitement qui peut avoir une influence sur la survie des salmonelles dans un aliment. Cette technique est très souvent utilisée aux Etats-Unis pour différentes applications, dont le contrôle des micro-organismes pathogènes dans les aliments (Buzby et Morrison, 1999). La *Food*

ONPG : orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside
 ADH : arginine-dihydrolase
 LDC : lysine-décarboxylase
 TDA : tryptophane-désaminase
 ODC : ornithine-décarboxylase
 RM : rouge de méthyle

and Drug Administration (FDA) a en effet autorisé l'ionisation des viandes rouges (bœuf et agneau) et des viandes de volaille. Enfin, il est à signaler que les agents conservateurs ont une efficacité limitée et variable pour contrôler le risque des salmonelles dans un aliment.

Mécanismes de virulence

Un nombre considérable de gènes (de l'ordre de quelques centaines) doit être mobilisé par *Salmonella* en vue de contrecarrer les mécanismes de défense de l'hôte. Tous les sérotypes de salmonelles peuvent, en théorie, causer une infection systémique chez les humains au statut immunitaire diminué, alors que la plupart engendreront une diarrhée fébrile, des vomissements, des douleurs abdominales et chez les sujets âgés ou immuno-déficients des bactériémies, des septicémies et des localisations extradigestives, en particulier vasculaires (Bäumler *et al.*, 2000). Lorsqu'il y a localisation de l'infection, les salmonelles restent souvent cantonnées dans les ganglions lymphatiques mésentériques. Les premiers mécanismes de défense utilisés par l'hôte sont constitués par le degré d'acidité de l'estomac et les sels biliaires de l'intestin grêle, qui exercent un effet bactéricide. Une fois dans l'intestin grêle, les salmonelles doivent le plus rapidement possible adhérer à la muqueuse intestinale. Elles vont la traverser au niveau des follicules lymphoïdes de l'iléon (plaques de Peyer, situées au fond des cryptes intestinales). A cet endroit de l'intestin, l'épithélium est caractérisé par la présence, parmi les entérocytes, de cellules M et par l'absence de cellules sécrétant du mucus. Il semblerait que des fimbriae (adhésines) doivent être présentes pour permettre la reconnaissance et la liaison des *Salmonella* aux plaques de Peyer (Dibb-Fuller *et al.*, 1999 ; Thorns et Woodward, 2000, Vimal *et al.*, 2000). Ces fimbriae jouent un rôle essentiel dans la pathologie et dans le fait que certains sérotypes sont adaptés spécifiquement à telle ou telle espèce animale. L'entrée dans les plaques de Peyer requiert la présence de systèmes de sécrétion de type III. Ils sont codés par des

Tableau I : Aliments associés aux foyers de salmonelloses humaines, aux Etats-Unis, entre 1973 et 1987 (Bean et Griffin, 1990).

Aliment	Nombre de foyers ¹	Aliment	Nombre de foyers
Non connu	320	Œufs	16
Autres	191	Produits de pâtisseries	12
Bœuf	77	Nourriture mexicaine	10
Lait, produits laitiers et crèmes glacées	50	Fruits et légumes	9
Dinde	36	Poisson et mollusques	8
Volaille	30	Boissons non lactées	4
Porc	25	Nourriture chinoise	2

¹ nombre total de foyers : 790 ; nombre de cas : 55.864 ; nombre de morts : 88.

Tableau II : Zoonoses surveillées dans le cadre de la directive 92/117/CEE (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 1993).

Tuberculose due à <i>Mycobacterium bovis</i>
Brucellose et ses agents
Salmonellose et ses agents
Trichinose
Campylobactériose
Échinococcose
Listériose
Rage
Toxoplasmose
Yersiniose
Toute autre zoonose étrangère à la Communauté et les agents de cette zoonose

ensembles de gènes de pathogénicité («îlots de pathogénicité»), appelés SPI-1 et SPI-2 (China et Goffaux, 1999 ; Bäumler *et al.*, 2000 ; Cornelis, 2000 ; Jones *et al.*, 2002, Doublet *et al.*, 2005). SPI-1 est généralement nécessaire pour permettre le passage à travers les cellules M de la muqueuse intestinale alors que SPI-2 est impliqué dans le caractère systémique de l'infection (Hueck, 1998).

Consécutivement à la pénétration des salmonelles dans les cellules M, ces dernières vont être tuées par apoptose, entraînant la transmigration à travers la muqueuse de cellules inflammatoires de type polymorphonucléaires (PMN) et une gastro-entérite aiguë. Pour survivre au processus inflammatoire et à l'apparition de protéines à effet bactéricide produites par les PMN, une série de gènes doit être activé, en particulier ceux faisant partie du complexe PhoPQ.

METHODES DE DETECTION ET DE CARACTERISATION

Techniques classiques de détection

Les micro-organismes pathogènes dans les aliments, dans l'environnement ou bien dans les matières fécales sont généralement présents en petit nombre et peuvent entrer en concurrence avec une flore saprophyte, abondante dans certaines matrices alimentaires. Etant donné les conditions de traitement et de conservation des aliments, les bactéries peuvent être stressées. Pour isoler les bactéries, l'analyse microbiologique classique des aliments nécessite donc plusieurs étapes successives ce qui entraîne un temps de réponse relativement important (Varnam et Evans, 1996 ; Waltman, 2000). La première phase consiste en une revivification grâce à la réalisation d'une suspension-mère de pré-enrichissement, dans laquelle l'échantillon est généralement dilué au dixième (ex : 25 g d'aliment dans 225 ml de diluant). Le diluant est généralement constitué par de l'eau peptonnée tamponnée. La deuxième

Tableau III : Modalités de la surveillance de *Salmonella* spp. suivant le règlement 2160/2003 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003a).

Espèce animale	Stade de la chaîne alimentaire	Spéculation	Date à laquelle l'objectif doit être fixé	Date à compter de laquelle le test doit avoir lieu
volailles	production primaire	cheptels reproducteurs	12.12.2004	12.06.2006
		poules pondeuses	12.12.2005	12.06.2007
		poulets de chair	12.12.2006	12.06.2008
dindes	production primaire		12.12.2007	12.06.2009
porcs	abattage	porcs à destination de l'engraissement	12.12.2007	12.06.2009
	production primaire	troupeaux reproducteurs	12.12.2008	12.06.2010

Tableau IV : Exigences minimales d'échantillonnage pour la surveillance de *Salmonella* spp. suivant le règlement 2160/2003 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003a).

Espèces animales - spéculation	Stade de la spéculation	Phases de production devant être concernées par l'échantillonnage
<i>Gallus gallus</i> – troupeaux reproducteurs	élevage	poussins d'un jour volailles de 4 sem 2 sem avant l'entrée en ponte
	stade reproduction	1 sem / 2 pendant la période de ponte
<i>Gallus gallus</i> – poules pondeuses	élevage	poussins d'un jour poulettes 2 sem avant l'entrée en ponte
	stade ponte	toutes les 15 sem en période de ponte
<i>Gallus gallus</i> – poulets de chair		avant abattage ¹
Dindes		avant abattage ¹
Porcs - élevage		animaux sortant pour abattage ou carcasses à l'abattoir
Porcs - engraissement		animaux sortant pour abattage ou carcasses à l'abattoir

¹ les résultats doivent être connus avant que les animaux ne partent à l'abattoir.

étape consiste en un enrichissement des salmonelles par l'entremise de milieux dits « sélectifs », dont les formulations ont été spécialement mises au point pour favoriser la multiplication de celles-ci au détriment de la flore compétitrice. Trois types de milieux d'enrichissement peuvent être utilisés : Muller-Kaufman tétrathionate (MKTT), sélénite-cystine (SC) et Rappaport-Vassiliadis (RV). Ce dernier milieu d'enrichissement est souvent le plus approprié pour *Salmonella*, étant donné son excellente sélectivité (Oboegbulem, 1993 ; Busse, 1995 ; Waltman, 2000), due à son haut pouvoir osmotique, à son pH bas, à sa faible teneur en éléments nutritifs et au fait que les salmonelles offrent une résistance importante au vert de malachite contenu dans ce

milieu (Bager et Petersen, 1991).

Les méthodes prévoient ensuite un isolement, qui consiste en un étalement sur boîtes de Pétri, contenant également des milieux sélectifs. Cela permet de visualiser les colonies caractéristiques, dont le nombre aura été considérablement augmenté durant les phases précédentes. Ces milieux doivent permettre au personnel de laboratoire une distinction facile entre salmonelles et non-salmonelles. Waltman (2000) rapporte qu'il existe plus d'une quinzaine de formules différentes de milieux mais indique, toutefois, que le « *Brilliant Green Novobiocine* » (BGN) et le « xylitol lysine tergitol-4 » (XLT4) sont les plus performants pour les viandes de volailles et les échantillons d'environnement provenant d'exploitations avi-

coles. Un autre point important à signaler est l'existence chez la volaille, dans certains cas, de souches de *S. Gallinarum* ne produisant pas de H₂S, ce qui peut compliquer la reconnaissance des colonies sur un milieu d'isolement. En effet, la distinction entre les colonies se base sur la propriété de production de sulfure d'hydrogène par les salmonelles qui apparaissent alors comme des colonies munies d'un centre noir.

L'étape de confirmation, qui suit l'isolement, consiste en la sélection d'une ou plusieurs colonies caractéristiques en vue de leur purification. Elle est chargée sur une pointe et ensemencée en profondeur et en surface du milieu « *Triple Sugar Iron* » (TSI), gélose inclinée composée de citrate de fer, de lactose, saccharose et glucose (une alternative peut consister en l'utilisation d'une gélose dite de Kligler-Hajna). L'identité des colonies doit être confirmée en fonction de caractéristiques biochimiques.

Méthodes microbiologiques de référence

La norme NF EN ISO 6579 est la méthode horizontale de référence pour la détection de *Salmonella* spp. dans une denrée alimentaire, mais également dans des échantillons d'environnement collectés dans les entreprises agro-alimentaires (Association Française de Normalisation, 2002). Dans sa nouvelle version (2002), le sélénite-cystine a été remplacé par le milieu Muller Kauffmann tétrathionate novobiocine (MKTTn), le Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) est utilisé à la place de la formule simple

de RV. Les laboratoires doivent expressément utiliser le milieu d'isolement «xylose-lysine-deoxycholate» (XLD) conjointement avec un autre milieu au choix (figure 2). Dans un contexte de globalisation des échanges commerciaux de denrées alimentaires, cette norme est la référence internationale pour la détection de *Salmonella* dans les aliments.

Nouvelles techniques de détection de *Salmonella* spp.

Étant donné la nécessité d'atteindre un seuil de détection bas, les bactériologistes ont, sans cesse, tenté d'améliorer les techniques de détection (Busse, 1995). La nature de l'aliment ou de la matrice à analyser peut également compliquer la détection en provoquant une inhibition des *Salmonella* présentes dans l'échantillon.

Une des premières voies d'amélioration a résidé dans l'utilisation de milieux semi-solides, exploitant la propriété de mobilité de la plupart des salmonelles. De Smedt et collaborateurs (1986) ont montré une meilleure performance avec le milieu semi-solide appelé «modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis» (MSRV) par rapport à un enrichissement classique avec le milieu tétrathionate. Outre le fait de pouvoir disposer de résultats négatifs au bout de 48 h, le MSRV permet la détection d'un petit nombre de salmonelles présentes dans l'échantillon parmi une flore compétitrice importante (de l'ordre de 10 UFC²/25 g) (De Smedt et Bolderdijk, 1987). L'ISO («International Standard Organization») a proposé également un amendement à la norme ISO 6579 destiné à mettre au point des méthodes applicables aux échantillons prélevés dans les exploitations. Ce projet prévoit l'utilisation de MSRV comme milieu d'enrichissement pour *Salmonella* (International Standard Organization, 2004). Récemment, une nouvelle formule a été proposée, dérivée du MSRV ; il s'agit du Diasalm. Son efficacité a été plusieurs fois comparée par rapport au milieu classique RV, et la comparaison s'est révélée en faveur du Diasalm, en particulier dans les viandes de volaille (Landman *et al.*, 1996 ; De Zutter et Daube, 1998). L'utilisation de Diasalm est la

Figure 1 : Structure schématique de *Salmonella* Typhi (d'après Hu et Kopecko, 2002).

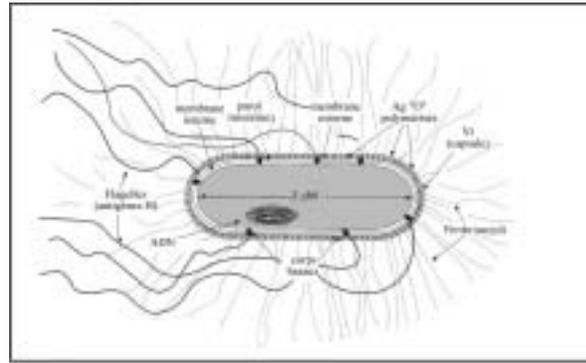
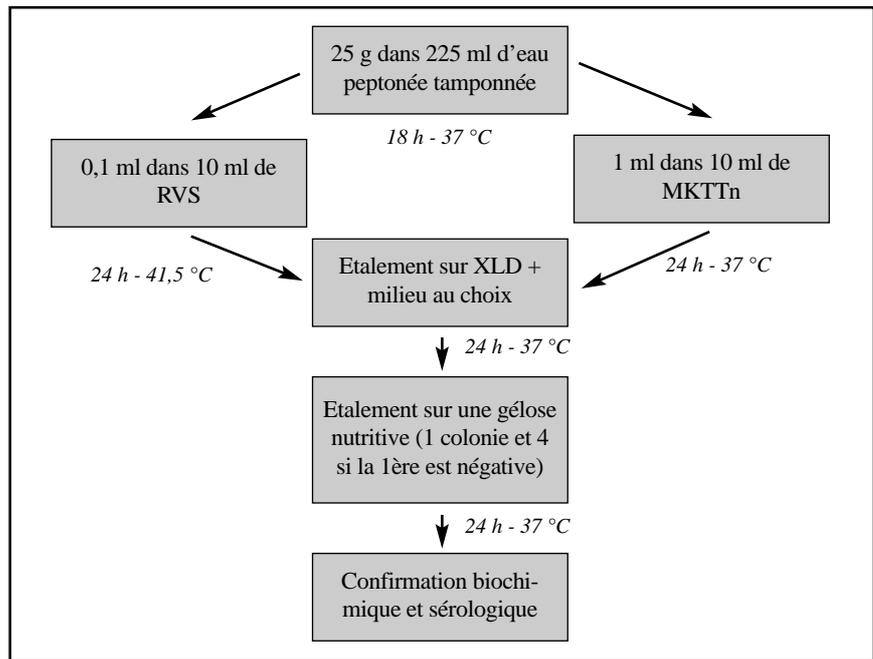


Figure 2 : Détection de *Salmonella* spp. dans les aliments selon la méthode normalisée ISO 6579 :2002 - Mode opératoire (Association Française de Normalisation, 2002).



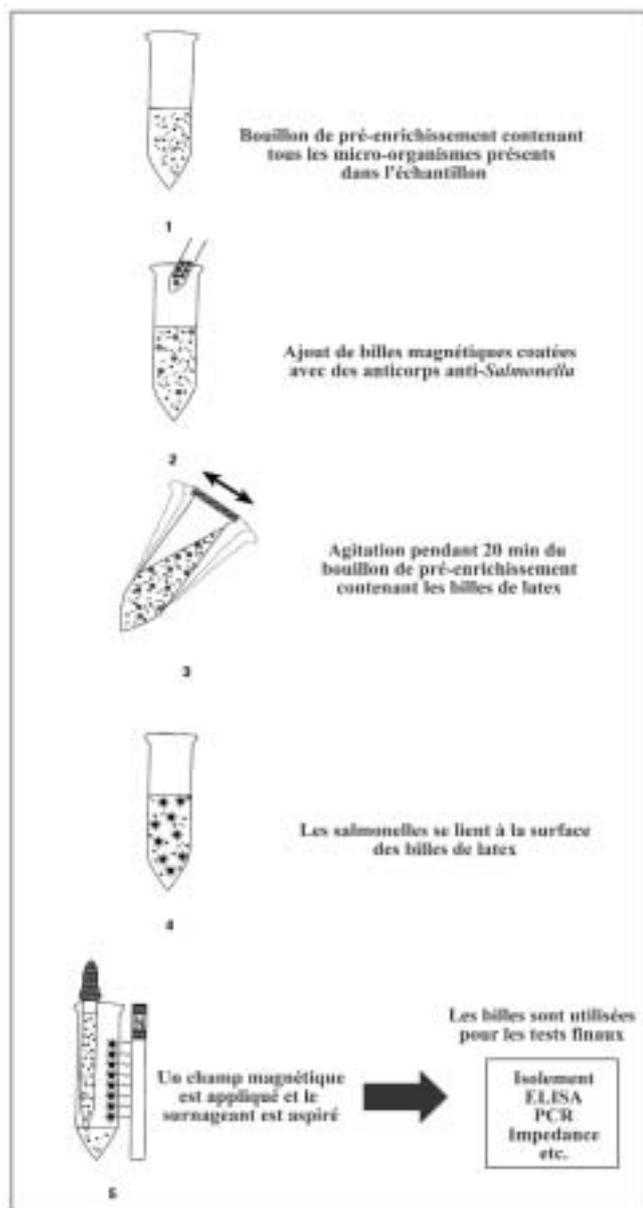
méthode officielle belge pour la recherche de *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires (méthode SP-VG-M002). Il permet de mettre en évidence un grand nombre de sérotypes chez le porc mais peut avoir comme inconvénient majeur de ne pas détecter *S. Gallinarum* chez la volaille, étant donné qu'elle est immobile.

Une autre approche est l'exploitation des techniques d'amplification génétique comme la «Polymerase Chain Reaction» (PCR), qui abaisse considérablement le seuil de détection des bactéries pathogènes dans un aliment. Les étapes sont les suivantes : préparation de l'échantillon pour l'extraction des acides nucléiques, amplification d'une séquence-cible et analyse des produits obtenus. La PCR peut être utilisée pour le simple diagnostic, pour caractériser les souches isolées

dans les entreprises agro-alimentaires ou dans les cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Plusieurs systèmes commerciaux de détection en kit ont vu le jour, les plus connus d'entre eux étant certainement BAX™, iq-Check™ et Probelia™, ce dernier ayant été validé par l'Association Française de Normalisation (Dilasser *et al.*, 1997 ; Bennett *et al.*, 1998). Outre le fait que pour toutes ces techniques de PCR, il est toujours nécessaire de pratiquer une courte période de pré-enrichissement, un des inconvénients majeurs du test Probelia™ réside dans l'existence d'inhibiteurs, souvent présents dans des matrices d'aliments pour porcs, comme les coques de cacao.

D'autres méthodes mettent en œuvre des procédés immunologiques. C'est le cas, par exemple, de Dynabeads

Figure 3 : test suivant le principe de « *ImmunoMagnetic Separation-IMS* » (adapté de van der Zee et Huis in't Veld, 2000)



anti-*Salmonella*® qui utilise des particules magnétiques sur lesquelles des anticorps spécifiques des salmonelles ont été fixés de manière covalente afin de capturer spécifiquement les *Salmonella* spp. (figure 3). Ceci permet de raccourcir les délais de réponse de l'analyse car l'étape d'enrichissement immuno-magnétique est procédée directement après le pré-enrichissement et ne dure que 15 à 20 minutes (Cudjoe et Krona, 1997). Il peut être fait mention du système automatisé VIDAS (firme bioMérieux), largement utilisé par les laboratoires de diagnostic de routine.

Méthodes de caractérisation des souches de *Salmonella* spp.

Bien que le sérotypage soit la méthode de référence pour classer les souches de salmonelles, les techniques de PCR peuvent servir à effectuer une caractérisation des souches isolées (Grimont *et al.*, 2000). Une technique largement utilisée est la RAPD («*Random Amplification of Polymorphic DNA*»), qui met en oeuvre un oligonucléotide d'une dizaine de bases comme amorce. Celui-ci va s'apparier au génome bactérien à différents endroits non spécifiques, en créant ainsi un polymorphisme important en taille et en nombre de fragments générés après

amplification (Lin *et al.*, 1996 ; Hilton *et al.*, 1997 ; Shangkuan et Lin, 1998). Cette technique permet d'effectuer des discriminations intra-sérotypes au sein d'une exploitation. Elle peut, par la même occasion, donner des indications quant à l'installation d'une souche bien précise dans un compartiment d'élevage ou d'engraissement, ce qui pourrait être le témoin d'une insuffisance dans les procédures de nettoyage et de désinfection entre plusieurs lots d'engraissement par exemple. Toutefois, elle ne remplacera jamais complètement la technique de sérotypage classique qui constitue la base même des enquêtes épidémiologiques.

Parmi les techniques génétiques de caractérisation, la PFGE («*Pulsed-field gel electrophoresis*» en anglais ; «*électrophorèse en champ pulsé*» en français) offre le plus de perspectives dans un contexte épidémiologique (Wegener et Baggesen, 1996 ; Olive et Bean, 1999 ; Baggesen *et al.*, 2000). Elle est également fort utile afin de caractériser les foyers de salmonelloses humaines (Bender *et al.*, 2001). Suivant le profil des bandes obtenues sur gel, il est possible d'établir le degré de parenté entre les différentes souches isolées. L'analyse des gels s'effectue souvent au moyen d'un programme informatique permettant d'établir un dendrogramme des souches isolées. Actuellement, un réseau d'experts s'est constitué (le réseau «*Pulse Net*») en vue de standardiser et d'harmoniser des protocoles optimaux pour cette technique de génétique moléculaire et de constituer une base de données électronique des différents profils obtenus par électrophorèse en champ pulsé.

Parmi les méthodes classiques de caractérisation, le lysotypage consiste à soumettre les souches à l'action de plusieurs bactériophages. En fonction du profil de lyse, il est possible d'attribuer un lysotype bien précis à la bactérie. Pour le sérotype Typhimurium, un ensemble de 37 phages est utilisé, ce qui permet de classer les souches parmi 210 lysotypes (Anderson *et al.*, 1977). Les souches présentant un profil de lyse atypique sont qualifiées de RDNC («*Routine Dilution No Conformity*»), celles résistantes à tous

les phages sont considérées comme non typables et sont indexées par la lettre U («*Untypable*»). Il existe également des types définitifs (DT : *Definitive Type*) et d'autres provisoires (PT : *Provisional Type*). Le lysotypage ne requiert pas un investissement très important, mais le personnel doit être bien entraîné. D'un point de vue épidémiologique, il est souvent très utile de connaître le lysotype des souches isolées, étant donné que certains revêtent des caractéristiques particulières au niveau de la pathogénicité ou de la résistance aux antibiotiques. Depuis le début des années nonante, en Europe et aux Etats-Unis, des *S. Typhimurium* de lysotype DT104 multirésistantes sont apparues. Ce lysotype est connu au Royaume-Uni depuis les années soixante mais la résistance aux antibiotiques ne s'y est propagée qu'à partir de l'année 1989, date à laquelle elle fut isolée pour la première fois chez l'homme. A partir de ce moment, les souches multirésistantes DT104 se sont installées dans la population bovine de ce pays. Vers le milieu des années nonante, elles ont été détectées dans une série de pays européens et en Amérique du Nord, lors d'épidémies liées à la consommation de fromages au lait cru (Baggesen *et al.*, 2000 ; Threlfall, 2000 ; Walker *et al.*, 2001). Ceci est très préoccupant sur le plan de la santé publique car elles sont souvent associées à une quadri ou pentarésistance aux antibiotiques (résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, au sulfonamide et à la tétracycline) (Threlfall, 2000). Une résistance additionnelle à la ciprofloxacine peut également être observée, ce qui est encore plus problématique, car cette molécule ou ses dérivés sont souvent utilisés dans le traitement de salmonelloses humaines. Cette émergence de polyrésistances suit généralement de quelques années l'usage en médecine vétérinaire, d'antibiotiques comme, par exemple, l'enrofloxacin. Il est toujours utile de rappeler que le praticien a un rôle considérable à jouer dans le cadre du contrôle de ces polyrésistances et devrait réserver ce type de traitement aux animaux de rente, uniquement en cas d'extrême néces-

Figure 4 : Prévalences observées en Belgique pour les carcasses, les découpes et les viandes hachées de porc dans le cadre de la surveillance de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale par *Salmonella* spp. (Daube *et al.*, 2001 ; Daube *et al.*, 2003)

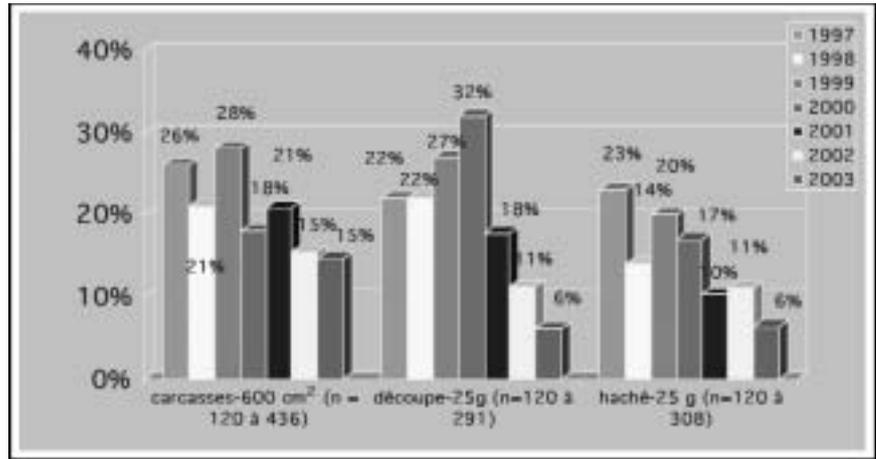


Figure 5 : Répartition des sérotypes isolés dans les carcasses, découpes et viandes hachées de porc en 2001 (n = 136) dans le cadre de la surveillance de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale par *Salmonella* spp. zoonotiques (Daube *et al.*, 2001).

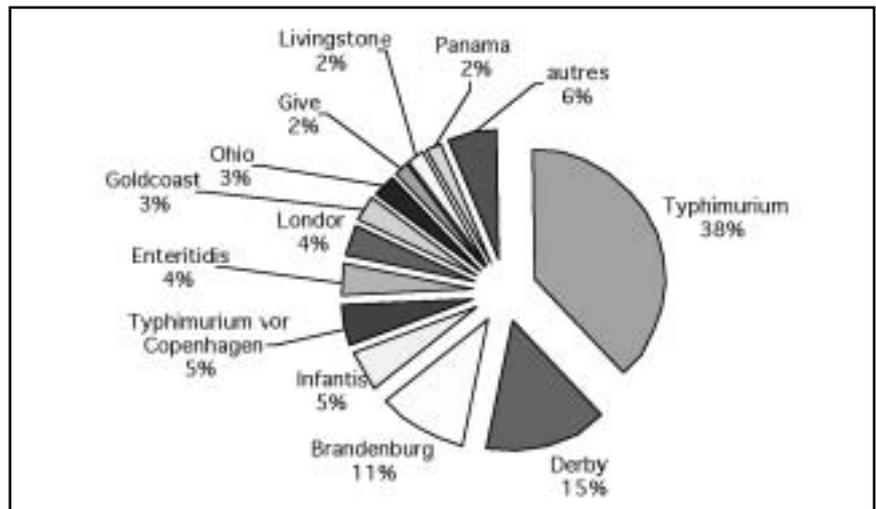
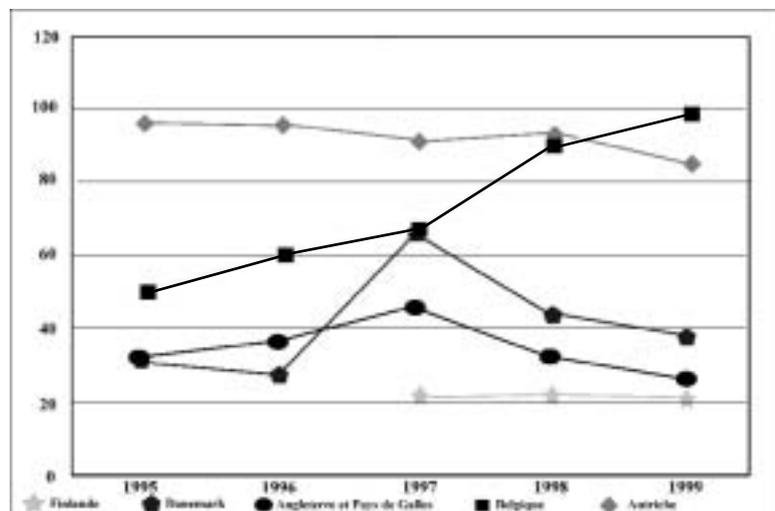


Figure 6 : évolution de l'incidence (nb/100.000 habitants) entre 1995 et 1999 de *S. Enteritidis* dans 5 pays de l'UE (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000)



sité. Une surveillance constante des résistances des souches isolées dans le secteur agro-alimentaire doit être systématiquement planifiée par les instances officielles. C'est d'ailleurs une volonté clairement stipulée dans la nouvelle directive « zoonoses » 2003/99/CE (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003b).

EPIDEMIOLOGIE

Habitat

Les salmonelles peuvent être isolées de l'intestin de nombreuses espèces animales. Il s'agit d'agents zoonotiques. Les animaux constituent un réservoir et la dissémination dans l'environnement provient essentiellement de contaminations fécales (Berends *et al.*, 1996 ; Murray, 2000 ; Hanes, 2003). Au plus les animaux sont concentrés dans une certaine zone, au plus il est difficile de contrôler les transmissions entre eux. Les salmonelles peuvent en outre survivre pendant de très longues périodes dans le milieu extérieur : de quelques jours à 9 mois dans les sols et en surface des matériaux de construction des bâtiments agricoles (bois, béton, acier, fer et brique), quelques mois dans les aliments secs non acidifiés, sur les tiges et les feuilles des végétaux ensilés et plus d'un an dans les poussières, le duvet et les matières fécales bovines (Gray et Fedorka-Cray, 2001). Ces bactéries peuvent se fixer sur de nombreux supports, comme, par exemple, les bottes, les brosses, les pelles, les roues de brouettes, les vêtements... Lors du nettoyage et de la désinfection des bâtiments d'élevage et d'engraissement, il faut considérer tout ce matériel inanimé, qui peut être la cause d'une ré-infection du lot suivant. Peuvent aussi être contaminés : les toiles d'araignée, l'eau, les sous-produits d'activités agro-alimentaires, les aliments pour animaux, les environs des fermes, les poissons et les oiseaux (Berends *et al.*, 1996). Les rongeurs et les insectes peuvent être aussi une source importante de *Salmonella* dans un élevage (Letellier *et al.*, 1999).

Réservoir animal

Les sérotypes peuvent être classés en fonction de l'espèce animale cible. Premièrement, certains sont exclusivement adaptés à l'homme, en causant une ou des pathologies graves bien particulières. Il s'agit essentiellement de *Salmonella* Typhi, Paratyphi et Sendai, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (Bäumler *et al.*, 1998 ; Hu et Kopecko, 2003). En deuxième lieu, toute une série de sérotypes peuvent intéresser des espèces animales. Parmi ceux-ci, citons : Choleraesuis, Typhisuis chez le porc, Abortusequi chez le cheval, Abortusovis chez le mouton, Gallinarum, spécifique de la volaille... Enfin, la plupart des sérotypes de salmonelles peuvent traverser la barrière d'espèce. Ils sont présents chez beaucoup d'espèces animales, généralement à l'état latent ou provoquant une maladie subclinique, et peuvent atteindre l'homme, soit par voie alimentaire, ce qui est la voie la plus commune, soit par contacts directs ou indirects. Toute salmonelle, à de rares exceptions près, est potentiellement dangereuse pour l'homme.

Aux Etats-Unis, *Salmonella* a été associée à des toxi-infections collectives à partir de reptiles, utilisés comme animaux de compagnie (Center for Disease Control, 1999 ; Mitchell et Shane, 2000). Ceci montre que les salmonelles sont capables d'adaptations multiples et qu'elles peuvent occasionner des problèmes variés et nouveaux chez l'homme à partir de sources diverses.

Les salmonelles et le porc

Agents des salmonelloses cliniques chez le porc

Salmonella Choleraesuis est un pathogène intra-cellulaire facultatif, capable de résister à la phagocytose et à d'autres mécanismes de défense mis en place par l'hôte. Chez le porc, ce sérotype provoque une pathologie dénommée la paratyphoïde. Suivant la dose ingérée, elle entraîne chez le porc soit une entérocolite pouvant s'accompagner de fièvre, de décoloration de la peau et de septicémie soit, si la dose est beaucoup plus faible, un état de portage sain, chronique, qui peut durer jusqu'à 28 semaines (Roof *et*

al., 1992 ; Gray *et al.*, 1996 ; Fedorka-Cray *et al.*, 2000). Les porcelets juste au moment du sevrage et les jeunes adultes sont les plus réceptifs (Bäumler *et al.*, 1998).

La transmission entre porcs s'opère par la voie féco-orale mais également par la voie intra-nasale, pouvant provoquer ainsi des pneumonies (Fedorka-Cray *et al.*, 2000). La survie est importante dans l'environnement et plus particulièrement dans les matières fécales. Ce sérotype est surtout localisé en Amérique du Nord où il est beaucoup plus isolé qu'en Europe.

Autres sérotypes chez le porc

D'autres sérotypes peuvent atteindre le porc mais vont provoquer des pathologies mineures comme des diarrhées passagères. Le porc va s'en remettre très facilement et rapidement, mais le problème réside dans l'émergence d'un état de portage sain. Cet état semble la règle avec les salmonelles pouvant traverser la barrière d'espèce (ex : Typhimurium, Derby, Infantis). Il est possible qu'aucun signe clinique ne soit visible. L'état de portage sain existe lorsque les salmonelles sont présentes chez l'animal, alors que peu, voire pas du tout, de salmonelles sont excrétées dans les matières fécales. Il peut aussi y avoir une excrétion intermittente et faible dans les matières fécales et les analyses microbiologiques peuvent se révéler négatives si elles sont pratiquées au mauvais moment ou à cause de leur manque de sensibilité. A la faveur d'activités stressantes pour les porcs, les salmonelles peuvent être réactivées et une ré-excrétion en grand nombre peut avoir lieu, ce qui peut suffire à contaminer rapidement des animaux indemnes. Dans ce contexte, les antibiotiques au lieu d'être une solution pour éviter l'installation de l'état de portage sain, vont plutôt favoriser ce dernier et même le prolonger. Chez l'homme également les antibiotiques à large spectre ont été incriminés comme facteurs de risque d'apparition de salmonelloses. Trois phases de l'infection sub-clinique ont été décrites : colonisation de l'intestin et adhésion à la paroi, invasion de la paroi, et, en dernier lieu, dissémina-

tion dans les ganglions mésentériques et les autres organes (Berends *et al.*, 1996).

Un autre endroit de prédilection est constitué par l'oropharynx et en particulier les amygdales, organes où les salmonelles peuvent directement entrer dans les canaux lymphatiques et, par ce biais, gagner le côlon et le rectum où elles peuvent être ré-excrétées dans le milieu extérieur (Berends *et al.*, 1996). Ce processus peut s'effectuer en moins de 2 heures. Ceci soutient l'hypothèse que les porcs pourraient être infectés pendant le transport ou au moment de l'attente avant abattage. Toutefois, si l'aire d'attente est correctement désinfectée, un repos est conseillé avant abattage.

Niveaux de contamination chez le porc

Pour 7 années consécutives, en Belgique, le niveau de contamination des carcasses de porcs a varié entre 15 et 28 % (Daube *et al.*, 2001 ; Daube *et al.*, 2003). Pour les découpes et les viandes hachées, une tendance à la baisse est observée depuis 2000 (figure 4). La répartition des sérotypes a, de même, été étudiée à partir de 136 souches isolées (figure 5). Presque 75 % des isollements identifiés correspondent aux sérotypes suivants : Typhimurium, Derby, Brandenburg, Infantis et Typhimurium var. Copenhagen. Cette situation semble plus ou moins comparable à ce qui était observé en 2000.

Au niveau des porcs vivants, sur un total de 482 souches, les sérotypes Typhimurium (28 %), Derby (14 %) et Brandenburg (8,3 %) étaient les plus fréquemment isolés (Veterinary and Agrochemical Centre, 2002).

Pour connaître l'état de la situation en exploitation et à l'abattoir, une étude a été menée en Flandre entre 1999 et 2001 (Departement voor kwaliteit van dierlijke Produkten en transformatietechnologie, 2002). Les résultats montrent que, dans une ferme sur les quatre suivies, les échantillons d'écouvillons rectaux se sont révélés positifs (6 % des échantillons étaient positifs). De plus, les échantillons d'environnement étaient positifs dans trois de ces exploitations, avec un

Figure 7 : évolution de l'incidence (nb/100.000 habitants) entre 1995 et 1999 de *S. Typhimurium* dans 5 pays de l'UE (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000)

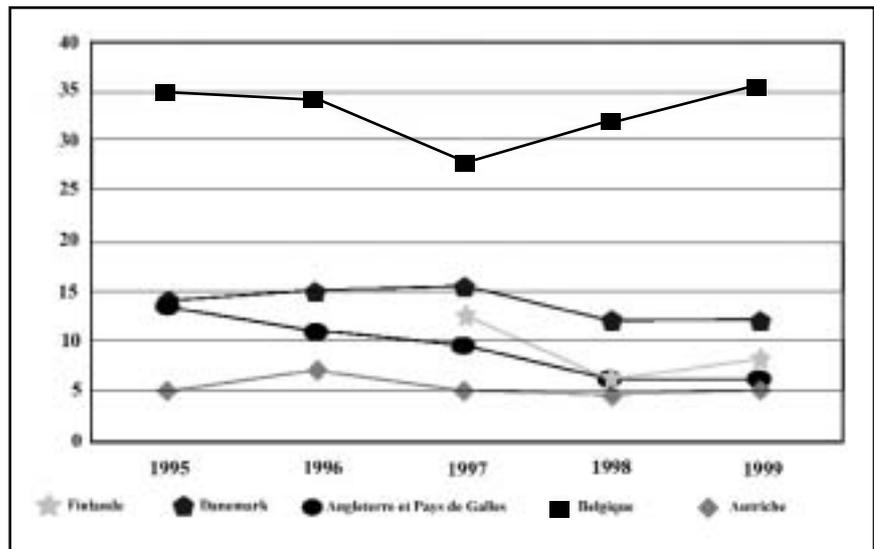


Figure 8 : proportions d'aliments responsables de foyers (n = 272) de salmonelloses aux USA entre 1988 et 1992 (Bean *et al.*, 1997)

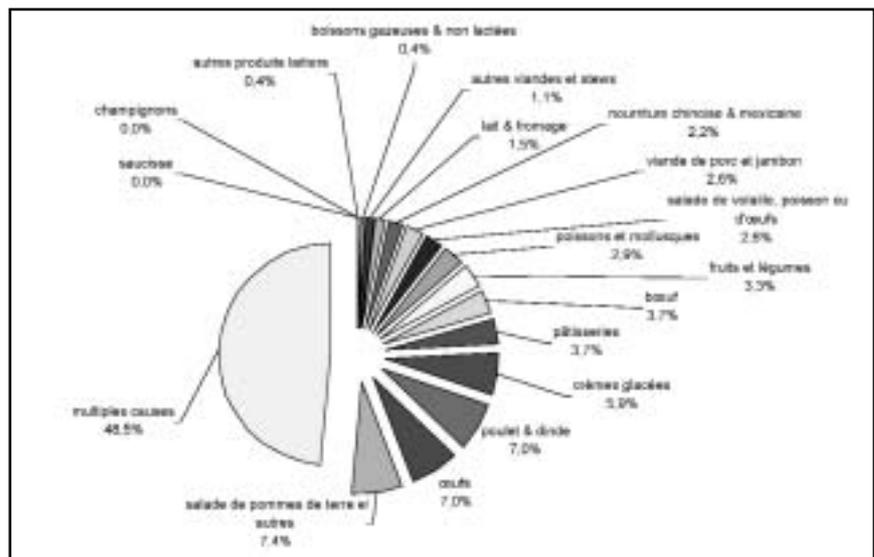
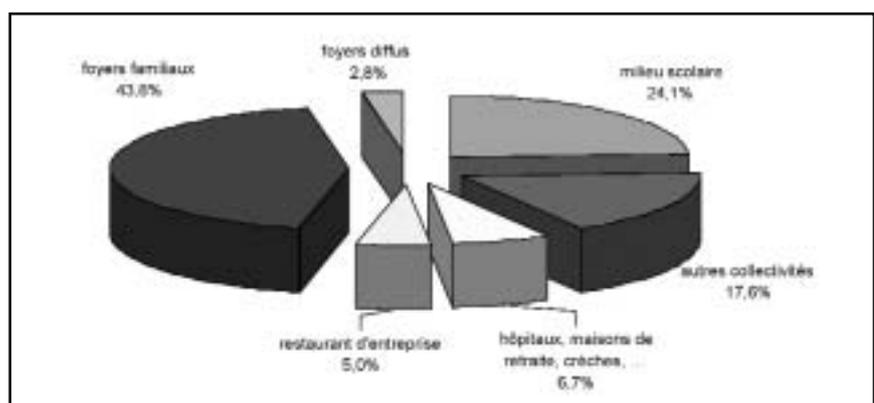


Figure 9 : Répartition des lieux de contamination des cas confirmés et suspectés (n = 1.836) de salmonelloses en France en 2001 (Haeghebaert *et al.*, 2002b)



niveau moyen de prévalence de 26 %. Pour les abattoirs suivis, le niveau moyen de contamination des carcasses était de 37 %, mais avec des variations individuelles considérables entre abattoirs. Pour le contenu du gros intestin et les ganglions mésentériques, les prévalences moyennes étaient de 19 et 21 %, respectivement. Dix-neuf sérotypes différents ont pu être isolés sur les carcasses, la majorité (71 %) étant constituée par Typhimurium, qui était également prédominant dans les échantillons provenant du gros intestin. Dans les ganglions mésentériques de l'intestin, Livingstone était principalement isolé (34,7 %) devant le sérotype Typhimurium (25 %). Une des conclusions majeures de cette étude a été que la méthode des surchaussures en abattoir a permis d'isoler beaucoup de sérotypes et de voir les défaillances des procédés usuels de nettoyage et de désinfection. Les résistances de certaines souches isolées, dans 2 abattoirs, envers 6 antibiotiques (ampicilline, tétracycline, streptomycine, sulfadiazine, chloramphénicol et acide nalidixique) ont également été étudiées dans le cadre de ce travail. Sur 229 souches testées, 114 étaient entièrement sensibles à tous les antibiotiques et 35 souches appartenaient au phénotype Typhimurium DT104 et arboraient une pentarésistance (résistance à l'ampicilline, au chloramphénicol, à la streptomycine, au sulfonamide et à la tétracycline).

Une autre étude réalisée dans quatre abattoirs a montré que le niveau de prévalence moyen obtenu à partir de 245 demi-carcasses (zone échantillonnée de 1200 cm² par porc) était de 27 % (Korsak *et al.*, 1998). Les niveaux étaient variables d'un abattoir à un autre (de 19 à 33 %) ; ceci illustre la répercussion des techniques d'abattage sur l'incidence de la contamination en fin de chaîne.

Dans le cadre d'un projet de suivi de la contamination par *Salmonella* spp. dans une filière de production intégrée en Région wallonne, un plan de prélèvement complet avait été mis en place, depuis les aliments pour animaux jusqu'aux carcasses (Boudry *et al.*, 2002 ; Korsak *et al.*, 2002 ; Korsak *et al.*, 2003). En résumé, les résultats de cette étude ont été les suivants :

- plus de 10 % des aliments pour porcs étaient contaminés par *Salmonella* spp. ;
- le niveau de contamination des truies gestantes était élevé ;
- en exploitations, parmi les différents types de prélèvement étudiés, les surchaussures permettaient la détection d'un plus grand nombre d'échantillons par rapport aux matières fécales ;
- bien que les prévalences soient élevées aux étapes précédant l'abattage, les taux de contamination des carcasses se sont révélés inférieurs à la moyenne nationale belge, ce qui montre que la technologie d'abattage constitue une étape-clé dans la prévention de cette problématique ;
- la distribution des sérotypes ainsi que les profils d'antibiorésistance étaient variables d'un stade à un autre, dans l'abattoir suivi, le rôle du système d'épilation à froid a été identifié comme étant un facteur de risque.

Facteurs de contamination

Le manque d'hygiène à la ferme, l'usage d'antibiotiques à large spectre et un statut positif des animaux avant abattage sont, par ordre décroissant d'importance, les facteurs prépondérants de contamination des porcs au stade de l'abattage envers *Salmonella* spp. (Berends *et al.*, 1996). Le stress du transport, la contamination des aliments et le manque d'hygiène pendant le transport constituent, quant à eux, des facteurs de risque moins importants que les précédents. L'hygiène à la ferme est très importante dans le but de briser les cycles de contamination de lots successifs d'animaux par les salmonelles résidentes de l'exploitation et pour circonscrire une contamination au niveau d'une loge ou d'un compartiment bien précis. Ce qui peut paraître paradoxal est que les aliments semblent jouer un rôle moindre. Une explication peut être trouvée dans le fait qu'ils sont généralement contaminés par des salmonelles qualifiées d'exotiques (c'est-à-dire non habituellement isolées dans nos pays occidentaux). Fort heureusement, les salmo-

nelles présentes dans les aliments sont peu invasives. Elles ne s'installent pas pendant une longue durée chez l'hôte et ont peu tendance à provoquer un état de portage sain prolongé (Lo Fo Wong et Hald, 2000). Les aliments peuvent être contaminés sur le site de l'exploitation lui-même. A ce moment, il est évident que d'autres sérotypes, notamment beaucoup plus invasifs, peuvent s'y retrouver. Les rongeurs jouent un rôle non négligeable. Il faut donc veiller particulièrement à lutter contre eux et contre les insectes et prévoir des procédures de vidange, de nettoyage et de désinfection des silos et du dispositif complet d'alimentation entre chaque lot d'engraissement. Dans une exploitation, où des épisodes cliniques de salmonellose avaient été notés, sur sept mouches capturées et analysées, six étaient positives pour *Salmonella*. Il en allait de même (une analyse sur quatre) pour les rongeurs (analyse du contenu intestinal ou écouvillonnage des pièges à rongeurs) (Letellier *et al.*, 1999).

Beaucoup d'études sont menées dans les pays scandinaves en vue d'estimer l'effet de la présentation des aliments sur la contamination en salmonelles des porcs. Une présentation sous forme de farine par rapport à la présentation sous forme de pellets pourrait être un facteur protecteur (Hansen *et al.*, 2001 ; Jorgensen *et al.*, 2001). La structure du contenu cecal et les acides gras volatiles produits sont influencés par le mode de présentation de l'aliment. Toutefois, le gain au niveau de la prévalence en salmonelles se ferait au détriment de l'indice de conversion alimentaire, qui est supérieur dans le cas d'une alimentation en pellets par rapport à une distribution sous forme de farine (Jorgensen *et al.*, 1999). Tous ces résultats devront être scrupuleusement validés avant que des nouvelles formules d'aliments puissent être utilisées. D'autres voies à investiguer peuvent être l'adjonction d'acides organiques (ex : ajout d'acide lactique, acétique, formique) aux mélanges d'aliments pour porcs, la modification du taux de broyage des céréales, l'incorporation dans la ration d'orge grossièrement aplatie...

(Jorgensen *et al.*, 2001).

D'autres facteurs prédisposants sont : la taille du troupeau, l'achat d'aliments à l'extérieur de la ferme, l'usage d'aliments secs par rapport à une alimentation liquide susceptible de subir des fermentations, l'achat d'animaux infectés ou porteurs sains, la saison, un mauvais management des effluents d'élevage, des diarrhées observées chez les porcs, une succession de lots sans nettoyage et désinfection, un ré-allotement des porcs après sevrage et une surpopulation dans les loges d'engraissement (Dahl et Wingstrand, 1997). Dans une étude de Davies et collaborateurs (1997), la prévalence des salmonelles chez les porcs engraisés sur caillebotis intégral était systématiquement inférieure par rapport aux prévalences chez les porcs élevés sur d'autres types de sols, comme le caillebotis partiel et le béton intégral jouxtant des gouttières d'évacuation du lisier. De même, la prévalence était également beaucoup plus élevée sur des lots d'animaux disposant d'un parcours extérieur constitué de boue.

Les salmonelles et l'homme

Agents des salmonelloses spécifiques à l'être humain (*Salmonella Typhi*, *Paratyphi* et *Sendai*, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes)

Dans le monde, les mortalités humaines engendrées par la fièvre typhoïde sont évaluées à 600.000 par an (Hu et Kopecko, 2003). Les cas, estimés entre 17 et 20 millions par an, sont essentiellement répertoriés dans les pays du Tiers-Monde. Dans les pays développés, les cas sont généralement importés, via les voyageurs, les immigrants ou la nourriture. Cinq pourcents des patients infectés par *S. Typhi* deviennent des porteurs chroniques, asymptomatiques (Mermin *et al.*, 1999). Ceci pose d'énormes problèmes s'ils sont employés dans des entreprises agro-alimentaires. L'amélioration des systèmes d'égouttage, la chloration de l'eau de distribution, et les meilleurs dépistages et traitements des patients excréant le pathogène dans leur matières fécales ont permis, aux Etats-Unis, de faire chuter l'incidence des cas de fièvres typhoïdes d'un facteur 10 en l'espace de 50 ans.

Figure 10 : Evolution du pourcentage de viandes de porcs (écouvillonnage de carcasses) contaminées par *Salmonella* (> 30.000 échantillons / an) au Danemark (Wegener *et al.*, 2003).

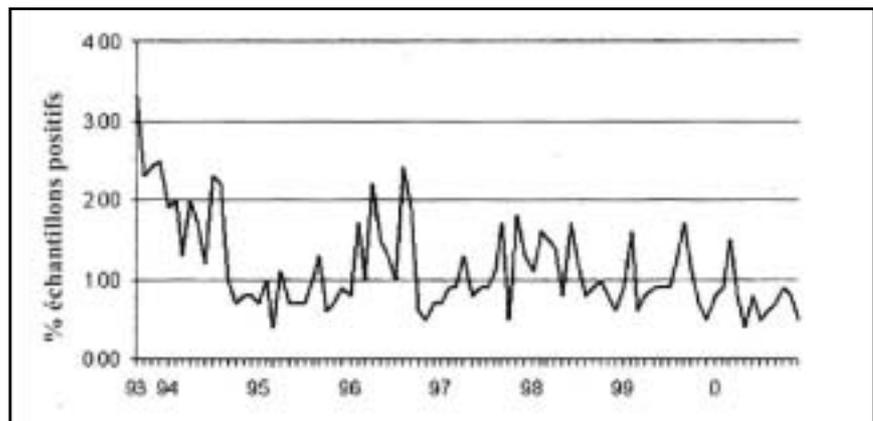
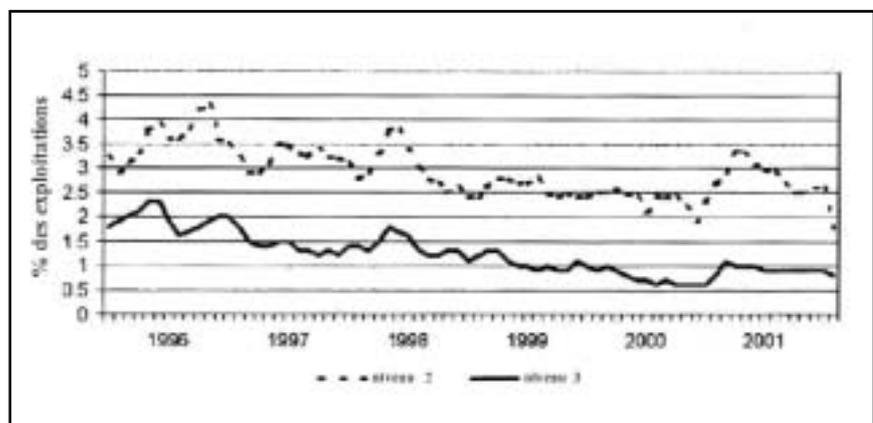


Figure 11 : Prévalences des exploitations porcines classées en niveau 2 et 3 au Danemark depuis 1995 jusqu'à 2001 (Wegener *et al.*, 2003)



Le taux de mortalité est inférieur à 1 %, si les cas sont pris en charge de façon précoce et si l'antibiothérapie est initiée à temps et soutenue. Par contre, dans le cas contraire, le taux de mortalité peut avoisiner 15 %. Toutefois, l'antibiothérapie peut être compliquée par l'émergence de souches résistantes (Mermin *et al.*, 1999).

Après une période d'incubation très longue, comprise entre 7 et 21 jours (parfois jusqu'à 6 semaines), la maladie peut revêtir diverses formes (Hu et Kopecko, 2003). L'infection peut être asymptomatique ou provoquer des symptômes très légers dans le cas de *S. Paratyphi* ou, au contraire, engendrer la fièvre typhoïde, affection très sévère, accompagnée de fièvre et de septicémie. Elle touche surtout les

enfants en bas âge et les jeunes adultes (Bäumler *et al.*, 1998).

Salmonelloses non spécifiques

Agents responsables

Salmonella Enteritidis et Typhimurium sont les plus incriminées dans les salmonelloses humaines (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2003). Les figures 6 et 7 présentent l'évolution, de 1995 à 1999, du nombre de cas par 100.000 habitants de salmonelloses humaines provoquées par *S. Enteritidis* et Typhimurium. Ces données pour cinq pays de l'UE (Autriche, Belgique, Danemark, Angleterre et Pays de Galles et Finlande) ont pu être obtenues grâce au réseau de surveillance Enter-net. Ce même réseau, qui com-

prend, à l'heure actuelle, 35 pays participants, a observé, entre 1998 et 2003, une diminution de 36,2 % du nombre d'isolements renseignés de *S. Enteritidis* (de 154.928 à 98.915 cas confirmés) et de 26,6 % pour le sérotype Typhimurium (de 25.790 à 18.937 cas confirmés) (Fisher, 2004).

En Belgique, pour 1999, les taux d'incidence estimés par ce programme étaient de 98,5 et de 35,5, pour Enteritidis et Typhimurium, respectivement. Pour *S. Enteritidis*, en Belgique, on observe un doublement du nombre de cas en l'espace de 5 années (50 en 1995, contre 98,5 cas / 100.000 habitants en 1999), alors que, dans les autres pays, une tendance à la baisse ou à la stabilité est observée (Wybo *et al.*, 2004). On remarque de plus en plus une diminution des cas de salmonelloses associées à la consommation d'œufs ou de volailles, auxquels le sérotype Enteritidis est particulièrement associé, alors que Typhimurium est plutôt isolé dans les autres espèces animales comme le porc, par exemple. Cette diminution, surtout visible au Royaume-Uni, a fait suite à la mise en place de systèmes nationaux de surveillance associés à des programmes stricts de vaccination. Ceci a permis de contrôler le nombre de cas humains dus à *S. Enteritidis* (Brown *et al.*, 2003).

Les signes cliniques peuvent varier considérablement en fonction de l'état de réceptivité de l'hôte : de l'infection asymptomatique à une entérite grave pouvant mimer la fièvre typhoïde (Varnam et Evans, 1996). Lors d'une épidémie associée à la consommation d'œufs contaminés par *Salmonella* Enteritidis, Humphrey (2000) rapporte les signes cliniques suivants (pourcentages associés) : diarrhée (87 %), douleurs abdominales (84 %), état fébrile (75 %), nausées (65 %), douleurs musculaires (64 %), vomissements (24 %), maux de tête (21 %) et sang dans les selles (6 %).

Des études de contaminations sur des volontaires humains ont permis de déterminer que 10^5 à 10^7 UFC doivent être ingérées pour initier la maladie. La période d'incubation est comprise entre 12 et 36 heures, en moyenne, mais des périodes aussi longues que

8 à 12 jours ont déjà été signalées dans des épidémies. Certains sérovars sont réputés plus invasifs que d'autres et peuvent donc engendrer des bactériémies, voire des septicémies, et des lésions extra-intestinales (appendicite, arthrite, cholécystite, endocardite, abcès locaux, méningite, ostéomyélite, ostéoarthrite, péricardite, péritonite, pleurésie, pneumonie et infection du tractus urinaire).

Généralement, en dehors des très jeunes enfants, des personnes âgées ou de patients au statut immunitaire déprimé (ex : chimiothérapie, SIDA, ...), la guérison peut être rapide, à condition que les pertes liquidiennes occasionnées par la diarrhée aient pu être contrôlées. Toutefois, dans 5 % des cas, il peut y avoir des phénomènes chroniques comme l'arthrite réactive, complication connue sous le vocable « syndrome de Reiter » (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2001). Comme dans le cas de *S. Typhi*, un portage chronique asymptomatique est également décrit.

Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) provoquées par *Salmonella* spp.

Salmonella est une des premières causes de toxi-infections d'origine alimentaire collectives (TIAC). Bien que certains cas puissent provenir directement des animaux domestiques, des reptiles ou de l'eau contaminée, le pourcentage de transmission par l'aliment est estimé à 95 %.

Dans les aliments, le pourcentage de cas de TIAC imputables aux bactéries a été estimé à 30,2 %, 67,2 % des cas étant causés par les virus et, seulement 2,6 % par des parasites, dont le principal est *Toxoplasma gondii* (Mead *et al.*, 1999). Il apparaît donc de plus en plus, que la majorité des gastro-entérites causées par des micro-organismes présents dans notre alimentation, le sont en réalité par des virus, et, en particulier par des Norovirus, que l'on commence seulement à rechercher de façon routinière dans les laboratoires de microbiologie alimentaire.

En France, en 2001, *Salmonella* a été responsable de 57,7 % des 2.993 cas confirmés de TIAC, répartis au sein de

272 foyers. La répartition des sérotypes était habituelle avec une majorité de cas imputables à *S. Enteritidis* (57,5 %) (Haeghebaert *et al.*, 2002).

Au niveau des causes des TIAC, la situation diffère quelque peu en Belgique, puisque Daube et van Look (1997) ont établi, à partir d'une étude portant sur l'analyse de 601 cas et de 62 foyers, que *Salmonella* était responsable de 83,7% des cas et de 87% des foyers dont la source était connue. *Salmonella* Enteritidis a été à l'origine de plus de 377 cas, alors que les autres sérotypes ont provoqué 136 cas. Toutefois, ces chiffres sont à prendre avec énormément de prudence étant donné que l'incidence est fortement sous-estimée, que le nombre de gastro-entérites virales est inféré sur base d'un diagnostic par exclusion et qu'il n'y a aucune référence à la présence de *Campylobacter*. Cette dernière remarque est également vraie pour la France où la déclaration obligatoire ne mentionnait aucun cas d'atteintes à *Campylobacter* et aux *E. coli* producteurs de vérocytotoxines. Ce biais risque bien évidemment de surestimer les proportions des cas dus à *Salmonella* par rapport aux autres agents. Il est estimé que chaque individu est atteint au moins une fois par an de troubles digestifs et que dans un tiers des cas, l'aliment est directement incriminé (Daube et van Look, 1997).

Aliments associés

Le tableau I présente les aliments associés avec les foyers de salmonelloses humaines (n = 790), d'après une étude américaine de Bean et Griffin (1990), portant sur la période de 1973 à 1987. Outre le fait que la majorité des aliments soit non identifiée, ce qui est pratiquement la règle dans la plupart des rapports sur les foyers de TIAC, les denrées alimentaires d'origine animale, comme la viande de bœuf, les produits laitiers, la dinde et la volaille, ont été bien plus souvent que les autres responsables de salmonelloses humaines. Sur 272 foyers de salmonelloses imputables à une source connue, 48,5 % étaient en fait dus à une combinaison d'aliments, c'est-à-dire une source non unique (figure 8) (Bean *et al.*, 1997). Ensuite,

les aliments les plus souvent incriminés étaient, par ordre décroissant d'importance, les plats préparés en général (ex : salades de pomme de terre), les œufs, les viandes de poulet et de dinde, les crèmes glacées, les pâtisseries et la viande de bœuf. Le reste des aliments occupe une place nettement plus marginale avec des pourcentages inférieurs à 3 %.

Facteurs de risque des contaminations humaines

Dans 30 % des foyers de salmonelloses apparus aux USA durant les années 1991 et 1992, une température de stockage inappropriée a été considérée comme un des facteurs contributifs essentiels. Ensuite, une cuisson inadéquate et l'hygiène personnelle déficiente devaient être mises en cause dans, respectivement, 27 et 20% de ces foyers (Bean *et al.*, 1997). En France, sur un total de 1.836 cas confirmés et suspectés en 2001, la majorité (soit 63,2 %) ont été acquis dans des collectivités (figure 9). Dans ce cas, c'est surtout le milieu scolaire qui est le plus concerné, étant donné qu'il a été responsable de 24 % des cas de salmonelloses. Les cas contractés dans un cadre familial sont également fort importants avec un pourcentage de 43,8 % (Haeghebaert *et al.*, 2002).

Importance économique et sociétale

L'importance économique de ces pathologies est considérable. Aux USA, des économistes ont estimé les coûts annuels des salmonelloses à une valeur comprise entre 400 millions et 3,5 milliards US\$, pour l'entièreté de l'économie américaine. Ils ont tenu compte des coûts médicaux et des pertes de productivité (Frenzen *et al.*, 1999 ; Sarwari *et al.*, 2001). En Europe, en considérant que 95 % des salmonelloses ont une origine alimentaire, les coûts annuels varient entre 560 millions et 2,8 milliards d'euros. Un cas unique de salmonellose est estimé, quant à lui, à une valeur comprise entre 24 euros et 3,8 millions euros. Cette dernière estimation se réfère au cas où le patient décède des suites de l'infection (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2001). En définitive, les salmonelloses transmises par les aliments et causées par des sérovars

non adaptés à l'homme, sont plutôt responsables d'une importante morbidité, mais, par contre, d'une faible mortalité. Elles ont toutefois des répercussions économiques non négligeables et méritent, à ce titre, que l'on s'y intéresse de près.

SYSTEMES DE SURVEILLANCE DES SALMONELLES

En Europe, entre 1993 et 2003, la surveillance des agents zoonotiques reposait essentiellement sur la Directive 92/117/CEE (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 1993). Les zoonoses concernées par cette directive sont reprises dans le tableau II (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000). Des rapports nationaux sur l'état sanitaire de chaque pays devaient être envoyés au Laboratoire Communautaire de Référence sur l'épidémiologie des zoonoses (LCR), qui publiait, chaque année, depuis 1994, un rapport général sur la situation dans les différents états membres (EM) et la Norvège. En pratique, toutefois, différents problèmes sont apparus. Concernant la lutte contre les salmonelles, il s'est avéré que la Commission s'est pratiquement intéressée uniquement à la surveillance et au contrôle de *S. Enteritidis* et *Typhimurium* dans les troupeaux de volailles de reproduction. En 2000, seulement six pays avaient établi des plans nationaux de contrôle, approuvés et subsidiés par la Commission. Bien que les cas humains étaient en diminution, on s'est vite aperçu qu'il fallait développer une autre approche, beaucoup plus intégrée, pour contrôler durablement ces zoonoses en Europe. Des mesures de contrôles doivent être mises en place à toutes les étapes de la chaîne alimentaire : les aliments pour animaux, les exploitations d'élevage et d'engraissement, le secteur de la transformation des denrées alimentaires d'origine animale et le stade de la consommation, en ne négligeant pas les sous-produits animaux. D'après les experts de la Commission, à la suite de la publication du Livre Blanc sur la sécurité alimentaire, la nouvelle stratégie de contrôle des zoonoses doit pouvoir rencontrer les

objectifs suivants (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2001) : créer un système de surveillance des zoonoses fondé sur des règles harmonisées, produire des denrées saines à partir d'animaux sains, octroyer des garanties pour l'amélioration de la protection des consommateurs grâce à la mise en oeuvre de programmes de réduction des agents pathogènes et contrôler la diffusion des agents zoonotiques dans le cadre des échanges d'animaux.

Fort de ces constats de carences et des nouveaux objectifs fixés, une nouvelle directive (2003/99/CE), qui abroge la directive 92/117/CEE, a vu le jour en 2003 (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003b). Elle régit la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, dont une liste claire dans laquelle figure *Salmonella*, a été définie dans son annexe. Elle impose également aux EM de surveiller les résistances bactériennes envers les antibiotiques et de mener à bien des enquêtes épidémiologiques lors de la survenue de foyers de TIAC. Enfin, elle veut favoriser les échanges d'informations en rapport avec les zoonoses (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 1998). Des laboratoires communautaires et nationaux de référence doivent être mis en place suite à l'adoption de cette directive.

Dans la foulée de cette directive, un règlement (2160/2003) a également été récemment promulgué (Parlement européen et Conseil de l'Union européenne, 2003a). Il est dévolu spécifiquement à la problématique des salmonelles. Il prévoit la fixation d'objectifs communautaires en matière de prévalences (tableaux III et IV).

Ces deux textes législatifs constituent donc la pierre angulaire de la lutte contre les zoonoses en Europe. A côté de la Belgique, qui a déjà un plan de surveillance des salmonelloses humaines depuis 1962 (Van Oye *et al.*, 1977), d'autres pays ont mis en place des systèmes de surveillance axés prioritairement sur la problématique des salmonelles dans le secteur animal. C'est le cas du Danemark, où une épidémie massive est survenue en

1993. Son origine était la viande de porc. Le plan danois s'intéresse à la production primaire dans différentes filières de production animale à des stades bien définis. Les spéculations les plus visées sont les volailles, les poules pondeuses et le porc, responsables, au Danemark, de 50 à 75 % du total des cas humains. La filière des poules pondeuses est suivie depuis les grands parentaux, en passant par les parentaux, le couvoir, les jeunes poulettes en phase de croissance et la production d'œufs. Cette surveillance repose à la fois sur des analyses bactériologiques de type classique, qui peuvent être pratiquées sur des échantillons animaux (matières fécales, animaux morts) ou d'environnement, mais également sur des analyses de type sérologique. Pour le porc, le système de surveillance repose en grande partie sur l'échantillonnage, à l'abattoir, de porcs de boucherie, chaque troupeau devant faire l'objet d'une surveillance sérologique au moins une fois par mois.

Tous les trois mois, en se basant sur les résultats mensuels du troupeau, on calcule un indice, qui est une moyenne pondérée des trois résultats mensuels. Si la valeur de l'indice dépasse un certain seuil, le troupeau est classé en niveau 2, ce qui entraîne une surveillance supplémentaire. L'exploitant du troupeau concerné doit mettre en place, avec l'aide d'un vétérinaire, un plan d'action visant à identifier les causes des contaminations dans son exploitation et à en réduire le niveau. A ce moment, des prélèvements de matières fécales sont effectués dans les loges-mêmes des animaux, ce qui montre que la bactériologie classique doit toujours rester la référence dans le cadre de lutte contre les salmonelles et fournit des éléments très utiles dans un contexte épidémiologique. Si l'indice est beaucoup plus élevé que dans le premier cas, le troupeau peut être classé en niveau 3, niveau considéré comme le plus à risque en termes d'excrétion ou de portage des salmonelles par les animaux à l'abattoir. Ces porcs doivent être abattus suivant des conditions d'hygiène particulière, leurs carcasses font l'objet d'analyses microbiologiques complémentaires et la possibilité existe de soumettre

celles-ci à un traitement thermique prolongé afin de les assainir en surface. Une pénalité est également prévue pour chaque porc abattu, ce qui est un incitant important pour l'exploitant.

Le pourcentage d'échantillons positifs en salmonelles évolue favorablement d'année en année comme l'indique la figure 10. Il en va de même pour les pourcentages de troupeaux classés en niveau 2 et 3 (figure 11).

Ce plan général de surveillance indique qu'il est possible de baser la surveillance sur des analyses sérologiques, mais qu'il est nécessaire de les valider par le biais de techniques microbiologiques classiques. D'autres pays ont également mis en place un tel système de surveillance, basé essentiellement sur la surveillance sérologique des troupeaux porcins. Citons, entre autres, les Pays-Bas, le Royaume-Uni, l'Allemagne et la Belgique, qui débutera sa phase de surveillance en janvier 2005 (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire, 2004 ; Rajic *et al.*, 2005). La force du système danois réside également en un partenariat important entre les autorités officielles et le groupement des producteurs, qui comprend environ 95 % du volume total de la production danoise.

D'après Wegener et collaborateurs (2003), ce plan n'offre que des avantages, entre autres, financiers, étant donné qu'il permet de réaliser des économies substantielles via la diminution de l'incidence des salmonelloses humaines. Toutefois, certains scientifiques prétendent qu'il serait très difficile de se débarrasser des salmonelles en filière de production porcine si aucune étape assainissante n'est spécifiquement mise en place au sein des abattoirs. Ces procédés peuvent être multiples : traitement aux acides organiques, radiations ionisantes, traitement aux hautes pressions... (Alban, 2004).

PROPHYLAXIE

Au stade de la production porcine

« Exclusion » – « non-exclusion »

Au stade des exploitations, la prévention peut revêtir deux formes. Il peut s'agir soit d'une « exclusion », qui consiste à prévenir l'introduction de salmonelles dans les exploitations, soit d'une « non-exclusion » qui vise à circonscrire la contamination.

Le principe d'exclusion est clairement appliqué dans des pays comme la Suède et, dans une moindre mesure, au Danemark, qui parviennent à garder des exploitations avicoles et porcines totalement indemnes de *Salmonella* grâce à des mesures d'hygiène draconiennes. Le principe d'exclusion comprend la prévention de la contamination via les aliments des animaux et la surveillance des troupeaux parentaux et grand-parentaux, telle qu'elle est pratiquée en volailles. Ceci a démontré son efficacité dans le cadre de la lutte contre *Salmonella* Enteritidis dans la filière de production d'œufs de consommation.

Le principe de non-exclusion vise à accepter l'introduction du micro-organisme, en essayant de limiter sa diffusion au sein de l'exploitation (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 2000). Cette deuxième possibilité apparaît nettement plus réaliste et applicable sur le terrain. Il est possible de prévenir l'infection des porcs adultes en retirant d'un environnement contaminé par *S. Typhimurium* les porcelets âgés de 10 semaines pour les disposer dans des structures nettoyées et désinfectées avec soin. Les procédures de « *all-in all-out* », consistant en la réalisation d'un vide sanitaire entre 2 bandes de production, sont donc de loin préférables par rapport au management en continu des animaux, c'est-à-dire sans nettoyage et désinfection intermédiaire (Dahl *et al.*, 1997). Il s'agit de minimiser le risque d'introduction de la bactérie plutôt que de l'empêcher totalement, ceci pour des raisons de sources multiples et de pression d'infection, qui peuvent être élevées dans certains cas. Les techniques classiques d'hygiène

générale sont sensées réduire de façon importante la pression de contamination exercée sur les animaux en exploitation. Ces techniques comprennent, entre autres, le nettoyage et la désinfection entre chaque bande ou lot de production, le vide sanitaire (« *all-in all-out* » en anglais), la lutte contre les rongeurs et les insectes nuisibles et l'hygiène personnelle. La propagation par aérosols a pu être démontrée sur des porcs ayant subi une ablation complète de l'œsophage et il semblerait que cette voie requiert beaucoup moins de bactéries pour déclencher une infection ou provoquer un état de portage (Fedorka-Cray *et al.*, 1995). Bien que l'on ne connaisse pas exactement l'importance de cette voie de transmission par rapport à d'autres, comme la voie directe féco-orale, ce dernier élément démontre que les règles d'hygiène générale ne pourraient pas à elles seules empêcher ce type de transmission entre animaux.

Exclusion compétitive

Le concept de « Nurmi » (Schneitz et Mead, 2000) se base sur le constat qu'une flore bactérienne normale de l'intestin va empêcher la colonisation de celui-ci par des bactéries pathogènes, comme les *Salmonella*. L'établissement rapide d'une flore microbienne adulte chez un jeune animal empêchera la colonisation ultérieure par des entéropathogènes.

Pour expliquer l'efficacité de cette méthode, plusieurs hypothèses sont formulées. Premièrement, il peut y avoir création d'un environnement physiologique restrictif dans l'intestin, dans lequel les acides gras volatiles à courtes chaînes associés à un potentiel d'oxydo-réduction très bas semblent jouer un rôle protecteur. Une compétition pour les récepteurs bactériens pourrait également être envisagée de même que l'élaboration de substances à effet antibiotique ou inhibiteur, comme, par exemple, les bactériocines. Enfin, en dernier lieu, la compétition pour les substrats essentiels pourrait être de mise dans certains cas (Nisbet, 2002). Un avantage très important de l'exclusion compétitive réside dans le fait qu'elle est non spécifique du sérotype, en ce sens qu'elle pourrait avoir un effet aussi

bien vis-à-vis des sérotypes invasifs que non-invasifs, ce qui n'est pas le cas des vaccins (Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 1998).

Vaccination

Une autre voie prophylactique consiste en la vaccination des porcs contre *Salmonella Choleraesuis*. Les gains quotidiens moyens semblent ne pas être altérés suite à la vaccination, ce qui très positif au point de vue des performances zootechniques des porcs, constituant ainsi un incitant économique important à l'utilisation de tels vaccins (Roof et Doitchinoff, 1995).

Au niveau abattage et transformation

Ces étapes de production sont généralement considérées comme un maillon à risque dans le cadre de la prévention des salmonelles. Du fait des contaminations croisées et si l'hygiène laisse fort à désirer, elles peuvent être considérées comme un amplificateur du taux de prévalences et du niveau de contamination par *Salmonella*, étant donné qu'aucune étape dans le processus d'abattage et de découpe ne permet, littéralement, d'assainir le produit. Dans d'autres cas, la technologie de l'abattoir lui-même peut être une des causes de la contamination des porcs. C'est ainsi que Boudry et collaborateurs (2002) ont montré que le système d'épilation à froid utilisé dans l'abattoir suivi était incriminé dans la contamination des cavités anales et rectales des porcs, ce qui peut être un facteur favorisant de contaminations de la carcasse lors de l'éviscération ou bien de l'apparition de contaminations croisées sur la chaîne d'abattage.

Des mesures préventives faisant référence au système HACCP doivent donc être intégrées dans les entreprises en même temps que les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication. Au cours d'une étude menée par Hald et collaborateurs (1999), le pourcentage de carcasses positives augmentait en fonction de la période d'abattage dans la journée, établissant ainsi l'importance croissante des contaminations croisées dans le processus d'abattage en fonction de la durée des

activités. Les points les plus à risque dans les abattoirs étudiés sont l'eau de la cuve d'échaudage, la flagelleuse et l'endroit précédant juste la rentrée des carcasses dans le frigo de refroidissement rapide. Dans cette étude, les techniques inappropriées d'éviscération n'ont pas été considérées comme étant un facteur à risque, étant donné que le bout libre du rectum était mis dans un sachet en plastique juste avant éviscération. De telles procédures de dégagement du rectum à cette étape ont déjà fait leurs preuves quant à leur efficacité, en vue de diminuer le pourcentage de carcasses contaminées par *Yersinia enterocolitica* et *Listeria* spp. Elles sont couramment pratiquées dans les abattoirs scandinaves (Nesbakken *et al.*, 1994). L'étape d'enlèvement des viscères digestifs doit être considérée comme un point critique. Des contaminations importantes peuvent s'opérer à partir des intestins, des langues et des régions pharyngiennes, en ce y compris les amygdales (Borch *et al.*, 1996).

Malgré la présence, au niveau de la carcasse, d'altérations qui sont toutefois réversibles, Corry et collaborateurs (1995) signalent les nombreux avantages d'un traitement à l'acide sous forme de bain d'immersion (« *dipping* ») ou administré en spray. A basse concentration, ce type de traitement ne modifie pas l'odeur, le goût et les propriétés nutritionnelles de la viande, il ne laisse aucun résidu, est d'un coût abordable pour les entreprises et entraînerait fort probablement une réaction positive quant à son acceptation par le consommateur. Mais ce procédé est prohibé dans l'Union Européenne, la volonté du législateur étant de favoriser la mise en place, dans les abattoirs et ateliers de découpe de porc, de systèmes d'autocontrôle basés sur le HACCP.

Il existe d'autres procédés permettant d'assainir ou de décontaminer partiellement des carcasses de volailles ou d'animaux de boucherie : NaCl, TSP (Tri-Sodium Phosphate), extraits de plantes, bactériocines, agents chélateurs (EDTA), lysozyme, extraits de fumée, acide sorbique... D'autres procédés peuvent avoir recours au traitement thermique classique des viandes, au conditionnement sous atmosphère

protectrice, à l'irradiation, à des hautes pressions de l'ordre de 400 à 500 MPa³, à des champs électriques pulsés et aux UV (Food Research Institute, 1999).

Chez le consommateur

Même si l'alimentation dans nos pays occidentaux est une des plus sûres au monde, une partie importante de la lutte contre les zoonoses doit être prise en charge par le consommateur, qui peut être considéré comme un maillon à part entière dans la filière. Il faut donc l'informer quant aux risques pouvant survenir suite aux erreurs dans la manipulation des aliments. Malheureusement, à l'heure actuelle, peu d'initiatives ont été prises en Europe, à l'inverse de la situation qui prévaut aux Etats-Unis, où la politique, à ce niveau, apparaît un peu plus pro-active. L'opération FightBac® base son message sur un logo simple et facile à comprendre, destiné à la fois aux éducateurs, aux enfants et aux opérateurs des chaînes de transformation et de distribution. Le logo CSCC rappelle constamment qu'il faut laver les aliments («Clean»), les séparer («Separate»), les cuire («Cook») et les refroidir («Chill»). Des conseils sont prodigués quant au lavage des mains, à la cuisson des aliments. La FDA en collaboration avec le Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN) a édité une brochure au sujet du risque de salmonelloses associé aux œufs (FDA, 2002). Le CDC («Center for Disease Control») a également publié une notice explicative sur *Salmonella* Enteritidis, disponible sur Internet (Center for Disease Control, 2003).

Enfin, le consommateur éduqué aura, sans doute, plus tendance à consulter un médecin, ce qui favorisera le retour d'information et contribuera à diminuer le phénomène de sous-rapport des cas.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les salmonelles sont toujours un problème d'actualité ; il ne s'agit, en aucune manière, d'un combat d'arrière-garde. Elles sont parmi les premières causes connues de toxi-infections alimentaires collectives et constituent un réel problème de santé publique. Au niveau économique, elles ont une importance cruciale, étant données les pertes humaines qu'elles engendrent. Un des faits marquants à noter est la constante adaptation du monde bactérien vis-à-vis des conditions du milieu environnant. *A priori*, ces bactéries auront tendance à survivre dans toute une série d'aliments. La population vieillissant de plus en plus, suite à l'amélioration des conditions d'hygiène et des pratiques médicales, les humains peuvent devenir plus sensibles vis-à-vis des germes pathogènes présents dans notre alimentation. Le challenge du 21^e siècle sera donc d'offrir à ses habitants une alimentation variée, équilibrée et la plus saine possible. Il faudra promouvoir des démarches intégrées d'analyse de risque, pour le caractériser et assurer la communication auprès du consommateur, afin que ce dernier soit conscient du niveau de risque lié à ce qu'il mange. Ces démarches doivent reposer sur un partenariat entre les institutions privées et publiques et les organisations de consommateurs. Les systèmes officiels de surveillance des zoonoses devront être renforcés pour permettre le recueil de données épidémiologiques essentielles, en vue de mieux axer la prévention et l'information. Les efforts doivent être prioritairement concentrés dans les secteurs les plus en amont par rapport au stade de la distribution et de la consommation. Une meilleure connaissance de l'écologie des salmonelles s'avère donc une étape importante pour atteindre ces objectifs.

ABSTRACT

Salmonella spp. in food of animal origin: a continuous threat for public health ?

Salmonella is a mesophilic bacterium that share common characteristics with *Enterobacteriaceae*. Two species are described: *Salmonella enterica* and *Salmonella bongori*. Beside the fact that the infection in host cells requires type III secretion-systems, little is known, at present, about virulence mechanisms. Among the cultural detection methods, the use of semi-solid media seems more efficient than the others for *Salmonella* recovery. The techniques based on genetic amplification may be useful in order to further characterize the isolated strains. *Salmonella* can be isolated from the intestine of numerous animal species and its survival in the surroundings may be quite long. Several serotypes may cause clinical salmonellosis while others may be responsible for animal species of a carrier state. In this abstract, the influence of swine production system will be developed. The sustainable and ongoing surveillance are justified by the fact that *Salmonella* leads to numerous foodborne cases and outbreaks and is responsible of important economic and social costs. This surveillance aims to improve the sanitary quality of food from "farm to fork". The preventive methods available for the pre-harvest production step and for the slaughterhouse will be also evoked.

BIBLIOGRAPHIE

ASSOCIATION FRANÇAISE DE NORMALISATION NF EN ISO 6579 Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp. Association Française de Normalisation : Saint-Denis, Décembre 2002, 27 p.

AGENCE FEDERALE POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE Avis 2004-07 : Programme de surveillance pour la réduction de la prévalence de *Salmonella* dans les exploitations porcines belges (dossier Sci Com 2003/22), Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire, Bruxelles, 2004, 3 p.

³ Méga-Pascals (unité de pression)

- ALBAN L. Use of veterinary epidemiology to improve food safety along the food chain – an industry perspective. In: Smulders, F.J.M. and Collins, J.D. (Eds) International Conference: Veterinary Public Health and Food Safety. Towards a Risk based Chain Control. Rome, 22-23 October 2004. Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Rome, 2004, 27-28.
- ANDERSON E., WARD L., DE SAXE M., DE SA J. Bacteriophage-typing designations of *Salmonella* typhimurium. *J. Hyg.*, 1977, **78**, 297-300.
- BAGER F., PETERSEN J. Sensitivity and Specificity of different methods for the isolation of *Salmonella* from pigs. *Acta Vet. Scand.*, 1991, **32**, 473-481.
- BAGGESEN D., SANDVANG D, AARESTRUP F. Characterization of *Salmonella* enterica serovar typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, **38**, 1581-1586.
- BÄUMLER A., TSOLIS R., FICHT T., ADAMS L. Evolution of host adaptation in *Salmonella* enterica. *Infect. Immun.*, 1998, **66**, 4579-4587.
- BÄUMLER A., TSOLIS R., HEFFRON F. Virulence Mechanisms of *Salmonella* and their genetic basis. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 2000, 57-72.
- BEAN N., GRIFFIN P. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles, and trends. *J. Food Prot.*, 1990, **53**, 804-817.
- BEAN N., GOULDING J., DANIELS M., ANGULO F. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 1988- 1992. *J. Food Prot.*, 1997, **60**, 1265-1286.
- BENDER J., HEDBERG C., BOXRUD D., BESSER J., WICKLUND J., SMITH K., OSTERHOLM M. Use of molecular subtyping in surveillance for *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *N. Engl. J. Med.*, 2001, **344**, 189-195.
- BENNETT A., GREENWOOD D., TENNANT C., BANKS J., BETTS R. Rapid and definitive detection of *Salmonella* in foods by PCR. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1998, **26**, 437-441.
- BERENDS B., URLINGS H., SNIJDERS J., VAN KNAPEN F. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **30**, 37-53.
- BORCH E., NESBAKKEN T., CHRISTENSEN H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **30**, 9-25.
- BOUDRY C, KORSACK N, JACOB B, ETIENNE G, THEWIS A, DAUBE G. Ecologie de *Salmonella* dans le tube digestif du porc à l'abattage et étude de la contamination des carcasses. *Ann. Méd. Vet.*, 2002, **146**, 353-360.
- BROWN D., MATHER H., BROWNING L., COIA J. Investigation d'infections humaines à *salmonella enterica* sérotype Java en Ecosse : association possible avec de la volaille importée. *Euro Surveill.*, 2003, **8**, 35-40.
- BUSSE M. Media for *salmonella*. *Int. J. Food Microbiol.*, 1995, **26**, 117-131.
- BUZBY J., MORRISON M. Food irradiation: an update. *FoodReview*, 1999, **22**, 21-22.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL Reptile-associated *salmonellosis*: selected states, 1996-1998. *Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 1999, **48**, 1009-1013.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL Disease information : *Salmonella enteritidis* (2003). [en ligne] Adresse URL : http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/salment_g.htm. Consulté le 08/09/04.
- CHINA B., GOFFAUX F. Secretion of virulence by *Escherichia coli*. *Vet. Res.*, 1999, **30**, 181-202.
- CORNELIS G. Type III secretion: a bacterial device for close combat with cells of their eukaryotic host. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 2000, **355**, 681-693.
- CORRY J., JAMES C., JAMES S., HINTON M. *Salmonella*, *Campylobacter* and *Escherichia coli* O157:H7 decontamination techniques for the future. *Int. J. Food Microbiol.*, 1995, **29**, 187-196.
- CUDJOE K., KRONA R. Detection of *Salmonella* from raw food samples using Dynabeads anti-*Salmonella* and a conventional reference method. *Int. J. Food Microbiol.*, 1997, **37**, 55-62
- DAHL J., WINGSTRAND A. Reduction of subclinical *salmonella*-infection in Danish pig herds. A summary of documented and plausible risk-factors and how this knowledge is implemented into a guide for reduction and control of *salmonella*-infections. In: Colin P., Le Goux J.-M., Clement G. (Eds), *Proceedings of Salmonella and Salmonellosis '97*, Ploufragan (France), May 20-22 1997, 631-635.
- DAHL J., WINGSTRAND A., NIELSEN B., BAGGESEN D. Elimination of *Salmonella* typhimurium infection by the strategic movement of pigs. *Vet. Rec.*, 1997, **140**, 679-681.
- DAUBE G, VAN LOOCK F. Surveillance des toxi-infections d'origine alimentaire en Belgique. *Arch. Public Health*, 1997, **55**, 351-361.
- DAUBE G., DE ZUTTER L., DIERICK K. Surveillance de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale par *E. coli* O157 entérohémorragiques, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* et *Campylobacter* spp. thermophiles. rapport 2001. Laboratoire National de Référence en microbiologie des denrées alimentaires, Université de Liège : Liège, 2001, 88 p.
- DAUBE G., DE ZUTTER L., DIERICK K. Surveillance de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale par, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. thermophiles, *E. coli* O157 entérohémorragiques et *Listeria monocytogenes*. Rapport de l'année 2002. Laboratoire National de Référence en microbiologie des denrées alimentaires, Université de Liège : Liège, 2003, 101 p.
- DAVIES P., MORROW W., JONES F., DEEN J., FEDORKA-CRAY P., HARRIS I. Prevalence of *Salmonella* in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, USA. *Epidemiol. Infect.*, 1997, **119**, 237-244.

- DE SMEDT J., BOLDERDIJK R, RAPPOLD H., LAUTENSCHLAEGER D. Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment semisolid Rappaport-Vassiliadis medium. *J. Food Prot.*, 1986, **49**, 510-514.
- DE SMEDT J., BOLDERDIJK R. Dynamics of *Salmonella* isolation with modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium. *J. Food Prot.*, 1987, **50**, 658-661.
- DE ZUTTER L., DAUBE G. Improved isolation of *Salmonella* from meat using the diagnostic semisolid *Salmonella* agar Diasalm. In: International Society for Fat research-International Standard Organization- Association of Official Analytical Chemists (Eds.) Foodborne pathogens: detection and typing. International symposium sponsored by International Society for Fat research-International Standard Organization-Association of Official Analytical Chemists, 20-4-1998, Den Hagen, The Netherlands.
- DIBB-FULLER M., ALLEN-VERCOE E., THORNS C., WOODWARD M. Fimbriae- and flagella-mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *Salmonella* enteritidis. *Microbiology*, 1999, **145**, 1023-1031.
- DILASSER F., GROUT J., TACHE J., FACH P. AFNOR evaluation of a PCR based test for detecting *Salmonella* spp. in food samples: Probelia TM. In: Colin P., Le Goux J.-M., Clement G. (Eds), Proceedings of *Salmonella* and Salmonellosis '97, Ploufragan (France), May 20-22 1997, 117-120.
- DOUBLET B., BOYD D., MULVAY M., CLOECKAERT A. The *Salmonella* genomic island is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*, 2005, in press.
- DEPARTEMENT VOOR KWALITEIT VAN DIERLIJKE PRODUCTEN EN TRANSFORMATIETECHNOLOGIE nieuwsbrief; Nummer 6 – Oktober 2002.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION Playing It Safe With Eggs (2002). [en ligne] Adresse URL : <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fs-eggs.html> Consulté le 08/09/04.
- FEDORKA-GRAY P., KELLEY L., STABEL T., GRAY J., LAUFER J. Alternate routes of invasion may affect pathogenesis of *Salmonella* typhimurium in swine. *Infect. Immun.*, 1995, **63**, 2658-2664.
- FEDORKA-CRAY P., GRAY J., WRAY C. *Salmonella* infection in pigs. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in domestic animals. CABI Publishing : Oxon, 2000, 191-207.
- FISHER I. International trends in *salmonella* serotypes 1998-2003: a surveillance report the Enter-net international surveillance network. *Euro Surveill.*, 2004, **9**, 9-10.
- FRENZEN P., RIGGS T., BUZBY J., BREUER T., ROBERTS T., VOELTSCH D., REDDY S., FOODNET WORKING GROUP. *Salmonella* cost estimate updated using FoodNet Data. *FoodReview*, 1999, **22**, 10-15
- FOOD RESEARCH INSTITUTE Literature survey of the various techniques used in Listeria intervention (1999) [en ligne] Adresse URL : <http://www.wisc.edu/fri/briefs/listeria.pdf> Consulté le 09/09/04.
- GRAY J., FEDORKA-CRAY P., STABEL T., KRAMER T. Natural transmission of *Salmonella* choleraesuis in swine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, **62**, 141-146.
- GRAY J., FEDORKA-CRAY P. Survival and infectivity of *Salmonella* Choleraesuis in swine feces. *J. Food Prot.*, 2001, **64**, 945-949.
- GRIMONT P., GRIMONT F., BOUVET P. Taxonomy of the genus *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 2000, 1-17.
- HAEGHEBAERT S., LE QUERREC F., BOUVET P., GALLAY A., ESPIE E., VAILLANT, V. Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. *B.E.H.*, 2002, **50**, 249-253.
- HALD T., WINGSTRAND A., SWANENBURG M., ALTROCK A., LIMPITAKIS N., THORBERG B.-M. Harvest epidemiology of *Salmonella* contamination in EU pig slaughterhouses. In: Bahnsen P. (Ed.), Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, Washington DC (USA), August 5-7 1999. US Swine consortium : Urbana-Champaign, 1999, 273-276.
- HANES D. Nontyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J. (Eds.) International Handbook of Foodborne Pathogens, Marcel Dekker : New York, 2003, 137-149.
- HANSEN C., KNUDSEN K., JENSEN B., KJARSGAARD H. Effect of meal feed and coarser grinding of pelleted feed on productivity, microbiology, and physico-chemical properties in the gastro-intestinal tract of finishers. In: van der Wolf (Ed.), Proceedings of the 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* and other Food Borne Pathogens in Pork, Leipzig (Germany), September 2-5 2001. Addix : Leipzig, 2003, 106-108.
- HILTON A., BANKS J., PENN C. Optimization of RAPD for fingerprinting *Salmonella*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1997, **24**, 243-248.
- HU L., KOPECKO D. *Salmonella* Typhi and Paratyphi. In: Sussman M. (Ed.), Molecular Medical Microbiology (volume 2). Academic Press: London, 2002, 1365-1391.
- HU L., KOPECKO D. Typhoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J. (Eds.), International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker: New York, 2003, 151-165.
- HUECK C. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1998, **62**, 379-433.
- HUMPHREY T. Public-health aspects of *Salmonella* infection. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 2000, 245-263.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS *Salmonellae*. In: ICMSF (Ed.), Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens. Blackie Academic & Professional: London, 1996, 217-264.

- INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. Amendment to ISO 6579:2002, Annex D (normative) detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in samples of the primary production stage. Working document, 25 October 2004.
- JONES M., WIGLEY P., PAGE K., HULME S., BARROW P. The role of Type-III secretion in the virulence of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum and *Salmonella enterica* serovar Pullorum. In: Colin P., Clement G. (Eds.), Proceedings of International *Salmonella* and Salmonellosis, 29-31 may 2002, Ploufragan, France. Zoopole développement: Ploufragan, 2002. Ispaia : Ploufragan, 2002, 145-149.
- JORGENSEN L., DAHL J., WINGSTRAND A. The effect of feeding pellets, meal and heat treatment on the *salmonella*-prevalence in finishing pigs. In: Bahnson P. (Ed.), Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, Washington DC (USA), August 5-7 1999. US Swine consortium : Urbana-Champaign, 1999, 308-312.
- JORGENSEN L., KJAERGAARD H., WACHMAN H., JENSEN B., KNUDSEN K. Effect of pelleting and use of lactic acid in feed on *Salmonella* prevalence and productivity in weaners. In: van der Wolf (Ed.), Proceedings of the 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* and other Food Borne Pathogens in Pork, Leipzig (Germany), September 2-5 2001. Addix : Leipzig, 2003, 109-111.
- KORSAK N., DAUBE G., GHAFIR Y., CHAHED A., JOLLY S., VINDEVOGEL H. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J. Food Prot.*, 1998, **61**, 535-541.
- KORSAK N., GROVEN B., JACOB B., DAUBE G., FLAMENT E. Prevalence of *Salmonella* along a meat pork production system. In: F.J.M. Smulders and J.D. Collins (Eds.), Food safety assurance and veterinary public health – volume 1: food safety assurance in the pre-harvest phase. Wageningen Academic Publishers: Wageningen, 2002, 260-262.
- KORSAK N., JACOB B., GROVEN B., ETIENNE G., CHINA B., GHAFIR Y., DAUBE G. *Salmonella* contamination of pigs and pork in an integrated pig production system. *J. Food Prot.*, 2003, **66**, 1126-1133.
- LANDMAN W., HARTMAN E., DOORNENBAL P. *Salmonella*-isolatie uit pluimveemonsters: vergelijking diagnostic semi-solid *salmonella* (diasalm) en rappaport vassiliadis bouillon (rv) Detection of *Salmonella* spp. in poultry samples: Comparison between Diagnostic Semi-solid Agar (Diasalm) and Rappaport Vassiliadis broth (rv). De Ware(n)-Chemicus, 1996, **26**, 234-237.
- LE MINOR L. Genus III. *Salmonella*, In: Krieg N., Holt, J. (Eds.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 1), Williams and Wilkins: Baltimore, 1984, 427-458.
- LETELLIER A., MESSIER S., PARÉ J., MÉNARD J., QUÉSSY S. Distribution of *Salmonella* in swine herds in Quebec. *Vet. Microbiol.*, 1999, **67**, 299-306.
- LIN A., USERA M., BARRETT T., GOLSBY R. Application of random amplified polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella enteritidis*. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, **34**, 870-876.
- LO FO WONG D., HALD T. *Salmonella* in pork (SALIN-PORK): pre-harvest and harvest control options based on epidemiologic, diagnostic and economic research. Final report to European Commission of Project FAIR1 CT95-0400, 2000, 251 p.
- MEAD P., SLUTSKER L., DIETZ V., McCAIG L., BRESEE J., SHAPIRO C., GRIFFIN P., TAUXE R. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.*, 1999, **5**, 607-625.
- MERMIN J., VILLAR R., CARPENTER J., ROBERTS L., SAMARIDDEEN A., GASANOVA L., LOMAKINA S., BOPP C., HUTWAGNER L., MEAD P., ROSS B., MINTZ E. A massive epidemic of multidrug-resistant typhoid fever in Tajikistan associated with consumption of municipal water. *J. Infect. Dis.*, 1999, **179**, 1416-1422.
- MITCHELL M., SHANE S. Preliminary findings of *Salmonella* spp. in captive green iguanas (*Iguana iguana*) and their environment. *Prev. Vet. Med.*, 2000, **45**, 297-304.
- MURRAY C. Environmental aspects of *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 2000, 265-283.
- NESBAKKEN T., NERBRINK E., ROTTERUD J., BORCH E. Reduction of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria* spp. on pig carcasses by enclosure of the rectum during slaughter. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **23**, 197-208.
- NISBET, N. Defined competitive exclusion cultures in the prevention of enteropathogen colonisation in poultry and swine. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, **81**, 481-486.
- OBOEGBULEM S. Comparison of two enrichment media and three selective media for isolation of *salmonellae* from fresh chicken carcass rinse fluids and sewer swabs. *Int. J. Food Microbiol.*, 1993, **18**, 167-170.
- OLIVE D., BEAN P. Principles and applications of methods for DNA-Based typing of microbial organisms. *J. Clin. Microbiol.*, 1999, **37**, 1661-1669.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE Directive 92/117/CEE du Conseil du 17 décembre 1992 concernant les mesures de protection contre certaines zoonoses et certains agents zoonotiques chez les animaux et dans les produits d'origine animale, en vue de prévenir les foyers d'infection et d'intoxication dus à des denrées alimentaires *J. Off. Comm. Eur.*, 15 mars 1993, L062, 1993, 38-48.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE Décision 2119/98/CE du Parlement Européen et du Conseil du 24 septembre 1998 instaurant un réseau de surveillance épidémiologique et de contrôle des maladies transmissibles dans la Communauté *J. Off. Comm. Eur.*, 3 octobre 1998, L268, 1998, 1-6.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE Report to the European Parliament and to the Council on the measures to be put in force for the control and prevention of zoonoses – Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council

- on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC - Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council on the control of *salmonella* and other food-borne zoonotic agents and amending Council Directives 64/432/EEC, 72/462/EEC and 90/539/EEC, COM (2001) 452 final, 01.08.2001.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE Règlement (CE) n° 2160/2003 du Parlement Européen et du Conseil du 17 novembre 2003 sur le contrôle des salmonelles et d'autres agents zoonotiques spécifiques présents dans la chaîne alimentaire. *J. Off. Comm. Eur.*, 12 décembre 2003, L325, 2003, 1-15.
- PARLEMENT EUROPEEN ET CONSEIL DE L'UNION EUROPEENNE Directive 2003/99/CE du Parlement Européen et du Conseil du 17 septembre 2003 sur la surveillance des zoonoses et des agents zoonotiques, modifiant la décision 90/424/CEE du Conseil et abrogeant la directive 92/117/CEE du Conseil. *J. Off. Comm. Eur.*, 12 décembre 2003, L325, 2003, 31-40.
- RAJIC A., KEENLISIDE J., McFALL M., DECKERT A., MUCKLE A., O'CONNOR B., MANNINEN K., DEWEY C., McEWEN S. Longitudinal study of *Salmonella* species in 90 Alberta swine finishing farms. *Vet. Microbiol.*, 2005, **105**, 47-56.
- ROOF M., KRAMER T., KUNESH J., ROTH J. In vivo isolation of *Salmonella choleraesuis* from porcine neutrophils. *Am. J. Vet. Res.*, 1992, **53**, 1333-1336.
- ROOF M., DOITCHINOFF D. Safety, efficacy, and duration of immunity induced in swine by use of an avirulent live *Salmonella choleraesuis*-containing vaccine. *Am. J. Vet. Res.*, 1995, **56**, 39-44.
- RYCROFT A. Structure, function and synthesis of surface polysaccharides in *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 2000, 19-33.
- SARWARI A., MAGDER L., LEVINE P., McNAMARA A., KNOWER S., ARMSTRONG G., ETZEL R., HOLLINGSWORTH J., MORRIS G. Serotypes distribution of *Salmonella* isolates from food animals after slaughter differs from that of isolates found in humans. *J. Infect. Dis.*, 2001, **183**, 1295-1299.
- SCHNEITZ C., MEAD G. Competitive exclusion. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 2000, 301-322.
- SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH Opinion of the SCVMPH on benefits and limitations of antimicrobial treatments for poultry carcasses (adopted on 30 October 1998) [en ligne] Adresse URL : http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14_en.pdf Consulté le 14/06/04.
- SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH Opinion of the SCVMPH on Food-borne zoonoses (12 April 2000) [en ligne] Adresse URL : http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out32_en.pdf Consulté le 14/06/04.
- SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH Opinion of the SCVMPH on *Salmonellae* in Foodstuffs (adopted on 14-15 April 2003) [en ligne] Adresse URL : http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out66_en.pdf Consulté le 07/06/04.
- SHANGKUAN Y., LIN H. Application of Random Amplified Polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella typhi* and other *Salmonella* species. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 693-702.
- THORNS J., WOODWARD M. Fimbriae of *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 2000, 35-55.
- THRELFALL E. Epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104-a truly international multiresistant clone. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2000, **46**, 7-10.
- VAN DER ZEE H., HUIS IN'T VELD J. Methods for the rapid detection of *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 2000, 373-391.
- VAN OYE E., GHIJSELS G., CHASSEUR M.-L. De salmonelosen en shigellosen in België van 1962 tot 1976: een bilan. *Tijdschr. Voor Geneeskunde*, 1977, **19**, 1055-1059.
- VETERINARY AND AGROCHEMICAL CENTRE *Salmonella* serotypes analysed at the VAR in 2001. Evolution among poultry, Cattle and pig isolates from 1992 to 2001 with results of antimicrobial testing. Veterinary and Agrochemical Centre – Centrum voor Onderzoek in Diergeneeskunde en Agrochemie - Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques : Brussels, 2002, 28 p.
- VARNAMA A., EVANS M. Chapter 4 – *Salmonella*. In: Varnam A., Evans, M. (Eds.) Foodborne pathogens – an illustrated text 2nd ed. Manson Publishing : London, 1996, 51-86.
- VIMAL D., KHULLAR M., GUPTA S., GANGULY N. Intestinal mucins: the binding sites for *Salmonella typhimurium*. *Mol. Cell. Biochem.*, 2000, **204**, 107-117.
- WALKER R., KINDE H., ANDERSON R., BROWN A. Comparison of VIDAS enzyme-linked fluorescent immunoassay using Moore swab sampling and conventional culture method for *Salmonella* detection in bulk tank milk and in-line milk filters in California dairies. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, **67**, 123-129.
- WALTMAN W. Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing : Oxon, 2000, 355-372.
- WEGENER H., BAGGESEN D. Investigation of an outbreak of human salmonellosis caused by *Salmonella enterica* ssp. *Enterica* serovar *Infantis* by use of pulsed field gel electrophoresis. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, **32**, 125-131.
- WEGENER H., HALD T., LO FO WONG D., MADSEN M., KORSGAARD H., BAGER F., GERNER-SMIDT P., MOLBAK K. *Salmonella* control programs in Denmark. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, **9**, 774-780.
- WYBO I., WILDEMAUWE C., GODARD C., BERTRAND S., COLLARD J.-M. Antimicrobial drug resistance in nontyphoid human *Salmonella* in Belgium: Trends for the period 2000-2002. *Acta Clin. Belg.*, 59, 152-160.