

Université de Montréal

La salmonellose chez les bovins laitiers
Présentation clinique et culture bactériologique

par

Pascale Aubry

Département de pathologie et microbiologie

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)
en sciences vétérinaires
option épidémiologie

Août 2010

© Pascale Aubry, 2010

Université de Montréal
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé

La salmonellose chez les bovins laitiers
Présentation clinique et culture bactériologique

présenté par
Pascale Aubry

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Denise Bélanger, présidente-rapporteuse
Michel Bigras-Poulin, directeur de recherche
Lorin D. Warnick, codirecteur
Gilles Fecteau, membre du jury

Résumé

Huit cent trente et un troupeaux de vaches laitières répartis dans 5 états américains ont été enrôlés dans une étude de cohorte prospective. Un modèle d'équations d'estimation généralisées a été utilisé pour étudier l'association entre les signes cliniques et la détection de salmonelles dans les fèces des animaux soupçonnés de salmonellose clinique. La sensibilité et la spécificité de la culture bactériologique ont été estimées à l'aide d'un modèle de classes latentes.

Dix-huit pour cent des 874 échantillons provenant de veaux et 29% des 1479 échantillons de vaches adultes étaient positifs pour *Salmonella* spp. Il n'a pas été possible d'établir une association claire entre les différents signes cliniques observés et la détection de salmonelles. Les 2 sérotypes les plus fréquemment isolés étaient Typhimurium et Newport. La probabilité de détecter des salmonelles était plus élevée chez les veaux où un autre agent entéropathogène était également détecté. La proportion d'échantillons positifs était plus élevée parmi les vaches ayant reçu des antibiotiques dans les jours précédant l'échantillonnage.

La sensibilité de la culture a été estimée à 0,48 (intervalle de crédibilité à 95% [ICr95%]: 0,22-0,95) pour les veaux et 0,78 (ICr95%: 0,55-0,99) pour les vaches. La spécificité de la culture était de 0,94 (ICr95%: 0,87-1,00) pour les veaux et de 0,96 (ICr95%: 0,90-1,00) pour les vaches. Malgré une sensibilité imparfaite, la culture bactériologique demeure utile pour obtenir une meilleure estimation de la probabilité post-test de salmonellose clinique chez un bovin laitier, par rapport à la probabilité estimée suite au seul examen clinique.

Mots-clés : *Salmonella*, vache laitière, signe clinique, salmonellose clinique, culture bactériologique

Abstract

Eight hundred and thirty-one dairy herds in 5 states in the northeast USA were enrolled in a prospective cohort study. A generalized estimating equations model including herd as a random effect was built to study the association between clinical signs and detection of *Salmonella* spp. in the faeces of animals suspected of clinical salmonellosis. The sensitivity and specificity of the bacteriological culture were estimated using a latent class model.

Eighteen percent of the 874 samples from calves and 29% of the 1479 samples from adult cows were positive for *Salmonella* spp. It was not possible to establish a clear association between the various clinical signs and detection of *Salmonella* spp. in the faeces. The two most frequently isolated serotypes were Typhimurium and Newport. The probability of detecting salmonellas was higher for calves when another enteric pathogen was also detected. The proportion of positive samples was higher among cows that received antibiotics in the days preceding the sampling.

The sensitivity of the bacteriological culture was estimated at 0.48 (95% credibility interval [95%CrI]: 0.22 to 0.95) for calves and 0.78 (95%CrI 0.55 to 0.99) for cows. The specificity of the culture was 0.94 (95%CrI: 0.87 to 1.00) for calves and 0.96 (95%CrI: 0.90 to 1.00) for cows. Despite imperfect sensitivity, bacterial culture remains useful to obtain a better estimate of the post-test probability of clinical salmonellosis in dairy cattle, compared to the estimated probability following the clinical examination alone.

Keywords: *Salmonella*, dairy cattle, clinical signs, clinical salmonellosis, bacteriological culture

Table des matières

Résumé	v
Abstract	vii
Table des matières	ix
Liste des tableaux	xv
Liste des figures	xvii
Liste des abréviations	xix
Remerciements	xxiii
Acknowledgements	xxv
Introduction	1
Chapitre 1 Recension de la littérature	5
1 Agent infectieux	5
1.1 Description du genre	5
1.2 Nomenclature de <i>Salmonella</i>	6
1.3 Distribution des sérotypes	6
1.4 Spécificité à l'hôte.....	8
1.5 Facteurs de virulence.....	9
1.5.1 Îlots de pathogénicité de <i>Salmonella</i>	9
1.5.2 Plasmides de virulence	10
1.5.3 Survie intracellulaire	10

1.5.4	Lipopolysaccharides.....	10
1.5.5	Fibrilles	10
1.5.6	Flagelles	11
2	Salmonellose	11
2.1	Pathophysiologie	11
2.2	Manifestations cliniques.....	13
2.2.1	Entérite	13
2.2.2	Avortement.....	14
2.2.3	Septicémie	15
2.2.4	Nécrose des extrémités.....	15
2.2.5	Abomasite	15
2.2.6	Maladie chronique.....	16
2.2.7	Porteurs asymptomatiques	16
2.3	Traitement	17
3	Diagnostic	19
3.1	Clinique	19
3.2	Bactériologie	20
3.2.1	Culture directe, enrichissement et ensemencement	20
3.2.2	Isolement et identification.....	20
3.2.3	Sensibilité et spécificité de la culture bactériologique des fèces	21
3.2.3.1	Salmonellose clinique.....	23
3.2.3.2	Porteurs asymptomatiques	23
3.3	Méthodes rapides.....	24
3.3.1	Sensibilité et spécificité du PCR.....	25
3.4	Sérologie et détection des anticorps dans le lait.....	25
3.4.1	Sensibilité et spécificité	25
3.4.1.1	Sérologie	25
3.4.1.2	Détection des anticorps dans le lait du réservoir	26
3.5	Nécropsie.....	27
3.6	Évaluation de la sensibilité et de la spécificité d'un test en l'absence d'un test étalon (<i>gold standard</i>)	27
3.7	Utilité clinique d'un test diagnostique	28

4	Épidémiologie de la salmonellose chez les bovins	28
4.1	Perspective historique	29
4.2	Prévalence de l'excrétion fécale.....	29
4.3	Incidence de la maladie clinique	30
4.4	Voies d'infection	37
4.5	Sources d'infection.....	37
4.5.1	Animaux infectés.....	38
4.5.2	Environnement	38
4.5.3	Aliments	40
4.5.4	Animaux sauvages.....	42
4.6	Facteurs de risque.....	42
4.6.1	Facteurs de risques liés à l'animal.....	42
4.6.2	Facteurs de risque liés au troupeau.....	44
4.6.3	Salmonellose clinique.....	47
4.6.4	Détection de salmonelles dans l'environnement	48
	Chapitre 2 Méthodologie	49
1	Type d'étude	49
2	Échantillonnage.....	49
2.1	Sélection des animaux échantillonnés.....	49
2.2	Collecte des échantillons.....	51
3	Analyse des échantillons.....	51
3.1	Bactériologie	51
3.1.1	<i>Salmonella</i> spp.	51
3.1.2	<i>Escherichia coli</i>	52
3.2	Virologie.....	53
4	Définition d'un cas.....	53
5	Analyses statistiques	54
5.1	Signes cliniques.....	54
5.1.1	Veaux.....	55
5.1.2	Taures	55
5.1.3	Vaches	56

5.1.4	Sérotypes	56
5.2	Évaluation de la sensibilité et de la spécificité de la culture en l'absence d'un test étalon (<i>gold standard</i>).....	57
5.3	Utilité clinique des tests diagnostiques	57
Chapitre 3 Résultats		59
1	Veaux	59
1.1	Statistiques descriptives	59
1.1.1	Généralités	59
1.1.2	Sérotypes	60
1.1.3	Âge	60
1.1.4	Saison	61
1.1.5	Taille du troupeau	61
1.1.6	Antibiotiques	62
1.1.7	Autres agents infectieux.....	62
1.1.8	Signes cliniques.....	63
1.2	Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture.....	64
1.3	Sensibilité et spécificité de l'examen clinique et de la culture	65
2	Taures.....	66
2.1	Statistiques descriptives	66
2.1.1	Généralités	66
2.1.2	Âge	67
2.1.3	Saison	67
2.1.4	Taille du troupeau	68
2.1.5	Antibiotiques	68
2.1.6	Parasites	68
2.1.7	Signes cliniques.....	68
2.2	Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture.....	69
3	Vaches.....	70
3.1	Statistiques descriptives	70
3.1.1	Généralités	70
3.1.2	Sérotypes	71

3.1.3	Taille du troupeau.....	71
3.1.4	Saison	72
3.1.5	Rang de lactation	72
3.1.6	Jours en lait.....	73
3.1.7	Antibiotiques	75
3.1.8	Signes cliniques.....	75
3.2	Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture.....	76
3.3	Sensibilité et spécificité des signes cliniques et de la culture	78
Chapitre 4 Discussion.....		81
1	Généralités, considérations méthodologiques et validité de l'étude.....	81
2	Présentation clinique chez les veaux.....	90
3	Présentation clinique chez les taures.....	92
4	Présentation clinique chez les vaches	93
5	Sérotypes.....	94
6	Association entre certains facteurs de risque et la détection de <i>Salmonella</i> spp.....	95
7	Sensibilité et spécificité des signes cliniques et de la culture bactériologique ..	103
Conclusion		107
Bibliographie		109
Annexe 1 Formulaire d'enrôlement de troupeau.....		xxv
Annexe 2 Formulaire de soumission		xxv
Annexe 3 Code du programme WinBUGS utilisé.....		xxvii

Liste des tableaux

Tableau I – Sérotypes de <i>Salmonella</i> les plus fréquemment isolés de l'homme et d'échantillons non humains au Canada et aux États-Unis en 2003, 2004, 2006 et 2007.....	7
Tableau II – Mise en évidence des 4 types possibles d'infection par <i>Salmonella</i> spp.	17
Tableau III - Prévalence de l'excrétion fécale de <i>Salmonella</i> spp. dans les troupeaux laitiers d'Amérique du Nord.	33
Tableau IV – Éclosions de salmonellose clinique.	35
Tableau V – Sérotypes de <i>Salmonella</i> isolés chez des veaux souffrant de salmonellose clinique.....	60
Tableau VI - Combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes chez les veaux suspects de salmonellose clinique.....	63
Tableau VII – Résultat des modèles individuels GEE de l'association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les veaux soupçonnés de salmonellose clinique, ajustés pour la saison, taille du troupeau, l'âge des veaux, et l'utilisation d'antibiotiques systémiques	64
Tableau VIII - Combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes chez les taures suspectes de salmonellose clinique	69
Tableau IX – Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les taures soupçonnées de salmonellose clinique, ajustés pour la taille du troupeau, l'âge des taures et la saison.....	70
Tableau X - Sérotypes isolés chez les vaches souffrant de salmonellose clinique.	72
Tableau XI - Combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes chez les vaches soupçonnées de salmonellose clinique.....	76

Tableau XII – Résultat des modèles individuels GEE de l’association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les vaches soupçonnées de salmonellose clinique, ajustés pour la taille du troupeau, la parité, le nombre de jours en lait, la saison et l’utilisation d’antibiotiques systémiques	77
Tableau XIII - Facteurs associés avec l’excrétion de <i>Salmonella</i> spp. chez des vaches soupçonnées de salmonellose dans le modèle vaches.....	78
Tableau XIV - Sensibilité et spécificité du diagnostic clinique et de la culture de fèces pour le diagnostic de la salmonellose clinique	79

Liste des figures

Figure 1 - Interactions entre l'agent, l'hôte et l'environnement dans la salmonellose.....	38
Figure 2 - Distribution de l'âge des veaux lors de l'échantillonnage.....	61
Figure 3- Probabilité post-test de salmonellose clinique suite à une culture de fèces ou à l'examen clinique chez des veaux soupçonnés de salmonellose clinique.....	66
Figure 4 – Distribution de l'âge des taures lors de l'échantillonnage.....	67
Figure 5 – Distribution du rang de lactation des vaches lors de l'échantillonnage	73
Figure 6 – Distribution des jours en lait lors de l'échantillonnage	74
Figure 7 - Probabilité post-test de salmonellose clinique suite à une culture de fèces ou à l'examen clinique chez des vaches laitières soupçonnées de salmonellose clinique.....	79

Liste des abréviations

ACIA : Agence canadienne d'inspection des aliments

AGV: Acides gras volatils

APHIS: *Animal and Plant Health Inspection Service (USDA)*

BGA : Vert brillant

BGN : Vert brillant novobiocine

BS : Sulfite de bismuth

CCOMS : Centre Collaborateur de référence et de recherche pour les Salmonella de l'OMS

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CFU: *Colony forming units*

CMT : *California Mastitis Test*

CVB : Coronavirus bovin

DCA : Désoxycholate-citrate

ELFA : Essai par immunofluorescence liée à une enzyme

ELISA : Essai par immunosorption liée à une enzyme

ELISA- GM-DAS : ELISA en sandwich à double anticorps

ELISA- GP : ELISA indirect anti-flagelles

ELISA-LPS : ELISA indirect anti-LPS

EMB : Éosine et bleu de méthylène

EPV: Valeur prédictive étiologique

GABHS: Streptocoques β hémolytiques du groupe A

GEE : Équations d'estimation généralisées

GLMM: Modèles linéaires généralisés mixtes

HE : Hektoen entérique

HSe : Sensibilité au niveau du troupeau

IC95% : Intervalle de confiance à 95%

ICr95% : Intervalle de crédibilité à 95%

IgG : Immunoglobulines

JEL : Jours en lait

KIA : Gélose en pente au fer de Kliger

LPS : Lipopolysaccharides

MAC : MacConkey

NAHMS : *National Animal Health Monitoring System*

NVSL : *National Veterinary Services Laboratory*

OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale

OMS: Organisation mondiale de la Santé

OR : Rapport de quotes

PBS : Solution saline tamponnée au phosphate

PCR : Amplification en chaîne par polymérase

PFGE : Électrophorèse sur gel en champ pulsé

RAPD : Amplification aléatoire d'ADN polymorphe

RV : Rappaport-Vassiliadis

Se_{cult} : Sensibilité de la culture bactériologique

Se_{sc} : Sensibilité des signes cliniques

SPI : Îlots de pathogénicité chromosomiques de *Salmonella*

Sp_{cult} : Spécificité de la culture bactériologique

Sp_{sc} : Spécificité des signes cliniques

SS : Salmonella-Shigella

SSTT: Système de sécrétion de type III

tr/min: Tour par minute

USA: États-Unis d'Amérique

USDA : *United States Department of Agriculture*

XLD : Xylose-lysine-désoxycholate

XLT-4 : Xylose-lysine-tergitol-4

À Zachary

Je t'adore dans tous les jours!

À l'aveniR.

Remerciements

Mes premiers remerciements vont à mon co-directeur, Dr Lorin Warnick sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Par son enthousiasme et sa rigueur scientifique, il m'a transmis sa passion pour l'épidémiologie vétérinaire. Je voudrais également le remercier d'avoir partagé avec moi les données à la base de ce projet et pour son support et ses conseils tout au long de mon internat et de ma résidence à Cornell, ainsi que durant mes études de maîtrise.

Sincères remerciements à mon directeur, Dr Michel Bigras-Poulin pour son support ainsi que ses commentaires et conseils pertinents, non seulement dans le cadre de ma maîtrise mais aussi de ma réorientation de carrière. Merci également pour sa patience dans l'attente de ce manuscrit.

Merci à ma superviseuse à l'Agence canadienne d'inspection des aliments, Dre Fonda Munroe pour son support et pour m'avoir permis de prendre le temps de terminer la rédaction de ce mémoire

Je tiens également à remercier ma famille et mes ami(e)s pour leur support moral et leur encouragement tout au long de mes études. Un merci spécial à mon père sans qui ce manuscrit ne serait certainement pas aussi joli! À ma mère pour avoir réussi à occuper Zachary pendant la rédaction de ce mémoire. À Zachary pour se réveiller avec le sourire tous les matins, pour me faire voir à nouveau la vie à travers des yeux d'enfant et m'émerveiller devant ce qu'hier encore je trouvais si banal.

Finalement, merci à tous les médecins vétérinaires et producteurs laitiers ayant participé à cette étude, en espérant que ces travaux leur soient un jour utiles.

Acknowledgements

Many thanks go to my co-director, Dr. Lorin Warnick. without whom this thesis would never have existed. By his enthusiasm and scientific rigor, he transmitted me his passion for veterinary epidemiology. I also want to thank him for sharing the data from this study with me, and for his support and advice during my internship and residency at Cornell, and during my Master's studies.

Introduction

La salmonellose est une des causes les plus importantes de maladie entérique d'origine alimentaire chez les humains et peut causer une maladie parfois sévère et même la mort, en plus d'être responsable de pertes économiques importantes (OMS 2005). Aux États-Unis, il a été estimé qu'environ 1,4 millions de personnes sont infectées chaque année par des salmonelles non typhoïdiques, résultant en approximativement 15 000 hospitalisations et 400 décès (Field (1959) et Gibson (1958), cités par Voetsch et coll., 2004). Les conséquences économiques de ces infections ont été évaluées à un coût approximatif de 2,6 milliards de dollars en 2009 (ERS, 2010). Au Canada, le nombre de cas a été estimé entre 75 000 et 215 000 annuellement (Thomas et coll., 2006).

La plupart des quelques 2600 sérotypes de *Salmonella* sont peu spécifiques et peuvent infecter un large éventail d'hôtes, allant des reptiles aux humains en passant par les oiseaux (Nataro et coll., 2007). Les bovins infectés par *Salmonella* spp. sont reconnus comme étant une source importante d'infection pour les humains (CDC, 2010). La transmission de bovin à humain peut se produire de plusieurs façons : consommation de viande contaminée (surtout bœuf haché) (Dechet et coll., 2006), consommation de lait ou produits laitiers pasteurisés (Olsen et coll., 2004) ou non pasteurisés (Cody et coll., 1999; Vogt et coll., 1981) et contact direct avec des animaux malades ou leur environnement (fermiers et leurs proches et employés, expositions agricoles, zoos familiaux) (Gupta et coll., 2003). La contamination des aliments peut se produire à plusieurs endroits dans la chaîne alimentaire, que ce soit à la ferme même, lors du transport, de l'abattage ou de la transformation, ou encore au marché, au restaurant ou chez le consommateur. La prévention de la salmonellose humaine repose sur une diminution de la prévalence d'infection chez le bétail de même que sur des interventions au niveau des voies de transmission (Lanzas et coll., 2008). Pour que les stratégies de contrôle à la ferme soient efficaces, il importe d'identifier les sources et les routes d'infection chez les animaux, les manifestations de la maladie chez

les animaux infectés ainsi que de mettre au point des méthodes de contrôle qui soient économiques et rentables (Humphrey, 2000).

Chez les bovins, la salmonellose peut se manifester par différents syndromes, allant d'infections sous cliniques à une bactériémie, endotoxémie et mort rapide, en passant par une simple entérite, une pneumonie ou un avortement (Radostits et coll., 2007). Ces différentes manifestations d'une même infection sont le reflet de l'immunité de l'hôte, de la dose infectante et de la virulence des différents sérotypes, ainsi que de facteurs de l'environnement qui affectent l'exposition à l'agent pathogène. La reconnaissance rapide des différents signes cliniques par le producteur et le médecin vétérinaire peut avoir une influence sur le traitement et le pronostic de l'animal affecté, ainsi que sur la prévention de la transmission de l'infection à d'autres animaux du troupeau ou encore aux humains en contact avec l'animal en question.

Notre projet s'inscrit dans le cadre d'une importante étude sur la salmonellose clinique chez les bovins laitiers et qui visait (1) à mesurer l'incidence de salmonellose clinique à l'échelle individuelle et du troupeau dans des troupeaux laitiers du nord-est américain, (2) à évaluer la résistance aux antimicrobiens chez les salmonelles isolées de cas cliniques et (3) à estimer les effets de la salmonellose clinique sur les performances ainsi que les pertes économiques dans les troupeaux positifs. Une partie des résultats de cette étude ont d'ailleurs déjà été publiés (Alexander et coll., 2009; Cummings et coll., 2009b). Alors que de nombreux traités de médecine vétérinaire décrivent les manifestations cliniques typiques de la salmonellose, peu font le lien avec le résultat de la culture bactériologique utilisée pour le diagnostic de salmonellose. À l'inverse, plusieurs études estiment l'incidence de salmonellose en se basant sur la proportion d'échantillons positifs parmi ceux soumis au laboratoire, sans savoir quels étaient les signes cliniques chez l'animal. Ce mémoire portera donc sur les manifestations cliniques de la salmonellose chez les bovins laitiers, ainsi que sur les performances de la culture bactériologique comme méthode diagnostique de cette maladie. Plus spécifiquement, les objectifs de notre projet sont les suivants : (1) décrire la présentation clinique observée chez des bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique, (2) déterminer quels signes cliniques sont associés à la détection de

salmonelles dans les fèces de bovins laitiers présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose, (3) décrire la distribution des sérotypes de *Salmonella* spp. isolés chez des bovins laitiers souffrant de salmonellose, (4) évaluer l'association entre certains facteurs (saison, âge ou rang de lactation, stade de lactation, utilisation d'antibiotiques et taille du troupeau) et la détection de salmonelles chez des bovins laitiers présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose et (5) estimer la sensibilité et la spécificité des signes cliniques et de la culture pour le diagnostic de la salmonellose chez des bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique.

Chapitre 1

Recension de la littérature

1 Agent infectieux

1.1 Description du genre

Le genre *Salmonella* se compose de bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, possédant les propriétés suivantes : il s'agit de bacilles Gram négatifs ne formant pas de spores, mobiles (ciliature péritriche), qui poussent bien sur gélose MacConkey, en milieu aérobique et anaérobique, fermentent le glucose (souvent avec production de gaz), sont positifs à la catalase et négatifs à l'oxydase, et réduisent le nitrate en nitrite (Farmer et coll., 2007). Moins de 1% de toutes les *Salmonella* spp. fermentent le lactose, mais des salmonelles fermentant le lactose ont été rapportées chez les humains, les oiseaux, les bovins, les chiens et les porcs (McDonough et coll., 2000).

Deux espèces font partie du genre *Salmonella*: *Salmonelle enterica* et *Salmonella bongori* (anciennement sous-espèce V). *Salmonelle enterica* a été subdivisée en 6 sous-espèces :

S. enterica subsp. *enterica* (anciennement sous-espèce I)

S. enterica subsp. *salamae* (anciennement sous-espèce II)

S. enterica subsp. *arizonae* (anciennement sous-espèce IIIa)

S. enterica subsp. *diarizonae* (anciennement sous-espèce IIIb)

S. enterica subsp. *houtenae* (anciennement sous-espèce IV)

S. enterica subsp. *indica* (anciennement sous-espèce VI)

Une septième sous-espèce, *S. enterica* subsp. *subterranea*, a été nouvellement décrite en 2004 puis officiellement reconnue en 2005 (Anon., 2005; Shelobolina et coll., 2004). Les souches de *S. enterica* subsp. *enterica* sont généralement isolées des humains et autres animaux à sang chaud, tandis que les autres sous-espèces et *S. bongori* sont généralement

isolées des animaux à sang froid et de l'environnement. Par ailleurs, certains sérotypes de *S. arizonae* et *S. diarizonae* ont été associés à de la maladie chez les dindes et les moutons.

1.2 Nomenclature de *Salmonella*

La nomenclature de *Salmonella* est complexe et on assiste souvent à l'association de plusieurs systèmes de nomenclature qui divisent le genre de façon incohérente en espèces, sous-espèces, sous-genres, groupes, sous-groupes et sérotypes (sérovares), ce qui amène beaucoup de confusion dans la littérature scientifique (Brenner et coll., 2000). Présentement, le Centre Collaborateur de référence et de recherche pour les *Salmonella* de l'Organisation mondiale de la santé (CCOMS), de même que le laboratoire national de référence sur les salmonelles du *Centers for Disease Control and Prevention* américain (CDC) désignent les sérotypes appartenant à *S. enterica* subs. *enterica* par un nom qui est lié au lieu géographique où le sérotype a été isolé pour la première fois. Le nom du sérotype est écrit en caractères romains (et non en italique) et la première lettre est une lettre majuscule (par exemple, *Salmonella* sérotype Typhimurium, *Salmonella* ser. Typhimurium, ou *Salmonella* Typhimurium). Les sérotypes appartenant à d'autres sous-espèces sont désignés par le nom de la sous-espèce suivi de leur formule antigénique (par exemple *S. enterica* subs. *salamae* ser. 50:z:e,n,x ou *Salmonella* sérotype II 50:z:e,n,x) (Nataro et coll., 2007).

1.3 Distribution des sérotypes

Il existe présentement 2 610 différents sérotypes de *Salmonella* (Guibourdenche et coll., 2010). La plupart de ces sérotypes appartiennent à la sous-espèce I (1 504 sérotypes reconnus). Les autres sérotypes appartiennent à la sous-espèce II (502 sérotypes), IIIa (95 sérotypes), IIIb (333 sérotypes), IV (72 sérotypes) et VI (13 sérotypes). Seulement 22 sérotypes appartiennent à l'espèce *S. bongori*. Le Tableau I en page 7 démontre les sérotypes les plus fréquemment isolés de l'homme et d'échantillons non humains au Canada et aux États-Unis en 2003, 2004, 2006 et 2007 (WHO, 2009).

Tableau I – Sérotypes de *Salmonella* les plus fréquemment isolés de l'homme et d'échantillons non humains au Canada et aux États-Unis en 2003, 2004, 2006 et 2007

Isolats de <i>Salmonella</i>, Canada					
Laboratoire national de microbiologie Échantillons d'origine humaine, 2007			Laboratoire de référence des salmonelles de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE) Échantillons d'origine non-humaine*, 2004		
Rang	Sérotype	% du total des isolats sérotypés	Rang	Sérotype	% du total des isolats sérotypés
1	Enteritidis	25,7	1	Heidelberg	18,5
2	Typhimurium	20,8	2	Kentucky	8,8
3	Heidelberg	8,7	3	Typhimurium	6,1
Isolats de <i>Salmonella</i>, États-Unis					
Laboratoire national de référence sur les salmonelles du CDC Échantillons d'origine humaine, 2006			Département américain de l'agriculture (<i>United States Department of Agriculture - USDA</i>) Échantillons d'origine animale, 2003		
1	Typhimurium	19,6	1	Typhimurium	23,4
2	Enteritidis	19,2	2	Newport	16,7
3	Newport	9,6	3	Agona	4,5

* Comprenant des échantillons d'origine animale et environnementale

En Amérique du Sud et en Europe, le sérotype d'origine humaine le plus fréquemment isolé est *S. Enteritidis* dans la plupart des pays, et *S. Typhimurium* est généralement le deuxième en importance (*World Health Organization (WHO)*, 2009). Chez les bovins, les sérotypes les plus communs sont Typhimurium, Dublin et Newport, mais leur distribution peut varier selon les pays (Radostits et coll., 2007; Wray et Davies, 2000) et même selon les régions d'un même pays (Mc Donough et coll., 1999), de même que selon le type d'échantillonnage (animaux apparemment sains versus animaux présentant des signes cliniques de salmonellose). Aux États-Unis, *S. Dublin* est le sérotype le plus fréquemment isolé de cas cliniques de salmonellose chez les bovins (Morningstar-Shaw et coll., 2008) tandis qu'au Canada quelques cas ont été rapportés, notamment en Alberta (Guerin et coll., 2005).

1.4 Spécificité à l'hôte

Les sérotypes de salmonelles diffèrent par la gamme d'hôtes qu'ils peuvent infecter et par la nature de la maladie clinique qui peut en résulter. La plupart des sérotypes de *S. enterica* sont peu spécifiques et peuvent infecter un large éventail d'hôtes. Ces sérotypes sont omniprésents et ne causent généralement qu'une légère maladie entérique qui, dans la plupart des cas, ne s'accompagne d'aucune complication et ne nécessite pas de traitement. Puisqu'ils ne sont pas bien équipés pour combattre le système immunitaire de leur hôte, ces sérotypes ont tendance à causer la maladie surtout chez les jeunes (Baumler et coll., 1998) mais aussi chez les personnes âgées ou chez les animaux ou humains dont le système immunitaire est affaibli (OMS, 2005). À l'opposé, les sérotypes qui sont adaptés à une espèce spécifique provoquent généralement une grave maladie systémique chez un seul hôte, adulte ou jeune. De plus, ces sérotypes adaptés à l'hôte peuvent être responsables de l'excrétion prolongée de la bactérie par des porteurs chroniques ne démontrant pas de signes cliniques de la maladie. De nombreux facteurs peuvent être associés à la spécificité à l'hôte: suppression de gènes présents chez des sérotypes peu spécifiques à l'hôte, bactériophages et survie dans les macrophages (Libby et coll., 2004).

Les différents sérotypes de *Salmonella* peuvent donc être classés en 3 groupes principaux selon leur spécificité et leur adaptation à l'hôte humain ou animal. Premièrement, les sérotypes adaptés à l'humain : *S. Typhi* et *S. Paratyphi* (causant la fièvre typhoïde et paratyphoïde, respectivement) affectent seulement les humains, qui en constituent le seul réservoir. Ils peuvent être transmis par contact direct, ou indirectement par de l'eau ou de la nourriture contaminée. Deuxièmement, les sérotypes adaptés à un hôte d'une espèce animale spécifique, par exemple *S. Dublin* chez les bovins, *S. Choleraesuis* chez les porc, *S. Abortusovis* chez les ovins et *S. Abortusequi* chez les équins. Ces sérotypes peuvent aussi occasionnellement infecter un nombre limité d'autres hôtes mais n'y sont pas adaptés. Troisièmement on retrouve les sérotypes qui ne sont pas adaptés à une espèce en particulier. Parmi ce groupe, *S. Typhimurium* est le sérotype qui est le plus souvent responsable de salmonellose clinique chez les animaux autant que chez les humains et sa distribution est mondiale (OMS, 2005; Radostits et coll., 2007). Il peut causer des éclosions

sévères de salmonellose chez plusieurs espèces animales et est fréquemment incriminé pour des éclosions de gastroentérite chez les humains à travers la planète.

1.5 Facteurs de virulence

Plusieurs facteurs de virulence ont été identifiés pour les salmonelles. Les plus importants seront brièvement décrits ci-dessous.

1.5.1 Îlots de pathogénicité de *Salmonella*

Les îlots génomiques sont des zones du chromosome bactérien possédant des caractéristiques différentes du reste du génome. Certains îlots génomiques ne codent pour aucun phénotype connu, mais la plupart d'entre eux codent pour des informations biochimiques ou des facteurs de pathogénicité (îlots de pathogénicité). Par définition, les îlots de pathogénicité sont porteurs de gènes qui codent pour des facteurs de pathogénicité. Ils ont été décrits dans de nombreuses espèces bactériennes à Gram négatif, mais aussi dans certaines espèces de bactéries à Gram positif (Schmidt et Hensel, 2004). Les déterminants de pathogénicité et de virulence bactériennes qui peuvent être trouvés dans les îlots de pathogénicité incluent le système de sécrétion de type III, les superantigènes, les facteurs de colonisation, le système d'absorption de fer et les entérotoxines (Yoon et coll., 2007).

Cinq îlots de pathogénicité ont été identifiées chez *S. Typhimurium* et *S. Typhi* et sont désignés comme îlots de pathogénicité chromosomiques de *Salmonella* (*Salmonella Pathogenicity Islands* ou SPI). SPI-1 est présent chez toutes les salmonelles et il est nécessaire pour l'invasion intestinale mais pas pour l'infection systémique. Il favorise aussi l'inflammation et est important dans l'induction de la diarrhée. La fonction de SPI-2 est essentielle pour la survie dans les macrophages, ce qui conduit à la capacité des bactéries de causer des infections systémiques et de proliférer dans les organes de l'hôte. SPI-3 permet à *Salmonella* de croître dans des conditions limitées en Mg^{2+} , ce qui est également important pour la survie dans les macrophages. Quant à SPI-4, il pourrait jouer un rôle dans l'invasion mais son rôle dans la virulence de *Salmonella* n'a pas été étudié en détails. Enfin, SPI-5 est requis lors de salmonellose entérique mais pas systémique (Libby et coll., 2004; Schmidt et Hensel, 2004).

1.5.2 Plasmides de virulence

La plupart des sérotypes spécifiques à l'hôte et quelques autres moins spécifiques (Dublin, Pullorum, Gallinarum, Choleraesuis, Abortusbovis et quelques souches de Typhimurium et Enteritidis) portent des plasmides de virulence qui codent pour les gènes nécessaires à la capacité de provoquer la maladie systémique. Bizarrement, *S. Typhi* ne possède pas un tel plasmide (Libby et coll., 2004).

1.5.3 Survie intracellulaire

La capacité de survivre dans le compartiment phagosomal des macrophages est indispensable pour l'établissement de *Salmonella* dans l'intestin et dans les organes systémiques. Sa survie exige que *Salmonella* résiste à la fois aux mécanismes de phagocytose dépendants et indépendants de l'oxygène. De nombreux mécanismes permettent à la bactérie de survivre dans cet environnement hostile: changement de la composition des lipopolysaccharides (LPS) et de la membrane externe afin que celle-ci devienne moins perméable et plus résistante aux peptides antimicrobiens, différentes enzymes (catalases, superoxyde dismutases, glutathion réductase) permettant de se protéger des divers oxydants lysosomiaux et expression des gènes codant pour entre autres pour SPI-2 et jusqu'à 60 autres gènes (Libby et coll., 2004).

1.5.4 Lipopolysaccharides

Les LPS de *Salmonella* sont un composant majeur de la membrane externe de la bactérie et agissent comme une toxine importante, qui interagit avec le système immunitaire de l'hôte pour débiter l'inflammation et produire un choc septique, de la fièvre et éventuellement la mort. Les LPS les plus externes portent les polysaccharides O, hautement antigéniques.

1.5.5 Fibrilles

Pour établir une infection, *Salmonella* doit coloniser le tractus intestinal de l'hôte. Il a été démontré *in vitro* que *Salmonella* peut utiliser différentes flagelles afin d'adhérer à différents types de cellules. De plus, la perte de deux opérons fibrillaires (*lpf* et *pef*) qui sont

utilisés pour l'adhérence aux plaques de Peyer ainsi qu'aux villosités intestinales, diminue la capacité de *Salmonella* d'y adhérer (Libby et coll., 2004).

1.5.6 Flagelles

Le rôle des flagelles dans la virulence des salmonelles n'est pas clair, et il y aurait des différences entre les infections systémiques et intestinales. La plupart des salmonelles pathogènes sont biphasiques et peuvent alterner entre deux types de flagelles, ce qui leur permettrait de se soustraire au système immunitaire de l'hôte (Libby et coll., 2004).

2 Salmonellose

2.1 Pathophysiologie

La pathophysiologie de la salmonellose est plutôt complexe. La nature et la gravité de la maladie suite à l'infection dépendent de la combinaison spécifique hôte-sérotype, de la virulence de l'agent pathogène, ainsi que de l'âge et du statut immunitaire de l'animal. La dose infectieuse pour les bovins adultes en bonne santé est d'environ 10^9 - 10^{11} salmonelles (House et Smith, 2004). Le terme « salmonellose » regroupe tout un éventail de manifestations de la maladie.

Les salmonelles sont des organismes invasifs qui peuvent pénétrer les muqueuses oculaire, orale, nasale ou intestinale (Smith, 2002). Cependant, la majorité des infections se font par voie orale. Suite à l'ingestion, la bactérie doit d'abord résister au contenu du rumen puis au pH de la caillette avant de pouvoir pénétrer la muqueuse intestinale. La concentration élevée en acides gras volatils (AGV) du rumen des bovins à partir de six semaines d'âge, est suffisante pour inhiber les salmonelles (Chambers et Lysons, 1979). De plus, un pH de 4,8 ou moins dans la caillette est bactéricide pour la plupart des salmonelles (Rings, 1985). Les jeunes veaux sont donc plus susceptibles aux infections par *Salmonella* spp. entre autres parce qu'ils n'ont pas un pH aussi bas que celui des adultes dans la caillette (Constable et coll., 2006), et leur rumen est immature. Comme la concentration en AGV du rumen ainsi que le pH du rumen et de la caillette varient en fonction de l'ingestion (ou non) d'aliments ou de lait, l'effet protecteur des AGV et de l'acidité du système gastro-intestinal

contre les salmonelles est variable. Ainsi, chez les veaux non sevrés, le pH de la caillette est très bas dans la période préprandiale (pH <2,0) mais l'ingestion de lait fait rapidement augmenter le pH à environ 6,0. Après l'ingestion de 2 L de lait, le pH de la caillette reste constant pour un maximum de 2 heures, puis diminue progressivement pour revenir aux valeurs préprandiales en 7 à 9 heures (Constable et coll., 2006). Chez les bovins adultes, toute perturbation du processus normal de fermentation avec production de lactates dans le rumen, entre autres lors d'acidose, favorise la multiplication des salmonelles en utilisant ces substrats (Chambers et Lysons, 1979). De plus, l'anorexie étant associée à de faibles concentrations en AGV et à un pH ruminal élevé, cela permet aux salmonelles de persister ou même de se multiplier lors d'anorexie complète ou partielle (Brownlie et Grau, 1967).

Lorsque la bactérie se rend jusqu'à l'iléon distal et au caecum, elle en colonise la muqueuse puis se réplique dans la sous-muqueuse et les plaques de Peyer. Chez les jeunes animaux et les adultes dont le système immunitaire est affaibli, l'infection peut s'étendre au-delà des nœuds lymphatiques mésentériques, s'établir dans les cellules réticuloendothéliales du foie et finalement causer une infection systémique (Radostits et coll., 2007). *Salmonella* peut alors être retrouvée dans de nombreux organes, tissus et sécrétions incluant les reins, la rate, la vésicule biliaire, la salive, le lait et les fèces (Rings, 1985). Ce type d'infection systémique est cependant beaucoup plus fréquent lors d'une infection à *S. Dublin* que lors d'une infection causée par *S. Typhimurium* ou tout autre sérotype (House et coll., 1993; Santos et coll., 2001; Smith et coll., 1989; Wray et Sojka, 1978). Chez les veaux, *S. Dublin* tend également à se localiser dans les méninges, les os, les articulations ou les poumons (Gitter et coll., 1978; Rings, 1985).

Les mécanismes plus précis de la pathogénie des salmonelles, dont nous ne traiterons pas en détail ici, sont beaucoup mieux connus chez le veau que chez le bovin adulte. En effet, *S. Typhimurium* étant un agent pathogène naturel des bovins, et causant une condition pathologique et des signes cliniques similaires à ceux décrits chez l'humain, le veau a souvent servi de modèle expérimental pour l'entérocologie humaine (Santos et coll., 2001; Tsolis et coll., 1999; Zhang et coll., 2003) ou bovine (Hall et coll., 1979; Smith et Jones, 1967; Wray et Sojka, 1978). Malgré cela, les mécanismes par lesquels les salmonelles

causent de la diarrhée n'ont pas encore été complètement élucidés. Des études *in vitro* ont montré chez *S. Typhimurium* la translocation de protéines du système de sécrétion de type III (SSTT). Ces protéines, dans le modèle d'entéocolite à *S. Typhimurium* chez le veau, sont nécessaires pour provoquer l'infiltration de neutrophiles, probablement en induisant la production de chémokines dans le tissu iléal. La réponse inflammatoire aiguë qui s'en suit est associée à une augmentation de la perméabilité vasculaire se traduisant par un oedème de la muqueuse. En outre, l'afflux de neutrophiles est associé à une nécrose de la muqueuse iléale supérieure. L'augmentation de perméabilité de l'épithélium intestinal conduit à des fuites de fluides extravasculaires et à la transmigration massive de neutrophiles dans la lumière intestinale. Cela suggère que la perte de liquides observée lors d'entéocolite à *S. Typhimurium* est due au moins en partie à un mécanisme inflammatoire, qui pourrait même jouer un rôle plus important que la production de toxines (Rings, 1985; Santos et coll., 2001; Smith et coll., 1979; Wray et Davies, 2000; Zhang et coll., 2003).

2.2 Manifestations cliniques

Tel que mentionné dans la section 2.1 ci-dessus, il existe plusieurs manifestations cliniques différentes de la salmonellose chez le bovin. Les deux syndromes cliniques les plus fréquents sont la septicémie, qui se manifeste surtout chez les veaux nouveau-nés, et l'entérite aiguë, généralement observée chez les veaux plus âgés de même que chez les adultes (Radostits et coll., 2007). Certains sérotypes tendent à être associés à un syndrome plutôt qu'un autre. Ainsi, les sérotypes *Typhimurium* et *Newport* sont généralement associés à une entérite chez les veaux ou les adultes, de même que plus rarement *Montevideo*, *Anatum* et *Dublin*. Quant à la septicémie, on l'associe généralement à *S. Dublin* et plus rarement à *S. Typhimurium* ou *S. Newport* (Anderson et Blanchard, 1989).

2.2.1 Entérite

L'entérite est la manifestation la plus fréquente de la salmonellose. Elle peut se manifester lors de la primo-infection ou encore à n'importe quel moment chez les animaux porteurs. Cependant, les signes cliniques lors de primo-infection sont généralement plus aigus que lors de la réactivation de la maladie chez un porteur (Wray et Davies, 2000). Les fèces

peuvent être de très liquides à mucoïdes et peuvent contenir de la fibrine et du sang. Elles ont généralement une odeur putride à cause de la présence de protéines associées à l'inflammation sévère de la muqueuse intestinale. La diarrhée s'accompagne généralement de fièvre, dépression, anorexie, déshydratation (Anderson et Blanchard, 1989; Anderson et coll., 1997; Clegg et coll., 1983; Higgins et coll., 1997; Radostits et coll., 2007; Rings, 1985; Smith, 2002) et, chez les vaches en lactation, diminution parfois drastique de la production lactée (Kahrs et coll., 1972). Lors de réactivation de la maladie chez un porteur, la fièvre peut être absente et les autres signes cliniques sont également moins sévères. Dans une étude expérimentale où des veaux âgés de 3 à 9 semaines recevaient entre 10^4 et 10^{11} d'un isolat très virulent de *S. Typhimurium*, la sévérité des signes cliniques variait selon la dose de l'inoculum. Ainsi, la plupart des veaux étaient abattus, fiévreux et avaient un appétit diminué mais seuls les veaux ayant reçu des doses plus élevées souffraient également de diarrhée pouvant contenir du mucus, de la fibrine et du sang (Smith et coll., 1979).

2.2.2 Avortement

Les femelles gestantes atteintes de salmonellose peuvent avorter avant, pendant et surtout quelques semaines après les autres signes cliniques (Hinton, 1971; Hinton, 1974; Richardson, 1974). Différents sérotypes ont été incriminés lors d'avortement, entre autres Typhimurium (Kahrs et coll., 1972), Newport (Clegg et coll., 1983), Brandenburg (Clark et coll., 2004), Muenster (Radke et coll., 2002) et *S. enterica* subsp. *arizonae* (Gaspar, 1978). En Angleterre et dans d'autres pays où *S. Dublin* est un des sérotypes prédominants chez les bovins, c'est lui qui est le plus fréquemment impliqué dans les avortements à *Salmonella* (Hinton, 1971; Jerrett et coll., 1984). Les avortements ont alors lieu du 6^e au 8^e mois de gestation (Hinton, 1971; 1974), et le plus souvent en l'absence d'autres signes cliniques (Hinton, 1974). L'organisme peut alors être excrété dans les écoulements vaginaux, l'urine et le lait (Wray et Davies, 2000). De plus, les vaches qui sont porteuses actives ou latentes (voir section 2.2.7 du Chapitre 1) peuvent donner naissance à des veaux infectés de façon congénitale (Richardson, 1973; 1974). Ces veaux sont souvent mort-nés ou alors meurent rapidement après la naissance, quoique certains puissent survivre (Hinton, 1974). Quelques cas d'avortement à *S. Dublin* ont été rapportés en Amérique du nord, dans

les régions où ce sérotype est fréquemment retrouvé, en Californie par exemple (Anderson et coll., 1990).

2.2.3 Septicémie

Suite à l'invasion systémique de la bactérie, généralement chez les veaux, il se développe généralement une fièvre importante, dépression sévère, anorexie, dyspnée et autres signes de pneumonie, faiblesse (Anderson et Blanchard, 1989; Radostits et coll., 2007; Rings, 1985; Smith, 2002) et parfois signes neurologiques comme incoordination, nystagmus, opisthotonos ou convulsions (Radostits et coll., 2007; Smith, 2002; Wray et Davies, 2000). Cette septicémie peut être rapidement fatale (de quelques heures à 1 ou 2 jours) et la mort n'est pas toujours précédée de signes cliniques apparents (Anderson et Blanchard, 1989; Rings, 1985). Une acidose métabolique sévère peut être présente même en l'absence de diarrhée ou de déshydratation (Rings, 1985).

2.2.4 Nécrose des extrémités

Il arrive que certains veaux qui survivent à l'épisode septicémique causé par *S. Dublin* développent par la suite de la gangrène du bout des oreilles et de la queue, ainsi que de l'extrémité distale des membres (Gitter et coll., 1978; Loeb et coll., 2006; Radostits et coll., 2007; Rice et coll., 1997; Richardson, 1974; Wray et Davies, 2000). Cliniquement on observe de la boiterie, une enflure des membres postérieurs distalement au boulet, et éventuellement une séparation de la peau au-dessus du boulet. La portion distale du membre est alors froide et indolore. Le bout des oreilles peut être induré et la partie distale de la queue, sèche et rabougrie (Radostits et coll., 2007). Ce phénomène serait plus fréquent durant les mois d'hiver puisqu'un des mécanismes possible de son apparition est une anémie hémolytique à médiation immunitaire « cryopathique » (Loeb et coll., 2006).

2.2.5 Abomasite

Des cas d'abomasite causés par *S. Typhimurium* DT104 ont été rapportés chez des veaux lourds (Carlson et coll., 2002). Les animaux atteints présentaient de la dépression, anorexie, fièvre, dyspnée, douleur abdominale et diarrhée. La nécropsie a révélé des lésions d'abomasite diffuse en plus des signes plus classiques de salmonellose comme entérite,

lymphadénopathie mésentérique et pneumonie. Certains veaux avaient également une péritonite et polysérosite.

2.2.6 Maladie chronique

Cette forme de salmonellose se retrouve surtout chez les veaux de plus de 6 à 8 semaines d'âge. Les fèces sont parfois peu formées mais pas diarrhéiques. La température corporelle est généralement normale quoique parfois légèrement élevée (moins de 39°C). Les veaux sont généralement remarqués pour leur pelage rêche et terne ainsi que leur taille et leur poids inférieurs à la normale (Rings, 1985).

2.2.7 Porteurs asymptomatiques

Les épisodes de salmonellose clinique sur les fermes laitières sont généralement associés à *S. Typhimurium* (séro groupe B) ou à une autre salmonelle appartenant au séro groupe B, C ou E (Anderson et coll., 2001). Les animaux qui récupèrent d'un épisode de salmonellose clinique causé par un de ces sérotypes cessent généralement d'excréter des salmonelles en 3 à 12 semaines et deviennent rarement porteurs chroniques (Wray et coll., 1987; Wray et coll., 1989). Bien que les bovins infectés avec ces sérotypes ne demeurent généralement pas eux-mêmes infectés chroniquement, les fermes peuvent l'être, probablement à cause d'une contamination environnementale importante et de la recirculation des salmonelles entre les vaches, les aliments et l'environnement (Gay et Hunsaker, 1993).

En revanche, plusieurs animaux deviennent porteurs de *Salmonella* suite à une bactériémie et excrètent ensuite la bactérie de façon continue ou intermittente dans les fèces et parfois le lait, à partir de la vésicule biliaire ou des intestins. Ce phénomène est beaucoup plus fréquent avec les sérotypes adaptés à l'hôte comme *S. Dublin*, mais a également été rapporté pour *S. Typhimurium*, *S. Muenster* (Ogilvie, 1986; Styliadis et Barnum, 1984) et *S. Anatum* (Glickman et coll., 1981). Certains animaux peuvent devenir porteurs sans avoir démontré de signes cliniques au moment de la primo-infection. Ils peuvent également développer une septicémie aiguë ou une entérite lorsque leur système immunitaire est affaibli par un stress ou une infection concomitante, lors de stase digestive ou lorsque leur flore intestinale normale a été perturbée (lors d'anorexie, d'acidose du rumen ou suite à un

traitement antimicrobien par exemple) (Radostits et coll., 2007; Smith, 2002). On dénote 3 types de porteurs : les porteurs actifs, les porteurs latents et les porteurs passifs. Les porteurs actifs excrètent l'organisme dans leurs fèces de façon intermittente ou continue pendant des périodes allant de quelques semaines à quelques mois pour la plupart des sérotypes, et jusqu'à plusieurs années pour le sérotype Dublin (Radostits et coll., 2007; Smith, 2002; Wray et Davies, 2000). Une excrétion dans le lait chez des animaux porteurs a également été rapportée (Giles et coll., 1989; Smith et coll., 1989). Quant aux porteurs latents, ils n'excrètent généralement pas l'organisme puisque l'infection est alors localisée aux nœuds lymphatiques ou amygdales. Ils peuvent cependant devenir porteurs actifs ou même souffrir de salmonellose clinique en période de stress, en particulier durant la gestation (Wray et Davies, 2000). Les porteurs passifs, quant à eux, ne sont pas vraiment infectés par *Salmonella* spp. Ils excrètent seulement les bactéries ingérées lors de pâturage en compagnie de porteurs actifs et l'excrétion cesse dès la fin de la période de pâturage (Richardson, 1974). Il est possible que plusieurs des animaux n'excrétant que de petits nombres de salmonelles soient en fait des porteurs passifs et que l'excrétion fécale détectée serait le reflet de la contamination environnementale (Berge et coll., 2006). Le tableau II ci-dessous illustre les différences entre les 4 types possibles d'infection.

Tableau II – Mise en évidence des 4 types possibles d'infection par *Salmonella* spp.

	Mise en évidence		
	Clinique	Bactériologique	Immunologique
Malade	+	+	+
Porteur actif	-	+ / -	+
Porteur latent	-	-	+ / -
Porteur passif	-	+	-

Modifié d'après Jenicek et Cléroux, 1982.

2.3 Traitement

Le traitement de la salmonellose chez les bovins se compose habituellement de 3 volets: (1) réhydratation afin de remplacer la perte de liquides et d'électrolytes, (2) utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens pour limiter la cascade de l'inflammation créée par la

relâche d'endotoxines et (3) utilisation judicieuse d'antimicrobiens pour traiter la bactériémie.

L'utilisation d'antimicrobiens dans le traitement de la salmonellose demeure quelque peu controversée, non seulement à cause d'inquiétudes face à la sélection d'organismes résistants aux antimicrobiens (FAO/WHO/OIE, 2008) mais aussi parce que la nécessité et l'efficacité de leur utilisation sont souvent remises en question. En effet, l'extrapolation d'études effectuées chez les chevaux (Hird et coll., 1984; Owen et coll., 1983) et humains (Delarocque-Astagneau et coll., 2000; Pavia et coll., 1990) pourrait indiquer que l'excrétion fécale serait prolongée chez les patients recevant des antimicrobiens. Cependant, il faut noter que chez les humains, les infections causées par des salmonelles (à part la fièvre typhoïde et certaines infections causées par *S. Choleraesuis* ou *S. Dublin*) sont généralement non invasives (Santos et coll., 2001) alors que chez les bovins, surtout les veaux, la bactériémie est fréquente et les antimicrobiens sont alors indiqués (House et Smith, 1998; Mohler et coll., 2009; Rings, 1985; Smith, 2002).

Chez les bovins, quelques chercheurs ont étudié l'effet de l'utilisation d'antimicrobiens sur l'excrétion fécale de salmonelles. Warnick et collaborateurs (2003b), ont rapporté que l'effet de l'utilisation d'antimicrobiens sur la détection de salmonelles dans les fèces variait selon le groupe d'âge, dans des troupeaux avec un historique récent de salmonellose clinique. Chez les veaux, l'utilisation d'antimicrobiens n'augmentait pas la probabilité de détecter des salmonelles dans les fèces mais elle l'augmentait significativement chez les taures et les vaches. Une telle association positive entre l'administration d'antimicrobiens et la détection de salmonelles pourrait résulter d'une augmentation de la durée de l'infection par *Salmonella* lorsque les animaux sont traités par des antimicrobiens, ou encore d'une augmentation de l'incidence de nouvelles infections ou d'une réactivation de l'infection à *Salmonella* due à la modification de la flore bactérienne commensale lors de l'utilisation d'antimicrobiens pour le traitement d'autres maladies. Il est également possible qu'une association soit observée à cause de la relation possible entre l'utilisation d'antimicrobiens et la présence d'une autre maladie ou d'un autre facteur augmentant le risque de nouvelle infection ou la durée de l'excrétion fécale de salmonelles (Warnick et coll., 2003b). Au

contraire, dans une étude sur l'excrétion fécale de salmonelles chez des bovins laitiers dont la majorité ne présentait pas de signes cliniques, l'utilisation d'antibiotiques systémiques dans les 14 jours précédant l'échantillonnage diminuait significativement la probabilité de détecter des salmonelles (Fossler et coll., 2005c). Les résultats contradictoires obtenus dans ces 2 études pourraient s'expliquer par le fait que l'utilisation d'antimicrobiens n'a peut-être pas le même effet sur les animaux porteurs asymptomatiques de *Salmonella* versus ceux souffrant de salmonellose clinique (Fossler et coll., 2005c). Dans une étude sur l'efficacité du ceftiofur à une dose élevée de 5mg/kg (donc en dérogation des directives de l'étiquette) pour le traitement d'infections expérimentales à *S. Typhimurium* chez des veaux de 1 à 4 jours d'âge, une réponse thérapeutique rapide a été observée (diminution significative de la diarrhée et de la fièvre, de même qu'une diminution non-significative de la perte de poids et mortalité) chez les veaux traités. De plus, la proportion de veaux excréteur des salmonelles, de même que la quantité excrétée était diminuée chez les veaux traités (Fecteau et coll., 2003).

3 Diagnostic

On peut retrouver dans la littérature de nombreux articles détaillant les méthodes de laboratoire pour le diagnostic de *Salmonella*. Nous discuterons ici plus longuement des méthodes bactériologiques que de la sérologie, de la détection des anticorps dans le lait ou de la nécropsie, puisque c'est la culture bactériologique qui a été utilisée dans notre étude. De plus, nous nous attarderons aux performances des tests utilisés pour le diagnostic plutôt qu'aux techniques de laboratoire en tant que telles.

3.1 Clinique

Le diagnostic clinique est difficile puisqu'aucun des signes cliniques n'est pathognomonique et que plusieurs autres maladies peuvent ressembler aux différentes formes de salmonellose (Radostits et coll., 2007). Chez le veau, la forme septicémique de salmonellose est semblable à une septicémie à coliformes. Quant à la forme entérique, elle peut ressembler à la maladie causée par plusieurs autres agents pathogènes intestinaux du veau : rotavirus, coronavirus, diarrhée virale bovine, clostridies, cryptosporidies, coccidies.

Chez les taures, on pense plutôt à des parasitoses comme la coccidiose et l'ostertagiose. Chez le bovin adulte, le diagnostic différentiel d'une entéropathie aiguë comprend l'indigestion d'origine alimentaire ou la surcharge en grains, la dysentérie d'hiver, la diarrhée virale bovine et différentes intoxications (entre autres arsenic et fougère). Le diagnostic différentiel d'une entéropathie chronique est un peu plus restreint : paratuberculose, parasitisme intestinal et, beaucoup plus rarement, amyloïdose rénale et déficience en cuivre/intoxication au molybdène.

3.2 Bactériologie

3.2.1 Culture directe, enrichissement et ensemencement

L'ensemencement direct de tissus ou autres échantillons (fèces, lait) n'est généralement pas recommandé à cause de sa très faible sensibilité, sauf peut-être dans les cas de salmonellose aiguë (Waltman, 2000). Afin d'augmenter la sensibilité de la culture, l'échantillon est d'abord incubé pour 18-24h dans un bouillon d'enrichissement sélectif (Nam et coll., 2004; Pangloli et coll., 2003). Ce dernier inhibera la croissance d'autres bactéries, tout en permettant la multiplication de *Salmonella* pour atteindre des quantités qui seront détectables après l'ensemencement sur gélose. Les trois types de bouillons d'enrichissement sont tétrathionate, sélénite et Rappaport-Vassiliadis (RV). Par la suite, l'échantillon peut être ensemencé sur une gélose légèrement sélective (MacConkey ou MAC, éosine et bleu de méthylène ou EMB), moyennement sélective (xylose-lysine-désoxycholate ou XLD, désoxycholate-citrate ou DCA, *Salmonella-Shigella* ou SS, Hektoen entérique ou HE) ou très sélective (sulfite de bismuth ou BS, vert brillant ou BGA) (Nataro et coll., 2007; Waltman, 2000).

3.2.2 Isolement et identification

Un test d'agglutination au latex peut être utilisé pour le dépistage de *Salmonella* dans les bouillons d'enrichissement sélectifs (Metzler et Nachamkin, 1988). Les isolats peuvent également être identifiés par une batterie de tests biochimiques ou encore par agglutination sur lame à l'aide d'antisérums polyvalents pour l'antigène O afin d'identifier les sérogroupes A, B, C1, C2, D et E (95% des souches de *Salmonella* appartiennent à l'un de

ces groupes O). Le laboratoire peut publier un rapport préliminaire de la présence de *Salmonella* spp. quand un isolat est positif à un des antisérums du groupe O. Cependant, la confirmation n'a lieu que lorsque le séro groupe O a été déterminé et l'identification biochimique a été achevée (Nataro et coll., 2007).

Les salmonelles sont sérotypées en fonction de leurs antigènes O (somatique), Vi (capsulaire), et H (flagellaire). Comme nous l'avons vu précédemment dans la section 1.2, le sérotype peut ensuite être désigné par son nom ou sa formule antigénique. La formule antigénique de tous les sérotypes de *Salmonella* sont énumérés dans le schéma de Kauffmann-White, qui est mis à jour régulièrement (Guibourdenche et coll., 2010). La formule antigénique est exprimée comme suit:

antigène(s) O, Vi (lorsque présent):antigène H (s) (phase 1): antigène(s) H (phase 2, lorsque présent)

Par exemple, la formule antigénique de *S. Typhimurium* est 4,5,12:i:1,2 (Nataro et coll., 2007).

Pour les sérotypes plus communs tels que Typhimurium, Enteritidis et Typhi, des méthodes de sous-typage sont fréquemment utilisées. Différentes méthodes phénotypiques (par exemple lysotypie, antibiogramme et biotypage) et génotypiques (par exemple profilage de plasmides, électrophorèse sur gel en champ pulsé (*pulsed-field gel electrophoresis* ou PFGE), amplification aléatoire d'ADN polymorphe (*random amplification of polymorphic DNA* ou RAPD) et typage avec IS200) ont été développées et sont utilisées surtout par les laboratoires de référence (Nataro et coll., 2007).

3.2.3 Sensibilité et spécificité de la culture bactériologique des fèces

La culture bactériologique est la seule façon de confirmer un diagnostic de salmonellose et d'identifier précisément le sérotype en cause. Cependant, cette méthode souffre d'une faible sensibilité et ce problème est encore plus criant lorsqu'il s'agit de détecter les animaux qui sont porteurs asymptomatiques. De plus, la culture n'est pas non plus parfaitement spécifique à cause de l'existence de porteurs passifs qui peuvent excréter des salmonelles de façon transitoire, sans pour autant être infectés.

Les résultats préliminaires d'une étude expérimentale sur l'effet de la concentration de *S. Typhimurium* dans des échantillons de fèces sur la probabilité d'isolement de *Salmonella* en culture, semblent indiquer que des concentrations plus élevées étaient plus susceptibles de donner un résultat positif à la culture (Lorin D. Warnick, communication personnelle, novembre 2010). Ainsi, la sensibilité de la culture augmentait de 0% à 95% pour des concentrations allant de 10^{-4} à 10^6 CFU/mL (par incrément de 1 log). La probabilité d'isoler des salmonelles était presque nulle (0 à 4%) pour les concentrations de 10^{-2} CFU/mL ou moins, et très élevée (90% et plus) pour des concentration de 10^4 CFU/mL et plus. Pour les concentrations intermédiaires (10^{-1} à 10^3 CFU/mL), la sensibilité variait de 16 à 83%.

Très peu d'études se sont attardées à la comparaison de l'écouvillonnage rectal et du prélèvement d'une plus grande quantité de fèces pour la culture de salmonelles. Aucune étude n'existe chez les bovins tandis qu'une étude expérimentale a été relevée chez les porcs et une autre chez les humains. D'abord, des porcelets de 7-8 semaines ont été expérimentalement infectés par *S. Typhimurium* dans le but d'établir une infection persistante et d'estimer la proportion d'excrétion fécale chez ces animaux. Pendant les 22 semaines suivant l'exposition, 83 à 100% des cultures fécales étaient positives alors que seulement 50% et plus des échantillons prélevés par écouvillonnage rectal étaient positifs (Wood et coll., 1989). Chez les humains, une étude de phase I clinique d'une souche vivante atténuée de *S. Typhimurium* destinée à un vaccin oral a permis d'estimer la sensibilité de l'écouvillonnage rectal par rapport à la culture fécale. En comparaison avec la coproculture, la sensibilité des écouvillons rectaux était de 63,6% (Kotton et coll., 2006). Par ailleurs, la sensibilité de l'écouvillonnage rectal semblait diminuer avec le temps: elle variait entre 77,8% pour la première culture fécale positive (qui contenait probablement une concentration de salmonelles plus élevée, similaire à celle que l'on pourrait rencontrer lors de salmonellose clinique) et 55,6% pour la dernière culture fécale positive (et probablement concentration plus faible de salmonelles, à des niveaux s'apparentant plutôt à un porteur asymptomatique). D'autre part, 10 écouvillons rectaux étaient positifs alors que la culture fécale appariée était négative. Cela pourrait simplement refléter le fait que ces échantillons contenaient probablement de faibles concentrations de salmonelles. Dans de tels échantillons, les erreurs d'échantillonnage ou la variabilité de l'échantillonnage sont

probablement plus importantes que pour des échantillons contenant de plus grandes concentrations de bactéries, pour lesquels les tests sont plus susceptibles d'être concordants.

3.2.3.1 Salmonellose clinique

Bien que Wray et Davies mentionnent dans un chapitre de livre que « l'isolation de l'organisme ne pose aucune difficulté chez les bovins adultes atteints de salmonellose clinique puisqu'il est excrété continuellement et en grande quantité » (Wray et Davies, 2000), il existe peu de données dans la littérature pour appuyer cette déclaration. Dans une étude effectuée sur des veaux âgés de 3 mois et moins, 44,7% de 38 écouvillons rectaux provenant de veaux atteints de salmonellose clinique tel que confirmé par nécropsie, se sont avérés positifs pour *S. Dublin* (Richardson et Fawcett, 1973). Dans une autre étude menée sur 53 chevaux et 5 bovins présentés pour entérite aiguë, 52,3% de 65 biopsies rectales étaient positives pour *Salmonella* spp. alors que seulement 32,3% des 65 échantillons fécaux pris au même moment se sont avérés positifs. Il est cependant difficile de pousser plus loin l'interprétation des résultats de cette étude puisqu'il y a divergence dans l'article entre les résultats mentionnés dans le texte et ceux présentés dans le tableau (Palmer et coll., 1985). Finalement, une étude relatant des éclosions de salmonellose à *S. Newport* en Grande-Bretagne rapporte l'isolement de la bactérie dans les fèces de 55,6% à 100% d'une partie des animaux démontrant des signes cliniques (Clegg et coll., 1983).

3.2.3.2 Porteurs asymptomatiques

Pour ce qui est de la sensibilité de la culture au niveau de l'animal, une étude a trouvé que 3,35% de 985 échantillons de fèces provenant de 8 vaches porteuses connues de *S. Dublin* et 17,26% de 643 échantillons de fèces provenant de 5 veaux porteurs connus, étaient positifs sur une période de 6 mois pendant laquelle les animaux étaient testés à plusieurs reprises (House et coll., 1993). La sensibilité augmentait légèrement en période péri-partum alors que 4,39% de 91 échantillons étaient positifs. Ces résultats sont très similaires à ceux d'une autre étude où 4% de 1 733 échantillons provenant de 7 vaches porteuses connues étaient positifs (5% d'échantillons positifs en période péri-partum) (Smith et coll., 1989). Une autre étude plus récente a utilisé un modèle de classes latentes pour estimer que la sensibilité de la culture était entre 6% et 14% pour l'identification d'animaux infectés par

S. Dublin et provenant de troupeaux positifs et négatifs (Nielsen et coll., 2004b). Il faut cependant mentionner que dans cette étude, les échantillons étaient d'abord regroupés par 5 animaux et des cultures individuelles n'étaient effectuées que sur les groupes positifs. La sensibilité aurait probablement pu être améliorée en n'effectuant que des cultures individuelles. La spécificité de la culture, quant à elle, était assumée être égale à 100% dans cette étude. Quant aux écouvillons rectaux, 14 de 59 vaches sur lesquelles ceux-ci étaient négatifs se sont par la suite avérées infectées lors de l'examen post-mortem (Watson et coll., 1971).

À l'échelle du troupeau, une étude a rapporté une sensibilité de la culture (*herd-level sensitivity* ou HSe) de 38% lorsque les animaux présentant ou ayant présenté des signes cliniques de salmonellose étaient échantillonnés, dans des troupeaux récemment infectés par *S. Dublin* (Veling et coll., 2002a).

3.3 Méthodes rapides

Plusieurs méthodes alternatives à la culture ont été développées ou sont en développement pour la détection de *Salmonella*. Les techniques immunologiques incluent l'immunodiffusion, le dosage d'immunosorption liée à enzyme (*enzyme-linked immunosorbent assay* ou ELISA), le dosage d'immunofluorescence liée à enzyme (*enzyme-linked immunofluorescent assay* ou ELFA), l'immunoagglutination, l'immunocapture, l'immunoprécipitation ainsi que des combinaisons de ces techniques (Duffy et coll., 2000; Rodrigues et Kroll, 1990; van der Zee et Huis in't Veld, 2000; Wray et Callow, 1989; Wray et Davies, 2000). Il existe également de nombreux tests basés sur la réaction en chaîne par polymérase (*Polymerase Chain Reaction* ou PCR) pour la détection des salmonelles (Bohaychuk et coll., 2007; Cano et coll., 1993; Chen et coll., 1997; Kurowski et coll., 2002; Nam et coll., 2005; Singer et coll., 2006; Stone et coll., 1994) mais plusieurs d'entre eux ont été développés pour utilisation dans la viande et ne sont pas nécessairement applicables pour des échantillons de fèces (Cano et coll., 1993; Chen et coll., 1997; Duffy et coll., 2000; Rodrigues et Kroll, 1990). De plus, ces méthodes alternatives sont souvent beaucoup plus coûteuses que la culture et nécessitent du matériel spécialisé ainsi que du personnel très qualifié, qui ne sont pas toujours disponibles.

3.3.1 Sensibilité et spécificité du PCR

Une étude rapporte l'utilisation d'un PCR en temps réel sur 299 échantillons de fèces provenant de bovins, équins et canins avec une sensibilité relative comparée à la culture bactériologique de 100% et une spécificité relative de 98,2%. De plus, selon les auteurs, les 4 échantillons apparemment faussement positifs par PCR seraient plutôt des faux négatifs à la culture (Kurowski et coll., 2002).

3.4 Sérologie et détection des anticorps dans le lait

Un avantage majeur de la sérologie comparativement aux techniques bactériologiques est le fait que l'excrétion des salmonelles par les animaux porteurs est intermittente alors que les concentrations d'immunoglobulines (IgG) sont généralement persistantes. Par ailleurs, les concentrations d'IgG prennent un certain temps à atteindre une concentration détectable suivant l'infection initiale, et les sérotypes non invasifs peuvent ne pas être détectés sérologiquement, rendant l'utilisation de la sérologie beaucoup plus utile pour le dépistage d'animaux porteurs que pour le diagnostic de la maladie clinique (Barrow, 2000).

Plusieurs tests sérologiques ont été développés pour le dépistage des animaux infectés avec *S. Dublin* ou *S. Typhimurium*. La plupart de ces tests sont des ELISA qui détectent les immunoglobulines dirigées contre l'antigène O des LPS (Barrow, 2000; Hoorfar et coll., 1994; 1997; Veling et coll., 2000). Plusieurs de ces tests sérologiques peuvent être modifiés pour utilisation dans le lait, ce qui rend la collecte d'échantillons plus facile et moins coûteuse (Hoorfar et coll., 1994; 1995; Smith et coll., 1989). Il est également possible d'effectuer un ELISA sur le lait du réservoir afin de déterminer le statut d'un troupeau (Veling et coll., 2001; Warnick et coll., 2003a; Wedderkopp et coll., 2001).

3.4.1 Sensibilité et spécificité

3.4.1.1 Sérologie

Dans une étude ayant pour but d'évaluer l'utilisation d'un ELISA pour la détection des anticorps de *S. Dublin* dans le sérum et dans le lait, afin d'identifier les animaux porteurs de la bactérie dans la glande mammaire, 7 vaches ayant eu au moins une culture

bactériologique positive (fèces ou lait) ont été échantillonnées de façon répétitive et comparées à 6 vaches provenant du même troupeau mais ayant eu un résultat négatif lors de 5 cultures bactériologiques consécutives (Smith et coll., 1989). Toutes les vaches positives ont maintenu des titres d'anticorps élevés pour toute la durée de l'étude (1 an). De plus, leurs titres d'anticorps (dans le sérum et dans le lait) étaient significativement plus élevés ($p < 0,0001$) que ceux des contrôles négatifs.

Trois ELISAs utilisés pour la détection des anticorps de *S. Dublin* dans le sérum ont été évalués dans une étude (Veling et coll., 2000). Il s'agit d'un ELISA indirect anti-LPS du sérotype Dublin (ELISA-LPS), d'un ELISA indirect avec les antigènes flagellaires du sérotype Dublin (ELISA-GP) et d'un ELISA en sandwich à double anticorps utilisant des anticorps monoclonaux contre *S. Dublin* (ELISA-GM-DAS). La sensibilité de ces 3 ELISAs pour détecter les animaux positifs à la culture dans des troupeaux récemment infectés par *S. Dublin* était de 30, 46 et 38% avec l'ELISA-LPS, l'ELISA-GP et l'ELISA-GM-DAS, respectivement, avec une spécificité de 99,3, 100 et 100%.

À l'échelle du troupeau, la sensibilité était de 100% avec l'ELISA-GP, lorsque tous les animaux de troupeaux récemment infectés par *S. Dublin* étaient échantillonnés. Si seulement les veaux de 4 à 6 mois étaient échantillonnés, la HSe était de 91% et elle baissait à 80% lorsque seulement les animaux présentant ou ayant présenté des signes cliniques de salmonellose étaient échantillonnés (Veling et coll., 2002a).

3.4.1.2 Détection des anticorps dans le lait du réservoir

Une autre étude a évalué l'utilisation de 2 des ELISAs mentionnés à la section précédente (ELISA-LPS et ELISA-GP) pour la détection de *S. Dublin* dans le lait du réservoir (Veling et coll., 2001). La sensibilité était de 54 et 63% pour l'ELISA-LPS et pour l'ELISA-GP, respectivement. La spécificité variait entre 95 et 100%, dépendant de la population utilisée. La sensibilité pouvait être légèrement augmentée à 65% si les 2 tests étaient faits en parallèle, et la spécificité était de 100% avec les tests effectués en série, peu importe la population utilisée. Une autre étude publiée par le même groupe de chercheurs mentionne que lorsque les signes cliniques de salmonellose étaient observés seulement chez les vaches

en lactation dans des troupeaux récemment infectés par *S. Dublin*, la HSe du ELISA-LPS était de 79% (Veling et coll., 2001).

3.5 Nécropsie

Le diagnostic de salmonellose à la nécropsie s'effectue sur la base de l'isolement de la bactérie dans les tissus plutôt que de l'identification de lésions macroscopiques, aucune n'étant pathognomonique. Dans les cas de septicémie, des pétéchies sont souvent observées sur les sous-muqueuses. Dans les cas d'avortement, le placenta contient souvent un grand nombre de bactéries intravasculaires. Les cas d'entérite aiguë se traduisent généralement par de l'inflammation au niveau du petit et du gros intestin alors que dans les cas plus chroniques on observera de petites zones de nécrose du cæcum et du colon. Les tissus à privilégier pour la confirmation du diagnostic en bactériologie sont le nœud lymphatique iléocæcal, l'iléum, le colon, la rate, les poumons, le foie et un écouvillon de bile (Smith, 2002).

3.6 Évaluation de la sensibilité et de la spécificité d'un test en l'absence d'un test étalon (*gold standard*)

Il est possible d'évaluer les performances d'un test diagnostique même en l'absence d'un test étalon (*gold standard*), c'est-à-dire un test ayant une sensibilité ($Se = Pr(T+|I+) = 100\%$) et une spécificité ($Sp = Pr(T-|I-) = 100\%$), où $Pr(T|I)$ est la probabilité d'un certain résultat du test étant donné un certain statut d'infection. Cela peut se faire en utilisant des modèles de classe latente, qui sont solutionnés en utilisant des procédures du maximum de vraisemblance ou d'inférence bayésienne, et permettent d'évaluer la sensibilité et la spécificité d'un test lorsque le statut réel d'infection des individus testés est inconnu.

La méthode de Hui-Walter est une analyse de classe latente dans laquelle 2 tests doivent être évalués dans 2 populations différentes (Hui et Walter, 1980). Les 3 postulats de ce modèle sont les suivantes : (i) les individus testés sont séparés en 2 groupes au sein desquels la prévalence réelle de l'infection diffère (ii) la sensibilité et la spécificité des 2 tests demeure la même au sein de ces 2 groupes (iii) les 2 tests sont conditionnellement indépendants étant donné le statut réel d'infection.

Cette méthode d'analyse a récemment été utilisée par plusieurs auteurs pour évaluer la performance de différents tests chez les bovins: ELISA et culture de fèces pour le diagnostic de la paratuberculose (van Schaik et coll., 2007), 3 tests sérologiques pour le diagnostic de la brucellose (Muma et coll., 2007), ELISA pour le diagnostic du virus de la leucose bovine (Monti et coll., 2005), ELISA indirect et culture bactériologique pour le diagnostic d'animaux porteurs de *S. Dublin* (Nielsen et coll., 2004b), ELISA pour le diagnostic de *Neospora caninum* (Frossling et coll., 2003) et même le *California Mastitis Test* (CMT) (Sanford et coll., 2006).

3.7 Utilité clinique d'un test diagnostique

Chaque fois qu'un clinicien examine un patient, que celui-ci déambule sur 2 ou 4 pattes, une première impression clinique est générée et le clinicien évalue alors la probabilité pré-test de la maladie chez son patient. Cette probabilité est généralement estimée en se basant sur l'expérience personnelle du clinicien, la prévalence de la maladie dans la population locale (si connue) ainsi que les publications scientifiques. Le but ultime de tous les tests diagnostiques est d'affiner cette probabilité pré-test afin d'aider à confirmer ou infirmer un diagnostic (et ainsi décider de traiter ou non le patient), ou alors décider de pousser plus loin l'investigation (Akobeng, 2007b; Smith, 1993). Chaque test diagnostique, qu'il soit un signe ou une présentation clinique, un examen de laboratoire, d'imagerie ou autre, résulte en un changement de probabilité de la maladie chez le patient, et devient la probabilité post-test de maladie. La mesure dans laquelle un test diagnostique augmente ou diminue la probabilité de maladie de pré-test à post-test représente l'utilité clinique du test (Akobeng, 2007a).

Selon le théorème de Bayes, la cote (*odds*) post-test de la maladie peut être obtenue en multipliant la cote pré-test de la maladie par le rapport de vraisemblance (*likelihood ratio* ou LR) du test diagnostique utilisé (Smith, 1995).

4 Épidémiologie de la salmonellose chez les bovins

L'épidémiologie de la salmonellose est assez complexe. Les patrons de prévalence de l'infection et de l'incidence de la maladie clinique diffèrent grandement selon la géographie,

le climat, la densité de la population, l'aménagement du territoire, les pratiques agricoles, les technologies utilisées pour la récolte et la transformation des aliments et les habitudes des consommateurs (Radostits et coll., 2007). Nous nous attarderons ici sur l'épidémiologie de la salmonellose chez les vaches laitières en Amérique du Nord.

4.1 Perspective historique

Le début de l'histoire de la salmonellose est un peu confuse car à ce moment-là, le genre *Salmonella* était insuffisamment caractérisé. Peu de sérotypes étaient clairement définis et ils étaient confondus avec des membres d'autres genres (Wray et Davies, 2000).

Une forme de diarrhée avec des signes cliniques compatibles avec la salmonellose a été décrite pour la première fois chez des veaux en Europe au milieu du XIX^e siècle. En 1865, Orbich a été le premier à penser que la maladie pouvait être causée par un agent infectieux mais ce n'est qu'en 1891 que Jensen a isolé une bactérie coliforme qu'il a nommé *Bacillus paracoli*. Quelques années plus tard, en 1897, Thomassen a isolé un organisme qu'il a nommé «pseudo-bacille de la typhoïde», indiquant une relation avec le bacille de la typhoïde isolé de fièvre typhoïde chez l'homme par Gaffkey en 1884 (Wray et Davies, 2000).

L'infection par une salmonelle chez des bovins adultes a été signalée pour la première fois par Mohler et Buckley, qui ont décrit l'apparition d'une écloison causée par un organisme similaire à *S. Enteritidis* aux États-Unis en 1902. Toutefois, certaines des premières identifications de *S. Enteritidis* étaient en fait erronées et sont maintenant reconnues comme *S. Dublin* (Wray et Davies, 2000).

4.2 Prévalence de l'excrétion fécale

Il y a dans la littérature plusieurs publications portant sur la prévalence fécale de *Salmonella* dans les troupeaux laitiers aux États-Unis, mais très peu au Canada. En 1996, 2002 et 2007, le *National Animal Health Monitoring System* (NAHMS) du département américain de l'Agriculture (*United States Department of Agriculture* ou USDA) a procédé aux études «*Dairy 1996*», «*Dairy 2002*» et «*Dairy 2007*». Au cours de ces études, des

milliers d'échantillons de fèces ont été recueillis dans des centaines exploitations laitières d'environ 20 états participants. Parmi ces échantillons, 13,7% étaient positifs pour *Salmonella* spp. en 2007, ce qui est sensiblement plus élevé que les 5,4% de 1996 et même que les 7,1% de 2002. Au niveau du troupeau, 39,7% des exploitations laitières des États-Unis avaient au moins une vache en lactation excréant *Salmonella* spp. en 2007, par rapport à 30,9% en 2002 et 27,5% en 1996 (USDA/APHIS, 1998; 2005; 2009b). Bien que certains changements mineurs dans la méthodologie de l'étude puissent expliquer une partie des différences, il semblerait néanmoins que la proportion des troupeaux laitiers positifs à *Salmonella* aux États-Unis soit en augmentation.

Les études de prévalence de l'excrétion fécale de *Salmonella* spp. effectuées en Amérique du Nord (presque exclusivement aux États-Unis) dans le 10 dernières années sont résumées dans le tableau III en page 33. De nombreux sérotypes différents ont été isolés lors de ces études mais une seule rapportait l'isolement de *S. Dublin*, et ce dans un petit pourcentage des échantillons seulement (Berge et coll., 2006). Ces études de prévalence ont rapporté qu'entre 30,9 et 100% des troupeaux échantillonnés seraient positifs pour *Salmonella*, et que la prévalence au sein des troupeaux semblait également être très variable. De plus, il pourrait exister des variations dans le temps de la prévalence au sein d'un même troupeau (Chapagain et coll., 2008; Edrington et coll., 2008; Nielsen et coll., 2004a; Warnick, 2003a). Au Québec, 1,4% de 514 patients bovins admis à l'Hôpital vétérinaire d'enseignement de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal excrétaient des salmonelles lors de leur admission (quelques-uns présentaient également des signes cliniques). Par ailleurs, aucun des 43 bovins en consultation externe n'était positif, ce qui indiquerait avec une confiance de 95% que la prévalence dans la population bovine québécoise serait d'au plus 6,73% (Ravary et coll., 1998).

4.3 Incidence de la maladie clinique

Le tableau IV en page 35 résume les principales éclosions de salmonellose clinique chez des bovins rapportées dans la littérature. La morbidité lors des différentes éclosions est variable (0 à 71%) mais se situe souvent autour de 20%. Parmi les animaux atteints, la mortalité est très variable, allant de 0 à 100%! Les sérotypes associés aux taux de mortalités

les plus élevées semblent être Dublin, Typhimurium DT104 et Muenster. Il peut d'ailleurs apparaître surprenant que le sérotype Dublin soit associé à de si hauts taux de mortalité, alors qu'on l'associe généralement à un état de porteur asymptomatique. Cependant, l'article s'y rapportant (McDonough et coll., 1999) décrit l'émergence de ce sérotype dans le nord-est des États-Unis. Les animaux y ayant été exposés étaient vraisemblablement naïfs face à cet agent pathogène, ce qui pourrait expliquer la virulence apparemment plus importante que ce qui est généralement rapporté.

Tableau III - Prévalence de l'excrétion fécale de *Salmonella* spp. dans les troupeaux laitiers d'Amérique du Nord.

Référence	Origine des échantillons		Type d'échantillon	Probabilité d'excrétion fécale		
	Pays	Type d'exploitation		Individuelle	Au sein du troupeau	Troupeau
Rodriguez et coll., 2006	États-Unis (TN, NC, AL, WA, CA)	Troupeaux laitiers	Environnemental Vaches ^a	19/144 (13,2%) 2/480 (0,4%)	N/A	N/A
Cobbold et coll., 2006	États-Unis (WA)	1 gros troupeau laitier	Enclos de maternité Enclos pré- et postpartum Environnemental	37/111 (33%) 8/212 (4%) 28/46 (61%)	N/A	N/A
Berge et coll., 2006	États-Unis (CA)	33 troupeaux laitiers et élevages de génisses de remplacement	Veaux-Troupeaux laitiers ^a Élevages de génisses ^a	215/2597 (8,3%) ^b 63/1089 (5,8%)	N/A	18/33 (55%)
Fossler et coll., 2005a; 2005b; 2005c	États-Unis (MI, MN, NY, WI)	129 troupeaux laitiers conventionnels et biologiques	Vaches Veaux Environnemental	1026/20 089(4,9%) 176/4673 (3,8%) 288/5056 (5,7%)	N/A	113/129 (87,6%) 40/129 (31,0%) N/A
Callaway et coll., 2005	États-Unis (AZ, CA, IL, NY)	16 troupeaux laitiers (4 par état)	Vaches en lactation	93/960 (9,96%)	1,7-36,7% ^c (Moyenne 17%)	9/16 (56%)
Blau et coll., 2005	États-Unis (21 états participant à l'étude Dairy 2002)	97 troupeaux laitiers	Vaches	269/3709 (7,3%)	2,5-97,4% (Moyenne 23,0%; Médiane 10,0%)	30/97 (30,9%)
Peek et coll., 2004	États-Unis (WI)	20 troupeaux laitiers	Environnemental	N/A	19-98%	9/20 (45%)
Erdington et coll., 2004b	États-Unis (NM, TX)	6 troupeaux laitiers	Vaches	393/1560 (25,2%)	N/A	N/A
Warnick et coll., 2003b	États-Unis (NY)	65 troupeaux laitiers	Vaches et veaux	270/2726 (9,9%)	0-60% ^d (Médiane 2,5%)	37/65 (56,9%)
Warnick et coll., 2003a	États-Unis (MI, MN, NY, WI)	12 troupeaux laitiers (3 par état)	Vaches Environnemental	377/4049 (9,3%) 105/811 (12,9%)	0,3-28,0% 1,8-50,0%	12/12 (100%) 11/12 (92%)
Sorensen et coll., 2003	Canada (Alberta)	50 troupeaux laitiers	Échantillons fécaux combinés	N/A	N/A	4/50 (8%)
Huston et coll., 2002	États-Unis (OH)	105 troupeaux laitier	Vaches	466/7776 (5,9%)	<1-97% (Moyenne 17,7%; Médiane 6,9%)	33/105 (31,4%)

Abbréviations: AL-Alabama; AZ-Arizona; CA-Californie; IL-Illinois; MI-Michigan; MN-Minnesota; N/A – Ne s'applique pas ou non disponible; NC-Caroline du Nord; NM-Nouveau Mexique; NY-New York; OH – Ohio; TN – Tennessee; TX-Texas; WA-Washington; USA-États-Unis d'Amérique; WI-Wisconsin

^a Écouillons rectaux. Tous les autres échantillons individuels sont des échantillons de fèces.

^b Chaque veau était échantillonné à 4 reprises.

^c Un seul échantillon par animal était permis. Pour tous les autres troupeaux, le même animal pouvait à l'occasion être échantillonné à plus d'une reprise.

^d Seulement les troupeaux avec au moins 1 culture positive pour *Salmonella* sérotype B dans les 2 années précédant l'étude ont été enrôlés.

Tableau IV– Éclosions de salmonellose clinique.

Référence	Origine des échantillons		Morbidité	Mortalité	Manifestations cliniques	Sérotype	Source probable
	Pays	Type de production					
Yeruham et coll., 2005	Israël	Veaux laitiers provenant d'un troupeau de 230 vaches laitières	44%	N/A	Diarrhée	9,12:l,v:-	Indéterminée
Carlson et coll., 2002	États-Unis (OH, PA, IN, WI)	Veaux lourds	30-40%	~100%	Diarrhée Fièvre Douleur abdominale	Typhimurium DT104	N/A
McDonough et coll., 1999	États-Unis (NY, PA)	Veaux lourds Vaches laitières Boucherie de race laitière	16% (1-30%) ≤1% 18% (2-80%)	47% (5-100%) 50% (0 et 100%) 29% (2-100%)	Pneumonie Diarrhée Septicémie	Dublin	N/A
Higgins et coll., 1997	Canada (QC)	Vaches, chèvre, autruche	N/A	N/A	Diarrhée Fièvre Avortement	Give	Supplément alimentaire
Anderson et coll., 1997	États-Unis (CA)	8 troupeaux de vaches laitières	7% (0-41%)	12% (0-40%)	Diarrhée Avortement	Menhaden	Gras animal dans alimentation
Gay et Hunsaker, 1993	États-Unis (CA)	1 troupeau de vaches laitières (780 animaux)	20%	4,5%	Diarrhée Fièvre	Montevideo	N/A
Minga et coll., 1985	Danemark	4 troupeaux de veaux et vaches	25-71%	0-7%	Diarrhée Fièvre	Typhimurium	Alimentation dans 1 des troupeaux
Styliadis et Barnum, 1984	Canada (Guelph, ON)	200 troupeaux de veaux et vaches laitières	N/A	2 à 80%	Diarrhée Fièvre Avortement Pneumonie	Muenster	Indéterminée
Clegg et coll., 1983	Royaume-Uni	2 troupeaux de veaux et vaches laitières	18% et 48%	0,4% et 8%	Dysentérie Fièvre Avortement	Newport	Indéterminée

Abbreviations: CA-Californie; IN-Indiana; NY-New York; OH-Ohio; ON-Ontario; N/A - Non disponible; PA-Pennsylvanie; QC-Québec; WI-Wisconsin.

4.4 Voies d'infection

L'infection naturelle se fait généralement par voie orale. Plusieurs études expérimentales ont démontré que des doses de 10^6 à 10^{11} pour *S. Dublin* et 10^4 à 10^{11} pour *S. Typhimurium* étaient nécessaires pour causer une infection chez des animaux en santé. Il est cependant fort probable que la dose requise pour une infection naturelle soit plus faible, alors que les maladies concomitantes ou le stress ont très souvent un rôle à jouer (Wray et Sojka, 1977).

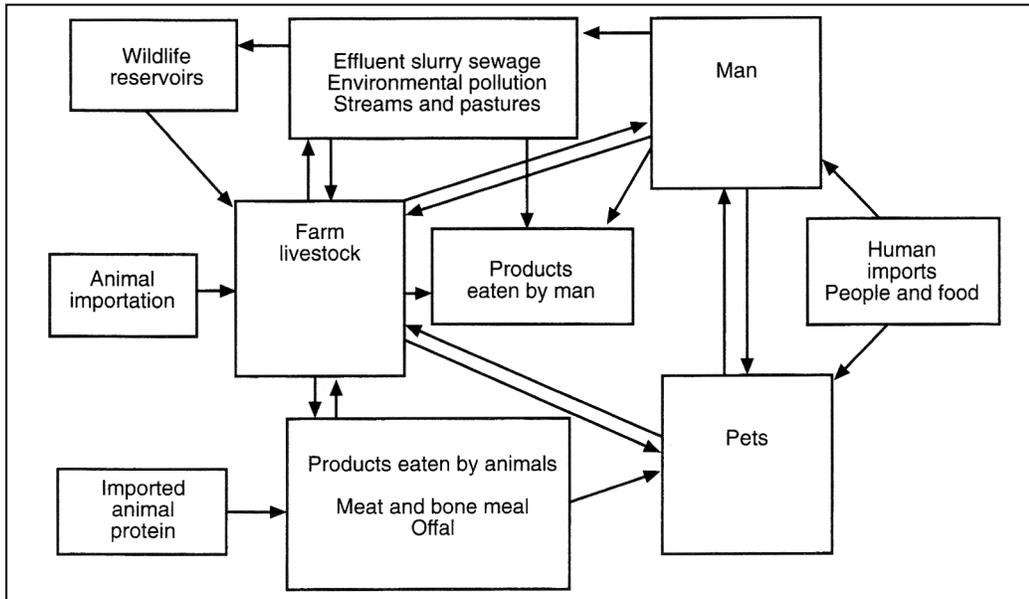
L'infection par aérosol a également été démontrée expérimentalement chez les veaux (Wathes et coll., 1988). Suite à l'infection, la plupart des animaux démontraient des signes respiratoires (fièvre, toux, écoulement nasal, tachypnée et larmimation) plutôt qu'entériques. De plus, les écouvillons rectaux étaient presque tous négatifs alors qu'une certaine proportion de ceux pris sur la muqueuse buccale ou nasale étaient positifs. Pour ce qui est de l'infection naturelle par cette voie, un article mentionne la transmission de la salmonellose entre veaux logés individuellement, sans possibilité de contact physique entre eux et les auteurs évoquent la possibilité d'une transmission par aérosol (Hardman et coll., 1991). Il pourrait cependant ne s'agir que de transmission suite à une contamination environnementale (voir section 4.5.2 ci-dessous).

Les vaches porteuses latentes ou actives peuvent donner naissance à des veaux infectés congénitalement. Ces derniers peuvent mourir suite à une septicémie tôt après la naissance, ou encore ne pas démontrer de signes cliniques mais servir de source d'infection pour les autres veaux du troupeau (Richardson, 1973).

4.5 Sources d'infection

Il existe de nombreuses sources d'infection pour les salmonelles et les différentes sources sont souvent inter-reliées (Figure 1, page 38). Les principales sources d'infection dans les troupeaux sont les animaux infectés, l'environnement et les aliments.

Figure 1 - Interactions entre l'agent, l'hôte et l'environnement dans la salmonelle.



Tiré de Wray, 2000.

4.5.1 Animaux infectés

L'introduction de *Salmonella* spp. dans un troupeau se fait souvent par l'achat d'animaux infectés (Smith, 2002; Wray et Davies, 2000), ce qui n'est pas surprenant vu la prévalence élevée de salmonellose dans plusieurs troupeaux (Tableau III en page 33) et l'existence d'animaux porteurs ne démontrant pas de signes cliniques. Une étude récente a d'ailleurs calculé qu'un animal pouvait demeurer infectieux pour une période d'environ 7 mois (Chapagain et coll., 2008) alors qu'une autre étude suggère qu'une vache aurait pu être à la source de la contamination et de la persistance de *S. Typhimurium* dans son troupeau en excréant l'organisme dans son lait pendant une période de 2 ½ ans (Giles et coll., 1989). De plus, il a été démontré qu'un animal qui n'était pas infecté à l'origine peut être contaminé durant le transport s'il est en contact avec un animal porteur latent dont l'infection est réactivée par le stress du transport (Gronstol et coll., 1974).

4.5.2 Environnement

Les salmonelles peuvent persister pendant plusieurs mois, voire des années, à l'intérieur des bâtiments, même lorsque ceux-ci sont vides d'animaux, après nettoyage et désinfection

(McLaren et Wray, 1991; Wray et coll., 1987). Une étude a rapporté la persistance de salmonelles dans l'environnement de fermes d'élevage de veaux pour des périodes de 4 mois à 2 ans (moyenne 14 mois) (McLaren et Wray, 1991). Une autre étude a révélé la présence de plusieurs échantillons environnementaux contaminés (lagune, eau recyclée), 2 ans après une éclosion de salmonellose sur une ferme laitière utilisant un système de recyclage d'eau pour le nettoyage des allées (Gay et Hunsaker, 1993). Lorsqu'une ferme est positive à *Salmonella*, on retrouve généralement une certaine proportion d'échantillons positifs provenant de nombreux endroits sur la ferme : litière (14,6% à 88,2%), ration totale mélangée (3% à 100%), eau (2% à 75%), enclos hôpital (26,3% à 35%), allées, enclos de vêlage et autres (Cobbold et coll., 2006; Edrington et coll., 2008; Peek et coll., 2004; Rodriguez et coll., 2006; Warnick et coll., 2003a; Warnick et coll., 2001).

Les fermes laitières produisent des quantités importantes de déjections animales, qui sont généralement entreposées, sous forme solide ou liquide, avant d'être épandues comme fertilisant sur les terres agricoles. Plusieurs études récentes ont démontré la présence de salmonelles dans le lisier de fermes bovines (surtout laitières) : dans 72,7% de 12 échantillons à la suite d'une éclosion de *S. Newport* dans 2 troupeaux (Cobbold et coll., 2006), 15,6% de 90 échantillons provenant de 12 troupeaux (Warnick et coll., 2003a) et 21% de 19 échantillons provenant de 46 fermes bovines ou laitières (Warnick et coll., 2001). Une étude mentionne la possibilité que du lisier contaminé ait été à la source de la transmission de l'infection à *S. Typhimurium* DT104 entre 3 fermes se partageant de l'équipement pour le transport ou l'entreposage de lisier (Langvad et coll., 2006).

Des salmonelles ont été détectées dans l'environnement de 10 sur 12 commerçants de veaux échantillonnés en Angleterre (Wray et coll., 1990). Qui plus est, les procédures de nettoyage et de désinfection chez ces commerçants sont souvent inefficaces : des salmonelles ont été isolées de 7,6% et 5,3% des échantillons des murs et planchers avant désinfection et de 6,8% et 7,6% après. La présence de salmonelles dans les bâtiments de commerçants de veaux est très importante épidémiologiquement puisque de grands nombres de veaux y transitent avant d'être relocalisés dans de nombreux troupeaux différents, ce qui pourrait contribuer à une dissémination à grande échelle de l'infection. De

plus, des salmonelles ont été isolées dans 7 de 14 marchés d'animaux échantillonnés après des ventes de veaux, ainsi que dans 22 de 107 camions utilisés pour le transport des veaux (Wray et coll., 1991). Quatre des 62 véhicules examinés après nettoyage étaient encore positifs.

La contamination des eaux de surface et souterraines par des salmonelles a été démontrée (Jokinen et coll., 2010; Patchanee et coll., 2010) et pourrait occasionnellement être source d'infection pour des bovins, en particulier lorsque ceux-ci ont directement accès à un cours d'eau contaminé (Wray et Davies, 2000).

4.5.3 Aliments

On sait depuis assez longtemps que les aliments du bétail peuvent être contaminés par *Salmonella* spp. et être à la source d'une éclosion de salmonellose clinique ou encore de l'introduction de l'infection dans un troupeau (Avery et Niilo, 1963; Van Dreumel et coll., 1969; Williams, 1975). Plus récemment, un article paru aux États-Unis faisait état de 9,8% à 56% d'échantillons d'aliments pour bétail commerciaux contaminés par *Salmonella* spp. (Sapkota et coll., 2007). L'agent pathogène peut contaminer les aliments du bétail à plusieurs étapes de la chaîne de production (production des ingrédients de base, traitement et mélange à la meunerie, entreposage) mais la principale source de contamination est souvent les ingrédients de base eux-mêmes (Davis et coll., 2003). Le potentiel de contamination ne s'arrête pas là cependant, puisque les aliments peuvent aussi être contaminés par *Salmonella* spp. lors de la distribution, entre autres si l'aliment est en contact avec des insectes, animaux sauvages ou oiseaux porteurs de la bactérie (Maciorowski et coll., 2006).

Au Canada, il est de la responsabilité de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) de vérifier que les aliments du bétail fabriqués et vendus au Canada ou importés, sont salubres, efficaces et bien étiquetés. L'ACIA effectue donc entre autres une surveillance de la présence de salmonelles dans les aliments du bétail. De plus, *Salmonella* spp. peut survivre sur des pâturages pendant plusieurs semaines à quelques mois (Hutchison et coll., 2005; Sinton et coll., 2007). Finalement, on peut également retrouver

des salmonelles dans l'ensilage récolté d'un champ contaminé par des oiseaux sauvages (Glickman et coll., 1981), ou encore dans des fourrages, grains de coton ou ensilage vert provenant de champs contaminés lors de l'irrigation avec de l'eau non traitée provenant de fermes laitières ou contaminée par des déchets humains (Anderson et coll., 2001).

Bien que certaines études aient rapporté des évidences de l'introduction de *Salmonella* spp. chez les bovins via les aliments (Lindqvist et al, 1999; Davis et al, 2003), plusieurs autres études n'ont pas réussi à démontrer que les aliments étaient une source potentielle d'infection (Richardson, 1975; Williams, 1975; Wray et Sojka, 1977). Une étude récente sur l'introduction de salmonelles multirésistantes aux antimicrobiens dans des troupeaux laitiers, a conclu que la rareté et les faibles concentrations de salmonelles multirésistantes retrouvées dans les aliments indiquerait qu'il est improbable que l'introduction d'infections à *Salmonella* par les aliments soit fréquente dans les troupeaux laitiers (Adhikari et coll., 2009).

Les génisses laitières de remplacement peuvent être nourries avec du lait de remplacement en poudre, du lait impropre à la consommation humaine (colostrum excédentaire, lait mammiteux ou contenant des résidus d'antibiotiques) ou, plus rarement, du lait du réservoir. Alors que plusieurs études ont rapporté la présence de salmonelles dans du lait de réservoir (McEwen et coll., 1988a; Steele et coll., 1997), des filtres à lait (Cobbold et coll., 2006; McEwen et coll., 1988b; Radke et coll., 2002; Warnick et coll., 2003a) ou du lait de vaches individuelles (Radke et coll., 2002; Smith et coll., 1989; Spier et coll., 1991), une autre étude a rapporté l'absence de *Salmonella* spp. dans le lait donné aux veaux (Selim et Cullor, 1997). Plusieurs cas de salmonellose ont été rapportés chez des humains consommant du lait non pasteurisé (CDC, 2003; Mazurek et coll., 2004; Richwald et coll., 1988) mais curieusement, une seule étude mentionne la possibilité d'infection par cette voie chez les veaux. Dans cette étude, *S. Montevideo* a été isolé de 2 veaux et du réservoir sur une même ferme laitière de l'Ohio (Lance et coll., 1992). Pour ce qui est du colostrum, une étude québécoise publiée en 2002 a rapporté la présence d'au moins un type de bactérie dans 94,4% des 234 échantillons de colostrum analysés, mais pas de *Salmonella* spp (Fecteau et coll., 2002). Une étude californienne n'a pas non plus été capable de démontrer

la présence de salmonelles dans des échantillons de lait, colostrum ou lait de remplacement destiné aux veaux sur 12 fermes laitières (Selim et Cullor, 1997). Plusieurs éclosions de salmonellose causées par la consommation de préparations lactées commerciales fabriquées à base de poudre de lait de vache ont été rapportées chez des enfants à travers le monde (Brouard et coll., 2007; Park et coll., 2004; Threlfall et coll., 1998; Usera et coll., 1998). Pourtant, rien de tel n'a été rapporté chez les veaux, alors que plusieurs des ingrédients sont les mêmes.

4.5.4 Animaux sauvages

Plusieurs animaux, sauvages ou moins sauvages, comme rats, souris, oiseaux et chats peuvent être infectés par *Salmonella* spp. (Kirk et coll., 2002; Warnick et coll., 2001) et éventuellement contaminer la nourriture ou la litière. Cependant, les quelques études portant sur leur rôle réel comme source d'infection ont donné des résultats mitigés. Pour certains auteurs, les animaux sauvages ne joueraient pas un rôle majeur dans la propagation de la bactérie (Gibson, 1965) et ils seraient plutôt un reflet de la contamination des aires d'entreposage des aliments du bétail (Murray, 2000; Williams, 1975). Pour d'autres, il semble que les rongeurs auraient un rôle à jouer dans la persistance de l'infection au sein du troupeau (Tablante et Lane, 1989) ou comme source de contamination des aliments du bétail (Evans et Davies, 1996; Glickman et coll., 1981).

4.6 Facteurs de risque

De nombreux auteurs ont étudié les facteurs de risque de l'excrétion fécale des salmonelles, au niveau de l'animal comme au niveau du troupeau. Certaines études se sont attardées au risque de détection de salmonelles chez un animal ou un troupeau apparemment sain (prévalence) alors que d'autres s'intéressent plutôt aux facteurs de risque des nouvelles infections pour un animal ou un troupeau (incidence). Finalement, quelques auteurs ont plutôt choisi de s'attarder aux facteurs de risque de la salmonellose clinique.

4.6.1 Facteurs de risques liés à l'animal

Fossler et collaborateurs (2005c) ont effectué une étude longitudinale afin d'étudier l'association entre certains facteurs de risque liés à l'animal ou au troupeau, et la détection

de *Salmonella* spp. (le sérotypage n'a pas été effectué) chez des animaux ne démontrant pas de signes cliniques de salmonellose, ou alors dans l'environnement de 129 troupeaux laitiers conventionnels et biologiques, répartis dans 4 états américains. Les catégories d'animaux chez qui des salmonelles avaient la plus grande probabilité d'être détectées (par comparaison aux veaux non sevrés) étaient les vaches malades (rapport de cotes ou *odds ratio* (OR)=2,5; intervalle de confiance à 95% (IC95%)=1,7-3,7), celles dans les 14 jours autour du vêlage (OR=1,8; IC95%=1,1-2,8), ou devant être réformées dans les 14 jours (OR=1,9; IC95%=1,7-3,7). La probabilité de détecter des salmonelles était plus élevée chez les vaches n'ayant pas reçu des antibiotiques dans les 14 jours précédant l'échantillonnage que chez les vaches traitées (OR=2,0; IC95%=1,1-3,4).

Dans une étude de 65 troupeaux laitiers de l'état de New York ayant récemment eu un cas confirmé de salmonellose, Warnick et collaborateurs (2003b) ont identifié plusieurs facteurs associés à la détection de salmonelles du sérotype B au niveau de l'animal. D'abord, la probabilité de détecter des salmonelles diminuait substantiellement pour des intervalles plus longs entre le cas initial et l'échantillonnage (intervalle en mois OR=0,5; IC95%=0,3-0,6). À l'opposé, la présence de diarrhée augmentait la probabilité de détecter des salmonelles (OR=2,1; IC95%=1,4-3,0). La probabilité de détecter des salmonelles chez les animaux ayant reçu un traitement récent avec des antibiotiques était plus élevée chez les taures et les vaches (taures OR=11,8; IC95%=2,9-48,8 ; vaches OR=4,1; IC95%=2,0-8,4) mais pas chez les veaux non sevrés. Par ailleurs, lorsque les animaux n'avaient pas reçu de traitement antibiotique, la probabilité de détecter des salmonelles était plus élevée chez les veaux non sevrés que chez les vaches adultes (OR=3,5; IC95%=1,8-6,9).

Une seule étude a été publiée sur les facteurs de risque pour qu'une vache devienne porteur asymptomatique de *S. Dublin* (Nielsen et coll., 2004a). Cette étude rétrospective comparait les animaux devenus porteurs (cas) à ceux n'ayant été infectés que de façon transitoire (contrôles). La combinaison âge et stade de lactation (les différents groupes étaient veaux, taures, près du premier vêlage, après le 1^{er} vêlage, près du vêlage >1 et après vêlage >1) était un des facteurs de risque identifiés. Ainsi les taures, de même que les vaches peu avant

ou peu après leur 1er vêlage étaient plus à risque de devenir porteuses suite à une infection, comparées aux vaches en milieu ou fin de lactation.

4.6.2 Facteurs de risque liés au troupeau

En Angleterre, une étude de Davison et collaborateurs (2006) a permis d'identifier 5 facteurs associés au risque qu'un troupeau laitier soit positif pour *Salmonella* spp.: la région ($P=0,006$), le nombre de vaches dans le troupeau ($P<0,001$; probabilité de détection plus élevée pour les troupeaux de plus de 100 vaches), le mois de la visite ($P<0,001$; tendance pour une probabilité de détection plus élevée en août et novembre), l'introduction de nouveaux animaux dans le troupeau ($P=0,029$; tendance pour une probabilité de détection plus élevée lorsque seulement des animaux >24 mois étaient introduits et pour une probabilité de détection plus faible lorsque des animaux de 6-24 mois étaient également introduits) et finalement l'absence d'une aire de stationnement propre pour les visiteurs (OR=2,86; IC95%=1,18-6,92). Les 3 sérovars les plus fréquemment isolés de cette étude étaient Dublin, Agama et Typhimurium.

Dans le cadre de la même étude, Davison et collaborateurs (2006) se sont également attardés aux données d'incidence et ont identifié 5 facteurs associés au risque d'un troupeau négatif de devenir positif pour *Salmonella* spp.: le mois de la visite ($P<0,001$), l'absence d'une aire de stationnement propre aux visiteurs (OR=3,49; IC95%=1,37-8,92), la présence d'au moins 1 employé à temps partiel (OR=1,80; IC95%=1,07-3,02), la présence de veaux de moins de 6 mois recevant du lait de remplacement (OR=3,56; IC95%=1,34-9,47). Aussi, les troupeaux ne louant pas de pâturages ou n'utilisant pas de pâturages communautaires étaient plus à risque que ceux qui le faisaient (OR=1,71; IC95%=0,98-2,97).

Dans le cadre du programme danois de surveillance de la salmonellose bovine, Nielsen et collaborateurs (2007) ont également identifié quelques facteurs associés au risque d'un troupeau négatif de devenir positif pour *Salmonella* spp. (sérotype Dublin ou autres sérotypes pouvant provoquer une réaction croisée avec l'antigène utilisé dans le test ELISA du programme de surveillance, donc surtout *S. Typhimurium*). Ainsi, plus le nombre de troupeaux voisins positifs était élevé, plus le troupeau était susceptible de devenir positif

($P=0,006$). Le risque de devenir positif était également plus grand si le troupeau achetait des animaux de troupeaux positifs plutôt que de troupeaux négatifs, ou alors n'achetait tout simplement pas d'animaux ($P<0,0001$). Les troupeaux de plus grande taille étaient également plus à risque de devenir positif (dizaines d'animaux OR=1,024; IC95%=1,02-1,03).

Dans l'étude de Warnick et collaborateurs dont il était question dans la section précédente, le seul facteur lié au troupeau et qui était associé à la détection de salmonelles du séro groupe B était la taille du troupeau (centaines de bovins OR=1,09; IC95%=1,05-1,14) (Warnick et coll., 2003b).

Dans le cadre de l'étude mentionnée à la section précédente, Fossler et collaborateurs (2005a) ont également étudié l'association entre des facteurs de risque liés au troupeau et la probabilité de détection de salmonelles chez les vaches adultes saines. Les facteurs de risque identifiés étaient les suivants : stabulation libre (OR=1,9; IC95%=1,1-3,3), ne pas entreposer tous les concentrés et suppléments dans un bâtiment fermé (OR=2,5; IC95%=1,3-4,9), ne pas utiliser de monensin dans l'alimentation des veaux ou taures (OR=3,2; IC95%=2,0-5,4), vaches en lactation ou tarées ayant accès à de l'eau de surface (OR=2,3; IC95%=1,3-3,9), épandage de fumier sous forme liquide (OR=1,8; IC95%=1,3-3,9) et consommation de fourrage provenant d'un champ où du fumier avait été épandu mais non labouré au cours de la même saison (OR=1,8; IC95%=1,0-3,0). La détection de salmonelles était également plus probable sur les fermes de plus grande taille (>100 vaches) que sur les fermes plus petites (OR=2,6; IC95%=1,4-4,6). Finalement, un effet saisonnier a été noté, puisque la détection de salmonelles était plus probable dans les mois d'été (OR=2,4; IC95%=1,5-3,7), d'automne (OR=1,9; IC95%=1,2-3,1) ou de printemps (OR=1,8; IC95%=1,2-2,6) que d'hiver.

Plusieurs auteurs ont d'ailleurs décrit que l'excrétion de salmonelles était plus fréquente durant les mois d'été ou d'automne (Blau et coll., 2005; Cummings et coll., 2009a; Evans et Davies, 1996; Kabagambe et coll., 2000; Pangloli et coll., 2008; Wells et coll., 2001) alors que d'autres n'ont pas pu établir une telle association (Huston et coll., 2002). Deux facteurs principaux pourraient expliquer une excrétion de salmonelles plus importante

durant les mois les plus chauds. Le premier est simplement relié à une meilleure survie et même à une prolifération de la bactérie dans des conditions de température et d'humidité plus élevées (Rings, 1985), augmentant ainsi graduellement la contamination de l'environnement (et par conséquent le risque de nouvelles infections) au cours de l'été et de l'automne. De plus, la saison chaude favorise également la prolifération d'insectes pouvant contribuer à la contamination des aliments par des salmonelles. Le second est que le stress lié à la chaleur pourrait rendre les vaches laitières plus susceptibles à une nouvelle infection par *Salmonella* spp. ou encore pourrait favoriser l'excrétion chez les porteurs asymptomatiques. En effet, plusieurs des réponses physiologiques au stress relié à la chaleur peuvent favoriser la persistance ou la multiplication des salmonelles chez l'animal: diminution de la consommation alimentaire, diminution de la rumination et de la motilité intestinale, acidose ruminale et diminution de la production d'AGV dans le rumen (Collier et coll., 1982).

Quelques études ont examiné plus spécifiquement l'effet du stress dû à la chaleur sur l'excrétion fécale de salmonelles. En effet, la zone de confort des vaches laitières serait de -5 à 20°C (Johnson, 1987) et les effets néfastes de la chaleur se feraient sentir lorsque la température ambiante dépasse 25-26°C (Berman et coll., 1985). D'abord, Fitzgerald et collaborateurs (2003) n'ont pas observé d'effet du stress relié à la chaleur sur la détection de salmonelles dans des échantillons recueillis le matin (7h00) et le soir (17h00) chez les mêmes vaches laitières. Cela n'est pas surprenant lorsqu'on se rend compte que l'index de température-humidité était pratiquement le même pour les matins (moyenne de 72°F) et soirs (moyenne de 76°F) durant la période de l'étude. Ensuite, une première étude par Edrington et collaborateurs (2004c) n'a pas pu démontrer que la chaleur avait un effet sur la probabilité de détection de salmonelles, puisque pratiquement tous les échantillons analysés, qu'ils aient été collectés le matin ou l'après-midi, contenaient des salmonelles. Une étude plus récente par les mêmes auteurs, et effectuée dans une grosse ferme laitière du sud-ouest des États-Unis fait état d'une prévalence d'excrétion fécale très variable, allant d'un maximum de 96% en août à un minimum de 19% en octobre (Edrington et coll., 2008). Selon les auteurs de l'étude, le stress chronique causé par la chaleur serait responsable des éclosions de salmonellose dans ce troupeau. Cependant, leur étude s'étend

sur 9 mois plutôt qu'une année complète (les mois de novembre, décembre et janvier sont manquants). De plus, les résultats ne sont présentés que sous forme graphique, rendant leur analyse plutôt approximative. Cependant, on peut remarquer assez rapidement que les résultats mensuels de prévalence sont extrêmement variables et parfois contraires à ce à quoi on s'attendrait. Par exemple, la prévalence en juillet, un mois typiquement très chaud, est d'environ 30% alors qu'en février (un mois beaucoup plus frisquet) elle est d'environ 83%. Finalement, une troisième étude effectuée au Tennessee rapporte une proportion d'échantillons positifs (animaux et environnement) généralement plus élevée lorsque la température était plus élevée (été > printemps ou automne > hiver) (Pangloli et coll., 2008).

4.6.3 Salmonellose clinique

Une étude cas-témoin appariée effectuée dans 94 fermes laitières des Pays-Bas a tenté d'identifier à l'aide d'un questionnaire les facteurs de risque pour des éclosions de salmonellose clinique causées par *S. Typhimurium* (Veling et coll., 2002b). Trois facteurs de protection (la présence de chats sur la ferme, l'utilisation de colostrum individuel provenant de la mère pour chaque veau et le pâturage sans restriction pour les vaches en lactation) et 2 facteurs de risque (l'achat de fumier et les vêlages à l'année) ont été identifiés. Cependant, la validité de ces résultats est discutable vu le grand nombre de variables étudiées (n=40) par rapport au nombre de paires de cas-témoins (n=47).

Les résultats d'une autre étude de type cas-témoin appariée effectuée dans 23 paires de fermes bovines de la Virginie ont été publiés (Warnick et coll., 2001). Différents facteurs ont été évalués pour leur association avec la détection de salmonelles (85% des isolats étaient *S. Typhimurium*, 1 seul isolat de *S. Dublin*) chez des animaux présentant des signes cliniques de salmonellose. Les facteurs de risque identifiés étaient les suivants : nombre de vaches adultes dans le troupeau (OR=1,71; IC95%=0,98-2,97), épandage de fumier de volaille aux abords de la ferme (OR=4,00; IC95%=1,00-26,50), signes de la présence de rongeurs dans les lieux d'hébergement des animaux ou d'entreposage des aliments (OR=2,75; IC95%=0,94-9,92) et le contact d'ois sauvages avec les bovins ou leurs aliments (OR=4,5; IC95%=1,16-29,51). Quant aux facteurs de protection, il s'agissait de : changement dans le nombre de vaches adultes dans le troupeau (OR=0,68; IC95%=0,11-

0,96) et naissance des veaux dans un bâtiment plutôt qu'à l'extérieur (OR=0,17; IC95%=0,01-0,98).

4.6.4 Détection de salmonelles dans l'environnement

Toujours dans le cadre de l'étude mentionnée plus haut, Fossler et collaborateurs (2005c) ont déterminé que les échantillons environnementaux où la probabilité de détecter des salmonelles était la plus élevée (comparé au lait du réservoir) étaient : les enclos de vaches malades (OR=7,4; IC95%=3,4-15,8), les lieux d'entreposage de fumier (OR=6,4; IC95%=3,5-11,7), les enclos de maternité (OR=4,2; IC95%=2,2-8,1), le poil des vaches à réformer (OR=3,9; IC95%=2,2-7,7), les enclos de veaux (OR=2,7; IC95%=1,3-5,3) et finalement les fientes d'oiseaux trouvées dans les lieux où se trouvaient des vaches (OR=2,4; IC95%=1,3-4,4).

Chapitre 2

Méthodologie

1 Type d'étude

Ce projet faisait partie d'une plus grande étude dont l'objectif principal était de déterminer l'incidence de salmonellose clinique dans les troupeaux laitiers du nord-est des États-Unis. Pour ce faire, une étude épidémiologique prospective de type cohorte a été effectuée sur une période de presque deux ans (février 2004 à janvier 2006).

L'objectif principal était de décrire la présentation clinique observée chez des bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique, de déterminer quels signes cliniques sont associés à la détection de salmonelles dans les fèces de bovins laitiers présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose et de décrire la distribution des sérotypes de *Salmonella* spp. isolés chez des bovins laitiers souffrant de salmonellose. Dans un deuxième temps, l'estimation de la sensibilité et la spécificité du diagnostic clinique et de la culture bactériologique pour le diagnostic de la salmonellose clinique était visée. Finalement, nous voulions évaluer l'association entre certains facteurs (saison, âge ou parité, stade de lactation, utilisation d'antibiotiques et taille du troupeau) et la probabilité de détection de salmonelles dans les fèces de bovins laitiers présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose

2 Échantillonnage

2.1 Sélection des animaux échantillonnés

Un échantillon d'accommodement de cliniques vétérinaires mixtes ou de grands animaux et comptant parmi leur clientèle régulière un nombre significatif de troupeaux laitiers dans les

états de New York, Pennsylvanie, Connecticut, Massachusetts et Vermont ont été enrôlées. Les cliniques ont été identifiées par des contacts personnels ainsi que d'une annonce lors d'une session de formation continue (*Northeast Dairy Production Medicine Symposium*). Lors de leur enrôlement, une courte présentation était donnée aux médecins vétérinaires afin de leur expliquer le protocole de l'étude et d'uniformiser l'information qu'ils devaient par la suite transmettre à leurs clients participants. Les médecins vétérinaires de ces cliniques devaient enrôler le plus grand nombre possible de troupeaux laitiers de plus de 30 vaches en lactation suivis sur une base régulière. Lors de la visite initiale sur les fermes participantes, les propriétaires devaient remplir un questionnaire d'une page (Annexe 1) contenant entre autre des informations sur le nombre de vaches dans le troupeau, le type de logement ainsi que les protocoles de vaccination.

Lors de l'enrôlement dans l'étude, les médecins vétérinaires devaient éduquer leurs clients sur les signes cliniques de salmonellose, afin que ceux-ci téléphonent dès qu'ils soupçonneraient un cas de salmonellose clinique chez un animal. Un bovin laitier de n'importe quel âge était soupçonné de salmonellose clinique lorsqu'il présentait un ou plusieurs des signes cliniques compatibles avec la maladie: abattement ou dépression, diminution d'appétit, fièvre (température rectale au-dessus de 39,4°C), diarrhée avec mucus ou sang, ou ayant une odeur nauséabonde. Les clients devaient également considérer la possibilité de salmonellose lorsqu'un animal était trouvé mort après une brève période d'inappétence en l'absence de signes cliniques spécifiques à une autre maladie, ou lorsqu'un taux de mortalité anormalement élevé survenait chez des animaux diarrhéiques. Le médecin vétérinaire devait alors aller examiner l'animal et prélever un échantillon de fèces de cet animal. Après qu'un diagnostic initial de salmonellose eût été posé dans un troupeau par culture bactériologique, les propriétaires ou gérants du troupeau pouvaient par la suite soumettre au laboratoire des échantillons provenant de cas suspects, sous la supervision du médecin vétérinaire. Pour chaque animal échantillonné un formulaire de soumission (Annexe 2) devait être rempli afin d'obtenir les informations suivantes : identification du médecin vétérinaire, du troupeau et de l'animal; race; sexe; âge, date de naissance ou rang de lactation; date de vêlage ou nombre de jours en lait (JEL); présence ou absence de chacun des 5 signes cliniques suivants : (1) diarrhée, (2) fièvre, (3) sang ou

mucus dans les fèces, (4) décubitus, (5) déshydratation; liste des antibiotiques reçus dans les 7 jours précédant la collecte de l'échantillon. Si l'animal suspect était un veau non sevré, un échantillon supplémentaire sans conservatif pouvait être prélevé afin d'être soumis pour parasitologie et virologie. L'échantillon soumis pour la culture de salmonelles pouvait également être utilisé pour une culture d'*Escherichia coli*. Quant aux taures, un échantillon supplémentaire pouvait être prélevé afin d'être soumis pour parasitologie seulement. Si un animal était échantillonné à plus d'une reprise, seul le résultat du premier échantillonnage était considéré.

2.2 Collecte des échantillons

Les échantillons étaient pour la plupart recueillis directement du rectum de l'animal, en utilisant un gant neuf pour chaque échantillon. Pour la bactériologie, 5g de fèces devaient être placés dans des contenants de 30 mL contenant 15 mL de médium de transport Cary-Blair (Para Pak C&S; Meridian Diagnostics, Cincinnati, OH). Un écouvillonnage rectal pouvait être utilisé à l'occasion chez les jeunes veaux et l'écouvillon était alors placé dans un milieu de transport (BBL Culture swab with Amies medium; Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ). Pour la virologie et/ou la parasitologie, un autre 10g de fèces devait être recueilli directement du rectum de l'animal et placé dans un contenant à goulot large, sans conservatif. Les échantillons devaient être soumis sur glace et dans les 24 heures suivant leur collecte au laboratoire de diagnostic de l'université Cornell, accompagnés du formulaire de soumission.

3 Analyse des échantillons

3.1 Bactériologie

3.1.1 *Salmonella* spp.

Des méthodes standard de culture ont été utilisées pour l'isolement de *Salmonella* spp. Un écouvillon de l'échantillon était prélevé puis placé dans 10 mL d'un bouillon d'enrichissement de tétrathionate (TTB; Difco, Detroit, MI) contenant 0,2 mL d'iode. Par la suite, ce bouillon était incubé à 42°C pour 18-24 heures. Après incubation, la solution était

ensemencée sur deux géloses : vert brillant novobiocine (*Brilliant Green Novobiocin* ou BGN) (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ) et xylose-lysine-tergitol-4 (XLT-4) (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ) et incubée à 37°C pour 18-24 heures. Après incubation, les géloses étaient examinées pour la présence de colonies productrices de H₂S (noires) sur la gélose XLT-4 et de colonies fermentant le lactose (rouges) sur la gélose BGN. Si ces deux types de colonies étaient observés sur les deux géloses, elles étaient alors ensemencées sur une gélose en pente au fer de Kligler (*Kligler's iron agar* ou KIA) (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ). Si aucune colonie n'apparaissait, les géloses BGN et XLT-4 étaient ré-incubées pour un autre 18-24 heures. Quant aux géloses KIA, elles étaient incubées à 37°C pour 18-24 heures. Si des caractéristiques typiques de *Salmonella* spp. (culot acide, pente alcaline, production de gaz et de H₂S) étaient observées, les échantillons étaient alors soumis à des tests d'agglutination sur lame avec l'antisérum *Salmonella O Antiserum Poly A-I & Vi* (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ) afin de déterminer leur sérotype somatique : B, C1, C2, D1 ou E. Les colonies positives à l'agglutination sur lame étaient identifiées comme *Salmonella* spp. en utilisant le système automatisé *Sensititre Automated Microbiology System's A80 panel* (TREK Sensititre Microbiology System Division, Westlake, OH) puis envoyées au laboratoire national des services vétérinaires américains pour sérotypage complet (*National Veterinary Services Laboratory* (NVSL), USDA/APHIS, Ames, Iowa).

3.1.2 *Escherichia coli*

Les échantillons ont été ensemencés directement sur deux géloses : gélose trypticase-soya avec 5% de sang de mouton et des géloses EMB ou Levine, puis incubées à 37°C pour 18-24 heures (incubateur sans CO₂ pour les géloses Levine ou EMB). Les colonies caractéristiques fermentant le lactose (centre violet) étaient sélectionnées puis leur identification comme *E. coli* était confirmée à l'aide d'un système automatisé pour l'identification de bactéries gram négatives (*Sensititre Automated Microbiology System's panel*, TREK Sensititre Microbiology System Division, Westlake, OH).

Des méthodes standard de centrifugation et flottaison sur solution de sulfate de zinc (densité de 1,18) ou solution sucrée (densité de 1,25) ont été utilisées. Deux à 5g de

matières fécales étaient mélangées à la solution de flottaison. Puis, le mélange était filtré dans un tube à centrifugation et centrifugé à 1 200 tr/min pendant 5 minutes. Une lamelle était placée sur le dessus du tube rempli de solution de flottaison pour 10 minutes. Finalement, la lamelle était placée sur une lame de microscope en verre et la présence ou l'absence de parasites (et s'il y a lieu leur identification) était notée en grossissement x10.

3.2 Virologie

D'abord les échantillons de fèces ont été préparés en suspension solide ou semi-solide 10% (poids/vol) avec une solution saline tamponnée au phosphate 0,01M (*phosphate buffered saline* ou PBS, pH 7), ou encore en suspension liquide 20% (vol / vol) avec une solution 0,01 M de PBS (pH 7). Tous les échantillons ont été centrifugés à 1500 tr/min. Le surnageant a été utilisé dans un kit commercial d'agglutination au latex sur lame pour la détection du rotavirus (*Virogen Rotatest Kit*; Wampole Laboratories, Cranbury, NJ, USA), en suivant les instructions du fabricant pour les échantillons de matière fécale humaine. Il s'agit d'un test rapide sur lame dans lequel des particules de latex sont revêtues d'anticorps spécifiques pour les antigènes de rotavirus du groupe A. Ce test peut être lu à l'œil nu en 5 min. Pour ce qui est de la détection du coronavirus bovin (CVB), un autre kit commercial utilisant 2 anticorps monoclonaux spécifiques aux antigènes du CVB a été utilisé (*Syracuse Bioanalytical*, East Syracuse, NY, USA).

4 Définition d'un cas

Pour toutes les analyses et discussion, un cas était défini comme un animal présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose clinique (tel que décrit dans la section 2.1 du Chapitre 2 en page 49) et chez qui la culture de fèces a permis de détecter la présence de *Salmonella* spp. Pour la suite du texte, on décrira également un échantillon dans lequel la présence de *Salmonella* spp. a été détectée comme une « culture de fèces positive ». Un cas sera décrit comme un animal « atteint (ou souffrant) de salmonellose clinique », ou plus simplement comme un animal « atteint de salmonellose ». La terminologie « excréteur de salmonelles » sera utilisée pour décrire un animal dont la culture de fèces est positive mais qui ne présente pas nécessairement de signes cliniques de

salmonellose ou même qui n'est pas nécessairement infecté par *Salmonella* spp. (il pourrait donc s'agir d'un porteur passif tel que décrit dans la section 2.2.7 du Chapitre 1 en page 16). Tous les animaux échantillonnés dans le cadre de l'étude étaient, par définition, « soupçonnés de salmonellose clinique ».

5 Analyses statistiques

Des statistiques descriptives ont été utilisées afin de présenter les résultats. Suite à une analyse préliminaire des données, des différences marquées ont été notées entre les différents groupes d'âge. Les animaux ont donc été séparés en 3 groupes d'âge (veaux non sevrés, veaux sevrés et vaches adultes¹), et les données ont été subséquentement analysées séparément pour les 3 groupes.

Le logiciel SAS (SAS, version 9.1; SAS Institute Inc., Cary, NC) a été utilisé pour toutes les analyses statistiques.

5.1 Signes cliniques

La variable dépendante dichotomique était pour toutes les analyses, la détection ou non de *Salmonella* spp. dans une culture de fèces chez les bovins soupçonnés de salmonellose. Le type de relation entre les variables indépendantes continues et le log-vraisemblance de la variable dépendante a été évalué et les variables pour lesquelles la relation n'était pas linéaire ont été catégorisées selon des critères physiologiques ou de régie de troupeau.

L'association entre les signes cliniques ou autres facteurs, comme la saison ou la taille du troupeau, et le résultat de la culture bactériologique a d'abord été explorée en utilisant un test du chi-carré de Pearson. Par la suite, nous avons tenu compte de la corrélation existant entre les animaux provenant d'un même troupeau en utilisant des modèles d'équations d'estimation généralisées (*Generalized estimating equations* ou GEE) à l'aide de PROC GENMOD dans SAS. Une structure de corrélation échangeable a été utilisée.

¹ Afin d'alléger le texte la terminologie suivante sera été utilisée pour le reste du texte : veau non sevré deviendra simplement veau, veau sevré deviendra taure et vache adulte deviendra vache.

5.1.1 Veaux

Dans un premier temps, l'association entre les signes cliniques et le résultat de la culture de *Salmonella* a d'abord été testée à l'aide d'un modèle GEE séparé pour chaque signe clinique (présence ou absence de diarrhée, fièvre, sang ou mucus dans les fèces, décubitus, déshydratation). La taille du troupeau (<150 vaches en lactation versus ≥ 150 vaches en lactation), la saison (janvier à mars=hiver, avril à juin=printemps, juillet à septembre=été et octobre à décembre=automne), l'âge en jours (0-9, 10-20, 21-55, 56 et plus) et l'utilisation d'antibiotiques systémiques dans les 7 jours précédents l'échantillonnage ont été forcés dans les modèles puisqu'ils étaient potentiellement des variables confondantes importantes (Fossler et coll., 2005c; Nielsen et coll., 2004a; Warnick et coll., 2003b).

Dans un deuxième temps, les signes cliniques qui étaient significativement associés ($P < 0,2$) au résultat de culture dans les modèles GEE individuels ont été utilisés pour bâtir un modèle GEE (« modèle veaux ») qui incluait également les variables potentiellement confondantes mentionnées ci-dessus. Par la suite, les signes cliniques ont été retirés un à un du modèle, en commençant par ceux ayant les valeurs P les plus élevées, et ce jusqu'à ce que la totalité des signes cliniques restant dans le modèle soient significatifs à $P < 0,05$. Par ailleurs, les signes cliniques dont le retrait causait une variation trop importante ($> 30\%$) des estimés des autres signes cliniques sont demeurés dans le modèle final. Le même procédé a été appliqué aux variables potentiellement confondantes. Les interactions du 1^{er} degré qui étaient biologiquement plausibles ont ensuite été testées en les ajoutant au modèle une à une afin de prévenir des problèmes de convergence.

5.1.2 Taures

Dû au faible nombre d'animaux dans cette catégorie et au fait que la majorité des troupeaux n'ont soumis qu'un seul échantillon, l'approche GEE n'a pas pu être utilisée pour tester l'association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les taures.

Un modèle de régression logistique (PROC LOGISTIC dans SAS) séparé pour chaque signe clinique, en contrôlant pour la taille du troupeau, la saison, l'âge (2-6 mois, 7-12 mois, plus de 12 mois) et l'utilisation d'antibiotiques systémiques dans les 7 jours

précédents l'échantillonnage, a d'abord été testé. Cependant, ces modèles ne convergeaient pas, probablement à cause de la trop petite taille d'échantillon. Pour pallier à ce problème, la variable « utilisation d'antibiotiques systémiques » a été retirée des modèles. En effet, plus de la moitié des données étaient manquantes pour cette variable, réduisant ainsi de façon importante la taille d'échantillon. De plus l'effet du retrait de cette variable sur les estimés des signes cliniques a été testé pour chaque signe clinique (dans des modèles ne contenant que chaque signe clinique et la variable utilisation d'antibiotiques) et s'est avéré négligeable.

Par la suite, le processus de sélection des signes cliniques à inclure dans le modèle de régression logistique initial, puis leur retrait jusqu'à l'obtention du modèle final (« modèle taures ») a été effectué de la même façon que pour les veaux, en contrôlant pour la taille du troupeau, la saison et l'âge des taures.

5.1.3 Vaches

La même méthode que décrite ci-dessus pour les veaux a été utilisée pour les vaches. Brièvement, un modèle GEE individuel a été utilisé pour chaque signe clinique, en contrôlant pour les variables taille du troupeau, saison, jours en lait (≤ 30 , 31-300 et ≥ 301), rang de lactation (1, 2, 3 et plus) et utilisation d'antibiotiques systémiques dans les 7 jours précédents l'échantillonnage. Par la suite, les signes cliniques qui étaient significatifs à $P < 0,2$ dans les modèles individuels ont été choisis pour bâtir le « modèle vaches », toujours en contrôlant pour les variables potentiellement confondantes.

5.1.4 Sérotypes

Une analyse des correspondances a été effectuée pour examiner visuellement les relations entre les signes cliniques et les sérotypes les plus fréquemment isolés (Newport, Typhimurium, Infantis et 4,5,12 :i :-) ou l'absence de *Salmonella* spp., à l'aide de PROC CORRESP dans SAS.

5.2 Évaluation de la sensibilité et de la spécificité de la culture en l'absence d'un test étalon (*gold standard*)

La performance de la culture bactériologique a été estimée à l'aide d'une analyse de classe latente d'après le modèle Hui-Walter (1980) à l'aide du logiciel WinBUGS version 1.4.2². Le programme utilisé est présenté à l'annexe 3. Les données pour les veaux et les vaches ont été analysées séparément. La population à l'étude a été divisée en deux groupes de prévalence différente, basés sur la taille des troupeaux (<150 vaches en lactation et ≥ 150 vaches en lactation) dont provenaient les échantillons. Les 2 tests utilisés étaient (1) le résultat de la culture bactériologique et (2) la présence ou absence d'une combinaison de signes cliniques. Plusieurs modèles préliminaires ont été utilisés pour les vaches, chaque modèle utilisant une combinaison différente de signes cliniques. Pour les veaux comme pour les vaches, la combinaison de signes cliniques choisie pour le modèle final était diarrhée et fièvre.

Pour le modèle des veaux, la période initiale de rodage de 10 000 itérations a été suivie de 2 000 000 d'itérations en n'utilisant qu'une itération sur vingt. Pour le modèle des vaches, la période initiale de rodage comprenait 7 500 itérations et a été suivie de 1 000 000 d'itérations en n'utilisant qu'une itération sur dix. La convergence des modèles a été évaluée tel que suggéré par Toft et collaborateurs (2007).

5.3 Utilité clinique des tests diagnostiques

Les probabilités post-test de salmonellose clinique pour la culture de fèces et pour différentes combinaisons de signes cliniques ont été calculées à partir de différentes probabilités pré-test. La probabilité pré-test a d'abord été convertie en cote pré-test, puis a été multipliée par le rapport de vraisemblance afin d'obtenir la cote post-test, qui elle a ensuite été convertie en probabilité post-test (Smith, 1995). Les formules suivantes ont été utilisées :

² Imperial College et Medical Research Council, Cambridge, Angleterre
<http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs/winbugs/contents.shtml>

LR d'un test positif	$LR+ = Se / (1 - Sp)$
LR d'un test négatif	$LR- = (1 - Se) / Sp$
Cote	$cote = probabilité / (1 - probabilité)$
Probabilité	$probabilité = cote / (1 + cote)$
Cote post-test	$cote\ post-test = cote\ pré-test \times LR$

Comme *S. Typhimurium* est isolé assez peu fréquemment chez les vaches saines (donc peu de porteurs asymptomatiques) (USDA 2009a et 2009b), alors qu'il est isolé fréquemment chez les vaches malades (Morningstar-Shaw et coll., 2008), nous avons fait l'hypothèse que la spécificité de la culture de fèces était plus élevée (nous avons choisi la valeur de 0,99) lorsque ce sérotype était isolé.

Chapitre 3

Résultats

1 Veaux

1.1 Statistiques descriptives

1.1.1 Généralités

Trente-cinq cliniques vétérinaires ont participé à l'étude et ont enrôlé 831 troupeaux représentant plus de 327 000 bovins laitiers. Les troupeaux avaient une taille médiane de 180 bovins laitiers (variant de 20 à 5 241). Les animaux étaient logés en stabulation libre sur 454 (54,6%) fermes et en stabulation entravée en logettes individuelles sur 355 (42,7%) fermes. Le 2,7% restant des troupeaux utilisait un autre type de logement. Au moins un cas de *Salmonella* avait été rapporté dans les 12 mois précédant l'enrôlement dans 59 (7,1%) troupeaux.

Huit cent soixante-quatorze échantillons de fèces de veaux provenant de 163 troupeaux différents ont été soumis. De ce nombre, 159 (18,2%) échantillons provenant de seulement 35 troupeaux (21,5%) étaient positifs pour *Salmonella* spp. La majorité des échantillons soumis provenaient de veaux femelles (818/862;94,9%) de race Holstein (840/860;97,7%), ce qui est représentatif de la clientèle des médecins vétérinaires participants. Quatre-vingt-douze pourcent des troupeaux (150/163) ont fourni moins de 10 échantillons. Soixante-cinq troupeaux (40,0%) n'ont soumis qu'un seul échantillon alors que 36 autres troupeaux (22,1%) en ont fourni deux. Le nombre maximum d'échantillons soumis pour un seul troupeau était de 94. Parmi les troupeaux positifs, la proportion d'échantillons positifs était extrêmement variable, allant de 2,1% à 100% (8 troupeaux).

1.1.2 Sérotypes

Le sérotypage a été effectué pour 114 des 159 échantillons positifs et 10 sérotypes différents ont été identifiés. On peut voir dans le tableau V ci-dessous, que les sérotypes les plus fréquemment isolés étaient, par ordre décroissant : Typhimurium, Newport et Infantis. Aucun *S. Dublin* n'a été isolé.

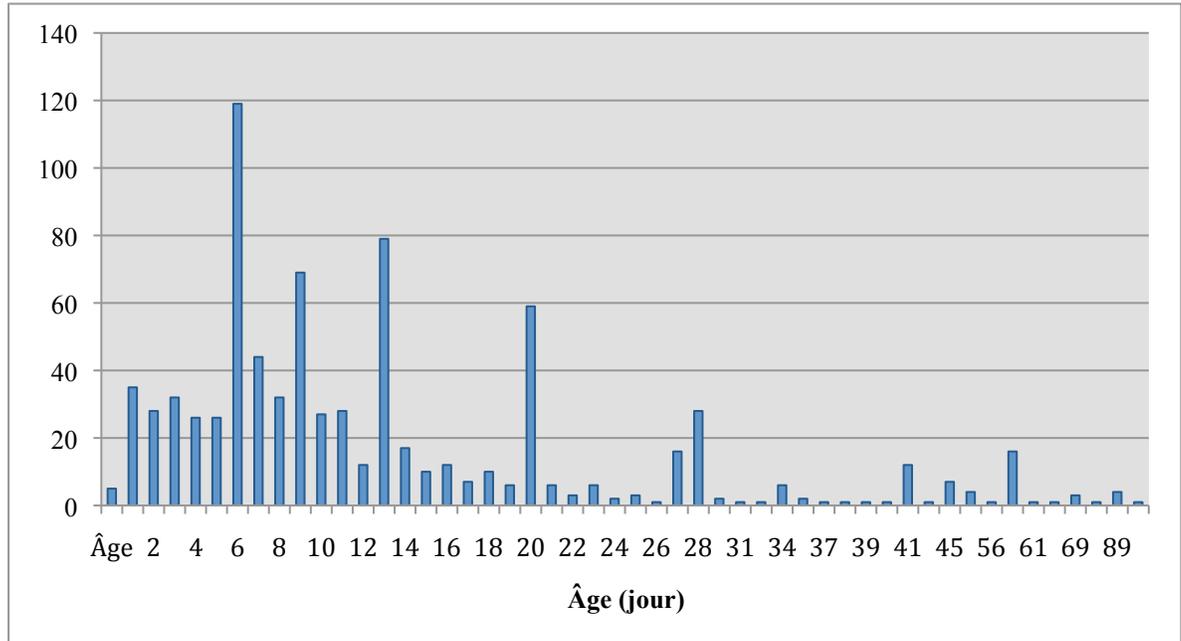
Tableau V – Sérotypes de *Salmonella* isolés chez des veaux souffrant de salmonellose clinique

Sérotipe	Fréquence
Newport	35 (30,7%)
Typhimurium (variant Copenhagen)	33 (29,0%)
Typhimurium	14 (12,3%)
Infantis	15 (13,2%)
Agona	5 (4,4%)
Ohio	4 (3,5%)
Montevideo	2 (1,8%)
4,5,12 :i :-	2 (1,8%)
Adelaide	1 (0,9%)
Anatum	1 (0,9%)
Muenster	1 (0,9%)

1.1.3 Âge

La figure 2 en page 61 illustre la distribution de l'âge des veaux lors de l'échantillonnage. La majorité des veaux ont été échantillonnés dans leur premier mois d'âge (748/816; 91,7%), avec des pics à 1 semaine, 10 jours, 2 et 3 semaines. Ces pics ne représentent probablement que le fait que pour plusieurs veaux la date de naissance exacte n'était pas connue et seule une approximation de l'âge du veau avait été notée sur le formulaire de soumission. La proportion d'échantillons positifs était similaire pour les veaux de moins de 2 mois d'âge (<10 jours : 15,9%; 10-21 jours : 22,7%; 21-56 jours : 20,6%) puis diminuait pour les veaux plus vieux (6,3%).

Figure 2 - Distribution de l'âge des veaux lors de l'échantillonnage



1.1.4 Saison

La collecte d'échantillons a été plutôt bien répartie dans l'année avec un nombre semblable d'échantillons recueillis au printemps, à l'été et à l'automne (200, 193 et 216, respectivement) et un nombre légèrement plus grand d'échantillons soumis à l'hiver (264). D'autre part, la proportion d'échantillons positifs pour *Salmonella* était significativement plus faible pour les échantillons recueillis au printemps comparé à l'hiver (6,7% vs 18,5%; $P=0,0008$) et numériquement plus élevée pour les échantillons recueillis à l'été (26,4%; $P=0,06$). Finalement, la proportion d'échantillons positifs à l'automne (19,3%) était la même qu'à l'hiver.

1.1.5 Taille du troupeau

Le nombre médian de vaches en lactation dans les troupeaux dont provenaient les échantillons était de 450, et allait de 125 à 2230 vaches en lactation. La majorité des échantillons soumis provenaient de troupeaux de 150 vaches en lactation ou plus (547/874; 62,6%). De plus, la proportion d'échantillons positifs était plus élevée pour les gros troupeaux que pour les petits (22,5% vs 11,0%; $P<0,0001$).

1.1.6 Antibiotiques

Deux tiers des veaux (372/558; 66,7%) pour lesquels cette information était disponible, avaient reçu des antibiotiques systémiques dans les 7 jours précédant la prise d'échantillon. Les 5 antibiotiques les plus fréquemment utilisés étaient le ceftiofur (42,5%), trimetoprim-sulfa (15,9%), pénicilline (13,2%), florfenicol (7,3%) et oxytétracycline (6,5%). Plusieurs autres antibiotiques ont aussi été utilisés chez quelques veaux : amoxicilline, ampicilline, néomycine, enrofloxacin, gentamycine, spectinomycine, sulfaméthazole et tilmicosin. Plusieurs veaux ont été traités avec plus d'un antibiotique (132/372; 35,5%) et certains ont même reçu jusqu'à 5 antibiotiques différents. Cependant, la probabilité de détection de salmonelles était similaire, que les veaux aient reçu ou non des antibiotiques ($P=0,81$).

1.1.7 Autres agents infectieux

Presque la moitié (46%) des veaux enrôlés dans l'étude ont de plus été testés pour la présence de rotavirus et/ou coronavirus. La présence de rotavirus a été détectée dans 29,4% (117/398) des échantillons soumis. La probabilité de détecter des salmonelles était significativement plus faible dans ces échantillons que dans ceux négatifs pour rotavirus (7,7% vs 17,4%; $P=0,01$). Pour ce qui est du coronavirus, seulement 17 des 402 veaux testés (4,2%) y étaient positifs, et un seul était également positif pour *Salmonella* spp. Quant aux veaux négatifs pour le coronavirus, des salmonelles ont été détectées dans 12,5% (48/385) des échantillons. Cette différence n'était cependant pas statistiquement significative ($P=0,42$).

Une grande proportion des veaux testés pour *E. coli* étaient positifs (421/558; 75,5%). La probabilité de détecter des salmonelles dans ces échantillons était significativement plus élevée que dans les échantillons négatifs pour *E. coli* (20,9% vs 13,1%; $P=0,04$).

La moitié des veaux testés n'arboraient aucun parasite gastro-intestinal (197/413; 47,7%) mais un grand nombre était quand même positif pour *Cryptosporidium* (174/413; 42,1%). La probabilité de détecter des salmonelles semblait plus élevée dans les échantillons positifs pour *Cryptosporidium* que dans ceux ne l'étant pas (13,0% vs 8,1%) mais cette différence n'était pas statistiquement significative ($P=0,11$). Par ailleurs, la présence de

coccidies ou de *Giardia* spp. n'a pu être mise en évidence que chez quelques veaux (13/413; 3,2% et 29/413;7,0% respectivement) et ceux-ci étaient tous négatif pour *Salmonella* spp.

1.1.8 Signes cliniques

Le signe clinique présent chez le plus grand nombre de veaux échantillonnés était la diarrhée (719/837; 85,9%). Un peu plus de la moitié des veaux démontraient de la déshydratation (424/750; 56,5%) ou du sang ou mucus dans les fèces (435/800; 54,4%). De la fièvre était présente chez 39,0% des veaux (289/742) et presque le quart des veaux étaient en décubitus (168/726; 23,1%).

Vingt-neuf combinaisons différentes de signes cliniques ont été observées, en excluant les combinaisons où l'information concernant un des signes cliniques était manquante. Le tableau VI ci-dessous détaille les combinaisons les plus fréquentes ainsi que la proportion d'échantillons positifs parmi les veaux présentant les signes cliniques en question.

Tableau VI - Combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes chez les veaux suspects de salmonellose clinique

Nombre de veaux	Signes cliniques présents	Détection de salmonelles (%)
92	Diarrhée	15,2
69	Diarrhée-Fièvre-Sang/Mucus-Déshydratation	20,3
72	Diarrhée-Sang/Mucus-Déshydratation	23,8
71	Diarrhée-Sang/Mucus	4,9
54	Diarrhée-Déshydratation	33,3
47	Diarrhée-Fièvre-Sang/Mucus-Déshydratation-Décubitus	34,0
874	Toutes les combinaisons	18,2

Il est également intéressant de noter que 35 des veaux échantillonnés ne présentaient aucun des 5 signes cliniques inclus dans le formulaire de soumission et que malgré cela, des salmonelles ont été détectées dans 17,1% d'entre eux.

1.2 Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture

Les résultats des modèles individuels d'équations d'estimation généralisées pour les 5 signes cliniques sont présentés dans le tableau VII ci-dessous. Comme l'estimation de l'association entre chaque signe clinique et le résultat de la culture a été ajustée pour les effets de la saison, taille du troupeau, âge, utilisation d'antibiotiques et corrélation entre les veaux provenant d'un même troupeau, seuls les animaux n'ayant aucune donnée manquante pour ces variables ont pu être inclus dans les modèles.

Tableau VII– Résultat des modèles individuels GEE de l'association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les veaux soupçonnés de salmonellose clinique, ajustés pour la saison, taille du troupeau, l'âge des veaux, et l'utilisation d'antibiotiques systémiques

Signe clinique	Valeur	Nombres de veaux	Nombre d'animaux positifs pour <i>Salmonella</i> spp.	OR (IC95%)	Valeur <i>P</i>
Diarrhée	Oui	463	92 (19,9%)	0,7 (0,3 - 1,9)	0,52
	Non	63	11 (17,5%)		
Sang ou mucus	Oui	293	62 (18,2%)	1,5 (0,9 - 2,6)	0,10
	Non	220	40 (21,2%)		
Déshydratation	Oui	292	78 (26,7%)	2,8 (1,1 - 7,3)	0,04
	Non	202	22 (10,9%)		
Fièvre	Oui	186	39 (21,0%)	1,3 (0,8 - 1,9)	0,30
	Non	297	62 (20,9%)		
Décubitus	Oui	131	39 (29,8%)	2,3 (1,4 - 4,0)	0,002
	Non	371	61 (16,4%)		

Dans les modèles GEE individuels, 3 des signes cliniques étaient associées au résultat de la culture à $P < 0,2$ ce qui les rendaient éligibles à l'inclusion dans le modèle veaux: sang (ou mucus) dans les fèces, déshydratation et décubitus.

Aucun des 3 signes cliniques initialement inclus dans le modèle veaux n'est demeuré significatif à $P < 0,05$. Par contre, la déshydratation et le sang (ou mucus) dans les fèces étaient près d'être significatifs. Ainsi, la probabilité de détecter des salmonelles était plus élevée pour les veaux déshydratés comparé aux veaux ayant un statut d'hydratation normal

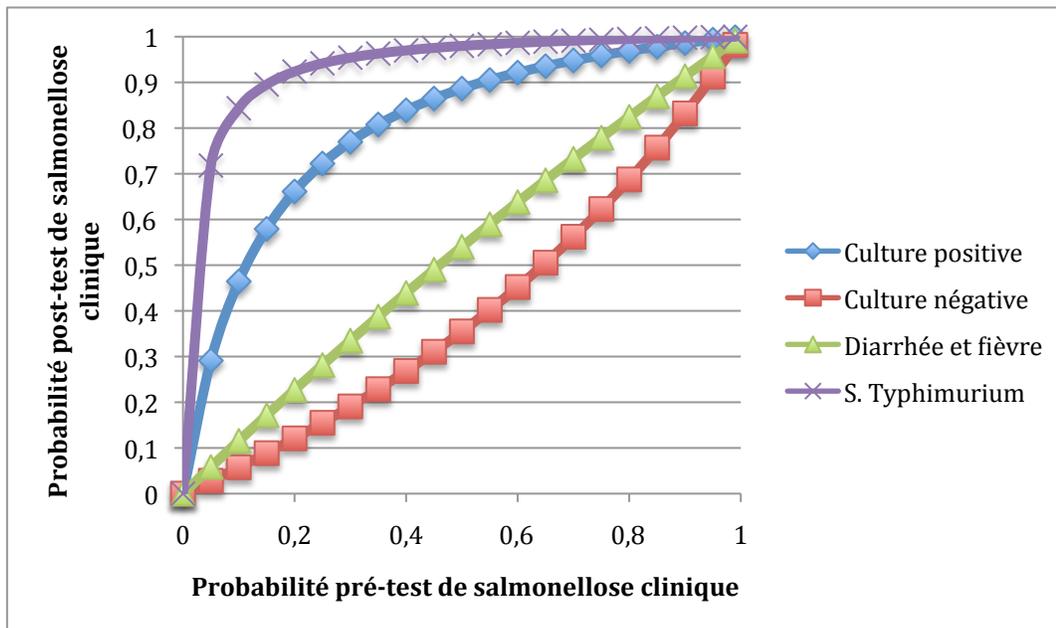
(OR=2,4; IC95%=0,9-6,3). De la même façon, la probabilité de détecter des salmonelles était plus élevée pour les veaux en décubitus que pour les veaux capables de se lever (OR=1,6; IC95%=0,9-2,8). Ces deux signes cliniques sont demeurés dans le modèle final puisque le retrait d'une des deux avait un effet très important sur l'estimé de l'autre. Pour ce qui est des autres variables ayant été forcées dans le modèle (saison, taille du troupeau, âge et utilisation d'antibiotiques), seule la taille du troupeau s'est révélée être significativement associée au résultat de la culture (gros troupeau vs petit OR=3,1; IC95%=1,3-7,7).

1.3 Sensibilité et spécificité de l'examen clinique et de la culture

Les résultats de la culture et la présence ou absence des 2 signes cliniques d'intérêt (diarrhée et fièvre), étaient disponibles pour 873 veaux. Deux cent soixante-quatre veaux présentaient de la diarrhée et de la fièvre, et *Salmonella* spp. a été isolé dans les fèces de 158 veaux. La sensibilité de la culture (Se_{cult}) a été estimée à 0,48 (intervalle de crédibilité à 95% (ICr95): 0,22-0,95). La sensibilité des signes cliniques (Se_{sc}) était de 0,34 (intervalle de crédibilité à 95% (ICr95%): 0,29-0,43) alors que la spécificité des signes cliniques (Sp_{sc}) était estimée à 0,71 (ICr95%: 0,68-0,76) et celle de la culture (Sp_{cult}) était de 0,94 (ICr95%: 0,87-1,00).

Les probabilités post-test de salmonellose clinique pour la culture de fèces et pour le diagnostic clinique (présence de diarrhée et fièvre) ont été calculées à partir de différentes probabilités pré-test. Les résultats sont présentés sous forme graphique dans figure 3 en page 66.

Figure 3 - Probabilité post-test de salmonellose clinique suite à une culture de fèces ou à l'examen clinique chez des veaux soupçonnés de salmonellose clinique



2 Taures

2.1 Statistiques descriptives

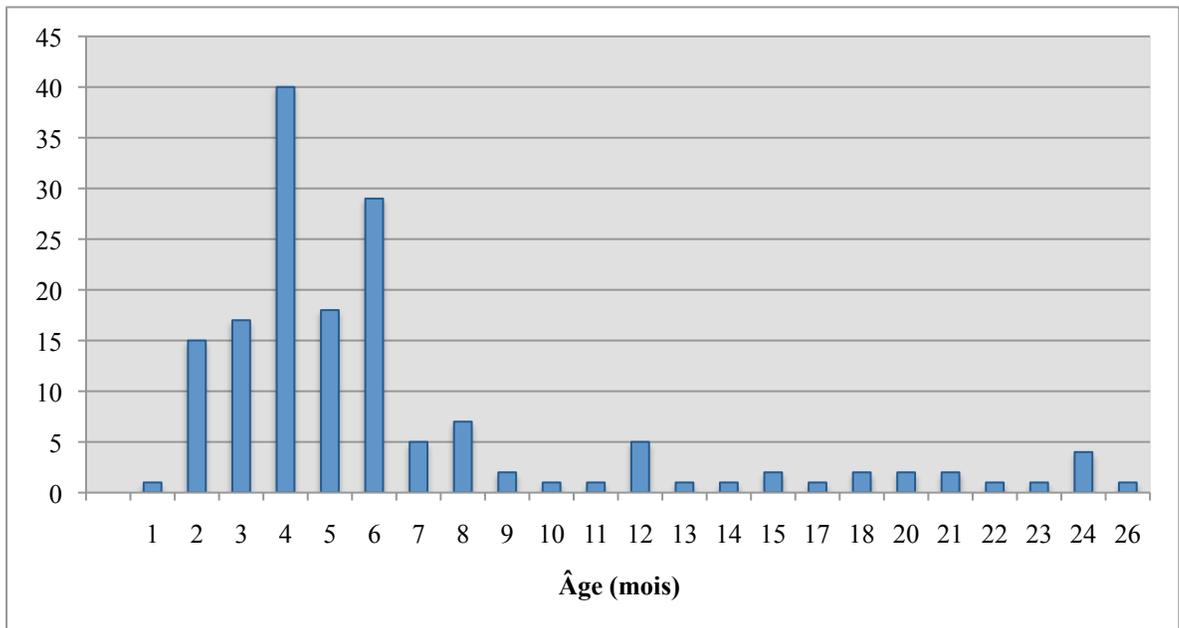
2.1.1 Généralités

Cent soixante-quatre échantillons de taures provenant de 63 troupeaux différents ont été soumis. De ce nombre, seulement 7 échantillons (4,3%) étaient positifs pour *Salmonella* spp. et 4 d'entre eux provenaient d'un même troupeau. Comme c'était le cas pour les veaux sevrés, la majorité des échantillons soumis provenait de veaux femelles (161/164; 98,2%) de race Holstein (160/164; 97,6%). Tous les troupeaux sauf un (62/63) ont fourni moins de 10 échantillons, 35 troupeaux (55,6%) n'ayant soumis qu'un seul échantillon. Un troupeau a par contre soumis 26 échantillons mais aucun de ceux-ci ne s'est avéré positif.

2.1.2 Âge

La figure 4 ci-dessous illustre la distribution de l'âge des taures lors de l'échantillonnage. La majorité des taures ont été échantillonnées dans les 6 premiers mois d'âge (120/159; 75,5%), avec des pics à 4 et 6 mois.

Figure 4 – Distribution de l'âge des taures lors de l'échantillonnage



La moyenne d'âge des taures positives pour *Salmonella* spp. était plus élevée que celle des taures négatives (13,6 mois et 6,3 mois, respectivement) et cette différence est significative ($P=0,002$).

2.1.3 Saison

Un nombre légèrement plus élevé d'échantillons a été soumis à l'automne (59) que durant les autres saisons (printemps=29, été=34, hiver=42) mais globalement, la collecte d'échantillons a été plutôt bien répartie dans l'année. Par contre, aucun échantillon recueilli au printemps ou à l'été ne s'est révélé positif pour *Salmonella*.

2.1.4 Taille du troupeau

Un nombre presque égal d'échantillons ont été soumis par des gros et petits troupeaux. Cependant, la presque totalité des échantillons positifs pour *Salmonella* (6/7; 85,7%) provenaient de troupeaux de 150 vaches en lactation ou plus.

2.1.5 Antibiotiques

Trois-quarts des taures (58/79; 73,4%) pour lesquelles cette information était disponible, n'avaient reçu aucun antibiotique systémique dans les 7 jours précédant la prise d'échantillon. De plus, la probabilité de détection de salmonelles était pratiquement identique, que les animaux aient reçu ou non des antibiotiques.

2.1.6 Parasites

La plupart des taures enrôlées étaient parasitées (74/109; 67,9%) mais aucune salmonelle n'a pu être détectée chez les taures parasitées. Le parasite de loin le plus fréquent était les coccidies (60/109; 55,1%). Les autres étaient *Giardia* (8/109; 7,3%), *Cryptosporidium* (2/109;1,8%), strongles (2/109;1,8%), *Trichuris* (1/109;0,9%) et *Moniezia* (1/109;0,9%).

2.1.7 Signes cliniques

Le signe clinique le plus fréquent chez les taures échantillonnées était la diarrhée (123/157; 78,3%). Un peu moins de la moitié des taures avaient du sang (ou mucus) dans les fèces (65/149; 43,6%) ou étaient déshydratées (57/141;40,4%). Seulement 22,1% des taures (32/145) présentaient de la fièvre et 13,2% étaient en décubitus (18/136).

Dix-neuf combinaisons différentes de signes cliniques ont été observées, en excluant les combinaisons où l'information concernant un des signes cliniques était manquante. Le tableau VIII en page 69 détaille les combinaisons les plus fréquentes ainsi que la proportion d'échantillons positifs parmi les veaux présentant les signes cliniques en question.

Tableau VIII - Combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes chez les taures suspectes de salmonellose clinique

Nombre de taures	Signes cliniques présents	Détection de salmonelles (%)
31	Diarrhée	0
19	Diarrhée - Sang/Mucus - Déshydratation	5,3
9	Diarrhée - Sang/Mucus	0
7	Diarrhée - Fièvre - Sang/Mucus	0
164	Toutes les combinaisons	4,3

De plus, 26 des taures échantillonnées ne présentaient aucun des 5 signes cliniques inclus dans le formulaire de soumission et aucune d'entre elles n'étaient positives pour *Salmonella* spp.

2.2 Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture

Les deux signes cliniques qui étaient associés au résultat de la culture à $P < 0,2$ dans les modèles de régression logistique individuels, après ajustement pour l'effet de l'âge, de la taille du troupeau et de la saison étaient le sang (ou mucus) dans les fèces et le décubitus (voir tableau IX, page 70). Ils étaient donc éligibles à l'inclusion dans le modèle taures.

Tableau IX– Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les taures soupçonnées de salmonellose clinique, ajustés pour la taille du troupeau, l'âge des taures et la saison

Signe clinique	Valeur	Nombres de taures échantillonnées	Nombre de taures positives pour <i>Salmonella</i> spp.	OR (IC95%)	Valeur <i>P</i>
Diarrhée	Oui	123	5 (4,1%)	1,1 (0,1 – 11,2)	0,96
	Non	34	1 (2,9%)		
Sang ou mucus	Oui	65	5 (7,7%)	6,6 (0,6 – 68,9)	0,12
	Non	84	1 (1,2%)		
Déshydratation	Oui	57	5 (8,8%)	1,7 (0,3 – 11,6)	0,59
	Non	84	2 (2,4%)		
Fièvre	Oui	32	3 (9,4%)	3,0 (0,4 – 22,7)	0,28
	Non	113	3 (2,7%)		
Décubitus	Oui	18	4 (22,2%)	10,0 (1,3 – 78,1)	0,03
	Non	118	2 (1,7%)		

Le décubitus est le seul signe clinique qui est demeuré significatif à $P < 0,05$ dans le modèle taures. La probabilité de détecter des salmonelles était beaucoup plus élevée pour les taures qui étaient en décubitus (OR=10,7; IC95%=1,5-82,3). Pour ce qui est des autres variables ayant été forcées dans le modèle (taille du troupeau et âge), elles ne se sont pas révélées significatives.

3 Vaches

3.1 Statistiques descriptives

3.1.1 Généralités

Mille quatre cent soixante-dix-neuf échantillons de vaches provenant de 335 troupeaux différents ont été soumis. De ce nombre, des salmonelles ont été détectées dans 431 échantillons (29,1%) provenant de 77 troupeaux. La majorité des échantillons soumis provenait de vaches de race Holstein (1418/1446;98,1%), ce qui est représentatif de la clientèle des médecins vétérinaires participants. Quatre-vingt-onze pourcent des troupeaux (304/334) ont fourni moins de 10 échantillons. Cent cinquante-cinq troupeaux (46,4%) n'ont soumis qu'un seul échantillon. Le nombre maximum d'échantillons soumis pour un

seul troupeau était de 134. D'autre part, la proportion d'échantillons positifs par troupeau était extrêmement variable parmi les troupeaux ayant au moins 1 échantillon positif, allant de 4,3% à 100%.

3.1.2 Sérotypes

Le sérotypage a été effectué pour 306 des 431 échantillons positifs et 19 sérotypes différents ont été identifiés (Tableau X, page 72). Les sérotypes les plus fréquemment isolés étaient les mêmes que chez les veaux (Newport, Typhimurium et Infantis) mais dans des proportions un peu différentes. Aucun *S. Dublin* n'a été isolé.

Une analyse de correspondance a été effectuée afin d'évaluer visuellement les relations entre les différents signes cliniques observés et le sérotype isolé. La seule association identifiée est celle qui semble exister entre la présence de sang (ou de mucus) dans les fèces et l'isolement de *S. Typhimurium*. En effet, parmi les vaches excréant des salmonelles, la probabilité d'isoler du *S. Typhimurium* par rapport à un autre sérotype était plus grande pour les vaches ayant du sang (ou du mucus) dans les fèces que celles n'en ayant pas (OR=4,1; $P<0,0001$).

3.1.3 Taille du troupeau

Le nombre médian de vaches en lactation dans les troupeaux dont provenaient les échantillons était de 162, et allait de 15 à 2516 vaches en lactation. Comme c'était le cas pour les veaux, la majorité des échantillons soumis provenaient de troupeaux de 150 vaches en lactation ou plus (1160/1426; 81,4%). De plus, la proportion d'échantillons positifs était significativement plus élevée pour les gros troupeaux que pour les petits (32,8% vs 9,8%; $P<0,0001$).

Tableau X - Sérotypes isolés chez les vaches souffrant de salmonellose clinique.

Sérotipe	Fréquence
Newport	141 (45,8%)
Typhimurium	31 (10,0%)
Typhimurium (variant Copenhagen)	9 (2,9%)
Infantis	26 (8,4%)
4,5,12 :i :-	23 (7,5%)
Muenster	10 (3,3%)
Agona	8 (2,6%)
4,5,12 :i :	7 (2,3%)
Anatum	6 (2,0%)
Ohio	6 (2,0%)
Mbandaka	5 (1,6%)
Bardo	4 (1,3%)
Montevideo	3 (1,0%)
Muenchen	2 (0,7%)
Oranienburg	2 (0,7%)
4,12 :i :-	1 (0,3%)
Cerro	1 (0,3%)
Senftenberg	1 (0,3%)
Thompson	1 (0,3%)

3.1.4 Saison

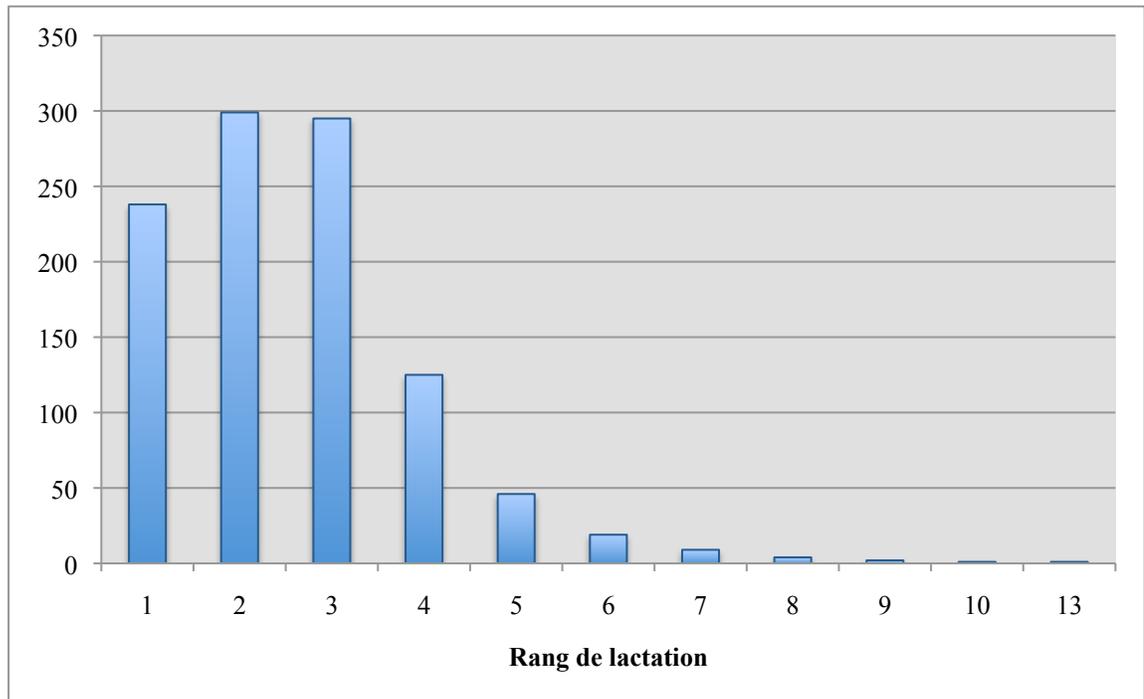
Un nombre significativement plus grand d'échantillons ont été soumis à l'automne et à l'hiver (493 et 368, respectivement) qu'au printemps (277) et à l'été (288) ($P < 0,0001$). De plus, la proportion d'échantillons positifs pour *Salmonella* était significativement plus élevée pour les échantillons recueillis à l'été et à l'automne, comparé à l'hiver (33,3% et 35,1% vs 22,0%; $P = 0,0011$ et $P = 0,0004$, respectivement).

3.1.5 Rang de lactation

La figure 5 en page 73 illustre la distribution du rang de lactation des vaches lors de l'échantillonnage. La plupart des vaches échantillonnées pour lesquelles l'information était

disponible, en étaient à leurs 3 premières lactations (832/1039; 80,1%) et seules quelques vaches étaient en production depuis plus de 5 lactations (36/1039; 1,6%).

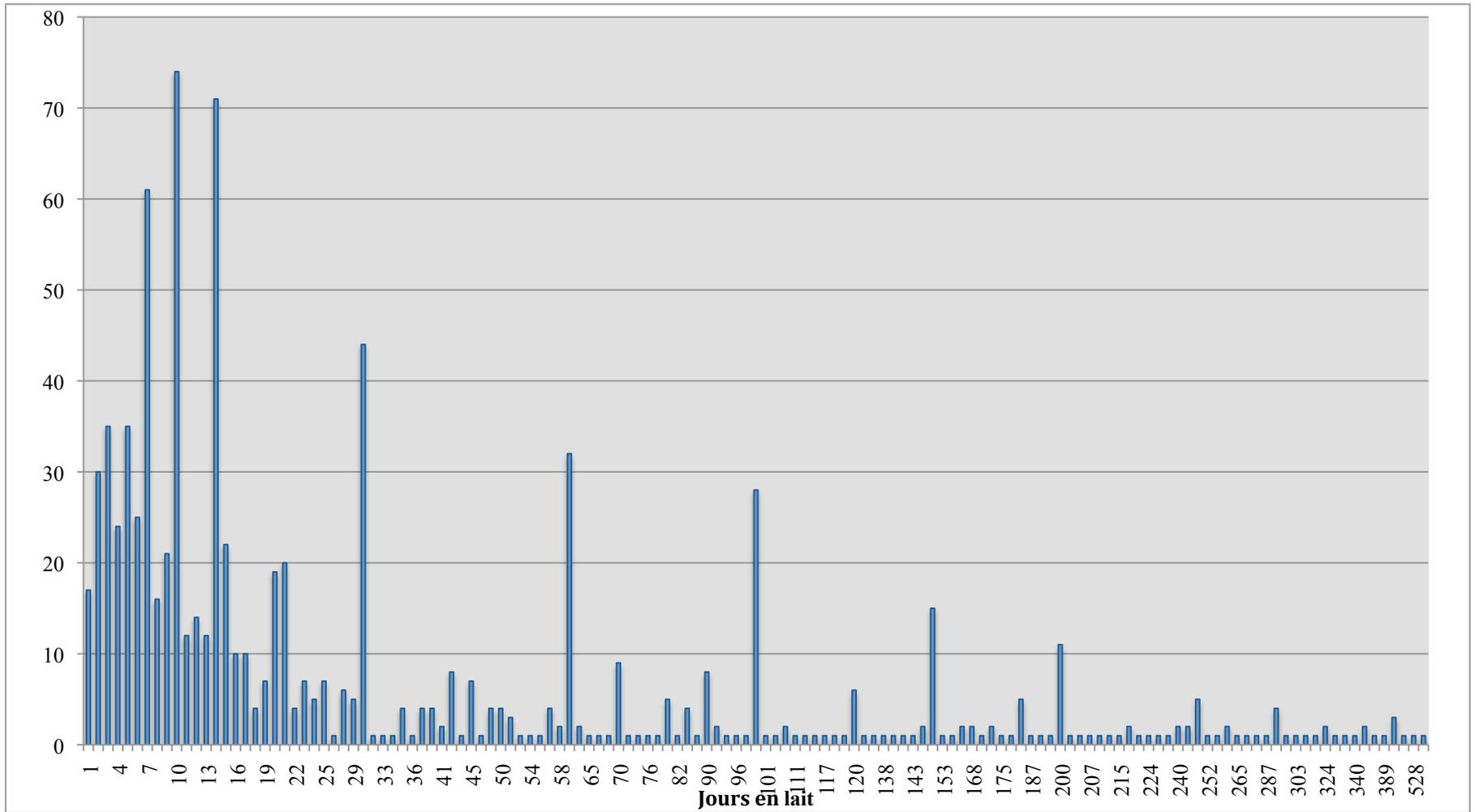
Figure 5 – Distribution du rang de lactation des vaches lors de l'échantillonnage



3.1.6 Jours en lait

La figure 6 en page 74 illustre la distribution des jours en lait lors de l'échantillonnage. La majorité des échantillons (618/896; 69,0%) ont été recueillis dans le premier mois suivant le vêlage. Environ le tiers des échantillons (338/896; 37,7%) ont été recueillis alors que les vaches étaient dans les premiers 10 jours de leur lactation, et la moitié des échantillons appartenait à des vaches dans leurs 2 premières semaines suivant le vêlage (447/896; 49,9%). Par la suite on peut observer des pics à 30, 60, 100, 150 et 200 jours. Ceux-ci ne représentent probablement que le fait que le nombre de jours en lait inscrit au formulaire de soumission n'était qu'approximatif pour plusieurs vaches.

Figure 6 – Distribution des jours en lait lors de l'échantillonnage



3.1.7 Antibiotiques

Deux tiers des vaches (580/947; 61,3%) pour lesquelles cette information était disponible, n'avaient reçu aucun antibiotique systémique dans les 7 jours précédant la prise d'échantillon. Les 5 antibiotiques les plus fréquemment utilisés étaient le ceftiofur (64,4%), l'ampicilline (14,4%), l'oxytétracycline (8,7%), la pénicilline G (8,2%) et le sulfabromométhazine (1,4%), qui sont les seuls antibiotiques systémiques homologués pour utilisation chez les vaches en lactation aux États-Unis. Les autres antibiotiques utilisés dans quelques cas seulement étaient l'amoxicilline, la néomycine, la spectinomycine, le florfenicol ainsi que le tilmicosin. Comparé aux veaux, assez peu de vaches ont été traitées avec plus d'un antibiotique (52/368; 14,1%). Une proportion significativement plus grande des vaches ayant reçu des antibiotiques étaient positives pour *Salmonella* spp. par rapport aux vaches n'ayant pas reçu d'antibiotiques (154/367;42,0% et 112/580;19,3% respectivement. $P<0,0001$)

3.1.8 Signes cliniques

Comme c'était le cas pour les veaux et les taures, le signe clinique présent chez le plus grand nombre de vaches échantillonnées était la diarrhée (1275/1385; 92,1%). Environ la moitié des animaux démontraient de la déshydratation (619/1299; 47,7%) et un peu moins de la fièvre, ou du sang ou mucus dans les fèces (554/1309; 42,3% et 407/1304; 31,2% respectivement). Seules 10,4% (135/1305) des vaches échantillonnées étaient dans l'impossibilité de se lever.

Vingt-sept combinaisons différentes de signes cliniques ont été observées, en excluant les combinaisons où l'information concernant un des signes cliniques était manquante. Le tableau XI en page 76 détaille les combinaisons les plus fréquentes ainsi que la proportion d'échantillons positifs parmi les vaches présentant les signes cliniques en question.

Tableau XI- Combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes chez les vaches soupçonnées de salmonellose clinique.

Nombre de vaches	Signes cliniques présents	Détection de salmonelles (%)
307	Diarrhée	19,5
155	Diarrhée-Fièvre	28,4
127	Diarrhée- Fièvre -Déshydratation	40,2
123	Diarrhée-Déshydratation	31,7
107	Diarrhée- Fièvre-Sang/Mucus-Déshydratation	48,6
1479	Toutes les combinaisons (n=27)	28,5

3.2 Association entre les signes cliniques et le résultat de la culture

Les résultats des modèles individuels d'équations d'estimation généralisées pour les 5 signes cliniques sont présentés dans le tableau XII en page 77. Seuls les animaux n'ayant aucune donnée manquante (n=696) pour les variables saison, taille du troupeau, jours en lait, parité et utilisation d'antibiotiques ont pu être inclus dans les modèles puisque l'association entre les signes cliniques et le résultat de la culture a été ajustée en fonction de ces variables.

Tableau XII – Résultat des modèles individuels GEE de l’association entre les signes cliniques et le résultat de la culture chez les vaches soupçonnées de salmonellose clinique, ajustés pour la taille du troupeau, la parité, le nombre de jours en lait, la saison et l’utilisation d’antibiotiques systémiques

Signe clinique	Valeur	Nombres de vaches échantillonnées	Nombre d’animaux positifs pour <i>Salmonella</i>	OR (IC95%)	Valeur <i>P</i>
Diarrhée	Oui	687	187 (27,2%)	1,1 (0,6 - 1,9)	0,87
	Non	63	25 (39,7%)		
Sang ou mucus	Oui	255	76 (29,8%)	1,7 (1,1 – 2,7)	0,02
	Non	467	126 (27,0%)		
Déshydratation	Oui	368	112 (30,4%)	1,5 (0,9 – 2,3)	0,11
	Non	358	89 (24,9%)		
Fièvre	Oui	335	127 (37,9%)	1,5 (0,6 – 3,5)	0,40
	Non	397	81 (20,4%)		
Décubitus	Oui	75	9 (12,0%)	0,5 (0,3 – 0,9)	0,03
	Non	647	191 (29,5%)		

Dans les modèles GEE individuels, 3 des signes cliniques étaient associées au résultat de la culture à $P < 0,2$ ce qui les rendaient éligibles à l’inclusion dans le modèle vaches: sang (ou mucus) dans les fèces, déshydratation et décubitus.

Parmi ces 3 signes cliniques initialement inclus dans le modèle vaches, seul le décubitus est demeuré significatif à $P < 0,05$. La probabilité de détecter des salmonelles était plus faible pour les vaches soupçonnées de salmonellose et qui étaient incapables de se lever, comparé aux vaches soupçonnées de salmonellose mais capables de se tenir debout (Tableau XIII en page 78). Malgré que son association au résultat de la culture ne fût pas statistiquement significatif, la variable déshydratation a été gardée dans le modèle final parce que le fait de la retirer changeait de façon importante la valeur des estimés des autres variables dans le modèle. Pour ce qui est des autres variables ayant été forcées dans le modèle (saison, taille du troupeau, jours en lait et utilisation d’antibiotiques), elles se sont toutes révélées être significativement associées au résultat de la culture, mise à part la taille du troupeau.

Tableau XIII - Facteurs associés avec l'excrétion de *Salmonella* spp. chez des vaches soupçonnées de salmonellose dans le modèle vaches

Signe clinique	Valeur	OR (IC95%)	Valeur P
Décubitus	Oui	0,5 (0,2 – 0,9)	0,03
Antibiotiques systémiques	Oui	2,5 (1,4 - 4,6)	0,003
Saison	Printemps	1,2 (0,4 – 3,6)	0,04
	Été	2,3 (0,9 – 6,6)	
	Automne	2,6 (1,1 – 6,3)	
	Hiver	1,0	
Jours en lait	≤30	0,5 (0,3 – 0,8)	0,04
	31-300	0,7 (0,3 – 1,7)	
	≥301	1,0	

3.3 Sensibilité et spécificité des signes cliniques et de la culture

La présence ou absence de diarrhée et fièvre ont été notées pour 1 425 vaches qui avaient en plus un résultat de culture de fèces. Cinq cent onze vaches présentaient de la diarrhée et de la fièvre et 407 cultures de fèces étaient positives pour *Salmonella* spp. La Se_{Cult} a été estimée à 0,78 (ICr95% : 0,55-0,99) alors que la Sp_{cult} a été estimée à 0,96 (ICr95% : 0,90-1,00). La Se_{sc} a été évaluée à 0,49 (ICr95%: 0,43-0,55) et la spécificité était la même que pour les veaux soit $Sp_{sc} = 0,71$ (95% CI: 0,67-0,76).

Pour fins de comparaison, la sensibilité et la spécificité du diagnostic clinique ont également été évaluées pour quelques autres combinaisons de signes cliniques et les résultats sont présentés dans le tableau XIV en page 79.

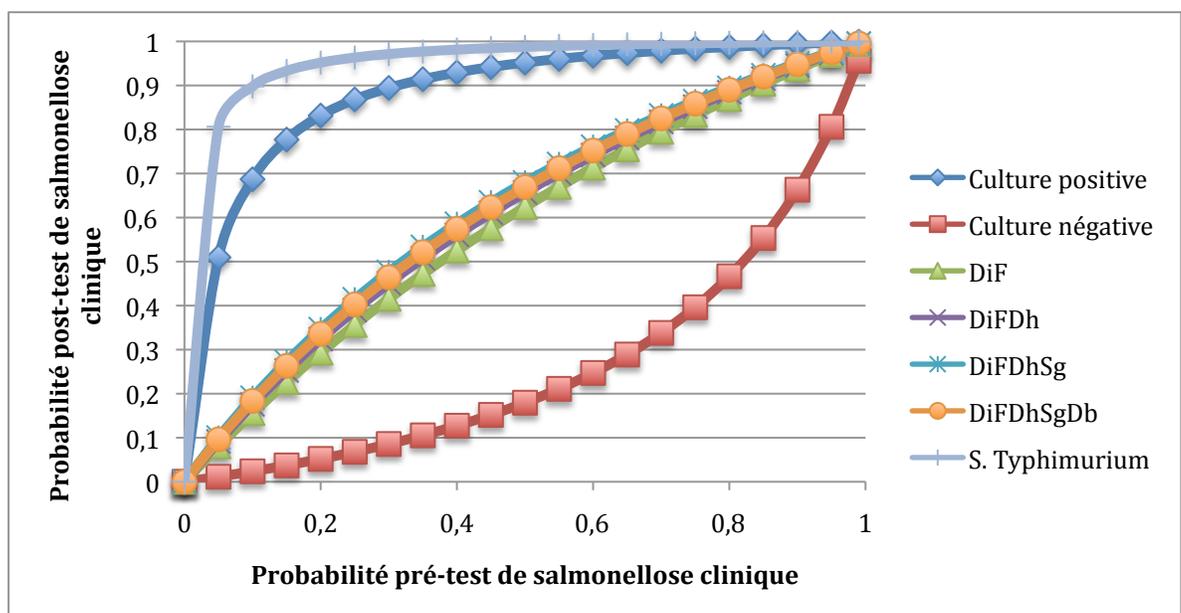
Les probabilités post-test de salmonellose clinique pour la culture de fèces et différentes combinaisons de signes cliniques ont été calculées à partir de différentes probabilités pré-test. Les résultats sont présentés sous forme graphique dans la figure 7 en page 79.

Tableau XIV - Sensibilité et spécificité du diagnostic clinique et de la culture de fèces pour le diagnostic de la salmonellose clinique

Signes cliniques	Se _{sc}	95% CI	Sp _{sc}	95% CI	Se _{Cult}	95% CI	Sp _{Cult}	95% CI
Di	0,09	0,07-0,11	0,92	0,91-0,94	0,55	0,33-0,97	0,95	0,89-0,98
DiF	0,49	0,43-0,55	0,71	0,67-0,76	0,78	0,55-0,99	0,96	0,90-1,00
DiFDh	0,32	0,27-0,37	0,83	0,80-0,88	0,78	0,52-0,99	0,96	0,90-0,99
DiFDhSg	0,16	0,12-0,20	0,93	0,90-0,96	0,74	0,46-0,99	0,97	0,90-1,00
DiFDhSgDb	0,13	0,09-0,16	0,93	0,91-0,97	0,71	0,46-0,98	0,97	0,90-1,00

Abbreviations : Di-Diarrhée; F-Fièvre; Dh-Déshydratation; Sg-Sang ou mucus; Db-Debout

Figure 7 - Probabilité post-test de salmonellose clinique suite à une culture de fèces ou à l'examen clinique chez des vaches laitières soupçonnées de salmonellose clinique



Abbreviations : Di-Diarrhée; F-Fièvre; Dh-Déshydratation; Sg-Sang ou mucus; Db-Debout

Chapitre 4

Discussion

1 Généralités, considérations méthodologiques et validité de l'étude

Dans le cadre de notre étude, un total de 2 517 échantillons provenant de bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique ont été recueillis dans 412 troupeaux. Ces animaux provenaient d'une population de plus de 327 000 bovins laitiers dans 831 troupeaux de 5 états du nord-est des États-Unis. Les résultats de notre étude pourraient être inférés à la population des bovins laitiers du nord-est des États-Unis puisque les troupeaux enrôlés étaient représentatifs de cette région en termes de taille de troupeaux, races, pratiques de régie et climat. Par contre, les tailles de troupeaux et pratiques de régie pourraient être un peu différentes de celles du Québec, et la prudence est de mise quant à la possibilité d'inférer nos résultats à la population de bovins laitiers du Québec.

À notre connaissance, seule une autre étude traite de la détection de salmonelles dans des cultures bactériologiques, à partir d'échantillons de fèces provenant strictement de bovins laitiers démontrant des signes cliniques de salmonellose. Dans l'étude californienne, 34,2% des 1 736 échantillons provenant de vaches laitières diarrhéiques étaient positifs pour *Salmonella* spp. (Sato et coll., 2001). Ceci est similaire à notre étude, alors que des salmonelles ont été détectées dans 29,1% des 1 479 échantillons provenant de vaches adultes. Puisque les troupeaux enrôlés dans notre étude devaient fournir des échantillons de tous les animaux soupçonnés de salmonellose clinique, et que les coûts associés étaient défrayés par le projet, il est probable que certains des échantillons recueillis n'auraient pas été soumis normalement, entre autres parce qu'un médecin vétérinaire n'aurait même pas été consulté pour les cas moins sévères, ou parce que le producteur n'aurait pas accepté de défrayer les coûts de la culture bactériologique. Ces échantillons provenant d'animaux aux signes cliniques moins sévères que ceux d'une population typique de bovins soupçonnés de

salmonellose, et excrétaient probablement des salmonelles en moins grande quantité, il est possible que la proportion d'échantillons positifs dans notre étude ait été légèrement sous-estimée par rapport à des échantillons qui auraient été soumis par des médecins vétérinaires dans le cadre de leur pratique habituelle.

Avant d'aller plus loin dans notre discussion de la détection de salmonelles dans les cultures de fèces d'animaux présentant des signes de salmonellose clinique, il importe de s'attarder d'abord aux erreurs de classification auxquelles notre étude était sujette. Celles-ci découlent principalement de trois facteurs: la sensibilité imparfaite de la culture bactériologique des fèces pour la détection de salmonelles, l'existence de porteurs asymptomatiques de salmonelles chez les bovins laitiers et la subjectivité dans l'évaluation des signes cliniques.

Comme nous l'avons vu dans la section 3.2.3 du Chapitre 1 en page 21, la sensibilité (probabilité que le test soit positif si l'animal est atteint de la maladie) de la culture bactériologique des fèces pour la détection de salmonelles est imparfaite. On peut donc assumer que certains des bovins laitiers échantillonnés dans le cadre de notre étude, qui étaient réellement atteints de salmonellose clinique mais chez qui *Salmonella* spp. n'a pas été détectée, ont été classifiés à tort comme étant sains (faux négatifs). Ceci est particulièrement vrai pour les animaux excrétaient de faibles quantités de salmonelles: d'après les résultats préliminaires d'une étude expérimentale, il semblerait que la probabilité d'obtenir une culture positive est pratiquement nulle lorsque la concentration des salmonelles est inférieure à 10^{-1} CFU/mL (Lorin D. Warnick, communication personnelle, novembre 2010). L'utilisation d'écouvillons rectaux plutôt que d'échantillons de fèces chez certains veaux de notre étude pourrait aussi avoir diminué la sensibilité de la culture chez ces animaux.

D'autre part, la spécificité (probabilité que le test soit négatif chez un animal sain) de la culture bactériologique des fèces pour la détection de salmonelles dans les études de prévalence d'excrétion fécale de salmonelles chez des animaux apparemment sains, est généralement considérée comme étant 100% (Nielsen et coll., 2004b). Il n'en est pas de même pour la spécificité de la culture bactériologique pour le diagnostic clinique de

salmonellose. En effet, il est possible que des salmonelles aient été détectées chez des animaux présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose, alors que ces signes étaient plutôt dus à autre maladie. Ces animaux ont donc été classifiés à tort comme malades, souffrant de salmonellose clinique (faux positifs). Ce phénomène est possible à cause de l'existence de porteurs asymptomatiques de salmonelles chez les bovins laitiers. Il s'agit là d'un problème bien connu en médecine humaine, alors que les généralistes y font face régulièrement lorsque confrontés à un patient souffrant d'un mal de gorge. En effet, un certain pourcentage de la population humaine est porteuse de streptocoques β hémolytiques du groupe A (*group A beta hemolytic streptococci* ou GABHS), sans toutefois démontrer de signes cliniques y étant associés (Hoffmann, 1985). La détection de la bactérie chez un patient souffrant de mal de gorge ne signifie donc pas nécessairement que les GABHS sont la cause du mal de gorge (Gunnarsson et Lanke, 2002). Le patient pourrait très bien être à la fois porteur asymptomatique de GABHS et souffrir d'un mal de gorge d'étiologie virale, par exemple. De la même façon, pour ce qui est des salmonelles, le problème n'est donc pas tant la spécificité de la culture bactériologique pour la détection de *Salmonella* spp., qui est excellente, que les valeurs prédictives du test (probabilité d'être malade (ou non) en fonction du résultat positif (ou négatif) du test) puisqu'il y a possibilité de porteurs asymptomatiques. Lors de l'interprétation du résultat d'un test dans un contexte clinique, il est donc important de ne pas confondre la présence de l'agent pathogène avec la présence de la maladie pouvant être causée par l'agent pathogène en question. Pour pallier à ce problème, des chercheurs ont d'ailleurs proposé de calculer une « valeur prédictive étiologique » (*etiologic predictive value* ou EPV) afin de tenir compte de ce phénomène (Gunnarsson et Lanke, 2002). Il est aussi possible que certaines vaches chez qui des salmonelles ont été détectées ne souffraient non seulement pas de salmonellose clinique, mais n'étaient en plus que des porteuses passives, n'étant pas colonisées par *Salmonella* spp. et n'excrétant que des bactéries ingérées dans un environnement contaminé.

Il est possible que certains veaux puissent être porteurs asymptomatiques de salmonelles, surtout pour ce qui est de *S. Dublin*. En Angleterre, Gitter et collaborateurs ont rapporté l'excrétion de *S. Dublin* chez un veau pendant plus d'un an après la résolution de la maladie clinique (Gitter et coll., 1978). Dans une étude expérimentale, les veaux survivant à

l'infection avec une forte dose de *S. Typhimurium* excrétaient de façon continue pendant un maximum de 20 jours puis de façon intermittente jusqu'à 7 semaines chez certains veaux (Wray et Sojka, 1978). Dans une autre étude effectuée en Angleterre, *Salmonella* spp. (surtout les sérotypes Typhimurium et Dublin) a été isolée sur des fermes d'élevage de veaux pour des périodes allant jusqu'à 16 jours chez 217/423 (51%) veaux achetés à l'encan, alors que seulement 4 veaux étaient positifs à leur arrivée (Wray et coll., 1987). Finalement, Alexander et collaborateurs (2009) ont suivi des jeunes veaux sur 2 fermes du nord-est américain ayant vécu des éclosions de salmonellose, afin de déterminer la durée de l'excrétion fécale. Des écouvillons rectaux étaient effectués 1 à 2 fois par semaine et lorsqu'un échantillon était positif pour *Salmonella*, le veau était ré-échantillonné jusqu'à ce que 3 échantillons consécutifs soient négatifs. La période d'excrétion rapportée semblait similaire pour les 2 troupeaux: la plupart des veaux n'ont excrété *Salmonella* qu'à une seule reprise et seuls quelques veaux ont excrété durant plus de 14 jours suivant leur 1^{er} échantillon positif. De plus, parmi les veaux ayant eu au moins une culture positive, seuls 45% et 19% (troupeau A et B, respectivement) ont séroconverti et plusieurs n'ont démontré aucun signe clinique. Il est donc fort possible que plusieurs de ces veaux étaient des porteurs passifs n'ayant pas été colonisés par la bactérie, plutôt que des porteurs actifs (Alexander et coll., 2009). Il semble donc possible que des salmonelles aient été détectées chez quelques veaux de notre étude sans pour autant que ces derniers souffrent de salmonellose, même s'ils en présentaient les signes cliniques, le tout résultant en leur classification dans la mauvaise catégorie.

Chez les vaches adultes, les porteurs chroniques sont fréquents pour *S. Dublin*, un sérotype adapté à l'hôte. Les sérotypes autres que *S. Dublin* sont beaucoup moins susceptibles de causer des porteurs asymptomatiques, et l'excrétion semble alors être de plus courte durée, allant de quelques semaines à quelques mois (versus plusieurs années ou même à vie pour *S. Dublin*!) (Davies, 1997; Richardson, 1975; Wray et Davies, 2000). Tout comme c'est le cas pour les veaux, il est donc possible que certaines vaches de notre étude aient été classifiées erronément comme malades alors qu'elles n'étaient que porteuses de *Salmonella* spp. Cependant, on pourrait penser que vu les sérotypes isolés dans notre étude (aucun *S. Dublin*), il est peu probable que le nombre de porteurs asymptomatiques eut été très élevé.

Pour le déterminer, il aurait fallu échantillonner un nombre significatif d'animaux représentatifs de la population à l'étude mais ne présentant pas de signes cliniques. C'est d'ailleurs l'approche suggérée par Gunnarsson et Lanke (2002) pour le calcul de la valeur prédictive étiologique d'un test. Dans d'autres études, la prévalence d'excrétion fécale chez des veaux laitiers apparemment sains variait de 2,1 à 8,3% (Berge et coll., 2006; Fossler et coll., 2005b; Lance et coll., 1992; Losinger et coll., 1995; Warnick et coll., 2001). Pour ce qui est des laitières adultes apparemment saines, nous avons vu dans le tableau III en page 33 que la prévalence d'excrétion fécale est en général autour de 5-10%.

Par ailleurs, il n'y a pas de raison de croire que les erreurs de classification diffèrent selon la présence ou l'absence d'un ou de certains des signes cliniques. Bien que Warnick et collaborateurs (2003b) aient rapporté que la présence de diarrhée augmentait les risques d'excrétion fécale de *Salmonella*, nous ne croyons pas qu'il s'agisse là d'une source de biais dans notre étude. En effet, la population à l'étude par Warnick et collaborateurs était bien différente de la nôtre puisque la majorité des animaux échantillonnés dans leur étude étaient cliniquement normaux alors que dans la nôtre, tous les animaux présentaient des signes cliniques compatibles avec la salmonellose clinique. Si un biais avait été introduit dans notre étude à cause d'une erreur de classification différentielle selon la présence ou non de diarrhée, nous aurions pu nous attendre à ce que comme dans l'étude de Warnick et collaborateurs, la présence de diarrhée ait été associée à l'excrétion fécale de salmonelles, ce qui n'était absolument pas le cas. Nous assumons donc que les erreurs de classification dans notre étude sont non-différentielles selon la présence ou l'absence de diarrhée et conséquemment, il n'y a pas de raison de croire que les mesures d'association soient biaisées autrement qu'en faveur de l'hypothèse nulle (Dohoo et coll., 2003).

L'évaluation des signes cliniques présents chez un animal soupçonné de salmonellose clinique est sujette à une certaine subjectivité, qui peut varier entre autres selon le signe clinique et l'expérience de la personne examinant l'animal. Cette subjectivité a pu donner lieu à des erreurs de classification des signes cliniques dans notre étude. On s'attendrait peut-être à un peu moins d'erreurs de classification pour la fièvre et le décubitus que pour les autres signes cliniques. La présence ou absence de fièvre est déterminée suite à la prise

de la température de l'animal qui, si elle n'est pas exempte de la possibilité d'erreur de mesure, comporte peu d'élément de subjectivité. Quant au décubitus, il s'agit également d'un signe clinique peu subjectif puisque la différence entre un bovin capable ou incapable de se lever est assez claire. D'autre part, la diarrhée, déshydratation et la présence de sang ou de mucus dans les fèces sont des signes cliniques plus subjectifs. Du sang et/ou du mucus peuvent être présents dans les fèces de façon intermittente ou encore en quantité si minime qu'il est difficile de l'observer. Le fumier des bovins laitiers étant en général plutôt mou et sa texture ayant tendance à varier en fonction de l'alimentation, la distinction entre la diarrhée et un fumier normal peut parfois être difficile à faire. Finalement, la déshydratation n'est pas toujours visible à l'œil et le seuil de détection peut varier selon l'expérience de l'observateur et son application à effectuer l'examen physique de l'animal (en s'assurant de vérifier la persistance du pli cutané et d'évaluer l'état des muqueuses par exemple). Pour la plupart des signes clinique, on s'attendrait à ce que les erreurs de classification aient été plutôt des faux négatifs (le signe clinique était présent mais n'a pas été observé) que des faux positifs (il serait par exemple surprenant d'avoir noté la présence de sang dans les fèces si du sang n'était effectivement pas présent, ou d'avoir inscrit qu'un animal faisait de la fièvre alors que sa température était normale) et la présence de ces faux négatifs aurait pu biaiser les mesures d'association en faveur de l'hypothèse nulle.

En plus des erreurs de classification, notre étude aurait pu être sujette à différents types de biais, dont nous discuterons dans les prochains paragraphes. D'abord, chacune des cliniques vétérinaires participantes devait normalement enrôler tous ses clients laitiers suivis régulièrement. Malheureusement, certaines cliniques n'ont enrôlé qu'une faible proportion de leurs clients. Cependant, une analyse des données d'enrôlement de notre étude a démontré que les taux d'incidence de salmonellose clinique étaient similaires au sein des troupeaux ayant été enrôlés par les cliniques ayant un pourcentage d'enrôlement élevé (au moins 50% de leurs clients) et au sein des troupeaux ayant été enrôlés par les cliniques ayant un faible pourcentage d'enrôlement (Cummings et coll., 2009b). Ceci suggère que malgré le fait que certaines cliniques n'aient enrôlé qu'un nombre restreint de leurs troupeaux, il ne semble pas qu'un biais de sélection ait été introduit lors de l'enrôlement des troupeaux par les cliniques vétérinaires participantes.

Le nombre d'échantillons soumis par troupeau était très variable et la grande majorité des troupeaux n'ont soumis qu'un petit nombre d'échantillons. Cependant, les troupeaux positifs ont eu tendance à soumettre plus d'échantillons que les troupeaux négatifs. Par ailleurs, comme la proportion d'échantillons positifs par troupeau était similaire peu importe le nombre d'échantillons soumis, il est peu probable qu'un biais de sélection ait été introduit de cette façon.

Alors que la majorité des fermes n'ont eu aucun cas clinique confirmé de salmonellose au cours de l'étude, la proportion d'échantillons positifs était extrêmement variable au sein des troupeaux positifs. La proportion d'échantillons positifs était très élevée pour quelques fermes et jusqu'à la totalité des échantillons soumis par certains troupeaux étaient positifs pour *Salmonella*. Il est possible que la proportion d'échantillons positifs plus élevée dans certains troupeaux représente tout simplement une incidence de salmonellose clinique plus élevée pour les dits troupeaux, ou alors une prévalence d'animaux porteurs asymptomatiques plus élevée. D'ailleurs, Fossler et collaborateurs (2004) ont rapporté dans une étude de prévalence que 75% des échantillons fécaux et environnementaux positifs provenaient de seulement 25% des fermes enrôlées. Ce phénomène a également été décrit pour *E. coli* O157 : alors que la prévalence d'infection est faible pour la majorité des troupeaux, une petite proportion des troupeaux a une prévalence très élevée (Matthews et coll., 2006b). Des études de modélisation ont identifié la présence de « super-excréteurs » comme une des explications possibles de la grande variabilité de la prévalence de *Salmonella* spp. ou *E. coli* dans les troupeaux (Lanzas et coll., 2008; Matthews et coll., 2006a; Matthews et coll., 2006b). Le terme super-excréteur a d'abord été introduit pour décrire les animaux porteurs asymptomatiques de *E. coli* O157 qui excrètent des quantités inhabituellement élevées de bactéries (Low et coll., 2005). Il est possible que les importantes éclosions de salmonellose clinique dans certains troupeaux soient reliées à la présence de maladies concomitantes (entre autres présence de désordres métaboliques tel l'acidose subclinique du rumen) ou de stress nutritionnels ou autres, tel que décrit par Anderson et collaborateurs (2001). Des super-excréteurs pourraient de plus être présents dans ces troupeaux, à cause d'une résistance immunitaire diminuée due aux problèmes concomitants (Lanzas et coll., 2008).

Il est bien connu en médecine humaine (ou vétérinaire dans les pays où la salmonellose est une maladie à déclaration obligatoire ou à notification immédiate) que les études sur la salmonellose basées sur les données obtenues par un système de surveillance passif sont sujettes à de nombreux biais de sélection, à cause des circonstances inhérentes au processus d'échantillonnage et de déclaration des cas (Hollinger, 2000). En médecine humaine, on estime que les cas de salmonellose humaine rapportés au CDC ne représenteraient que 1-5% de l'incidence annuelle réelle de salmonellose (Chalker et Blaser, 1988). Des biais de sélection peuvent donc se produire lorsque par exemple, seuls les animaux (ou humains) présentant des signes cliniques ou ayant une valeur économique importante (ou une bonne assurance-santé dans le cas de la médecine humaine) sont échantillonnés (Hollinger, 2000). De tels biais sont moins susceptibles d'avoir été présents dans notre étude que dans un système de surveillance passif puisque les troupeaux avaient été spécifiquement recrutés et s'étaient engagés à signaler tous les animaux soupçonnés de salmonellose clinique. De plus, le facteur économique n'entrait pas en ligne de compte ici puisque les frais étaient pris en charge par l'étude. Finalement, même si tous les animaux des troupeaux enrôlés avaient au départ la même probabilité d'être échantillonnés, seuls ceux présentant des signes cliniques compatibles avec la salmonellose au cours de l'étude étaient échantillonnés. Cette sous-population de bovins soupçonnés de salmonellose clinique était donc plus homogène quant à la probabilité de détection de salmonelles.

Comme c'est souvent le cas pour les études d'observation, des données manquantes pour certains des signes cliniques ou autres variables ont conduit à l'élimination d'un certain nombre d'animaux des analyses. Cependant, ni le résultat de la culture bactériologique ni aucun des signes cliniques n'étaient significativement associés au fait d'avoir une donnée manquante pour au moins un des signes cliniques. Il semble donc que bien que l'élimination des données manquantes ait forcément diminué la puissance de notre étude en réduisant la taille d'échantillon, elle est peu susceptible d'avoir causé un biais. Le problème des données manquantes était particulièrement criant chez les taures, où la variable « utilisation d'antibiotiques dans les 7 jours précédant l'échantillonnage » a dû être retirée des modèles puisque l'information était manquante pour la moitié des animaux. Ce problème aurait probablement pu être minimisé si le formulaire de soumission (voir annexe

2), en plus de la colonne « liste des antibiotiques utilisés », avait comporté une case à cocher précisant si des antibiotiques avaient ou non été utilisés. En effet, comme certains formulaires portaient la mention « aucun » alors que d'autres étaient laissés blancs dans la colonne « utilisation d'antibiotiques », il devenait difficile d'assumer que si rien n'était écrit, c'est que l'animal n'avait pas reçu d'antibiotiques. La question se posait également pour les veaux et les vaches, si bien que pour ces 2 groupes d'animaux, l'analyse a été effectuée avec les 2 scénarios (colonne vide égale « pas d'utilisation d'antibiotiques » versus « donnée manquante ») et cela n'a pas eu d'effet sur les résultats.

De par la structure de nos données, nous devons lors de nos analyses, tenir compte de la corrélation existant entre les animaux provenant d'un même troupeau. En effet, ignorer l'effet du groupement peut résulter en des modèles mal ajustés, une sous-estimation de la variance et des estimés d'erreur standard trop petits (Burton et coll., 1998; Hu et coll., 1998). Lorsque les données sont normalement distribuées, un effet aléatoire peut simplement être ajouté à un modèle de régression linéaire, qui deviendra alors un modèle linéaire mixte. Dans le cas de données binaires comme c'est le cas ici, 2 approches peuvent être utilisées : les équations d'estimation généralisées et les modèles linéaires généralisés mixtes (*Generalized linear mixed models* ou GLMM). Par l'approche GEE, on ne modélise pas directement la corrélation entre les mesures. De plus les inférences sont marginales (*population-average*; inférences sur les effets moyens des variables exogènes dans la population, et non pas sur les effets sur les groupes). À l'inverse, l'ajout d'effets aléatoires dans le modèle linéaire généralisé permet la modélisation de cette corrélation et de faire des inférences conditionnelles (*cluster-specific*; inférences au niveau des groupes), et on parlera alors de modèles linéaires généralisés mixtes. De plus, on suppose que les effets aléatoires dans un GLMM suivent, comme pour le modèle linéaire mixte, une distribution normale. Conditionnellement aux effets aléatoires, la variable endogène suit une loi faisant partie de la famille exponentielle. Les estimés calculés à partir des 2 méthodes sont numériquement différents et leur interprétation n'est pas non plus la même.

Nous avons choisi ici d'utiliser l'approche GEE pour tenir compte de la corrélation entre les résultats d'échantillons provenant d'animaux faisant partie du même troupeau. Nous

avons privilégié cette approche parce que nous étions intéressés par l'association entre les signes cliniques de salmonellose et les résultats de culture pour la population en général, et non pour chaque troupeau spécifiquement. L'approche GEE traite la corrélation entre les observations comme une nuisance, et une matrice de corrélation de travail (*working correlation matrix*) est spécifiée pour tenir compte de la dépendance entre les observations. Cette matrice est assumée être la même pour tous les sujets, et plusieurs structures de corrélation peuvent être utilisées (indépendante, échangeable, autorégressive), dépendant de ce qu'on croit être la structure des données. Par exemple, une matrice indépendante assume qu'il n'y a aucune corrélation entre les données (les estimés seront alors les mêmes que ceux d'une régression logistique standard), une matrice échangeable assume une corrélation uniforme entre toutes les données et une matrice autorégressive assume que les observations sont seulement reliées à leur propre valeur passée. Il a été démontré que même si la structure de la matrice de corrélation hypothétique a été mal spécifiée, ou si la corrélation entre les observations varie légèrement de groupe en groupe, l'approche GEE donnera quand même de bons estimés des coefficients de régression ainsi que des estimés robustes de la variance (Liang et Zeger, 1986). De plus, nous n'étions alors pas limités par l'hypothèse de normalité de l'effet aléatoire allant de pair avec un modèle spécifique au groupe.

Pour ce qui est des inférences statistiques, alors que pour la plupart des modèles de régression elles sont basées sur un test du rapport de vraisemblance, pour les modèles GEE elles sont plutôt basées sur un test de Wald. De plus, les méthodes de validation des hypothèses et de la qualité de l'ajustement d'un modèle d'équations d'estimation généralisées sont peu développées. Un autre désavantage de l'approche GEE est qu'elle ne peut être utilisée que lorsqu'il n'y a qu'un seul niveau de groupement.

2 Présentation clinique chez les veaux

De la diarrhée était présente chez la majorité des veaux soupçonnés de salmonellose clinique. Par contre, seulement 39% des veaux échantillonnés avaient de la fièvre et 21% de ceux-ci excrétaient des salmonelles. Ce résultat peut paraître surprenant puisque dans la littérature, la diarrhée accompagnée d'une fièvre élevée sont considérés comme les signes

cardinaux d'une infection à *Salmonella* spp (Radostits et coll., 2007; Smith, 2002; Wray et Davies, 2000). Cependant, alors que la température corporelle chez les veaux atteints de salmonellose est souvent très élevée initialement ($> 41^{\circ}\text{C}$), elle descend rapidement en raison de la chaleur perdue par la diarrhée, ce qui peut expliquer la température normale ou même diminuée chez plusieurs veaux souffrant de salmonellose (Rings, 1985). La déshydratation et le décubitus également présents chez une bonne proportion des veaux pourraient également avoir contribué à abaisser la température corporelle chez ces animaux. La fièvre n'est souvent que transitoire et les veaux qui succombent à la maladie sont souvent hypothermiques dans les 12 à 24 heures précédant leur mort (Mohler et coll., 2006). Près du quart des veaux échantillonnés étaient incapables de se tenir debout, ce qui n'est pas surprenant puisque les veaux diarrhéiques se retrouvent rapidement en acidose métabolique et les veaux en décubitus ont souvent un pH sanguin inférieur à 7,0 (pH normal = 7,37 à 7,43) (Rings, 1985).

Vingt-neuf combinaisons différentes des 5 signes cliniques à l'étude ont été notées chez les veaux soupçonnés de salmonellose et la proportion d'échantillons positifs selon les différentes combinaisons possibles était assez variable. Ce sont les veaux présentant la totalité des 5 signes cliniques qui avaient la plus grande proportion d'échantillons positifs (34,0%), suivis de très près par les veaux ne présentant que diarrhée et déshydratation (33,3%). Seulement 4,9% des veaux présentant comme seuls signes cliniques de la diarrhée accompagnée de sang ou de mucus excrétaient des salmonelles. Il est probable que la majorité des veaux présentant seulement ces 2 signes cliniques étaient infectés par des coccidies plutôt que par *Salmonella* spp. Le nombre de signes cliniques présent(s) n'était pas associé à la détection de salmonelles dans les fèces.

Salmonella spp. a pu être isolée chez 17,1% des veaux ne présentant aucun des 5 signes cliniques que les médecins vétérinaires devaient rapporter sur le formulaire de soumission. Cependant, il faut se rappeler que pour être échantillonné dans le cadre de l'étude, un animal devait tout de même présenter certains signes cliniques compatibles avec la salmonellose. Donc un veau échantillonné mais pour lequel aucun des 5 signes cliniques n'a été rapporté sur le questionnaire de soumission présentait tout de même probablement

de l'abattement, dépression ou diminution d'appétit, ou alors avait été trouvé mort après une brève période d'inappétence en l'absence de signes cliniques spécifiques à une autre maladie. Ces animaux n'étaient peut-être qu'en début de la forme entérique ou alors souffraient de la forme septicémique ou encore de la forme chronique de la maladie, plus rares.

Dans le modèle GEE final, aucun signe clinique n'était significativement associé à la probabilité de détecter des salmonelles mais celle-ci tendait à être plus élevée pour les veaux souffrant de déshydratation ou étant en décubitus que pour ceux ne présentant pas ces signes cliniques. Il n'est pas très surprenant que l'information obtenue sur les signes cliniques soit marginale, suite au processus de sélection des animaux à échantillonner qui était lui-même basé sur la présence d'un ou de plusieurs des signes cliniques.

Bref, la présentation clinique chez des veaux atteints de salmonellose clinique est assez variable. Dans une population de veaux soupçonnés de salmonellose clinique, ceux présentant à la fois diarrhée, fièvre, déshydratation, sang ou mucus dans les fèces et décubitus ou encore ceux ne présentant que diarrhée et fièvre avaient la plus grande proportion d'excrétion fécale de salmonelles. Au contraire, seule une faible proportion de ceux ne présentant que diarrhée accompagnée de sang ou de mucus excrétaient des salmonelles. La proportion d'échantillons positifs était pratiquement identique, que les veaux présentent la totalité des 5 signes cliniques ou seulement de la diarrhée et de la déshydratation. Cela illustre bien le défi que représente le diagnostic de la salmonellose clinique chez les veaux pour le praticien bovin. Bien sûr, plusieurs des principes de contrôle des maladies infectieuses sont les mêmes peu importe le(les) agent(s) pathogène(s) responsable(s) d'un problème de diarrhée chez les veaux mais il n'en demeure pas moins qu'un diagnostic précis de l'étiologie peut aider à faire des choix de régie mieux éclairés, lors de la mise en place d'un programme de vaccination par exemple.

3 Présentation clinique chez les taures

Comparativement aux veaux et aux vaches adultes, relativement peu d'échantillons ont été soumis pour des taures. De plus, une très faible proportion de ces échantillons (4,3%) se

sont avérés positifs pour *Salmonella*. Peu d'études sur l'excrétion fécale de salmonelles s'intéressent aux taures. Néanmoins, nos résultats sont presque identiques à ceux de Warnick et collaborateurs (2003b) qui ont rapporté 4,1% d'échantillons positifs chez des taures provenant de troupeaux ayant une histoire de salmonellose clinique.

Le nombre de combinaisons de signes cliniques observé chez les taures était également plus faible que pour les vaches ou les veaux. Le seul signe clinique qui était significativement associé au résultat de la culture bactériologique était le décubitus. En effet, les taures soupçonnées de salmonellose et qui étaient en décubitus étaient beaucoup plus à risque d'avoir une culture de *Salmonella* positive. La salmonellose n'est généralement pas en tête de liste d'un diagnostic différentiel de décubitus. Cependant, ce résultat n'est pas si surprenant vu les pratiques de régie en cours dans plusieurs troupeaux laitiers enrôlés dans notre étude, alors que les taures sont logées dans un bâtiment (ou une partie du bâtiment) à part du troupeau adulte et ne sont visitées qu'une fois par jour, parfois deux. Une taure souffrant de salmonellose peu facilement passer inaperçue pour plusieurs jours et n'être identifiée que lorsqu'elle est en décubitus à cause de la déshydratation et l'endotoxémie.

4 Présentation clinique chez les vaches

Des salmonelles ont été détectées chez vingt-neuf pourcent des vaches soupçonnées de salmonellose clinique. Au moins vingt-sept combinaisons différentes de signes cliniques ont été observées. Parmi les cinq combinaisons de signes cliniques les plus fréquentes, celle où le plus grand nombre d'échantillons positifs ont été observés (48,6%) était la combinaison diarrhée, fièvre, sang ou mucus dans les fèces et déshydratation. Tout comme c'était le cas chez les veaux, le nombre de signes cliniques présent(s) n'était pas associé à la détection de salmonelles dans les fèces.

Le seul signe clinique qui était significativement associé à la détection de salmonelles dans le modèle GEE final était le décubitus. Ainsi, la probabilité de détection de *Salmonella* spp. était plus faible parmi les vaches qui étaient incapables de se lever. Ceci est un peu surprenant mais pourrait refléter le fait que le décubitus n'est généralement pas un signe

clinique de salmonellose chez les vaches adultes et que d'autres conditions comme la fièvre vitulaire en sont des causes beaucoup plus fréquentes.

5 Sérotypes

Il n'est pas surprenant que la grande majorité des échantillons sérotypés dans le cadre de notre projet fussent Newport et Typhimurium (72% chez les veaux et 59% chez les vaches). En effet, cela correspond à 2 des sérotypes les plus fréquemment isolés de cas cliniques de salmonellose bovine aux États-Unis en 2007-2008 par le NVSL, soit Dublin (17,9%), Typhimurium (14,8%), Cerro (10,8%), Newport (8,4%) et Montevideo (6,4%) (Morningstar-Shaw et coll., 2008). Dans une étude sur les facteurs de risques de la salmonellose clinique dans des troupeaux de bovins (boucherie et laitiers) de la Virginie, 85% des échantillons sérotypés provenant de cas cliniques étaient du *S. Typhimurium* (Warnick et coll., 2001) alors que dans une étude californienne où les échantillons provenaient de vaches laitières diarrhéiques, c'est 43,8% des isolats qui étaient du *S. Typhimurium* (Sato et coll., 2001). Selon les auteurs de cette dernière étude, la proportion apparemment plus élevée de *S. Typhimurium* par rapport à d'autres sérotypes pourrait dans ce cas refléter un certain biais de sélection: puisque Typhimurium a tendance à causer des signes cliniques plus sévères que d'autres sérotypes, il y a plus de chances qu'un échantillon soit soumis au laboratoire lorsqu'un animal en est infecté.

S. Dublin n'a pas été isolé d'un seul échantillon au cours de notre étude. Cela peut s'expliquer en partie parce que ce sérotype n'est pas encore très fréquent dans le nord-est de États-Unis (McDonough et coll., 1999) mais aussi parce qu'il s'agit d'un sérotype adapté à l'espèce bovine, qui se présente généralement comme une maladie respiratoire plutôt qu'entérique (Divers et Peek, 2008). Il est donc fort probable que même si quelques animaux avaient été infectés avec *S. Dublin* au cours de notre étude, la majorité d'entre eux n'auraient pas été identifiés comme soupçonnés de salmonellose puisque les signes cliniques décrits aux producteurs lors de leur enrôlement dans l'étude, et identifiés sur le formulaire de soumission, étaient plutôt ceux d'une entéropathie.

Il est très intéressant de noter la différence entre les sérotypes isolés lors d'échantillonnage de bovins malades, comme c'est le cas ici, et ceux isolés dans des études de prévalence alors que des animaux apparemment sains sont échantillonnés. Par exemple, lors de la plus récente étude américaine sur la santé des bovins laitiers (*NAHMS Dairy 2007 study*), les sérotypes les plus fréquemment isolés dans 121 troupeaux laitiers représentatifs de différentes régions et taille de troupeau étaient, en ordre décroissant, Cerro, Kentucky, Montevideo, Muenster, Meleagridis, Mbandaka et Newport (USDA, 2009b). Dans le cadre de la même étude, les sérotypes les plus fréquemment isolés du lait de réservoir ou de filtres à lait étaient Cerro, Kentucky, Muenster, Anatum et Newport (USDA, 2009a). Quelques autres études récentes rapportaient les sérotypes suivants comme les plus fréquemment excrétés lors d'études de prévalence fécale ou environnementale: Montevideo et Munster (Callaway et coll., 2005), Mbandaka, Montevideo, Kentucky et Senftenberg (Edrington et coll., 2004b; Edrington et coll., 2004a), et finalement Anatum (Rodriguez et coll., 2006).

Mis à part *S. Dublin* qui est reconnu pour causer une symptomatologie particulière, il semblerait donc que la différence entre les sérotypes s'exprimerait non pas par une différence des signes cliniques observés mais plutôt par le fait que certains sérotypes ont tendance à causer la maladie clinique (Typhimurium, Newport) alors que d'autres sont généralement détectés chez des animaux cliniquement sains (Kentucky, Muenster, Anatum). Cette différence entre les sérotypes isolés lors d'échantillonnage de bovins malades, et ceux isolés chez des animaux apparemment sains, pourrait aider le médecin vétérinaire praticien à interpréter le résultat d'une culture bactériologique positive chez un animal présentant des signes cliniques de salmonellose.

6 Association entre certains facteurs de risque et la détection de *Salmonella* spp.

Salmonella spp. a été détectée dans une plus faible proportion des échantillons provenant de taures (4,3%) et de veaux (18,2%) que de vaches (29,1%), ce qui ne signifie pas que la maladie soit moins fréquente chez les veaux que chez les vaches. Au contraire, les taux

d'incidence de salmonellose clinique pour les animaux de notre étude étaient plus élevés pour les veaux que pour les vaches: 8,1, 0,04 et 1,8 cas par 1 000 animal-année pour les veaux femelles, taures et vaches adultes respectivement, tel que rapporté par nos collègues (Cummings et coll., 2009b). Deux raisons principales peuvent alors expliquer la proportion d'échantillons positifs plus faible chez les veaux que chez les vaches : une plus faible sensibilité de la culture ainsi qu'un nombre plus élevé de conditions pathologiques pouvant causer des signes cliniques similaires à la salmonellose chez les veaux que chez les vaches.

En effet, la sensibilité de la culture bactériologique pour le diagnostic de salmonellose clinique dans notre étude a été estimée à 48% pour les veaux alors qu'elle était de 78% pour les vaches. Nous pouvions donc nous attendre à une proportion plus élevée de faux négatifs chez les veaux. Notre estimation de la sensibilité de la culture pour les veaux est d'ailleurs relativement similaire à celle rapportée par Richardson et collaborateurs (1973) et qui était de 44,7% pour des écouvillons rectaux provenant de veaux atteints de salmonellose clinique tel que confirmé par nécropsie. À notre connaissance, aucune étude de ce genre n'a été effectuée pour évaluer la sensibilité de la culture de fèces pour le diagnostic de salmonellose clinique chez des bovins adultes.

De plus, nombreux sont les autres agents pathogènes gastro-intestinaux pouvant causer des signes cliniques similaires à la salmonellose chez les veaux: *Escherichia coli*, rotavirus et coronavirus, clostridies, cryptosporidies, giardia et coccidia (Smith, 2002). D'ailleurs, au moins un de ces agents pathogènes était présent chez la majorité des veaux de notre étude, seul ou en combinaison avec *Salmonella* spp. Chez les vaches adultes, non seulement le diagnostic différentiel est plus restreint mais certaines des conditions en faisant partie sont plutôt rares, comme les intoxications.

La faible proportion d'échantillons positifs de même que la faible incidence de salmonellose clinique chez les taures était prévisible puisque c'est ce qui est rapporté dans la littérature (Warnick et coll., 2003b).

Plusieurs chercheurs ont tenté de déterminer si les veaux étaient effectivement plus susceptibles aux infections à *Salmonella* spp. que les vaches. Fossler et collaborateurs

(2005c) ont rapporté une proportion d'échantillons positifs plus faible pour les veaux que pour les vaches (3,8% pour les veaux versus 4,8% pour les vaches adultes saines et 8,2% pour les vaches malades mais pas nécessairement soupçonnées de salmonellose) mais la plupart des animaux échantillonnés dans leur étude ne démontraient pas de signes cliniques de salmonellose. À l'inverse, plusieurs études ont rapporté que les veaux étaient un des groupes chez qui il était le plus probable d'isoler des salmonelles (Gay et Hunsaker, 1993; Pacer et coll., 1989; Warnick et coll., 2003b). Quelques facteurs pourraient expliquer ces différences entre l'étude de Fossler et collaborateurs et les autres. D'abord dans l'étude de Pacer et collaborateurs (1989), 75 troupeaux sans histoire récente d'infection à *S. Newport* ont été échantillonnés en prenant des écouvillons rectaux de 10 veaux (préférentiellement diarrhéiques) et des 10 premières vaches en lactation et 10 premières vaches tarées observées à passer du fumier. Étant donnée la faible sensibilité des écouvillons rectaux pour la détection de salmonelles lors de faible excrétion (McCall et coll., 1966), l'étude de Pacer et collaborateurs pourrait avoir été biaisée en sélectionnant surtout des veaux diarrhéiques (et donc excrétaient probablement des salmonelles en plus grande quantité) comparativement à des vaches en santé n'excrétant qu'à de faibles niveaux. Quant à l'étude de Gay et Hunsaker, elle ne s'intéressait qu'à une seule ferme laitière californienne, limitant donc la possibilité d'extrapolation des résultats à d'autres exploitations. Dans l'étude de Warnick et collaborateurs (2003b) portant sur la détection de salmonelles dans 65 troupeaux avec une histoire récente de salmonellose clinique, des salmonelles avaient plus de chance d'être détectées chez les veaux que chez les vaches (cet effet était statistiquement significatif chez les animaux n'ayant pas reçu d'antimicrobiens mais ne l'était pas chez les animaux en ayant reçu). Finalement, dans une autre étude dont le but était d'évaluer différentes stratégies d'échantillonnage pour détecter les fermes positives pour *Salmonella*, la probabilité de détecter des salmonelles chez les veaux de moins de 2 mois était plus faible que chez les vaches (Warnick et coll., 2003a). Par contre, cette dernière étude a également mis en lumière le fait que les catégories d'animaux (veaux, vaches malades, de réforme, péri-partum) chez lesquels la détection de salmonelles était la plus probable, étaient très variables d'un troupeau à l'autre. Ainsi, dans certains troupeaux, c'était parmi les veaux qu'il y avait plus de chances de détecter des salmonelles. Il se pourrait donc qu'il ne soit tout simplement pas possible de généraliser et que l'effet de la catégorie d'animaux sur la

détection de salmonelles dans les fèces soit variable d'un troupeau (région, étude, saison, état de santé, régie de troupeau, sérotype de *Salmonella* en cause) à l'autre.

Comme nous l'avons mentionné plus haut, une partie des veaux de notre étude ont été testés pour la présence d'autres agents pathogènes gastro-intestinaux et une proportion importante des veaux testés étaient positifs pour *E. coli*, *Cryptosporidium* spp. ou rotavirus. De plus, la proportion d'échantillons positifs pour *Salmonella* était plus élevée parmi les échantillons également positifs pour un de ces trois agents pathogènes que pour ceux ne l'étant pas. De la même façon, dans une étude cas-contrôle d'une éclosion de salmonellose clinique causée par *S. Menhaden* dans 8 troupeaux laitiers, tous les veaux présentant de la diarrhée et chez qui *S. Menhaden* avait été isolé, étaient également infectés avec un autre agent pathogène gastro-intestinal (Anderson et coll., 1997). Ainsi, l'infection avec plusieurs agents pathogènes gastro-intestinaux, fréquente chez les veaux (Divers et Peek, 2008), pourrait compromettre d'autant plus leur système immunitaire immature (Cummings et coll., 2009b) et les rendre plus susceptibles à une nouvelle infection, ou alors favoriser l'excrétion de salmonelles chez les animaux déjà infectés. À l'opposé, il est possible que ce soit l'infection par *Salmonella* spp. qui prédispose les veaux à une surinfection par un autre agent pathogène gastro-intestinal. En effet, il est impossible de déterminer lequel des salmonelles ou autres agents pathogènes gastro-intestinaux avaient infecté en premier les veaux échantillonnés. De plus, les facteurs de risque pour la diarrhée néonatale sont souvent les mêmes, peu importe l'agent pathogène en cause (par exemple mauvaise régie du colostrum et du vêlage, stress nutritionnel ou causé par un environnement inadéquat, lait contaminé, contact avec adultes ou veaux plus âgés). Très peu de veaux testés pour coronavirus dans notre étude y étaient positifs (et un seul d'entre eux était également positif pour *Salmonella*), et de même pour les coccidies et *Giardia* (peu de veaux infectés et aucune coinfection avec *Salmonella*). De nombreuses questions restent donc à éclaircir en ce qui a trait à la susceptibilité des différents groupes d'âge face à la salmonellose clinique ainsi qu'à la coinfection par *Salmonella* et les autres agents pathogènes gastro-intestinaux chez les veaux.

Plus de 90% des veaux soupçonnés de salmonellose ont été échantillonnés durant leur premier mois d'âge, ce qui est semblable à ce qui est décrit dans la littérature (Anderson et Blanchard, 1989; Mohler et coll., 2009; Smith, 2002; Wray et Davies, 2000). Il est généralement admis que la morbidité et la mortalité sont inversement proportionnelles à l'âge du veau (Berge et coll., 2006; Smith et coll., 1979). Quant au rang de lactation (ou âge des vaches), on considère généralement qu'il n'a pas d'effet sur le risque d'excrétion de salmonelles, si bien que la plupart des études n'en tiennent tout simplement pas compte, ou alors rapportent que tout comme dans notre étude, le rang de lactation des vaches n'est pas associé avec le résultat de la culture bactériologique (Fitzgerald et coll., 2003; Fossler et coll., 2005c).

Il serait logique de croire que les vaches en période péri-partum soient plus à risque de souffrir de salmonellose clinique, à cause du stress nutritionnel de la période de transition, du stress du vêlage et de la balance énergétique négative du début de la lactation, acidose subclinique du rumen (Anderson et coll., 2001; Edrington et coll., 2004c; Radostits et coll., 2007). Peu d'auteurs se sont penchés sur l'association entre le stade de lactation et la salmonellose clinique mais Fitzgerald, Edrington et leurs collaborateurs ont tenté d'étudier l'effet du stade de lactation sur l'excrétion fécale de salmonelles dans 2 études différentes mais dont le devis était semblable. Dans leur première étude ils en sont venus à la conclusion que la détection de salmonelles était significativement plus élevée pour les vaches en début de lactation (<60 jours en lait) (Fitzgerald et coll., 2003). Cependant, ils ont pour cela échantillonné les mêmes vaches à 2 semaines d'intervalle et combiné les résultats dans leur analyse, augmentant ainsi la puissance de leur étude de façon inappropriée, sans tenir compte de la non-indépendance des données. Un recalcul rapide de leur tableau 2 nous a d'ailleurs permis de constater qu'en gardant les mêmes proportions mais en diminuant le nombre d'échantillons de moitié, la différence observée n'était plus statistiquement significative. Dans la 2e étude, au contraire, ils n'ont pas pu mettre en évidence une différence dans l'excrétion fécale de salmonelles liée au stade de lactation (Edrington et coll., 2004c). Dans notre étude, ce sont les vaches tarées ou sur le point de l'être (≥ 301 jours en lait) chez qui la détection de salmonelles était la plus probable, comparativement aux vaches en milieu de lactation et même à celles en début de lactation,

ce qui est un peu surprenant. Peut-être la catégorie des vaches tariées dans notre étude représentait-elle plutôt certaines pratiques de régie non mesurées comme une trop grande densité animale dans les groupes de vaches tariées ou un environnement ou des aliments plus contaminés, qui faisaient que l'excrétion de salmonelles était plus importante chez ce groupe de vaches?

Il est plutôt surprenant que la taille du troupeau, bien qu'associée au résultat de la culture dans les analyses préliminaires, ne soit pas demeurée significative dans le modèle final pour les vaches, d'autant plus qu'elle l'était pour les veaux. En effet, la très grande majorité des études a démontré que la probabilité de détection de salmonelles augmentait avec la taille du troupeau (Fossler et coll., 2005c; Huston et coll., 2002; Kabagambe et coll., 2000; Vaessen et coll., 1998; Warnick et coll., 2001; 2003b). Par ailleurs, Fossler et collaborateurs, dans certaines de leurs publications, n'ont pas pu mettre en évidence une association entre la taille du troupeau et la détection de salmonelles chez les vaches ou les veaux (Fossler et coll., 2005a; 2005b). Cela pourrait selon eux être dû au fait que d'importants facteurs de risque associés à la taille du troupeau avaient été inclus dans leurs modèles, rendant ainsi la taille du troupeau non significative. Ils ont également émis l'hypothèse que la taille du troupeau pourrait avoir une importance plus grande dans les études traitant de salmonellose clinique, comme celles de Warnick et collaborateurs (2001; 2003b) ou la nôtre.

Il faut bien noter qu'il existe une assez grande variation entre la catégorisation utilisée par différents auteurs pour la taille du troupeau. Ainsi, dépendant des études, un gros troupeau pourra être défini comme ayant plus de 100, 200, 400 ou même 500 vaches en lactation! Il devient donc difficile de comparer les études ou d'inférer les résultats à des populations différentes de celles décrites dans les différentes études.

Parmi les raisons les plus fréquemment évoquées pour expliquer une augmentation du risque de salmonellose reliée à une plus grande taille du troupeau on retrouve : (1) une plus grande densité animale augmentant les probabilités de contact entre les animaux ainsi que le stress lié aux interactions sociales, (2) un nombre plus élevé d'animaux susceptibles au sein du troupeau et (3) une plus grande probabilité d'achat d'animaux pouvant être porteurs

asymptomatiques. D'autres pratiques de régie non mesurées (et souvent non mesurables) reliées à la taille du troupeau pourraient également être en partie responsable du risque plus élevé de salmonellose, par exemple alimentation (incluant source et entreposage des aliments) et stress nutritionnel, gestion du fumier, des lagunes et des eaux de rinçage, vaccination. Bref, il ne semble pas pour l'instant exister de consensus sur l'effet de la taille du troupeau sur la probabilité de détection de salmonelles chez les bovins laitiers. C'est pourquoi il est important de contrôler pour la taille du troupeau dans les modèles d'excrétion fécale de *Salmonella* puisque cette variable pourrait servir de variable de substitution pour des pratiques d'élevage non mesurées, contrôlant ainsi pour de potentiels facteurs parasites (Gardner et coll., 2002). D'autant plus qu'en pratique, la taille du troupeau n'est pas un aspect de régie qui peut être facilement modifié afin de diminuer l'incidence de salmonellose et elle représente souvent d'autres facteurs de régie non mesurables (Cummings et coll., 2009b).

La probabilité de détection de salmonelles chez les vaches de notre étude était significativement plus élevée à l'automne, suivie par l'été puis le printemps qu'à l'hiver. Pour les veaux, la variable saison n'est pas demeurée significative dans le modèle final, possiblement dû au fait que la taille d'échantillon plus réduite dans ce modèle ne permettait pas une puissance suffisante pour détecter un effet significatif de la saison. Néanmoins, ces résultats sont très similaires aux observations de Fossler et collaborateurs (2005b; 2005c) qui avaient également noté un effet saisonnier (moins d'isolement à l'hiver) de l'excrétion de *Salmonella* chez les vaches adultes mais pas chez les veaux. Notre étude semble aller dans le même sens que la majorité des autres études où la détection de salmonelles est décrite comme étant plus fréquente durant les mois d'été ou d'automne. Cependant, il n'existe toujours pas de consensus sur le mécanisme par lequel la saison a une influence sur la probabilité de détection de salmonelles chez les bovins laitiers. Comme nous l'avons vu dans la recension de littérature, les études ayant tenté de démontrer que c'est le stress lié à la chaleur qui en est responsable n'ont pas été très convaincantes, souvent à cause de devis d'étude inadéquats.

Finalement, l'utilisation d'antibiotiques systémiques dans les 7 jours précédant l'échantillonnage était variable selon le groupe d'âge : la grande majorité des taures et des vaches n'avaient reçu aucun antibiotique alors que la plupart des veaux avaient effectivement reçu une antibiothérapie. Pour ce qui est des veaux et des taures, l'utilisation d'antibiotiques systémiques n'a pas eu d'influence sur la proportion d'échantillons positifs pour *Salmonella*. Quant aux vaches, la probabilité de détecter des salmonelles dans les fèces était plus grande lorsque les animaux avaient reçu des antibiotiques systémiques dans les 7 jours précédant l'échantillonnage. Ces résultats sont similaires à ceux de Warnick et collaborateurs (2003b), qui ont rapporté que chez les veaux provenant de troupeaux ayant eu des cas récents de salmonellose clinique, l'utilisation d'antimicrobiens n'augmentait pas la probabilité de détecter des salmonelles dans les fèces mais elle l'augmentait significativement chez les taures et les vaches. Dans l'étude de Fecteau et collaborateurs (2003) où des veaux étaient infectés expérimentalement avec *S. Typhimurium*, le traitement avec des doses élevées de ceftiofur diminuait non seulement la proportion de veaux excréant des salmonelles, mais également la quantité de salmonelles excrétées chez les veaux traités. On ne s'attendrait donc pas à une association positive entre l'utilisation d'antibiotiques chez les veaux et l'excrétion fécale de salmonelles. En outre, dans une recension des études ayant été publiées sur l'utilisation des antimicrobiens pour le traitement de cas non compliqués de salmonellose chez les animaux et les humains, les auteurs ont conclu qu'en général, les antimicrobiens (mis à part les fluoroquinolones) ne diminuaient pas la durée des signes cliniques, pas plus qu'ils n'augmentaient la durée de l'excrétion fécale de salmonelles (van Duijkeren et Houwers, 2000).

Même si l'utilisation d'antimicrobiens pour le traitement de la salmonellose ne prolonge pas nécessairement la durée de l'excrétion fécale, l'utilisation d'antimicrobiens pour le traitement d'autres conditions infectieuses ou suite à une chirurgie par exemple, pourrait peut-être augmenter le risque qu'un animal contracte une infection à *Salmonella* spp. Cela serait dû à une modification de la flore bactérienne gastrointestinale et à la survie préférentielle des salmonelles par rapport à d'autres bactéries (Cohen et Tauxe, 1986).

Il est aussi possible que l'utilisation d'antimicrobiens puisse être associée de façon indirecte à une excrétion de salmonelles à cause de l'association pouvant exister entre l'utilisation d'antimicrobiens et des conditions pathologiques ou autres facteurs augmentant également le risque de nouvelles infections ou la durée de l'excrétion fécale (Warnick et coll., 2003b).

Dans une étude d'observation comme la nôtre, il est donc difficile de tirer des conclusions sur l'effet de l'utilisation des antimicrobiens sur la détection de salmonelles dans les fèces, à cause de la multitude d'autres facteurs non mesurés qui peuvent intervenir et confondre les associations : le sérotype de *Salmonella* spp. isolé et sa susceptibilité aux antimicrobiens, le type et spectre d'action de l'antimicrobien utilisé, la durée du traitement et la raison du traitement (salmonellose, autre maladie infectieuse, suite à une chirurgie).

7 Sensibilité et spécificité des signes cliniques et de la culture bactériologique

À part l'étude de Clegg et collaborateurs (1983) rapportant l'isolement de *S. Newport* dans les fèces de 55,6% à 100% d'une partie des animaux démontrant des signes cliniques lors d'éclosions de salmonellose en Grande-Bretagne, notre étude est la seule à avoir évalué la sensibilité de la culture bactériologique pour la détection de salmonelles chez des bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique.

Chez les veaux, la sensibilité de la culture bactériologique pour le diagnostic de la salmonellose clinique dans notre étude (48,4%) n'est pas très éloignée du 44,7% pour des écouvillonnages rectaux chez des veaux atteints de salmonellose clinique, rapporté par Richardson et collaborateurs (1973). Par ailleurs, la sensibilité de la culture chez les vaches (78%) était beaucoup plus élevée que les 3,35 à 14% rapportés dans la littérature pour des vaches porteuses de *S. Dublin* (House et coll., 1993; Nielsen et coll., 2004b; Smith et coll., 1989). Cela n'est pas surprenant vu l'excrétion intermittente et en moins grande quantité chez les animaux porteurs chroniques de salmonelles en comparaison avec ceux souffrant de salmonellose clinique.

La sensibilité de la culture bactériologique chez les veaux de notre étude était plus faible que chez les vaches. On pourrait se demander si cela pourrait être la conséquence d'une excrétion de salmonelles en concentration plus faible par les veaux que par les vaches atteintes de salmonellose clinique? Malheureusement, rares sont les études où une énumération des salmonelles dans les fèces a été effectuée. De plus, toutes les études que nous avons pu trouver où cela a été fait, ne concernaient que des veaux. Les niveaux d'excrétion rapportés étaient de 10^2 à 10^{10} CFU/g (de Jong et Ekdahl, 1965; Fecteau et coll., 2003; Wray et Sojka, 1978). De plus, dans une étude de House et collaborateurs (1993) chez des animaux porteurs chroniques, la sensibilité de la culture était en fait plus élevée pour les veaux que pour les vaches (17,26% et 3,35%, respectivement).

La figure 3 en page 66 et la figure 7 en page 79 démontrent bien que malgré que la sensibilité de la culture de fèces soit imparfaite, il n'en demeure pas moins que suite à la détection de salmonelles dans les fèces d'un veau ou d'une vache laitière soupçonnée de salmonellose clinique, la probabilité post-test de salmonellose clinique est sensiblement plus élevée que la probabilité post-test estimée à partir des seuls signes cliniques. Malheureusement, lorsque le résultat de la culture est négatif pour un veau soupçonné de salmonellose clinique, le gain d'information par rapport au seul examen clinique est plus marginal mais il demeure quand même intéressant de soumettre un échantillon de fèces pour culture bactériologique puisqu'un résultat positif augmente de beaucoup la probabilité post-test de salmonellose clinique. Ainsi, assumant une probabilité pré-test chez les veaux d'environ 20% (ce qui correspond à la proportion d'échantillons positifs dans notre étude), la probabilité post-test de salmonellose clinique sera de 23% après que l'examen clinique eut révélé la présence de diarrhée et fièvre et grimpera à 66% si la culture bactériologique positive (et même à 92% si le sérotype isolé est *S. Typhimurium*). Par ailleurs, si le résultat de la culture de fèces est négatif alors la probabilité post-test de salmonellose clinique n'est que de 12%. Pour ce qui est des vaches, en assumant une probabilité pré-test autour de 30% (proportion d'échantillons positifs dans notre étude), la probabilité post-test de salmonellose clinique sera de 42% suite à un examen clinique ayant révélé la présence de diarrhée et fièvre alors qu'elle sera de 89% si la culture bactériologique est positive, et même de 97% si le sérotype isolé est *S. Typhimurium*. À l'opposé, si le résultat de la

culture de fèces est négatif alors la probabilité de salmonellose clinique n'est que de 9%. On peut aussi voir sur la figure 7 que le choix de la combinaison de signes cliniques utilisée a peu d'impact sur la probabilité post-test de salmonellose clinique.

Malheureusement, l'utilisation de cotes plutôt que de probabilités rend le calcul des probabilités post-test un peu complexe et certainement moins intuitif pour le clinicien. Par contre, les figures pourraient être utilisées par le médecin vétérinaire praticien pour interpréter le résultat d'une culture bactériologique de fèces d'un animal sous ses soins, en se rappelant que ces figures illustrent la probabilité post-test de salmonellose parmi la sous-population de bovins soupçonnés de salmonellose clinique, et non pas parmi la population générale de bovins laitiers apparemment sains. Le praticien pourra également ajuster la probabilité pré-test de salmonellose clinique selon son expérience personnelle et ce qu'il connaît de la prévalence de la maladie dans la population d'où provient l'échantillon.

Un autre avantage de soumettre un échantillon de fèces lorsque le médecin vétérinaire soupçonne un cas de salmonellose clinique chez une vache, est qu'il sera alors possible d'effectuer un sérotypage si des salmonelles sont détectées, et aussi de demander un profil de sensibilité aux antimicrobiens afin de mieux cibler le traitement. De plus, l'identification du sérotype en cause peut aider à évaluer les risques au niveau de la sécurité alimentaire et pour la santé des travailleurs agricoles.

Conclusion

Au cours de cette étude nous avons pu constater que malgré le fait qu'un nombre assez important de troupeaux aient soumis des échantillons de fèces de bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique, des salmonelles n'ont été détectées que dans un nombre restreint de troupeaux. Les deux sérotypes les plus fréquemment isolés de cas cliniques étaient *S. Typhimurium* et *S. Newport*, qui sont également parmi les 3 sérotypes les plus fréquemment isolés des personnes souffrant de salmonellose d'origine alimentaire aux États-Unis.

Il n'a pas été possible d'établir une association claire entre les différents signes cliniques observés et le résultat de la culture bactériologique, ni entre les signes cliniques observés et le sérotype de *Salmonella* isolé chez les animaux positifs. Il semblerait que la différence entre les sérotypes s'exprimerait non pas par une différence des signes cliniques observés mais plutôt par le fait que certains sérotypes ont tendance à causer la maladie clinique (*Typhimurium* et *Newport*) alors que d'autres sont plutôt responsables de l'excrétion fécale de salmonelles chez des animaux cliniquement sains (Cerro, Kentucky, Montevideo).

Parmi les veaux soupçonnés de salmonellose cliniques, la probabilité de détecter des salmonelles était plus élevée chez les veaux où *E. coli*, *Cryptosporidium* spp. ou rotavirus était également détecté, et chez les veaux provenant de gros troupeaux (plus de 150 vaches en lactation).

La probabilité de détection de salmonelles chez les vaches de notre étude était significativement plus élevée à l'automne, suivie par l'été puis le printemps qu'à l'hiver. De plus, la proportion d'échantillons positifs était plus élevée parmi les vaches ayant reçu des antibiotiques dans les jours précédant l'échantillonnage et plus faible pour les vaches souffrant de décubitus.

Très peu de taures de remplacement enrôlées dans notre étude et soupçonnées de salmonellose clinique ont reçu une confirmation du diagnostic clinique par une culture bactériologique positive. Par ailleurs, la probabilité d'isoler des salmonelles était beaucoup plus élevée pour les taures en décubitus.

Bien que la sensibilité de la culture bactériologique soit loin d'être parfaite pour le diagnostic de la salmonellose clinique, elle demeure utile pour obtenir une meilleure estimation de la probabilité post-test de salmonellose clinique chez un bovin laitier, par rapport à la probabilité estimée suite au seul examen clinique. Les praticiens bovins devraient être encouragés à soumettre des échantillons de fèces pour les bovins laitiers soupçonnés de salmonellose clinique afin de mieux pouvoir évaluer la probabilité de salmonellose clinique chez leurs patients et d'être en mesure d'identifier le sérotype en cause s'il y a lieu, ce qui leur permettra de mieux orienter leur approche thérapeutique et préventive.

Bibliographie

1. Joint FAO/OIE/WHO Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific assessment. 2003. Accédé le 23/11/2010 à l'adresse <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/amr.pdf>
2. Validation of publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSEM. *Int J Syst Evol Microbiol* 2005; 55(2):547-549.
3. **Adhikari B., T.E. Besser, J.M. Gay, L.K. Fox, M.A. Davis, R.N. Cobbold, A.C. Berge, R. McClanahan et D.D. Hancock.** Introduction of new multidrug-resistant *Salmonella enterica* strains into commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 2009; 92(9):4218-4228.
4. **Akobeng A.K.** Understanding diagnostic tests 2: likelihood ratios, pre- and post-test probabilities and their use in clinical practice. *Acta Paediatr* 2007a; 96(4):487-491.
5. **Alexander K.A., L.D. Warnick, C.J. Cripps, P.L. McDonough, Y.T. Grohn, M. Wiedmann, K.E. Reed, K.L. James, Y. Soyer et R. Ivanek.** Fecal shedding of, antimicrobial resistance in, and serologic response to *Salmonella* Typhimurium in dairy calves. *J Am Vet Med Assoc* 2009; 235(6):739-748.
6. **Anderson M. et P. Blanchard.** The clinical syndromes caused by *Salmonella* infection. *Vet Med* 1989:816-819.
7. **Anderson M.L., P.C. Blanchard, B.C. Barr et R.L. Hoffman.** A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. *J Vet Diagn Invest* 1990; 2(4):283-7.
8. **Anderson R.J., R.L. Walker, D.W. Hird et P.C. Blanchard.** Case-control study of an outbreak of clinical disease attributable to *Salmonella menhaden* infection in eight dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210(4):528-530.

9. **Anderson R.J., J.K. House, B.P. Smith, H. Kinde, R.L. Walker, B.J. Vande Steeg et R.E. Breitmeyer.** Epidemiologic and biological characteristics of salmonellosis in three dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219(3):310-322.
10. **Avery R.J. et L. Niilo.** A Note on Salmonellosis in Adult Cattle Caused by Contaminated Bone Meal. *Can Vet J* 1963; 4(3):73-76.
11. **Barrow P.A.** Serological Diagnosis of *Salmonella* by ELISA and Other Tests. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp. 407-427.
12. **Baumler A.J., R.M. Tsolis, T.A. Ficht et L.G. Adams.** Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infect Immun* 1998; 66(10):4579-4587.
13. **Berge A.C., D.A. Moore et W.M. Sischo.** Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella enterica* in preweaned calves from dairies and calf ranches. *Am J Vet Res* 2006; 67(9):1580-1588.
14. **Berman A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli et Y. Graber.** Upper Critical Temperatures and Forced Ventilation Effects for High-Yielding Dairy Cows in a Subtropical Climate. *J Dairy Sci* 1985; 68(6):1488-1495.
15. **Blau D.M., B.J. McCluskey, S.R. Ladely, D.A. Dargatz, P.J. Fedorka-Cray, K.E. Ferris et M.L. Headrick.** *Salmonella* in dairy operations in the United States: prevalence and antimicrobial drug susceptibility. *J Food Prot* 2005; 68(4):696-702.
16. **Bohaychuk V.M., G.E. Gensler, M.E. McFall, R.K. King et D.G. Renter.** A real-time PCR assay for the detection of *Salmonella* in a wide variety of food and food-animal matrices. *J Food Prot* 2007; 70(5):1080-1087.
17. **Brenner F.W., R.G. Villar, F.J. Angulo, R. Tauxe et B. Swaminathan.** *Salmonella* nomenclature. *J Clin Microbiol* 2000; 38(7):2465-2467.
18. **Brouard C., E. Espie, F.X. Weill, A. Kerouanton, A. Brisabois, A.M. Forgue, V. Vaillant et H. de Valk.** Two consecutive large outbreaks of *Salmonella enterica* serotype Agona infections in infants linked to the consumption of powdered infant formula. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26(2):148-152.

19. **Brownlie L.E. et F.H. Grau.** Effect of food intake on growth and survival of Salmonellas and *Escherichia coli* in the bovine rumen. J Gen Microbiol 1967; 46:125-134.
20. **Burton P., L. Gurrin et P. Sly.** Extending the simple linear regression model to account for correlated responses: an introduction to generalized estimating equations and multi-level mixed modelling. Stat Med 1998; 17(11):1261-1291.
21. **Callaway T.R., J.E. Keen, T.S. Edrington, L.H. Baumgard, L. Spicer, E.S. Fonda, K.E. Griswold, T.R. Overton, M.E. VanAmburgh, R.C. Anderson, K.J. Genovese, T.L. Poole, R.B. Harvey et D.J. Nisbet.** Fecal prevalence and diversity of *Salmonella* species in lactating dairy cattle in four states. J Dairy Sci 2005; 88(10):3603-3608.
22. **Cano R.J., S.R. Rasmussen, G. Sanchez Fraga et J.C. Palomares.** Fluorescent detection-polymerase chain reaction (FD-PCR) assay on microwell plates as a screening test for salmonellas in foods. J Appl Bacteriol 1993; 75(3):247-253.
23. **Carlson S.A., W.C. Stoffregen et S.R. Bolin.** Abomasitis associated with multiple **antibiotic** resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium phagetype DT104. Vet Microbiol 2002; 85(3):233-240.
24. **[CDC] Centers for disease control and prevention.** Multistate outbreak of Salmonella serotype typhimurium infections associated with drinking unpasteurized milk--Illinois, Indiana, Ohio, and Tennessee, 2002-2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003; 52(26):613-615.
25. **[CDC] Centers for Disease Control and Prevention.** Surveillance for foodborne disease outbreaks --- United States, 2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2010 Aug 13;59(31):973-979.
26. **Chalker R.B. et M.J. Blaser.** A review of human salmonellosis: III. Magnitude of *Salmonella* infection in the United States. Rev Infect Dis 1988; 10(1):111-124.
27. **Chambers P.G. et R.J. Lysons.** The inhibitory effect of bovine rumen fluid on *Salmonella typhimurium*. Res Vet Sci 1979; 26(3):273-276.

28. **Chapagain P.P., J.S. van Kessel, J.S. Karns, D.R. Wolfgang, E. Hovingh, K.A. Nelen, Y.H. Schukken et Y.T. Grohn.** A mathematical model of the dynamics of *Salmonella* Cerro infection in a US dairy herd. *Epidemiol Infect* 2008; 136(2):263-272.
29. **Chen S., A. Yee, M. Griffiths, C. Larkin, C.T. Yamashiro, R. Behari, C. Paszko-Kolva, K. Rahn et S.A. De Grandis.** The evaluation of a fluorogenic polymerase chain reaction assay for the detection of *Salmonella* species in food commodities. *Int J Food Microbiol* 1997; 35(3):239-250.
30. **Clark R.G., S.G. Fenwick, C.M. Nicol, R.M. Marchant, S. Swanney, J.M. Gill, J.D. Holmes, M. Leyland et P.R. Davies.** *Salmonella* *Brandenburg* - emergence of a new strain affecting stock and humans in the South Island of New Zealand. *N Z Vet J* 2004; 52(1):26-36.
31. **Clegg F.G., S.N. Chiejina, A.L. Duncan, R.N. Kay et C. Wray.** Outbreaks of *Salmonella newport* infection in dairy herds and their relationship to management and contamination of the environment. *Vet Rec* 1983; 112(25):580-584.
32. **Cobbold R.N., D.H. Rice, M.A. Davis, T.E. Besser et D.D. Hancock.** Long-term persistence of multi-drug-resistant *Salmonella enterica* serovar Newport in two dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228(4):585-591.
33. **Cody S.H., S.L. Abbott, A.A. Marfin, B. Schulz, P. Wagner, K. Robbins, J.C. Mohle-Boetani et D.J. Vugia.** Two outbreaks of multidrug-resistant *Salmonella* serotype *typhimurium* DT104 infections linked to raw-milk cheese in Northern California. *JAMA* 1999; 281(19):1805-1810.
34. **Cohen M.L. et R.V. Tauxe.** Drug-resistant *Salmonella* in the United States: an epidemiologic perspective. *Science* 1986; 234: 964-969.
35. **Collier R.J., D.K. Beede, W.W. Thatcher, L.A. Israel et C.J. Wilcox.** Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *J Dairy Sci* 1982; 65 :2213-2227.
36. **Constable P.D., T. Wittek, A.F. Ahmed, T.S. Marshall, I. Sen et M. Nouri.** Abomasal pH and emptying rate in the calf and dairy cow and the effect of commonly

administered therapeutic agents. Proceedings of the XXIV World Buiatrics Congress, Nice, France. 2006. Available at <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/constable.pdf?LA=1>

37. **Cummings K.J., T.J. Divers, P.L. McDonough et L.D. Warnick.** Fecal shedding of *Salmonella* spp. among cattle admitted to a veterinary medical teaching hospital. J Am Vet Med Assoc 2009a; 234(12):1578-1585.
38. **Cummings K.J., L.D. Warnick, K.A. Alexander, C.J. Cripps, Y.T. Grohn, P.L. McDonough, D.V. Nydam et K.E. Reed.** The incidence of salmonellosis among dairy herds in the northeastern United States. J Dairy Sci 2009b; 92(8):3766-3774.
39. **Davies R.H.** A two year study of *Salmonella typhimurium* DT 104 infection and contamination on cattle farms. Cattle Pract 1997; 5:189-194.
40. **Davis M.A., D.D. Hancock, D.H. Rice, D.R. Call, R. DiGiacomo, M. Samadpou et T.E. Besser.** Feedstuffs as a vehicle of cattle exposure to Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica. Vet Microbiol 2003; 95(3):199-210.
41. **Davison H.C., A.R. Sayers, R.P. Smith, S.J. Pascoe, R.H. Davies, J.P. Weaver et S.J. Evans.** Risk factors associated with the salmonella status of dairy farms in England and Wales. Vet Rec 2006; 159(26):871-880.
42. **de Jong H. et M.O. Ekdahl.** Salmonellosis in calves--the effect of dose rate and other factors on transmission. N Z Vet J 1965; 13(3):59-64.
43. **Dechet A.M., E. Scallan, K. Gensheimer, R. Hoekstra, J. Gunderman-King, J. Lockett, D. Wrigley, W. Chege et J. Sobel.** Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Definitive Type 104 Infection Linked to Commercial Ground Beef, Northeastern United States, 2003-2004. Clin Infect Dis 2006; 42(6):747-752.
44. **Delarocque-Astagneau E., C. Bouillant, V. Vaillant, P. Bouvet, P.A. Grimont et J.C. Desenclos.** Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype typhimurium infections in children in France: a national case-control study. Clin Infect Dis 2000; 31(2):488-492.

45. **Divers T.J. et S.F. Peek.** *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. 2nd ed. St. Louis, MO: Saunders Elsevier, 2008.
46. **Dohoo I., W. Martin et H. Stryhn.** *Veterinary Epidemiologic Research*. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada: AVC Inc., 2003.
47. **Duffy G., B. Kilbride, J.J. Sheridan, I.S. Blair et D.A. McDowell.** A membrane-immunofluorescent-viability staining technique for the detection of *Salmonella* spp. from fresh and processed meat samples. *J Appl Microbiol* 2000; 89(4):587-594.
48. **Edrington T.S., M.E. Hume, M.L. Loper, C.L. Schultz, A.C. Fitzgerald, T.R. Callaway, K.J. Genovese, K.M. Bischoff, J.L. McReynolds, R.C. Anderson et D.J. Nisbet.** Variation in the faecal shedding of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 in lactating dairy cattle and examination of *Salmonella* genotypes using pulsed-field gel electrophoresis. *Lett Appl Microbiol* 2004a; 38(5):366-372.
49. **Edrington T.S., C.L. Schultz, K.M. Bischoff, T.R. Callaway, M.L. Loper, K.J. Genovese, Y.S. Jung, J.L. McReynolds, R.C. Anderson et D.J. Nisbet.** Antimicrobial resistance and serotype prevalence of *Salmonella* isolated from dairy cattle in the southwestern United States. *Microb Drug Resist* 2004b; 10(1):51-56.
50. **Edrington T.S., C.L. Schultz, K.J. Genovese, T.R. Callaway, M.L. Loper, K.M. Bischoff, J.L. McReynolds, R.C. Anderson et D.J. Nisbet.** Examination of heat stress and stage of lactation (early versus late) on fecal shedding of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* in dairy cattle. *Foodborne Pathog Dis* 2004c; 1(2):114-119.
51. **Edrington T.S., T.T. Ross, T.R. Callaway, C.H. Martinez, M.E. Hume, K.J. Genovese, T.L. Poole, R.C. Anderson et D.J. Nisbet.** Investigation into the seasonal salmonellosis in lactating dairy cattle. *Epidemiol Infect* 2008; 136(3):381-390.
52. **[ERS] Economic Research Service, USDA.** Foodborne Illness Cost Calculator, 2010. Consulté le 24/11/2010, à l'adresse <http://www.ers.usda.gov/data/foodborneillness/>
53. **Evans S. et R. Davies.** Case control study of multiple-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 infection of cattle in Great Britain. *Vet Rec* 1996; 139(23).

54. **FAO/WHO/OIE.** Joint FAO/WHO/OIE Expert Meeting on Critically Important Antimicrobials. Report of a meeting held in FAO, Rome, Italy, 26–30 November 2007. FAO, Rome, Italy, and WHO, Geneva, Switzerland: 2008.
55. **Farmer J.J. 3rd, K.D. Boatwright et J.M. Janda.** *Enterobacteriaceae*: Introduction and Identification. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH et al., eds. *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. Washington, D.C.: ASM Press, 2007; pp. 649-669.
56. **Fecteau G., P. Baillargeon, R. Higgins, J. Par, et M. Fortin.** Bacterial contamination of colostrum fed to newborn calves in Québec dairy herds. *Can Vet J* 2002; 43(7):523-527.
57. **Fecteau M.E., J.K. House, S.F. Kotarski, N.S. Tankersley, M.M. Ontiveros, C.R. Alcantar et B.P. Smith.** Efficacy of ceftiofur for treatment of experimental salmonellosis in neonatal calves. *Am J Vet Res* 2003; 64(7):918-925.
58. **Fitzgerald A.C., T.S. Edrington, M.L. Loofer, T.R. Callaway, K.J. Genovese, K.M. Bischoff, J.L. McReynolds, J.D. Thomas, R.C. Anderson et D.J. Nisbet.** Antimicrobial susceptibility and factors affecting the shedding of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella* in dairy cattle. *Lett Appl Microbiol* 2003; 37(5):392-398.
59. **Fossler C.P., S.J. Wells, J.B. Kaneene, P.L. Ruegg, L.D. Warnick, J.B. Bender, S.M. Godden, L.W. Halbert, A.M. Campbell et A.M.G. Zwald.** Prevalence of *Salmonella* spp on conventional and organic dairy farms. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 225(4):567-573.
60. **Fossler C.P., S.J. Wells, J.B. Kaneene, P.L. Ruegg, L.D. Warnick, J.B. Bender, L.E. Eberly, S.M. Godden et L.W. Halbert.** Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms I. *Salmonella* shedding in cows. *Prev Vet Med* 2005a; 70(3-4):257-277.
61. **Fossler C.P., S.J. Wells, J.B. Kaneene, P.L. Ruegg, L.D. Warnick, J.B. Bender, L.E. Eberly, S.M. Godden et L.W. Halbert.** Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms II. *Salmonella* shedding in calves. *Prev Vet Med* 2005b; 70(3-4):279-291.

62. **Fossler C.P., S.J. Wells, J.B. Kaneene, P.L. Ruegg, L.D. Warnick, L.E. Eberly, S.M. Godden, L.W. Halbert, A.M. Campbell, C.A. Bolin et A.M. Zwald.** Cattle and environmental sample-level factors associated with the presence of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms. *Prev Vet Med* 2005c; 67(1):39-53.
63. **Frenzen P.D. et T.L. Riggs.** *Salmonella* Cost Estimate Updated Using FoodNet Data. *Food Rev* 1999; 22(2):10.
64. **Frossling J., B. Bonnett, A. Lindberg et C. Bjorkman.** Validation of a *Neospora caninum* iscom ELISA without a gold standard. *Prev Vet Med* 2003; 57(3):141-153.
65. **Gardner I.A., P. Willeberg et J. Mousing.** Empirical and theoretical evidence for herd size as a risk factor for swine diseases. *Anim Health Res Rev* 2002; 3(01):43-55.
66. **Gaspar P.** Isolation of *Salmonella arizonae* from an aborted bovine foetus. *Bull Anim Health Prod Africa* 1978; 26(3):230-231.
67. **Gay J.M. et M.E. Hunsaker.** Isolation of multiple *Salmonella* serovars from a dairy two years after a clinical salmonellosis outbreak. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203(9):1314-1320.
68. **Gibson E.A.** Reviews of the progress of Dairy Science: Section E. Diseases of dairy cattle. *Salmonella* infection in cattle. *J Dairy Res* 1965; 32:97-134.
69. **Giles N., S.A. Hopper et C. Wray.** Persistence of *S. typhimurium* in a large dairy herd. *Epidemiol Infect* 1989; 103(2):235-241.
70. **Gitter M., C. Wray, C. Richardson et R.T. Pepper.** Chronic *Salmonella dublin* infection in calves. *Br Vet J* 1978; 134(2):113-121.
71. **Glickman L.T., P.L. McDonough, S.J. Shin, J.M. Fairbrother, R.L. LaDue et S.E. King.** Bovine salmonellosis attributed to *Salmonella anatum*-contaminated haylage and dietary stress. *J Am Vet Med Assoc* 1981; 178(12):1268-1272.
72. **Gronstol H., A.D. Osborne et S. Pethiyagoda.** Experimental *Salmonella* infection in calves. 2. Virulence and the spread of infection. *J Hyg* 1974; 72(2):163-168.

73. **Gunnarsson R.K. et J. Lanke.** The predictive value of microbiologic diagnostic tests if asymptomatic carriers are present. *Stat Med* 2002; 21(12):1773-1785.
74. **Guerin, M.T, S.W. Martin, G. A. Darlington et A. Rajic.** A temporal study of *Salmonella* serovars in animals in Alberta between 1990 and 2001. *Can J Vet Res* 2005; 69(2):88-99.
75. **Guibourdenche M., P. Roggentin, M. Mikoleit, P.I. Fields, J. Bockemühl, P.A.D. Grimont et F.-X. Weill.** Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor schème. *Res Microbiol* 2010; 161:26-29.
76. **Gupta A., J. Fontana, C. Crowe, B. Bolstorff, A. Stout, D.S. Van, M.P. Hoekstra, J.M. Whichard, T.J. Barrett, F.J. Angulo et National Antimicrobial Resistance Monitoring System PulseNet Working Group.** Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections resistant to expanded-spectrum cephalosporins in the United States. *J Infect Dis* 2003; 188(11):1707-1716.
77. **Hall G.A., P.W. Jones, K.R. Parsons, N. Chanter et M.M. Aitken.** Studies of the virulence of *Salmonella dublin* in experimental infections of cattle and rats. *Br Vet J* 1979; 135(3):243-248.
78. **Hardman P.M., C.M. Wathes et C. Wray.** Transmission of salmonellae among calves penned individually. *Vet Rec* 1991; 129(15):327-329.
79. **Higgins R., A. Desilets, M. Cantin, S. Messier, R. Khakhria, J. Ismail, M.R. Mulvey, D. Daignault et H. Caron.** Outbreak of *Salmonella give* in the province of Quebec. *Can Vet J* 1997; 38(12):780-781.
80. **Hinton M.** *Salmonella* abortion in cattle. *Vet Bull* 1971; 41(12):973-980.
81. **Hinton M.** *Salmonella dublin* abortion in cattle: studies on the clinical aspects of the condition. *Br Vet J* 1974; 130(6):556-563.
82. **Hird D.W., M. Pappaioanou et B.P. Smith.** Case-control study of risk factors associated with isolation of *Salmonella saintpaul* in hospitalized horses. *Am J Epidemiol* 1984; 120(6):852-864.

83. **Hoffmann S.** The throat carrier rate of group A and other beta hemolytic streptococci among patients in general practice. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B* 1985; 93(5):347-351.
84. **Hollinger K.** Epidemiology and Salmonellosis. In: Wray C. and A. Wray, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp.341-353.
85. **Hoorfar J., N.C. Feld, A.L. Schirmer, V. Bitsch et P. Lind.** Serodiagnosis of *Salmonella dublin* infection in Danish dairy herds using O-antigen based enzyme-linked immunosorbent assay. *Can J Vet Res* 1994; 58(4):268-274.
86. **Hoorfar J., P. Lind et V. Bitsch.** Evaluation of an O antigen enzyme-linked immunosorbent assay for screening of milk samples for *Salmonella dublin* infection in dairy herds. *Can J Vet Res* 1995; 59(2):142-148.
87. **Hoorfar J., A. Wedderkopp et P. Lind.** Detection of antibodies to *Salmonella* lipopolysaccharide in muscle fluid from cattle. *Am J Vet Res* 1997; 58(4):334-337.
88. **House J.K. et B.P. Smith.** Current strategies for managing *Salmonella* infections in cattle. *Vet Med* 1998; 93(8):756-764.
89. **House, J.K. et B.P. Smith.** Profitable Strategies to Control Salmonellosis in Dairy Cattle. Proceedings of the 23rd World Buiatrics Congress, Québec, Canada. 2004. Available at <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2004/WBC2004-House-simple.pdf>
90. **House J.K., B.P. Smith, G.W. Dilling et L.D. Roden.** Enzyme-linked immunosorbent assay for serologic detection of *Salmonella dublin* carriers on a large dairy. *Am J Vet Res* 1993; 54(9):1391-1399.
91. **Hu F.B., J. Goldberg, D. Hedeker, B.R. Flay et M.A. Pentz.** Comparison of Population-Averaged and Subject-Specific Approaches for Analyzing Repeated Binary Outcomes. *Am J Epidemiol* 1998; 147(7) :694-703.
92. **Hui S.L. et S.D. Walter.** Estimating the Error Rates of Diagnostic Tests. *Biometrics* 1980; 36(1):167-171.

93. **Humphrey T.** Public-Health Aspects of *Salmonella* Infection. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp.245-263.
94. **Huston C.L., T.E. Wittum, B.C. Love et J.E. Keen.** Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* spp in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220(5):645-649.
95. **Hutchison M.L., L.D. Walters, T. Moore, D.J. Thomas et S.M. Avery.** Fate of pathogens present in livestock wastes spread onto fescue plots. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(2) :691-696.
96. **Jenicek M. et R. Cléroux.** *Épidémiologie. Principes, techniques, applications.* Saint-Hyacinthe: Edisem inc., 1982.
97. **Jerrett I.V., S. McOrist, J. Waddington, J.W. Browning, J.C. Malecki et I.P. McCausland.** Diagnostic studies of the fetus, placenta and maternal blood from 265 bovine abortions. *Cornell Vet* 1984; 74(1):8-20.
98. **Johnson H.D.** *Bioclimates and Livestock.* Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1987.
99. **Jokinen C.C., H. Schreier, W. Mauro, E. Taboada , J.L. Isaac-Renton, E. Topp, T. Edge, J.E. Thomas et V.P. Gannon.** The occurrence and sources of *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in the Salmon River, British Columbia, Canada. *J Water Health.* 2010; 8(2): 374-86.
100. **Kabagambe E.K., S.J. Wells, L.P. Garber, M.D. Salman, B. Wagner et P.J. Fedorka-Cray.** Risk factors for fecal shedding of *Salmonella* in 91 US dairy herds in 1996. *Prev Vet Med* 2000; 43(3):177-194.
101. **Kahrs R.F., J. Bentinck-Smith, G.R. Bjorck, D.W. Bruner, J.M. King et N.F. Lewis.** Epidemiologic investigation of an outbreak of fatal enteritis and abortion associated with dietary change and *Salmonella typhimurium* infection in a dairy herd. A case report. *Cornell Vet* 1972; 62(2):175-191.
102. **Kirk J.H., C.A. Holmberg et J.S. Jeffrey.** Prevalence of *Salmonella* spp. in selected birds captured on California dairies. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220(3):359-362.

103. **Kotton C.N., A.J. Lankowski et E.L. Hohmann.** Comparison of rectal swabs with fecal cultures for detection of *Salmonella typhimurium* in adult volunteers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006 ; 56(2):123-126.
104. **Kurowski P.B., J.L. Traub-Dargatz, P.S. Morley et C.R. Gentry-Weeks.** Detection of *Salmonella* spp in fecal specimens by use of real-time polymerase chain reaction assay. *Am J Vet Res* 2002; 63(9):1265-1268.
105. **Lance S.E., G.Y. Miller, D.D. Hancock, P.C. Bartlett et L.E. Heider.** *Salmonella* infections in neonatal dairy calves. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201(6):684-688.
106. **Langvad B., M.N. Skov, E. Rattenborg, J.E. Olsen et D.L. Baggesen.** Transmission routes of *Salmonella* Typhimurium DT 104 between 14 cattle and pig herds in Denmark demonstrated by molecular fingerprinting. *J Appl Microbiol* 2006; 101(4):883-890(8).
107. **Lanzas C., S. Brien, R. Ivanek, Y. Lo, P.P. Chapagain, K.A. Ray, P. Ayscue, L.D. Warnick et Y.T. Grohn.** The effect of heterogeneous infectious period and contagiousness on the dynamics of *Salmonella* transmission in dairy cattle. *Epidemiol Infect* 2008; 136(11):1496-1510.
108. **Liang K.Y. et S.L. Zeger.** Longitudinal Data Analysis Using Generalized Linear Models. *Biometrika* 1986; 73(1):13-22.
109. **Libby S.J., T.A. Halsey et C. Altier.** *Salmonella*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer JG et al., eds. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. 3rd ed. Ames, IA: Blackwell Publishing Professional, 2004; pp.143-167.
110. **Lindqvist N., S. Heinikainen, A.M. Toivonen et S. Pelkonen.** Discrimination between endemic and feedborne *Salmonella Infantis* infection in cattle by molecular typing. *Epidemiol Infect* 1999; 122:497–504.
111. **Loeb E., M.J. Toussaint, V.P. Rutten et J.P. Koeman.** Dry gangrene of the extremities in calves associated with *Salmonella dublin* infection; a possible immune-mediated reaction. *J Comp Pathol* 2006; 134(4):366-369.

112. **Losinger W.C., S.J. Wells, L.P. Garber, H.S. Hurd et L.A. Thomas.** Management Factors Related to *Salmonella* Shedding by Dairy Heifers. *J Dairy Sci* 1995; 78(11):2464-2472.
113. **Low J.C., I.J. McKendrick, C. McKechnie, D. Fenlon, S.W. Naylor, C. Currie, D.G.E. Smith, L. Allison et D.L. Gally.** Rectal Carriage of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 in Slaughtered Cattle. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(1):93-97.
114. **Maciorowski K.G., P. Herrera, F.T. Jones, S.D. Pillai et S.C. Ricke.** Cultural and immunological detection methods for *Salmonella* spp. in animal feeds – A review. *Vet Res Comm* 2006; 30 :127-137.
115. **Matthews L., J.C. Low, D.L. Gally, M.C. Pearce, D.J. Mellor, J.A. Heesterbeek, M. Chase-Topping, S.W. Naylor, D.J. Shaw, S.W. Reid, G.J. Gunn et M.E. Woolhouse.** Heterogeneous shedding of *Escherichia coli* O157 in cattle and its implications for control. *Proc National Acad Sci U S A* 2006a; 103(3):547-552.
116. **Matthews L., I.J. McKendrick, H. Ternent, G.J. Gunn, B. Synge et M.E. Woolhouse.** Super-shedding cattle and the transmission dynamics of *Escherichia coli* O157. *Epidemiol Infect* 2006b; 134(1):131-142.
117. **Mazurek J., E. Salehi, D. Propes, J. Holt, T. Bannerman, L.M. Nicholson, M. Bundesen, R. Duffy et R.L. Moolenaar.** A multistate outbreak of *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* infection linked to raw milk consumption--Ohio, 2003. *J Food Prot* 2004; 67(10):2165-2170.
118. **McCall C.E., W.T. Martin et J.R. Boring.** Efficiency of cultures of rectal swabs and faecal specimens in detecting salmonella carriers: correlation with numbers of salmonellas excreted. *Epidemiol Infect* 1966; 64(03):261-269.
119. **McDonough P.L., D. Fogelman, S.J. Shin, M.A. Brunner et D.H. Lein.** *Salmonella enterica* serotype Dublin infection: an emerging infectious disease for the northeastern United States. *J Clin Microbiol* 1999; 37(8): 2418-27.

120. **McDonough P.L., S.J. Shin et D.H. Lein.** Diagnostic and Public Health Dilemma of Lactose-Fermenting *Salmonella enterica* Serotype *Typhimurium* in Cattle in the Northeastern United States. *J Clin Microbiol* 2000; 38(3):1221-1226
121. **McEwen S.A., S.W. Martin, R.C. Clarke et S.E. Tamblyn.** A prevalence survey of *Salmonella* in raw milk in Ontario, 1986-87. *J Food Prot* 1988a; 51(12):963-965.
122. **McEwen S.A., S.W. Martin, R.C. Clarke, S.E. Tamblyn et J.J. McDermott.** The prevalence, incidence, geographical distribution, antimicrobial sensitivity patterns and plasmid profiles of milk filter *Salmonella* isolates from Ontario dairy farms. *Can J Vet Res* 1988b; 52(1):18-22.
123. **McLaren I.M. et C. Wray.** Epidemiology of *Salmonella typhimurium* infection in calves: persistence of salmonellae on calf units. *Vet Rec* 1991; 129(21):461-462.
124. **Metzler J. et I. Nachamkin.** Evaluation of a latex agglutination test for the detection of *Salmonella* and *Shigella* spp. by using broth enrichment. *J Clin Microbiol* 1988; 26(12):2501-2504.
125. **Minga U.M., H.H. Licht et J. Shlundt.** Four outbreaks of salmonellosis due to *Salmonella typhimurium* among cattle in one district in Denmark: case reports. *Br Vet J* 1985; 141(5):490-497.
126. **Mohler V.L., D.M. Heithoff, M.J. Mahan, K.H. Walker, M.A. Hornitzky, C.S. McConnell, L.W.C. Shum et J.K. House.** Cross-protective immunity in calves conferred by a DNA adenine methylase deficient *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* vaccine. *Vaccine* 2006; 24(9):1339-1345.
127. **Mohler V.L., M.M. Izzo et J.K. House.** *Salmonella* in Calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2009; 25(1):37-54.
128. **Monti G.E., K. Frankena, B. Engel, W. Buist, H.D. Tarabla et M.C. de Jong.** Evaluation of a new antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of bovine leukemia virus infection in dairy cattle. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17(5):451-457.

129. **Morningstar-Shaw B.R., M.M. Erdman, D.A. Barker, T.A. Berte, M.I. Munoz et E.A. Palmer.** Salmonella Serotypes from Animals and Related Sources Reported during July 2007 - June 2008. Proceedings of the One hundred and tenth annual meeting of the United States Animal Health Association (USAHA), Kansas City, Missouri. 2008;492-502.
130. **Muma J.B., N. Toft, J. Oloya, A. Lund, K. Nielsen, K. Samui et E. Skjerve.** Evaluation of three serological tests for brucellosis in naturally infected cattle using latent class analysis. *Vet Microbiol* 2007; 125(1-2):187-192.
131. **Murray C.J.** Environmental Aspects of *Salmonella*. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals*. Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp.265-283.
132. **Nam H.M., S.E. Murinda, L.T. Nguyen et S.P. Oliver.** Evaluation of universal pre-enrichment broth for isolation of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* from dairy farm environmental samples. *Foodborne Pathog Dis* 2004; 1(1):37-44.
133. **Nam H.M., V. Srinivasan, B.E. Gillespie, S.E. Murinda et S.P. Oliver.** Application of SYBR green real-time PCR assay for specific detection of *Salmonella* spp. in dairy farm environmental samples. *Int J Food Microbiol* 2005; 102(2):161-171.
134. **Nataro J.P., C.A. Bopp, P.I. Fields, J.B. Kaper et N.A. Strockbine.** *Escherichia, Shigella* and *Salmonella*. In: Murray P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen et coll., eds. *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. Washington: ASM Press, 2007; pp.670-687.
135. **Nielsen L.R., Y.H. Schukken, Y.T. Grohn et A.K. Ersboll.** *Salmonella* Dublin infection in dairy cattle: risk factors for becoming a carrier. *Prev Vet Med* 2004a; 65(1-2):47-62.
136. **Nielsen L.R., N. Toft et A.K. Ersboll.** Evaluation of an indirect serum ELISA and a bacteriological faecal culture test for diagnosis of *Salmonella* serotype Dublin in cattle using latent class models. *J Appl Microbiol* 2004b; 96(2):311-319.
137. **Nielsen L.R., L.D. Warnick et M. Greiner.** Risk factors for changing test classification in the Danish surveillance program for *Salmonella* in dairy herds. *J Dairy Sci* 2007; 90(6):2815-2825.

138. **Ogilvie T.H.** The persistent isolation of *Salmonella typhimurium* from the mammary gland of a dairy cow. *Can Vet J* 1986; 27:329-331.
139. **Olsen S.J., M. Ying, M.F. Davis, M. Deasy, B. Holland, L. Iampietro, C.M. Baysinger, F. Sassano, L.D. Polk, B. Gormley, M.J. Hung, K. Pilot, M. Orsini, D.S. Van, S. Rankin, C. Genese, E.A. Bresnitz, J. Smucker, M. Moll et J. Sobel.** Multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium infection from milk contaminated after pasteurization. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(5):932-935.
140. **[OMS] Organisation mondiale de la santé.** Salmonelles multirésistantes. Aide-mémoire N°139. 2005. Consulté le 15/9/2009 à l'adresse <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/fr/>
141. **Owen R.A., J. Fullerton et D.A. Barnum.** Effects of transportation, surgery, and antibiotic therapy in ponies infected with *Salmonella*. *Am J Vet Res* 1983; 44(1):46-50.
142. **Pacer R.E., J.S. Spika, M.C. Thurmond, N. Hargrett-Bean et M.E. Potter.** Prevalence of *Salmonella* and multiple antimicrobial-resistant *Salmonella* in California dairies. *J Am Vet Med Assoc* 1989; 195(1):59-63.
143. **Palmer J.E., R.H. Whitlock, C.E. Benson, J.L. Becht, D.D. Morris et H.M. Acland.** Comparison of rectal mucosal cultures and fecal cultures in detecting *Salmonella* infection in horses and cattle. *Am J Vet Res* 1985; 46(3):697-698.
144. **Pangloli P.D., S.P. Oliver, A. Mathew, D.A. Golde, W.J. Taylor et F.A. Draughon.** Evaluation of methods for recovery of *Salmonella* from dairy cattle, poultry, and swine farms. *J Food Prot* 2003; 66(11):1987-95.
145. **Pangloli P., Y. Dje, O. Ahmed, C.A. Doane, S.P. Oliver et F.A. Draughon.** Seasonal incidence and molecular characterization of *Salmonella* from dairy cows, calves, and farm environment. *Foodborne Pathog Dis* 2008; 5(1):87-96.
146. **Park J.K., W.S. Seok, B.J. Choi, H.M. Kim, B.K. Lim, S.S. Yoon, S. Kim, Y.S. Kim et J.Y. Park.** *Salmonella enterica* serovar London infections associated with consumption of infant formula. *Yonsei Med J* 2004; 45(1):43-48.

147. **Patchanee P., B. Moll, N. Whit, D.E. Lin et W.A. Gebreyes.** Tracking salmonella contamination in various watersheds and phenotypic and genotypic diversity. *Foodborne Pathog Dis* 2010; 7(9): 1113-20.
148. **Pavia A.T., L.D. Shipman, J.G. Wells, N.D. Puhr, J.D. Smith, T.W. McKinley et R.V. Tauxe.** Epidemiologic evidence that prior antimicrobial exposure decreases resistance to infection by antimicrobial-sensitive *Salmonella*. *J Infect Dis* 1990; 161(2):255-260.
149. **Peek S.F., F.A. Hartmann, C.B. Thomas et K.V. Nordlund.** Isolation of *Salmonella* spp from the environment of dairies without any history of clinical salmonellosis. *J Am Vet Med Assoc* 2004; 225(4):574-577.
150. **Popoff M.Y., J. Bockemuhl et L.L. Gheesling.** Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* 2004; 155(7):568-570.
151. **Radke B.R., M. McFall et S.M. Radostits.** *Salmonella* Muenster infection in a dairy herd. *Can Vet J* 2002; 43(6):443-453.
152. **Radostits O.M., C.C. Gay, K.W. Hinchcliff et P.D. Constable.** *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed. New York: Elsevier Saunders, 2007.
153. **Ravary B., G. Fecteau, R. Higgins, J. Paré et J.P. Lavoie.** Prévalence des infections à *Salmonella* spp. chez les bovins et les équins de l'Hôpital vétérinaire d'enseignement de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal. *Can Vet J* 1998; 39(9): 566–572.
154. **Rice D.H., T.E. Besser et D.D. Hancock.** Epidemiology and virulence assessment of *Salmonella dublin*. *Vet Microbiol* 1997; 56(1-2):111-124.
155. **Richardson A.** The transmission of *Salmonella dublin* to calves from adult carrier cows. *Vet Rec* 1973; 92(5):112-115.
156. **Richardson A.** *Salmonella dublin* infection in cattle. *Aust Vet J* 1974; 50(10):463-466.
157. **Richardson A.** Outbreaks of bovine salmonellosis caused by serotypes other than *S. dublin* and *S. typhimurium*. *Epidemiol Infect* 1975; 74(02):195-203.

158. **Richardson A. et A.R. Fawcett.** *Salmonella dublin* infection in calves: the value of rectal swabs in diagnosis and epidemiological studies. *Br Vet J* 1973; 129(2):151-156.
159. **Richwald G.A., S. Greenland, B.J. Johnson, J.M. Friedland, E.J. Goldstein et D.T. Plichta.** Assessment of the excess risk of *Salmonella dublin* infection associated with the use of certified raw milk. *Public Health Rep* 1988; 103(5):489-493.
160. **Rings D.M.** Salmonellosis in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1985; 1(3):529-539.
161. **Rodrigues U.M. et R.G. Kroll.** Rapid detection of salmonellas in raw meats using a fluorescent antibody-microcolony technique. *J Appl Bacteriol* 1990; 68(3):213-223.
162. **Rodriguez A., P. Pangloli, H.A. Richards, J.R. Mount et F.A. Draughon.** Prevalence of *Salmonella* in diverse environmental farm samples. *J Food Prot* 2006; 69(11):2576-2580.
163. **Sanford C.J., G.P. Keefe, J. Sanchez, R.T. Dingwell, H.W. Barkema, K.E. Leslie et I.R. Dohoo.** Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. *Prev Vet Med* 2006; 77(1-2):96-108.
164. **Santos R.L., S. Zhang, R.M. Tsohis, R.A. Kingsley, L.G. Adams et A.J. Baumler.** Animal models of *Salmonella* infections: enteritis versus typhoid fever. *Microbes Infect* 2001; 3(14-15):1335-1344.
165. **Sapkota A.R., L.Y. Lefferts, S. McKenzie et P. Walker.** What Do We Feed to Food-Production Animals? A Review of Animal Feed Ingredients and Their Potential Impacts on Human Health. *Environ Health Perspect* 2007; 115(5):663-670.
166. **Sato K., T.E. Carpenter, J.T. Case et R.L. Walker.** Spatial and temporal clustering of *Salmonella* serotypes isolated from adult diarrheic dairy cattle in California. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13(3):206-212.
167. **Schmidt H. et M. Hensel.** Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17(1):14-56.

168. **Selim S.A. et J.S. Cullor.** Number of viable bacteria and presumptive antibiotic residues in milk fed to calves on commercial dairies. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211(8):1029-1034.
169. **Shelobolina E.S., S.A. Sullivan, K.R. O'Neill, K.P. Nevin et D.R. Lovley.** Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant Bacterium from Low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(5):2959-2965.
170. **Singer R.S., C.L. Cooke, C.W. Maddox, R.E. Isaacson et R.L. Wallace.** Use of pooled samples for the detection of *Salmonella* in feces by polymerase chain reaction. *J Vet Diagn Invest* 2006; 18(4):319-325.
171. **Sinton L.W., R.R. Braithwaite, C.H. Hall et M.L. Mackenzie.** Survival of Indicator and Pathogenic Bacteria in Bovine Feces on Pasture. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73(24) :7917-7925.
172. **Smith B.P., F. Habasha, M. Reina-Guerra et A.J. Hardy.** Bovine salmonellosis: experimental production and characterization of the disease in calves, using oral challenge with *Salmonella typhimurium*. *Am J Vet Res* 1979; 40(11):1510-1513.
173. **Smith B.P., D.G. Oliver, P. Singh, G. Dilling, P.A. Martin, B.P. Ram, L.S. Jang, N. Sharkov et J.S. Orsborn.** 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(8):1352-1360.
174. **Smith B.P.** Salmonellosis in ruminants. In: Smith BP, ed. *Large Animal Internal Medicine*. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2002; pp.775-779.
175. **Smith H.W. et J.E. Jones.** Observations on experimental oral infection with *Salmonella dublin* in calves and *Salmonella choleraesuis* in pigs. *J Pathol Bacteriol* 1967; 93(1):141-156.
176. **Smith R.D.** Decision analysis in the evaluation of diagnostic tests. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 203(8):1184-1192.

177. **Smith R.D.** *Veterinary Clinical Epidemiology*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.
178. **Sorensen O., M. McFall et K. Manninen.** Prevalence of *Salmonella* in dairy herds in Alberta. *Can Vet J* 2003; 44(3):230-231.
179. **Spier S.J., B.P. Smith, J.S. Cullor, H.J. Olander, L.D. Roden et G.W. Dilling.** Persistent experimental *Salmonella dublin* intramammary infection in dairy cows. *J Vet Intern Med* 1991; 5(6):341-350.
180. **Steele M.L., W.B. McNab, C. Poppe, M.W. Griffiths, S. Chen, S.A. Degrandis, L.C. Fruhner, C.A. Larkin, J.A. Lynch et J.A. Odumeru.** Survey of Ontario bulk tank raw milk for food-borne pathogens. *J Food Prot* 1997; 60(11):1341-1346.
181. **Stone G.G., R.D. Oberst, M.P. Hays, S. McVey et M.M. Chengappa.** Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. *J Clin Microbiol* 1994; 32(7):1742-1749.
182. **Styliadis S. et D. Barnum.** *Salmonella muenster* infection in man and animals in the province of Ontario. Proceedings of the Symposium on Salmonella, New Orleans, LA. 1984:200-208.
183. **Tablante N.L. et V.M. Lane.** Wild mice as potential reservoirs of *Salmonella dublin* in a closed dairy herd. *Can Vet J* 1989; 30(7):590-592.
184. **Thomas M.K., S.E. Majowicz, P.N. Sockett, A. Fazil, F. Pollari, K. Dore, J.A. Flint et V.L. Edge.** Estimated Numbers of Community Cases of Illness Due to *Salmonella*, *Campylobacter* and Verotoxigenic *Escherichia Coli*: Pathogen-specific Community Rates. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2006; 17(4):229-234.
185. **Threlfall E.J., L.R. Ward, M.D. Hampton, A.M. Ridley, B. Rowe, D. Roberts, R.J. Gilbert, P. Van Someren, P.G. Wall et P. Grimont.** Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella enterica* serotype Anatum responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. *Epidemiol Infect* 1998; 121(2):289-293.

186. **Toft N., G.T. Innocent, G. Gettinby et S.W.J. Reid.** Assessing the convergence of Markov Chain Monte Carlo methods: An example from evaluation of diagnostic tests in absence of a gold standard. *Prev Vet Med* 2007; 79(2-4):244-256.
187. **Tsolis R.M., L.G. Adams, T.A. Ficht et A.J. Baumler.** Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infect Immun* 1999; 67(9):4879-4885.
188. **[USDA/APHIS] U.S. Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Services.** Prevalence of *Salmonella* and *Listeria* in Bulk Tank Milk and Inline Filters on U.S. Dairies, 2007. 2009a. Washington, D.C. National Animal Health Monitoring System, U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, Centers for Epidemiology and Animal Health.
189. **USDA/APHIS.** *Salmonella* and *Campylobacter* on U.S. Dairy Operations, 1996-2007. 2009b. Washington, D.C. National Animal Health Monitoring System, U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, Centers for Epidemiology and Animal Health.
190. **USDA/APHIS.** *E. coli* O157H7 and *Salmonella* - Status on U.S. Dairy Operations. 1998. Fort Collins, CO, USDA:APHIS:VS:CEAH, National Animal Health Monitoring System. 1998.
191. **USDA/APHIS.** *Salmonella* on U.S. Dairy Operations: Prevalence and Antimicrobial Drug Susceptibility. 2005. Fort Collins, CO, USDA:APHIS:VS:CEAH, National Animal Health Monitoring System. 2005.
192. **Usera M.A., A. Rodriguez, A. Echeita et R. Cano.** Multiple analysis of a foodborne outbreak caused by infant formula contaminated by an atypical *Salmonella virchow* strain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17(8):551-555.
193. **Vaessen M.A., J. Veling, K. Frankena, E.A. Graat et T. Klunder.** Risk factors for *Salmonella dublin* infection on dairy farms. *Vet Q* 1998; 20(3) :97-99.

194. **van der Zee H. et J.H.J. Huis in't Veld.** Methods for the Rapid Detection of *Salmonella*. In: Wray C, ed. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp. 373-391.
195. **van Duijkeren E. et D.J. Houwers.** A critical assessment of antimicrobial treatment in uncomplicated *Salmonella enteritis*. *Vet Microbiol* 2000; 73:61-73.
196. **Van Dreumel A.A., B.R. Boycott et R.A. Boroski.** A common source epizootic of bovine salmonellosis in Manitoba. *Can Vet J* 1969; 10(2):33-44.
197. **van Schaik G., F. Haro, A. Mella et J. Kruze.** Bayesian analysis to validate a commercial ELISA to detect paratuberculosis in dairy herds of southern Chile. *Prev Vet Med* 2007; 79(1):59-69.
198. **Veling J., F.G. van Zijderveld, A.M. Zijderveld-van Bommel, H.W. Barkema et Y.H. Schukken.** Evaluation of three newly developed enzyme-linked immunosorbent assays and two agglutination tests for detecting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar dublin infections in dairy cattle. *J Clin Microbiol* 2000; 38(12):4402-4407.
199. **Veling J., F.G. van Zijderveld, A.M. Zijderveld-van Bommel, Y.H. Schukken et H.W. Barkema.** Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for detecting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin antibodies in bulk milk. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(6):1049-1055.
200. **Veling J., H.W. Barkema, J. van der Schans, F. van Zijderveld et J. Verhoeff.** Herd-level diagnosis for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin infection in bovine dairy herds. *Prev Vet Med* 2002a; 53(1-2):31-42.
201. **Veling J., H. Wilpshaar, K. Frankena, C. Bartels et H.W. Barkema.** Risk factors for clinical *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium infection on Dutch dairy farms. *Prev Vet Med* 2002b; 54(2):157-168.
202. **Voetsch A.C., T.J. Van Gilder, F.J. Angulo, M.M. Farley, S. Shallow, R. Marcus, P.R. Cieslak, V.C. Deneen et R.V. Tauxe.** FoodNet Estimate of the Burden of Illness Caused by Nontyphoidal *Salmonella* Infections in the United States. *Clin Infect Dis* 2004; 38(s3):S127-S134.

203. **Vogt R.L., A. Hakey et J. Allen.** *Salmonella enteritidis* serotype derby and consumption of raw milk. J Infect Dis 1981; 144(6):608.
204. **Waltman W.D.** Methods for the Cultural Isolation of *Salmonella*. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp. 355-372.
205. **Warnick L.D., L.M. Crofton, K.D. Pelzer et M.J. Hawkins.** Risk factors for clinical salmonellosis in Virginia, USA cattle herds. Prev Vet Med 2001; 49(3-4):259-275.
206. **Warnick L.D., J.B. Kaneene, P.L. Ruegg, S.J. Wells, C. Fossler, L. Halbert et A. Campbell.** Evaluation of herd sampling for *Salmonella* isolation on midwest and northeast US dairy farms. Prev Vet Med 2003a; 60(3):195-206.
207. **Warnick L.D., K. Kanistanon, P.L. McDonough et L. Power.** Effect of previous antimicrobial treatment on fecal shedding of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serogroup B in New York dairy herds with recent clinical salmonellosis. Prev Vet Med 2003b; 56(4):285-297.
208. **Wathes C.M., W.A. Zaidan, G.R. Pearson, M. Hinton et N. Todd.** Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella typhimurium*. Vet Rec 1988; 123(23):590-594.
209. **Watson W.A., B. Wood et A. Richardson.** *Salmonella dublin* infection in a beef herd. Br Vet J 1971; 127(6):294-298.
210. **Wedderkopp A., U. Stroger, V. Bitsch et P. Lind.** Testing of bulk tank milk for *Salmonella* Dublin infection in Danish dairy herds. Can J Vet Res 2001; 65(1):15-21.
211. **Wells S.J., P.J. Fedorka-Cray, D.A. Dargatz, K. Ferris et A. Green.** Fecal shedding of *Salmonella* spp. by dairy cows on farm and at cull cow markets. J Food Prot 2001; 64(1):3-11.
212. **Williams B.M.** Environmental considerations in salmonellosis. Vet Rec 1975; 96(14):318-321.
213. **[WHO] World Health Organization.** WHO Global Salm-Surv. 2009. Consulté le 15/9/2009 à l'adresse <http://thor.dfvf.dk/gss>

214. **Wood R.L., A. Pospischil et R. Rose.** Distribution of persistent *Salmonella typhimurium* infection in internal organs of swine. *Am J Vet Res* 1989;50(7): 1015-21.
215. **Wray C. et R.J. Callow.** The detection of *Salmonella* infection in calves by the fluorescent antibody test. *Vet Microbiol* 1989; 19(1):85-89.
216. **Wray C. et R.H. Davies.** *Salmonella* Infections in Cattle. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals* Oxon, UK: CABI Publishing, 2000; pp.169-190.
217. **Wray C. et W.J. Sojka.** Reviews of the progress of dairy science: bovine salmonellosis. *J Dairy Res* 1977; 44(2):383-425.
218. **Wray C. et W.J. Sojka.** Experimental *Salmonella typhimurium* infection in calves. *Res Vet Sci* 1978; 25(2):139-143.
219. **Wray C., J.N. Todd et M. Hinton.** Epidemiology of *Salmonella typhimurium* infection in calves: excretion of *S. typhimurium* in the faeces of calves in different management systems. *Vet Rec* 1987; 121(13):293-296.
220. **Wray C., Q.C. Wadsworth, D.W. Richards et J.H. Morgan.** A three-year study of *Salmonella dublin* infection in a closed dairy herd. *Vet Rec* 1989; 124(20):532-537.
221. **Wray C., N. Todd, I. McLaren, Y. Beedell et B. Rowe.** The epidemiology of *Salmonella* infection of calves: the role of dealers. *Epidemiol Infect* 1990; 105(2):295-305.
222. **Wray C., N. Todd, I.M. McLaren et Y.E. Beedell.** The epidemiology of *Salmonella* in calves: the role of markets and vehicles. *Epidemiol Infect* 1991; 107(3):521-525.
223. **Yeruham I., D. Elad, M. Mechani et A. Lublin.** Outbreak of salmonellosis in calves in a dairy herd caused by monophasic *Salmonella* serovar 9,12:l,v. *Vet Rec* 2005; 157(24):778-779.
224. **Yoon S.H., Y.K. Park, S. Lee, D. Choi, T.K. Oh, C.G. Hur et J.F. Kim.** Towards pathogenomics: a web-based resource for pathogenicity islands. *Nucl Acids Res* 2007; 35(suppl_1):D395-400.

225. **Zhang S., R.A. Kingsley, R.L. Santos, H. Andrews-Polymenis, M. Raffatellu, J. Figueiredo, J. Nunes, R.M. Tsolis, L.G. Adams et A.J. Baumber.** Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype typhimurium-induced diarrhea. *Infect Immun* 2003; 71(1):1-12.

Annexe 1

Formulaire d'enrôlement de troupeau

Cornell University Salmonella Project Herd Enrollment Veterinary Practice: <<Practice Name>>

Date _____ Primary herd Veterinarian _____
Farm Name _____
Farm Address _____
City/Village _____ State _____ ZIP _____
Owner _____
Primary contact person _____
Mailing Address _____ City _____ State _____ ZIP _____
Tel: (____) _____ Fax: (____) _____ E-mail: _____
Farm Latitude (D:M) _____ Longitude (D:M) _____

Cattle Inventory at this facility on date of enrollment: (use computer or other herd records if possible)

Group	Number Head	
Heifer calves on milk		
Heifers from weaning to calving		
Lactating cows		
Dry cows		
Bulls	Bull Calves (on milk)	Other Bulls
Other cattle (e.g. beef)		

Check if farm only raises heifers

Is farm certified organic? Yes No
If yes, date certified: _____

Housing used routinely for calves before weaning (check all that apply)

Hutch Greenhouse Curtain barn Tied in cow barn Individual pens in cow barn
Other (please describe) _____

Housing used for lactating cows (check all that apply)

Freestall Tie stall Other (please describe) _____

Salmonella History

Has clinical salmonellosis been diagnosed (with or without lab confirmation) in this herd previously? Yes No

If yes, when was the most recent case? Date _____

How many cattle in this herd were diagnosed with salmonellosis in the last 12 months? _____ (enter 0 if none)

Immunization

Which of the following products were used to vaccinate the herd during the last 12 months? (check all that apply)

J-5 J-VAC® ENDOVAC-Bovi® Commercial *Salmonella* bacterin

Autogenous *Salmonella* bacterin None

Milk Production Records DHI On-farm computer records None for individual cows

Permission to access DHI records: Yes No If yes, Herd Code _____ RAC _____

Annexe 2

Formulaire de soumission

BCS Submission Form



NYS Animal Health Diagnostic Laboratory

College of Veterinary Medicine, Cornell University
 In Partnership with the NYS Dept of Ag & Markets
 US Postal Service Address: PO Box 5786
 Ithaca, NY 14852-5786

Courier Service Address: Upper Tower Rd
 Ithaca, NY 14853

AHDL Contacts
 Phone: 607-253-3900
 Fax: 607-253-3943
 Web: diaglab.vet.cornell.edu
 E-mail: diaglab@cornell.edu

LAB USE ONLY

AHDL Accession No./ Date _____

Pathology Case Number (if any) _____

PLEASE COMPLETE ALL FIELDS, PRINT LEGIBLY, AND ENTER ONLY ONE OWNER PER FORM

Enter Your Cornell AHDL Acct No. _____	
Submitting Practice _____	Owner _____
Submitting Veterinarian _____	Address _____
Address _____	City, State, Zip _____
City/State/Zip _____	Phone Number _____
Phone _____ Fax _____	County _____ Town _____

PLEASE FWD TO CAROL PITCHER: 1 COPY OF ACCESSION FORM
 1 COPY OF ALL TEST RESULTS

Bovine Clinical Salmonellosis: 2004-2005

Dr. Lorin Warnick, Dr. Daryl Nydam

Test results mailed unless checked here to be Faxed

Samples are from cattle suspected of having salmonellosis. Please indicate clinical signs in the table below. Use the following space to describe other clinical signs or provide additional information as needed (include sample number; indicate if animal tested is dead).

Date Samples Taken: _____

Item	Animal ID	Breed	Sex	Age/DOB	Calving Date/DIM or Dry	Lact. #	Diar-rhea (Y/N)	Fever > 103 (Y/N)	Fecal blood or mucus (Y/N)	Recum-bent (Y/N)	Dehy-drated (Y/N)	List antibiotics given in last week	Swab Sub-mitted (check)
1							Y N	Y N	Y N	Y N	Y N		<input type="checkbox"/>
2							Y N	Y N	Y N	Y N	Y N		<input type="checkbox"/>
3							Y N	Y N	Y N	Y N	Y N		<input type="checkbox"/>
4							Y N	Y N	Y N	Y N	Y N		<input type="checkbox"/>
5							Y N	Y N	Y N	Y N	Y N		<input type="checkbox"/>

<p>Calves on milk</p> <p>for Item Numbers: _____</p> <p>SAMPLES SUBMITTED:</p> <p><input type="checkbox"/> Feces <input type="checkbox"/> Other: _____</p> <p>TESTS TO BE DONE:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Salmonella culture/sens. <input type="checkbox"/> Enteric Panel I (Salm. & E. coli) <input type="checkbox"/> Rota/Corona Virus* <input type="checkbox"/> Parasitology*</p> <p>*Submit separate samples for each test.</p>	<p>Heifers: weaning to calving</p> <p>for Item Numbers: _____</p> <p>SAMPLES SUBMITTED:</p> <p><input type="checkbox"/> Feces <input type="checkbox"/> Other: _____</p> <p>TESTS TO BE DONE:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Salmonella culture/sens. <input type="checkbox"/> Parasitology*</p> <p>*Submit separate sample.</p>	<p>Cows/Other Cattle</p> <p>for Item Numbers: _____</p> <p>SAMPLES SUBMITTED:</p> <p><input type="checkbox"/> Feces <input type="checkbox"/> Other: _____</p> <p>TESTS TO BE DONE:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Salmonella culture/sens.</p>
---	--	--

Notes to Veterinarian: Samples requiring additional tests should be submitted separately using a standard AHDL General Submission Form. Samples submitted for testing become the property of the Animal Health Diagnostic Laboratory.

<p>LAB USE ONLY</p> <p>OPENED BY: _____</p>	<p>COURIER RECORD:</p> <p><input type="checkbox"/> AB <input type="checkbox"/> Mail DATE REC'D: _____</p> <p><input type="checkbox"/> FX <input type="checkbox"/> Pri Mail TIME REC'D: _____</p> <p><input type="checkbox"/> UPS-Grnd <input type="checkbox"/> Exp Mail DATE SHIP'D: _____</p> <p><input type="checkbox"/> UPS-ND <input type="checkbox"/> Other: _____</p>	<p>COOLANT RECORD:</p> <p><input type="checkbox"/> FROZEN <input type="checkbox"/> DRY ICE <input type="checkbox"/> RM TEMP</p> <p><input type="checkbox"/> NOT FROZEN <input type="checkbox"/> COLD PACK <input type="checkbox"/> COOL</p> <p><input type="checkbox"/> NONE <input type="checkbox"/> COLD</p> <p><input type="checkbox"/> COMMENT: _____</p>
--	---	---

Annexe 3

Code du programme WinBUGS utilisé

```
model;
SSesc ~ dbeta(1, 1)
SSpsc ~ dbeta(1, 1)
pi2 ~ dbeta(1, 1)
SSecult ~ dbeta(1,1)
SSpcult ~ dbeta(1,1)
pi1 ~ dbeta(1, 1)
Sesc <- max(SSesc,(1-SSpsc)
Spsc <- max(SSpsc,(1-SSesc)
Secult <- max(SSecult,(1-SSpcult)
Spcult <- max(SSpcult,(1-SSecult)

(1:Q, 1:Q) ~ dmulti(p1(1:Q, 1:Q), n1)
z(1:Q, 1:Q) ~ dmulti(p2(1:Q, 1:Q), n2)
p1(1,1) <- pi1*Sesc*Secult + (1-pi1)*(1-Spsc)*(1-Spcult)
p1(1,2) <- pi1*Sesc*(1-Secult) + (1-pi1)*(1-Spsc)*Spcult
p1(2,1) <- pi1*(1-Sesc)*Secult + (1-pi1)*Spsc*(1-Spcult)
p1(2,2) <- pi1*(1-Sesc)*(1-Secult) + (1-pi1)*Spsc*Spcult
p2(1,1) <- pi2*Sesc*Secult + (1-pi2)*(1-Spsc)*(1-Spcult)
p2(1,2) <- pi2*Sesc*(1-Secult) + (1-pi2)*(1-Spsc)*Spcult
p2(2,1) <- pi2*(1-Sesc)*Secult + (1-pi2)*Spsc*(1-Spcult)
p2(2,2) <- pi2*(1-Sesc)*(1-Secult) + (1-pi2)*Spsc*Spcult
}

list(n2=1160, n1=265, z=structure(.Data=c(179,243,202,536),.Dim=c(2,2)),
y=structure(.Data=c(14,75,12,164),.Dim=c(2,2)), Q=2)

list(pi1=0.1,pi2=0.4,SSesc=0.5,SSpsc=0.6,SSecult=0.75,SSpcult=0.99)
list(pi1=0.5,pi2=0.5,SSesc=0.5,SSpsc=0.5,SSecult=0.55,SSpcult=0.5)
```