
SALMONELLOSE MAMMAIRE OVINE : CARACTERISATION CLINIQUE ET BACTERIOLOGIQUE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2006
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Maxime, Sébastien, Philémon POUGET

Né, le 8 juin 1979 à MARVEJOLS (Lozère)

Directeur de thèse : **M. le Docteur Dominique BERGONIER**

JURY

PRESIDENT :

M. Henri DABERNAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. Dominique BERGONIER

M. Xavier BERTHELOT

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	J. FERNEY
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	D. GRIESS
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELFY
	M.	M. EECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
Mme **BRET-BENNIS Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mme **CAMUS-BOUCLAINVILLE Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **COLLARD-MEYNAUD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
Mme **MEYNADIER-TROEGELER Annabelle**, *Alimentation*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
Mme **RAYMOND-LETRON Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mlle **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique des animaux de rente*
M. **NOUVEL Laurent-Xavier**, *Pathologie de la reproduction*
M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VOLMER Romain**, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur Henri DABERNAT,

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Bactériologie-Hygiène

Pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage très respectueux.

A notre jury de Thèse,

Monsieur le Docteur Dominique BERGONIER,

Maître de conférence de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour la formation qu'il m'a donnée et l'aide précieuse qu'il m'a apportée au cours de la réalisation de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance pour la bienveillante disponibilité dont il a toujours fait preuve à mon égard.

Sincères remerciements.

Monsieur le Professeur Xavier Berthelot,

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Pour la formation qu'il m'a donnée et pour avoir accepté de faire partie de notre jury de thèse.

En témoignage de notre gratitude.

A mon père,

Pour ton soutien constant tout au long de ma scolarité. Trouve ici l'aboutissement de tous tes efforts et de la confiance que tu m'as toujours témoignée.

Avec tout mon amour.

A ma femme Céline,

Pour ta présence, ton amour et ton réconfort. Que notre amour soit toujours comme aux premiers temps.

A mes frères et belles sœurs,

Pour vos attentions qui m'ont permis de grandir et de surmonter les obstacles de la vie.

A ma famille et belle famille.

A mes amis.

A mes futurs associés de la Clinique Vétérinaire d'Espalion.

A tous ceux qui m'ont permis de réaliser ce travail, en les remerciant de leur aide précieuse et de leur gentillesse.

A Maman

TABLE DES MATIERES

Pages

Table des illustrations

17

Introduction

21

Première partie : étude bibliographique des infections salmonelliques chez les bovins et les ovins

I. <u>Généralités sur les infections salmonelliques</u>	25
A. Définition	25
B. Synonymie	25
C. Historique	25
D. Espèces affectées	25
II. <u>Bactériologie</u>	26
A. Morphologie bactérienne et coloration	26
B. Croissance, caractères cultureux et morphologie des colonies	26
C. Caractères biochimiques	26
D. Structure de l'enveloppe	27
E. Caractères antigéniques	28
F. Schéma de Kauffmann-White	29
G. Lysotypie	29
H. Nomenclature des salmonelles	29
III. <u>Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose</u>	31
A. Survie des salmonelles dans l'environnement	32
B. La contamination des eaux	33
C. La contamination des pâturages	34
D. Les aliments contaminés	34
E. <i>Salmonella</i> et vecteurs animés	35
IV. <u>Physiopathologie des infections salmonelliques</u>	36
A. Généralités	36
B. Doses infectantes et susceptibilité de l'hôte	37

1. Facteurs bactériens	37
2. Facteurs liés à l'hôte	37
C. Etapes de l'infection	39
1. Les portes d'entrée	39
2. Franchissement de la barrière épithéliale	39
3. Dissémination systémique	39
V. <u>Etude clinique des infections salmonelliques chez les bovins et les ovins</u>	40
A. Evolution de la clinique des salmonelloses bovines	40
1. Avant les années 1970	40
2. Au cours des années 1970	40
3. A la fin des années 1980	41
B. Caractères cliniques des infections salmonelliques bovines	41
1. Infection inapparente	41
2. Forme génitale	42
3. Hyperthermie	42
4. Forme digestive	43
5. Septicémie	44
6. Forme pulmonaire	44
7. Autres formes plus rares	44
C. Particularités de la salmonellose ovine par rapport à la salmonellose bovine	45
D. <i>Salmonella arizonae</i> : une sous-espèce émergente et adaptée aux ovins ?	47
VI. <u>Suspicion clinique et lésionnelle, diagnostic bactériologique de salmonellose</u>	51
A. Suspicion clinique et diagnostic différentiel	51
1. La forme entéritique	51
2. La forme abortive	51
3. La forme respiratoire	51
B. Suspicion nécropsique	51
1. Forme septicémique	52
2. Forme digestive	52
3. Autres formes des salmonelloses	53
C. Les prélèvements pour le laboratoire	53
1. Nature des prélèvements	53

2.	Précautions de réalisation et d'acheminement	54
3.	Valeur diagnostique des différents prélèvements	54
D.	Diagnostic de laboratoire	54
1.	Isolement bactériologique (direct)	54
2.	Identification des souches de salmonelles	58
3.	Diagnostic sérologique (indirect)	58
4.	Antibiogramme	59
VII.	<u>Traitements et conduite à tenir dans l'élevage</u>	59
A.	Méthodologie de l'intervention	59
B.	L'antibiothérapie	61
1.	Problèmes liés à la physiopathologie des salmonelles	61
2.	Les problèmes liés à l'antibiorésistance	61
3.	Problèmes posés par la législation en médecine vétérinaire	62
4.	Comment procéder en pratique courante	63
C.	Traitements complémentaires	65
D.	Autres mesures médicales sur le troupeau atteint	66
1.	Traitement systématique du troupeau	66
2.	La vaccination en milieu contaminé	66
E.	Conduite à tenir dans l'élevage visant à limiter la diffusion de la maladie	67
1.	Lutte contre la propagation de la salmonellose animale	67
2.	Prévention de la contamination humaine	68
VIII.	<u>Salmonellose et filière laitière : contamination du lait par les bovins laitiers infectés chroniques</u>	69
A.	Importance et nature de la contamination des laits et produits laitiers par les salmonelles	69
B.	Les sources de contamination du lait par les salmonelles	71
1.	Fèces des animaux	72
2.	Les liquides génitaux	73
3.	L'excrétion mammaire	73
C.	Le plan de protection breton du lait des tanks.	77

Deuxième partie : étude expérimentale de la salmonellose mammaire ovine : suivi clinique et bactériologique

I. <u>Matériel et méthodes</u>	83
A. Les animaux	83
1. Sélection et origine des animaux	83
2. Conduite des animaux	83
B. Le suivi des animaux : les séances de prélèvement et d'examens	84
1. Protocole d'examen clinique	84
2. Protocole des prélèvements	84
C. Autopsie des animaux	84
D. Les techniques analytiques	85
1. Les comptages de cellules somatiques (CCS)	85
2. Isolement et identification des salmonelles dans le lait, les organes et les fèces	85
3. Dénombrement des salmonelles dans le lait	86
II. <u>Résultats</u>	87
A. Caractérisation de l'excrétion des salmonelles dans le lait	87
1. Isolement et identification des salmonelles	87
2. Quantification de l'excrétion des salmonelles	89
B. Symptomatologie	90
1. Etat général et symptômes extra-mammaires	90
2. Examen de la mamelle et du lait	91
3. Conséquences sur la production laitière	92
4. Conséquences sur les comptages de cellules somatiques (CCS)	101
C. Résultats nécropsiques	111
1. Lésions macroscopiques	111
2. Analyse bactériologique des prélèvements réalisés sur les brebis autopsiées	113
III. <u>Discussion</u>	114
A. Discussion sur le matériel et les méthodes	114
1. Sélection des animaux	114
2. Influence des effectifs	114

3. Conduite des animaux et explorations cliniques	115
4. Bactériologie	116
B. Discussion des résultats	116
1. Identification des salmonelles et suivi de leur excrétion dans le lait des brebis	116
2. Symptomatologie du portage mammaire salmonellique	118
3. Autopsies des brebis excrétrices de salmonelles dans le lait	121
4. Perspectives	122
5. Conséquences pour les filières laitières	123
Conclusion	125
Bibliographie	127

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Pages

FIGURES :

Figure 1. Circulation des salmonelles et contamination du bétail.	36
Figure 2. Schéma de dissémination des salmonelles chez les bovins et contamination humaine.	40
Figure 3. Méthodologie d'intervention pour le diagnostic et le traitement des salmonelloses.	60
Figure 4. Plan de protection des élevages à priori indemne.	78
Figure 5. Plan de protection des élevages contaminés.	78
Figure 6. Evolution des températures rectales des brebis étudiées.	89
Figure 7. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 545 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à 6.10^4 UFC/mL de lait)	93
Figure 8. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 91 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5.10^3$ UFC/mL de lait).	94
Figure 9. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 225 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5.10^5$ UFC/mL de lait).	94
Figure 10. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 206 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à 3.10^3 UFC/mL de lait).	95
Figure 11. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 137 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $1,6.10^5$ UFC/mL de lait).	96
Figure 12. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 025 (n'a jamais excrété de salmonelles à l'ENVT).	97
Figure 13. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 006 (deux fois positive à gauche et à droite après enrichissement).	98
Figure 14. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 114 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $7,5.10^3$ UFC/mL de lait et à droite en moyenne à $1,8.10^5$ UFC/mL de lait).	99
Figure 15. Production laitière moyenne. Comparaison des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices.	99
Figure 16. Coefficients de variation de la production laitière des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices.	101
Figure 17. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 545 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à 6.10^4 UFC/mL de lait).	102

Figure 18. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 091 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5.10^3$ UFC/mL de lait)	103
Figure 19. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 225 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5.10^5$ UFC/mL de lait)	104
Figure 20. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 206 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à 3.10^3 UFC/mL de lait).	105
Figure 21. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 137 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $1,6.10^5$ UFC/mL de lait).	105
Figure 22. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 025 (n'a jamais excrété de salmonelles à l'ENVV).	106
Figure 23. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 006 (seulement deux fois positive à gauche et à droite après enrichissement).	107
Figure 24. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 114 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $7,5.10^3$ UFC/mL de lait et à droite en moyenne à $1,8.10^5$ UFC/mL de lait).	108
Figure 25. Comparaison des comptages de cellules somatiques moyens des demi-mamelles excrétrices et non-excrétrices.	109
Figure 26. Coefficients de variation des comptages de cellules somatiques moyens des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices	110

TABLEAUX :

Tableau 1. Caractères biochimiques différentiels des sept sous-espèces de <i>Salmonella</i> .	27
Tableau 2. Observations cliniques dans 25 troupeaux infectés de salmonellose	45
Tableau 3. Infections salmonelliques : trois exemples.	45
Tableau 4. Principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> isolés chez les petits ruminants en France (d'après le bilan 1988-1989 de l'AFSSA Paris).	46
Tableau 5. Circonstances d'isolement sur des brebis de <i>S. arizonae</i> 61:k:1,5,7 au Royaume Uni de 1975 à 1981.	48
Tableau 6. Prélèvements pour diagnostic de salmonellose.	53
Tableau 7. Les milieux sélectifs proposés dans le cadre du RESSAB (1997).	56

Tableau 8. Les milieux d'enrichissement proposés dans le cadre du RESSAB (1997).	57
Tableau 9. Antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des salmonelloses bovines.	63
Tableau 10. Evolution du nombre de salmonelles isolées des produits laitiers (d'après le bilan de l'AFSSA Paris).	70
Tableau 11. Evolution du nombre de souches de salmonelles répertoriées par l'AFSSA Paris puis par le réseau Salmonella dans les produits laitiers de vache (15).	70
Tableau 12. Identification biochimique, sérologique et morphologique des salmonelles excrétées dans le lait des brebis.	87
Tableau 13. Quantification de l'excrétion salmonellique dans le lait.	89
Tableau 14. Synthèse de l'examen clinique de la mamelle et du lait des brebis étudiées.	91
Tableau 15. Ratio latéro-latéral moyen de production laitière (demi-mamelles excrétrices / non excrétrices).	100
Tableau 16 . Productions moyennes des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices.	100
Tableau 17. Ratio latéro-latéral des comptages de cellules somatiques moyens des laits (demi-mamelles excrétrices / non excrétrices).	109
Tableau 18. Evaluation du risque de faux-négatifs lors du dépistage de mammites subclinique en fonction du seuil de CCS de positivité.	110
Tableau 19. Principales lésions macroscopiques observées lors de l'autopsie des brebis N° 545, 0137, 206, 091.	111
Tableau 20. Principales lésions macroscopiques observées lors de l'autopsie des brebis N° 006, 225, 114, 025.	112
Tableau 21. Résultats des analyses bactériologiques réalisées sur les organes prélevés à l'autopsie (identification par galerie ID32E).	113

INTRODUCTION

En France, 35 à 40% des Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC) déclarées sont dues à *Salmonella* spp., qui affectent tous les ans des milliers de personnes, dont plus de 20% doivent être hospitalisées. Ces infections se manifestent généralement par des diarrhées aiguës et des fièvres élevées, mais chez les sujets fragiles (jeunes enfants, personnes âgées, sujets immunodéprimés ou présentant des pathologies sous-jacentes), des complications sévères peuvent intervenir (déshydratation, septicémie), évoluant parfois fatalement (10, 81).

Majoritairement provoquées par la consommation d'ovoproduits, de volailles ou de produits carnés contaminés, ces toxi-infections sont plus rarement associées à la consommation de produits laitiers, notamment au lait cru : moins de 2% de l'ensemble des foyers à salmonelles ont impliqué des produits laitiers en France entre 1998 et 2003 (10). En l'absence de pasteurisation, la maîtrise de la sécurité sanitaire de ces produits repose en grande partie sur la prévention de la contamination dès la production. Chez les bovins, il est probable que la contamination du lait soit essentiellement d'origine fécale et doive être recherchée dans l'environnement des animaux (46). Ceci doit conduire au renforcement des mesures d'hygiène du bâtiment et de la traite, mises en œuvre par les éleveurs en s'inspirant des principes de l'assurance qualité appliqués à l'élevage. Il est donc important de maîtriser la contamination des tanks, en raison des risques de zoonose et des conséquences médiatiques que pourrait avoir une contamination de consommateurs à partir de produits laitiers.

En filière ovine laitière, contrairement à la vache et à la chèvre, aucun cas de TIAC à *Salmonella* spp. n'a été à ce jour recensé. Les travaux relatifs aux autres bactéries indésirables du lait avaient montré la prépondérance de la source de contamination intra-mammaire pour les laits de tank ovins. Aucune description des mammites salmonelliques de la brebis n'était disponible dans la littérature.

Dans un premier temps, nous ferons une synthèse des connaissances actuelles sur les salmonelloses bovines et ovines, tant cliniques qu'asymptomatiques. Dans un second temps, nous rapporterons le suivi de brebis excréant de façon spontanée des salmonelles dans leur lait. Nous essaierons de caractériser ces infections aux niveaux bactériologique et clinique, avant d'en envisager les conséquences pour la maîtrise du risque salmonellique en filières laitières.

PARTIE 1

Etude bibliographique des infections
salmonelliques chez les bovins et les ovins

I. Généralités sur les infections salmonelliques

A. Définition

La salmonellose est une maladie infectieuse, inoculable, contagieuse, commune à l'homme et à de nombreuses espèces animales, répandue dans le monde, provoquée par une bactérie gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae* (13). Les infections salmonelliques se manifestent essentiellement par des septicémies, des pneumonies, des entérites et des avortements (63).

B. Synonymie

Les maladies animales causées par le genre *Salmonella* ont été dénommées selon la symptomatologie, avec parfois indication de l'espèce animale atteinte, fièvre typhoïde et paratyphoïde chez l'homme, paratyphose chez le porc, paratyphoïde ovine, paratyphose abortive ovine, pullorose chez les volailles (33),... Le terme « salmonellose » doit maintenant être préféré (63).

C. Historique

La fièvre typhoïde humaine a été individualisée en 1813 sur la base des signes cliniques et des lésions. La première salmonelle est observée en 1880, le germe est cultivé en 1884. Le groupe bactérien reçoit le nom de *Salmonella* en 1900, en l'honneur de SMITH et de SALMON, qui isolèrent en 1885 une bactérie dénommée à tort « *Bacillus cholerae-suis* », à partir de porcs atteints de peste porcine (hog cholera) (37). L'usage a prévalu. Depuis lors, environ 2300 sérovars de *Salmonella* ont été isolés. Ces serovars sont répertoriés et classés sous forme de tableau issu de l'application du schéma de KAUFFMANN-WHITE (37).

Le premier cas de salmonellose bovine a été décrit en 1902 aux Etats Unis par MOHLER et BUCKLER (33). En 1919, FRICKINGER décrit une épidémie de dysenterie salmonellique sur un lot de 300 moutons ; la viande provenant de l'abattage d'urgence de ces animaux provoqua la toxi-infection de 1500 personnes (85). Depuis le nombre de cas ne fait que croître, tant chez les ruminants que dans les autres espèces et ce sur tous les continents.

D. Espèces affectées

La salmonellose est une maladie affectant aussi bien l'homme que l'ensemble des espèces animales. On note que de nombreux animaux sont des porteurs sains de *Salmonella*. C'est le cas notamment des animaux à sang froid ainsi que des invertébrés. Ces animaux constituent un réservoir bien difficile à détecter (33).

II. Bactériologie

Les bactéries du genre *Salmonella* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae* (car leur habitat naturel est le tube digestif des vertébrés (43)), et possèdent toutes les caractéristiques générales associées à cette famille.

A. Morphologie bactérienne et coloration (63)

Les *Salmonella* sont des bacilles Gram négatifs, sans ramifications ni spores, non capsulés, de 2 à 3 µm de long sur 0,5 µm de large. Les sérovars rencontrés chez les ovins sont mobiles, avec une ciliature péritriche, les mutants immobiles étant exceptionnels.

B. Croissance, caractères culturels et morphologie des colonies (37)

Les *Salmonella* sont anaérobies facultatifs et prototrophes (non tributaires de facteurs de croissance) ; les exceptions sont des souches mutantes ou quelques sérovars présentant une adaptation particulière à une espèce hôte, comme *Salmonella* Abortusovis. Les salmonelles peuvent se cultiver sur milieux usuels et donnent en 18 à 24h à 37°C en atmosphère ambiante des colonies de 2 à 4 mm de diamètre. A l'isolement, les colonies sont lisses, rarement rugueuses. Des colonies naines correspondent généralement à des mutants à croissance plus lente, mais de nombreuses souches (sérotypes Abortusovis, Typhisuis...) peuvent présenter une dissociation de la taille des colonies à l'isolement.

C. Caractères biochimiques

Un ensemble de caractères biochimiques permet de distinguer les *Salmonella* des autres genres de la famille et de les classer en 7 sous-espèces (Tableau 1). L'espèce-type est *Salmonella enterica* (ou *choleraesuis*). Les *Salmonella* isolées à partir des ovins appartiennent aux sous espèces I et III (groupe des « *S. arizonae* »).

Les salmonelles des sous-espèces autres que I sont surtout isolées d'animaux à sang froid et de l'environnement et ne sont qu'exceptionnellement la cause de troubles pathologiques chez l'homme.

Tableau 1. Caractères biochimiques différentiels des sept sous-espèces de *Salmonella* (37)

Caractères	Sous-espèce						
	I	II	IIIa	IIIb	IV	V	VI
	(<i>enterica</i>)	(<i>salamae</i>)	(<i>arizonae</i>)	(<i>diarizonae</i>)	(<i>houtenae</i>)	(<i>bongori</i>)	(<i>indica</i>)
Test ONPG	—	—	+	+	—	+	d (a)
Gélatinase	—	+	+	+	+	—	+
Galacturonate	—	+	—	+	+	+	+
Culture sur milieu au	—	—	—	—	+	+	—
Malonate	—	+	+	+	—	—	—
Dulcitol	+	+	—	—	—	+	d
Mucate	+	+	+	d	—	+	+
L (+) tartrate (d-tartrate)	+	—	—	—	—	—	—
γ -glutamyltransférase	+	+	—	+	+	+	+
β -glucuronidase	d	d	—	+	—	—	d
Salicine	—	—	—	—	+	—	—
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	—
Lyse par le phage 01	+	+	—	+	—	+	+

(b) : caractère variable selon les sérovars

(c) : sérovar Typhimurium : d ; Enteritidis : + ; Dublin : —

+, — : caractère de plus de 90 % des souches ; d : positif pour 10 à 90 % des souches.

D. Structure de l'enveloppe (63)

L'enveloppe des *Salmonella* comprend une membrane cytoplasmique, une paroi composée d'une couche de peptidoglycane et d'une membrane externe et, facultativement, des antigènes superficiels (Vi : de virulence et M : muqueux). Les flagelles traversent l'enveloppe.

La membrane externe contient des protéines, des lipides et des lipopolysaccharides (LPS ou endotoxine). Le LPS est constitué de trois régions :

- le lipide A, toxique et pyrogène ;
- le core ou partie basale, composé d'un polysaccharide contenant du glucose, constant chez les *Salmonella* cultivant sous forme de colonies lisses (SMOOTH, S). Chez les souches mutantes rugueuses (ROUGH, R), il est incomplet ou n'est pas lié aux chaînons suivants ; ces souches sont autoagglutinables en eau salée iso- ou hypertonique ;
- le polysaccharide est constitué de chaînons identiques sans glucose ; les mutants semi-rugueux ne possèdent que le premier chaînon.

Le LPS permet de résister aux antibiotiques hydrophobes, aux sels biliaires, aux détergents, aux protéases, aux lipases, aux lysozymes. Les LPS peuvent être partiellement libérés dans le milieu sous forme d'endotoxine sans dommages pour la bactérie (83) .

Parmi les salmonelles pathogènes pour les ovins, seul *Salmonella* Dublin possède parfois sur la face externe de la paroi une fine couche additionnelle polysaccharidique, appelée Vi. Cet antigène fut appelé Vi car on le tenait pour responsable de la virulence du sérovar Typhi. Certaines colonies ont un aspect muqueux : elles expriment un autre antigène de surface, appelé antigène muqueux ou M. Ce dernier, de même que certaines structures protéiques filamenteuses ou pili, font partie des catégories d'antigènes qui ne sont pas couramment utilisées pour le diagnostic.

E. Caractères antigéniques (37)

Parmi les constituants antigéniques, trois sont couramment utilisés pour le classement des *Salmonella* en sérovars.

- Les antigènes de la paroi : antigènes O et R.

L'antigène O joue un rôle très important du point de vue diagnostique. C'est un complexe glucido-lipido-protéique qui constitue la toxine entérotrope ou endotoxine de la bactérie. Les chaînons polysaccharidiques répétitifs du LPS, la nature des sucres et de leurs liaisons sont responsables de la spécificité O des formes S. Cet antigène résiste au phénol et à l'alcool, il est thermostable deux heures et demie à 100° C. WHITE et KAUFFMANN ont ainsi pu définir des groupes chez les salmonelles grâce à l'utilisation de sérums mono-ou polyvalents dans des réactions d'agglutination de l'antigène O.

Chez les souches R, l'antigène O n'existe pas ; le core ou ce qu'il en reste est responsable des spécificités sérologiques R, qui sont sans intérêt pour le typage antigénique.

- Les antigènes flagellaires ou H.

Les flagelles sont des polymères de flagelline, protéine ayant une composition constante en acides aminés pour un type antigénique donné. Les antigènes H sont thermolabiles et détruits par l'alcool. Ils présentent de plus un caractère biphasique, c'est-à-dire qu'ils peuvent s'exprimer alternativement sous deux formes différentes chez un même sérotype. On parle alors de phase 1 ou de phase 2. Les deux phases coexistent généralement dans une même colonie mais les gènes responsables de l'apparition des phases 1 ou 2 ne s'expriment pas simultanément pour une même bactérie. Les antigènes de la phase 2 sont plus spécifiques pour identifier les salmonelles.

Deux éventualités existent concernant la spécificité des antigènes H :

- l'une rare : certains sérovars ne peuvent fabriquer que des flagelles d'un seul type H1 car ils ne possèdent pas ou n'expriment pas d'informations pour une alternative (souche dite monophasique). C'est le cas de la sous-espèce IIIa (*arizonae*)
- l'autre fréquente : antigène H biphasique, alternance de phase 1 et 2 (souche dite diphasique). C'est le cas de la sous-espèce IIIb (*diarizonae*)
- Deux antigènes de surface : Vi et M.

Ces antigènes de surface présentent chacun une seule spécificité. Ils peuvent masquer les antigènes O. Le chauffage à 100°C pendant une dizaine de minutes démasque l'antigène O qui devient alors agglutinable par les sérums anti-O.

F. Schéma de Kauffmann-White (37)

Le schéma de Kauffmann-White est le tableau des formules antigéniques des sérovars de *Salmonella* où sont indiqués dans l'ordre les facteurs O, l'antigène Vi éventuellement, les antigènes H phase 1 et 2. Par exemple, celle du sérovar Abortusovis s'écrit 4, 12, c, 1, 6, ce qui signifie qu'il possède les facteurs O : 4 - majeur - et 12 - accessoire -, qu'il ne possède pas l'antigène Vi, que l'antigène H1 a la spécificité c et H2 la spécificité 1,6.

G. Lysotypie (33)

La lysotypie consiste à étudier la sensibilité ou la résistance des souches à une série de bactériophages sélectionnés. Un certain nombre de systèmes de lysotypie ont été mis au point pour de nombreux sérovars (Typhi, Typhimurium, Montevideo, Virchow...). Cette méthode n'est utilisée que dans quelques laboratoires très spécialisés.

H. Nomenclature des salmonelles (13)

La nomenclature des salmonelles est particulièrement complexe car elle fait l'objet de controverses liées, principalement, à un avis de la « Judicial Commission » (la « JC » est une commission spécialisée du « Comité International de Systématique des Procaryotes »). Afin d'éviter des difficultés de compréhension, certains aspects ont été simplifiés.

Le genre *Salmonella* est l'un des genres de la famille des *Enterobacteriaceae* et les *Approved Lists of Bacterial Names* considèrent que cinq espèces ont un statut dans la nomenclature : *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*.

Depuis la parution de ces listes, les hybridations ADN-ADN ont démontré que toutes les souches de salmonelles appartenaient à une seule « genomospecies » appelée *Salmonella choleraesuis*. Ce nom d'espèce a été retenu parce que c'est celui de l'espèce-type du genre *Salmonella*. Les cinq espèces citées dans les *Approved Lists* sont donc des représentants de cette unique genomospecies. Au sein de cette genomospecies, les pourcentages d'homologies ADN-ADN permettent de reconnaître 7 sous-groupes qui sont également identifiables par leurs caractères phénotypiques. LE MINOR et al. (1982, 1986) proposent de reconnaître 7 sous espèces au sein de *Salmonella choleraesuis* : *Salmonella choleraesuis* subsp. *arizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *diarizonae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *houtenae*, *Salmonella choleraesuis* subsp. *indica* et *Salmonella choleraesuis* subsp. *salamae*. Tous ces noms ont fait l'objet d'une publication valide et ont un statut dans la nomenclature.

Suite à ces validations et en accord avec les données scientifiques, le genre *Salmonella* ne comprenait donc qu'une unique espèce, *Salmonella choleraesuis*, elle-même subdivisée en 7 sous-espèces. Les homologies ADN-ADN montrent que *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium* (espèces citées dans les *Approved Lists*) appartiennent à la sous-espèce *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis*.

Au sein de chacune des sous-espèces de *Salmonella choleraesuis*, il est possible de distinguer des sérovars caractérisés, comme nous l'avons vu précédemment, par leurs antigènes O, H et éventuellement Vi. En bactériologie, les sérovars d'une espèce ou d'une sous-espèce bactérienne sont habituellement désignés par leurs formules antigéniques (cf schéma de Kauffmann-White). Les sérovars de la sous-espèce *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* font exception à cette règle et ils portent un nom. Les noms des sérovars indiquent soit un syndrome ou une maladie (*typhi*, *abortusequi*, *bovismortificans*...), soit un hôte de prédilection (*gallinarum* ...), soit l'origine géographique de la première souche isolée (*panama*, *london*, *paris*, *telekebir*...).

Afin d'éviter toutes confusions entre la dénomination des espèces et celle des sérovars, LE MINOR et POPOFF (1987) ont proposé d'écrire les sérovars avec une majuscule et sans utiliser l'italique (par exemple *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* ser. Abortusovis). Dans la pratique courante, il est également possible de désigner les sérovars sous une forme abrégée : *Salmonella* Abortusovis. L'absence de mention de la sous-espèce ne peut pas être une source de confusion car seuls les sérovars de la sous-espèce *Salmonella choleraesuis* subsp. *choleraesuis* portent un nom.

Afin de respecter la réalité scientifique et pour résoudre une difficulté liée à la terminologie de *choleraesuis* (il existe aussi un sérovar Choleraesuis !), LE MINOR et POPOFF soumettent

une requête à la Judicial Commission : ils proposent que le genre *Salmonella* ne comprenne qu'une seule espèce divisée en 7 sous-espèces et de remplacer le terme *choleraesuis* par *enterica*. Ces propositions sont rejetées par la Judicial Commission. La raison de ce refus est lié au statut de la bactérie responsable de la fièvre typhoïde qui est une infection grave chez l'homme. Cette bactérie passerait du rang d'espèce (*Salmonella typhi*) au rang de serovar de *Salmonella enterica* subsp. *Enterica*, ce qui pourrait entraîner une confusion.

En 1989, REEVES *et al.* élèvent la sous-espèce *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori* au rang d'espèce, *Salmonella bongori*. Le genre *Salmonella* comprend donc deux espèces.

En conclusion et en pratique, trois possibilités sont offertes aux microbiologistes :

- un auteur « légaliste » pourra utiliser les noms des cinq espèces figurant dans les *Approved Lists* même si ce n'est pas scientifiquement justifié
- un auteur désirant respecter les règles de nomenclature doit utiliser les noms de *Salmonella bongori* et de *Salmonella choleraesuis* (avec les 6 sous-espèces)
- un auteur qui souhaite s'exprimer comme la majorité des scientifiques suivra les propositions de LE MINOR et POPOFF et utilisera la nomenclature de *Salmonella bongori* et de *Salmonella enterica* (avec les 6 sous-espèces).

Nous utilisons dans cette thèse la nomenclature de LE MINOR et POPOFF car elle est logique et scientifiquement justifiée, même si elle est « illégale » du point de vue des règles de la nomenclature.

III. Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose

L'expression clinique d'une salmonellose résulte d'un déséquilibre entre la pression exercée par l'agent microbien et la résistance de l'organisme visé (33). Elle peut être liée à une contamination récente brutale ou bien le plus souvent être la conséquence de l'activation d'une infection latente liée au « stress » comme par exemple le part (57) ou un transport (8). La fréquence non négligeable avec laquelle des salmonelles sont mises en évidence dans les différentes composantes de l'environnement, qu'il s'agisse des milieux extérieurs (sols, eaux, végétaux) ou des vecteurs animés (animaux sauvages et domestiques), conduit à l'existence d'un lien épidémiologique entre leur contamination et l'apparition d'épisodes de salmonellose chez les animaux d'élevage.

A. Survie des salmonelles dans l'environnement

Si l'environnement peut tenir une place dans les chaînes contaminantes, c'est que les salmonelles possèdent l'aptitude à demeurer viables et virulentes en dehors des organismes vivants qu'elles « parasitent » habituellement. Cet aspect de la biologie des salmonelles a été abordé par de nombreux auteurs, mais si les conclusions sont positives quant aux possibilités de survie, elles divergent parfois notablement sur la durée de cette survie. Peut-il d'ailleurs en aller autrement lorsque tant de paramètres entrent en jeu : conditions climatiques, nature des supports, nature des sols, composition bactérienne, etc ? Par exemple, selon l'impact de différents facteurs, la survie des salmonelles dans le sol peut aller de 30 jours à 1 an (32).

C.R. FINDLAY fournit les chiffres suivants pour *Salmonella* Dublin (14) :

- dans les fèces d'un animal infecté, survie supérieure à 28 semaines ;
- lors d'épandage, la survie au sommet de l'herbe serait de 10 jours contre 14 à 19 jours à la base de l'herbe.

J. GLEDEL fournit de nombreuses informations tirées de ses recherches bibliographiques (21) :

- inactivation des salmonelles par la chaleur (en bouillon) à 60°C en 1h25 ou à 70°C en 5 mn ;
- inactivation par les rayons solaires : 10 j ;
- survie dans des produits secs : poussières (80 j), déjections sèches (de 90 à 185 j) ;
- survie à 8°C : en eau de rivière (de 20 à 120 j), dans le sol (2 mois), dans la boue (plus de 3 mois)
- survie sur des revêtements : métal (55 j), terre (43 j), plancher en bois (87 j), boîtes pour aliment (108 j)
- survie dans l'eau : eau de pluie (118j), eau de puits (90 j), eau du robinet (29j).

Il semble aussi que *S. Dublin* puisse persister 73 jours dans les fèces en hiver et 119 jours en été, alors que pour certains, cette survie pourrait être plus longue encore : 6 mois dans les fèces à l'extérieur et 10 mois sur les murs, voire 8 à 36 mois dans les fèces desséchées (86).

Selon PLATZ, les salmonelles pénètrent dans le sol et leur temps de survie dans ce dernier est double de celui observé à la surface du sol. Les sols lourds assurent une meilleure protection que les sols sableux (40).

L'ensemble des données rapportées ci-dessus indique bien que les salmonelles possèdent une aptitude à survivre dans le milieu extérieur pendant des périodes de temps non négligeable en fonction de nombreux paramètres dont les conditions climatologiques et la nature du sol ou du support.

B. La contamination des eaux

L'eau est responsable de nombreuses infections digestives dont les infections à *Salmonella* (36). Ce sont les eaux de ruissellement, les égouts, les ruisseaux et autres cours qui facilitent la dispersion géographique des germes. Des observations ont montré que les *Salmonella* ont été isolées jusqu'à 350 m de la source d'origine (36). Il y a donc lieu de considérer les évacuations à partir des fermes, les effluents des stations d'épuration, les petits ruisseaux et les rives des cours d'eau, comme autant de voies par où les salmonelles s'échappent dans l'environnement.

Comme nous l'avons précédemment vu, la persistance du germe dans l'eau est possible et durable. Les animaux peuvent absorber des salmonelles directement à partir d'eau polluée ou indirectement par l'intermédiaire d'herbe ou de fourrage souillé. Ainsi, l'irrigation et l'épandage peuvent être à l'origine d'un contact *Salmonella/animal*.

Il est même possible de voir les salmonelles se multiplier dans l'eau dans certaines conditions (26).

Les épisodes de salmonellose bovine font souvent jouer un rôle de vecteur à l'eau dans la chaîne de contamination. MORISSE a procédé à la surveillance d'un cours d'eau traversant une zone où sévissait la salmonellose bovine (57). Cette zone d'une superficie évaluée à 15,5 ha, abrite de nombreux élevages de caractère intensif, de porcs et de volailles principalement, mais aussi de bovins. Y sont encore installés 2 couvoirs, 1 laiterie et 4 abattoirs. La surveillance a porté sur une portion de 20 km. Sur le cours d'eau principal, on prit 40 échantillons et sur les affluents (ruisseaux, sources) 72 échantillons. Trente-neuf pour cent des échantillons d'eau furent positifs avec identification de 14 sérotypes (3 ou 4 seulement de sérotype commun chez les bovins).

La fréquence des contaminations est différente selon que les prélèvements sont effectués sur le cours d'eau principal ou sur les affluents : sur le cours principal, 57,5% des prélèvements contenaient des salmonelles contre 29,2% de ceux provenant des affluents. Cette différence est logique dans la mesure où le cours d'eau principal se comporte comme un collecteur de pollutions. Il est plus surprenant de constater le taux élevé de contamination des sources et des petits ruisseaux, lié sans doute au nombre et à la diversité des élevages de toutes natures implantés dans la région.

Pour clore ce chapitre, nous pouvons dire que le milieu hydrique constitue un support favorable à la survie et à la diffusion des salmonelles et qu'il participe de manière déterminante aux cycles de contamination.

C. La contamination des pâturages

Les pâturages sont très souvent contaminés par les *Salmonella* et ceci de plusieurs manières :

- par l'excrétion des animaux porteurs présents sur ces pâturages ;
- par des eaux de ruissellement ;
- par l'épandage de lisiers et autres déjections animales sur ces pâturages.

L'utilisation accrue de lisier est un risque important de contamination des pâturages (82).

Le développement des élevages hors sol, qui comporte nécessairement la concentration d'effectifs d'animaux considérables sur des surfaces réduites, a provoqué l'émergence de nouveaux problèmes de santé publique d'une ampleur insoupçonnée. Les déjections de ces animaux, qui ne peuvent plus être traitées selon les procédés traditionnels, constituent un volume énorme de déchets dont l'élimination reste délicate. Le sol étant considéré comme le meilleur réceptacle à vocation épurative, c'est vers l'épandage qu'a été recherchée une solution. Or les surfaces disponibles à proximité de ces grands élevages, souvent concentrés dans des secteurs géographiques limités, ne sont pas suffisantes pour être utilisées à une telle fin de manière satisfaisante.

Dans le mois d'apparition de la salmonellose, la contamination atteint des niveaux de 10^3 à 10^4 *Salmonella*/ml de lisier. Une décroissance s'installe entre le 2^e et le 5^e mois pour aboutir à 10^2 *S.*/ml (5).

On peut opposer le lisier, liquide, au fumier (largement utilisé en élevage ovin) comportant beaucoup de paille et dont le stockage pendant une longue période assure la destruction de nombreux organismes pathogènes. Les salmonelles y disparaîtraient en 37 jours (32).

L'importance de la contamination des animaux par le pâturage a été avancée par WILLIAMS (82). Il note que l'incidence de la maladie atteint un pic en fin de saison de pâturage et incrimine donc ce dernier.

D. Les aliments contaminés

Les aliments concentrés d'origine animale (poudre d'os, farine de viande et de poisson) sont des facteurs de risque de contamination du porc et de la volaille, voire des bovins. Ces produits sont stérilisés correctement et l'on incrimine plutôt une recontamination, par l'homme, les rongeurs ou les oiseaux, comme étant la cause de l'apparition des salmonelles dans ces aliments. L'importation de sérovars étrangers plus ou moins pathogènes peut être réalisée par ce biais (58).

Certaines recherches tendraient à montrer que ce type de contamination est aussi possible avec des aliments à base de céréales et de tourteaux. Les fréquences de contamination des

matières premières peuvent atteindre 11,9 % pour le tourteau de colza, 10,1 % pour le tourteau de tournesol et 6,8 % pour le tourteau de soja (5).

En ce qui concerne les fourrages et les ensilages, ils ne semblent pas être une source importante de contamination (82). En effet, un ensilage correctement préparé a un pH minimal inférieur à 4 et donc ne permet pas la survie des salmonelles (86).

E. *Salmonella* et vecteurs animés

Parmi les différents animaux susceptibles d'apporter des salmonelles dans l'environnement immédiat des bovins et des ovins, il faut faire une mention particulière pour les vecteurs libres, sauvages : oiseaux, insectes, reptiles, rongeurs, mais aussi signaler le rôle éventuel des autres animaux domestiques, chevaux, chiens, chats, volailles.

Les rongeurs, volontiers accusés d'être des colporteurs privilégiés d'agents pathogènes pour l'homme et les animaux, ont la malchance d'avoir donné leur nom au sérovar le plus ubiquitaire et le plus redouté, *Salmonella* Typhimurium. De là à considérer que tous les rongeurs sont porteurs de salmonelles, il n'y a qu'un pas, vite franchi, mais peut-être avec trop de précipitation. Pour exemple, BILLON procédant à l'examen systématique de 1009 rats capturés à Paris au cours de plusieurs années n'a mis en évidence que 3 sujets contaminés par *S. Panama* (1).

Des enquêtes faites essentiellement par des épidémiologistes et des bactériologistes anglais ont permis de préciser la grande fréquence de portage de *Salmonella* par les mouettes. En effet, des auteurs ont pu rattacher l'évolution de la salmonellose dans un troupeau laitier de 180 vaches dans le nord de l'Ecosse à la contamination du point d'eau servant à alimenter la ferme par des mouettes (30). D'autres espèces d'oiseaux ont fait l'objet d'investigations de même nature. Les moineaux, les tourterelles, les pigeons peuvent également héberger des salmonelles (21).

Des chercheurs ont trouvé des salmonelles dans des fourmis, des mouches et des cafards.

Les serpents se révèlent fréquemment contaminés, mais surtout par *S. arizonae*.

Des grenouilles, des lézards, des tortues d'aquarium ont également été reconnus porteurs de salmonelles. Pour les tortues, ce fait a été jugé suffisamment gênant pour que leur commerce soit réglementé (21).

Les ruminants domestiques peuvent se trouver au contact d'autres animaux domestiques ou entrer en contact avec des matières contaminantes souillées par ceux-ci. Ainsi, la salmonellose équine avec portage sain n'est pas une rareté.

Bien entendu, la possibilité existe de voir des chiens et des chats véhiculer des salmonelles. On a découvert sur des chats destinés à la recherche pharmaceutique que 15 sur 142 étaient porteurs de *Salmonella spp.* (15).

Il y a donc à proximité des bovins et des ovins, et des aliments qui leurs sont destinés, une très grande variété d'animaux capables de transmettre ou de répandre des salmonelles plus ou moins pathogènes. Sans doute doit-on ajouter à cette liste l'homme lui-même, maillon robuste de la chaîne infectante.

Afin de résumer le chapitre III (Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose.), la figure 1 présente un schéma de la circulation des salmonelles et les sources de contamination du bétail.

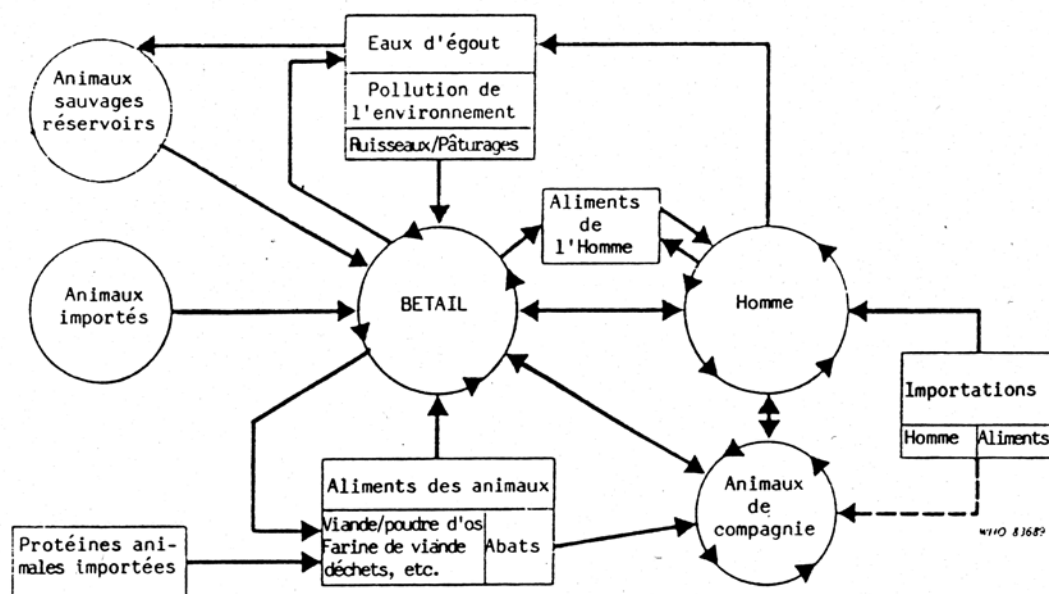


Figure 1. Circulation des salmonelles et contamination du bétail (21).

IV. Physiopathologie des infections salmonelliques

A. Généralités

Le terme de salmonellose recouvre des tableaux cliniques très variés (entérite, septicémie, avortement, affections diverses), eux-mêmes potentiellement associés à un très grand nombre de sérovars de *Salmonella*. Classiquement, tous les sérovars sont considérés comme pathogènes (selon l'OMS) pour les animaux ou pour l'homme. Cependant, certains d'entre eux paraissent strictement spécifiques de leur hôte comme par exemple *Salmonella Typhi* chez l'homme ou *S. Abortusovis* chez les ovins. D'autres sérovars, comme *S. Dublin*

chez les bovins ou *S. arizonae* chez les ovins, semblent bien adaptés à l'espèce hôte, mais se révèlent opportunistes pour d'autres espèces animales (69).

Les infections salmonelliques représentent un remarquable modèle d'entéroinvasion. Ainsi, en pathologie humaine, au cours des entérocrites salmonelliques (non typhoïdiques), les symptômes diarrhéiques prédominent sur le plan clinique et la translocation bactérienne vers les nœuds lymphatiques mésentériques reste silencieuse et sans suite. Symétriquement, la fièvre typhoïde est un modèle de septicémie à point de départ lymphatique (67).

Les facteurs pathogènes impliqués dans l'invasion et la dissémination ont fait l'objet de développement récents dans le modèle murin. Paradoxalement, les mécanismes d'apparition des lésions et des symptômes sont encore relativement mal connus.

B. Doses infectantes et susceptibilité de l'hôte

La définition des doses infectantes s'avère difficile et dépend étroitement de facteurs bactériens et de facteurs liés à l'hôte.

1. Facteurs bactériens

Des inoculums d'une même souche de *S. Typhimurium*, de 10^4 à 10^{11} UFC (Unité Formant Colonies) administrés *per os* à des veaux induisent des effets cliniques dont la gravité et la fréquence sont globalement proportionnelles à la taille de l'inoculum (71).

La dose létale 50 % de *S. Typhimurium* chez les ovins adultes est selon les expériences de 10^6 à 10^{15} UFC par voie orale (4) (85).

Au sein d'un même sérovar, existent des souches à fort pouvoir pathogène (exemple du lysovar DT 104 pour *Typhimurium*). Expérimentalement, sur des veaux de 25 jours, les résultats cliniques et bactériologiques diffèrent selon les souches inoculées de *S. Typhimurium* avec la même taille d'inoculum (35). Des différences de pathogénicité existent donc entre sérovars, en particulier sur le plan qualitatif.

Les infections expérimentales avec *S. Abortusovis* ont utilisé différentes voies d'inoculation ; dans de nombreux cas, la maladie n'a pu être reproduite par voie orale. La voie sous-cutanée semble être plus efficace que la voie intra-gastrique ; l'avortement a lieu environ 20 j. après (85). Par contre avec *S. Montevideo*, l'avortement de brebis pleines a pu être reproduit par voie orale. L'auteur conclut que le syndrome produit par *S. Montevideo* est semblable à celui produit par *S. Abortusovis* (38).

2. Facteurs liés à l'hôte

- Physiologiques

Le jeune âge correspond à une période de plus grande réceptivité des animaux, comme en témoignent les doses plus faibles permettant d'obtenir l'infection expérimentale (71) et les

très grandes fréquences d'excrétion fécale observées au cours des 2^{ème} et 3^{ème} semaines après l'allotement des veaux. Sur des vaches adultes, l'inoculation intra-ruminale unique de 10⁹ UFC de *S. Dublin* conduit exceptionnellement à des signes cliniques. Certains paramètres du milieu ruminal inhibent le développement des salmonelles, en particulier des teneurs élevées en Acides Gras Volatils (AGV) (69).

Ainsi, une irrégularité des apports alimentaires, le jeûne, pourraient, via une faible production d'AGV, favoriser la survie des salmonelles dans le rumen.

Dans l'espèce bovine, la période du post partum s'accompagne d'une plus grande fréquence des cas cliniques et également de l'excrétion fécale (55). L'immunodépression liée à la mise bas, les changements alimentaires avec les perturbations digestives qui en résultent, sont les deux explications les plus communément avancées.

- Pathologiques

Les facteurs de stress qui dépriment les défenses naturelles de l'organisme sont incriminés (47).

L'infestation parasitaire favorise selon certains auteurs l'infection hépatique avec pour conséquences l'installation d'un état de portage actif prolongé et une expression clinique aggravée (22).

Tous les facteurs de dysfonctionnement digestif peuvent être incriminés, en particulier les perturbations de la motricité. Une mention particulière, bien connue dans les espèces aviaires concerne le rôle protecteur (effet barrière) joué par la microflore intestinale. La microflore ruminale joue également un rôle important (23).

L'infection virale intercurrente favorise l'expression clinique de la maladie en déprimant par exemple les défenses immunitaires dans le cas de l'infection par le virus de la maladie des muqueuses chez les bovins (64).

- Immunologiques

Toutes les causes de déficience de l'immunité humorale et cellulaire entraînent une plus grande sensibilité à l'infection. Soulignons ici la période particulièrement difficile pour le veau qui se situe entre la fin de la période d'immunité passive d'origine colostrale et la phase où l'immunité active développée par le veau devient efficace. Cette phase correspond justement à celle de plus grande sensibilité aux salmonelloses (47).

Ainsi tous ces facteurs, diversement associés, permettraient d'expliquer l'incohérence entre les fortes doses nécessaires pour reproduire l'infection et les faibles doses qui sont probablement à l'origine des cas spontanés.

C. Etapes de l'infection

1. Les portes d'entrée

La voie orale est la porte d'entrée la plus classiquement décrite, en cohérence avec une contamination à partir d'aliments infectés ou par léchage d'un environnement souillé.

Une contamination par voie respiratoire est possible dans les conditions naturelles ou expérimentales après exposition à des aérosols ou à des poussières infectées (80). MEEHAN (1994) réussit à inoculer des agneaux par voie nasale avec une culture de *Salmonella arizonae* (3). Les résultats de l'expérience ont montré que *S. arizonae* peut infecter et coloniser le tractus respiratoire supérieur des agneaux et induire une légère réponse proliférative de la muqueuse nasale.

Outre les formes pulmonaires de salmonellose, la porte d'entrée respiratoire peut conduire à une atteinte digestive secondaire après bactériémie.

D'autres voies de contamination, comme la voie conjonctivale, diathélique ou génitale sont probablement mineures en terme de fréquence.

2. Franchissement de la barrière épithéliale

Lors de contamination par voie orale, l'entrée des salmonelles semble s'effectuer, pour l'essentiel, au travers de la muqueuse de l'iléon, riche en plaques de Peyer. Les salmonelles envahissent divers types cellulaires, les entérocytes et en particulier les cellules M, spécialisées dans la capture des particules intraluminales en rapport avec des macrophages et des lymphocytes sous-jacents (7).

Pour les entérocytes, l'invasion cellulaire débute par un effacement des microvillosités, la formation d'une collerette qui englobe la bactérie et un réarrangement du cytosquelette. Après endocytose, la bactérie migre au sein d'une vacuole phagocytaire au travers de la cellule et réapparaît sur la face basolatérale. Les mécanismes d'invasion épithéliale sont complexes et résultent d'un « dialogue » biochimique entre la bactérie et la cellule.

3. Dissémination systémique

Après avoir franchi la barrière épithéliale, les salmonelles sont phagocytées par les macrophages de la *lamina propria* ou de la sous-muqueuse. Les bactéries sont ainsi transportées jusqu'aux nœuds lymphatiques loco-régionaux. Leur dissémination peut s'arrêter là avec destruction de la bactérie. Inversement, les salmonelles peuvent gagner le foie et la rate où elles se multiplient. Elles peuvent alors envahir l'ensemble des organes après une phase bactériémique.

La survie intracellulaire, en particulier dans les phagocytes professionnels, et divers attributs de virulence expliquent le caractère généralisé de l'infection. La survie et la croissance possibles des salmonelles dans les cellules épithéliales et macrophagiques sont un des facteurs

majeurs de leur pathogénicité. Elles peuvent également se multiplier en position extracellulaire.

En conclusion, la figure 2 résume comment les salmonelles se disséminent dans l'organisme chez les ruminants et ensuite contaminent l'espèce humaine.

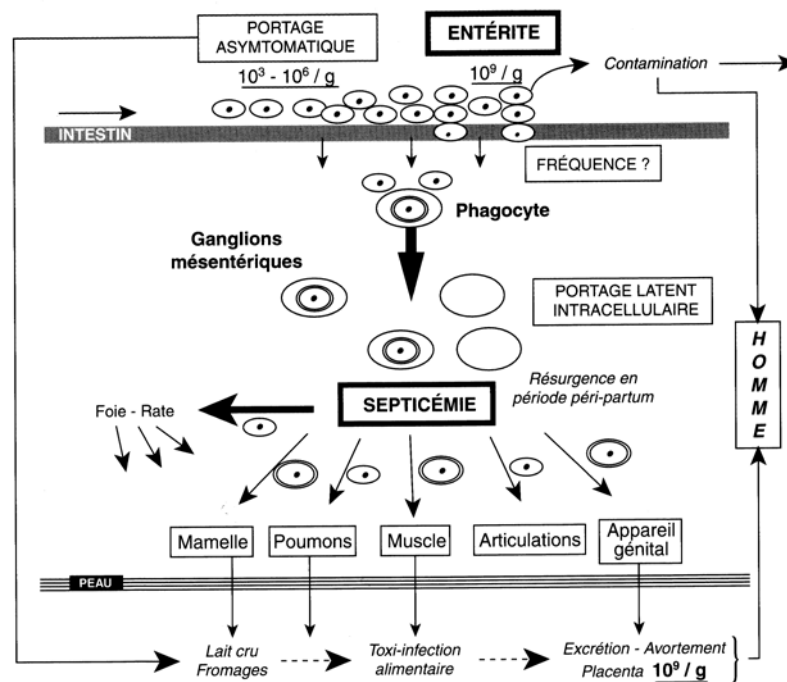


Figure 2. Schéma de dissémination des salmonelles chez les bovins et contamination humaine (11).

V. Etude clinique des infections salmonelliques chez les bovins et les ovins

A. Evolution de la clinique des salmonelloses bovines

1. Avant les années 1970

Les salmonelloses étaient apparemment peu fréquentes. Elles se manifestaient essentiellement par des avortements en fin de gestation, accompagnés ou non d'entérite avec un très faible taux de mortalité.

La pathologie bovine était dominée par un sérovar spécialisé, *S. Dublin*. Le caractère saisonnier (expression clinique à la fin de l'automne et début de l'hiver) et régional (zones humides) était assez marqué (49).

2. Au cours des années 1970

La multiplication des cas de salmonelloses septicémiques chez le veau jusqu'à l'âge de deux mois a accompagné le développement de l'élevage intensif du veau de boucherie. Un

confinement excessif des veaux favorise la contamination de l'air et donc des animaux qui vont développer des formes pulmonaires très contagieuses.

Dans ces conditions, les salmonelles simulent les broncho-pneumonies enzootiques d'origine virale d'autant plus que les souches isolées se révèlent souvent multirésistantes aux antibiotiques (48).

Au cours de cette période, le sérovar ubiquiste *S. Typhimurium* a pris progressivement de l'importance et il occupe une place très largement majoritaire dans les bilans actuels.

3. A la fin des années 1980 (46)

Une nouvelle évolution s'est amorcée avec une recrudescence, chez les bovins adultes, d'entérites évoluant rapidement vers des formes septicémiques mortelles en l'absence de traitement anti-infectieux rationnel. Cette évolution ressort très nettement de la comparaison des bilans du CNEVA Paris.

Le sérovar Dublin, spécifique des bovins, qui arrive en tête des bilans jusqu'en 1987, a été dépassé depuis par le sérovar ubiquiste *Typhimurium* qui poursuit sa progression.

B. Caractères cliniques des infections salmonelliques bovines

L'étude physiopathologique nous a montré que, suite à une contamination orale, plusieurs évolutions sont possibles :

- passage des salmonelles dans le milieu intracellulaire des macrophages avec soit inactivation totale des bactéries, soit portage latent ;
- multiplication locale dans le tube digestif responsable d'une gastro-entérite ;
- libération d'endotoxines responsables du choc endotoxinique ;
- dissémination dans l'organisme précédant une septicémie ou la localisation dans différents organes : utérus, mamelle, poumons, articulations,...

1. Infection inapparente (47)

On distingue différents types de portage de *Salmonella* :

- le portage actif concerne les malades apparents, qui excrètent des salmonelles de façon massive ;
- le portage passif ne dure que quelques jours et correspond à un simple transit des salmonelles dans le tube digestif, sans implantation réelle. Pendant cette période, on peut retrouver le germe dans les excréments, mais l'animal n'est pas réellement infecté et après un délai maximal de 2 semaines, les salmonelles ont toutes été éliminées.
- les porteurs latents sont asymptomatiques et n'excrètent pas de salmonelles. Les bactéries sont en position intracellulaire, en général dans les ganglions

mésentériques. Les coprocultures sont négatives, sauf lorsque l'excrétion est provoquée par un stress. Certains porteurs latents deviennent porteurs actifs, au même titre que les malades et les convalescents qui excrètent les salmonelles de façon continue ou intermittente.

Les infectés inapparents, en particulier les porteurs latents, sont difficiles à repérer même par coproculture. Ils constituent un réservoir de salmonelles potentiellement pathogènes pour leurs congénères et pour l'homme. Ce portage inapparent sera développé en détail dans les prochains chapitres.

2. Forme génitale

Elle se traduit chez les bovins par des avortements sporadiques en fin de gestation, généralement en automne. Ils peuvent être le seul révélateur d'une infection latente du troupeau.

Lors d'une infection à *Salmonella* Dublin, l'avortement est le signe majeur (51).

Par contre, l'avortement en cas d'infection par *S. Typhimurium* ou les autres sérotypes est un signe moins fréquent, mais pas impossible.

L'avortement salmonellique est précédé de diarrhée dans 10 % des cas ou de fièvre dans également 10 % des cas (49). La mortalité des mères est pratiquement nulle.

L'avortement survient entre le 6^{ème} et le 8^{ème} mois de gestation, la moitié des cas pendant le 7^{ème} mois. Ni l'âge de la mère, ni la race ne semblent prédisposer l'animal à ce type d'avortement. La rétention placentaire est rapportée dans 70 % des cas mais il n'y a pas d'augmentation de l'infertilité ni de l'anoestrus.

Le placenta est massivement contaminé, de l'ordre de 10^9 à 10^{10} germes par gramme (47), alors que l'excrétion fécale reste plus faible (10^3 à 10^4) (49). Par contre, tous les fœtus ne sont pas infectés et l'infection transplacentaire systémique n'est pas prouvée (47).

Comme nous l'avons précédemment dit, la forme génitale de salmonellose bovine est en diminution du fait de la réduction apparente des infections à *Salmonella* Dublin. Il est toutefois important de suspecter une salmonellose en cas d'avortement parce que ceux-ci peuvent être le seul signe d'une infection du troupeau. Par ailleurs, le placenta et les sécrétions génitales étant fortement contaminantes, il faut isoler la vache qui a avorté.

3. Hyperthermie

L'hyperthermie est le symptôme le plus fréquemment observé lors d'épisode clinique. Plus de la moitié des vaches dans les troupeaux infectés ont de la fièvre (42). Cette hyperthermie est importante, de 40 à 42 °C. Elle s'accompagne du syndrome fébrile : tuphos, anorexie, tarissement de la sécrétion lactée de l'animal atteint et chute de la production de troupeau.

Le syndrome fébrile peut être le seul signe de l'infection salmonellique ou alors précéder de 24 à 48 heures l'apparition des signes digestifs chez les adultes ou les veaux.

4. Forme digestive

Toute entérite chez un bovin, quel que soit son âge, peut être une forme clinique d'infection salmonellique. Tous les sérovars de salmonelles peuvent théoriquement être responsables d'une gastro-entérite.

- Chez le veau (42)

La forme néonatale se déclare sur des animaux âgés de 1 à 2 jours, surtout sur les races allaitantes. Le veau présente un syndrome fébrile accompagné d'une diarrhée hémorragique. L'évolution se fait soit vers la mort, soit vers des rémissions précédant des rechutes mortelles suite à une bactériémie, accompagnée d'arthrite ou de pneumonie.

La forme aiguë est typique et fréquente. Elle touche surtout les veaux allotés en élevage industriel, âgés de 10 à 20 jours. Les symptômes généraux de tymphos et d'hyperthermie (40 à 41 °C) précèdent de 24 heures l'apparition d'une diarrhée nauséabonde, glaireuse, muqueuse, généralement hémorragique. Parfois, la fibrine peut former un moule interne de la muqueuse et, plus rarement, des débris de la muqueuse intestinale sont excrétés. Il faut souligner la grande contagiosité de cette forme de salmonellose. Le veau présente des coliques et des épreintes. Le choc endotoxinique, les coliques et la déshydratation consécutive à la diarrhée tuent 90 % des veaux en 1 à 7 jours.

La forme subaiguë à chronique touche les veaux d'un mois, un peu plus résistants. Les symptômes ne sont pas caractéristiques : l'animal est maigre, prostré, avec une diarrhée mastic jaunâtre. Le veau souffre souvent de complications articulaires. L'évolution est également mortelle.

- Chez l'adulte

La forme classique associe une atteinte de l'état général (tymphos, diminution de la production lactée, inrumination, hyperthermie) à des symptômes digestifs. La vache présente une diarrhée nauséabonde, hémorragique, des coliques et du ténesme (42).

Elle s'observe surtout chez les vaches laitières hautes productrices, peu après le vêlage. Le taux de morbidité peut atteindre 25 % des adultes et la mortalité est élevée en l'absence de traitement (51). En cas de sensibilité extrême de l'animal, quel que soit son âge ou selon le sérovar responsable de l'infection, en particulier *Salmonella* Typhimurium, l'animal peut développer une septicémie avant de présenter des signes d'entérite.

5. Septicémie

Elle se développe habituellement chez les veaux jusqu'à 2 mois, dans les élevages industriels, conséquence du stress de l'allotement et de la sélection des souches de salmonelles par l'antibiosupplémentation.

La septicémie se rencontre moins fréquemment chez des adultes sauf si leur système immunitaire est affaibli : animaux âgés ou ayant subi une chirurgie. La salmonellose peut être une complication grave d'une césarienne ou d'une laparotomie.

La mort peut être brutale, sans prodrome, ou être précédée de signes généraux graves ou d'entérite.

Lors de phases systémiques, les germes peuvent être disséminés par voie sanguine vers différents organes : appareil génital, articulations, poumons, mamelle, système nerveux central (50).

6. Forme pulmonaire

Elle atteint les veaux de boucherie ou les taurillons à l'engrais dans les élevages intensifs. Elle est liée à une contamination par voie aérienne ou conjonctivale (47), ou fait suite à une dissémination par voie sanguine (50).

La clinique ressemble aux signes de bronchopneumonie infectieuse enzootique et associe symptômes généraux (tuphos) et symptômes locaux : la toux est sèche et quinteuse, accompagnée de jetage séreux puis muqueux et de conjonctivite (44). Une diarrhée discrète est notée dans 70 % des cas (42).

7. Autres formes plus rares (42)

Après bactériémie, une forme digestive peut se compliquer par des arthrites et un pseudo-syndrome de Raynaud, avec nécrose sèche des extrémités : oreilles, queue et membres.

En cas d'atteinte du système nerveux central, l'animal, surtout le veau, développe une méningo-encéphalite sans caractère particulier, avec des troubles nerveux en hyper : convulsions, pousser au mur, mouvements anormaux.

Enfin, des péritonites aiguës avec fièvre, tuphos, déshydratation, coliques, essoufflement, sans diarrhée, ont été décrites chez le veau.

Pour résumer ce chapitre clinique, le tableau 2 présente des observations cliniques effectuées dans 25 troupeaux laitiers atteints de salmonellose (Tableau 2).

Tableau 2. Observations cliniques dans 25 troupeaux infectés par *Salmonella* (42).

Catégories d'animaux	Nombre d'animaux observés	Manifestations cliniques									
		Avortements		Hyperthermie		Diarrhée		Autres symptômes		Mortalité	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Vaches	985	26	2,6	503	51,1	466	47,3	211	21,4	44	4,5
Veaux	365	–	–	–	–	276	75,6	–	–	102	27,9
Autres catégories	–	–	–	–	–	98	–	Troubles respiratoires 6 élevages		6	–

C. Particularités de la salmonellose ovine par rapport à la salmonellose bovine

L'infection salmonellique chez les ovins se manifeste sous différentes formes cliniques qui sont comparables à celles de la salmonellose bovine, précédemment citées. Cependant chez les ovins, avec les sérotypes ubiquistes, l'infection inapparente est la règle, la maladie est relativement rare.

Un sérovar est spécifique aux ovins : *Salmonella* Abortusovis. Cette bactérie n'est pas transmissible à l'homme (47).

Le Tableau 3 présente trois sérovares de salmonelles et leurs symptomatologies. Nous voyons que les infections dues aux sérotypes pathogènes diffèrent selon leurs hôtes d'élection, les expressions pathologiques et les modalités de répartition des cas dans une population.

Tableau 3. Infections salmonelliques : trois exemples (63).

	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Dublin</i>	<i>S. Abortusovis</i>
Hôtes			
Homme	++	+	–
Bovins	+++	+++	–
Petits Ruminants	++	++	+++
Autres	++	+	–
Clinique			
Adultes	Entérites Avortements	Avortements Entérite	Avortements

	Entérites	Entérites	
Jeunes	Pneumonies Septicémies	Pneumonies Septicémies	Pneumonies Septicémies
Evolution	Sporadique	Tendance enzootique	Enzootique

Si l'on regarde le Tableau 4, malgré les biais potentiels liés au recrutement des souches par un laboratoire de référence, on constate que globalement les petits ruminants sont moins fréquemment touchés par les sérovars provoquant des entérites (51). Lorsque la salmonellose survient chez la brebis, elle est dominée par les avortements à *Salmonella* Abortusovis. Le sérotype ubiquiste *S. Typhimurium*, responsable d'entérite, arrive loin derrière en deuxième position : la poussée de ce sérotype chez les bovins concerne donc de façon plus discrète les petits ruminants.

Tableau 4. Principaux sérotypes de *Salmonella* isolés chez les petits ruminants en France (d'après le bilan 1988-1989 de l'AFSSA Paris) (51).

Sérotype isolé	Nombre de sérotypes isolés
<i>S. Abortusovis</i>	56
<i>S. Typhimurium</i>	19
<i>S. Enteritidis</i>	10
<i>S. Indiana</i>	9
<i>S. Dublin</i>	8
<i>S. Anatum</i>	6
<i>S. Montevideo</i>	4
<i>S. Bredeney</i>	2
<i>S. Virchow</i>	2
<i>S. Newport</i>	1
<i>S. Infantis</i>	1

L'avortement est le principal symptôme de l'infection à *S. Abortusovis*. La contamination se fait par la voie digestive essentiellement. La bactériémie qui peut faire suite permet une colonisation du foie, de la rate, des poumons, mais surtout du placenta avec un passage transplacentaire vers le fœtus. On parle de cycle fœtal-oral.

Par contre la voie génitale serait exclue car il n'y aurait qu'un portage temporaire local inférieur à un mois.

La contamination du milieu extérieur est réalisée par les avortons et le contenu de l'utérus d'une femelle ayant avorté. Suite à la contamination digestive, deux cas se présentent : la femelle gravide est dans un milieu propice à une gestation correcte et ne devient qu'une simple porteuse avec comme matière virulente les fèces, ou elle est soumise à un stress quelconque et avorte (changement trop important de température, mauvaise alimentation, densité élevée...) (62).

L'avortement survient en général dans la deuxième moitié de la gestation ; des avortements plus précoces, difficilement observables, ne sont pas rares cependant.

Des avortements successifs sur la même brebis sont rares mais possibles avec reprise de l'excrétion bactérienne. Dans les troupeaux déjà infectés, les avortements concernent surtout les agnelles et les brebis saines nouvellement introduites.

Les rétentions placentaires avec métrites sont rares mais peuvent être suivies de septicémie avec excrétion fécale (62).

Les agneaux nés faibles peuvent mourir dans les heures qui suivent la mise bas. Certains agneaux nés vigoureux meurent dans les trois semaines de septicémie. Des formes pulmonaires sont parfois observées chez des agneaux de un à trois mois (85).

D. *Salmonella arizonae* : une sous-espèce (pseudo-)émergente et adaptée aux ovins ?

Comme nous l'avons précédemment vu, les salmonelles des sous-espèces autres que I sont surtout isolées d'animaux à sang froid (les reptiles) et de l'environnement et ne sont qu'exceptionnellement la cause de troubles pathologiques chez l'homme et les ruminants. Les infections chez les animaux à sang chaud par le sous-type III (habituellement rattaché au groupe *S. arizonae*) ne sont pas communes (24). Cependant, de 1991 à 1997, au Royaume-Uni, le groupe *arizonae* arrive en deuxième position (derrière Typhimurium) des sérovars les plus isolés sur le mouton (85).

Salmonella arizonae fut pour la première fois identifiée et sérotypée sur la carcasse d'un agneau mort-né en 1952 aux Etats Unis (66).

EDWARDS, en 1959, observe que *S. arizonae* anciennement 26:29:30 (ou O61 : K : 1,5,7 (2,3)) est souvent associée au mouton et que ce sérotype a été isolé aux Etats Unis, en France et en Allemagne (12).

Le premier isolement de *S. arizonae* en Angleterre sur des fèces de brebis fut en février 1976 dans une ferme de l'Essex (24). Des avortements étaient apparus auparavant dans le troupeau. Ces souches fermentaient tardivement le lactose, c'est pour cela qu'elles avaient sur les boîtes de Pétri l'apparence de souches ne fermentant pas le lactose.

En 1977 au Canada, *Salmonella arizonae* fut isolé de 10 avortons de brebis provenant de 4 fermes différentes de Nouvelle-Ecosse. Les lésions histologiques se caractérisaient par une placentite et une broncho-pneumonie sur le fœtus. Les mères ayant avorté étaient porteuses de *S. arizonae* au niveau génital pendant au maximum 90 jours. De nombreuses mères étaient porteuses chroniques au niveau intestinal, mais sans entraîner de symptômes ni de lésions. Les auteurs en ont conclu que *Salmonella arizonae* est adaptée à la brebis-hôte et réside fréquemment dans le tractus intestinal de brebis normales. Les auteurs pensent que ce germe n'est pas un agent significatif de maladies diarrhéiques, mais peut devenir invasif et pathogène quand l'animal est stressé ou immunodéprimé (39).

Tableau 5. Circonstances d'isolement sur des brebis de *S. arizonae* 61:k:1,5,7 au Royaume Uni de 1975 à 1981 (74).

Syndrome clinique	Nombre d'incidents	Autres agents ou autres maladies (incidence)
Avortement	9	Avortement enzootique (5) Campylobacteriose (1) Toxoplasmose (1) Pasteurellose (1)
Métrite	1	Infection à Clostridies (1)
Entérite	7	Parasitisme (2) Coccidiose (1)
Mauvais état général	1	Mauvaise nutrition (1)
Trouvé mort	5	Occlusion intestinale (1) Infestation par les asticots (1) Isolement de <i>S. arizonae</i> considérée comme accidentelle (3)
Isolement sur des animaux en apparence bonne santé	7	
Total	30	

Au Royaume Uni, de 1975 à 1981, sur 353 infections salmonelliques ovines, 30 étaient dus à *Salmonella arizonae* 61:k:1,5,7 (74). Sur les 30 cas, 9 étaient des avortements ; cependant dans 8 de ces avortements, d'autres agents abortifs connus furent isolés (cf. Tableau 5). *Salmonella arizonae* semble fortement impliquée dans 4 cas d'entérites.

Les autres isollements sont des découvertes sur des animaux en bonne santé ou dans des cas où ce germe est considéré comme secondaire par rapport aux autres agents de maladies isolés.

Salmonella arizonae a été isolée sur des brebis de tous les âges.

En 1980, HARP analyse 545 échantillons de fèces d'agneaux diarrhéiques provenant de 12 fermes différentes des Etats Unis (27). *Salmonella arizonae* sérotype 26:30 est isolé dans 6 fermes sur 12. Des études sur la bactérie montrent qu'elle élabore une entérotoxine ; l'activité de cette dernière est plus faible pour des isolats réalisés sur des agneaux provenant de brebis vaccinées contre ce sérotype. Les auteurs n'arrivent pas à reproduire de symptômes diarrhéiques sur des agneaux inoculés oralement avec des cultures à 10^{10} UFC de *S. arizonae*, à la différence de l'inoculation avec *Salmonella* Oranienburg. Ils concluent donc que la sous-espèce *arizonae* est bien adaptée à l'hôte ovin et n'est pas un agent significatif de maladies diarrhéiques dans les fermes où elle existe à l'état enzootique.

HANNAM (1986) effectue plusieurs infections expérimentales avec *Salmonella arizonae* sur des brebis, compte tenu de la prévalence en augmentation de ce groupe de salmonelles (25). A 12 semaines de gestation, 8 brebis sont inoculées oralement avec $3,9 \times 10^9$ UFC de ces bactéries. Aucun signe clinique n'est observé et la salmonelle est retrouvée dans les fèces de toutes les brebis pendant deux semaines. *S. arizonae* n'est pas isolée sur les agneaux des brebis inoculées, à la naissance. Durant les deux mois d'allaitement, elle est isolée sur un seul agneau. Dans une seconde expérience, 10 agneaux sont inoculés avec *S. arizonae* avec des doses allant de $2,5 \times 10^4$ à $4,3 \times 10^8$ bactéries. Un agneau qui avait des taux bas en immunoglobulines est mort après l'inoculation de 10^6 bactéries. Les autres agneaux ont excrété dans les fèces le germe pendant au maximum 6 jours. Un agneau à l'autopsie avait encore des salmonelles dans le gros intestin.

Cette étude montre que *S. arizonae* ne semble pas être virulent pour les agneaux ou les brebis pleines, mais les auteurs pensent qu'il est possible que dans des systèmes d'élevage intensif, cet organisme puisse jouer un rôle dans la pathogénie de maladies.

Au printemps 1989, un avortement ovin de triplets est analysé dans le laboratoire vétérinaire régional d'Alberta (Canada). Bien que l'avortement semble dû à une toxémie de gestation, une culture pure de *Salmonella arizonae* est isolée des tissus fœtaux (65). Aucune lésion macroscopique ou histologique n'est trouvée sur les avortons. Des analyses sur le troupeau montrent que 11 brebis sur 40 du lot et 1 bélier sont porteurs chroniques fécal de *S. arizonae*. Ces animaux sont tous en bonne santé.

En 1992, MEEHAN isole *Salmonella arizonae* sur deux brebis atteintes de rhinite proliférative chronique (52).

La première brebis était expérimentalement infectée par le Virus Respiratoire Syncytial Bovin. Quatre jours après l'inoculation, elle est euthanasiée et la cavité nasale analysée histologiquement et bactériologiquement. *Salmonella arizonae* et *Mycoplasma* spp. sont isolées des tissus affectés.

La deuxième brebis présentait une dyspnée inspiratoire depuis 6 mois et une rhinite bilatérale muco-purulente et obstructive. *S. arizonae* est isolée en culture pure de la cavité nasale. A l'histologie, des bactéries gram négatifs (non identifiables) sont en position intracellulaire.

Cette étude montre que *S. arizonae* est un germe pouvant envahir le tractus respiratoire supérieur des brebis et que la cavité nasale peut être le site d'une colonisation persistante des brebis porteuses.

En 1994, MEEHAN utilise une culture de *Salmonella arizonae* isolée précédemment afin d'inoculer des agneaux par voie nasale (3). La bactérie est isolée de la cavité nasale pendant toute la période d'étude (6 mois), mais elle n'est jamais trouvée dans les fèces des agneaux. Les résultats de l'expérience ont montré que *S. arizonae* peut infecter et coloniser le tractus respiratoire supérieur des agneaux et induire une légère réponse proliférative de la muqueuse nasale. Cette bactérie peut donc être un pathogène respiratoire. Les auteurs découvrent que *Salmonella arizonae* peut également être isolée du tractus respiratoire d'animaux sains, ne présentant pas de lésions.

Pour résumer, nous voyons que *Salmonella arizonae* semble être plus isolée qu'auparavant dans le placenta et les tissus fœtaux, dans les fèces, dans le tractus respiratoire supérieur des brebis et des agneaux. Cette augmentation du nombre d'isolement est sans doute due à l'emploi de milieux partiellement sélectifs et au nombre plus important de tentatives d'isolement depuis que les descriptions princeps ont été apportées et non à une émergence de cette sous-espèce. Cette bactérie semble peu pathogène pour l'homme et les animaux. Imputer à *Salmonella arizonae* des processus morbides est toujours difficile à démontrer, surtout lorsque plusieurs sortes de germes sont isolées. Cependant, cette bactérie semble être un agent causal d'avortement, de gastro-entérite et de rhinite lorsque l'animal est immunodéprimé ou stressé.

Aucune publication à ce jour ne fait état de portage mammaire ou d'infection mammaire à *Salmonella arizonae* chez les ovins.

VI. Suspicion clinique et lésionnelle, diagnostic bactériologique de salmonellose

Le diagnostic clinique de salmonellose bovine ou ovine est difficile à réaliser. Il s'agit le plus souvent d'une suspicion clinique ou nécropsique. Cette suspicion devra être confirmée par le laboratoire. Quelques éléments épidémiologiques peuvent parfois être d'une grande aide pour le diagnostic clinique. Nous prendrons l'exemple de la salmonellose bovine.

A. Suspicion clinique et diagnostic différentiel (33)

1. La forme entéritique

Dans les élevages intensifs de veaux, va se développer progressivement l'éventail symptomatique de la maladie. Elle commence par la mort brutale de veaux, puis dans les heures suivantes apparaissent des pneumopathies et des entérites. La présence de sang dans les matières fécales peut évoquer la salmonellose. Le diagnostic différentiel de la forme entéritique doit être fait avec différentes infections :

- virales : rotavirus et coronavirus, maladie des muqueuses
- bactériennes : colibacilloses, entérotoxémies
- parasitaires : coccidioses, cryptosporidioses.

Chez l'adulte, le diagnostic différentiel doit être effectué avec les affections suivantes : infestations vermineuses, coccidiose, paratuberculose, babésioses, maladie des muqueuses, gripes intestinales, déplacement de caillette, acidose, alcalose, intoxication végétale.

La suspicion de salmonellose serait plus facile à faire chez l'adulte que chez le veau.

2. La forme abortive

L'avortement se produit dans plus de 90 % des cas à partir du 5^{ème} mois de gestation (9). Il est parfois précédé d'une forme entéritique quelques jours auparavant. L'examen clinique peut dans de rares cas permettre d'identifier d'autres causes d'avortements. Seul le laboratoire pourra confirmer un avortement dû à *Salmonella*.

3. La forme respiratoire

Le peu de variété d'expression clinique des pneumopathies rend le diagnostic clinique et différentiel quasi-impossible.

B. Suspicion nécropsique (6)

Le diagnostic nécropsique n'est pas univoque, mais il constitue une forte orientation qui sera confirmée par la suite par l'examen bactériologique des prélèvements réalisés. Les formes cliniques rencontrées conduisent à différents tableaux lésionnels, mais il est possible

de rencontrer des situations intermédiaires et la séparation des tableaux n'a qu'un intérêt didactique.

1. Forme septicémique

Pouvant présenter une évolution suraiguë ou aiguë, elle se traduit par un tableau classique de septicémie fréquent chez le veau, moins chez les bovins adultes.

On observe une carcasse congestionnée, avec de multiples lésions hémorragiques de nombreux organes, pétéchies sous-muqueuses et sous-séreuses, ecchymoses sur la plèvre, l'endocarde, les reins, les méninges, des épanchements dans les grandes cavités, une rate congestionnée et pulpeuse. Les hémorragies pleurales sont plus fréquentes chez les bovins adultes. Ces lésions correspondent à un phénomène de Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée (CIVD) provoqué par les toxines salmonelliques, mais elles peuvent être observées dans la plupart des syndromes toxi-infectieux suraigus et ne sont donc pas caractéristiques. Le recours à l'examen bactériologique sera indispensable pour en confirmer l'origine.

2. Forme digestive

Elle évolue de façon aiguë à chronique, ce qui se traduira également par une évolution des lésions.

- Forme aiguë

Chez le veau comme chez l'adulte où elle est la plus fréquente, on observe une entérite catarrhale à hémorragique avec hypertrophie et hémorragie des ganglions mésentériques, et hémorragie des séreuses. L'estomac et l'intestin grêle proximal sont souvent épargnés, l'inflammation commençant au niveau de l'iléon et du côlon. Le contenu intestinal, fluide et malodorant, est mélangé à du sang. La muqueuse est épaissie, hémorragique, souvent couverte par un exsudat rouge, jaune ou gris ; elle présente fréquemment des ulcères et on note une hypertrophie des plaques de Peyer, également ulcérées.

Le foie, la rate et les reins peuvent présenter des foyers nécrotiques plus caractéristiques, submiliaires, parfois en profondeur, mais difficile à observer. La vésicule biliaire est distendue, épaissie, et présente des pétéchies.

- Forme chronique

Elle correspond à l'évolution de la précédente avec une organisation des lésions et une formation de fibrine à partir des exsudats. On retrouve cette fibrine dans le contenu intestinal et on peut parfois observer la présence de moules fibrineux intestinaux rejetés par les animaux. On note la présence de plages nécrotiques sur l'intestin grêle et sur le côlon. On pourra retrouver également des phénomènes fibrineux localisés sur les séreuses.

3. Autres formes des salmonelloses

On observe des formes pulmonaires avec broncho-pneumonie ou pneumonie des lobes apicaux, cardiaques ou diaphragmatiques, plus ou moins associée à une pleurésie et à de l'emphysème.

La forme génitale, associée en général à *Salmonella* Dublin chez les bovins et à *Salmonella* Abortusovis chez les ovins, se traduit par des inflammations peu spécifiques du placenta, avec parfois une nécrose ou des hémorragies des cotylédons et du fœtus (œdème sous-cutané, congestion, nécrose du foie et des poumons).

Enfin, on relate l'existence d'arthrites avec un liquide synovial jaune foncé et floconneux.

C. Les prélèvements pour le laboratoire

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

- d'une part, les conséquences économiques de l'infection par la forte morbidité et la mortalité conduisent le praticien à devoir établir un diagnostic de certitude le plus rapidement possible ;
- d'autre part la résistance fréquente des salmonelles aux antibiotiques et la nécessité de prendre des mesures de traitement et de métaphylaxie efficaces au moindre coût obligent à l'isolement des souches dans des délais relativement courts et à la réalisation d'un antibiogramme ;
- enfin, les problèmes de santé publique font partie des préoccupations habituelles des praticiens compte tenu de la possibilité majeure de transmission des salmonelles par la consommation de lait, de viande, ou par contact direct avec des matières contaminées.

1. Nature des prélèvements

Ils sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6. Prélèvements pour diagnostic de salmonellose (78).

(Les prélèvements de choix sont indiqués en caractère gras)

Symptômes	Sur animal vivant	Sur cadavre
Septicémie	Sang, urine, féces , lait	Sang, rate , foie , poumons, os long
Pneumonie	Sang, écouvillon nasal	Sang, rate, lésions pulmonaires

Entérite	Sang, fèces, lait	Contenu intestinal du grêle, ganglions mésentériques et hépatiques, intestin, foie
Avortement	Sang, écouvillon vaginal	Idem entérite, utérus , ganglions rétromammaires, fœtus et enveloppes

2. Précautions de réalisation et d'acheminement (6)

En cas d'autopsie, le prélèvement réalisé doit être aseptique, avant toute ouverture du tube digestif, de façon à ne pas souiller celui-ci par la flore intestinale, et rapidement après la mort pour les mêmes raisons. Les prélèvements seront conditionnés séparément.

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

Les organes sont acheminés sous couvert du froid à 4 °C dans un emballage isotherme. La congélation diminue la sensibilité de la méthode bactériologique par stress des bactéries qui perdent la capacité à se multiplier directement sur les milieux d'isolement, ce qui peut nécessiter des étapes complémentaires de revivification.

3. Valeur diagnostique des différents prélèvements

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

Il est nécessaire de garder en mémoire que la mise en évidence de la présence des salmonelles doit être associée à l'allure clinique de l'affection sur l'animal et sur le troupeau. Il est en effet possible de mettre en évidence des salmonelles sur des animaux porteurs chroniques.

D. Diagnostic de laboratoire (6)

Le diagnostic de salmonellose peut être direct (bactériologie) utilisant des méthodes traditionnelles ou rapides, ou bien indirect.

1. Isolement bactériologique (direct)

- Historique

Dans les années 60, les milieux d'isolement proposés pour la recherche de *Salmonella* étaient peu ou pas sélectifs. L'ensemble des entérobactéries s'y développaient et souvent les souches de *Proteus* envahissaient les milieux. Les géloses lactosées de Drigalski, géloses lactosées au pourpre de bromocrésol et géloses à l'éosine et au bleu de méthylène étaient

couramment utilisées en laboratoire. La gélose *Salmonella-Shigella* (*S.S.*) contenant des sels biliaires était la seule gélose plus sélective permettant l'isolement des *Salmonella*, mais elle n'était pas utilisée couramment.

Le seul milieu d'enrichissement des souches de *Salmonella* proposé était le Müller Kaufman utilisé pour les examens de coprocultures et les hémocultures.

A partir des années 1980, différents milieux d'enrichissement et d'isolement ont été mis sur le marché. Plus performants, ils ont facilité les isollements de souches de *Salmonella* en santé animale et en hygiène alimentaire (les géloses *S. S.* et Hektoen, Müller Kaufman et sélénite).

En santé animale, la gélose *S. S.* était couramment utilisée ainsi que les bouillons d'enrichissement tétrathionate et sélénite (surtout performant pour les recherches en pathologie bovine). Dès 1985, la performance reconnue du bouillon Rappaport a permis à certains laboratoires de l'utiliser en parallèle avec le bouillon sélénite.

Dans les années 90, un nombre important de milieux d'isolement et des bouillons d'enrichissement ont été proposés. Actuellement, le choix des milieux sélectifs repose sur l'expérience de l'utilisateur.

Nous allons prendre ici l'exemple des méthodes utilisées au RESSAB (Réseau d'Epidémiologie-Surveillance des Salmonelloses Bovines) pour le diagnostic bactériologique de salmonellose.

- Techniques d'isolement des salmonelles dans le cadre du RESSAB

La standardisation de la méthode microbiologique, laissant cependant une certaine souplesse dans le choix de milieux performants utilisés, permet l'exploitation des résultats provenant de différents laboratoires d'analyses.

La méthode retenue prévoit un isolement sélectif direct permettant d'évaluer le niveau d'infection, associé à un enrichissement sélectif très utile dans les cas de prélèvements présentant une flore normale résidente (matières fécales) ou susceptible d'être fortement contaminés.

- Milieux d'isolement

Actuellement, une trentaine de milieux gélosés d'isolement sont proposés sur le marché et une dizaine seulement permettent une culture différentielle de *Salmonella*. Ces milieux empêchent l'envahissement de la surface gélosée par des *Proteus*, limitent le développement de la plupart des bactéries autres que les *Salmonella* (63).

Pour le diagnostic bactériologique de salmonellose en santé animale et plus précisément dans le cadre du RESSAB, les 4 géloses d'isolement sont présentées avec leurs caractéristiques dans le tableau 7.

Tableau 7. Les milieux sélectifs proposés dans le cadre du RESSAB (1997) (6).

Milieux d'isolement sélectif solide	Principe du milieu	Utilisation	Aspect des colonies de <i>Salmonella</i>	Remarque
Milieu Salmonella -Shigella (S.S.)	<p>- Formation d'acide à partir du lactose avec révélation du pH acide par virage du rouge neutre colorant en rouge les colonies fermentant le lactose.</p> <p>- La production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium qui, en présence de citrate ferrique, produit un précipité noir.</p>	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies beiges à centre noir pour les souches H₂S +	Certaines colonies de <i>Proteus</i> et de <i>Citrobacter</i> ont un aspect macroscopique identique.
Milieu de Rambach	<p>- Formation d'acide à partir du propylène glycol pour la plupart des <i>Salmonella</i></p> <p>- Révélation de la présence d'une β-galactosidase par un indicateur coloré pour les <i>Proteus</i> et les membres de la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> autres que les <i>Salmonella</i> (couleur incolore, bleue à violette)</p>	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies rouge fuchsia (certaines souches de <i>Salmonella</i> peuvent apparaître incolores)	Certaines souches de <i>Citrobacter freundii</i> ont des colonies de couleur fuchsia.
Milieu SM ID	<p>- Formation d'acide à partir du glucuronate de sodium pour les <i>Salmonella</i>.</p> <p>- Révélation de la présence d'une β-galactosidase par un indicateur coloré pour les membres de la famille des <i>Enterobacteriaceae</i> qui possèdent cette enzyme.</p>	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies roses (certaines colonies peuvent apparaître incolores, bleu violacé)	Certaines souches d' <i>E. coli</i> β galactosidase – du genre <i>Morganella</i> ou <i>Shigella</i> peuvent être de couleur rose.
Milieu XLT4	<p>- Formation d'acide lors de l'utilisation des sucres contenus dans le milieu.</p> <p>- Décarboxylation de la lysine en cadavérine.</p> <p>- Production d'hydrogène sulfuré à partir de thiosulfate de sodium en présence de citrate ferrique ammoniacal.</p>	37 °C de 18 à 24 heures	Colonies jaunes rosées à rouges avec un centre noir (sans centre noir pour les <i>Salmonella</i> H ₂ S -)	Milieu très sélectif vis-à-vis des souches de <i>Salmonella</i> Certaines souches de <i>Citrobacter</i> peuvent avoir le même aspect.

- Milieux d'enrichissement sélectifs liquides ou semi-solides

Dix bouillons sont actuellement répertoriés comme milieu d'enrichissement des souches de *Salmonella*. Leur composition en antiseptiques sélectifs permet la culture des *Salmonella* tout en limitant celle des autres bactéries (63). Dans le cadre du RESSAB, 4 milieux liquides et semi-solides sont retenus, le choix est laissé aux utilisateurs (cf. Tableau 8.).

Tableau 8. Les milieux d'enrichissement proposés dans le cadre du RESSAB (1997) (6).

Milieux d'isolement sélectifs solides	Principe du milieu	Utilisation	Remarques
Bouillon au Tétrathionate	Multiplication des <i>Salmonella</i> favorisée. Nombreux coliformes inhibés. GRAM positifs inhibés. Aucune inhibition des <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>E. coli</i> lactose négatif.	37 °C pendant 24 à 48 heures. Une T°C d'incubation de 43°C peut être intéressante dans le cas de produits très contaminés	
Bouillon au Sélénite	Le sélénium semble réagir avec les groupements soufrés de certains composés cellulaires. Les <i>Proteus</i> et <i>Pseudomonas</i> semblent résister à cet effet. La croissance des <i>Proteus</i> et d' <i>E. coli</i> n'est pas retardée indéfiniment sur les milieux au sélénite. NB : les composants de ce bouillon étant nocifs, des précautions doivent être prises pour sa fabrication.	37 °C pendant 12 à 24 heures	Très bons résultats obtenus avec les prélèvements d'origine bovine.
Bouillon Rappaport-Vassiliadis (Bouillon au vert malachite et chlorure de magnésium)	La multiplication sélective des souches de <i>Salmonella</i> est basée sur : - forte pression osmotique - pH bas - présence d'inhibiteur : vert malachite - peu d'apport nutritif.	42 °C pendant 24 à 48 heures	Ce bouillon semble avoir de meilleurs résultats en isolement que le bouillon au Tétrathionate
Milieu semi-solide de Rappaport-Vassiliadis	Très sélectif grâce au chlore de magnésium et au vert malachite et par addition de novobiocine.	42 °C pendant au maximum 24 heures	Peu recommandé pour les souches de <i>Salmonella</i> immobiles

2. Identification des souches de salmonelles (37)

L'identification bactérienne complète de *Salmonella* est basée sur l'identification biochimique et sérologique d'une souche bactérienne pure. La détermination des caractères biochimiques (cf. chapitre II. C.) peut être effectuée grâce à des galeries en tubes ou des systèmes d'identification standardisés du type galerie API 20E, ID 32E ou RAPID ID 32E, avec l'utilisation éventuelle d'un automate de lecture optique des cupules.

L'identification sérologique (cf. chapitre II. E.) repose sur la recherche des antigènes Vi (somatiques d'enveloppe), O (somatiques) et H (flagellaires) des *Salmonella* et sur l'application du schéma de Kauffmann White. Elle est effectuée par des agglutinations sur lames avec les sérums appropriés à partir de souches bactériennes identifiées comme appartenant à *Salmonella*. La présence de deux sérovars différents sur un même prélèvement n'est pas rare.

3. Diagnostic sérologique (indirect)

Plusieurs méthodes sont évoquées pour la réalisation du diagnostic sérologique des infections salmonelliques (agglutination rapide sur lame, agglutination lente en tube ou en microplaque, ELISA). La recherche du sérotype en cause à partir des agglutinines présentes dans le sérum n'est praticable que par des laboratoires spécialisés disposant d'un assortiment d'antigènes de référence.

En ce qui concerne les espèces bovines et ovines, l'épreuve de séroagglutination lente est la méthode à laquelle il est en général fait appel pour la recherche des anticorps spécifiques des *Salmonella* (6, 63). Cette méthode consiste à mettre en présence une quantité constante d'une suspension antigénique avec des dilutions croissantes de l'échantillon sérique à tester puis, après une incubation déterminée par l'antigène utilisé, à repérer la dernière dilution où persiste une agglutination significative signant l'existence des complexes immuns recherchés. La prudence doit toujours être la règle lors de l'interprétation des résultats. Comme pour tout diagnostic sérologique, un résultat positif ne signifie pas nécessairement une infection en cours ; de même un animal séronégatif peut être excréteur.

La sérologie « salmonellose » présente par ailleurs d'autres limites réduisant encore les possibilités d'utilisation des résultats (6). Il s'agit notamment :

- du manque de sensibilité de l'épreuve de séroagglutination lente ;
- de l'existence d'un très grand nombre de sérovars de *Salmonella* ayant pour certains d'entre eux des communautés antigéniques à l'origine de réactions croisées (ex. : sérovar Typhimurium et Enteritidis) ; le manque de spécificité est également accru par l'existence de réactions croisées entre les *Salmonella* et d'autres entérobactéries ;

- de la variabilité des résultats entre séries d'épreuves et entre laboratoires pouvant résulter d'une part de l'absence de suspensions antigéniques commercialisées pour la plupart des sérovars isolés sur les bovins et sur les ovins et, d'autres part, de l'absence de sérums témoins de référence.

Tous ces aspects limitent considérablement l'intérêt de l'utilisation de la sérologie pour la détection des animaux infectés. L'application de la sérologie doit rester exceptionnelle pour le suivi de cheptels où a été identifiée une infection salmonellique et où notamment a été pratiquée une antibiothérapie.

Dans la forme abortive, l'examen sérologique doit être mené parallèlement à celui des autres causes infectieuses abortives. Dans les régions d'enzootie à *S. Abortusovis*, des séries de tests sérologiques sont effectués couramment. Dans ce cas, l'agglutination lente en microplaques avec des antigènes colorés facilite la réalisation du test et sa lecture (63). Praticué dans les six semaines qui suivent l'apparition des avortements et sur un nombre suffisant de brebis avortées (cinq à dix), ce test peut fournir une forte présomption d'infection à *S. Abortusovis* à l'échelle du troupeau.

4. Antibiogramme (33)

La détermination *in vitro* de la sensibilité des bactéries pathogènes est essentielle pour détecter les souches résistantes et guider le clinicien dans le choix d'un anti-infectieux. Il a également un intérêt pour la surveillance de l'antibiorésistance.

La méthode de diffusion en gélose utilisant des disques imprégnés d'antibiotiques est particulièrement adaptée à la détermination de la sensibilité d'une souche bactérienne à croissance rapide comme les salmonelles vis-à-vis de plusieurs antibiotiques, en principe une molécule représentative de chacune des principales familles d'antibiotiques.

VII. Traitements et conduite à tenir dans l'élevage

Nous ne développerons que le traitement des salmonelloses digestives.

A. Méthodologie de l'intervention (11)

Dès la suspicion de salmonellose, le vétérinaire se doit de rappeler à l'éleveur un certain nombre de mesures (cf. figure 3) :

- mise en place d'une thérapeutique adéquate vis-à-vis de l'animal atteint, cet aspect sera plus particulièrement développé dans ce chapitre ;
- adoption de mesures vis-à-vis du troupeau pour limiter au maximum la contamination des autres animaux

- adoption de mesure d'hygiène vis-à-vis des risques de contamination humaine à partir de l'animal ou des animaux atteints et de leurs produits ; en élevage laitier, interdiction réglementaire de livrer du lait d'une femelle « malade »
- mise en place d'un plan de surveillance des animaux du même lot afin de détecter le plus précocement possible toute manifestation clinique de salmonellose.

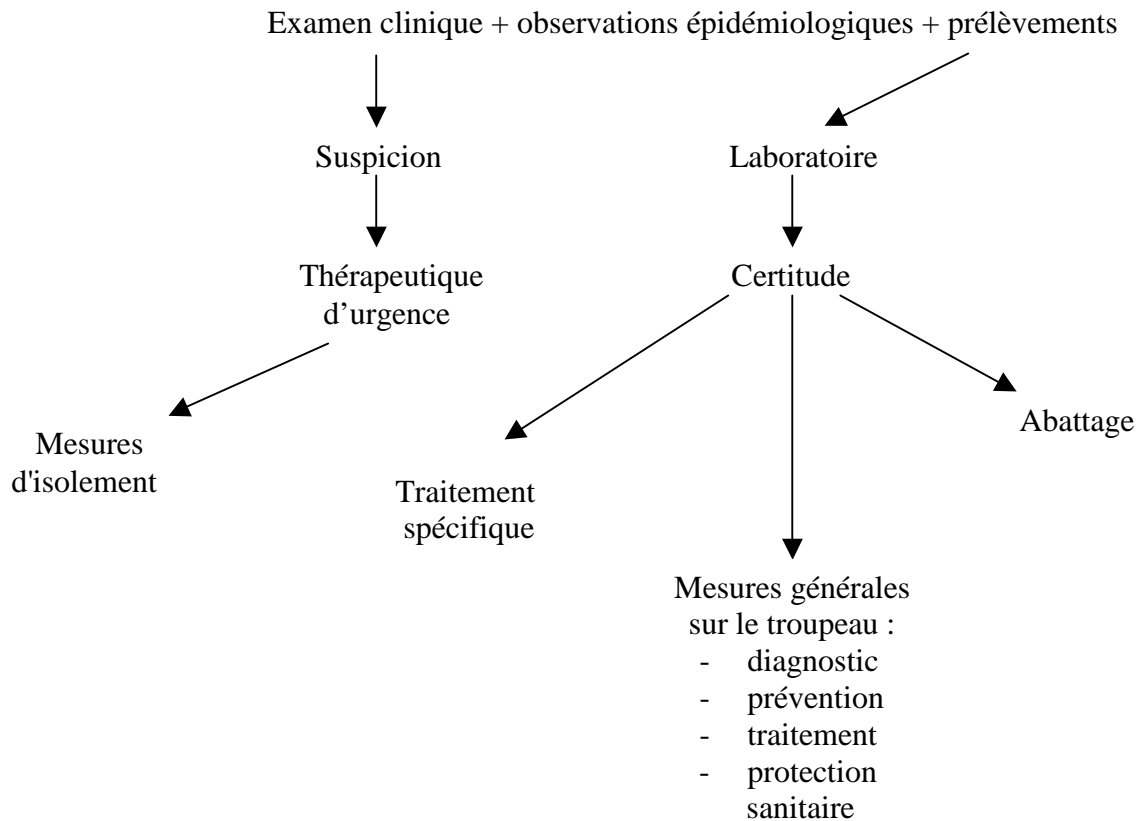


Figure 3. Méthodologie d'intervention pour le diagnostic et le traitement des salmonelloses (11).

Le traitement des animaux malades est indispensable pour plusieurs raisons :

- leur élimination vers un abattoir est une faute, vu les risques pour la santé publique ;
- en l'absence de traitement, la mortalité s'élève à 80 % des animaux atteints, alors que la mise en place de mesures thérapeutiques adéquates limite cette mortalité à moins de 10 % ;
- un animal en phase clinique rejette par les fèces ou par le placenta des quantités considérables de salmonelles (47), ce qui représente un risque de contamination de l'environnement très important (cependant il est illusoire de

penser qu'un traitement aussi adapté soit-il puisse éliminer tout risque de portage latent ou d'excrétion).

Les bases du traitement reposent sur l'antibiothérapie, la lutte contre le choc endotoxinique et la réhydratation.

B. L'antibiothérapie

L'antibiothérapie est indispensable chez les bovins et les ovins en présence d'une salmonellose clinique. Le choix des antibiotiques utilisables pose cependant quelques difficultés liées à la physiopathologie des salmonelloses, aux phénomènes d'antibiorésistance et à la législation, en particulier chez les animaux laitiers.

1. Problèmes liés à la physiopathologie des salmonelles (45)

Dans la majorité des cas, l'infection se fait par voie orale et la bactérie se multiplie au niveau de la lumière intestinale. La colonisation intéressant tout l'intestin, l'antibiotique utilisé devra être actif sur l'ensemble des portions de l'intestin. Cet objectif est facile à atteindre chez les monogastriques avec des antibiotiques non résorbables, administrés par voie orale. Il est nettement plus aléatoire chez les polygastriques. En effet, aucune étude à ce jour ne permet de connaître le devenir de ces antibiotiques dans le tube digestif des bovins adultes et les résultats rapportés sont contradictoires

Selon les souches et la capacité de défense immunitaire de l'animal contaminé, les bactéries, à partir de l'intestin, vont disséminer dans l'organisme, le plus souvent par l'intermédiaire des macrophages, et ce, en position intracellulaire, avant de se retrouver dans les nœuds lymphatiques puis dans d'autres organes. L'antibiotique utilisé devra donc posséder des propriétés permettant une bonne diffusion tissulaire associée à une activité intracellulaire afin de limiter les risques de septicémie et atteindre les salmonelles où elles se sont réfugiées.

2. Les problèmes liés à l'antibiorésistance (2)

Comme beaucoup d'entérobactéries, les salmonelles ont la propriété de présenter des phénomènes de multirésistances aux antibiotiques, variables en fonction des souches et des catégories d'animaux exposés. Les souches de *S. Typhimurium*, les plus fréquemment rencontrées en pathologie bovine, sont celles qui présentent le plus de multirésistance (54, 81).

Ces souches présentent souvent une résistance simultanée à cinq familles d'antibiotiques :

- les bétalactamines ;
- les phénicolés ;
- la streptomycine et la spectinomycine ;

- les sulfamides ;
- les tétracyclines.

Cette pentarésistance est caractéristique de *Salmonella* Typhimurium de lysotype DT104. L'hypothèse d'une apparition massive de souches possédant en plus une résistance aux quinolones ne semblent toujours pas se vérifier.

Cette multirésistance peut dans certains élevages limiter considérablement le choix des antibiotiques utilisables (3 à 4 dans certains cas).

Récemment, la détection d'une souche du sérotype Newport et de deux souches du type Agona résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération appelle à la vigilance (81).

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques sont nombreux et variés.

Trois moyens sont principalement développés par la bactérie (54) :

- l'inactivation enzymatique de l'antibiotique
- l'altération ou le remplacement des gènes cibles (mutations, acquisition d'une voie métabolique alterne)
- la diminution de l'accumulation intracellulaire de l'antibiotique.

3. Problèmes posés par la législation en médecine vétérinaire (68)

Tout d'abord, les antibiotiques mis récemment sur le marché disposent parfois d'AMM très restrictives (affections respiratoires à *Pasteurella*), et les doses thérapeutiques sont déterminées en fonction des CMI vis-à-vis de ces bactéries. Les CMI vis-à-vis des salmonelles peuvent être proches (enrofloxacin) ou supérieures à celles de la bactérie visée par l'AMM (par ex. ceftiofur et florfénicol). Pour les ovins, c'est encore pire puisque peu de molécules utilisées couramment chez les bovins pour traiter la salmonellose ont l'AMM chez les ovins (à part la fluméquine et la colistine).

Quelle dose devra-t-on utiliser, pour une CMI plusieurs fois supérieure vis-à-vis des salmonelles, et quelles sont les répercussions sur la toxicité et les délais d'attente de cet antibiotique ? Le choix devra donc se limiter aux antibiotiques dont les indications, la destination et la posologie sont clairement précisées pour le traitement des salmonelloses bovines et ovines (cf. Tableau 9.)

Tableau 9. Antibiotiques les plus couramment utilisés dans le traitement des salmonelloses bovines (11).

Principe actif	Posologie	Voie d'administration	Délais d'attente	
			Viandes	Lait
<i>Aminosides :</i>				
- Gentamicine	4 mL/Kg/8h ou 4000UI/Kg/12h	IM et SC	60 jours	Non Autorisé
- Apramycine	20 mg/Kg/jour	IM et Orale	10 semaines	Non Autorisé
<i>Polypeptides :</i>				
Colistine	25000 UI/Kg/12h 50000 UI/Kg/12h	SC ou IM Orale	5 jours 7 jours	3 jours Non Autorisé
<i>Céphalosporine :</i>				
- Céfalexine	75 mg/Kg/12h	IM	21 jours	Non Autorisé
- Ceftiofur	1 mg/Kg/24h	IM	1 jour	0 jour
- Cefquinome	2 mg/Kg/24h	IM	5 jours	12 h
<i>Fluoroquinolones :</i>				
- Fluméquine	12 mg/Kg/12h	IM	2 jours	2 jours
- Fluméquine per os	12 mg/Kg/12h	Orale	2 jours	2 jours
- Enrofloxacin	5 mg/Kg/24h	Orale	11 jours	Non Autorisé
	5 mg/Kg/24h	SC	7 jours	3,5 jours
- Danofloxacin	1,25 mg/Kg/24h	IM	5 jours	4 jours
TMP Sulfamide	15 à 30mg/Kg/24h	IM / IV	12 jours	6 jours

4. Comment procéder en pratique courante (68)

- Les critères de choix :

Antibio-sensibilité : 4 familles présentent une activité régulière vis-à-vis des salmonelles :

- la colistine,
- certaines céphalosporines,
- certains aminosides (gentamicine, apramycine),
- les quinolones.

Critères de diffusion :

- la colistine n'est pas résorbable par voie orale, sa diffusion tissulaire est inexistante ;

- les aminosides ne sont pas résorbables par voie orale, leur diffusion tissulaire est faible
- les céphalosporines n'ont pas ou peu de diffusion au niveau de la lumière intestinale par voie générale, leur diffusion tissulaire est faible
- les quinolones ont une bonne diffusion tissulaire et passent à travers la paroi intestinale. Les fluoroquinolones présentent de plus l'avantage d'avoir une bonne pénétration intracellulaire.
 - Chez le veau et l'agneau (monogastriques)

La voie générale est toujours préférable. Plusieurs possibilités se présentent :

- Fluoroquinolone par voie générale, association possible avec la colistine *per os*.
- Céphalosporine ou aminoside par voie générale en association à la colistine ou à une quinolone par voie orale.
 - Chez les ruminants adultes non laitiers :

Le traitement de choix repose sur l'utilisation de fluoroquinolones. Dans certains cas, les céphalosporines et les aminosides semblent apporter quelques résultats, mais leur faible activité au niveau du tube digestif devra être compensée par l'administration de colistine, voire de quinolone *per os* avec toutes les incertitudes concernant leur activité chez les polygastriques.

- Chez les ruminants laitiers en lactation :

La difficulté consiste à choisir un traitement efficace en accord avec la législation existante.

Si la survie de l'animal est menacée, le vétérinaire pourra être amené à prescrire des traitements hors AMM (gentamicine, apramycine, enrofloxacin...). Dans ces conditions, soit il dispose de données provenant du laboratoire fabricant (AMM étrangères ou informations publiées) et les délais d'attente proposés pourront être retenus, soit il ne dispose d'aucune données et la directive européenne doit s'appliquer : les délais d'attente ne peuvent être inférieurs à 7 jours pour le lait et à 28 jours pour la viande. Enfin, le cas particulier des associations TMP Sulfamides mérite d'être abordé. En effet, cette association présente tous les caractères favorables au niveau de la diffusion, et l'activité *in vitro* est satisfaisante dans de nombreux cas. Il semble que les résultats cliniques soient très irréguliers (les disques antibiogrammes utilisés en laboratoire ne correspondent pas tout à fait aux associations utilisées en médecine vétérinaire, et les doses préconisées ne sont vraisemblablement pas suffisantes pour les salmonelloses). Leur facilité d'utilisation en production laitière et leur faible coût sont autant de facteurs justifiant leur prescription mais il faudra veiller à leur efficacité *in vivo*, même en présence d'une activité *in vitro*.

Etant donné la fréquence et la variété des antibiorésistances des salmonelles en fonction du sérovar et de la souche, le sérotypage et l'antibiogramme sont indispensables. Les informations recueillies permettront d'adapter la prescription pour les autres bovins de l'élevage éventuellement atteints, dans les meilleures conditions de rapport coût-efficacité.

La durée du traitement ne doit pas être inférieure à 5 jours.

La mesure de l'efficacité d'un traitement antibiotique en matière de salmonellose des animaux adultes est relativement simple : sur un adulte dont l'état général n'est pas trop perturbé, l'amélioration est spectaculaire et la guérison clinique est rapide : chute de la température en 24 heures, amélioration de signes digestifs en 48 heures.

Par contre, le traitement antibiotique chez les veaux et les agneaux est souvent décevant du fait de la fréquence des localisations multifocales et de la moindre résistance de ces animaux aux toxi-infections.

C. Traitements complémentaires

L'antibiothérapie devra être complétée, en fonction de l'état de l'animal, par l'administration de médicaments luttant contre les signes de l'inflammation, le choc endotoxinique et la déshydratation (69).

La prescription d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ayant des propriétés antitoxiniques est intéressante et doit toujours être préférée à l'utilisation des anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS). On aura recours à ces derniers seulement dans les situations extrêmes, il faudra alors utiliser des molécules à demi-vie courte et à forte dose.

Dans les formes graves de salmonellose digestive, la diarrhée et le choc endotoxinique provoquent une hypovolémie, une acidose métabolique, et des conséquences sur la fonction rénale sont fréquentes. La mise en œuvre d'une fluidothérapie peut s'avérer indispensable pour rétablir le volume circulant et lutter contre l'acidose métabolique (70).

L'utilisation de Ringer Lactate, 10 à 20 litres par 24 heures pour une vache adulte, donne de bons résultats. L'adjonction de sérum salé hypertonique à raison de 2 à 3 mL/Kg peut être utile en phase d'état. Le Ringer Lactate pourra être remplacé par du sérum salé isotonique dans les formes les moins sévères.

Les modificateurs du transit intestinal et les antidiarrhéiques sont inutiles.

D. Autres mesures médicales sur le troupeau atteint

1. Traitement systématique du troupeau

Cette méthode s'est développée ces dernières années. En effet, devant l'ampleur de l'évolution de la salmonellose dans certains troupeaux, le vétérinaire cherche à limiter la catastrophe. La colistine par voie orale à raison de 150 000 UI/Kg et par 24 h a été préconisée. Bien que la colistine *per os* ne traverse pas la barrière intestinale, certains vétérinaires ont été confrontés à des problèmes de résidus dans le lait de collecte. La mise en place d'un traitement du troupeau devra se faire en avertissant la laiterie, et la collecte sera soumise à la vérification de l'absence d'inhibiteurs dans le lait de mélange.

En ce qui concerne l'efficacité d'une telle pratique, les opinions sont contradictoires, mais de nombreuses observations font part d'une persistance des cas cliniques malgré la mise en place de la métaphylaxie (68).

Cette pratique est donc à réserver aux troupeaux où l'évolution est dramatique.

En élevage allaitant, une métaphylaxie est rarement nécessaire pour les adultes et de toutes façons les possibilités de traitement sont variées.

Chez les veaux, la métaphylaxie pose moins de problèmes économiques et, du fait du risque important de mortalité dans ces catégories d'animaux, elle s'avère une mesure à mettre en œuvre sur tous les veaux du lot contaminé.

2. La vaccination en milieu contaminé

Une vaccination est un acte de prévention et en matière de salmonelloses, l'immunité n'est acquise que quelques jours après l'injection du rappel. Il est donc inutile d'escompter un effet bénéfique sur l'évolution clinique avant cette durée.

La vaccination en matière de salmonellose ne confère pas d'immunité croisée entre les différents sérotypes Typhimurium et Dublin et n'aura d'effet que sur des épidémies liées à l'un de ces sérotypes, d'où l'intérêt du typage de la souche.

La vaccination avec des vaccins inactivés (la seule possible en France) ne modifie pas les phénomènes de portage et d'excrétion, elle renforce la protection des animaux contre la maladie et permet d'espérer une réduction de l'importance des signes cliniques et par conséquent du niveau d'excrétion.

Compte tenu de ces différents points, la vaccination ne pourra se substituer à des mesures de prévention sanitaire.

E. Conduite à tenir dans l'élevage visant à limiter la diffusion de la maladie

Une fois le diagnostic de certitude établi, et parfois même dès la suspicion clinique, l'attention du clinicien doit se porter sur les risques sanitaires liés au(x) premier(s) cas et sur l'ensemble des investigations qu'il convient de réaliser.

Ces investigations induisent des conseils et des mesures visant à limiter la diffusion de la maladie entre animaux et à prévenir une contamination humaine.

1. Lutte contre la propagation de la salmonellose animale

L'excrétion de *Salmonella* étant maximale sur les animaux malades, il convient de détecter, d'isoler et de traiter tout bovin malade.

- Détection des malades

L'observation attentive des animaux révèle l'anorexie, la chute de production laitière et les modifications de matières fécales. Toutefois, la diarrhée d'un animal en tufos n'est pas toujours spontanée et l'exploration rectale s'impose parfois. L'élévation de température rectale est précoce et précède parfois de plus de 48 h l'apparition de diarrhée chez l'adulte. En outre, tout comportement anormal (veau mou, vache couchée ou fièvre de lait) doit être examiné avec beaucoup d'attention (5).

- Isolement

L'isolement doit être objectif (pas une ficelle dans la stabulation), dans un local facile à nettoyer et à désinfecter et proportionnel au nombre de malades.

- Action en amont

La suppression de l'origine de la contamination paraît en théorie très séduisante.

Compte tenu du portage latent et des nombreuses opportunités de circulation des salmonelles dans un élevage, l'origine n'est que rarement identifiée et encore moins dès le début de la maladie. Une analyse bactériologique de l'eau de boisson est souhaitable dans les plus brefs délais. Les aliments sont également une source potentielle de contamination.

Si une étiologie alimentaire ou environnementale est suspectée, il convient d'y soustraire rapidement les bovins ou les ovins.

- Action ciblées de désinfection

Les plus grandes concentrations de *Salmonella* (10^9 à 10^{10} germes/gramme) sont observées dans les fèces, le placenta et dans une moindre mesure sur les avortons et les cadavres (51).

Cette identification des produits contaminants permet de cibler les opérations de nettoyage et de désinfection, et de mettre en place des pédiluves aux emplacements stratégiques.

GLEDEL (20) recommande pour la désinfection des locaux :

- une solution à 3 % d'hydroxyde de sodium (70-80°C) ou,
- une solution à 2 % de formaldéhyde (25-30°C) ou,

- une solution d'hypochlorite de calcium à 2 % de chlore (15-20°C).

- Hygiène alimentaire

La résistance des *Salmonella* dans le milieu extérieur impose une réflexion sur de nouvelles contaminations d'origine fécale (5) :

- vidanger et nettoyer les abreuvoirs pour garantir une eau propre ;
- nettoyer « l'assiette » : table d'affouragement, seau d'abreuvement ;
- proscrire l'accès aux mares et prévenir une éventuelle infiltration de puits de surface ;
- limiter la contamination podale humaine des fourrages : traversée de cornadis, dessilage manuel du front d'attaque...

- Maîtrise des déjections animales (77)

C'est un problème surtout en élevage bovin utilisant du lisier et non du fumier (cf. partie III.C.).

La capacité de stockage des lisiers contaminés doit être suffisante et étanche afin d'éviter de polluer l'environnement ou l'aliment.

Pour l'épandage des lisiers, il convient de respecter les surfaces et les distances (par rapport à des cours d'eau, des habitations...). L'épandage sera réalisé de préférence sur des parcelles de labour ; si des apports sur prairies sont inévitables, il est recommandé de réaliser une coupe ou une fauche ou d'attendre un mois en été et six semaines en hiver avant le pâturage. Les circonstances d'épandage maîtriseront la dispersion et l'entraînement des salmonelles par ruissellement. Faute d'enfouissement, il faut éviter le brassage, l'épandage par temps de pluie et prévenir d'éventuelles stagnations.

L'adjonction de Cyanamide calcique (0,3 % poids/volume) ou d'urée (0,6 % poids/volume) permet de faire chuter très rapidement la concentration bactérienne de lisiers infectés expérimentalement.

2. Prévention de la contamination humaine

Chez l'homme, les salmonelles sont à l'origine des fièvres typhoïdes ou salmonelloses majeures (sérovares adaptés Typhi et Paratyphi A et C) et d'infections entéro-invasives responsables de toxi-infections alimentaires (sérovares ubiquistes).

L'incubation de ces gastro-entérites est courte : 8 à 24 h et les symptômes principaux sont vomissements, diarrhée, douleur abdominale et fièvre. L'évolution vers la guérison s'observe en 2 à 5 jours, mais il y a risque de déshydratation (notamment chez le nourrisson) et de septicémie (individu immunodéprimé) (41).

Trois voies de contamination sont décrites :

- une contamination directe est possible sur toute personne ayant des contacts avec les produits contaminants expulsés par les animaux infectés et malades. Cette voie concerne l'éleveur, l'obstétricien, voire l'employé d'abattoir ou d'équarrissage. La prévention impose une hygiène rigoureuse et régulière des surfaces exposées (maïs, bras, visage) pour prévenir l'infection digestive, mais également une éventuelle dermatite pustuleuse décrite sur les bras de praticiens ayant effectué des manœuvres obstétricales lors d'avortement salmonellique (79).
- L'environnement et notamment une eau issue d'un forage peu profond peut être infiltrée par des déjections animales (34).
- La contamination des denrées alimentaires est à l'origine de TIAC. La bactériémie dissémine les salmonelles dans les masses musculaires ; il est souhaitable d'éviter d'abattre des animaux malades dans un foyer d'expression clinique et si nécessaire d'utiliser le Certificat Vétérinaire d'Information (CVI) à bon escient. Enfin, la pasteurisation est un excellent moyen de décontamination du lait ; faute de quoi, le lait cru et ses dérivés devront être retirés de la consommation humaine (51).

VIII. Salmonellose et filière laitière : contamination du lait par les bovins laitiers infectés chroniques

A. Importance et nature de la contamination des laits et produits laitiers par les salmonelles

Les salmonelles sont la première cause de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) bactériennes en France (41). Elles sont aussi à l'origine d'un grand nombre d'infections individuelles. Ces toxi-infections sont rarement associées à la consommation de produits laitiers (lait cru). En effet en France, entre 1988 et 2003, seulement 1,8 % des foyers de TIAC salmonelliques ont impliqué le lait ou les produits laitiers (10). Durant cette période, neuf épidémies communautaires de salmonellose humaine impliquant des produits laitiers ont été détectées, provoquant au total 1001 cas dont 9 décès. Toutes ces épidémies ont impliqué des fromages au lait cru (6 de vaches, 3 de chèvres).

Une surveillance nationale des salmonelles est réalisée par le réseau Salmonella dans les filières animales, de l'élevage à l'alimentation et dans l'environnement. Elle permet d'y suivre l'évolution du nombre total de salmonelles isolées et du nombre de sérovars.

Le Tableau 10 présente l'évolution du nombre de salmonelles isolées des produits laitiers. On constate une augmentation globale nette du nombre de souches et de la part relative qu'elles représentent dans l'ensemble des isollements en Hygiène Alimentaire (H.A.). Cette augmentation est peut être la conséquence de l'Arrêté du 6 août 1985 qui institue le principe des autocontrôles réguliers pour la surveillance de la commercialisation du lait cru. De toute façon, ces données prouvent bien que le lait cru et les produits à base de lait cru, notamment les fromages, constituent des aliments à risques. En l'absence de pasteurisation, la maîtrise de la qualité sanitaire de ces produits repose en grande partie sur la prévention de la contamination du lait dès la production.

Tableau 10. Evolution du nombre de salmonelles isolées des produits laitiers (d'après le bilan de l'AFSSA Paris) (46)

Produit laitier	Période		
	1986-87	1988-89	1990-91
Lait cru	15	44	134
Lait en poudre	9	10	6
Fromage	1	19	60
Caséine	11	5	5
Autres	4	8	11
Total	40	86	216
% par rapport au nombres de souches isolées en H.A	0,9 %	1,3 %	3,2 %

Le Tableau 11 présente l'évolution du nombre des différents sérovars isolés dans les produits laitiers de vache.

Tableau 11. Evolution du nombre de souches de salmonelles répertoriées par l'AFSSA Paris puis par le réseau Salmonella dans les produits laitiers de vache (16, 41).

Sérovar	Période									
	2000-2001		1994-1995		1992-1993		1990-1991		1988-1989	
	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%	Nb	%
Typhimurium	42	15,6	157	35,4	15	8,9	7	3,2	20	18,3
Montevideo	1	0,4	87	19,6	31	18,3	51	23,6	1	0,9
Infantis	14	5,3	18	4,1	10	5,9	4	1,9	8	7,3
Ohio			16	3,6	10	5,9	1	0,5		

Indiana			15	3,4	3	1,8	4	1,9		
Anatum			14	3,2	13	7,7	23	10,6	5	4,6
Enteritidis	43	16	12	2,7	14	8,3	5	2,3	4	3,7
Kottbus			12	2,7	10	5,9	17	7,9		
Dublin	94	34,9	11	2,5	2	1,2	1	0,5	9	8,3
Give			11	2,5	5	3				
Derby	5	0,7								
Autres sérovares	70	26	90	20,3	56	33,1	103	47,7	90	56,9
Total souches	279	100	443	100	169	100	216	100	137	100

Nous remarquons que le nombre de souches répertoriées et les types de sérovar varient grandement d'une année sur l'autre. Cependant, d'une manière générale, les sérovares Typhimurium, Enteritidis, Montevideo et Dublin dominant dans les produits laitiers de vache (16). Ceci ne peut pas être transposé aux produits laitiers de brebis, pour lesquels ce type d'information manque.

B. Les sources de contamination du lait par les salmonelles

Nous nous appuyerons surtout sur la contamination du lait de vache car pratiquement aucune publication n'étudie la contamination du lait de brebis par les salmonelles.

Il est difficile d'évaluer l'incidence de la contamination des laits de vache collectés. Au Canada, une fréquence de 2,9 % a été observée dans une enquête effectuée en 1986 sur un échantillon de près de 500 exploitations laitières recrutées au hasard dans l'Ontario (28).

A la même époque, une fréquence de 4,7 % est rapportée aux Etats Unis dans le Middle West (40). Une étude effectuée dans 30 fermes laitières du Tennessee en 2002 évalue à 2,24 % le nombre d'échantillons de lait de tank positifs en salmonelle (59). La majorité des isolements a été obtenue entre septembre et décembre, sans réelle explication.

En France, de très nombreux contrôles sont effectués sur les laits collectés par les entreprises dans le cadre de plans systématiques de surveillance, en particulier dans les zones de production de fromages au lait cru. Les résultats de ces contrôles sont utilisés pour trier les laits contaminés par les bactéries pathogènes et les diriger sur les circuits de transformation en produits pasteurisés. Ils restent le plus souvent confidentiels.

Le lait peut être contaminé par les fèces des animaux, par leurs sécrétions génitales, et, plus rarement, directement par une excrétion mammaire.

1. Fèces des animaux

Au sein d'un élevage, les principales sources de salmonelles sont les fèces des animaux malades et des porteurs asymptomatiques, fréquents après le traitement de la maladie ou parmi les vaches n'ayant jamais exprimé de signes cliniques. Les traitements antibiotiques permettent de limiter ou de guérir les signes cliniques mais n'éliminent généralement pas l'excrétion (28).

L'excrétion fécale de salmonelles est très élevée chez les bovins en phase clinique : 10^6 à 10^8 bactéries /g (47, 86).

Il faut rappeler que, dans les cas de salmonellose aiguë, le caractère aqueux et le volume des excréments sont notablement accrus et jouent donc un rôle de dilution et, simultanément, de plus grande diffusion de la bactérie.

Le problème est que des vaches excrètent également des salmonelles dans leurs fèces en grande quantité en dehors des épisodes cliniques aigus.

SOJKA (1974) a montré que certaines vaches pouvaient excréter entre 10^5 et 10^6 *Salmonella* Dublin par gramme de fèces 30 mois après l'épisode clinique. A l'examen post mortem des vaches étudiées, la bactérie se localisait principalement dans le tractus intestinal et dans la vésicule biliaire. Cet auteur estime que l'excrétion totale quotidienne de tels animaux pourrait atteindre parfois 10^{10} germes par vache (73).

MORISSE (1983), à l'occasion d'études comparant des troupeaux témoins et des élevages ayant connu avec certitude un épisode de salmonellose aiguë mais guérie depuis, a précisé des points d'intérêt pratique sur la dissémination des salmonelles par les bovins laitiers (56) :

- quand une salmonellose clinique apparaît dans un troupeau, tous les sujets malades ou non doivent être considérés comme des excréteurs de germes. La comparaison du niveau d'excrétion des animaux malades ou non ne montre pas le même pourcentage de porteurs.
- La répartition de deux sérotypes différents isolés dans l'élevage peut se modifier considérablement avec le temps.
- Les génisses présentes sur l'élevage quand survient un accident clinique sur les vaches laitières peuvent excréter des salmonelles lors de leur premier vêlage avec la même fréquence que les vaches.
- En période peri partum, on assiste à une augmentation spectaculaire du pourcentage de sujets excréteurs (60 à 90 %). En effet, chez les sujets guéris, après une phase de réduction lente et progressive, on assiste à une recrudescence de l'élimination des salmonelles dans les semaines qui

précèdent et qui suivent la mise bas. Les auteurs expliquent cela par le dysfonctionnement hépatique observé autour du vêlage.

L'excrétion de salmonelles dans les bouses à plus ou moins long terme après la maladie est d'observation courante (87). Peu d'études ont été consacrées à l'excrétion en l'absence de tout épisode clinique.

MORISSE (1989) trouve que 6,9 % des 145 sujets prélevés en milieu « sain » (sans antécédents cliniques connus de salmonellose) sont également porteurs de salmonelles (55). Cette observation, réalisée à partir d'un seul contrôle individuel, permet de suspecter l'importance du problème de la contamination par les salmonelles dans les effectifs laitiers sans antécédents cliniques. Dans cette étude, des salmonelles sont isolées sur un ou plusieurs animaux dans 23,5 % des exploitations.

Globalement, l'ensemble des résultats obtenus suggère que les vecteurs de la propagation des salmonelles aboutissant à la contamination du lait, hormis l'excrétion mammaire qui sera discutée par la suite, s'enchaînent selon le schéma général suivant :

- excrétion fécale de salmonelles par les bovins ou les ovins,
- dissémination des bactéries dans l'environnement, directement via la contamination des litières, des locaux de traite, de l'eau des abreuvoirs..., ou indirectement via l'épandage des lisiers ou des fumiers,
- contamination de la peau des mamelles, des équipements ou ustensiles (lavettes) de traite ou de l'eau utilisée pour le nettoyage des trayons,
- passage des salmonelles dans le lait lors de la traite.

2. Les liquides génitaux

Après l'excrétion fécale, la voie placentaire prend une place très importante car elle détermine la contamination *in utero* du fœtus, et c'est dans cet organe que l'on note les titres les plus élevés de salmonelles, de l'ordre de 10^9 à 10^{10} germes par gramme (47). Les écoulements génitaux lors de la période périnatale représentent donc une source abondante de salmonelles et peuvent facilement contaminer le lait au début de la lactation.

3. L'excrétion mammaire

Nous avons vu que le lait est fréquemment contaminé dans les élevages infectés, mais il est difficile de préciser s'il s'agit d'une véritable excrétion d'origine intra-mammaire ou simplement d'une contamination cutanée par les excréments et les liquides génitaux.

L'excrétion mammaire chez les bovins a été décrite dans quelques publications.

- Infection intra-mammaires naturelles

GIBSON (1965) montre que l'excrétion de salmonelles dans le lait est commune durant l'état fébrile de salmonellose et cite des rapports d'infections mammaires causées par *Salmonella* Dublin, S. Thompson et S. Newport (17).

OSBORNE (1977), en cherchant les sources de contamination néonatale de veaux par *S. Dublin*, découvre que 2 vaches sur 3 ayant un historique d'avortement à *S. Dublin* ont excrété cette bactérie dans le lait suite à une césarienne (61). Il pense que ce phénomène est identique à celui de l'infection brucellique. A l'autopsie, les salmonelles n'étaient localisées que dans le tissu mammaire et le nœud lymphatique rétro-mammaire.

MORISSE (1983) remarque qu'en période peri partum, le niveau de contamination des laits est élevé : il peut atteindre 25 à 35 % des échantillons individuels contrôlés chez les sujets ayant récemment vêlé dans les troupeaux ayant connu un épisode de salmonellose (56). L'auteur pense que, comme pour une mammite à coliforme, il s'agit vraisemblablement d'une contamination de la mamelle par voie ascendante.

Au Canada, la contamination de fromages au lait cru par le sérotype 10 de *Salmonella* Typhimurium entraîna l'examen bactériologique du lait de 327 bassins refroidisseurs d'autant de fermes, à l'île du Prince Edouard. Un de ces échantillons recelait la salmonelle précitée qu'on isola aussi du lait d'une des vaches du troupeau suspect. Même si cette vache ne manifestait aucun signe clinique de maladie, à l'exception d'une mammite staphylococcique chronique de deux quartiers, elle continua à éliminer la salmonelle dans son lait pendant 36 jours (de façon permanente sur un quartier et intermittente sur un autre). Les échantillons de fèces étaient tous négatifs pour la présence de salmonelles. L'autopsie révéla seulement une mammite chronique à staphylocoques. L'auteur n'a pas réussi à isoler la salmonelle du tissu mammaire et des nœuds lymphatiques rétro-mammaires (60).

Au Royaume Uni, en étudiant un troupeau laitier de 131 vaches ayant régulièrement des filtres à lait contaminés par *Salmonella* Typhimurium de 1983 à 1986, une vache a été trouvée excrétrice de cette bactérie alors qu'elle avait été considérée négative à trois occasions auparavant (18, 19). La salmonelle n'était pas excrétée dans les fèces. A l'autopsie *S. Typhimurium* a été isolée du quartier excréteur et du nœud lymphatique rétro-mammaire. L'auteur conclut que cette vache a excrété par intermittence pendant 2,5 ans, surtout en période peri partum (période où les filtres étaient contaminés).

SMITH (1989) effectue le suivi, durant un an, de 7 vaches naturellement excrétrices de *Salmonella* Dublin (72). 6 des 7 vaches ont vêlé au cours de cette période. Le portage fécal était sporadique chez toute les vaches. L'excrétion de salmonelles dans le lait était fréquente chez 4 vaches, sporadique à absente chez les autres. Le nombre de salmonelles excrétées était

compris entre 10^1 et 10^5 UFC/ ml de lait. Le pourcentage d'échantillons positifs, sur toute la période d'étude a été de 46 % pour le lait et de 4 % pour les fèces. Dans les 4 semaines suivant le vêlage, il a été de 5 % pour les fèces et seulement de 28 % pour le lait. Ceci contredit les études montrant une augmentation de l'excrétion fécale et mammaire provoquée par le stress du vêlage. Suite aux analyses bactériologiques post mortem, *S. Dublin* a été isolée seulement des quartiers excréteurs et des nœuds lymphatiques rétro-mammaires correspondants chez les 4 vaches excrétrices permanentes.

Suite à l'isolement de *Salmonella* Enteritidis lysotype 8 chez des personnes malades d'une ferme du sud de l'Alberta, consommant le lait cru du tank, cette bactérie a été isolée dans les filtres à lait, dans le lait de la citerne et dans le lait du quartier arrière droit d'une vache Holstein de 5 ans (84). L'animal affecté a été retiré du troupeau et gardé dans un endroit isolé. La vache a continué à produire et disperser *S. Enteritidis* du même quartier durant une période de 7 mois sans présenter de signes cliniques. Le lait du quartier affecté était d'apparence normale macroscopiquement. Après avoir retiré la vache infectée du troupeau, la culture du lait de la citerne a été négative pour *Salmonella* spp. durant les 15 mois suivants.

En France, MARTEL effectue un suivi bactériologique d'un élevage laitier transformateur suite à la découverte d'un fromage au lait cru contaminé par *Salmonella* Ohio (46). Cette dernière est retrouvée dans le lait de mélange de l'exploitation ainsi que dans un fromage frais. Les coprocultures permettent de détecter 20 vaches infectées sur 56. Le contrôle des laits prélevés stérilement, quartier par quartier, ne permet de détecter que 2 prélèvements très faiblement contaminés par *S. Ohio* : respectivement 1 et 2 colonies par ml de laitensemencé. Les deux prélèvements correspondent aux deux quartiers postérieurs d'une même vache âgée de 4 ans. L'auteur pense plutôt à une contamination ascendante du canal du trayon qu'à une véritable infection mammaire.

MESSADI, lors d'une étude portant sur 337 vaches présentant des symptômes de mammite clinique, isole *Salmonella* Typhimurium sur du lait « mammiteux » d'une vache (53).

Une étude de l'INRA trouve une prévalence de l'excrétion mammaire de salmonelles de l'ordre de 0,6 % sur un échantillon de 29 élevages ayant livré un lait contaminé (28). Ce chiffre peu élevé concerne cependant des animaux sans symptômes cliniques et est supérieur aux résultats précédents de la littérature présentant l'excrétion mammaire comme une source exceptionnelle de contamination du lait.

L'INRA a également suivi deux vaches excrétrices en station (28). Les deux animaux ont excrété des salmonelles dans le lait d'un quartier pendant toute la période de suivi, mais de

façon très différente : une vache très irrégulièrement avec un faible nombre de salmonelles et des numérations cellulaires modérées, l'autre régulièrement avec des quantités très importantes de salmonelles et de cellules. A l'autopsie, les deux animaux se sont révélés porteurs de salmonelles dans le seul quartier excréteur et dans les ganglions rétro-mammaires correspondants, de façon beaucoup plus marquée sur la vache fortement excrétrice.

Nous voyons bien que l'excrétion mammaire, en dehors des épisodes cliniques, est généralement considérée comme rare et a le plus souvent été observée sur un seul individu au sein de troupeaux avec antécédents de salmonellose extra-mammaire. Cette infection mammaire a le plus souvent une clinique fruste : aucune modification de l'état général, de la mamelle et de l'aspect macroscopique du lait. Vu le faible nombre d'animaux excréteurs dans le troupeau et le faible nombre de quartiers touchés, il semble que ce soit un modèle de mammite d'environnement.

- Reproduction expérimentale d'infections intra-mammaires

SMITH (72) a inoculé régulièrement 7 vaches par voie orale avec des doses croissantes de *Salmonella* Dublin (de 10^9 à 10^{11} UFC) puis par voie intra-veineuse. Les vaches ont excrété dans les fèces après chaque inoculation pendant 7 jours maximum et ont excrété dans le lait de manière sporadique ; une vache n'a jamais eu d'échantillons de lait positif alors que son sang était positif. Sans pour autant rejeter l'hypothèse d'une voie systémique, l'auteur conclue que la voie intra-mammaire doit être la principale voie de contamination de la mamelle par les salmonelles.

SPIER a induit des infections expérimentales intra-mammaires sur 5 vaches Holstein en inoculant de faibles nombres (5000 UFC) de *Salmonella* Dublin via le canal du trayon d'un quartier (75). Toutes les 12 heures, lors de la traite, l'auteur a contrôlé la température rectale, la fréquence respiratoire, la production laitière et la qualité du lait en faisant un California Mastitis Test CMT et un Comptage des Cellules Somatiques (CCS) sur chaque quartier. Tous les jours, des cultures bactériologiques d'échantillons de fèces et de lait individuels des quartiers et des Numérations Formules Sanguines (NFS) ont été obtenues.

Toutes les vaches ont excrété de façon intermittente à partir des quartiers inoculés. L'inoculation n'a provoqué ni symptômes cliniques généraux, ni mammaires, ni de modification de la NFS. Les CCS des quartiers infectés étaient modérément augmentés alors que le score du CMT est resté identique. Après l'infection, une injection de dexaméthasone provoqua des signes cliniques de mammite aiguë et augmenta l'excrétion de salmonelles par le quartier inoculé ; une vache eut une mammite nécrosante évoluant vers une septicémie à *S.*

Dublin et fut euthanasiée. Certaines vaches ont présenté une excrétion intermittente de salmonelles par plusieurs quartiers et dans les fèces. A l'autopsie, la salmonelle fut seulement retrouvée dans le tissu mammaire et le ganglion rétro-mammaire de 3 vaches, les échantillons de l'autre vache étant négatifs. Sur toutes les vaches, l'examen histopathologique du tissu mammaire révéla de nombreuses aires multifocales de mammites chroniques évolutives.

Nous voyons bien que les études précédentes posent la question du dépistage de tels animaux, dont l'excrétion peut être intermittente et persister durablement. La technique de diagnostic bactériologique classiquement employée est lourde, du fait de l'obligation de réaliser des prélèvements aseptiques de laits de quartier, et coûteuse. De plus, sa fiabilité est limitée par l'absence éventuelle d'excrétion le jour des prélèvements. Une alternative au diagnostic bactériologique peut être l'utilisation de techniques sérologiques type ELISA. Cette technique a d'abord été développée aux USA en 1989 (72) et au Danemark en 1995 (29). L'INRA a ensuite adapté la technique aux conditions des élevages français : les divers réactifs et leurs concentrations optimales ont été définis après plusieurs essais sur des laits, des lactosérums ou des sérums sanguins provenant de troupeaux livrant des laits contaminés ou non par salmonelles de différents sérogroupes (28). La technique a été validée sur le lait de mélange des quatre quartiers, et en utilisant soit l'antigène de la bactérie isolée dans le lait d'animaux excréteurs, inactivé par la chaleur, soit des LPS commerciaux. On considère les animaux comme potentiellement excréteurs s'ils présentent des titres en anticorps très supérieurs à ceux des autres. Les résultats des différentes techniques ELISA sont encourageants : cette sérologie permettrait d'éviter plus de 90 % des examens bactériologiques (28, 76).

C. Le plan breton de protection du lait des tanks (31).

Un plan de protection du lait de tank et des élevages vis-à-vis des salmonelles a été mis en place en Bretagne de 1999 à 2001 par l'Union Bretonne des GDS. Il avait pour but de prévenir la contamination des produits laitiers :

- dans les élevages atteints cliniquement ;
- dans les élevages contaminés ;
- dans les élevages indemnes.

L'excrétion fécale et la contamination du tank ont été mesurées en réalisant une recherche de salmonelles dans les excréments et dans le lait pendant un an (cf. Fig. 4 et 5).

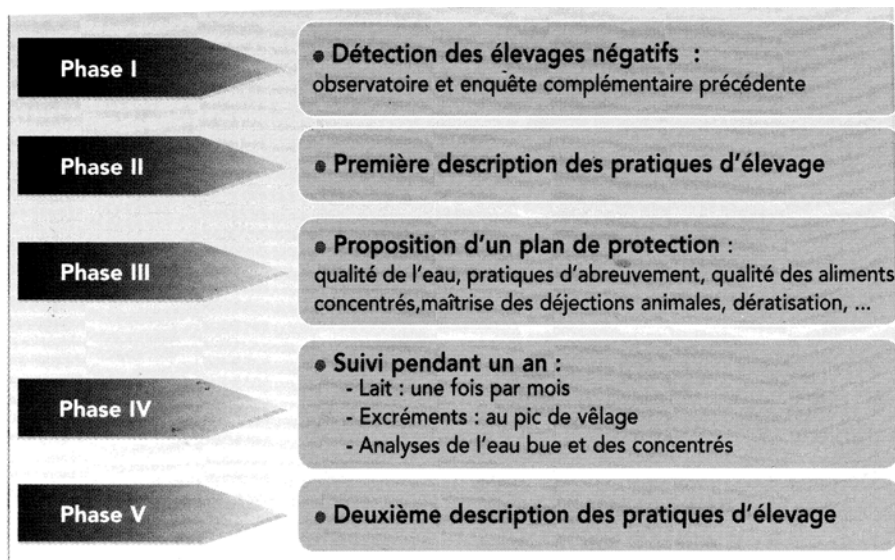


Figure 4. Plan de protection des élevages à priori indemne (31).

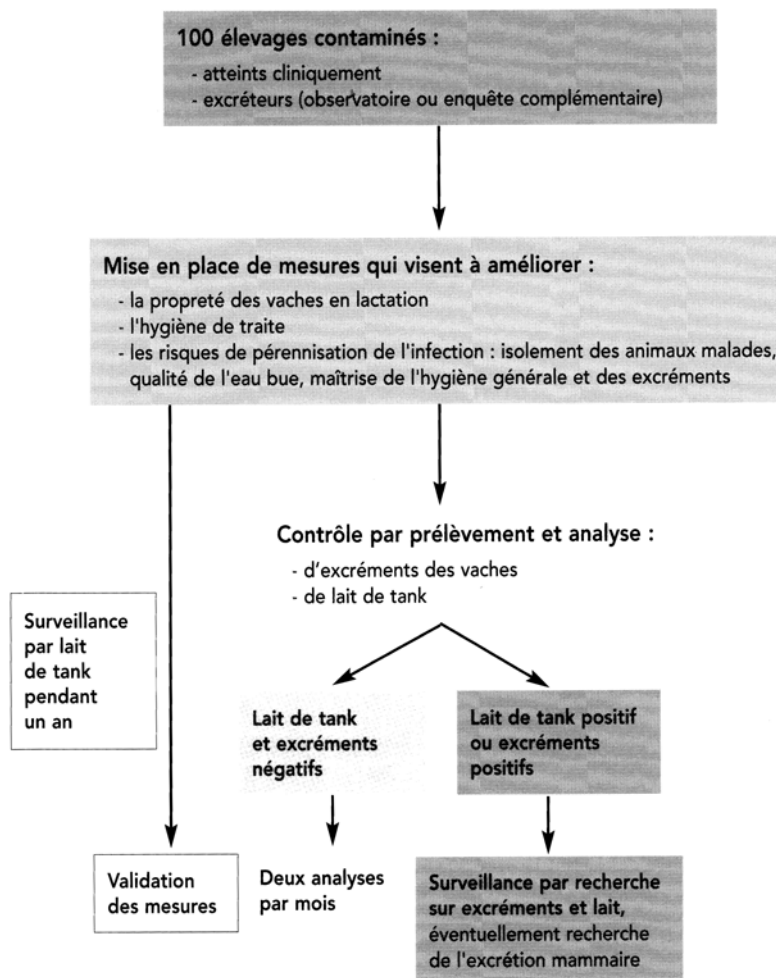


Figure 5. Plan de protection des élevages contaminés (31).

Les pratiques d'élevages ont été évaluées à deux reprises en notant cinq grands postes :

- les introductions, les productions animales et le voisinage ;
- l'hygiène et la qualité de l'alimentation et de l'eau ;
- l'état sanitaire des animaux ;
- l'hygiène générale ;
- l'hygiène de la traite.

Un rapport écrit relève l'ensemble des pratiques à risque et hiérarchise les mesures correctives proposées.

Au total, 191 élevages ont été suivis. Les pratiques d'élevages se sont globalement améliorées dans l'ensemble des élevages et dans tous les secteurs. Ceci a permis de diminuer significativement le nombre d'élevages contaminés.

Ce plan de protection ayant montré son efficacité, il peut se transformer en méthode d'intervention de type HACCP dans les élevages afin de protéger les tanks vis-à-vis d'un pathogène majeur (pas seulement *Salmonella* mais également *Listeria*, *Staphylococcus*, colibacilles...). Cette méthode doit comprendre la description des pratiques générales, la détection des points critiques et la mise en place de mesures correctives.

PARTIE 2

Etude expérimentale de la salmonellose
mammaire ovine : suivi clinique et
bactériologique

Après avoir rappelé les connaissances actuelles sur les infections salmonelliques chez les bovins et les ovins et constaté que l'atteinte mammaire était peu décrite, nous allons maintenant nous intéresser au suivi de brebis excréteur de façon spontanée des salmonelles dans leur lait. En effet, cette excrétion galactophore peut être à l'origine de contaminations durables et insidieuses de la matière première. Dans les filières au lait cru, en particulier ovines, ce risque doit être évalué. Le présent suivi fait partie d'un travail plus large, conduit par différents partenaires professionnels et scientifiques. L'ensemble de l'étude avait pour objectifs d'évaluer l'incidence de la contamination de la matière première (le lait), d'identifier les sources animales et environnementales de salmonelles et enfin de préciser les facteurs de risque en élevage. Cette thèse s'inscrit dans le deuxième objectif et vise principalement à caractériser l'infection salmonellique mammaire chez la brebis au niveau clinique et bactériologique. Tout ceci débouche sur un plan de prévention opérationnel en élevage et en particulier un meilleur dépistage de ces animaux excréteurs.

I. Matériel et méthodes

A. Les animaux

1. Sélection et origine des animaux

Huit brebis naturellement infectées par *Salmonella* spp. ont été étudiées. Elles ont été identifiées comme excrétrices de salmonelles dans le lait suite à une recherche exhaustive intra-élevages sur le lait (analyses bactériologiques individuelles). Ces 8 brebis provenaient de 6 élevages de la même zone (les brebis 091 et 006 d'une part et 025 et 0137 d'autre part provenaient du même élevage). Dans ces élevages, il y avait une absence présumée de salmonellose clinique.

La livraison des brebis à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse s'est effectuée de la manière suivante :

- le 21/02/03, les brebis N° 545 et N° 0137
- le 13/03/03, les brebis N° 006, N° 114, N° 206, N°091
- le 31/03/03, les brebis N° 225 et N° 025

Ces brebis étaient en première (206 et 225), deuxième (114), troisième (0137, 006, 091, 025) et huitième (545) lactation.

Le stade de lactation des brebis n'était pas connu précisément, mais se situait entre 3 (brebis 545 et 0137) et 4 mois (225 et 025), donc au milieu de la lactation.

2. Conduite des animaux

Les brebis étaient logées ensemble dans un box paillé de 4 x 4 m.

Elles étaient nourries avec du foin de prairie *ad libitum*. Lors de la traite, elles recevaient, avec démarrage progressif, 500 g de bouchons de luzerne associé à 500 g de concentré de production (LacotaneND) par jour.

Les brebis ont été traitées manuellement une fois par jour à heure fixe (vers midi).

Le suivi a duré de 14 à 45 jours en fonction des animaux. Les décisions d'euthanasie ont été prises en fonction de l'intérêt individuel du suivi et des valeurs de dénombrements bactérien et leucocytaire sur le lait.

B. Le suivi des animaux : les séances de prélèvement et d'examen

1. Protocole d'examen clinique

- Examen général : température rectale, observation du comportement de l'animal (abattement, anorexie, arrêt de la rumination), présence ou non de diarrhées, de troubles respiratoires.
- Mamelle : inspection (équilibre du pis) effectuée avant la traite, palpation avec recherche de signes de mammite aiguë (rougeur, chaleur, tuméfaction) ou de mammite chronique (foyers d'induration nodulaire, abcès ou sclérose d'une ou des deux glandes, palpation des nœuds lymphatiques rétro-mammaires).
- Production laitière : aspect du lait (couleur et consistance) et mesure de la production par brebis et par demi-mamelle (la mamelle est vidangée à fond mais sans repasse).

2. Protocole des prélèvements

- Un prélèvement de lait pour réaliser les comptages de cellules somatiques (CCS) a été quotidiennement réalisé par demi-mamelle au tout début de la traite (première fraction). Le lait était conservé à 4°C dans des pots en plastique, fournis par le CIAL d'Auch, contenant un conservateur : du bronopol.
- Un prélèvement aseptique de lait pour examen bactériologique (désinfection du trayon à l'alcool et élimination des premiers jets) a été effectué au début pour les deux demi-mamelles afin d'identifier le(s) côté(s) excréteur(s), puis seulement du côté de la demi-mamelle excrétrice. La périodicité a été de 2 à 3 fois par semaine.
- Des prises de sang sur tube sec ont également été effectuées en vue de réaliser des sérologies. Les résultats ne sont pas traités dans cette thèse.

C. Autopsie des animaux

Les huit brebis ont été euthanasiées et autopsiées suivant le protocole suivant :

- N° 0137 et N° 545 le 07/04/03,
- N° 091, N° 006, N° 206 le 11/04/03,

- N° 114, N° 025, N° 225 le 14/04/03.

A chaque fois, les organes thoraciques et abdominaux ont été examinés macroscopiquement afin de vérifier s'il n'y avait pas de lésions.

L'aspect à la coupe des nœuds lymphatiques mésentériques, iliaques et rétro-mammaires a été noté. Ces derniers ont été également mesurés et pesés.

L'aspect et la palpation du parenchyme mammaire ont été observés et décrits.

Sur les brebis autopsiées, des prélèvements de foie, de rate, de fèces, de nœuds lymphatiques rétro-mammaires, mésentériques et iliaques ainsi que d'abcès mammaires ont été effectués en vue d'analyses bactériologiques.

D. Les techniques analytiques

1. Les comptages de cellules somatiques (CCS)

Les prélèvements ont été analysés dans les 48 h au CIAL-SO (Auch) par la méthode opto-fluoro-électronique (Somacount).

2. Isolement et identification des salmonelles dans le lait, les organes et les fèces

La recherche a comporté quatre étapes successives : pré-enrichissement, enrichissement, isolement, identification.

- 1^{ère} étape : **pré-enrichissement** en milieu non sélectif (revivification et multiplication de toutes les bactéries vivantes présentes dans le prélèvement) dans de l'eau peptonée tamponnée (EPT) (BioMérieux) (20% dans l'EPT ramenée à la température du laboratoire) pendant 24h à 37°C ; cette étape ainsi que les suivantes, a été réalisée pour les fèces et les pièces d'autopsie.
- 2^{ème} étape : **enrichissement** dans deux milieux sélectifs en parallèle (basés sur des principes de sélection différents) :
 - bouillon de Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) (BioMérieux)
 - bouillon de Mueller Kauffman modifié (MKTTn) (BioMérieux).

On a transféré 1 mL de la culture obtenue en EPT dans un tube contenant 10 mL de bouillon sélectif et on a incubé ces milieux d'enrichissement 24h ou 48h à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pour le MKTTn et à $42 \pm 1^\circ\text{C}$ pour le RVS. Après incubation, on a conservé les milieux d'enrichissement à température ambiante de façon à pouvoir réaliser un nouvel isolement ou une nouvelle phase d'enrichissement à partir de ces milieux si nécessaire.

- 3^{ème} étape : **isolement** sur gélose sélective. Trois milieux ont été choisis parmi les milieux préconisés :

- Milieu SM ID (BioMérieux)
- Milieu ASAP (AES)
- Milieu XLD (BioMérieux).

On a ensemencé à partir de chacun des milieux d'enrichissement une œse de culture sur au moins un des milieux d'isolement sélectifs. On a incubé les boîtes pendant 24 à 48 h à $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Eventuellement, on a renouvelé l'isolement si l'inoculum initial se révélait trop riche ou trop pauvre, en ayant recours aux bouillons d'enrichissement liquides. On pouvait ajouter un isolement sur gélose au sang si nécessaire afin d'observer d'autres contaminants ou si les milieux sélectifs s'avéraient difficiles à interpréter. La gélose au sang a également été utilisée pour la recherche dans le lait des bactéries autres que les salmonelles (agents de mammites non spécifiques)

- 4^{ème} étape : **identification** biochimique et sérologique.

Pour l'identification biochimique, on a isolé les colonies sur gélose nutritive puis on a réalisé une galerie API ID32E (BioMérieux). Ce type d'identification a permis la différenciation présomptive entre *S. arizonae* et les autres sous-espèces.

L'identification sérologique a été effectuée par l'AFSSA LERQAP (A. Brisabois). Elle a été systématique sur tous les isolats. La formule antigénique a été déterminée selon le schéma de Kauffman-White après agglutination sur lames avec des sérums spécifiques d'antigènes d'enveloppe, somatiques et flagellaires.

3. Dénombrement des salmonelles dans le lait

Les modalités de l'excrétion mammaire (intensité, persistance...) ont été étudiées à partir de la recherche et du dénombrement des salmonelles sur des prélèvements aseptiques de laits de chaque demi-mamelle.

A partir d'un lait prélevé dans un flacon à prélèvement stérile, l'échantillon a été homogénéisé par vortex, puis 1 mL de lait a été dilué dans 9 mL d'EPT. Plusieurs dilutions décimales ont été réalisées, puis 0,1 mL de chaque dilution a été déposé en double sur gélose sélective. Les dilutions 0, 1, 2, 3 ont ainsi été ensemencées.

Le nombre de micro-organismes présents dans le lait a été estimé à partir de la moyenne pondérée de 2 dilutions successives. Parfois, il n'a été possible d'exploiter qu'une seule dilution, les autres étant trop chargées (>300 colonies) ou pas assez (<10 colonies). Dans ce cas, le calcul s'est fait à partir de la moyenne arithmétique des boîtes de la dilution exploitable (normes NF ISO 7218-1996 et NF EN ISO 8261-2001).

II. Résultats

A. Caractérisation de l'excrétion des salmonelles dans le lait

1. Isolement et identification des salmonelles

- Caractères cultureux et biochimiques

Des difficultés d'identification présomptive des salmonelles sur géloses sélectives du commerce sont apparues. En effet, les types de colonies excrétées par 7 des 8 brebis n'ont pas présenté la morphologie caractéristique sur les géloses sélectives : apparition d'un précipité noir par formation de thiosulfate à partir de H₂S. Au contraire, les colonies étaient initialement de couleur jaune à 24 h de culture. En revanche, la souche excrétée par la 8^{ème} brebis (225 droite) a bien présenté dès 24 h de culture une coloration noirâtre (tableau 12).

Tableau 12. Identification biochimique, sérologique et morphologique des salmonelles excrétées dans le lait des brebis.

G : demi-mamelle gauche. D : demi-mamelle droite.

Demi-mamelle excréant des salmonelles	Galerie ID 32 E	Sérotype	Morphologie sur gélose sang	Morphologie sur gélose XLD	Morphologie sur gélose XLD après 24h sur la paille
545 D	<i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Grosses colonies jaunes, bords irréguliers	Noircissement des colonies
0137 G	<i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Grosses colonies jaunes, bords irréguliers	Noircissement des colonies
206 G	<i>Salmonella arizonae</i> 90,7% (mobilité 98%) <i>Shigella sonnei</i> 8,6% (mobilité 0%)	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Grosses colonies jaunes, bords irréguliers, halo translucide irrégulier Ou Colonies rouges, brillantes, bords irréguliers	Noircissement des colonies jaunes ou Non noircissement des colonies rouges

091 D	<i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Grosses colonies jaunes, bords irréguliers	Noircissement des colonies
114 D	<i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Grosses colonies jaunes, bords irréguliers	Noircissement des colonies
114 G	<i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Grosses colonies jaunes, bords irréguliers	Noircissement des colonies
006 D	Après enrichissement : <i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Non réalisée	Non réalisée
006 G	Après enrichissement : <i>Salmonella arizonae</i> 99,9%	<i>Salmonella</i> S. III. 61 : k : 1, 5, 7	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Non réalisée	Non réalisée
225 D	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Salmonella</i> Derby	Grosses colonies bombées grisâtres, brillantes, bords réguliers	Colonies noires , brillantes, bords irréguliers, halo translucide	Pas d'évolution

Les résultats des identifications biochimiques ont montré que toutes les demi-mamelles positives sauf une (225 droite) excrétaient, selon le système API, *Salmonella arizonae* (fiabilité revendiquée par le fabricant : 99,9 %). La brebis 225 a excrété une souche non identifiable par micro-galerie : *Salmonella* sp..

- Caractères antigéniques

Toutes les brebis, sauf la 225, excrètent dans le lait un même sérotype du sous-type III : 61:k:1,5,7.

La brebis 225 a excrété une souche du sérotype Derby, correspondant aux seules colonies noires à 24 h sur géloses sélectives.

- Brebis ne réexcrétant pas à l'ENVT

La brebis 025 n'a jamais excrété de salmonelles de façon spontanée malgré 13 mises en culture (côtés droit ou gauche) directes ou après enrichissement. La brebis 006 a été positive deux fois à gauche et à droite après un enrichissement sur 12 mises en culture. Ainsi, au total, sur 16 héli-mamelles (8 brebis), 7 ont régulièrement excrété des salmonelles.

- Bactériologie non salmonellique

La bactériologie des demi-mamelles contra-latérales aux positives a également été effectuée. Ces demi-mamelles ne présentaient pas d'infection bactérienne mammaire durable.

2. Quantification de l'excrétion des salmonelles

Tableau 13. Quantification de l'excrétion salmonellique dans le lait.

G : demi-mamelle gauche. D : demi-mamelle droite. Cellules grisées : valeurs extrêmes.

Date	Brebis (UFC/mL) 545 D	Brebis (UFC/mL) 0137 G	Brebis (UFC/mL) 206 G	Brebis (UFC/mL) 091 D	Brebis (UFC/mL) 114 G	Brebis (UFC/mL) 114 D	Brebis (UFC/mL) 225 D
3-mars	2164	> 10 ⁵					
6-mars	12500	14083					
11-mars	2636	92					
13-mars	20636	250	180	1220	> 10 ⁵	> 10 ⁵	
18-mars	4864	191	0	1848	0	50	
20-mars	340455	38	660	1429	12762	4714	
21-mars	3318	55	2610	2600	> 10 ⁶	4890	
24-mars	192381	464000	15	1010	46818	827	
27-mars	2036	0	1075	1782	0	1480000	
28-mars	1482	0	2650	1327	0	127273	
1-avr	5091	39000	9	1182	0	2573	845
3-avr	182727	64	4455	491	0	176000	14000
4-avr	4727	800000					> 10 ⁵
7-avr		790909					881818
08-avr			1727	1327		26364	160000
10-avr			20550	2486	0	7182	91
11-avr						> 10 ⁶	145
14-avr							16000
Moyenne arithm. arrondie	6.10⁴	1,6.10⁵	3.10³	1,5.10³	1,1.10⁵	2,4.10⁵	1,5.10⁵
Moyenne géométr. arrondie	1.10⁴	-	-	1,4.10²	-	1,8.10⁴	8,8.10³
Ecart- type arrondi	1,1.10⁵	3.10⁵	6.10³	6.10²	3,1. 10⁵	4,8.10⁵	3.10⁵

Nous pouvons noter :

- une moyenne arithmétique d'excrétion de salmonelles comprise entre $1,5.10^3$ et $2,4.10^5$ UFC/mL
- des valeurs minimales comprises entre 0 et 1482 UFC/mL, et des valeurs maximales allant de $2,6.10^3$ à $1,4.10^6$ UFC/mL
- une très grande fluctuation (écarts types importants) et irrégularité de l'excrétion avec parfois selon les jours aucune salmonelle détectée dans le lait. L'écart le plus important d'un dénombrement sur l'autre est de $4,6.10^5$ UFC/mL (3 jours).

B. Symptomatologie

1. Etat général et symptômes extra-mammaires

Durant tout le suivi des brebis, aucune n'a présenté de symptômes montrant une atteinte de l'état général : pas d'abattement, d'anorexie, d'arrêt de la rumination,... Les brebis n'ont jamais présenté de diarrhée, de troubles respiratoires ou d'atteinte clinique quelconque. Les températures des brebis ont été prises régulièrement (Figure 6).

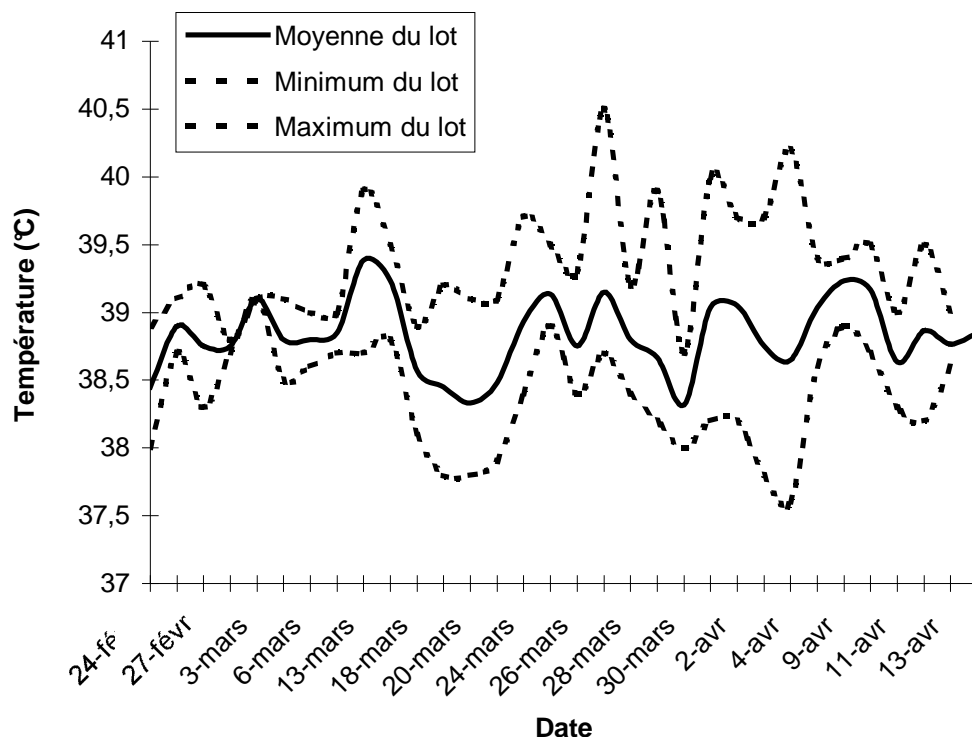


Figure 6. Evolution des températures rectales des brebis étudiées.

La moyenne des températures du lot étudié est de 38,8 °C. L'écart type est de 0,5.

Globalement, nous voyons que la température des brebis évolue peu. Une seule brebis a présenté un pic de température à 40,5 °C, cette hyperthermie n'a duré qu'un jour.

La température des brebis le jour de la livraison par camion était toujours légèrement supérieure aux jours suivants.

2. Examen de la mamelle et du lait

Les résultats de l'examen clinique de la mamelle ont peu varié au cours de l'expérimentation. Le tableau 14 présente les résultats synthétiques de l'inspection et de la palpation de la mamelle ainsi que l'aspect du lait.

Tableau 14. Synthèse de l'examen clinique de la mamelle et du lait des brebis étudiées.

Brebis (numéro)	Côté	Déséquilibre	Kystes	Induration	Nœuds lymphatiques	Aspect du lait	Autres (cutané)
545	G	Normal	Aucun	Souple	Normal	Normal	
	D	Très léger déséquilibre	Aucun	Légère induration	Légèrement réactionnel	Normal	
0137	G	Normal	Aucun	Légère induration	Réactionnel	Normal	Staphylococcie cutanée
	D	Léger déséquilibre	Aucun	Souple	Normal	Normal	Staphylococcie cutanée
114	G	Normal	4 petits kystes	Induration légère en partie haute	Réactionnel	Parfois légèrement modifié (jaunâtre)	
	D	Très léger déséquilibre	3 petits kystes	Induration légère en partie haute	Réactionnel	Parfois très modifié, aqueux	
006	G	Très léger déséquilibre	Aucun	Souple	Normal	Normal	
	D	Normal	Aucun	Souple	Normal	Normal	
206	G	Léger déséquilibre	Aucun	Souple	Légèrement réactionnel	Normal	
	D	Normal	Aucun	Souple	Normal	Normal	
091	G	Normal	1 petit kyste	Souple	Très réactionnel avec fistule	Normal	
	D	Fort déséquilibre	Aucun	Induration diffuse moyenne	Très réactionnel	Normal	

225	G	Normal	Aucun	Souple	Normal	Normal	
	D	Léger déséquilibre	Aucun	Induration légère partie haute	Légèrement réactionnel	Normal	
025	G	Très léger déséquilibre		Souple	Légèrement réactionnel	Normal	
	D	Normal	2 gros kystes	Souple	Normal	Normal	

Les données en gras sont celles des côtés excréteurs. Cases grisées : symptômes extrêmes.

G = côté gauche ; D = côté droit

Les symptômes mammaires de cette forme de salmonellose ovine sont de type :

- **mammites « subcliniques » le plus souvent** (6 brebis) avec un lait d'aspect normal, une mamelle légèrement indurée, parfois un léger déséquilibre de la mamelle et une légère réaction des nœuds lymphatiques rétro-mammaires ;
- mammite clinique chronique chez la brebis 091, avec une induration diffuse du parenchyme, un fort déséquilibre et des nœuds lymphatiques rétro-mammaires très réactionnels. Il s'agit cependant du même type clinique que le précédent, mais plus accentué.
- mammite clinique chronique à subaiguë chez la brebis 114, compte tenu de la modification d'aspect du lait.

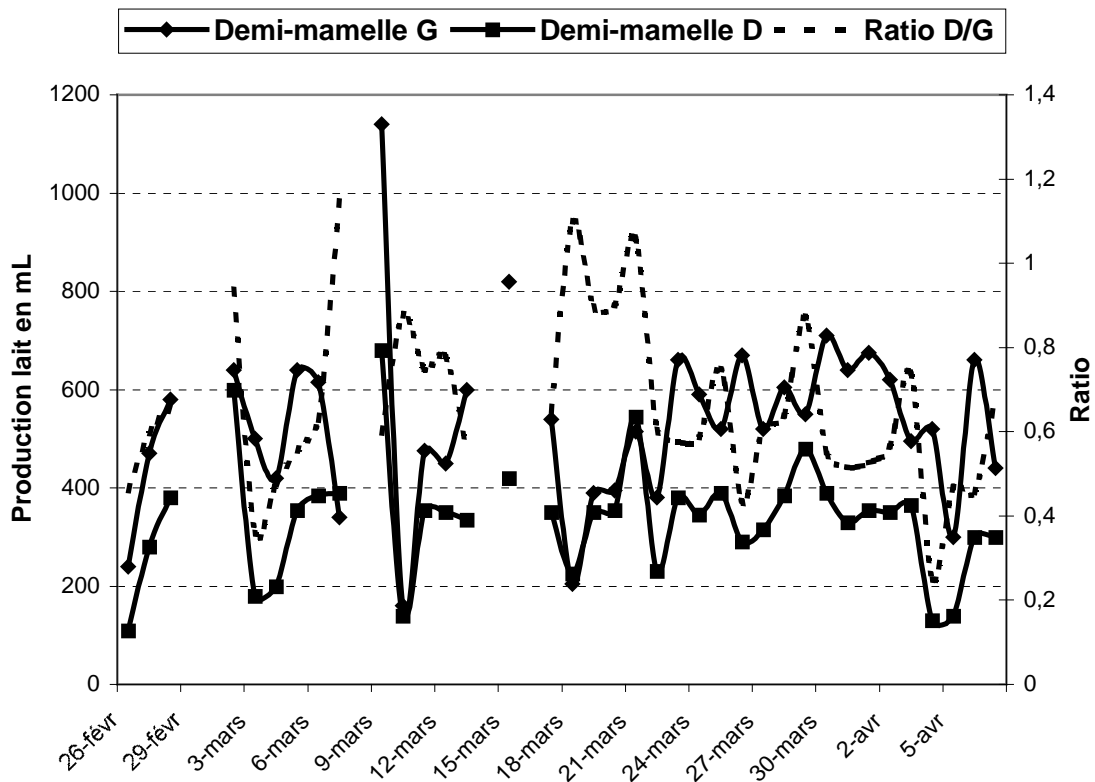
3. Conséquences sur la production laitière

La quantité de lait produite par chaque demi-mamelle est mesurée lors de chaque traite, soit une fois par jour.

Nous devons séparer les brebis en trois groupes en fonction des résultats bactériologiques précédents (cf chapitre II. A.) :

- brebis excréteur des salmonelles de façon régulière d'un côté ;
- brebis ne réexcréteur pas de salmonelles lors de leur étude à l'ENVT ;
- brebis excréteur des salmonelles des deux côtés de façon régulière.

- Production laitière des brebis n° 545, 91, 225, 206, 137 (excréteur des salmonelles de façon régulière d'un côté)

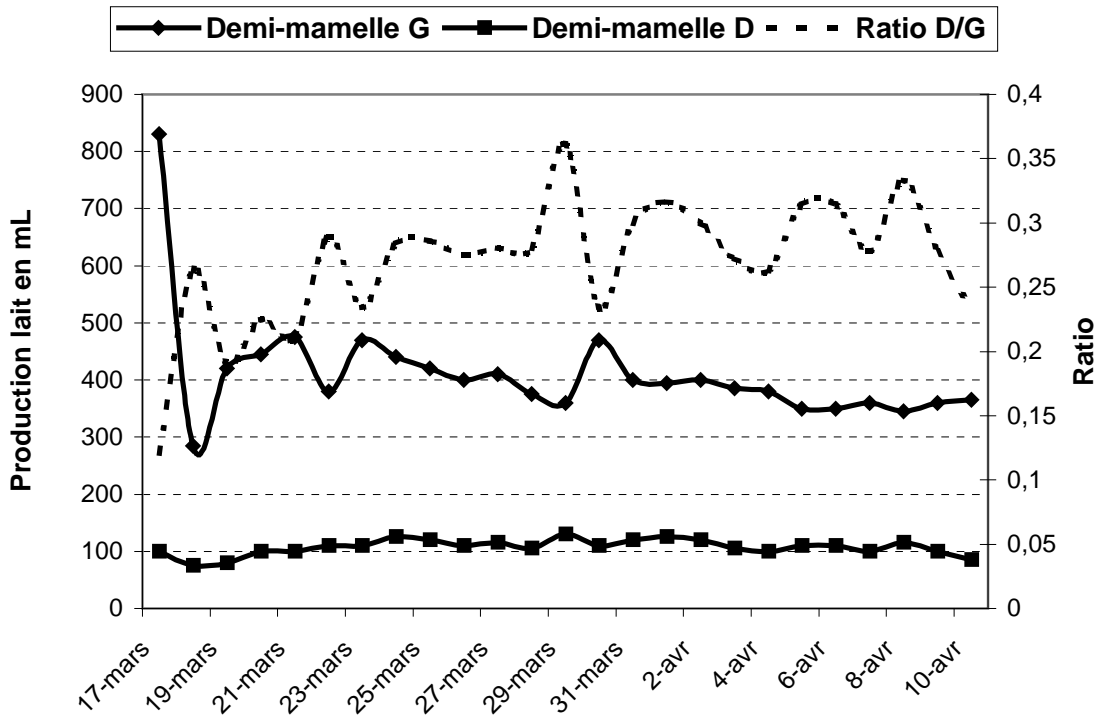


G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 7. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 545 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à 6.10^4 UFC/mL de lait)

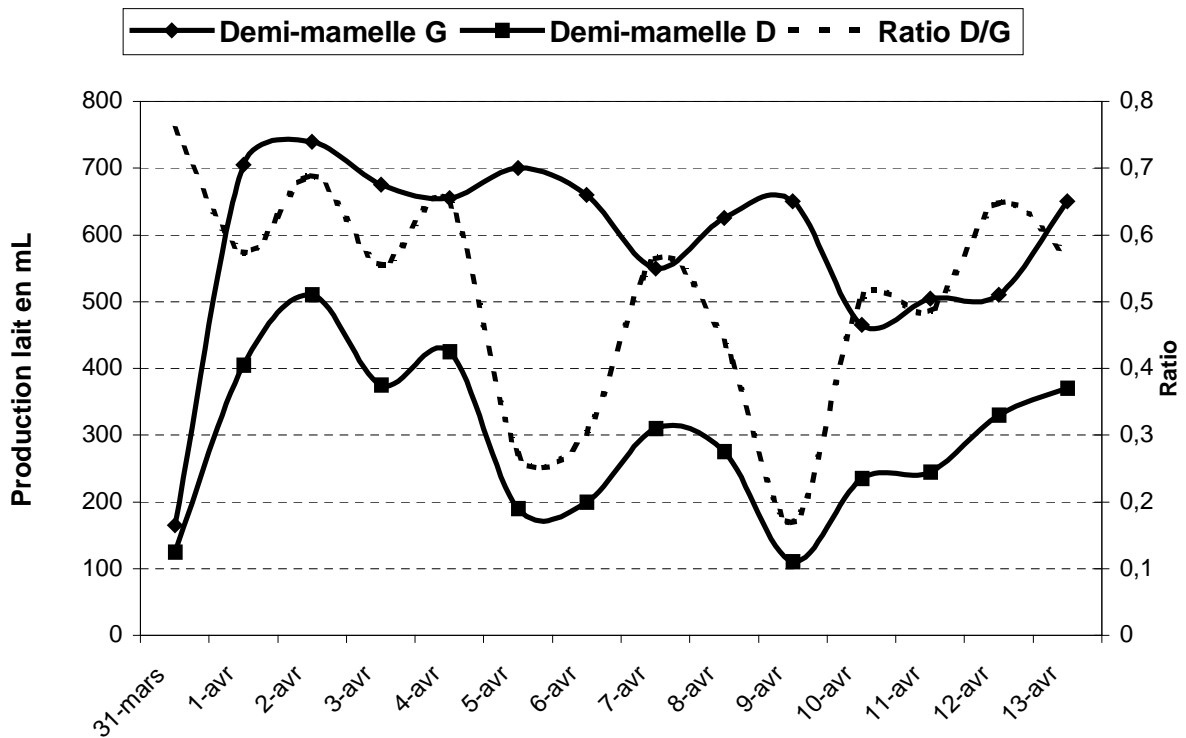
Pour la brebis n° 545 (cf. figure 7), nous n'étudions les données de production laitières que du 17 mars au 7 avril car, avant cette période, la brebis n'a pas été traitée tous les jours. La moyenne de production laitière côté gauche est de 527 mL (écart-type 132), celle de droite est de 332 mL (écart-type 94). Les fluctuations de production sont semblables des deux côtés (coefficient de variation de 0,25 pour le côté gauche et de 0,28 pour le côté droit). En moyenne, le côté droit, présentant une infection salmonellique, produit 35 % de lait en moins que le côté gauche sain. Il n'y a que le 18 et le 21 mars que le côté droit a donné plus de lait que le côté gauche.

Sur la figure 8, nous voyons une très forte différence de production entre le côté droit présentant une mammite et le côté gauche sain. La moyenne de production laitière de la brebis 091 côté gauche est de 411 mL (écart-type 107, coefficient de variation 0,24), celle de droite est de 107 mL (écart-type 14, coefficient de variation 0,13). En moyenne, le côté droit, excréant des salmonelles, produit 74 % de lait en moins que le côté gauche sain.



G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 8. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 91 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5 \cdot 10^3$ UFC/mL de lait).

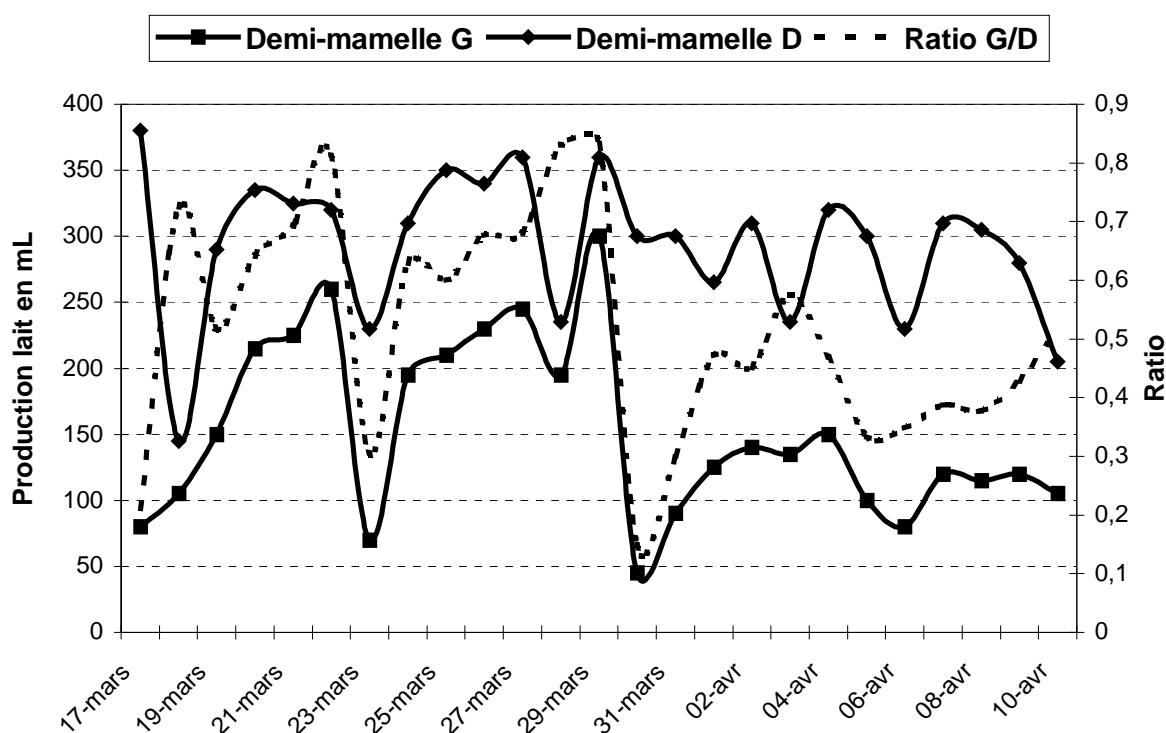


G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 9. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 225 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5 \cdot 10^5$ UFC/mL de lait).

La moyenne de production laitière de la brebis n° 225 côté gauche est de 590 mL (écart-type 147, coefficient de variation 0,25), celle de droite est de 293 mL (écart-type 117, coefficient de variation 0,40) (cf. figure 9). En moyenne, le côté droit, présentant une mammite à salmonelles, produit 50 % de lait en moins que le côté gauche sain. Nous remarquons que le jour de l'arrivée, la brebis n'a pratiquement pas produit de lait du côté gauche et droit.

La moyenne de production laitière de la brebis n° 206 côté gauche est de 152 mL (écart-type 67) avec de très fortes fluctuations de production (coefficient de variation 0,44) (cf. figure 10). La moyenne de production côté droit est de 294 mL (écart-type 55, coefficient de variation 0,19). Le côté gauche, présentant une infection salmonellique, produit 48 % de lait en moins que le côté droit sain.



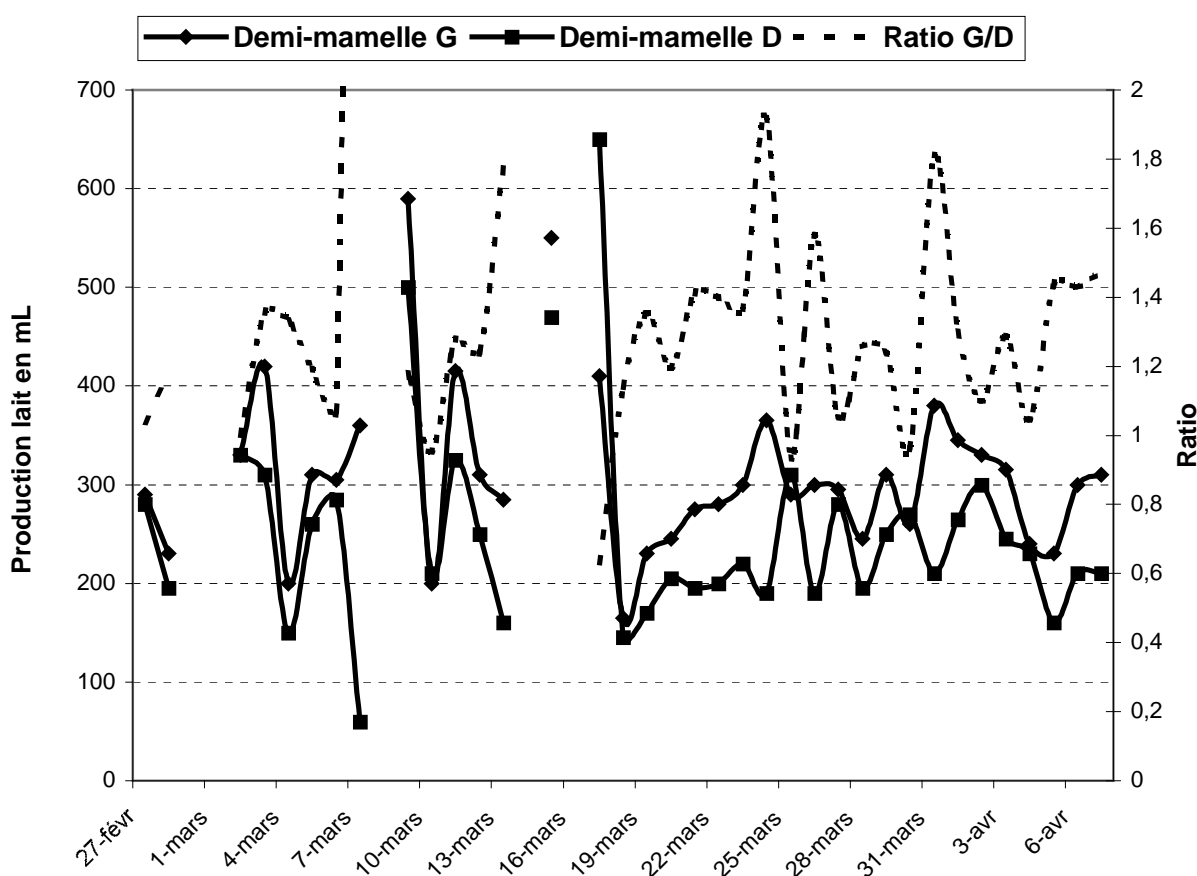
G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 10. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 206 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $3 \cdot 10^3$ UFC/mL de lait).

Pour la brebis n° 137 (cf. figure 11), nous n'étudions les données de production laitières que du 18 mars au 7 avril car avant cette période, la brebis n'a pas été traite tous les jours.

Nous remarquons que le côté droit produit en moyenne moins de lait que le côté gauche mammaire. Pourtant, d'après les analyses bactériologiques vues précédemment, le côté droit ne présente pas d'infection mammaire durable (cf Partie 2. Chap. II. A. 1.).

La moyenne de production laitière (calculée à partir du 18 mars) côté gauche est de 286 mL (écart-type 50), celle de droite est de 221 mL (écart-type 44). Les fluctuations de production laitière côté gauche et droit sont semblables et relativement faibles à partir du 18 mars (coefficient de variation de 0,17 pour le côté gauche et de 0,20 pour le côté droit)



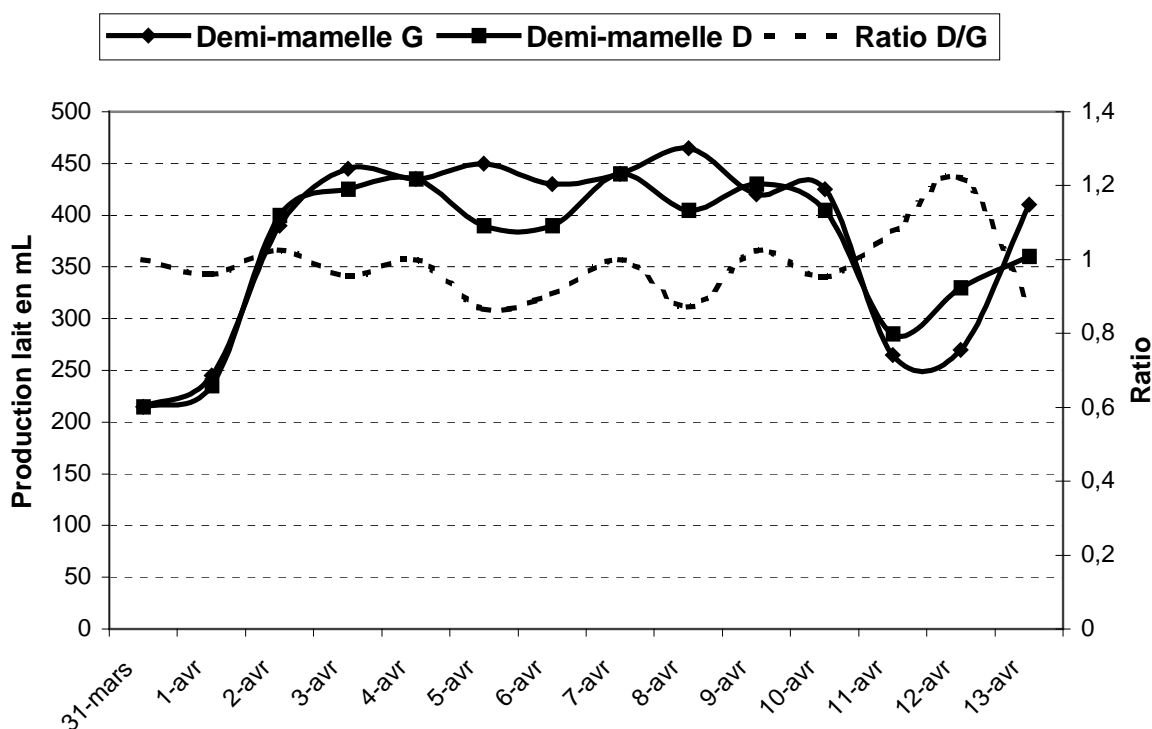
G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 11. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 137 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $1,6 \cdot 10^5$ UFC/mL de lait).

- Production laitière des brebis n° 025 et 006 (brebis ne réexcrétant pas de salmonelles lors de leur étude à l'école)

Sur la figure 12, nous remarquons que les deux courbes de production laitière gauche et droite de la brebis 025 suivent sensiblement les mêmes valeurs et les mêmes fluctuations.

La moyenne de production laitière côté gauche est de 379 mL (écart-type 88, coefficient de variation 0,23), celle de droite est de 368 mL (écart-type 74, coefficient de variation 0,2). Il n'y a donc pas de différence notable entre les productions des deux côtés, ce qui concorde avec les données bactériologiques (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.)

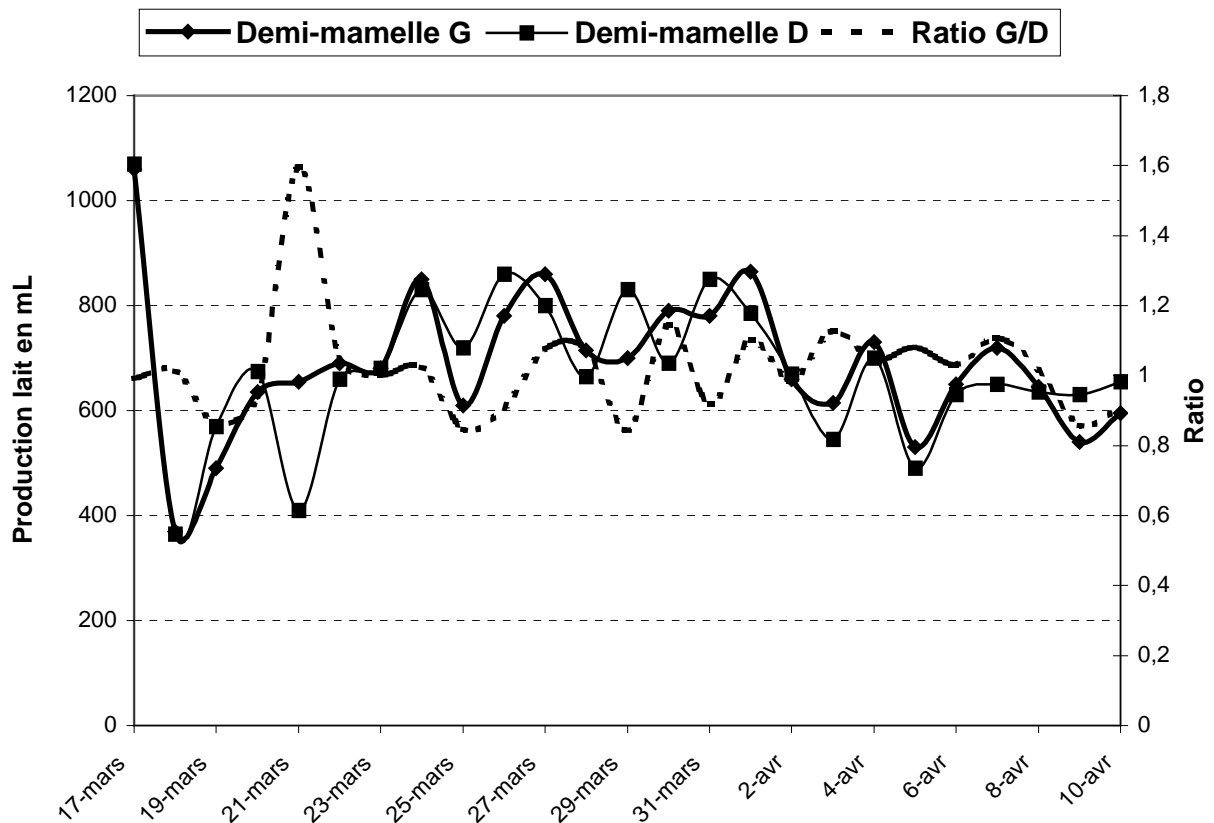


G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 12. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 025 (n'a jamais excrété de salmonelles à l'école).

Les deux courbes de production laitière gauche et droite de la brebis 006 (cf. figure 13) suivent aussi sensiblement les mêmes valeurs et les mêmes fluctuations (sauf le 21 mars sans explication apparente).

La moyenne de production laitière côté gauche est de 689 mL (écart-type 140, coefficient de variation 0,2), celle de droite est de 683 mL (écart-type 149, coefficient de variation 0,22). Il n'y a donc pas de différence notable entre les productions des deux côtés, ce qui concorde avec les données bactériologiques (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.)

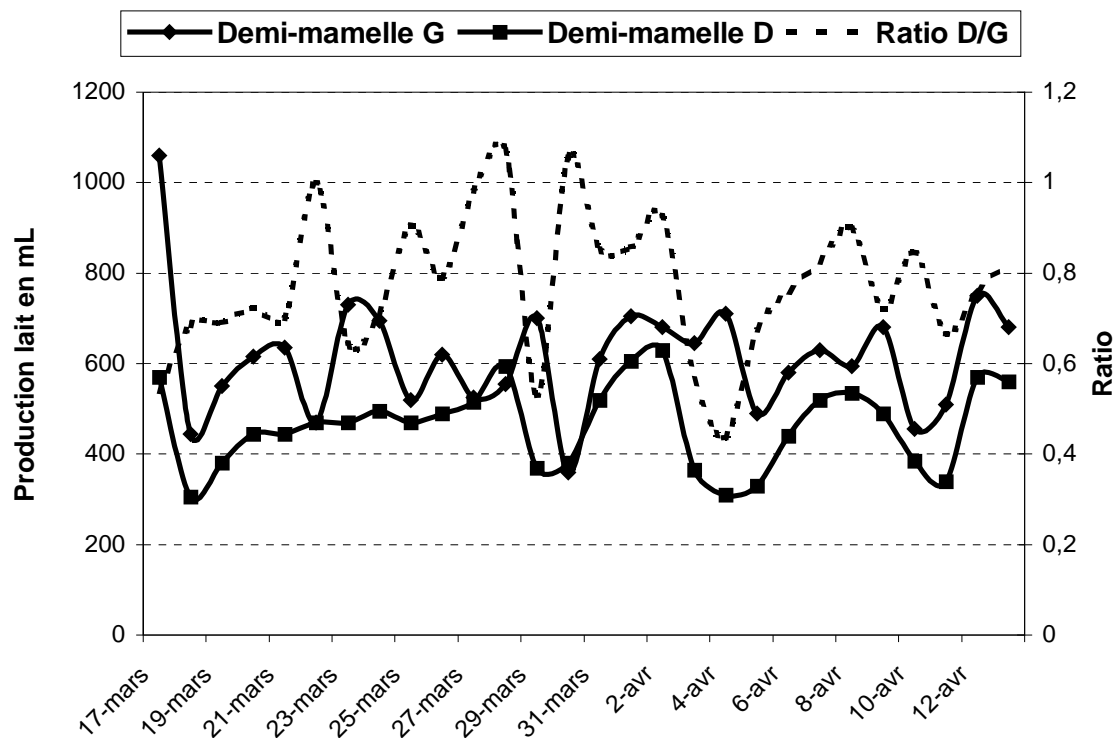


G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 13. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 006 (deux fois positive à gauche et à droite après enrichissement).

- Production laitière de la brebis n° 114 (brebis excréant des salmonelles des deux côtés de façon régulière)

La moyenne de production laitière côté gauche est de 614 mL (écart-type 132, coefficient de variation 0,21), celle de droite est de 464 mL (écart-type 93, coefficient de variation 0,2) (cf. figure 14). En moyenne, le côté droit produit 23 % de lait en moins que le côté gauche. Ceci est en accord avec le suivi bactériologique qui montre que le côté droit est plus souvent positif et excrète un plus grand nombre de salmonelles que le côté gauche (cf. Partie 2. Chap. II. A. 2.)



G = côté gauche ; D = côté droit

Figure 14. Production laitière par demi-mamelle de la brebis n° 114 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $7,5 \cdot 10^3$ UFC/mL de lait et à droite en moyenne à $1,8 \cdot 10^5$ UFC/mL de lait).

- Synthèse des résultats de production laitière

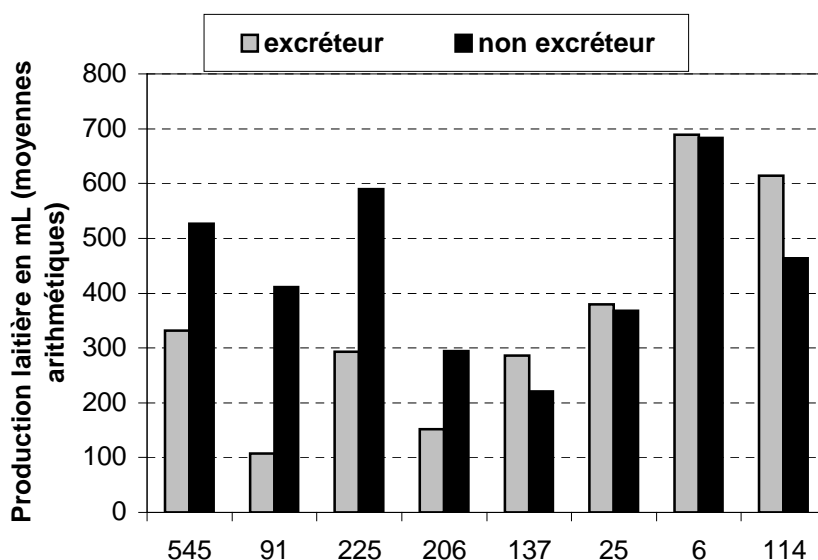


Figure 15. Production laitière moyenne. Comparaison des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices.

La comparaison des productions entre demi-mamelles excrétrices et non excrétrices a révélé une diminution de production du côté excréteur, qui peut être importante (brebis 091) (cf. figure 15 et tableau 15). Si l'on ne prend en compte que les brebis excréchant d'un côté (brebis 545, 091, 225, 206, 137), du côté excréteur, la production moyenne a été de 234 mL, avec un minimum de 107 mL pour la brebis 091 et un maximum de 332 mL pour la 545. Du côté non excréteur, la production moyenne a été de 409 mL, avec un minimum de 221 mL pour la brebis 137 et un maximum de 590 mL pour la 225 (cf. tableau 16).

La brebis 137 était un cas particulier. La demi-mamelle excrétrice produisait plus de lait que la non excrétrice.

En ne considérant pas cette brebis dans le calcul des moyennes, la production laitière du côté excréteur est de 221 mL, celle du côté non excréteur est de 455 mL.

Ainsi, en moyenne pour les 4 femelles considérées globalement, **la production des côtés excréteurs a été diminuée de 51 % par rapport au côté non excréteur.**

Tableau 15. Ratio latéro-latéral moyen de production laitière (demi-mamelles excrétrices / non excrétrices).

N° Brebis	Ratio de production demi-mamelles excrétrices / demi-mamelles non excrétrices
545	0,63
091	0,26
225	0,49
206	0,52
137	1,29

Tableau 16 . Productions moyennes des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices.

	Demi-mamelle excrétrice	Demi-mamelle excrétrice (brebis 114 incluse)	Demi-mamelle non excrétrice	Demi-mamelle non excrétrice (brebis 025 et 006 incluses)
Production laitière moyenne (mL)	232	320	409	462
Production moyenne minimale (mL)	107	107	221	221

Production moyenne maximale (mL)	332	614	590	689
---	-----	-----	-----	-----

(Les productions minimales et maximales sont des moyennes géométriques)

La figure 16 présente les coefficients de variation (ou CV : rapport de l'écart-type à la moyenne) de la production des 2 demi-mamelles. Pour les brebis 025, 006 et 114 (n'excrétant pas de salmonelles ou alors des deux côtés), le CV a été semblable. Pour les autres, à l'exception de la brebis 091, le CV a été supérieur lorsque la production laitière était inférieure.

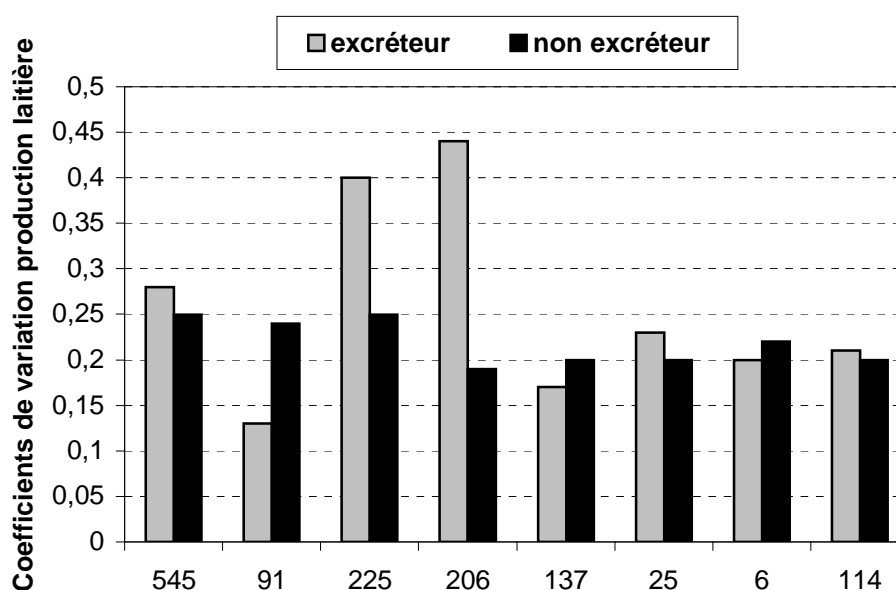


Figure 16. Coefficients de variation de la production laitière des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices.

4. Conséquences sur les comptages de cellules somatiques (CCS)

Pour l'ensemble des courbes de CCS, les points manquants correspondent à des prélèvements n'ayant pu donner de résultats par la technique opto-fluoro-électronique associée à la cytométrie de flux : laits modifiés et/ou ayant coagulé après traitement à la chaleur.

- Comptages cellulaires par demi-mamelle : brebis n° 545, 91, 225, 206, 137 (excrétant des salmonelles de façon régulière d'un côté)

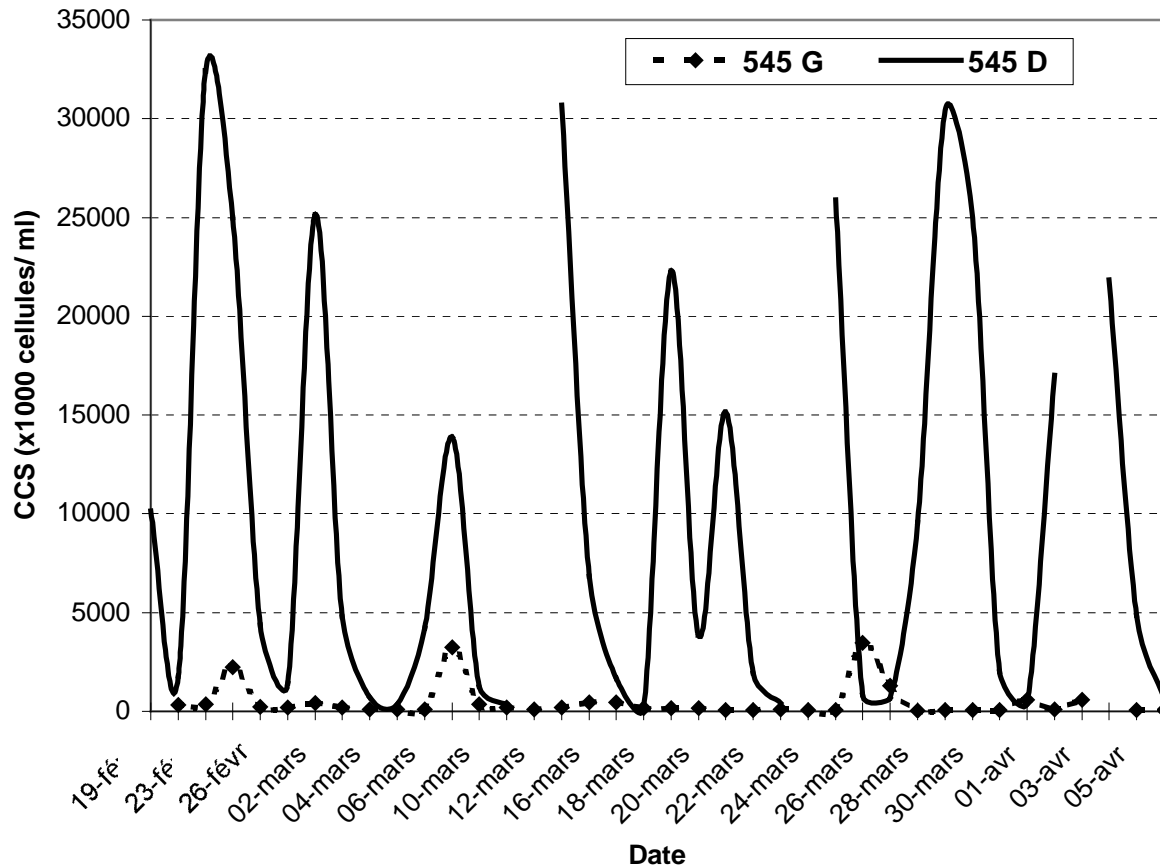


Figure 17. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 545 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à 6.10^4 UFC/mL de lait).

Sur la figure 17, nous notons que le lait du côté droit, excréteur de salmonelles, a en moyenne des CCS nettement supérieur au côté gauche, sain. La courbe des CCS du côté atteint (droit) est de type sinusoïdal avec une périodicité d'environ 4 jours. Selon les jours, on peut avoir des valeurs très basses de CCS du lait « mammitique » (minimum de 167 000 cellules/mL le 19 mars).

La moyenne des CCS du côté droit est de **9 948 000 cellules/mL** (écart-type très important de 10 918 000) avec un maximum de 32 413 000 cellules/mL le 24 février. Le coefficient de variation est également important : 1,1

Les résultats de CCS du côté gauche sont en accord avec les résultats bactériologiques ne montrant pas d'infection mammaire durable (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.) : moyenne de 456 000 cellules /mL (écart-type 825 000 et CV 1,81). Le côté gauche ne présente donc pas de mammitite subclinique.

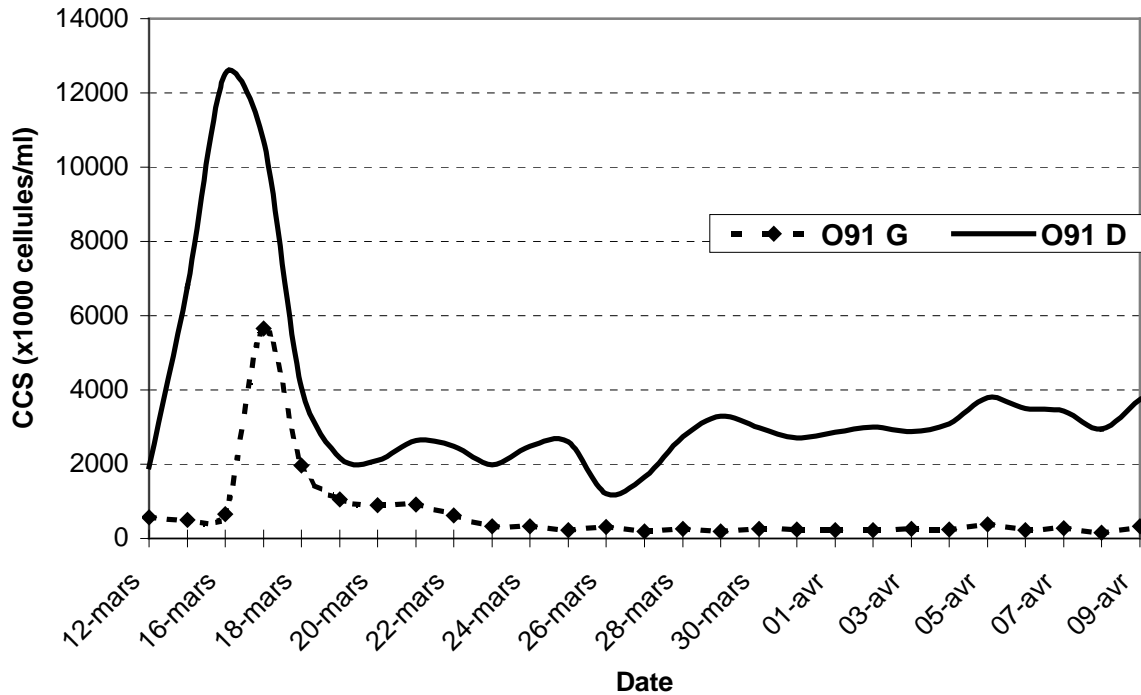


Figure 18. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 091 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5 \cdot 10^3$ UFC/mL de lait)

Sur la figure 18, nous remarquons que le côté droit excréteur présente des valeurs de CCS toujours nettement supérieures à celles du côté gauche. La forme de la courbe 091D est différente de la précédente (545D) et ne présente pas de « vagues » ou de cyclicité. La moyenne des CCS du côté droit est de **3 566 000 cellules/mL** (écart-type 2 544 000, CV 0,71, plus faible que précédemment) avec un maximum de 12 515 000 cellules/mL le 17 mars.

Les résultats de CCS du côté gauche montre un pic à 5 650 000 cellules /mL le 18 mars avec des valeurs basses les autres jours : moyenne de 646 000 cellules /mL (écart-type 1 072 000, CV 1,66). Ils sont en accord avec les résultats bactériologiques ne montrant pas d'infection mammaire durable (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.). Le côté gauche ne présente donc pas de mammite subclinique.

Sur la figure 19, nous notons que le lait du côté droit, excréteur de salmonelles, a en moyenne des comptages de cellules somatiques nettement supérieurs au côté gauche sain. La courbe des CCS du côté atteint (droit) présente des fluctuations cycliques (comme avec la courbe précédente de la brebis 545 côté droit) avec une périodicité d'environ 4 jours. Selon les jours, on peut avoir des valeurs basses de CCS du côté atteint (minimum de 794 000 cellules /mL le 12 avril).

La moyenne des CCS du côté droit est de **10 684 000 cellules/mL** (écart-type très important de 11 139 000 , CV de 1,04) avec un maximum de 28 241 000 cellules/mL le 8 avril.

Les résultats de CCS du côté gauche sont en accord avec les résultats bactériologiques ne montrant pas d'infection mammaire durable (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.) : moyenne de 269 000 cellules /mL (écart-type 367 000 ,CV 1,36). Le quartier gauche n'a donc pas de mammite subclinique.

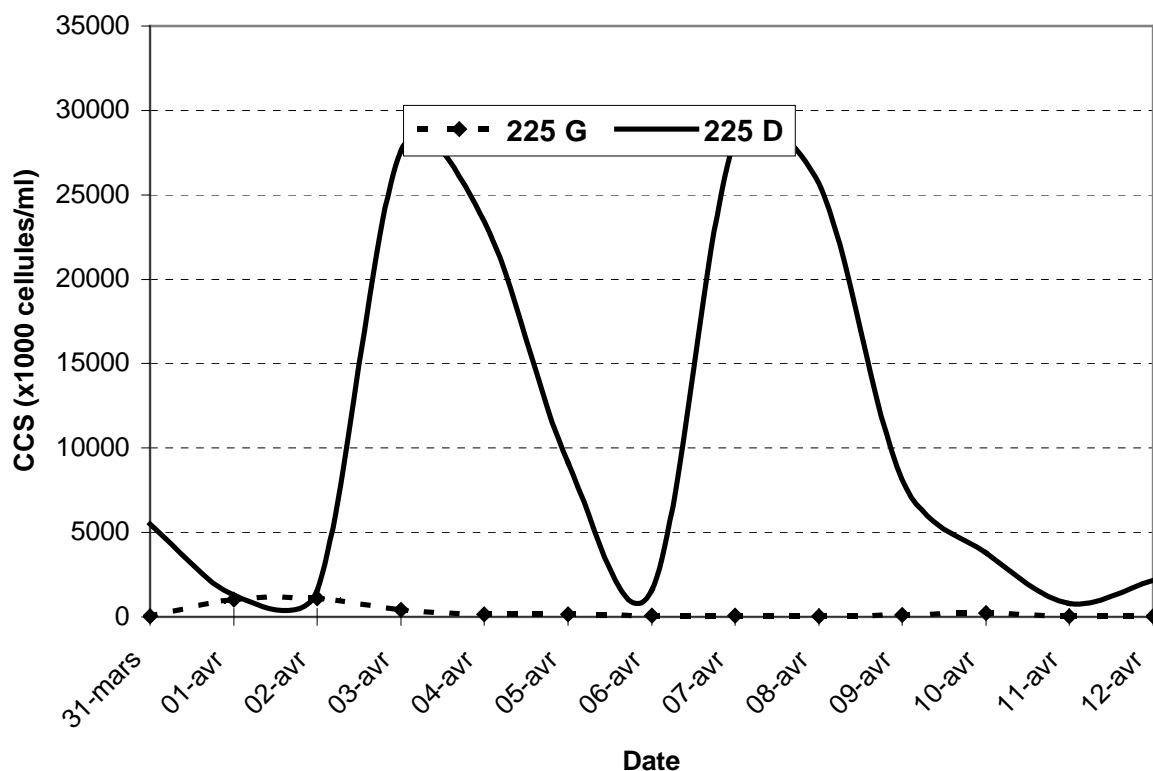


Figure 19. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 225 (excrète des salmonelles à droite en moyenne à $1,5 \cdot 10^5$ UFC/mL de lait)

D'après la figure 20, le lait de la brebis 206, côté gauche, excréteur de salmonelles, a en moyenne des comptages de cellules somatiques nettement supérieurs au côté droit sain. Selon les jours, on peut avoir des valeurs très basses de CCS du côté excréteur : minimum de 168 000 cellules /mL le 19 mars.

La moyenne des CCS du côté gauche est de **7 635 000 cellules/mL** (écart-type important de 10 161 000 et CV de 1,33) avec un maximum de 31 574 000 cellules/mL le 10 avril.

Les résultats de CCS du côté droit sont en accord avec les résultats bactériologiques ne montrant pas d'infection mammaire durable (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.) : moyenne de 909 000 cellules /mL (écart-type 2 328 000, CV 2,56).

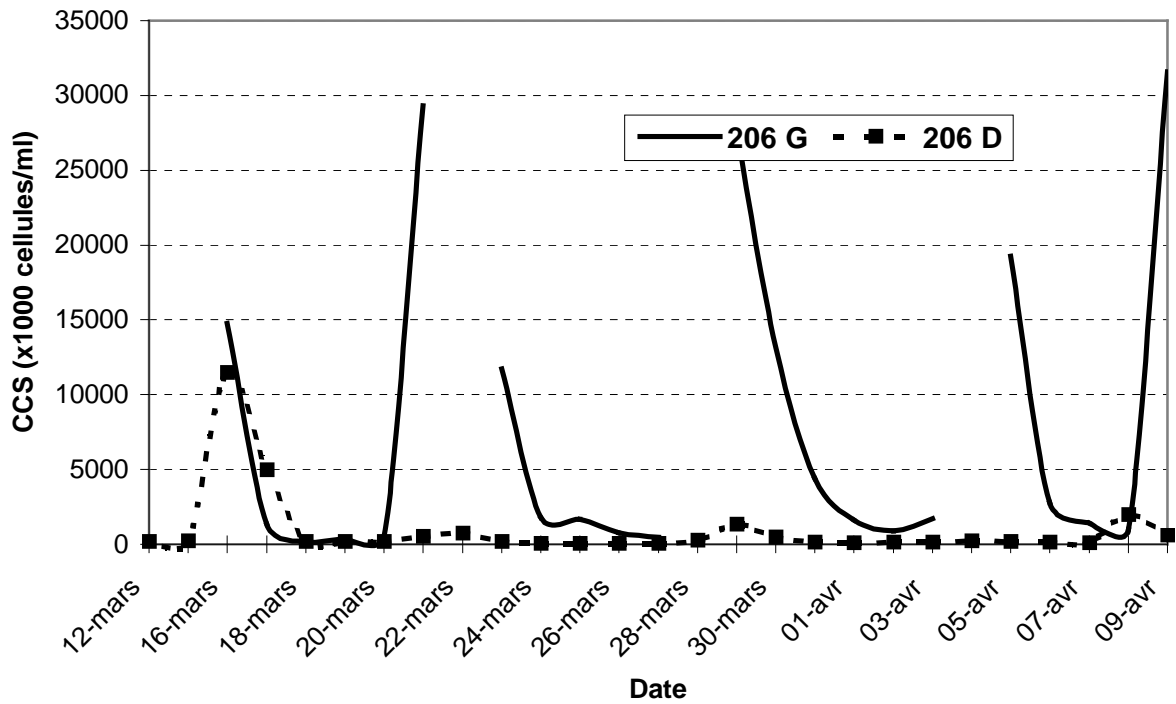


Figure 20. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 206 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à 3.10^3 UFC/mL de lait).

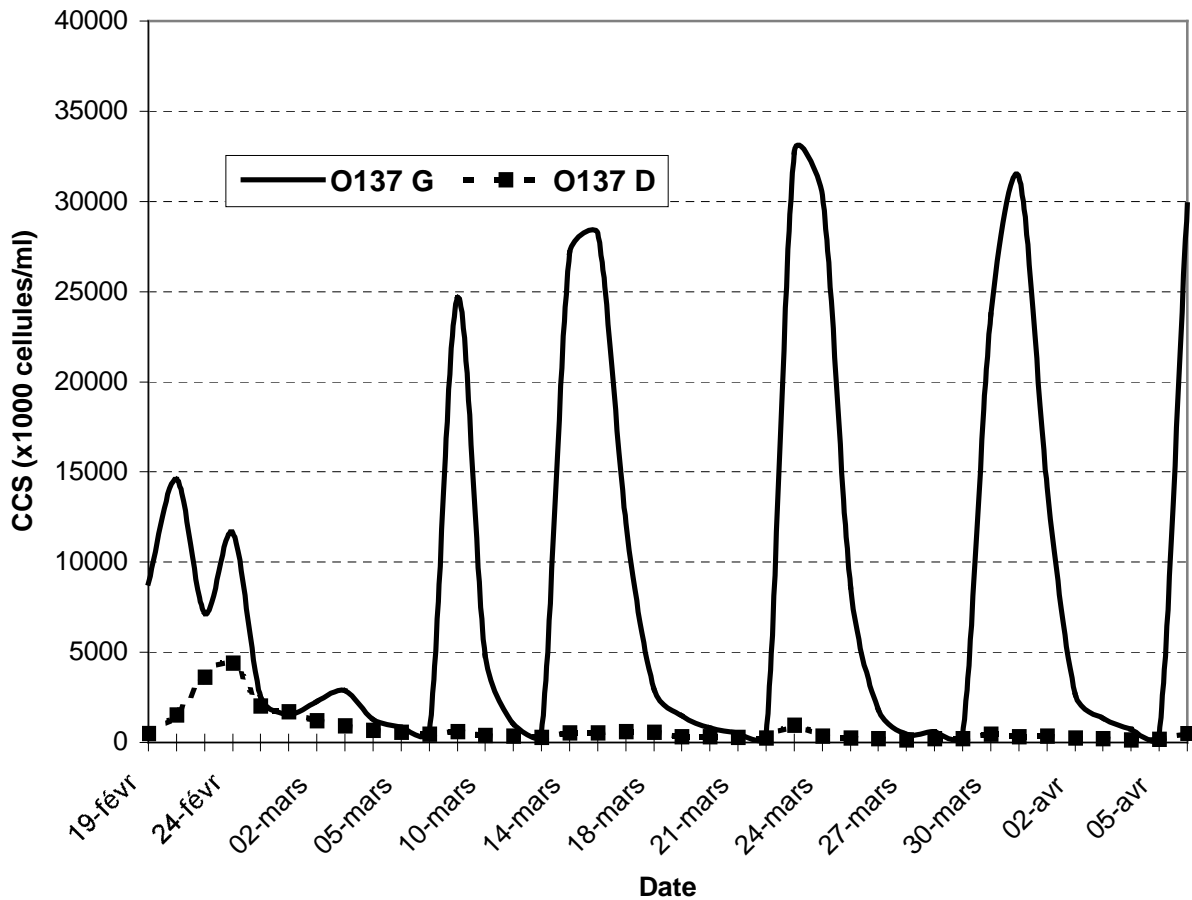


Figure 21. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 137 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $1,6.10^5$ UFC/mL de lait).

Pour la brebis 0137 (cf. figure 21), nous notons que le lait du côté gauche, excréteur de salmonelles, a en moyenne des valeurs de comptages de cellules somatiques nettement supérieures au côté droit sain. La courbe des CCS du côté atteint (gauche) forme des « vagues » avec une périodicité d'environ 5 jours. Selon les jours, on peut avoir des valeurs très basses de CCS (minimum de 393 000 cellules/mL le 23 mars), avec une période plus longue de valeurs faibles, comparées aux brebis 545 côté droit et 225 côté droit ou alors des valeurs très élevées (maximum de 32 713 000 cellules/mL le 24 mars).

La moyenne des CCS du côté gauche est de **8 897 000 cellules/mL** (écart-type très important de 11 071 000 , CV de 1,24).

Les résultats de CCS du côté droit sont en accord avec les résultats bactériologiques ne montrant pas d'infection mammaire durable (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.) : moyenne de 720 000 cellules /mL (écart-type 901 000, CV 1,25) avec un pic de 4 384 000 cellules/mL 25 février. Le côté droit ne présente donc pas de mammite subclinique.

- Comptages cellulaires par demi-mamelle : brebis n° 025 et 006 (brebis n'excrétant pas de salmonelles ou non spontanément, lors de leur étude à l'école)

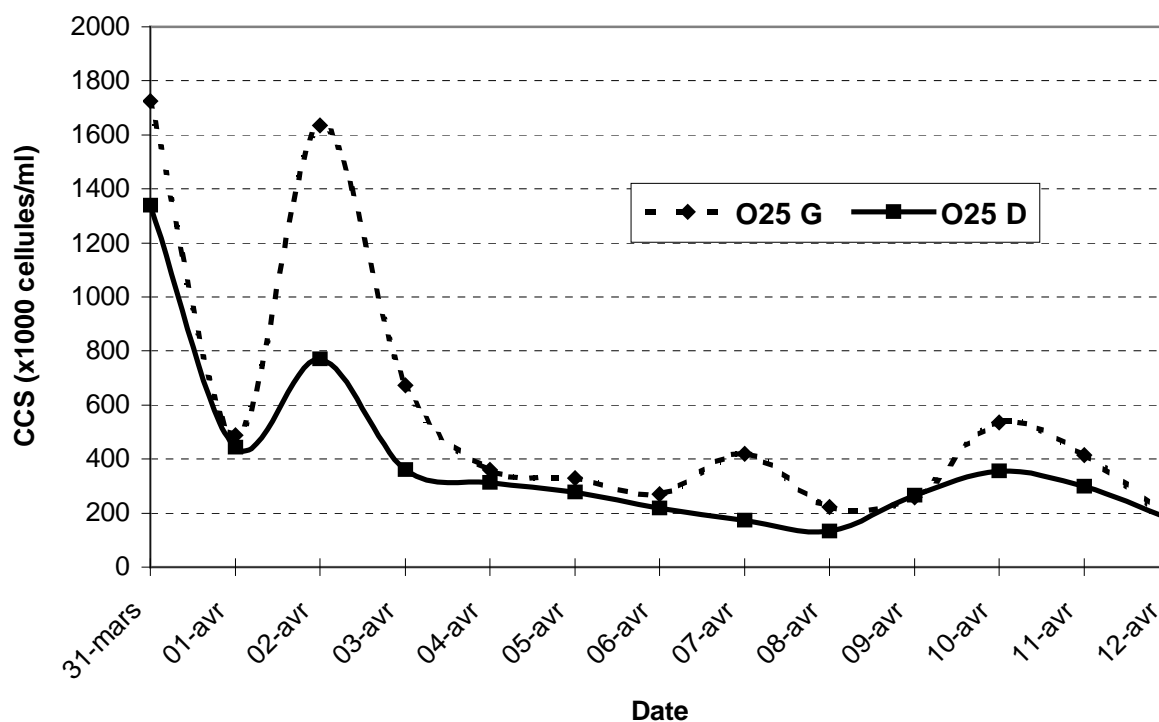


Figure 22. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 025 (n'a jamais excrété de salmonelles à l'école).

Nous remarquons que les valeurs des CCS de la brebis n° 025 sont faibles (cf. figure 22), comparés aux résultats précédents.

La moyenne des CCS du côté droit est de **394 000 cellules/mL** (écart-type 327 000, CV 0,83) avec un maximum de 1 339 000 cellules/mL le 1^{er} avril.

La moyenne des CCS du côté gauche est de **578 000 cellules/mL** (écart-type 508 000, CV 0,88) avec un maximum de 1 726 000 cellules/mL le 1^{er} avril.

Ces résultats de CCS sont en accord avec les analyses bactériologiques qui n'ont pas réussi à mettre en évidence de salmonelles ou d'autres bactéries dans le lait de cette brebis (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.). Cette brebis ne présente donc pas d'infection mammaire durable.

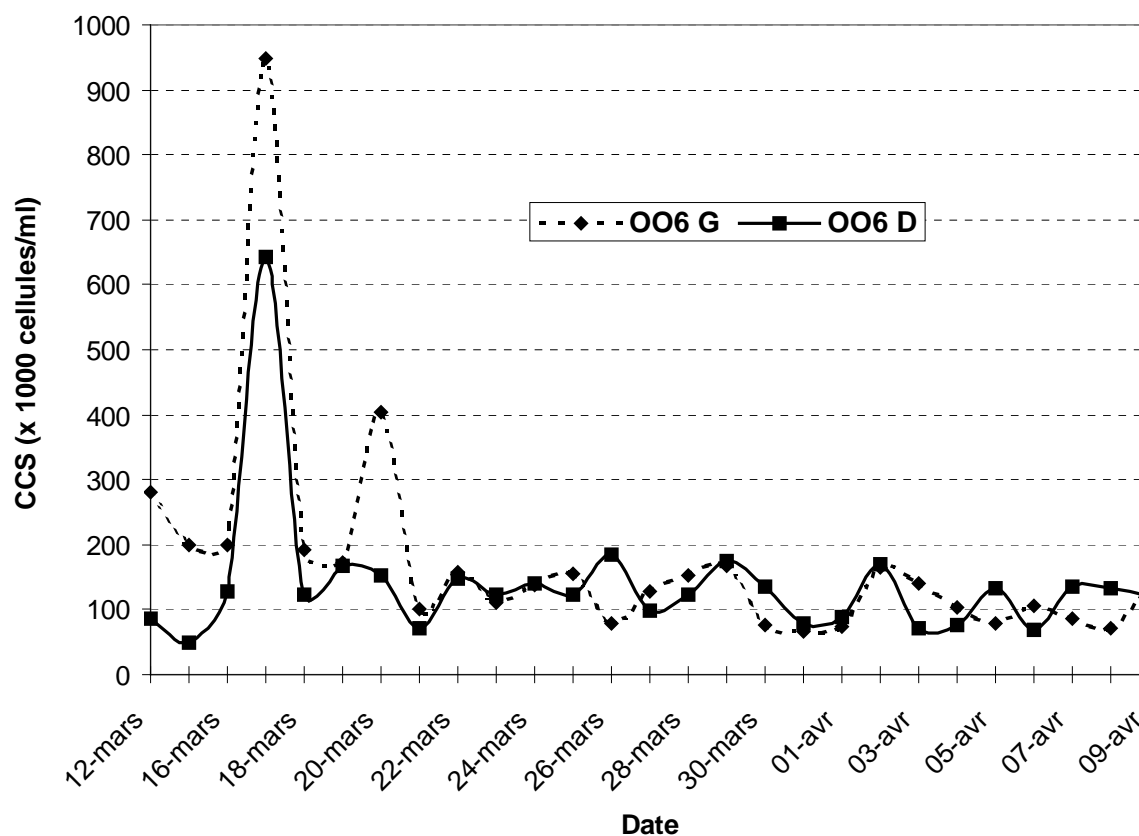


Figure 23. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 006 (seulement deux fois positive à gauche et à droite après enrichissement).

Nous remarquons que les valeurs des CCS de la brebis n° 006 sont faibles également (cf. figure 23).

La moyenne des CCS du côté droit est de **139 000 cellules/mL** (écart-type 107 000, CV 0,77) avec un maximum de 643 000 cellules/mL le 18 mars.

La moyenne des CCS du côté gauche est de **174 000 cellules/mL** (écart-type 171 000, CV 0,98) avec un maximum de 948 000 cellules/mL le 18 mars.

Ces résultats de CCS sont en accord avec les analyses bactériologiques qui n'ont réussi à mettre en évidence de salmonelles du lait de cette brebis que deux fois et qu'après enrichissement (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.).

Cette brebis ne présente donc pas d'infection mammaire durable.

- Comptages cellulaires par demi-mamelle : brebis n° 114 (brebis excréant des salmonelles des deux côtés de façon régulière)

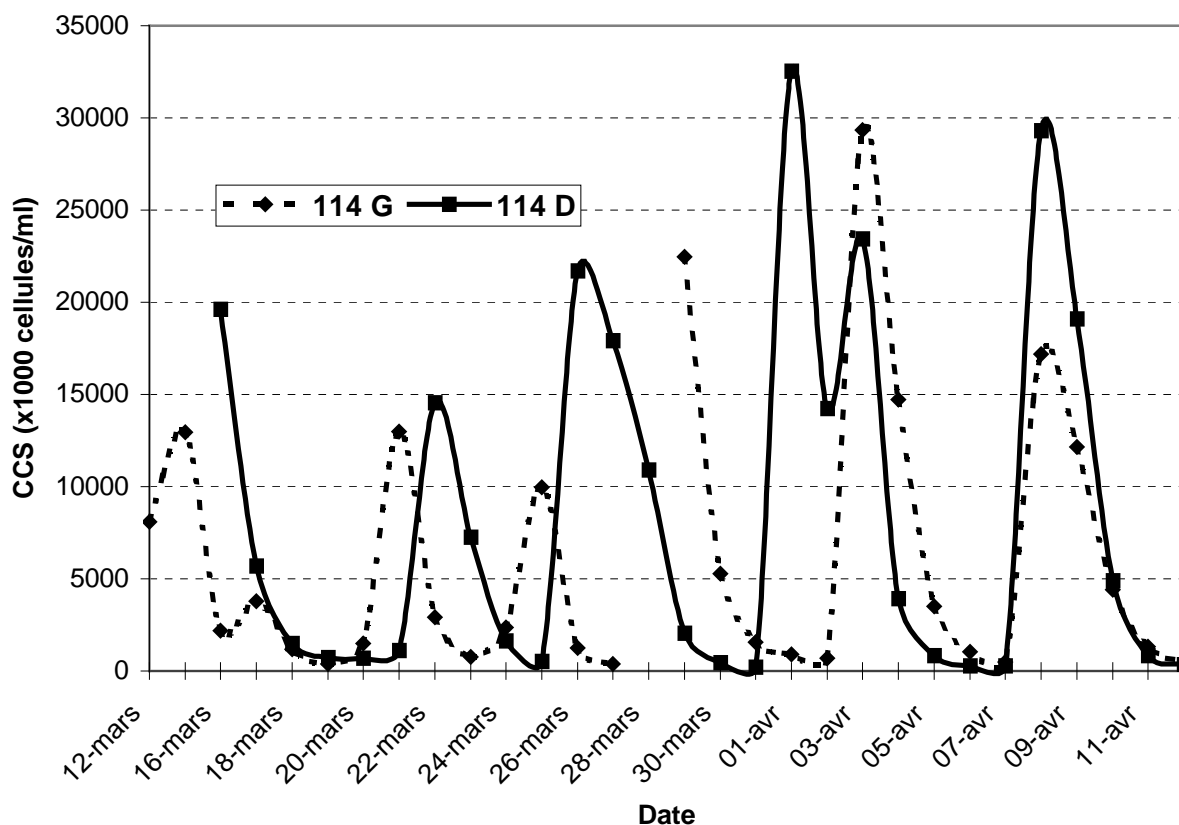


Figure 24. Comptages cellulaires par demi-mamelle de la brebis n° 114 (excrète des salmonelles à gauche en moyenne à $7,5 \cdot 10^3$ UFC/mL de lait et à droite en moyenne à $1,8 \cdot 10^5$ UFC/mL de lait).

Nous notons que le lait du côté gauche et du côté droit présentent des valeurs de CCS en moyenne élevées (cf. figure 24). La moyenne des CCS du côté gauche est de **6 077 000 cellules/mL** (écart-type important de 7 468 000, CV de 1,23) avec un maximum de 29 339 000 cellules/mL le 4 avril. La moyenne des CCS du côté droit est de **8 449 000 cellules/mL** (écart-type important de 9 966 000, CV 1,18) avec un maximum de 32 552 000 cellules/mL le 2 avril.

Les courbes des CCS présente des fluctuations cycliques avec une périodicité d'environ 4-5 jours. Selon les jours, on peut avoir des valeurs très basses de CCS (minimum de 394 000 cellules/mL le 28 mars pour le côté gauche et de 198 000 le 1^{er} avril pour le droit).

Les résultats des CCS sont en accord avec les résultats bactériologiques montrant une infection mammaire durable du côté gauche et du côté droit (infection plus forte du côté droit) (cf. Partie 2. Chap. II. A. 1.).

- Synthèse des résultats de comptages de cellules somatiques

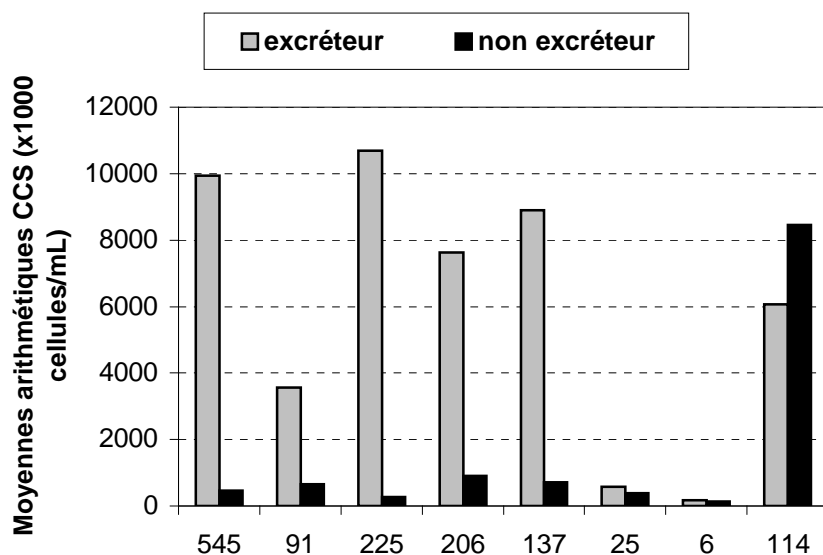


Figure 25. Comparaison des comptages de cellules somatiques moyens des demi-mamelles excrétrices et non-excrétrices.

La comparaison des CCS entre demi-mamelles excrétrices et non excrétrices a révélé des valeurs plus élevées du côté excréteur de salmonelles.

Le ratio CCS demi-mamelles excrétrices/CCS demi-mamelles non excrétrices est très variable (cf. tableau 17). Le ratio moyen maximum a été enregistré pour la brebis 225 (39,72), le minimum pour la brebis 091.

Tableau 17. Ratio latéro-latéral des comptages de cellules somatiques moyens des laits (demi-mamelles excrétrices / non excrétrices).

N° Brebis	Ratio des CCS demi-mamelles excrétrices / demi-mamelles non excrétrices
545	21,82
091	5,52
225	39,72
206	8,40
137	12,36

Tableau 18. Evaluation du risque de faux-négatifs lors du dépistage de mammites subclinique en fonction du seuil de CCS de positivité.

Demi-mamelle excrétrice	Seuil de dépistage de 5.10^5 cellules/mL		Seuil de dépistage de 1.10^6 cellules/mL	
	Nombre de données inférieures au seuil / nombre total de données	Pourcentage de faux négatifs	Nombre de données inférieures au seuil / nombre total de données	Pourcentage de faux négatifs
545 D	5 / 35	14 %	9 / 35	25,7 %
0137 G	4 / 38	10,5 %	11 / 38	28,9 %
091 D	0 / 27	0 %	0 / 27	0 %
114 G	4 / 29	13,8 %	7 / 29	24,1 %
114 D	5 / 28	17,9 %	10 / 28	35,7 %
206 G	3 / 23	13 %	6 / 23	26 %
225 D	0 / 13	0 %	1 / 13	0,08 %

La figure 26 présente les coefficients de variation des CCS des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices. Si nous étudions les brebis n'excrétant que d'un côté, nous remarquons que le CV est toujours supérieur du côté non excréteur.

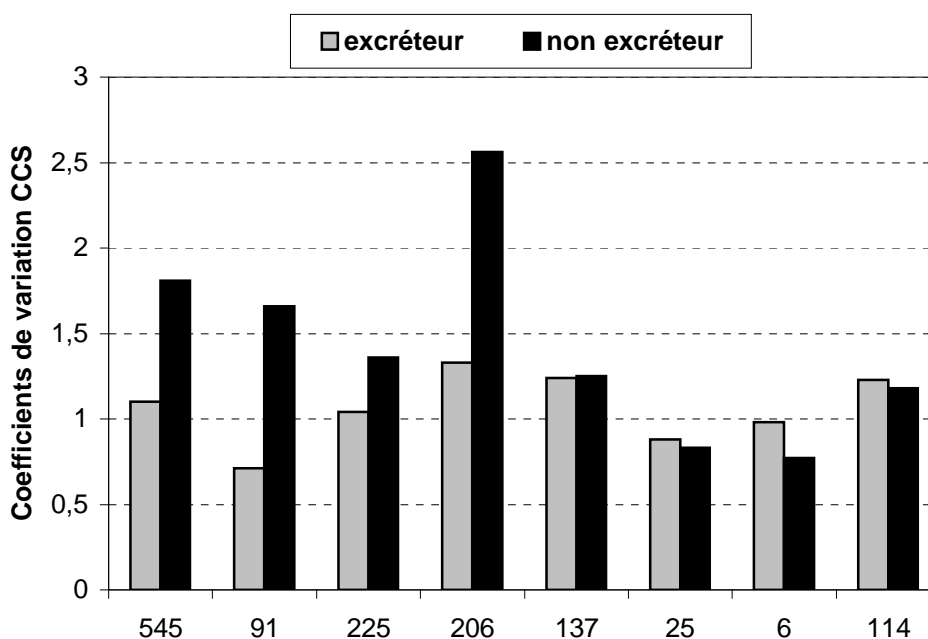


Figure 26. Coefficients de variation des comptages de cellules somatiques moyens des demi-mamelles excrétrices et non excrétrices

C. Résultats nécropsiques

1. Lésions macroscopiques

Tableau 19. Principales lésions macroscopiques observées lors de l'autopsie des brebis N° 545, 0137, 206, 091.

Organe	Brebis (côté excréteur)			
	545 (D)	0137 (G)	206 (G)	091 (D)
Organes thoraciques et abdominaux	Rate, rein, foie, poumons : RAS	Rate, rein, foie, poumons : RAS	Rate, rein, foie, poumons : RAS	Rate, rein, foie, poumons : RAS.
Parenchyme mammaire	Induration diffuse à droite	Induration diffuse à gauche, volume demi-mamelle droite nettement inférieur	Normal	Induration diffuse à droite avec kystes lactés et trajets purulents
N. L. rétro mammaires	- G : 2,32 g, légèrement hémorragique. - D : 4,78 g, très hémorragique	- G : 5,59 g, normal à la coupe. - D : 5,16 g, corticale légèrement hémorragique	- G : 4,33 g, infiltration cellulaire corticale - D : 2,47 g, normal à la coupe	- G : 7,28 g, légèrement hémorragique - D : 12,21 g, corticale très hémorragique
N. L. Iliques et lombo-aortiques	3 hémorragiques	2 corticales hémorragiques	8 hémorragiques	9 hémorragiques
N. L. mésentériques	Normaux	3 corticales légèrement hémorragiques	6 hémorragiques	Normaux

N .L. : nœud lymphatique D : côté droit G : côté gauche

Tableau 20. Principales lésions macroscopiques observées lors de l'autopsie des brebis N° 006, 225, 114, 025.

Organe	Brebis (côté excréteur)			
	006 (G et D)	225 (D)	114 (G et D)	025
Organes thoraciques et abdominaux	Foie : 1 abcès hépatique calcifié et 2 petits abcès. Rate, rein, poumons : RAS	Rate, rein, foie, poumons : RAS	Rate, rein, foie, poumons : RAS	Foie : 1 lésion blanche fibrosée superficielle. Rate, rein, poumons : RAS
Parenchyme mammaire	Normal, plus petit à gauche	Induration en partie haute à droite et sclérose	Induration en partie haute des 2 côtés + kystes lactés	Normal
N. L. rétro mammaires	- G : 1,22 g, normal - D : 2,14 g, normal	- G : 3,08 g, normal - D : 6,74 g, normal à la coupe	- G : 5,77 g, normal à la coupe - D : 8,85 g, trilobé normal à la coupe	- G : 4,22 g, normal - D : 3,72 g, normal
N. L. Iliques et lombo-aortiques	3 hémorragiques	9 hémorragiques	8 hémorragiques	11 hémorragiques
N. L. méésentériques	Normaux	3 hémorragiques	2 légèrement hémorragiques	1 hémorragique

N .L. : nœud lymphatique D : côté droit G : côté gauche

Nous pouvons faire la synthèse de ces deux tableaux :

- Organes thoraciques et abdominaux : aucune lésion macroscopique ou sans rapport avec une salmonellose
- Parenchymes mammaires : généralement indurés du côté excréteur, mais pas d'abcès
- Nœuds lymphatiques rétro-mammaires : adénomégalie fréquente réactionnels du côté excréteur (augmentation de volume et de poids), lésions macroscopiques à la coupe inconstantes (hémorragies, infiltration cellulaire)
- Nœuds lymphatiques iliaques et lombo-aortiques (drainant le bassin et, pour certains, secondairement la mamelle) : plus réactionnels que les méésentériques. Adénomégalie et hémorragies.

- Nœuds lymphatiques mésentériques (drainant l'intestin) : peu réactionnels, certains sont hémorragiques.

2. Analyse bactériologique des prélèvements réalisés sur les brebis autopsiées

- Isolement de salmonelles

Tableau 21. Résultats des analyses bactériologiques réalisées sur les organes prélevés à l'autopsie (identification par galerie ID32E).

Brebis	Organes						
	N. L. rétro-mammaires	N. L. iliaques et lombo-aortiques	Fécès	N. L. mésentériques	Foie	Rate	Autres
545	-	-	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-
0137	G : <i>S. arizonae</i>	<i>S. arizonae</i>	<i>S. arizonae</i>	<i>S. arizonae</i>	-	-	-
206	-	-	-	-	-	-	-
091	-	-	-	-	-	-	-
006	-	-	<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	-
225	G et D : <i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	-	-	-
114	G : <i>S. arizonae</i>	-	-	-	-	-	Abcès mammaire : <i>Salmonella</i> spp.
025	G et D : <i>S. arizonae</i>	-	-	-	-	-	-

N. L. : Nœud lymphatique ; G = côté gauche ; D = côté droit

Nous voyons que les salmonelles ont été isolées :

- principalement dans les nœuds lymphatiques rétro-mammaires (même chez la brebis 025 qui n'a jamais excrété à l'école), parfois dans des nœuds lymphatiques iliaques, drainant secondairement la mamelle ; chez la brebis 114 dans un abcès du parenchyme mammaire
- chez certaines brebis dans le tube digestif (féces et ganglions mésentériques)

- Identification sérologique

Tous les isolats ont été identifiés comme *Salmonella arizonae* SIII. 61 : k :1, 5, 7, à l'exception de ceux des nœuds lymphatiques rétro-mammaires de la brebis 225 : *Salmonella* Derby.

II. Discussion

A. Discussion sur le matériel et les méthodes

1. Sélection des animaux

Le seul critère d'inclusion à l'étude est que la brebis en lactation ait été identifiée excrétrice de salmonelles dans le lait. Nous ne pouvons pas avoir de critère plus précis vu la très faible prévalence de l'excrétion de salmonelles dans le lait par les brebis.

Notons ici un premier biais potentiel dans le recrutement des animaux. Les brebis incluses ne peuvent pas présenter de mammite clinique car, en pratique, ces cas sont rapidement réformés et théoriquement le lait n'est pas livré. Il est envisageable que les élevages dans lesquels on a recruté les animaux aient déjà réformé une ou plusieurs brebis pour mammite clinique, et ce sans recherche étiologique.

Le stade de lactation précis est inconnu.

Des brebis de tous les âges (ou numéro de lactation) ont été sélectionnées pour cette étude.

Ceci est semblable aux études effectués sur des vaches excrétrices de salmonelles dans le lait. L'INRA, en 1999, a testé 1280 vaches provenant d'un troupeau ayant livré un lait contaminé par les salmonelles et a trouvé seulement sept vaches ayant une excrétion mammaire de salmonelles. Deux de ces dernières ont été suivies avec comme seul critère d'inclusion, l'excrétion galactophore (28).

2. Influence des effectifs

Le suivi expérimental est effectué sur huit brebis. Le but de l'expérimentation était de comparer les demi-mamelles afin d'étudier l'influence de l'infection par les salmonelles. Sur ces huit brebis, deux n'ont jamais, ou pratiquement jamais, excrété de salmonelles (025 et 006), une excrète des deux côtés (114) et une autre a un quartier sain anormalement atrophié

modifiant les résultats de production laitière (137). Il ne reste donc que quatre brebis sur lesquelles nous pouvons comparer les deux demi-mamelles du point de vue de la production laitière, des CCS et de l'examen clinique mammaire. Cet effectif est trop faible pour avoir une puissance statistique suffisante vu le nombre de variables non contrôlables pouvant jouer sur les éléments de comparaison. Nous ne savons pas si ces brebis avaient, avant l'infection par les salmonelles, deux demi-mamelles aux caractéristiques identiques. Le suivi aurait dû s'effectuer sur un nombre plus grand de brebis.

3. Conduite des animaux et explorations cliniques

Les huit brebis sont conduites ensemble en box. La contamination croisée entre brebis est théoriquement possible dans leur logement et lors de la traite. Une conduite en cases individuelles aurait permis de diminuer le risque de surcontamination des brebis. Cependant, vu que les brebis n'excrètent essentiellement que dans le lait, ne présentent pas de diarrhées et que la traite est effectuée à la main en respectant des mesures d'hygiène, la contamination croisée a sans doute été évitée.

Les mesures de production laitière sont réalisées tous les jours vers 13 heures, donc approximativement toutes les 24 heures (sauf au début de l'expérimentation par manque de personnel). La plupart des études de suivi d'excrétion mammaire décrivent une traite matin et soir (25, 75). En n'effectuant qu'une traite par 24 heures, l'infection mammaire aurait pu s'aggraver ou de nouvelles infections auraient pu survenir ; cela n'a pas été le cas. Les mamelles sont systématiquement vidangées à fond mais sans repasse. Le fait de traire une seule fois par jour a pu également modifier la périodicité des « vagues » de recrutement cellulaire mammaire successives, par rapport au rythme de traite habituel biquotidien. L'allure sinusoïdale des courbes et l'amplitude des variations ne sont en revanche probablement pas modifiées. Les biais dus à la présence de plusieurs opérateurs lors de la traite sont faibles vu la technique de traite commune et la mesure objective de la quantité de lait produite.

Afin d'éviter les biais dus à une appréciation subjective des paramètres mesurés lors de l'examen clinique mammaire (taille des nœuds lymphatiques rétro-mammaires, déséquilibre du pis, induration, présence de kystes...), un seul opérateur réalise tous les examens.

Nous n'avons pas effectué de CMT (Californian Mastitis Test), car ce test est beaucoup moins précis que le CCS avec la méthode optofluorométrique.

Nous n'avons pas étudié l'efficacité de traitement antibiotique sur l'excrétion des salmonelles, car nous pensons que ces brebis doivent être en priorité réformées. SPIER (75) a traité des vaches inoculées par le canal du trayon avec *Salmonella* Dublin avec de la gentamicine par voie générale associée à de la polymyxine B par voie intramammaire. Ce traitement n'a eu aucune influence sur l'excrétion ; il n'y a que le niveau de production et les

CCS qui sont revenus dans des valeurs normales. HEUCHEL a traité une vache avec de la cloxacilline par voie intramammaire ; l'excrétion a été observée à la reprise de la lactation (28).

4. Bactériologie

Il convient de rappeler les limites à l'interprétation des données bactériologiques. Tout d'abord, la possibilité de faux négatifs pour toutes les analyses peu ou pas répétées existe. Ce biais peut donc concerner toutes nos analyses nécropsiques et les échantillons peuvent ne pas être représentatifs. Ce n'est pas le cas pour le lait car les dénombrements sont répétés quotidiennement et, par ailleurs, sont réalisés des concentrations et enrichissements de volumes importants.

L'obtention de résultats faussement négatifs peut également être due à la méthode utilisée. Le pré-enrichissement et l'enrichissement se font en milieux insuffisamment sélectifs : les infections paucimicrobiennes peuvent ne pas être détectées à cause de la compétition de flore. La flore contaminante du tube digestif (coliformes...) peut aussi gêner la multiplication des salmonelles des prélèvements fécaux et intestinaux et majorer le risque de résultat faussement négatif.

En revanche, il ne paraît pas possible d'avoir des faux positifs, puisque toutes les souches isolées ont fait l'objet d'une double identification, biochimique et sérologique.

B. Discussion des résultats

La présente étude est la première à avoir été effectuée sur des brebis : nous ne pouvons pas comparer nos résultats à d'autres. Cependant, nous essaierons de les comparer aux suivis effectués sur des vaches excréant des salmonelles.

1. Identification des salmonelles et suivi de leur excrétion dans le lait des brebis

Les milieux de sélection ont surtout été créés pour le sous-type I de *Salmonella* (le plus répandu chez les animaux à sang chaud) avec pour caractéristique la production de H₂S à partir de thiosulfate formant un précipité noir ; les sérotypes des sous-espèces autres que I étant exceptionnels (99,73 % de sous-type I isolés sur 4 ans d'après LE MINOR (37)). Le sous-type III semble difficilement (ou moins rapidement) produire du H₂S.

Les salmonelles identifiées dans le lait des brebis sont du sous type III (SIII 61 : k :1, 5, 7 : *Salmonella arizonae*), sauf une (*Salmonella Derby*). Nous nous permettons de focaliser notre étude principalement sur *Salmonella arizonae* car *Salmonella Derby* n'a été isolée que sur une demi-mamelle d'une brebis. C'est la première fois que le portage mammaire de *Salmonella arizonae* est décrit.

Comme nous l'avons précédemment vu, les salmonelles de sous-espèce III sont surtout isolées d'animaux à sang froid (les reptiles) et de l'environnement, et ne sont qu'exceptionnellement la cause de troubles pathologiques chez l'homme et les ruminants (cf. chapitre V. D.). Les principaux isolements sur des brebis sont des découvertes sur des animaux en bonne santé, ou correspondent à des cas où ce germe est considéré comme secondaire par rapport aux autres agents de maladies isolés.

Cependant, cette bactérie semble être un agent causal d'avortement, de gastro-entérite et de rhinite en particulier lorsque l'animal est immunodéprimé ou stressé.

Cette bactérie n'a jamais été isolée dans le lait de vache. Les salmonelles excrétées sont toutes du sous-type I : *Salmonella* Dublin, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Ohio (18, 19, 46, 60, 61, 72, 84,...).

La double originalité des résultats apportés par cette étude réside donc dans les éléments suivants :

- les infections intra-mammaires salmonelliques existent chez les ovins et sont probablement de fréquence sous-évaluée chez les ruminants, compte tenu de leur caractère sub-clinique ;
- les sérovars responsables de ces infections sont soit habituellement pathogènes (*Salmonella* Derby par exemple), soit exceptionnellement isolés d'animaux à sang chaud (*Salmonella arizonae*).

Le suivi de l'excrétion des salmonelles a montré :

- une moyenne d'excrétion de salmonelles comprise entre 10^3 et 10^5 UFC/mL de lait
- une très grande fluctuation et une irrégularité de l'excrétion avec parfois aucune salmonelle détectée dans le lait
- des brebis trouvées excrétrices en amont de notre étude n'ont jamais excrété de salmonelles, ou parfois faiblement seulement, après enrichissement.

Ces résultats sont comparables à ceux de l'étude INRA de 1999 sur deux vaches (HEUCHEL 28). Ces deux dernières ont excrété pendant toute la période de suivi, mais de façon très différente : une très irrégulièrement et un faible nombre de salmonelles, parfois détectables seulement dans un mL de lait, et l'autre régulièrement et en quantité importante (autour de 10^3 UFC/mL de lait).

SMITH (72) rapporte également une excrétion de *Salmonella* Dublin très variable, comprise entre 10^1 et 10^5 UFC/mL de lait sur quatre vaches excrétrices .

Les autres suivis de vaches excrétrices publiés n'ont porté que sur l'isolement régulier de salmonelles et non sur leur dénombrement (cf. VIII. B. 3.). Tous concluent sur la difficulté de

trouver ces vaches excrétrices vu l'irrégularité de la positivité des cultures de salmonelles et donc de l'excrétion de cette bactérie dans le lait.

2. Symptomatologie du portage mammaire salmonellique

- Etat général des brebis

Tout au long du suivi, l'état général des brebis n'a pas été affecté. Le portage mammaire de *Salmonella arizonae* chez les brebis ne provoque pas de symptômes généraux.

C'est également le cas pour les vaches avec les salmonelles du sous-type I :

- OGILVIE, avec le cas spontané d'excrétion de *Salmonella* Typhimurium par une vache (aucun signe respiratoire, cardiovasculaire, digestif et températures dans des limites normales ...) (60)
- SPIER, avec l'inoculation expérimentale de *Salmonella* Dublin (aucun signe clinique général sauf sur les vaches ayant reçu de la dexaméthasone) (75).

- Aspect de la mamelle et du lait

L'étude clinique a montré que :

- 80 % des brebis excrétrices d'un seul côté (4 brebis sur 5) présentent un déséquilibre du pis du côté de la demi-mamelle excrétrice (de très léger déséquilibre à fort déséquilibre).
- 86 % des demi-mamelles excrétrices, à la palpation, sont indurées (6 sur 7 demi-mamelles excrétrices) ; la brebis 091 présente la plus forte induration
- 100 % des demi-mamelles excrétrices ont des nœuds lymphatiques rétro-mammaires de taille augmentée (de légèrement réactionnel à très réactionnel)
- 71 % des demi-mamelles excrétrices (5 sur 7 demi-mamelles excrétrices) ne voient pas l'aspect macroscopique de leur lait modifié
- certaines brebis présentent des abcès dans le parenchyme mammaire sans aucun lien visible avec l'excrétion ou non de salmonelles.

On peut conclure que les symptômes mammaires de cette forme de salmonellose ovine sont de type **subclinique** dans la majorité des cas.

Ceci est comparable aux études effectués sur des vaches excrétrices de salmonelles dans le lait :

- WOODS (84) a étudié pendant 7 mois l'excrétion de *Salmonella* Enteritidis d'un quartier d'une vache et n'a jamais observé de modifications macroscopiques de son lait
- OGILVIE (60) trouve sur une vache que les 2 quartiers excréteurs de *Salmonella* Typhimurium sont légèrement hypertrophiés et indurés (un des deux quartiers excrète en plus *Staphylococcus aureus*), mais que leur lait n'est pas modifié

- SPIER (75), suite à l'inoculation expérimentale de *Salmonella* Dublin par le canal du trayon sur 5 vaches, ne provoque pas de modification de l'aspect macroscopique du lait ni de la consistance à la palpation de la glande mammaire (sauf une hypertrophie modérée des nœuds lymphatiques rétro-mammaires). Il provoque des signes de mammite aiguë (rougeur, forte hypertrophie du quartier, modification de l'aspect du lait) en leur injectant de la dexaméthasone.

- Conséquences sur la production laitière

Nous ne pouvons voir une influence de la contamination par *Salmonella arizonae* sur la production laitière qu'en comparant les productions par demi-mamelle. Les brebis n'ayant pas ou peu excrété à l'école et la brebis 114 excrétant des 2 côtés ne peuvent donc pas être prises en compte.

Quatre vingt pour cent des brebis (4 sur 5) ont une production laitière inférieure du côté excréteur par rapport au côté sain controlatéral ; cette différence de production en moins varie, en moyenne, selon les brebis, de 35 à 73 %. La brebis 0137 est la seule à avoir une production laitière plus élevée du côté excréteur ; le côté sain semble atrophié sans isolement bactérien lors du suivi.

Nous pouvons conclure que la contamination mammaire par *Salmonella arizonae* (et *Salmonella* Derby) chez la brebis provoque une **hypogalactie** du côté excréteur.

Les études effectuées sur les vaches excrétrices n'ont jamais consisté à comparer les productions laitières entre quartiers sains ou atteints : nous ne pouvons donc pas comparer nos résultats à d'autres résultats publiés. SPIER a simplement comparé la production totale de lait des quatre quartiers avant et après inoculation des salmonelles : il n'y a pas de différence significative (75).

- Conséquences sur les comptages de cellules somatiques (CCS)

Les brebis présentent une forte élévation des valeurs de CCS du côté excréteur. La moyenne est comprise, selon les brebis, entre 3 566 000 et 10 684 000 cellules/mL. La fluctuation des valeurs de CCS est très grande : les courbes forment dans la majorité des cas des sinusoïdes avec une périodicité d'environ 4-5 jours. Ce phénomène biologique a été décrit principalement chez les bovins, en particulier lors d'infection intra-mammaire à *S. aureus*. L'évolution des titres bactériens et des CCS révèle un décalage des variations pour les deux paramètres, avec des périodes du même ordre de grandeur : lorsque l'excrétion est très fortement positive, les CCS sont bas et inversement, lorsqu'elle est faible, les CCS sont élevés.

Ceci montre bien que la mamelle présente une infection bactérienne chronique et que l'organisme réagit par une diapédèse durable et cyclique, permettant l'action de phagocytes professionnels.

Pour la brebis 091, l'absence de fluctuations des CCS pourrait être mise en rapport avec la forte atteinte fonctionnelle. La moyenne de production laitière est la plus faible (98 mL) et elle est la seule à ne pas fluctuer dans les excrétrices. Le recrutement leucocytaire régulier, modéré et constant, ne parvient pas à éliminer l'infection, ni à empêcher une traduction clinique et/ou fonctionnelle plus importante que pour les autres.

Le caractère sinusoïdal des cinétiques cellulaires pose le problème du dépistage des mammites subcliniques (en l'occurrence à salmonelles). Est-il possible d'utiliser les moyens de détection classiques des infections mammaires (Californian Mastitis Test, CCS) afin de détecter ces mammites ? Ces techniques de détection ne peuvent être utilisées seules car elles ne sont pas spécifiques aux salmonelles mais à toutes les bactéries pouvant contaminer la mamelle. Nous pouvons également, en partie, répondre à cette question en se basant sur les seuils de positivité et/ou de détection fixés chez la brebis (cf. tableau 18). Pour un seuil de dépistage fixé à 5.10^5 cellules/ mL, le pourcentage de faux négatifs n'est pas négligeable pour 5 demi-mamelles (545D, 0137G, 114G et D, 206G). Si l'on double le seuil de dépistage, le pourcentage de faux négatifs pour ces demi-mamelles dépasse les 24 %. Par contre, les demi-mamelles 091D et 225D présentent toujours, quelque soit le seuil, des pourcentages de faux négatifs nuls ou négligeables.

La mise en évidence d'une augmentation des CCS ne peut être, à elle seule, une méthode de dépistage spécifique de l'excrétion de salmonelles ; elle peut de plus ne pas être suffisamment valide pour l'ensemble des infections mammaires donnant lieu à des profils leucocytaires aussi variables.

Si l'on compare, par les CV respectifs, les fluctuations de la production laitière et des CCS, nous pouvons penser que les fluctuations du lait ne peuvent à elles seules expliquer celles des CCS par un effet dilution-concentration. Les CV des CCS sont nettement supérieurs à ceux de production laitière.

Les côtés n'excrétant pas de bactéries ont des valeurs de CCS faibles (avec quelques fluctuations) : il n'y a pas d'infection mammaire durable.

Le suivi effectué par l'INRA de 2 vaches (28) pendant deux semaines montre une élévation faible des CCS pour une vache ayant une excrétion faible et irrégulière de salmonelles et des valeurs de CCS constamment élevés pour l'autre vache excrétant régulièrement.

OGILVIE (60), sur le suivi de 28 jours d'une vache excrétant des salmonelles de deux quartiers, trouve des valeurs de CCS variant de 410 000 à 29 880 000 cellules/mL.

3. Autopsies des brebis excrétrices de salmonelles dans le lait

Les lésions macroscopiques de cette forme de salmonellose mammaire ovine sont caractérisées par :

- une absence de lésions visibles des organes thoraciques et abdominaux chez toutes les brebis (ou alors lésions anciennes dues à d'autres affections)
- une induration de 86 % des demi-mamelles excrétrices (6 sur 7) en accord avec les examens cliniques ante-mortem
- une réaction des nœuds lymphatiques rétro-mammaires chez 86 % des demi-mamelles excrétrices (6 sur 7) avec hypertrophie et/ou parenchymes hémorragiques
- parfois une réaction des nœuds lymphatiques iliaques et/ou mésentériques sans pouvoir imputer définitivement cette réaction à *Salmonella* ou à d'autres bactéries.

Les analyses bactériologiques viennent confirmer les lésions macroscopiques et permettent de relier ces dernières à *Salmonella arizonae*.

La bactérie *Salmonella* qui était excrétée dans le lait, a également été retrouvée dans :

- seulement 43 % des nœuds lymphatiques rétro-mammaires drainant une demi-mamelle excrétrice (3 sur 7) ; cette bactérie a également été retrouvée dans des nœuds lymphatiques de demi-mamelles n'ayant jamais excrété à l'école (225 gauche et droit, 025 gauche et droit)
- un nœud lymphatique iliaque qui devait drainer la mamelle
- les fèces de 3 brebis (dont la 006 n'ayant jamais excrété à l'école) et dans un nœud lymphatique mésentérique de la brebis 0137.

Nous avons montré que, chez la brebis, *Salmonella arizonae* a au moins deux types de localisation et de portage : dans le tractus digestif et dans la glande mammaire.

Si l'on compare ces résultats à la bibliographie, nous retrouvons les mêmes types de lésions macroscopiques, les mêmes difficultés pour isoler les salmonelles dans des organes pourtant contaminés et les deux types de localisation mammaire et digestive.

OGILVIE (60) trouve, à l'autopsie d'une vache excrétrice dans le lait de *Salmonella* Typhimurium, des lésions confinés aux quartiers excréteurs, aux nœuds lymphatiques iliaques et inguinaux, mais n'arrive pas à isoler la salmonelle des fèces, du parenchyme mammaire et des nœuds lymphatiques associés.

WOOD (84) note également, avec *Salmonella* Enteritidis, une hypertrophie du dernier nœud lymphatique de la chaîne iliaque et des nœuds lymphatiques rétro-mammaires, une fibrose circonscrite entourant la citerne mammaire excrétrice. Les seuls tissus positifs à la culture proviennent du parenchyme mammaire du quartier excréteur : il n'y a jamais eu évidence de contamination et d'excrétion par le tractus intestinal.

Les résultats bactériologiques de l'étude de HEUCHEL (28) sont semblables à ceux de WOODS.

Il est intéressant de souligner les conclusions de GILES (18) pour le suivi de la persistance de *Salmonella* Typhimurium dans un troupeau durant 5 ans. Une vache excrétrice chronique dans le lait n'a jamais excrété dans les fèces, même à la période où la majorité du troupeau excrétrait régulièrement et fortement dans leur fèces. La contamination de la mamelle a dû se faire à cette période : c'est donc un modèle de mammite d'environnement.

SPIER (75), suite à l'inoculation expérimentale par le canal du trayon de *Salmonella* Dublin confirme ces conclusions. L'autopsie (de 13 à 25 semaine post-inoculation) et les examens histopathologiques révèlent des mammites chroniques évolutives. La bactérie est isolée du parenchyme et des nœuds lymphatiques rétro-mammaires sauf sur une vache pourtant devenu excrétrice chronique dans le lait. Certaines vaches ont parfois excrété dans leurs fèces. L'auteur a attribué cette excrétion intestinale à une phase bactériémique ; l'ingestion de *Salmonella* Dublin provenant de l'environnement ne peut cependant être exclue.

4. Perspectives

Cette étude de cas spontanés de salmonellose mammaire dues principalement à *Salmonella arizonae* effectuée sur des brebis est une première.

Ce suivi a été complété par une enquête épidémiologique cas-témoins et un plan de surveillance dans les élevages de provenance de ces brebis positives afin d'identifier les facteurs de risque de contamination du lait par les salmonelles. Des prélèvements dans l'environnement ont également été effectués.

Cette étude a été poursuivie avec un plus grand nombre de brebis afin de pouvoir effectuer des tests statistiques comparant les productions de lait, les CCS et les résultats nécropsiques entre côtés sain et contaminé, ainsi que pour élargir l'exploration des appareils ou organes colonisés.

En effet, nous avons montré que ces salmonelles ont un tropisme digestif et mammaire, mais nous n'avons pas cherché de tropisme respiratoire. MEEHAN a démontré l'implication de *Salmonella arizonae* dans des rhinites (53) mais également dans du portage sain (3).

L'étude nécropsique doit être complétée par des examens histopathologiques afin de vérifier la concordance avec l'examen macroscopique et de caractériser l'infection mammaire au niveau microscopique.

Nous n'avons pas étudié l'influence des corticoïdes sur l'excrétion des salmonelles et la clinique. Il aurait été intéressant de le faire sur les brebis 025 et 006 qui n'ont jamais

excrété lors de leur suivi. SPIER a réussi à provoquer des mammites aiguës, voire suraiguës, en injectant aux vaches excrétrices chroniques des corticoïdes (75).

Le suivi des animaux devra également comporter des analyses sanguines (Numération-Formule), afin de pouvoir compléter la caractérisation de l'infection par cette salmonelle et éventuellement l'administration de corticoïdes.

Nous avons démontré seulement le premier postulat de KOCH : « L'agent infectieux doit pouvoir être isolé dans tous les cas cliniques de maladie naturelle ». Il reste à démontrer les deux autres postulats : « La maladie doit pouvoir être reproduite expérimentalement en inoculant l'agent infectieux » et « On doit pouvoir ré-isoler l'agent lors de l'infection expérimentale ». Il devra donc dans l'avenir être réalisé une inoculation expérimentale de *Salmonella arizonae* par le canal du trayon. Nous saurons si cette voie d'inoculation provoque les mêmes symptômes que ceux observés sur ces cas spontanés. En effectuant l'inoculation d'une seule demi-mamelle, l'autre côté peut servir de témoin. Nous vérifierons ainsi notre modèle de contamination de la mamelle par l'environnement.

Enfin, tout ceci devra déboucher sur un meilleur dépistage de tels animaux, dont l'excrétion peut être intermittente et persister durablement. L'alternative au diagnostic bactériologique, dont la fiabilité est limitée par l'absence éventuelle d'excrétion le jour des prélèvements, peut être l'utilisation d'une technique de diagnostic indirect de type ELISA. En effet, avec ces techniques, les analyses peuvent être effectuées sur des laits prélevés de façon non aseptique. De plus, l'automatisation de leur réalisation est envisageable, ce qui, sous réserve que des kits soient développés et commercialisés par des firmes pharmaceutiques, permet d'obtenir une réponse rapide et laisse espérer un coût unitaire considérablement moins élevé que celui des analyses bactériologiques. Leur utilisation permettrait d'envisager l'application rapide de mesures de prévention de la contamination du lait et des produits, soit au niveau de l'élevage, soit au niveau de la collecte et de la transformation.

5. Conséquences pour les filières laitières

Nous pouvons tirer quelques enseignements de ce travail pour lutter chez la brebis contre les infections mammaires salmonelliques.

Vu la clinique trop fruste et le problème d'imputabilité d'élévation des CCS individuels ou de tanks aux salmonelles, le dépistage non bactériologique est impossible. Il est ainsi difficile de contrôler de telles infections quasi asymptomatiques dans le troupeau.

Les objectifs principaux des actions de maîtrise ou de prévention en élevage devraient être :

- de limiter la contamination de la litière par des pailles souillées ou par la présence d'autres animaux que les ovins

- de limiter la multiplication des salmonelles dans la litière : réduire l'humidité et la densité animale (recommandation : 1,5 m² par brebis), pailler et curer fréquemment.

Les manchons-trayeurs doivent être propres, désinfectés et changés tous les ans (caoutchouc) ou tous les deux ans (silicone). Les quais de traite doivent être propres et nettoyés après chaque défécation. L'installation de traite doit être lavée et désinfectée quotidiennement avec une eau potable selon des protocoles validés. L'antisepsie des trayons après la traite est souvent jugée trop contraignante par les éleveurs. Cette mesure peut cependant être mise en œuvre sur une période limitée en cas d'infection du troupeau.

Une méthode, utilisée chez les bovins, consiste à retenir les animaux au cornadis pendant une heure après la traite afin de laisser au sphincter du trayon le temps de se refermer. Ainsi, on évite la pénétration des germes par le canal du trayon. Ceci est difficilement applicable aux ovins.

Enfin, la contamination des pâtures doit être limitée en adaptant les conseils du plan de protection breton contre les salmonelles. Il est conseillé de respecter un délai entre curage et épandage de 60 jours au moins et un délai de 30 jours minimum entre épandage et pâturage.

En aval, le transformateur laitier doit analyser systématiquement les cuiviers ou les citernes de ramassage. Si l'on est dans une filière au lait cru, les laits positifs en salmonelles doivent être obligatoirement détournés pour être utilisés dans des fabrications pasteurisées. Des études de vieillissement, relatives à l'évolution de la contamination avec l'acidification initiale, le salage, la compétition de flores et l'affinage des fromages, pourraient permettre de mieux caractériser le risque salmonellique en fonction des spécialités fromagères fabriquées. Ainsi, on connaîtrait mieux les risques spécifiques liés au processus de fabrication des différents fromages.

Le caractère sporadique et asymptomatique de l'infection mammaire salmonellique rend difficile la prévention et la maîtrise de ces contaminations. Le programme développé depuis une quinzaine d'années dans certains bassins laitiers ovins pour le contrôle du risque homologue lié à *Listeria monocytogenes* a cependant montré qu'il était possible de conduire d'efficaces actions diagnostiques et correctives, tout en obtenant à terme une réduction notable de l'incidence globale des contaminations.

CONCLUSION

Le suivi de l'excrétion mammaire de salmonelles par les brebis laitières que nous venons d'étudier est une première. L'existence de ce type d'excrétion galactophore a rendu nécessaire le renforcement de la maîtrise des contaminations de tank en raison des risques de positivité de certains produits (voire des conséquences médiatiques potentielles pour la filière laitière ovine). Cette éventualité dépend cependant du type de processus de transformation utilisé, et en particulier de la rapidité de l'acidification initiale, des compétitions entre microorganismes et de la durée d'affinage.

L'excrétion de différents types de salmonelles dans les laits individuels avait été ponctuellement décrite chez la vache, mais semble rarissime.

Les principaux points-clés de ce travail peuvent être résumés ainsi :

- une excrétion chez la brebis de différentes salmonelles dont la plus fréquente appartient au sous-groupe III, le plus souvent isolée d'animaux à sang froid (reptiles) selon la bibliographie : *Salmonella arizonae*
- une moyenne d'excrétion de salmonelles comprise entre 10^3 et 10^5 UFC/mL de lait, avec de très grandes fluctuations allant parfois jusqu'à la négativité (excrétion intermittente)
- des symptômes mammaires de type subclinique dans la majorité des cas
- l'absence de symptômes extra-mammaires
- une diminution de la production laitière du côté excréteur
- une forte élévation des valeurs des comptages de cellules somatiques du côté excréteur.
- deux types de localisation et de portage de *Salmonella arizonae* recherchés et identifiés dans la présente étude : la glande mammaire et tractus digestif.

Des travaux permettant de mieux caractériser l'infection des différents organes (tractus respiratoire, digestif, mammaire, génital, ainsi que foie et rate) et le schéma physiopathologique général chez les ovins ont été conduits postérieurement au présent travail. De même, l'identification des sources en élevage et des principaux facteurs de risque, ainsi que la validation d'actions diagnostiques ont été conduites. Ces différentes étapes ont débouché sur le renforcement du plan de prévention et de maîtrise du risque salmonellique en filières ovines laitières qui, à ce jour, n'ont pas connu d'épisode de TIAC associé à leurs produits.

BIBLIOGRAPHIE

1. BILLON, J., RYKNER, G., PERPEZAT, A., et VU, V.
Etude épidémiologique des maladies infectieuses et parasitaires transmissibles par le rat en milieu urbain.
La Presse Méd., 1983, **12**, 34, 2079-2080.
2. BRISABOIS, A.
Antibiorésistance des Salmonelles.
La Sem. Vét., Fév. 1997, 842.
3. BROGDEN, K. A., MEEHAN, J. T., LEHMKUHL, H. D.
Salmonella arizonae infection and colonisation of the upper respiratory tract of sheep.
Vet. Rec., 1994, **135**, 410-411.
4. BROWN, D. D., ROSS, J.G., SMITH, F.G.
Experimental infections of sheep with *Salmonella* Typhimurium.
Res. Vet. Sci., 1976, **21**, 335-340.
5. BURET, Y.
Conduite à tenir hors thérapeutique dans un élevage présentant une expression clinique de salmonellose.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 75-79.
6. CARON, B., MENARD, M.-F., SIMON, F.
Les salmonelloses bovines : lésions et diagnostic de laboratoire.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 53-65.
7. CLARK, M.A., JEPSON, M.A., SIMMONS, N.L. and coll.
Preferential interaction of *Salmonella* Typhimurium with mouse Peyer's patch M cells.
Res. Microbiol., 1994, **145**, 543-552.
8. CORRIER, D.E., PURDY, C.W., DELOACH, J.R.
Effects of marketing stress on fecal excretion of *Salmonella* spp in feeder calves.
Am. J. Vet. Res., 1990, **51**, 866-869.
9. DAVID, C.
Salmonellose des bovins en Ille et Villaine.
Bull. Soc. Vét. Prat., 1972, 551-556.

10. DE BUYSER, M.L., BRISABOIS, A., ESPIE, E. et al.
Implication du lait et des produits laitiers dans les maladies infectieuses d'origine alimentaire en France de 1988 à 2003.
Bull. Epidemio., 2005, **16**, 1-2.
11. DESJOUIS, G., SPENNICK, H., MARTEL, J.L.
Diagnostic et traitement des salmonelloses cliniques des bovins.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 67-73.
12. EDWARDS, P. R., FIFE, M. A. and RAMSEY, C. H.
Animal Salmonellosis.
Bact. Rev., 1959, **23**, 155.
13. EUZEBY, J. P.
Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire [online]. [Toulouse, France] : J. P. Euzéby, 7 Juin 1998 [8 Juin 2005]. Nomenclature des salmonelles. Available from World Wide Web :
<<http://www.bacdico.net>>
14. FIDLAY, C.R.
The persistence of *Salmonella* Dublin in slurry, in Tank and on pasture.
Vet. Rec., 1972, **91**, 233-235.
15. FOX, J.G. and BEAUCAGE, C.M.
The incidence of *Salmonella* in random sources cats purchased for use in research.
J. Infect. Dis., 1979, **139** (3), 362-365.
16. GAUCHARD, F., BRISABOIS, A., ESPIE, E.
Salmonelles d'origine bovine et santé publique.
Bull. des G.T.V., 2002, **16**, 41-47.
17. GIBSON, E. A.
Diseases of dairy cattle. Salmonella infection in cattle.
J. Dairy. Res., 1965, **32**, 97-134.
18. GILES, N., HOPPER, S. A. and WRAY, C.
Persistence of *S. typhimurium* in a large dairy herd.
Epidem. Inf., 1989, **103**, 235-241.
19. GILES, N. and KING, S. C.
Excretion of *S. typhimurium* from a cow's udder.
Vet. Rec., 1987, **120**, 23.

20. GLEDEL, J.
La prophylaxie sanitaire de la salmonellose bovine dans les troupeaux laitiers.
Epidémiol. Santé anim., 1985, **7**, 71-80.
21. GLEDEL, J.
Rôle des réservoirs et de l'environnement dans la salmonellose bovine.
Epidémiol. Santé anim., 1985, **7**, 39-70.
22. HALL, G.A., HUGUES, D.L., JONES, P.W., AITKEN, M.M. and coll.
Experimental oral *Salmonella* Dublin infection in cattle: effects of concurrent infection with *Fasciola hepatica*.
J. Comp. Path., 1981, **91**, 227-233.
23. HALL, G.A., JONES, P.W., AITKEN, M.M.
The pathogenesis of experimental intra-ruminal infections of cows with *Salmonella* Dublin.
J. Comp. Path., 1978, **88**, 409-417.
24. HALL, M. L. M., ROWE, B.
Arizona 26:29:30 in sheep in the United Kingdom.
Vet. Rec., 1980, **107**, 581-582.
25. HANNAM, D. A. R., WRAY, C. HARBOURNE, J. F.
Experimental *Salmonella Arizonae* infection of sheep
Br. Vet. J., 1986, **142**, 458-465.
26. HARBOURNE, J.F.
Salmonellae in waterways in North Yorkshire associated with human and animal affluent.
Royal. Soc. Hlth J., 1977, **97**, 106-114.
27. HARP, J.A., MYERS, L. L., RICH, J. E., GATES, N. L.
Role of *Salmonella arizonae* and Other Infective Agents in Enteric Disease of Lambs.
Am. J. Vet. Res., 1981, **42**, 596-599.
28. HEUCHEL, V.
Origine et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles.
Rapport interne INRA. Juillet 2000. 29 p.
29. HOORFAR, J., FELD, N. C., SCHIRMER, A. L., BITSCH, V., LIND, P.
Evaluation of an O antigene Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for screening of milk samples for *Salmonella* Dublin in dairy herds.
Can. J. Vet. Res., 1995, **59**, 142.

30. JOHNSTON, W.S., MACLACHLAM, G.K. and HOPKINS, G.F.
The possible involvement of seagulls (*Larus spp.*) in the transmission of *Salmonella* in dairy cattle.
Vet. Rec., 1979, **106**, 4-7.
31. JOLY, A., LE PROVOST, P., NICOLAS, S., THIBERT, B., LABROUSSE, A., LE FALHER, T.
Contamination par les salmonelles : évaluation du plan de protection breton du lait des tanks.
Bull. des G.T.V., 2002, **16**, 48-54.
32. JONES, P.W.
Health hazards associated with the handling of animal wastes
Vet. Rec., 1979, **106**, 4-7.
33. LABBE, J.F.
La salmonellose bovine dans les Côtes d'Armor. Résultats d'une enquête réalisée dans 250 élevages de janvier 1991 à septembre 1993.
Th. : Med.vet. : Alfort : 1994 ; n° 75. 76 p.
34. LEBASTARD, D. et coll.
Salmonellose à *S. Typhimurium* en élevage cunicole intensif.
Point Vét., 1995, **26** (165), 1073-1077.
35. LECHTENBERG, K., HOLCK, T., RAEMDONCK, D.
Description of a *Salmonella* Typhimurium enteritidis disease model in young calves.
Proc. XVIII World Buiatrics Congress Bologne Italy, 1994, 639-642.
36. LECLERC, H.
Le point sur les problèmes de pathologie liée à l'usage de l'eau.
Bull. des G.T.V., 1984, **4**, 73-78.
37. LE MINOR, L.
Salmonella.
In : LE MINOR, L., VERON, M.
Bactériologie médicale, 2° édition .
Paris : Flammarion Médecine Sciences, 1989, 411-427.
38. LINKLATER, K.A.
Abortion in sheep associated with *Salmonella* Montevideo infection.
Vet. Rec., 1983, **112**, 372-374.

39. LONG, J. R., FINLEY, G. G., CLARK, M. H. and REHMTULLA, A. J.
Ovine fetal infection due to *Salmonella arizonae*.
Can. Vet. J., 1978, **19**, 260-263.
40. MAC MANUS, C., LANIER, J. M.
Salmonella, Campylobacter jejuni and Yersinia enterocolitica in raw milk.
J. Food. Prod., 1987, **50**, 51-55.
41. MAILLOT. E. et coll.
Salmonelloses humaines et salmonelloses bovines.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 5-16.
42. MARCHAL, O.
La salmonellose bovine : aspects cliniques.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 37-41.
43. MARTEL, J.L.
Bactériologie et épidémiologie des salmonelloses bovines en France
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 17-23.
44. MARTEL, J.L.
Forme respiratoire des salmonelloses bovines.
Rec. Méd. Vét., 1985, **161** (12), 1153-1156.
45. MARTEL, J.L.
Les salmonelles, agents entéropathogènes chez les bovins, diagnostic, traitement et prophylaxie.
Point Vét., 1993, **25**, 685-691.
46. MARTEL, J.L.
Les salmonelloses bovine et la filière agro-alimentaire.
Bull. Soc. Vét. Prat. de France, 1994, **78**, 307-319.
47. MARTEL, J.L.
L'infection salmonellique des bovins.
Epidémiol. Santé anim., 1985, **7**, 71-80.
48. MARTEL, J.L., FLEURY, C.
Salmonelloses du veau et antibiorésistance.
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. Comparée, 1979, **81**, 177-182.
49. MARTEL, J.L., PARDON, P.
Les avortements salmonelliques des bovins.
Bull. des G.T.V., 1980, **2**, 57-64.

50. MARTEL, J.L., PRAVE, M.
Evolution du risque salmonellique en médecine vétérinaire.
Rev. Med. Vét., 1994, **145**, 563-569.
51. MARTEL, J.L., SAVEY, M.
Salmonelloses des ruminants et santé humaine.
Point Vét., 1992, **24**, 145, 201-206.
52. MEEHAN, J. T., BROGDEN, K. A., COURTNEY, C., CUTLIP, R. C. and LEHMKUHL, H. D.
Chronic proliferative rhinitis associated with *Salmonella arizonae* in sheep.
Vet. Pathol., 1992, **29**, 556-559.
53. MESSADI, L. BEN-MILED, L. HADDAD, N.
Bovine mastitis in Tunisia : bacteria responsible and antibiotic resistance.
Rev. Med. Vet., 1991, **42**, 4, 313-319.
54. MEUNIER, D., BAUCHERON, S. et coll.
Mécanismes de résistance aux antibiotiques des salmonelles suivies à travers le RESSAB.
Bull. des G.T.V., 2002, **16**, 36-40.
55. MORISSE, J.P., COTTE, J.P., ARGENTE, G., DANIEL, L.
Approche épidémiologique de l'excrétion de salmonelles dans un réseau de 50 exploitations laitières avec et sans antécédents cliniques.
Ann. Méd. Vét., 1992, **136**, 403-409.
56. MORISSE, J.-P., COTTE, J.-P., HUONNIC, D..
Salmonellose des bovins laitiers infectés chroniques (1^{ère} partie).
Point Vét., 1983, **15** (78), 647-651.
57. MORISSE, J.-P., HUONNIC, D., COTTE, J.-P.
Salmonellose des bovins laitiers infectés chroniques (2^e partie) : étude de l'environnement et chaînes de contamination.
Point Vét., 1984, **16** (80), 143-149.
58. MORSE, E.V., DUNCAN, M.A.
Salmonellosis, an environmental health problem.
JAVMA, 1974, **165** (11), 1015-1019.
59. MURINDA, S.E., NGUYEN, L.T., IVEY, S.J. and coll.
Molecular characterisation of *Salmonella* spp. isolated from bulk tank milk and cull dairy cow fecal samples.
J. Food Prot., 2002, **65**, 7, 1100-1105.

60. OGILVIE, T. H.
The persistent isolation of *Salmonella typhimurium* from the mammary gland of a dairy cow.
Can. Vet. J., 1986, **27**, 329-331.
61. OSBORNE, A. D., PEARSON, H., LINTON, A. H., SHIMELD, C.
Epidemiology of salmonella infection in calves : the source of calf hood infection by *Salmonella dublin*
Vet. Rec., 1977, **101**, 513-516.
62. PARDON, P., GIRARD, J.C., IMBERT, R.
Epidémiologie de la salmonellose abortive ovine dans les environs de Bellac: dix ans d'observations.
Bull. Soc. Vét. Prat., 1979, **64**, 465-469.
63. PARDON, P., SANCHIS, R.
Les salmonelloses.
In : FASSI-FEHRI, M.
Les maladies infectieuses du mouton. Tome I.
Actes Editions, 1988, 162-194.
64. POTGIETER, L.N.D.
Immunology of bovine viral diarrhea virus.
Vet. Clin. North Amer. Food Anim. Pract., 1995, **11**, 501-520.
65. PRITCHARD, J.
Salmonella arizonae in sheep
Can. Vet. J., 1990, **31**, 42.
66. RYFF, J. F. and BROWN, J.
Paracolon abortion in ewes.
J. Am. Vet. Med. Ass., 1952, **121**, 266.
67. SANSONETTI, P.J.
Physiopathologie de l'infection intestinale par les salmonelles.
Rev. Prat., 1992, **42**, 2263-2267.
68. SCHELCHER, F.
Salmonelloses: traitement et prévention thérapeutique.
GDS Info, **120**, 1995.
69. SCHELCHER, F., VALARCHER, J.-F.
Physiopathologie des salmonelloses bovines.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 25-30.

70. SCHELCHER, F., VALARCHER, J.-F., ESPINASSE, J.
Thérapeutique liquidienne chez les bovins adultes.
Point Vét., 1994, **26** (163), 661-673.
71. SMITH, B.P., HABASHA, F., GUERRA, M.R. and coll.
Bovine salmonellosis: experimental production and characterisation of the disease in calves, using oral challenge with *Salmonella* Typhimurium.
Am. J. Vet. Res., 1979, **40**, 1510-1513.
72. SMITH, B. P., OLIVER, D. G., SINGH, P. and Coll.
Detection of *Salmonella Dublin* mammary gland infection in carrier cows, using an enzyme-linked immunosorbent assay for antibody in milk or serum.
Am. J. Vet. Res., 1989, **50**, 1352-1360.
73. SOJKA, W. J., THOMSON, P. D. and HUDSON, E. B.
Excretion of *Salmonella Dublin* by adult bovine carriers.
Br. Vet. J., 1974, **130**, 482-488.
74. SOJKA, W. J., WRAY, C., SHREEVE, J. E., BELL, J. C.
The incidence of *Salmonella* infection in sheep in England and Wales, 1975 to 1981.
Br. Vet. J., 1983, **139**, 386-392.
75. SPIER, S. J., SMITH, B. P., CULLOR, J. S., OLANDER, H. J.RODEN, L. D.,
DILLING, G. W.
Persistent experimental *Salmonella dublin* intramammary infection in dairy cows.
J. Vet. Int. Med., 1991, **5**, 341-350.
76. SPIER, S. J., SMITH, B. P. TYLER, J. W., CULLOR, J. S., DILLING, G. W.,
PFAFF, L. D.
Use of ELISA for detection of immunoglobuline G and M that recognize *Salmonella dublin* lipopolysaccharide for prediction of carrier status in cattle.
Am. J. Vet. Res., 1990, **51**, 1900-1904.
77. VALLET, A., MARLY, J.
Prévention du risque salmonellose : maîtrise des effluents contenant des déjections bovines.
Bull. des G.T.V., 1997, **2**, 81-90.
78. VENTOLA, P.
Contribution à l'étude des avortements salmonelliques dans l'espèce bovine. Bilan des cas diagnostiqués au laboratoire départemental de Chambéry en 1979-1980.
Th. : Med.vet.: Lyon :1981; n° 9.

79. VISSIER, I.J.R.
Cutaneous salmonellosis in veterinarians.
Vet. Rec., 1991, **129**, 364.
80. WATHES, C.M., ZAIDAN, W.A.R., PEARSON, G.R. and coll.
Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella* Typhimurium.
Vet. Rec., 1988, **123**, 590-594.
81. WEILL, F.X., LAILLER, R., BRISABOIS, A.
Tendances récentes de la résistance aux antibiotiques des *Salmonella* d'origines animale et humaine.
Bull. Epidemio. Hebd., 2004, **32**, 33, 160-162.
82. WILLIAMS, B.M.
Environmental considerations in salmonellosis.
Vet. Rec., 1975, **96**, 318-321.
83. WOLFF, W.
Les salmonelloses bovines en France. Actualités en Creuse et Haute-Vienne.
Th. : Med.vet.: Alfort : 1997 ; n°104. 77 p.
84. WOOD, J. D., CHALMERS, A., FENTON, R. A., PRITCHARD, J.,
SCHOONDERWOERD, M., LICHTENBERGER, W. L.
Persistent shedding of *Salmonella enteritidis* from the udder of a cow.
Can. Vet. J., 1991, **32**, 738-741.
85. WRAY, C., LINKLATER, K. A.
Salmonella infections in sheep.
In : WRAY, C., WRAY, A.
Salmonella in domestics animals. UK : CAB. I. Publishing, 2000, 209-218.
86. WRAY, C., SOJKA, W.J.
Review of the progress of dairy science : bovine salmonellosis.
J. Dairy. Res., 1977, **44**, 383-425.
87. WRAY, C., WADSWORTH, Q. C., RICHARD, D. W., MORGAN, J. H.
A three-year study of *Salmonella* Dublin infection in a closed dairy herd.
Vet. Rec., 1989, **124**, 532-535.

Toulouse, 2006

NOM : POUGET

PRENOMS : MAXIME, SEBASTIEN, PHILEMON

TITRE : Salmonellose mammaire ovine : caractérisation clinique et bactériologique.

RESUME :

Ce travail expérimental présente une caractérisation clinique et bactériologique de l'infection mammaire salmonellique chez la brebis.

Après avoir effectué une étude bibliographique des infections salmonelliques chez les bovins et les ovins, l'auteur présente les résultats du suivi de huit brebis spontanément excrétrices de salmonelles dans le lait.

Ces dernières excrètent majoritairement une salmonelle du sous-groupe III, *Salmonella arizonae*, de façon quantitativement irrégulière. Cette infection provoque le plus souvent des mammites subcliniques avec hypogalactie et élévation des valeurs des comptages de cellules somatiques du côté excréteur. *Salmonella arizonae* reconnaît ainsi un portage mammaire, mais également digestif. Aucun symptôme extra-mammaire n'a cependant été mis en évidence.

Ce travail a permis de mieux caractériser l'une des sources majeures de contamination salmonellique des laits et de renforcer en conséquence le plan de maîtrise du risque spécifique chez les ovins.

MOTS-CLES : OVINS – MAMMITE - SALMONELLE - PORTAGE

TITLE : Ovine mammary salmonellosis : clinical and bacteriological characterisation.

ABSTRACT :

This experimental study aimed at characterizing clinically and bacteriologically the mammary gland infection by salmonella in ewe.

After the literature review of salmonella infections in cattle and sheep, the author presents the monitoring of eight salmonella milk shedders' ewes.

They excrete *Salmonella arizonae*, a subgroup III salmonella, with important quantitative variations. This infection generally provokes subclinical mastitis with hypogalactia and increased somatic cell counts in infected half-udders. *Salmonella arizonae* has a mammary and digestive localisation and carriage. No extra-mammary symptoms were observed.

This work allowed a better characterization of one of the most important salmonella source in dairy ewe and consequently the optimisation of the on-farm specific risk control plan.

KEYWORDS : SHEEP – MASTITIS – SALMONELLA - CARRIAGE

