

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Évaluation et gestion du risque
associé à la présence de *Salmonella* spp.
chez le porc à l'abattoir

par

Nancy Rheault

Département de pathologie et microbiologie

Faculté de médecine vétérinaire

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade
Philosophiae Doctor (Ph.D.)
en sciences vétérinaires
option microbiologie

Décembre, 2005



©Nancy Rheault, 2005

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

Évaluation et gestion du risque
associé à la présence de *Salmonella* spp.
chez le porc à l'abattoir

présentée par

Nancy Rheault

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Martine Boulianne, présidente-rapporteuse

Sylvain Quessy, directeur de recherche

Julie Paré, codirectrice

Serge Messier, membre du jury

Gabriel Piette, examinateur externe

Mario Jacques, représentant du doyen de la FÉS

SOMMAIRE

La contamination de la viande de porc par des bactéries pathogènes survient le plus souvent lors du processus d'abattage. Afin d'évaluer les risques microbiologiques associés à la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir, il convient d'utiliser les principes reconnus en analyse du risque et de les appliquer au contexte québécois. Ce projet de recherche a été divisé en trois objectifs généraux: la caractérisation du danger bactérien, l'évaluation de l'exposition des carcasses de porc à la contamination microbienne à l'abattoir et la gestion du risque.

Salmonella spp. a été isolée dans respectivement, 2.8%, 15.9% et 13.4% des échantillons provenant de patients diarrhéiques ($n = 1754$), du porc ($n = 2298$) et des poulets à griller ($n = 2175$). Par une caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Salmonella* spp., l'étude a permis d'établir un lien génétique entre les isolats multirésistants d'origine humaine (fèces), animale (d'origine porcine et aviaire; fèces) et alimentaire (porc; carcasses). Ces données ont permis d'établir que le porc et les poulets à griller peuvent être considérés comme des réservoirs potentiels de souches de *Salmonella* spp. multirésistantes impliquées dans les cas sporadiques de salmonellose chez l'homme.

Chez le porc, plusieurs sources possibles de contamination par *Salmonella* spp. à l'abattoir ont été examinées afin d'évaluer les points critiques où une contamination croisée aux carcasses de porc peut survenir. Les animaux porteurs sains, l'environnement, certaines étapes considérées critiques à l'abattoir (telles que: l'éviscération et l'enlèvement des plaies de saignée) de même que la contamination des carcasses réfrigérées ont fait l'objet d'analyse dans cette étude. *Salmonella* spp. a été isolée dans 4.0% des échantillons environnementaux. Parmi les sites les plus contaminés, les gants, les tabliers des travailleurs et les surfaces de travail ont été identifiés. La prévalence de *Salmonella* spp. sur les carcasses de porc réfrigérées a été estimée à 6.6%. *Salmonella* Typhimurium et Derby ont été les sérovars prédominants tant au niveau des fèces, dans l'environnement qu'au niveau des carcasses. Les animaux porteurs sains et

l'étape de l'enlèvement des intestins ont été identifiés comme étant des points critiques pouvant être impliqués dans la contamination croisée des carcasses de porc par des bactéries pathogènes. Par conséquent, certaines mesures de contrôle appliquées à l'abattoir, telles que les techniques de parage ou de lavage à l'eau chaude (55°C), ont été étudiées afin d'évaluer leur efficacité à réduire les taux de la contamination microbienne sur les carcasses de porc. Dans cette étude, aucune de ces techniques de décontamination, utilisée seule, n'a été efficace afin d'assurer une diminution significative de la charge des bactéries aérobies totales, des coliformes totaux et *Escherichia coli* présents sur les groupes de carcasses contaminées échantillonnées.

Face au risque non négligeable associé à la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir et à la possibilité de transmettre des salmonelles multirésistantes à l'homme, il y a donc lieu d'améliorer le contrôle des points critiques identifiés dans cette étude et d'approfondir les recherches afin d'assurer une gestion efficace de la contamination microbienne des carcasses de porc par des bactéries pathogènes.

Mots clés : évaluation du risque, *Salmonella* spp., résistance antimicrobienne, porc, contamination à l'abattoir, gestion du risque, HACCP

ABSTRACT

Pork meat contamination by foodborne pathogens occurs most often during the slaughter process. In order to refine microbial risk assessment related to *Salmonella* spp. on pork carcasses during swine processing, it is necessary to use and apply the acknowledged principles in risk assessment in the Québec situation. The general objectives of this study were based on microbial hazard characterization, exposure assessment and risk management.

Salmonella spp. was found in, respectively, 2.8%, 15.9% and 13.4% of diarrheic patients ($n = 1754$), swine ($n = 2298$) and broiler chickens ($n = 2175$) total samples. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. strains demonstrated genetic relationships between multiresistant isolates from animals (pig and broiler chickens; feces), food source (pig carcasses) and humans (feces). These data indicate that swine and broiler chickens may be considered as reservoirs of multiresistant *Salmonella* spp. strains involved in sporadic cases of salmonellosis.

Several possible sources of microbial contamination at pork slaughterhouses were analyzed to assess selected points where cross-contamination regarding *Salmonella* spp. and pork meat could occur. Healthy pig carriers of *Salmonella* spp., slaughterhouse environment, critical steps during the slaughter process (e.g. evisceration procedures and the stick wound removal) and the chilled carcasses were the target points in this study. *Salmonella* spp. was detected in 4.0% of the environmental samples. Among the contaminated environmental samples: gloves, aprons and working surfaces were the ones most frequently contaminated by *Salmonella* spp. The prevalence of *Salmonella* spp. positive chilled pork carcasses was 6.6%. It was also observed that Typhimurium and Derby serovars were ranked among the most frequent serovars recovered from feces, environment or carcasses. Healthy carriers and the removal of the intestinal tract, during evisceration procedures, have been considered to be significant critical control points as a source of pork carcass cross-contamination by pathogenic bacteria.

As a result, some management measures such as trimming or hot water wash (55°C) of pork carcasses for reducing the bacterial level contamination have been assessed in slaughterhouse environments. In this study, no significant difference has been observed in the reduction of total aerobic bacterial load, total coliforms and *Escherichia coli* counts on the contaminated pork carcasses analyzed.

Based on the non negligible risk associated with *Salmonella* spp. in pork at slaughterhouse and the potential introduction of multiresistant strains in human, further research is warranted in order to ensure effective foodborne pathogens contamination management in pig carcasses at slaughterhouses.

Keywords: Risk assessment, *Salmonella* spp., antimicrobial resistance, pork, slaughterhouse, microbial contamination, risk management, HACCP

TABLE DES MATIÈRES

IDENTIFICATION DU JURY	ii
SOMMAIRE	iii
ABSTRACT	v
TABLE DES MATIÈRES	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES FIGURES.....	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xiii
DÉDICACE	xv
REMERCIEMENTS.....	xvi
Chapitre 1. INTRODUCTION	1
Chapitre 2. RECENSION DE LA LITTÉRATURE	6
2.1 Caractéristiques générales de <i>Salmonella</i> spp.	7
2.1.1 Taxonomie et nomenclature	7
2.1.2 Spécificité d'hôte.....	8
2.1.3 Caractéristiques générales de survie des salmonelles.....	9
2.2 Isolement et culture	10
2.3 Techniques de typage bactérien en épidémiologie moléculaire	11
2.3.1 Techniques de caractérisation phénotypique	12
2.3.1.1 Biotypie.....	12
2.3.1.2 Sérotypie	13
2.3.1.3 Lysotypie.....	14
2.3.1.4 Antibiorésistance.....	15
2.3.2 Techniques de caractérisation génotypique	18
2.4 Infections à <i>Salmonella</i> spp. chez l'humain	20
2.5 Épidémiologie de <i>Salmonella</i> spp. chez le porc	21
2.5.1 Aspect clinique	21

2.5.2	Transmission et excrétion.....	22
2.6	Pathogénie et facteurs de virulence.....	25
2.6.1	Exotoxines produites par <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	27
2.6.2	Endotoxines produites par <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	28
2.7	Prévalence de <i>Salmonella</i> spp. sur les carcasses de porc réfrigérées	28
2.8	Principes généraux en analyse du risque	29
2.8.1	Évaluation du risque.....	31
2.8.2	Facteurs de risque associés à la présence de <i>Salmonella</i> spp. à l'abattoir	32
2.8.2.1	Animaux porteurs asymptomatiques.....	32
2.8.2.2	Transport et période de stabulation avant l'abattage	34
2.8.2.3	Processus d'abattage	34
2.9	Gestion du risque.....	38
2.9.1	Analyse des dangers et maîtrise des points critiques.....	38
2.9.2	Techniques de décontamination des carcasses	42
Chapitre 3.	ARTICLE 1	
	Characterization of <i>Salmonella</i> isolates from swine and chicken broilers and from sporadic cases of human salmonellosis.....	44
Chapitre 4.	ARTICLE 2	
	Distribution and prevalence of <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> and coliform bacteria on pork carcasses in the Québec slaughterhouse environment.....	76
Chapitre 5.	ARTICLE 3	
	Évaluation de la contamination microbienne des plaies de saignée lors du processus d'abattage des porcs	104

Chapitre 6. ARTICLE 4

Comparaison de l'effet du parage et du lavage à l'eau chaude des carcasses de porc afin de réduire le niveau de la contamination microbienne	121
--	-----

Chapitre 7. DISCUSSION GÉNÉRALE 138

7.1 Caractérisation phénotypique et génotypique des souches de <i>Salmonella</i> spp. d'origine animale, alimentaire et humaine	141
7.2 Données microbiologiques relatives à <i>Salmonella</i> spp. et <i>E. coli</i> chez le porc à l'abattoir.....	144
7.2.1 Prévalence de <i>Salmonella</i> spp. chez le porc à l'abattoir	144
7.2.2 Identification des sources de contamination présentes dans l'environnement lors du processus d'abattage de porcs	145
7.2.3 Prévalence de <i>Salmonella</i> spp. et <i>E. coli</i> sur les carcasses de porc réfrigérées.....	147
7.3 Évaluation de certaines étapes considérées critiques à l'abattoir	149
7.3.1 Étape du parage de la plaie de saignée	150
7.3.2 Étapes de l'éviscération.....	152
7.3.3 Suivi microbien des carcasses de porc à l'étape de la douche finale	153
7.4 Techniques de décontamination appliquées à l'abattoir.....	154

Chapitre 8. CONCLUSION..... 157**BIBLIOGRAPHIE** 162

LISTE DES TABLEAUX

ARTICLE 1

Tableau I: <i>Salmonella</i> serovars from human, swine and broiler chicken isolates	71
Tableau II: <i>Salmonella</i> phagetypes from human, porcine and broiler chicken isolates	72
Tableau III: Number of resistant, fully susceptible and multidrug-resistant <i>Salmonella</i> ssp. isolates from humans, swine and broiler chickens, distributed by serovars	73
Tableau IV: Antimicrobial resistance profiles of <i>Salmonella</i> spp. isolated from swine, poultry and human sources.....	74

ARTICLE 2

Tableau I: <i>Salmonella</i> spp. recovered from chilled swine carcasses, fecal material and in slaughterhouse environment at four pork-packing plants	100
Tableau II: Distribution of <i>Salmonella</i> spp. serotypes and phagetypes recovered from chilled swine carcasses, feces and from slaughterhouse environment at four Québec pork-packing plants.....	101
Tableau III: Distribution of microbial contamination of environmental sites in two slaughterhouses (A, B) during operations.....	102
Tableau IV: Microbial counts recovered after sequential sampling of 32 swine carcasses at various evisceration steps in slaughterhouse during operations.....	103

ARTICLE 3

Tableau I: Contamination des plaies de saignée par *Salmonella* spp. et *Escherichia coli* avant et après le parage 117

Tableau II: Suivi de la moyenne géométrique du compte bactérien et de la médiane d'*Escherichia coli* et des coliformes fécaux, avec le minimum et le maximum des valeurs, de 99 plaies de saignée pairées échantillonnées avant et après le parage..... 118

Tableau III: Suivi de la contamination des *Escherichia coli* chez 99 carcasses avant et après le parage de la plaie de saignée..... 119

Tableau IV: Suivi de la contamination par des coliformes fécaux chez 99 carcasses avant et après le parage de la plaie de saignée 120

ARTICLE 4

Tableau I: Moyenne du compte bactérien et de la médiane (minimum, maximum) d'*Escherichia coli* et des coliformes fécaux avant et après le parage et le lavage à l'eau chaude de deux groupes de carcasses de porc présentant une contamination avant les traitements 135

Tableau II: Évolution des comptes des bactéries aérobies totales sur deux groupes de 40 carcasses de porc soumis à deux techniques de décontamination..... 136

Tableau III: Évolution des coliformes fécaux évalués chez deux groupes de carcasses de porc contaminées avant les traitements et soumis à deux techniques de décontamination 137

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Processus de l'analyse du risque	30
Figure 2: Schématisation du processus d'abattage des porcs	35
Figure 3: Arbre de décision des points critiques à maîtriser (CCPs)	39
Figures 4a et 4b: Pulse-field gel electrophoresis of multi-drug resistant <i>S. Typhimurium</i> PT104 with restriction enzymes <i>XbaI</i> and <i>SpeI</i> strains isolated from porcine, poultry and human sources	75

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACIA/ CFIA	Agence canadienne d'inspection des aliments; Canadian Food Inspection Agency
ACSSuT	Résistance aux antimicrobiens : ampicilline, chloramphenicol, streptomycine, sulfonamide, tétracycline; Antimicrobial resistance to : ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides, tetracycline
ACSSuT-Sh-N	Résistance aux antimicrobiens: ampicilline, chloramphenicol, streptomycine, sulfonamide, tetracycline, spectinomycine, néomycine; Antimicrobial resistance to : ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides, tetracycline, spectinomycin, neomycin
ADN/ DNA	Acide désoxyribonucléique; Deoxyribonucleic acid
ARN/ RNA	Acide ribonucléique; Ribonucleic acid
ASPC/ PHAC	Agence de santé publique du Canada; Public Health Agency of Canada
BPW	Eau peptonée tamponnée; Buffered peptone water
CCP	Point critique à maîtriser; Critical control point
UFC/ CFU	Unité formatrice de colonie; Colony-forming unit
CMI	Concentration minimale inhibitrice
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture; Food and Agriculture Organization of the United Nations
HACCP	Analyse des dangers et maîtrise des points critiques; Hazard analysis and critical control point
LPS	Lipopolysaccharides
OMS/ WHO	Organisation Mondiale de la Santé; World Health Organization
PICRA/ CIPARS	Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens; Canadian integrated program for antimicrobial

	resistance surveillance
PFGE	Électrophorèse en champs pulsés; Pulse field gel electrophoresis
PMN	Cellules polymorphonucléaires; Polymorphonuclear cells
PT104	<i>Salmonella enteritica</i> sous-espèce <i>enteritica</i> sérovar Typhimurium type phagique 104; <i>Salmonella enteritica</i> subspecie <i>enteritica</i> serovar Typhimurium phage type 104
ST	<i>Salmonella enteritica</i> sous-espèce <i>enteritica</i> sérovar Typhimurium; <i>Salmonella enteritica</i> subspecie <i>enteritica</i> serovar Typhimurium
µm	Micromètre; Micrometer
USDA	United States Department of Agriculture

À mon père ...

De là haut tu me guides

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance aux personnes qui m'ont supportée, encouragée et conseillée dans la réalisation de ce projet d'étude. Grâce à leur expérience, ces personnes ont su bien me guider dans l'accomplissement de cet ouvrage. Tout particulièrement, j'aimerais remercier les personnes suivantes:

- ◆ Mon directeur, le Dr Sylvain Quessy, pour ses précieux conseils, son appui et pour la confiance et l'encouragement qu'il m'a témoignés.
- ◆ Ma codirectrice, la Dre Julie Paré, pour sa disponibilité, sa générosité et ses conseils.
- ◆ Les membres du Laboratoire d'hygiène vétérinaire et alimentaire de St-Hyacinthe, de la section hygiène du milieu: Louise Lessard, Louise Beausoleil, Marie-Claude Bérard, Julie Légaré, Kathie Roseberry, pour leur collaboration dans ce projet de recherche, les services rendus et surtout pour leur amitié.
- ◆ Le personnel et les étudiants de la Chaire de recherche en salubrité des viandes pour leurs appuis et encouragements.
- ◆ Ma famille pour m'avoir soutenu tout au long de ces années.
- ◆ Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont rendu possible cette étude dans les établissements à l'abattoir, l'Université de Montréal et le Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FCAR) pour leur soutien et appui financier.
- ◆ Et à tous ceux d'entre vous qui ont commenté et aidé à améliorer ce document.

Merci.

CHAPITRE 1.
Introduction

Salmonella spp. est reconnue mondialement comme l'un des principaux agents pathogènes alimentaires. Les salmonelles représentent une préoccupation majeure en santé publique, soit par: les toxi-infections alimentaires chez l'homme et l'émergence de souches de salmonelles multirésistantes (Corrégé, 2001). Au Canada, on rapporte de 6 000 à 12 000 cas de salmonellose chaque année (Santé Canada, 2005). Cependant, il est estimé que pour chacun des cas rapportés, une forte proportion de cas de salmonellose humaine demeurent non répertoriés dans les statistiques (Schlundt *et al.*, 2004). Au Québec, entre 2001-2004, la salmonellose a occupé le deuxième rang des gastro-entérites aiguës avec une incidence d'environ 14 par 100 000 personnes-année (Louchini et Douville-Fradet, 2001; Frigon, 2005).

De plus, la présence de *Salmonella* spp. dans les produits de viande constitue une priorité tant par les problèmes de santé que par les pertes économiques qu'elle entraîne (Todd, 1997; Bryan, 1998; Broes, 2001; Schlundt *et al.*, 2004). Le pourcentage de transmission de *Salmonella* spp. par les produits alimentaires est estimé à 95% (90-97%) (Berends *et al.*, 1998). Étant donné le large spectre d'animaux pouvant être porteurs asymptomatiques, une grande variété d'aliments peut également être à l'origine d'une infection humaine. Les ovo-produits et la viande de volaille sont les denrées principalement mises en cause dans ces infections (Hald et Wegener, 1999). Toutefois, la portion des infections liée à la viande de porc reste préoccupante et représente 5 à 30% des cas humains dans les pays industrialisés (Bryan, 1988; Bean et Griffin, 1992; Berends *et al.*, 1998).

D'autre part, l'émergence de souches de salmonelles multirésistantes aux antibiotiques représente une source d'inquiétude en santé publique. Ces souches multirésistantes compromettent l'efficacité des traitements antibiotiques lors de salmonellose clinique. Au Canada, et dans plusieurs autres pays industrialisés, *Salmonella enteritica* sérovar Typhimurium est le sérovar le plus fréquemment rapporté lors d'infection humaine. Une hausse des cas de salmonellose humaine associés à *S. Typhimurium* type phagique (PT) 104, caractérisé par une résistance multiple aux antimicrobiens, a été observée (Poppe *et al.*, 1998; Sandvang *et al.*, 1998; Poppe *et al.*,

2002). Des isolats de *S. Typhimurium* PT104 ont également été signalés lors d'infections humaines suite à la consommation de viande porcine (Molbak *et al.*, 1999). Cependant, très peu de données sont disponibles quant aux sources d'infection dans les cas sporadiques de salmonellose humaine. Une caractérisation phénotypique des souches de *Salmonella* spp. retrouvées chez les animaux porteurs sains, dans la viande porcine et chez l'homme permettrait un meilleur suivi de la situation relative aux résistances antimicrobiennes. Par comparaison génétique des souches, il serait intéressant de déterminer si un lien génétique existe entre les souches d'origine animale et celles retrouvées dans les cas sporadiques de salmonellose humaine.

Cette situation en santé publique a amené les autorités sanitaires de plusieurs pays à prendre des mesures pour contrôler plus efficacement les salmonelles dans la chaîne alimentaire. Les systèmes HACCP (analyse des dangers et maîtrise des points critiques) mis en place dans l'industrie porcine sont des outils essentiels à la prévention de la contamination des carcasses de porc par des agents entéropathogènes, tels que *Salmonella* spp. (Bryant *et al.*, 2003). Par contre, un système HACCP n'est efficace que s'il repose sur des données microbiologiques validées chez le porc à l'abattoir (Brown *et al.*, 2000). Ces données sont primordiales afin de peaufiner les modèles HACCP utilisés pour le contrôle des agents pathogènes. Or, nos connaissances relatives à l'épidémiologie des microorganismes pathogènes à l'abattoir et en transformation sont limitées. Il existe plusieurs études en Amérique du Nord sur l'épidémiologie des *Salmonella* spp. en productions animales, mais très peu ont été faites chez le porc à l'abattoir.

Actuellement, l'application des systèmes HACCP à l'abattoir est basée principalement sur une évaluation subjective des risques, ayant comme conséquence une identification incertaine de certains points critiques à maîtriser (CCPs) dans le contrôle des dangers microbiens. Ainsi, lors du processus d'abattage, si les CCPs demeurent mal identifiés, les procédures habituelles d'opération dans le contrôle des dangers seront susceptibles d'être inefficaces (Brown *et al.*, 2000). Face à cette problématique, il y a alors de bonnes raisons de supposer que certains des systèmes HACCP actuellement en

cours d'opération peuvent offrir un contrôle variable et insatisfaisant relatif aux conditions microbiologiques des viandes crues.

Étant donné ces considérations, il s'est avéré nécessaire d'améliorer les connaissances épidémiologiques associées à la contamination microbienne de la viande porcine lors du processus d'abattage. Une évaluation sur la distribution et la prévalence de *Salmonella* spp. sur les carcasses de porc et dans l'environnement à l'abattoir; de même qu'une étude portant sur le suivi des microorganismes indicateurs, tels que *Escherichia coli* (*E. coli*) et les coliformes fécaux, permettraient de générer des données microbiologiques. Dans le contexte des modèles HACCP, il apparaît tout aussi important de valider certaines procédures considérées critiques afin de mieux évaluer leur impact sur la charge microbienne des carcasses. Conséquemment, de telles données pourraient, dans la mesure où cela est possible, améliorer considérablement la précision des modèles d'évaluation du risque ainsi que l'efficacité des outils de contrôle lors du processus d'abattage.

De part la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir et à la possibilité d'introduire des salmonelles multirésistantes chez l'homme, il y a donc lieu d'approfondir les recherches afin de trouver des méthodes acceptables et rentables de décontamination des carcasses qui assureraient une réduction significative de la charge bactérienne sur les carcasses. Dans la littérature, plusieurs de ces expérimentations ont été réalisées dans des conditions de laboratoire pouvant mener à une optimisation des réductions bactériennes obtenues en comparaison avec celles réalisées à l'abattoir. Une évaluation approfondie et une validation de certaines techniques de décontamination applicables sur les carcasses de porc pourraient apporter à l'industrie de meilleurs moyens de contrôle afin de rencontrer les exigences réglementaires.

L'hypothèse de cette étude est qu'en appliquant les principes reconnus en analyse du risque et en améliorant les connaissances épidémiologiques associées à la contamination microbienne par *E. coli* et *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir, il est possible d'optimiser le contrôle des infections à *Salmonella* spp. chez l'homme. Il a été convenu d'utiliser les principes en analyse du risque et de les appliquer chez le porc à l'abattoir dans le contexte québécois.

Par conséquent, ce projet de recherche a été divisé en trois objectifs principaux basés sur la caractérisation du danger bactérien, l'évaluation de l'exposition des carcasses de porc à la contamination microbienne à l'abattoir et la gestion du risque:

- 1) Caractériser, d'une manière génotypique et phénotypique, les souches de *Salmonella* spp. retrouvées dans les cas sporadiques de salmonellose humaine à celles isolées d'origine animale (l'espèce porcine et, à titre comparatif, chez les poulets à griller) et alimentaire (carcasses de porc) (Chapitre 3).
- 2) Recueillir des données microbiologiques chez le porc à l'abattoir afin d'évaluer l'exposition des carcasses de porc à la contamination microbienne par *Salmonella* spp. et *E. coli*, permettant de peaufiner les évaluations du risque lors du processus d'abattage (Chapitres 4 et 5).
- 3) Évaluer l'efficacité de certains outils de contrôle, appliqués à l'abattoir, afin de réduire les dangers microbiens des carcasses de porc (Chapitre 6).

CHAPITRE 2.
Recension de la littérature

2.1 Caractéristiques générales de *Salmonella* spp.

2.1.1 Taxonomie et nomenclature

Le genre *Salmonella* spp. fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce genre est caractérisé par la présence de bactéries anaérobies facultatives et intracellulaires facultatives. Elles sont des bacilles à coloration Gram-négative (de taille variant entre 2 et 5 µm de longueur sur 0.7 à 1.5 µm de largeur), non sporulants, dont la plupart sont mobiles grâce à des flagelles péritriches (à l'exception de *S. Gallinarum* et le sérovar Pullorum) (LeMinor, 1984).

La nomenclature des salmonelles est particulièrement complexe car elle a fait l'objet de controverses et de confusions liées, principalement, à un avis de la "Commission Judiciaire" (Euzéby, 2005). Le nouveau système de nomenclature des salmonelles est employé par un nombre toujours croissant de bactériologistes (LeMinor & Popoff, 1987; Reeves *et al.*, 1989; Euzéby, 2005). Un consensus international auprès de la communauté scientifique semble avoir été établi pour l'acceptation de cette classification (Brenner et McWhorter-Murlin, 1998; Glynn *et al.*, 1998; Brenner *et al.*, 2000; Scherer et Miller, 2001; Euzéby, 2005).

Ce nouveau système reconnaît que le genre *Salmonella* spp. possède trois espèces: *S. enteritica*, *S. Bongori* et, depuis mai 2004, *S. subterranea*, une nouvelle nomenclature proposée par Shelobolina *et al.* pour une souche bactérienne isolée d'un sédiment acide et contaminé par des nitrates et de l'uranium. L'espèce *S. enteritica* est subdivisée en 6 sous-espèces: *enteritica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica* (Brenner *et al.*, 2000). En plus de cette subdivision en espèces et en sous-espèces, le genre *Salmonella* spp. regroupe des sérovars qui diffèrent par leur structure antigénique, leur spécificité d'hôte et leurs réactions biochimiques (Grimont *et al.*, 2000). Actuellement, plus de 2541 sérovars sont reconnus officiellement (Korsak *et al.*, 2004a). Les différents sérovars de *Salmonella* spp. sont retrouvés dans les

environnements les plus diversifiés, et peuvent être la cause d'infections chez les animaux à sang chaud et à sang froid.

En accord avec le nouveau système, la façon officielle de classer et de nommer les salmonelles est: *Salmonella enteritica* subsp. *enteritica* sérovar Typhimurium. Par contre, dans un but d'alléger l'écriture, il est admis de désigner les salmonelles par le nom du genre suivi de celui du sérovar tel que: *S. Typhimurium* (Euzéby, 1999; 2005; Brenner *et al.*, 2000).

2.1.2 Spécificité d'hôte

Les bactéries appartenant au genre *Salmonella* spp. sont présentes chez plusieurs espèces animales et ont la capacité de produire des états latents jusqu'à des manifestations cliniques avec des degrés de sévérité différents. Selon Selander *et al.* (1996), la capacité des salmonelles à causer un tel spectre de maladies chez divers hôtes serait notamment attribuable à la diversité génétique de ce genre bactérien.

Les sérovars peuvent être classés en 3 groupes selon l'espèce animal cible. Certains sérovars sont exclusivement adaptés à l'homme, en causant des pathologies bien particulières. Il s'agit de *Salmonella* Typhi, Paratyphi et Sendai, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (Hu et Kopecko, 2003; Korsak *et al.*, 2004a). Le deuxième groupe est composé des sérovars adaptés à des espèces animales spécifiques, tels que: Pullorum et Gallinarum spécifiques de la volaille; Dublin et Abortusovis, adaptés respectivement aux bovins et aux ovins, et Choleraesuis et Typhisuis chez le porc. La troisième classe est caractérisée par des sérovars sans spécificité d'hôte, pouvant traverser la barrière d'espèce. Cette classe regroupe la plupart des sérovars présents chez l'homme et les animaux. *Salmonella* Typhimurium et *S. Enteritidis* sont les sérovars les plus connus de ce groupe et les plus fréquemment associés aux entérocolites humaines (Falkow et Mekalanos, 1990; Todd, 1997; PHAC, 2003b).

Par ailleurs, les sérovars sans spécificité d'hôte peuvent varier d'une région à l'autre. En général, *S. Derby* et *S. Typhimurium* sont parmi les sérovars les plus souvent identifiés chez l'espèce porcine (Letellier *et al.* 1999a; Swanenburg *et al.*, 2001b; Côté *et al.*, 2004). Également, chez le porc, *S. Brandenburg* et *S. Infantis* ont été rapportés comme prédominants lors d'études réalisées au Québec et au Canada par Letellier *et al.* (1999a et b).

2.1.3 Caractéristiques générales de survie des salmonelles

Salmonella spp. est une bactérie mésophile. Sa croissance optimale se situe proche de la température corporelle des animaux à sang chaud (35–43°C). Les limites de croissance se situent aux environs de 7 et 45°C. Ces caractéristiques indiquent qu'un contrôle efficace de la chaîne du froid dans l'industrie agro-alimentaire demeure un des éléments essentiels afin d'éviter une croissance de *Salmonella* spp. dans les aliments. Le taux de survie des salmonelles sur les carcasses refroidies diminue beaucoup lorsque celles-ci ont séjourné plus de 18 heures dans les chambres froides (Quirke *et al.*, 2001). Cependant, le processus de congélation ou la surgélation n'assurent d'aucune manière la destruction d'un nombre suffisant de bactéries viables (Korsak *et al.*, 2004a).

Les salmonelles sont peu thermorésistantes. Elles sont tuées rapidement lorsque la température dépasse 70°C. En dehors de la température, le pH et l' a_w (mesure de l'eau libre contenue dans une denrée alimentaire nécessaire à la croissance des microorganismes) sont deux autres facteurs pouvant influencer la multiplication des salmonelles. L'optimum de croissance pour ces deux paramètres est 7.2 et 0.99 respectivement. La croissance est arrêtée à des pH extrêmes (<3.8 ou > 9.5) et à une valeur d' a_w inférieure à 0.94. Le degré d'acidité d'un produit peut donc jouer un rôle de protection pour les bactéries du genre *Salmonella* spp. (ICMSF, 1996). Chez le porc, le pH post-mortem de la carcasse varie en général entre 5.4 à 5.7 (Monin, 2003).

L'enveloppe des salmonelles, comme toutes les bactéries à coloration Gram-négative, est constituée de 3 éléments: la membrane cytoplasmique et la membrane

externe qui sont séparées par un espace périplasmique constitué notamment de peptidoglycanes. Cette structure donne à la bactérie sa forme et une rigidité lui permettant de résister à une pression osmotique relativement élevée dans l'environnement (Rycroft, 2000). Les salmonelles peuvent résister dans un milieu contenant certains substrats organiques pendant de très longues périodes. Elles peuvent survivre de quelques jours à 9 mois dans les sols et en surface des matériaux de construction (par exemple, le bois); et plus d'un an dans les poussières (Hardman *et al.*, 1991) et les matières fécales bovines (Gray et Fedorka-Cray, 2001).

La majorité des solutions désinfectantes agissent efficacement contre les salmonelles: le chlore et les dérivés chlorés en l'absence de matières organiques, l'iode et ses dérivés (iodophores) sont également des substances actives, ainsi que le formaldéhyde ou la solution aqueuse de formol. Les solutions à base d'ammoniums quaternaires ont cependant une efficacité moindre.

2.2 Isolement et culture

Les bactéries pathogènes dans les aliments, dans l'environnement ou dans les matières fécales sont généralement en petit nombre et peuvent entrer en compétition avec une flore bactérienne abondante déjà présente dans certains milieux. La sensibilité de la détection par la bactériologie est d'environ 1×10^2 ufc (unités formatrices de colonie) de *Salmonella* spp. par gramme de fèces (Cohen *et al.*, 1994; Botteldoorn *et al.*, 2003).

La recherche des *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires et dans les échantillons environnementaux fait l'objet d'une procédure normalisée où elle est complétée par une norme de routine (FSIS, 1996; CFIA, 2002). Cette recherche nécessite des phases de pré-enrichissement, permettant de récupérer les bactéries ayant subi un stress; puis d'enrichissement sélectif, favorisant la multiplication des salmonelles par rapport à la flore compétitrice; suivies d'une étape d'isolement sur des milieux

sélectifs spécifiques; et, d'identification biochimique et sérologique. L'ensemble de ces opérations nécessite un délai compris entre trois et cinq jours (Skovgaard *et al.*, 1985; Vassiliadis *et al.*, 1987; Champagne *et al.*, 2005). Plus d'une quinzaine de formules différentes de milieux existent pour la détection des salmonelles. Cependant, la gélose au vert brillant additionnée de novobiocine (brilliant green novobiocine; BGN) et le xylose-lysine-tergitol-4 (XLT4) sont des milieux performants pour les échantillons de viande et ceux provenant de l'environnement (Waltman, 2000; Champagne *et al.*, 2005). Les réactions sérologiques à l'aide d'antisérums polyvalents sont spécifiques pour chaque groupe de *Salmonella* spp. (D'Aoust *et al.*, 1992; Brenner et McWhorter-Murlin, 1998).

2.3 Techniques de typage bactérien en épidémiologie moléculaire

Dans les études d'épidémiologie moléculaire, la caractérisation de *Salmonella* spp. par des techniques de typage bactérien est primordial dans la surveillance et le contrôle des infections. Ces techniques permettent de comparer et de caractériser le plus rigoureusement possible les bactéries isolées et de déterminer s'il s'agit ou non de la même souche bactérienne. Les systèmes de typage peuvent être classés en deux grandes catégories: les techniques phénotypiques (qui détectent des caractères exprimés par les microorganismes) telles que la biotypie, la sérologie, la lysotypie et la sensibilité aux antibiotiques; et, les techniques génotypiques (basées selon les caractères de l'acide désoxyribonucléique (ADN) chromosomique ou extra-chromosomique), telle la technique de l'électrophorèse en champs pulsés.

Étant donné qu'aucune méthode de caractérisation n'est parfaite, plusieurs techniques de typage doivent être utilisées afin de contrer les points faibles de chacune des méthodes séparément. Les critères importants à évaluer lors d'une analyse sont: la typabilité, caractérisée par la capacité d'obtenir un résultat non-ambigu pour chaque souche; la reproductibilité, définie par la capacité du système de typage à attribuer le même type à une souche testée lors d'essais indépendants; et, le pouvoir discriminant, se

définissant comme étant la capacité à distinguer des souches génétiquement proches (Blanc et Siegrist, 1995).

2.3.1 Technique de caractérisation phénotypique

2.3.1.1 Biotypie

L'utilisation du biotypage pour différencier des souches de même espèce est basée sur des propriétés associées aux réactions biochimiques et aux différentes caractéristiques vis-à-vis de l'environnement (par ex.: croissance à des pH ou températures extrêmes) (Blanc et Siegrist, 1995). Les salmonelles peuvent être différenciées selon leurs caractères biochimiques (LeMinor, 1988). La plupart des salmonelles isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud possèdent les principaux caractères biochimiques suivants: elles sont anaérobies facultatives; réduisent les nitrates en nitrites; dégradent les glucides par métabolisme fermentatif (formation de gaz); utilisent le citrate comme seule source de carbone; se multiplient sur des milieux usuels sans facteur de croissance; fermentent du glucose avec gaz; produisent du H₂S; n'utilisent pas de lactose; n'utilisent pas de saccharose (sauf souches atypiques); et, elles produisent des réactions biochimiques d'indole et d'uréase négatives (LeMinor, 1984).

Par contre, certains sérovars font exception: Paratyphi A, Choleraesuis et Gallinarum ne produisent pas H₂S, et le sérovar Typhi ne produit pas de gaz lors de la fermentation de sucres (LeMinor, 1984). Un profil biochimique, ou biotype, peut être facilement réalisé à l'aide des systèmes d'identification miniaturisés (exemple: systèmes API) vendus commercialement. Malheureusement, le biotype n'est pas une propriété stable et peut être influencé aussi bien par une variété de facteurs techniques et environnementaux que par le gain ou la perte d'un plasmide (Blanc et Siegrist, 1995).

2.3.1.2 Sérotypie

Le but de la sérotypie est de différencier les souches de *Salmonella* spp. en fonction de leur composition antigénique (sérovar) grâce à une technique sérologique. Le principe repose sur la mise en évidence d'une réaction spécifique entre un anticorps présent dans un sérum test et un antigène porté par *Salmonella* spp. La sérotypie des salmonelles est basée sur la présence ou l'absence de déterminants antigéniques somatiques (O), flagellaires (H), et capsulaires (Vi) et de leur réaction avec des antisérums spécifiques (Prescott *et al.*, 1995). Cette réaction est visualisée par une agglutination qui est le résultat macroscopique de la réaction antigène-anticorps. Le type de classement en fonction des antigènes O et H porte le nom de schéma de Kauffman-White (Grimont *et al.*, 2000). Leurs différences antigéniques permettent de subdiviser les salmonelles en sérovarys.

Les antigènes somatiques se rapportent à la chaîne de polysaccharides du lipopolysaccharides (LPS) de la paroi cellulaire (Brenner *et al.*, 2000). Les antigènes flagellaires sont de nature protéique. Ils sont présents uniquement chez les sérovarys mobiles (Brenner *et al.*, 2000). Les sérovarys Gallinarum et Pullorum sont donc dépourvus de ce type d'antigène. La flagelline existe sous 2 formes antigéniques appelées, phase 1 et 2 (LeMinor et Popoff, 1987). La phase 1 est qualifiée de spécifique car les sérovarys identifiés présentent des fractions antigéniques différentes. La phase 2 est qualifiée de non spécifique, puisque de nombreux sérovarys différents partagent les mêmes facteurs antigéniques. Les antigènes capsulaires (polysaccharidiques) n'existent que chez *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* et *S. Dublin*, et peuvent ne pas être exprimés (Neidhart, 1996).

La sérotypie est un outil classique lors d'étude épidémiologique. Par contre, pour les espèces qui ont un grand nombre de variants antigéniques, la sérotypie a un faible pouvoir de discrimination et une faible typabilité (Blanc et Siegrist, 1995).

2.3.1.3 Lysotypie

L'utilisation de la lysotypie est basée sur la susceptibilité des souches testées à un large spectre de bactériophages sélectionnés pour offrir un maximum de discrimination entre les souches d'une même espèce (LeMinor, 1988; Blanc et Siegrist, 1995). Les récepteurs phagiques de certains bactériophages peuvent se lier à des récepteurs de surface bactériens spécifiques et causer la lyse cellulaire lors d'une sensibilité au type phagique spécifique (Anderson et Williams, 1956; Prescott *et al.*, 1995). En fonction du profil de lyse, il est possible d'attribuer un lysotype bien précis à la bactérie. Pour le sérovar Typhimurium, un ensemble de 37 phages est utilisé, ce qui permet de classer les souches parmi 210 lysotypes (Anderson *et al.*, 1977; Korsak *et al.*, 2004a). Les souches présentant des résistances à tous les phages sont considérées comme non typables.

Tel qu'il a été rapporté par Blanc et Siegrist (1995), les principaux désavantages de cette technique sont le manque de standardisation et une faible reproductibilité. La méthode est complexe, le personnel doit être bien entraîné et les souches phagiques sont souvent difficiles à obtenir. De ce fait, la méthode n'est utilisable que dans des laboratoires de référence. Par contre, d'un point de vue épidémiologique, il est très utile de connaître le lysotype des souches isolées, étant donné que certaines possèdent des caractéristiques particulières au niveau de la pathogénicité et/ou de la résistance aux antimicrobiens (Korsak *et al.*, 2004a).

2.3.1.4 Antibiorésistance

L'antibiorésistance chez les bactéries s'explique par l'existence de gènes dont l'expression permet d'échapper à l'action des antibiotiques. On distingue deux formes de résistance: celle dite naturelle et l'autre dite acquise. La résistance naturelle se définit comme étant l'expression d'une propriété innée reflétant l'empêchement d'accéder à la cible ou l'absence de cible spécifique. Par contre, suite à une pression de leur environnement, certaines espèces bactériennes peuvent muter génétiquement conférant aux bactéries la capacité de résister à l'action de certains antibiotiques, appelée la résistance acquise. Cette forme de résistance peut également être transmissible à d'autres bactéries par le transfert de gènes de résistance (Gebreyes *et al.*, 2004b).

L'utilisation de l'antibiogramme est une technique facilement réalisable qui a pour but d'évaluer la sensibilité et/ou concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis plusieurs antibiotiques. La CMI se définit comme étant la plus faible concentration d'antibiotique capable de provoquer une inhibition complète de la croissance d'une bactérie donnée, appréciable à l'œil nu, après une période d'incubation donnée (OMS, 2005).

La technique d'antibiogramme recommandée dans les laboratoires de diagnostic est la méthode de Kirby-Bauer (analyse multivariée des diamètres des zones d'inhibition) (NCCLS, 1977; Nadeau *et al.*, 2000). Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé; préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier permettant aux antibiotiques de diffuser de manière uniforme. La concentration d'antibiotique retrouvée dans la gélose est inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, il est possible d'observer des zones d'inhibition circulaires, correspondant à une absence de culture, entourant les disques de papier buvard.

À la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Cette zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre, en millimètre (mm), puis le résultat est rapporté à une courbe de concordance, pré-établie et standardisée par le fabricant grâce à des études comparatives portant sur un grand nombre de souches de sensibilités différentes. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition et leurs reports sur les courbes de concordance pré-établies donnent les valeurs des CMI en milligramme/millilitre (mg/mL).

Les faiblesses de cette technique sont principalement reliées au faible pouvoir discriminant et à une grande variabilité génétique de la résistance aux antibiotiques (Blanc et Siegrist, 1995).

Émergence des souches de Salmonella spp. multirésistantes

Selon la littérature, l'émergence de souches multirésistantes d'entérobactéries serait principalement le résultat d'une l'utilisation non contrôlée d'agents antimicrobiens aussi bien dans les populations animales qu'humaine (Dore *et al.*, 2004). Il est généralement accepté que l'utilisation inadéquate ou de faibles doses d'antibiotiques puissent mener à une résistance antimicrobienne dans une population bactérienne (Wall *et al.*, 1994; Glynn *et al.*, 1998; Santé Canada, 2005).

À l'échelle mondiale, *S. Typhimurium* PT104 est un agent pathogène en émergence où les prévalences ne cessent d'augmenter (Poppe *et al.*, 1998; Baggesen *et al.*, 2000; Poppe *et al.*, 2002; USDA, 2002). *Salmonella* Typhimurium de lysotype 104 est caractérisée par des gènes chromosomiques de multirésistance (quadruple ou penta-résistance) aux antibiotiques (Poppe *et al.*, 1998; Threlfall, 2000a; Threlfall *et al.*, 2000b). Ce type phagique a été mis en cause lors de salmonelloses d'origine humaine et animale. Considérant les manifestations cliniques sévères chez l'homme jumelées à la multirésistance antimicrobienne, le traitement des infections à *S. Typhimurium* PT104 représente un défi majeur en santé publique.

Au Canada, *S. Typhimurium* PT104 a été identifiée pour la première fois en 1989. Lors d'études canadiennes, il a été rapporté que 14% et que 17.3% des *S. Typhimurium* isolées chez le porc à l'engraissement appartenaient au type phagique 104 (Poppe *et al.*, 2002; Côté *et al.*, 2003). Selon le Laboratoire national pour les entéropathogènes au Canada (Laboratoire de lutte contre la maladie (LLCM), Winnipeg), la proportion d'isolats de *S. Typhimurium* PT104 ayant un profil de multirésistance est passée de 46% en 1995 à 63% en 1997; cette information est toutefois déduite d'un nombre limité d'isolats reçus par le LLCM (Khakhria *et al.*, 1998).

Dans la littérature, très peu d'études permettent de confirmer le rôle des animaux dans la transmission à l'homme de souches multirésistantes de *Salmonella* spp. (Hendriksen *et al.*, 2004; Valdezate *et al.*, 2005). Le premier cas de transmission de *S. Typhimurium* PT104 multirésistante associé à la consommation de viande de porc a été enregistré à l'été 1998 au Danemark. Le microorganisme impliqué dans cette flambée présentait une multirésistance aux antimicrobiens de type classique ACSSuT (c'est-à-dire, résistant à cinq antibiotiques: ampicilline, chloramphénicol, streptomycine, sulfamides et tétracycline), ainsi qu'une résistance à l'acide nalidixique, famille des quinolones (PHAC, 2003a). De même, ces dernières années, il a été noté que certaines souches de *Salmonella* spp. présentaient des résistances supplémentaires, ou une moindre sensibilité à la gentamicine, la triméthoprimine et/ou aux fluoroquinolones (Santé Canada, 2005; PHAC, 2003b).

Face à cette situation préoccupante, le gouvernement canadien a établi, en 2002, un système national permanent de surveillance des tendances de l'antibiorésistance chez certaines bactéries sélectionnées, dont *Salmonella* spp. Ce Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PICRA) (Agence de santé publique du Canada) intègre un volet actif de surveillance en abattoir et dans le secteur agro-alimentaire; et un volet de surveillance passive à partir de spécimens humains et d'animaux malades collectés par des laboratoires de l'ensemble du Canada (PHAC, 2003b, 2005b).

Selon le rapport publié en 2003 et 2005, une proportion significativement plus élevée de souches de *S. Typhimurium* résistantes a été observée chez l'espèce porcine comparativement aux autres espèces, bovine et aviaire. Les résultats ont montré que 49% des isolats de *Salmonella* spp. provenant de porcs présentaient une résistance à un antimicrobien ou plus. La comparaison de la résistance aux antimicrobiens chez *S. Typhimurium* a mis en lumière des niveaux de résistance en général plus élevés parmi les isolats d'origine porcine que ceux d'origine humaine (PHAC, 2003b). Cette observation a également été rapportée par Busani *et al.* (2004).

2.3.2 Techniques de caractérisation génotypique

Les méthodes de typage moléculaire apportent des informations complémentaires à celles obtenues par les caractères phénotypiques de *Salmonella* spp. Certains caractères phénotypiques comme le sérotype doivent être connus avant de pratiquer une caractérisation plus fine puisque le pouvoir discriminant des méthodes de typage moléculaire dépend essentiellement du sérotype. Les méthodes moléculaires peuvent se diviser en deux groupes, celles reposant sur la caractérisation de certaines protéines (l'analyse des iso-enzymes) et celles basées sur la caractérisation du génome, que ce soit à partir de l'ADN plasmidique ou chromosomique (Blanc et Siegrist, 1995; Brisabois, 2001).

Due à l'instabilité des plasmides, la caractérisation génotypique est davantage concentrée à l'étude de l'ADN chromosomique. Pour cela, de très nombreuses méthodes ont été développées. Les méthodes utilisent schématiquement deux types de technologie, l'amplification génique ou PCR (Polymerase Chain Reaction) et la restriction enzymatique; ces deux types peuvent parfois être combinés pour certaines caractérisations particulières (Brisabois, 2001).

En raison de sa capacité à distinguer des souches génétiquement proches (pouvoir discriminant) et de sa bonne reproductibilité, l'électrophorèse en champs pulsés est une technique de référence pour le typage de souches de *Salmonella* spp. lors

d'études en épidémiologie moléculaire comparative (Lailier *et al.*, 2002; Korsak *et al.*, 2004a).

Actuellement, des scientifiques ont mis en place un réseau électronique virtuel, "PulseNet Canada", en vue de standardiser et d'harmoniser des protocoles optimaux pour cette technique de génétique moléculaire. Le réseau est coordonné par le Laboratoire national de microbiologie (LNM) de l'Agence de la santé publique, qui est situé à Winnipeg au Manitoba. Le réseau national s'occupe de faire le suivi des empreintes génétiques de tous les cas d'*E. coli* et de la plupart des cas de salmonelles.

Électrophorèse en champs pulsés

Dans un contexte épidémiologique, la caractérisation génétique de l'ADN complet grâce à la technique de gel d'électrophorèse en champs pulsés est fréquemment utilisée afin de connaître les relations génotypiques éventuelles entre les isolats d'origine animale et humaine (Baggesen *et al.*, 2000; Malorny *et al.*, 2001; Gebreyes et Thakur, 2005). Dans la réalisation de cette technique, l'ADN bactérien est soumis à l'action d'une enzyme (endonucléase de restriction) reconnaissant des sites de coupure "rares", générant un nombre restreint de fragments d'ADN de très grande taille. Pour le genre *Salmonella* spp., les enzymes de restriction le plus souvent utilisées sont *Xba*I, *Spe*I et *Bln*I.

La préparation de l'ADN se fait par une lyse des cellules d'une colonie bactérienne dans une matrice semi-solide d'agarose ("plug") afin d'éviter les forces de cisaillement susceptibles d'endommager l'ADN. Après digestion par une endonucléase de l'ADN empaqueté, les fragments résultant sont séparés selon une technique particulière d'électrophorèse basée sur l'application d'un champ électrique alterné multidirectionnel, champ pulsé. Les fragments séparés sont alors révélés par simple coloration pour donner le profil génétique caractéristique de chaque isolat analysé. Suivant le profil des bandes obtenues sur le gel, il est possible d'établir le degré de

parenté entre les différentes souches isolées (Tenover, 1995; Wonderling *et al.*, 2003; Korsak *et al.*, 2004a).

2.4 Infections à *Salmonella* spp. chez l'humain

Considérant les impacts tant au niveau économique qu'en santé publique, *Salmonella* spp. représente l'un des principaux agents de toxi-infection alimentaire distribués mondialement (Todd, 1997; Bryan, 1998; Broes, 2001; Schlundt *et al.*, 2004). Les signes cliniques chez l'homme peuvent varier considérablement allant d'une infection asymptomatique à une entérite grave en fonction de l'état de réceptivité de l'hôte (Korsak *et al.*, 2004a). Les groupes considérés à risque sont: les très jeunes enfants, les personnes âgées et les patients au statut immunitaire compromis.

En général, les symptômes reliés à *S. Typhimurium* sont caractérisés par des nausées, des diarrhées (des traces de sang dans les selles peuvent être présentes), des vomissements et un état fébrile (Buzby et Roberts, 1996; Poppe *et al.*, 1998). La période d'incubation est comprise entre 12 et 36 heures, en moyenne, mais des périodes plus longues (8–12 jours) ont déjà été signalées dans des épidémies. L'infection persiste généralement entre cinq et sept jours, sans traitement et sans complication (Poppe *et al.*, 1998; Scherer et Miller, 2001). Tous les sérovars de salmonelles peuvent, en théorie, causer une infection systémique chez l'homme. Par contre, *S. Typhimurium* PT104 a été associée à des signes cliniques plus sévères comparativement aux autres sérovars et types phagiques de *Salmonella enteritica* subsp. *enteritica* (Hogue *et al.*, 1997).

Dû au large spectre d'animaux pouvant être porteurs de *Salmonella* spp., une grande variété de produits alimentaires peut être à l'origine d'une infection humaine. Le pourcentage de transmission par l'aliment est estimé à 95% (90–97%) (Berends *et al.*, 1998). La viande et ses sous-produits, particulièrement la volaille, sont à l'origine d'un pourcentage non négligeable des cas de toxi-infections alimentaires chez l'homme (Hald et Wegeber, 1999). Dans la littérature, il est estimé que la viande porcine serait à l'origine d'environ 5 à 30% des cas de salmonellose chez l'homme dans les pays

industrialisés (Bryan, 1988; Bean et Griffin, 1992; Nastasi *et al.*, 1993; Berends *et al.*, 1998; Hald et Wegener, 1999; Murase *et al.*, 2000; Antunes *et al.*, 2004). *Salmonella* Typhimurium est le sérovar le plus souvent incriminé dans les cas de salmonellose humaine associés à la viande porcine.

2.5 Épidémiologie de *Salmonella* spp. chez le porc

2.5.1 Aspect clinique

Selon le sérovar mis en cause et la susceptibilité de l'animal, les manifestations cliniques peuvent être très variables allant d'une salmonellose septicémique (ex : lors d'infection par *S. Choleraesuis*), d'une salmonellose entérique ou d'un état de porteur asymptomatique (Laval *et al.*, 1991; Schwartz, 1999). Il est donc possible qu'aucun signe clinique ne soit visible. Certains facteurs particuliers chez l'hôte, notamment: un problème de péristaltisme, la composition de la flore intestinale de l'animal, la susceptibilité de l'hôte ou l'élévation du pH gastrique, peuvent influencer l'établissement de la maladie (Clarke et Gyles, 1993; Lalmanach et Lanthier, 1999).

Dans la grande majorité des infections, *S. Typhimurium* va généralement provoquer des pathologies mineures comme des diarrhées passagères. L'exposition à *S. Typhimurium* peut résulter en une salmonellose entérique, apparaissant généralement au cours de la période du sevrage jusqu'à environ 4 à 5 mois d'âge. Les symptômes typiques sont la fièvre et la diarrhée (Roof *et al.*, 1992; Schwartz, 1999; Côté *et al.*, 2004). Dans les stades plus avancés de la maladie, des traces de sang dans les fèces pourront apparaître. Dans la phase aiguë, les porcs peuvent excréter jusqu'à 10^7 *S. Typhimurium* par gramme de fèces (Schwartz, 1999). La diarrhée persiste environ de trois à sept jours, mais les porcs atteints peuvent avoir des diarrhées à répétition. La mortalité est souvent très faible; cependant, la morbidité est très élevée plusieurs jours après l'infection.

Par contre, le sérovar Typhimurium PT104, caractérisé par une multirésistance aux antimicrobiens, serait la cause de manifestations cliniques plus sévères. Suite à une infection par *S. Typhimurium* PT104, Marg *et al.* (2001) ont noté plusieurs symptômes chez des porcelets de neuf semaines, dont: une diarrhée jaunâtre, des vomissements et une température corporelle allant jusqu'à 41°C. Des mortalités subites caractérisées par des lésions pathologiques d'entéocolites fibrino-nécrotiques, de l'hypertrophie des ganglions lymphatiques mésentériques et de la splénomégalie ont été observées (Poppe *et al.*, 1998). La bactérie a pu être isolée à partir des sites de prédilection, mais rarement dans les muscles (Poppe *et al.*, 1998; Marg *et al.*, 2001; Côté *et al.*, 2004).

En 2004, une augmentation significative du nombre de cas de salmonellose porcine clinique a été observée; 74 cas de salmonellose clinique en 2004, comparativement à 42 cas cliniques en 2003 (MAPAQ, 2005). La majorité de ces diagnostics concernaient des porcs à l'engrais (41 cas), mais la salmonellose était aussi présente en pouponnière (26 cas) et en maternité (3 cas chez les reproducteurs et 4 chez les porcelets à la mamelle). En pouponnière, le nombre a été deux fois plus élevé qu'en 2003. Sur les 74 cas observés, 55 des cas étaient du *S. Typhimurium*, dont plusieurs ont été associés au type phagique 104. D'autres sérovares ont également été isolés de manière variable: Enteritidis, Branderberg, Senftenberg, Derby, Mbandaka, Infantis, etc.

2.5.2 Transmission et excrétion

Les salmonelles se retrouvent principalement dans le tractus intestinal (Schwartz, 1999). La transmission d'un animal à l'autre suit un trajet principalement fécal-oral même si d'autres voies de contamination ont été démontrées, soit intranasales (Gray *et al.*, 1995) et pulmonaires (Fedorka-Cray *et al.*, 1995). L'infection chez le porc est principalement due à une transmission horizontale de la bactérie (Gray et Fedorka-Cray, 1996).

D'une manière générale, l'infection chez le porc se produit dans la première semaine suivant l'introduction des animaux dans l'élevage, et peut atteindre de 80 à 100% de prévalence à l'intérieur de deux à trois semaines (Berends *et al.*, 1997). La problématique vient principalement du fait d'une émergence d'un état de portage sain de la bactérie chez le porc. Les animaux porteurs asymptomatiques contribuent, de façon continue ou intermittente, à disséminer les salmonelles dans l'environnement via leurs matières fécales et peuvent transmettre l'infection aux individus susceptibles (Thrusfield, 1986; Letellier *et al.*, 1999a). Il a été estimé qu'environ 5 à 30% des porcs continuent d'excréter les salmonelles à la fin de la période d'engraissement (Mousing *et al.*, 1997).

L'existence d'une distribution saisonnière prévisible demeure incertaine. Certains auteurs ont rapporté des pics d'incidence de *Salmonella* spp. à l'été, et plus spécifiquement à la fin de la saison estivale (Letellier *et al.*, 1999b; Hald *et al.*, 2003). Par contre, dans plusieurs études, aucun cycle saisonnier n'a pu être mis en évidence lors d'échantillonnages de *Salmonella* spp. (Khakhria *et al.*, 1998; PHAC, 2003b; Zhang *et al.*, 2005). Ceci a été expliqué, en partie, par le fait qu'une variété de sources peut être impliquée dans la transmission de l'agent pathogène (PHAC, 2003b). À la ferme, plusieurs voies d'introduction sont possibles dans un élevage, tels: l'eau, l'air, les aliments, le lisier, le matériel, l'homme, les véhicules, les animaux domestiques et sauvages, les rongeurs et les insectes (Letellier *et al.*, 1999a). Également, ces bactéries peuvent se fixer sur de nombreux supports, tels que: les bottes, les brosses, les pelles et les vêtements. Ainsi, les matières fécales positives à *Salmonella* spp. peuvent contaminer directement l'environnement, les autres animaux et les installations (Morgan *et al.*, 1987; OMS, 1988; Berends *et al.*, 1997).

Chez les sujets en bonne santé, la dose infective varie selon les sérovars, les aliments incriminés et la sensibilité des individus. Le nombre de *S. Typhimurium* nécessaire pour transmettre la maladie chez le porc n'a pas encore été complètement établi. Alors que certains (Varnam and Evans, 1991) ont pu montrer que 20 cellules pouvaient suffire à constituer une dose infective minimale, d'autres études ont

régulièrement fait état d'un ordre de grandeur supérieur à 10^6 cellules (Korsak et al., 2004a). Selon Gray et Fedorka-Cray (1996), l'ingestion d'une dose de 10^4 ufc (unité formatrice de colonie) de *S. Typhimurium* résulterait en un état de porteur à court terme chez le porcelet. Expérimentalement, les doses utilisées varient entre 10^8 et 10^{11} ufc.

Des infections au niveau des amygdales, des ganglions lymphatiques bronchiques et des poumons ont été observées trois heures post-infection par les voies respiratoires. Ainsi, les amygdales et les poumons peuvent être des sites importants d'invasion et de dissémination des salmonelles. Entre six et douze heures après l'inhalation des bactéries, les analyses ont été positives pour les tissus analysés à la jonction iléo-caecale, les ganglions lymphatiques iléo-coliques et le contenu du caecum (Fedorka-Cray *et al.*, 1995). De plus, *S. Typhimurium* a été retrouvée dans le foie et la rate trois heures post-infection (Côté *et al.*, 2004).

Suite à une infection expérimentale par *S. Typhimurium* PT104, une excrétion des salmonelles dans les matières fécales a été observée chez le porc jusqu'à 14 jours. (Côté *et al.*, 2004). De plus, selon la dose infective administrée, des études ont pu démontrer la présence de *S. Typhimurium* dans les nœuds lymphatiques mésentériques, les amygdales, le caecum ou les fèces jusqu'à quatre à sept mois suivant l'infection (Wilcock et Olander, 1978; Wood *et al.*, 1989). Un contact de courte durée entre des animaux sains et des fèces contaminées peut entraîner une infection chez l'animal selon sa susceptibilité. Dans la littérature, un contact de 30 minutes entre des porcs sains dans un environnement contenant environ 1.4×10^5 ufc de salmonelles par gramme de fèces serait suffisant pour induire une infection. De même, une exposition de deux heures dans un environnement contaminé (concentration en salmonelles de 4.5×10^2 ufc par gramme de fèces) pourrait être suffisante pour transmettre l'infection chez un animal susceptible (Hurd *et al.*, 2001a et b).

2.6 Pathogénie et facteurs de virulence

Dans la pathogénie de l'infection, il a été démontré que la sévérité de la maladie pouvait être influencée par différents facteurs, incluant: la susceptibilité de l'hôte, le sérovar et la virulence de la souche, la voie d'infection ainsi que par la dose infective (Groisman *et al.*, 1990; Clarke et Gyles, 1993; Lalmanach et Lanthier, 1999). Un nombre considérable de gènes (de l'ordre de quelques centaines) doit être mobilisé par *Salmonella* spp. en vue de contrecarrer les mécanismes de défense de l'hôte.

De façon générale, des études ont permis de mettre en évidence deux caractéristiques associées aux mécanismes de virulence de *Salmonella* spp.: 1) la présence d'un regroupement des gènes des facteurs de virulence en certains points du chromosome bactérien, les « îlots de pathogénicité » (Marcus *et al.*, 2000); et, 2) la présence de systèmes de sécrétion spécifiques de type III permettant l'administration ciblée de certains facteurs de virulence à la cellule cible (Ochman et Groisman, 1996). Les facteurs de virulence chez les salmonelles sont impliqués dans les diverses étapes de l'infection, soit: la production de toxines, la colonisation, l'adhésion et l'invasion, ainsi que dans la survie à l'intérieur des cellules de l'hôte (Finlay et Brumell, 2000).

Au total, 5 îlots de pathogénicité (SPI) ont été identifiés. SPI-1 est requis pour permettre le passage à travers les cellules M de la muqueuse intestinale lors de l'invasion. Les SPI-2, 3 et 4 sont requis pour la croissance et la survie bactérienne à l'intérieur de l'hôte, plus particulièrement dans le caractère systémique de l'infection (Hueck, 1998; Groisman *et al.*, 1999; Marcus *et al.*, 2000). Quant aux facteurs de virulence codés par le SPI-5, ils seraient impliqués dans l'entéropathogénicité (Wood *et al.*, 1998). Les protéines de cet îlot semblent jouer un rôle dans l'inflammation et la sécrétion d'ions correspondant à la phase entérique de la maladie (Wood *et al.*, 1998; Groisman *et al.*, 1999; Lucas et Lee, 2000; Marcus *et al.*, 2000). Par contre, les mécanismes de régulation agissant sur cet îlot n'ont pas encore été établis.

Une fois ingérées, les salmonelles doivent coloniser l'intestin en adhérant à la muqueuse de l'intestin grêle (au niveau des follicules lymphoïdes de l'iléon, plaques de Peyer). À cet endroit, l'épithélium est caractérisé par la présence de cellules M et par l'absence de cellules sécrétant du mucus. Le rôle des cellules épithéliales spécialisées (cellules M) est de capter les bactéries par endocytose, à partir de la lumière intestinale, pour ensuite les expulser par exocytose dans le chorion où elles seront captées par des macrophages et présentées au tissu lymphoïde pour stimuler une réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire. Lors de l'adhésion, il semblerait que les fimbriaes (adhésines) permettraient la reconnaissance et la liaison des salmonelles aux plaques de Peyer (Bäumler *et al.*, 1997; Dibb-Fuller *et al.*, 1999; Vimal *et al.*, 2000). Également, la mobilité des salmonelles pourrait jouer un rôle dans l'étape de l'invasion en permettant à la bactérie de se déplacer activement vers les cellules de l'hôte. Suite à l'adhésion aux cellules M et aux entérocytes, l'entrée dans les plaques de Peyer requiert la présence de systèmes de sécrétion de type III qui sont codés par les îlots de pathogénicité SPI-1 et SPI-2 (Sukhan, 2000; Bäumer *et al.*, 2000; Doublet *et al.*, 2005).

Suite au passage des salmonelles à travers les entérocytes et les cellules M, *Salmonella* spp. est expulsée vers la *lamina propria* où elle induit une réponse inflammatoire et une gastro-entérite aiguë. Les salmonelles rencontrent alors les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes et les leucocytes polymorphonucléaires (PMN) (Wallis *et al.*, 1986; Monack *et al.*, 1996). Les salmonelles seront phagocytées par les macrophages résidents et les cellules dendritiques. Elles devront éviter leurs mécanismes de défense pour survivre et se disséminer dans l'organisme (Sirard *et al.*, 1999). Pour survivre au processus inflammatoire et à l'apparition de protéines à effet bactéricide produites par les PMN, une série de gènes doivent être activés, en particulier ceux faisant partie du complexe PhoPQ (Korsak *et al.*, 2004a). PhoP et PhoQ font partie des systèmes de régulation à deux composantes qui permettent aux bactéries de détecter et de répondre aux conditions environnementales en altérant l'expression de certains gènes (Miller et Kukral, 1989).

L'acquisition de fer est également critique à la survie et à la croissance des microorganismes. Lors d'une restriction en fer, le système Fur (*Ferric Uptake Regulation*) induit la synthèse d'entérobactine. Les protéines Fur sont importantes pour la synthèse, l'excrétion et la récupération des sidérophores (entérocholone et aérobactine) qui chélatent les ions de fer (Benjamin *et al.*, 1985; Clarke et Gyles, 1993; Hall et Foster, 1996).

De plus, plusieurs souches de *Salmonella* spp. portent de larges plasmides de 50–100 kb appelés, plasmides de virulence (Roof *et al.*, 1992; Jones et Falkow, 1996; Libby *et al.*, 2000; Bauerfeind *et al.*, 2001). Les plasmides de virulence contiennent une région hautement conservée *spvRABCD*. Comme pour les autres gènes de virulence, l'expression de ces gènes est régulée par les conditions environnementales. Toutefois, le rôle précis du plasmide de virulence demeure encore obscur (Guilloteau *et al.*, 1996).

2.6.1 Exotoxines produites par *Salmonella Typhimurium*

Les exotoxines sont des protéines solubles sensibles à la chaleur, fortement immunogènes et qui sont généralement relâchées par l'agent pathogène pendant sa croissance (Prescott *et al.*, 1995; Côté, 2003). Bien que plusieurs types de toxines aient été détectés chez *S. Typhimurium*, aucun n'a encore été complètement caractérisé. Il est rapporté que *S. Typhimurium* pourrait produire des entérotoxines semblables à la Choléra-toxine et à la Shiga-Toxine qui joueraient un rôle dans la pathogénie associée à des manifestations cliniques sévères de diarrhée (Salyers et Whitt, 1994; Prescott *et al.*, 1995). Également, certains ont détecté une enzyme collagénase spécifiquement chez *S. Typhimurium* PT104 (Prescott *et al.*, 1995; Carlson *et al.*, 2002; Carlson *et al.*, 2005). Par contre, son rôle dans la pathogénie de l'infection n'est pas encore complètement élucidé.

2.6.2 Endotoxines produites par *Salmonella Typhimurium*

Le lipopolysaccharide (LPS) est une composante importante de la membrane externe des salmonelles ainsi que des autres bactéries à Gram-négatif (Nikaido et Vaara, 1985). Sur le plan structural, les LPS sont constitués d'un lipide A et d'une partie polysaccharidique débordant la membrane externe. Le lipide A est doué de propriétés toxiques et il correspond à l'endotoxine des bactéries à Gram-négatif qui n'est libérée, de manière massive, qu'après la lyse bactérienne (Euzéby, 2004). La fraction polysaccharidique constitue l'antigène O et elle est responsable de la spécificité antigénique O permettant de décrire les sérovars au sein d'une même espèce bactérienne. De façon générale, le LPS intact confère une résistance à la phagocytose, à la bactéricidie par les macrophages et à l'action du complément (Saxen *et al.*, 1987; Robbins *et al.*, 1992).

2.7 Prévalence de *Salmonella* spp. sur les carcasses de porc réfrigérées

Dans la littérature, des études de prévalence concernant les produits de viande de porc ont été menées dans différents pays. Cependant, la comparaison des prévalences de *Salmonella* spp. au niveau des carcasses est souvent difficile pour plusieurs raisons: premièrement, il y a un manque de standardisation associé à la méthodologie utilisée (par exemple: l'aire totale échantillonnée, les régions prélevées sur les carcasses et les techniques d'isolement employées); et, deuxièmement, le temps de réfrigération de la carcasse échantillonnée est souvent différent (Broes, 2001; Quirke *et al.*, 2001; Swanenburg *et al.*, 2001b).

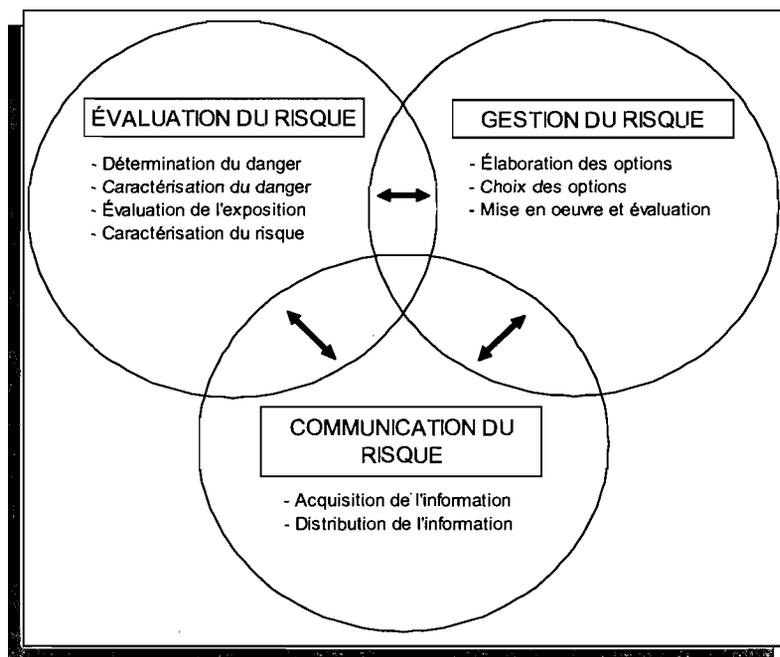
La contamination des carcasses par les salmonelles a été rapportée à des taux variant de 5.3% dans cinq pays d'Europe (Hald *et al.* 2003); de 6.9% aux États-Unis (Eblen *et al.*, 2005); de 21% dans les Pays-Bas (Oosterom *et al.*, 1985); et, de 27% en Belgique (Korsak *et al.*, 1998).

Au Canada, peu d'études ont été réalisées afin d'évaluer les prévalences de *Salmonella* spp. sur les carcasses de porc réfrigérées. Lors d'une étude récente, 3.8% des carcasses réfrigérées de porcs, issus de lots sans signe clinique, et 9.2% des carcasses de porc, provenant de lots avec des signes cliniques, étaient positives à *Salmonella* spp. (Côté, 2003). En 1980 et 1986, lors d'enquêtes réalisées par Agriculture Canada portant sur la contamination des carcasses de porc par *Salmonella* spp., il a été révélé que 11.6% et que 10.4% des échantillons analysés étaient positifs. Lammerding *et al.* (1988) ont quant à eux évalués à 17.5% le taux des carcasses de porc contaminées par *Salmonella* spp. dans les abattoirs au Canada. Par contre, un faible taux de 0.5% a été observé chez les carcasses de porc réfrigérées lors d'une étude récente réalisée dans un abattoir albertain (Keenlside *et al.*, 2005). Mafu *et al.* (1989) ont rapporté un taux de 1.5% de contamination des échantillons de muscle (diaphragme) analysés. Au Manitoba, des taux de prévalence de salmonelles de 1.7% des échantillons de diaphragme et de 2.1% des échantillons de muscles du cou ont été estimés (Finlay *et al.*, 1986).

2.8 Principes généraux de l'analyse du risque

Les dangers associés aux aliments sont soumis au processus de l'analyse des risques, tel qu'il a été défini par la Commission du *Codex Alimentarius*, afin d'évaluer les risques potentiels et, si nécessaire, de développer des approches en vue de gérer les risques identifiés. L'analyse du risque est un processus à trois volets, à la fois distincts mais intégrés, qui comprend: l'évaluation, la gestion et la communication du risque, dont la finalité est la protection de la santé publique (Codex, 1999) (Figure 1).

Figure 1. Processus de l'Analyse du Risque



Source: Figure modifiée à partir du site Internet de l'Agence canadienne d'inspection des aliments, [<http://www.inspection.gc.ca/francais/fssa/ris/fracadf.shtml#fig1>]

Établis par des organismes de normalisation internationaux, telles l'Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les principes qui guident l'analyse du risque microbiologique dans les aliments sont des outils reconnus internationalement. La notion du risque est un concept statistique directement lié au danger. Le risque peut être défini comme étant «une fonction de la probabilité d'un effet néfaste et l'ampleur de cet effet, consécutif à un danger dans l'alimentation» (FAO et WHO, 1995).

2.8.1 Évaluation du risque

D'une manière générale, l'évaluation du risque est l'élément clé servant à fournir une description scientifique des risques liés à la présence de microorganismes pathogènes dans la chaîne alimentaire. Il sert également d'outil de base pour l'établissement des normes, directives et autres recommandations relatives à la salubrité des aliments en vue d'assurer la protection des consommateurs et de faciliter le commerce international. Tel que décrit par la Commission du *Codex Alimentarius* (Codex, 1999), l'évaluation du risque microbiologique dans les aliments s'appuie sur une approche structurée. Elle est définie par: une identification et une caractérisation du danger, une évaluation de l'exposition et d'une caractérisation du risque, dont les principales composantes peuvent être précisées comme suit :

- *L'identification du danger* consiste en une identification des dangers biologiques, chimiques ou physiques ayant des effets néfastes connus ou potentiels associés à un produit alimentaire où des animaux et/ou des êtres humains pourraient y être exposés.
- *La caractérisation du danger* est une évaluation qualitative ou quantitative de la nature des effets nuisibles liés au danger, incluant la caractérisation phénotypique et/ou génotypique des dangers identifiés.
- *L'évaluation de l'exposition* consiste à décrire et à exprimer les conditions et les caractéristiques pertinentes des expositions humaines et animales aux dangers produits ou libérés par une source de risque donnée.
- *La caractérisation du risque* est l'étape d'intégration de l'identification du danger, de sa caractérisation et de l'évaluation de l'exposition permettant une estimation des effets nuisibles probables sur la santé au sein d'une population donnée.

2.8.2 Facteurs de risque associés à la présence de *Salmonella* spp. à l'abattoir

2.8.2.1 Animaux porteurs asymptomatiques

Dans la grande majorité des cas, le porc peut être infecté par *Salmonella* spp. sans démontrer de signe clinique; représentant une source potentielle de contamination pour la viande porcine, et conséquemment une source d'infection pour l'homme (Schwartz, 1999). Le porc infecté par les salmonelles à la ferme est considéré comme étant la principale source de contamination des carcasses à l'abattoir (Berends *et al.*, 1997; Hanes, 2003; Korsak *et al.*, 2004a; Letellier *et al.*, 2005). Il est estimé qu'environ 70% de la contamination des carcasses à la sortie de l'abattoir serait attribuable aux animaux porteurs sains; et que 30% serait due à des contaminations croisées lors du processus d'abattage. Il a été rapporté que les animaux porteurs asymptomatiques seraient de trois à quatre fois plus susceptibles de générer des carcasses contaminées par ce microorganisme comparativement aux porcs exempts de *Salmonella* spp. (Berends *et al.*, 1997; Letellier *et al.*, 2005).

Les prévalences de *Salmonella* spp. retrouvées chez le porc à l'abattoir varient d'une région à l'autre (Gray et Fedorka-Cray, 1996). Au Canada, très peu d'études nous permettent d'estimer la prévalence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir. Letellier *et al.* (1999b) ont retrouvé *Salmonella* spp. dans 5.2% des échantillons fécaux des porcs échantillonnés dans plusieurs abattoirs canadiennes. Les sérovars les plus fréquemment isolés ont été: Brandenburg (40.9%), Infantis (16.4%), Derby (9.8%) et Typhimurium (8.2%). Basé sur les résultats obtenus, les auteurs ont évalué que 26.2% des élevages porcins étaient positifs à *Salmonella* spp. De même, suite à une étude réalisée à l'abattoir, Mafu *et al.* (1989) ont évalué à 18% la prévalence de salmonelles chez des porcs asymptomatiques.

Cependant, des études de prévalence de *Salmonella* spp. chez les porcs asymptomatiques ont également été réalisées à la ferme. En Alberta, lors d'une étude longitudinale, 66.7% ($n = 90$) des fermes étaient positives à *Salmonella* spp., et 14.3%

des échantillons de fèces provenant de ces élevages étaient contaminées par des salmonelles (Rajic *et al.*, 2005). Letellier *et al.* (1999a) a estimé une prévalence de 7.9% de porcs asymptomatiques dans une production porcine intégrée, alors que 70.7% des fermes étaient positives à la culture des salmonelles. Dans les différents niveaux de production, 10 sérovars ont pu être identifiés avec une prédominance pour *S. Derby* (37.1%) et *S. Typhimurium* (34.1%).

Aux États-Unis, le NAHMS (National Animal Health Monitoring Service) a rapporté une prévalence de *Salmonella* spp. de 6.2% dans les matières fécales de porcs alors que 38.2% des élevages se sont révélés contaminés par les salmonelles (Ferris et Frerichs, 1996). Pour fin de comparaison, au Danemark, une étude de séroprévalence par Baggesen *et al.* (1997) a indiqué qu'approximativement 5% des élevages étaient contaminés par les salmonelles. Dans certains pays européens des programmes nationaux de contrôle des salmonelles ont été mis en place résultant en de très faibles prévalences observées chez le porc (Flensburg J., 1999; Nielsen *et al.*, 2001).

Cependant, il est bien de noter que les prévalences de *Salmonella* spp. chez un individu testé à la ferme et à l'abattoir peuvent être extrêmement variables (Gray *et al.*, 1995; Gray et Fedorka-Cray, 1996). Plusieurs études ont démontré de faibles corrélations entre les résultats obtenus à partir de l'échantillonnage à la ferme comparativement à la culture des organes et des fèces à l'abattoir (Proescholdt *et al.*, 1999; Gebreyes *et al.*, 2004a). L'excrétion des salmonelles peut être augmentée suite à divers facteurs de stress associés aux étapes avant l'abattage, tels que: la période de jeûne, le transport et le regroupement des animaux dans les enclos d'attente (Hurd *et al.*, 2001a et b; Marg *et al.*, 2001).

2.8.2.2 *Transport et période de stabulation avant l'abattage*

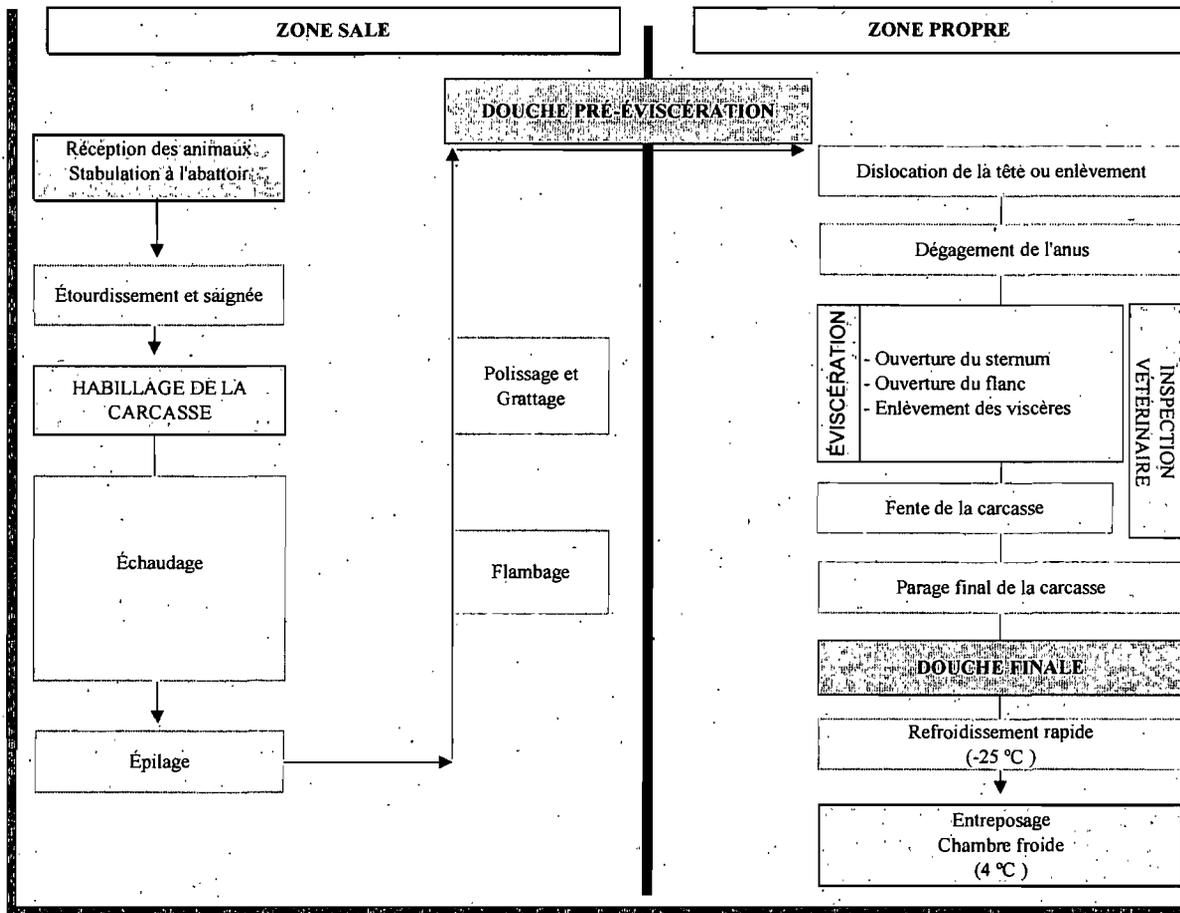
Salmonella spp. peut se propager au cours du transport des animaux contaminés et durant le maintien des animaux en enclos avant l'abattage (Isaacson *et al.*, 1999; Côté *et al.*, 2004). Le transport et la stabulation dans les enclos d'attente à l'abattoir sont deux étapes particulièrement à risque à l'égard de la contamination des porcs et, par conséquent des carcasses. Le mélange d'animaux de statuts sanitaires différents dans des conditions de stress est un facteur important relié à une augmentation de l'excrétion de *Salmonella* spp. par les animaux porteurs sains (Berends *et al.*, 1996; Hurd *et al.*, 2001c; Larsen *et al.*, 2003; Beloeil *et al.*, 2004; Gebreyes *et al.*, 2004a). Certains auteurs ont démontré l'existence d'une relation directe entre la période de stabulation avant l'abattage et l'augmentation des taux d'excrétion des salmonelles (Morrow *et al.*, 1999; Beloeil *et al.*, 2004 ; Hurd *et al.*, 2005; Letellier *et al.*, 2005).

Selon la littérature, l'environnement dans ces aires d'attente peut être très contaminé par *Salmonella* spp. Des taux de contamination bactérienne variant entre 70–90% des échantillons de sol et des murs dans ces enclos à l'abattoir ont été rapportés (Swanenburg *et al.*, 2001a, b). Les porcs peuvent passer de quelques heures à une journée dans les enclos d'attente avant l'abattage. Ce délai suffit pour causer une infection après l'ingestion ou l'inhalation des salmonelles par contact avec l'environnement contaminé dans les parcs d'attente (Fedorka-Cray *et al.*, 1995; Blaha, 1997; Rostagno *et al.*, 2003).

2.8.2.3 *Processus d'abattage*

Lors de l'abattage du porc, tel que schématisé à la figure 2, chacune des étapes a un risque potentiel d'amener une contamination bactérienne au niveau de la carcasse.

Figure 2. Schématisation du processus d'abattage des porcs



Source : Figure modifiée à partir des modèles génériques de l'ACIA (2002)

Zone sale

Les premières opérations d'abattage des porcs consistent en l'habillage de la carcasse par une succession d'opérations telles que : l'échaudage, l'épilage, le flambage et le polissage. Ces étapes ont pour but de détacher toutes les soies de la carcasse précédant les étapes du lavage pré-éviscération. L'échaudage et le flambage des carcasses sont les deux étapes permettant une baisse considérable du nombre des microorganismes présents à la surface des carcasses de porc. Certains auteurs ont noté

que ces étapes réduisaient le nombre des carcasses positives à *Salmonella* spp. d'au moins 50% lors de l'échaudage, et de 97% lors du flambage (Morgan *et al.*, 1987; Berends *et al.*, 1997; Davies *et al.*, 1999).

De même, des réductions des comptages bactériens de l'ordre de $3.5 \log_{10}$ ufc/cm² sur les carcasses de porc ont pu être observées suite à l'échaudage; et, de $2.5 \log_{10}$ ufc/cm² suite au flambage. Lors de l'échaudage, plusieurs facteurs peuvent influencer la diminution microbienne, notamment: la température de l'eau (environ 65°C) et le temps de passage dans les bassins (Oosterom *et al.*, 1985; Slavik *et al.*, 1995). Il a été rapporté qu'une température trop élevée de l'eau ou qu'un séjour prolongé dans la cuve d'échaudage pourrait entraîner la cuisson de la carcasse, la rupture de la peau et la contamination des tissus (Monin, 2003).

Zone propre

Suite aux procédés de pré-éviscération, plusieurs étapes lors du processus l'abattage des porcs ont été considérées à risque de contamination des carcasses par des bactéries pathogènes, soit: l'étape du dégagement de l'anus et de l'enlèvement des viscères, l'étape de l'excision de la langue, du pharynx et des amygdales, les procédures d'inspection post-mortem et l'étape du dégagement de la tête (Borch *et al.*, 1996; Bryant *et al.*, 2003). Ainsi, les pratiques de l'éviscération contribueraient entre 55–90% de la contamination des carcasses par *Salmonella* spp., les équipements du polissage, entre 5–15%, et le reste des opérations, soit les étapes de la fente des carcasses, de l'habillage et de l'inspection de la viande seraient en cause dans 5–30% de la contamination des carcasses de porc (Berends *et al.*, 1997).

L'étape de l'éviscération est l'une des principales étapes impliquée dans la contamination croisée par des *Enterobacteriaceae* (Gerats, 1990; Saide-Albornoz *et al.*, 1995; Warriner *et al.*, 2002). Les carcasses peuvent être contaminées par le contenu intestinal à la suite du perçage accidentel des intestins lors de l'éviscération. Le risque est particulièrement élevé lorsque les animaux n'ont pas suffisamment jeûné (Warriss,

2004). De même, des contaminations significatives peuvent avoir lieu suite au contact direct avec la langue, le foie, les nœuds lymphatiques et la région pharyngienne, notamment les amygdales (Borch *et al.*, 1996; Swanenburg *et al.*, 2001b). Suite à une étude faite par Gerats (1990), il a été démontré que, lors des conditions normales d'abattage, la proportion moyenne de carcasses contaminées par des *Enterobacteriaceae* augmentait de 4% après le polissage et de 40% après l'étape de l'éviscération.

Un manque d'hygiène lors des manipulations et de l'entretien du matériel est reconnu comme étant une source importante de contamination croisée des carcasses tout au long du processus (Gill et Bryant, 1992; Borch *et al.*, 1996; Gill *et al.*, 2000). Lors d'une étude réalisée par Wray (2001), la stérilisation du couteau dans une eau à 82°C par un employé portant des gants a permis de réduire les taux de la contamination des carcasses de l'ordre de 50%. La contamination des carcasses peut survenir lors de contacts avec d'autres carcasses, l'équipement contaminé, les surfaces, les ustensiles ou lors de l'entreposage dans les réfrigérateurs (Berends *et al.*, 1997; Botteldoorn, 2003). À l'abattoir, la contamination de l'environnement par *Salmonella* spp. est généralement présente à des prévalences très variables d'un établissement à l'autre, fluctuant au cours d'une journée d'abattage (Hald *et al.*, 2003).

Des taux variant de 9% (Grèce), 11.7% (Manitoba), 13.8% (Europe), 25% (Québec) et jusqu'à 29.4% (Pays-Bas) ont été rapportés dans les échantillons environnementaux analysés, incluant: les planchers d'abattage et de la salle de réfrigération, les mains et les couteaux des employés (Finlay *et al.*, 1986; Mafu *et al.*, 1989; Limpitakis *et al.*, 1999; Swanenburg, 2001a; Hald *et al.*, 2003).

2.9 Gestion du risque

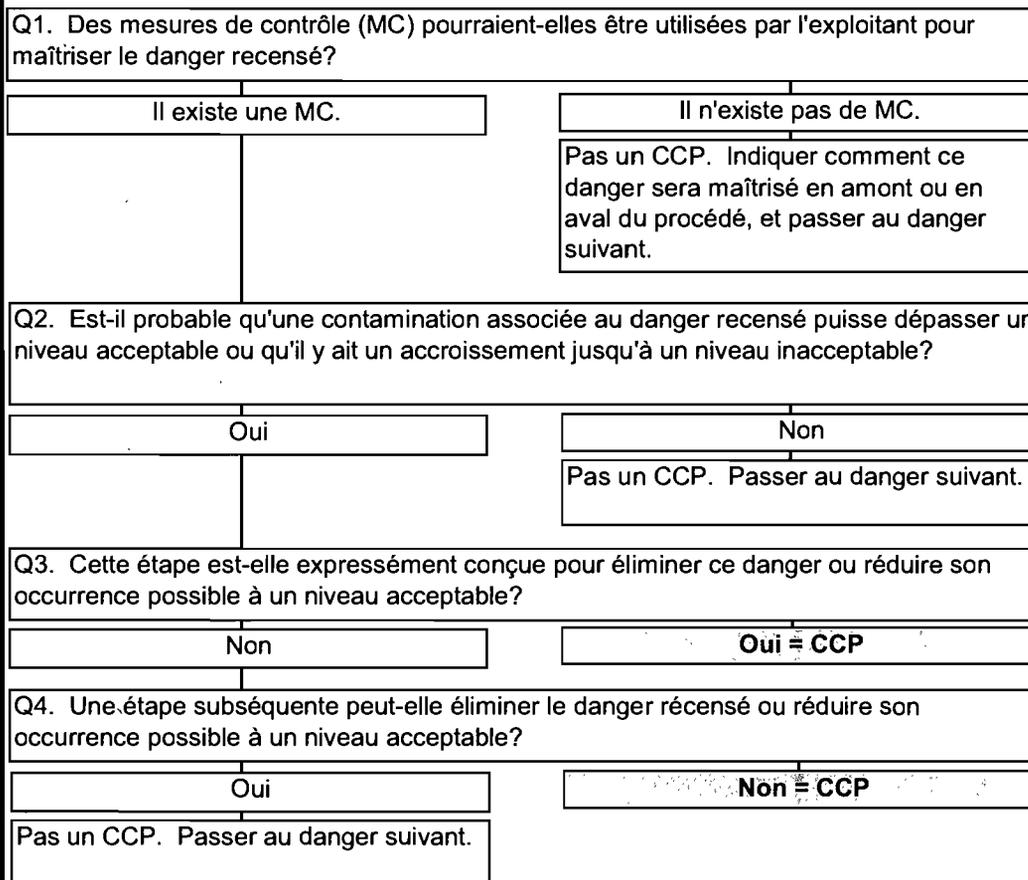
2.9.1 Analyse des risques et maîtrise des points critiques

La gestion du risque permet de mettre en place différentes politiques compte tenu des résultats de l'évaluation du risque et, au besoin, de mettre en oeuvre des mesures de contrôle appropriées afin de réduire les risques à un niveau acceptable.

À l'aide d'un arbre de décision, établi par le *Codex Alimentarius* (Figure 3), l'identification des étapes du processus (CCPs) où une réduction quantifiable du risque qu'un danger puisse arriver est évaluée. Ainsi, aux étapes critiques identifiées, un contrôle doit être appliqué afin de maîtriser un danger en l'éliminant, le prévenant ou le réduisant à un niveau acceptable, préalablement déterminé (Tompkin, 1990; USDA, 1999a; CFIA, 2005a). Ce système permet donc de réagir rapidement aux situations potentiellement dangereuses tout au long de la chaîne de production (Buchanan et Whiting, 1998; CFIA, 2005a).

Par conséquent, les Bonnes Pratiques de Fabrication et la maîtrise du processus fondée sur les systèmes HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point; Analyse des risques et maîtrise des points critiques) dans l'industrie agro-alimentaire sont des concepts reconnus internationalement. L'application du HACCP, telle que proposée par la Commission du *Codex Alimentarius* (Codex, 1999), est compatible avec la mise en place de systèmes de gestion reliés à la sécurité alimentaire. Basé sur l'identification et la gestion des points critiques à maîtriser (CCPs; Critical control points), le HACCP est caractérisé par une approche systématique permettant un contrôle des risques microbiologiques, physiques et chimiques.

Figure 3. Arbre de décision des points critiques à maîtriser (CCPs)



Source: Site Internet officiel de l'Agence canadienne d'inspection des aliments, [http :www.inspection.gc.ca]

Plus spécifiquement, en hygiène des viandes, l'application du HACCP est selon les sept principes définis comme suit:

-
- Principe 1: Procéder à une analyse des risques.
 - Principe 2: Déterminer les points critiques pour la maîtrise (CCPs).
 - Principe 3: Fixer le ou les seuil(s) critique(s).
 - Principe 4: Mettre en place un système de surveillance permettant de maîtriser les CCPs.
 - Principe 5: Déterminer les mesures correctives à prendre lorsque la surveillance révèle qu'un CCP donné n'est pas maîtrisé.
 - Principe 6: Appliquer des procédures de vérification afin de confirmer que le système HACCP fonctionne efficacement.
 - Principe 7: Constituer un dossier dans lequel figureront toutes les procédures et tous les relevés concernant ces principes et leur mise en application.
-

Comme mentionné précédemment, la gestion des risques passe avant tout par de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication. Une formation des employés donnant lieu à une meilleure connaissance des points critiques lors du processus d'abattage est un élément important afin de limiter le plus possible les contaminations croisées. Selon une étude comparative de 1998 à 2002, suite à l'implémentation du système HACCP dans les abattoirs, une différence pré- versus post-HACCP a été observée dans les taux de prévalence de *Salmonella* spp. sur les carcasses réfrigérées (USDA, 2002). Les prévalences de *Salmonella* spp. sont passées de 5.8% (1998) à 3.2% (2002) des carcasses réfrigérées positives, avec une prévalence moyenne de 4.7%.

Actuellement, les établissements américains doivent répondre aux normes de rendement relatives à *Salmonella* spp., en vertu des exigences du Règlement final sur la réduction du nombre de bactéries pathogènes et les systèmes HACCP (*Pathogen Reduction and HACCP Systems Final Rule*; US Federal Register, USDA, 1996). Au Canada, les établissements admissibles à l'exportation de viande ou de produits de viande aux États-Unis sont également visés par ces normes de rendement. Pour attester leur conformité, les établissements canadiens doivent effectuer des tests de dépistage de *Salmonella* spp. selon un programme écrit d'échantillonnage conforme aux exigences énoncées dans la réglementation américaine.

Ainsi, le Canada, comme plusieurs pays, s'est vu dans l'obligation de mettre en place des programmes de surveillance et de gestion des salmonelles afin de développer une approche intégrée pour mieux contrôler les microorganismes pathogènes alimentaires. *Salmonella* spp. a été ciblée dans l'identification des dangers, notamment, pour les raisons suivantes: elle représente une des causes les plus fréquentes de toxico-infections alimentaires; elle est présente chez une variété d'espèces à une prévalence qui permet de suivre les changements au chapitre de son incidence, et; les stratégies d'intervention visant la réduction du nombre de *Salmonella* spp. dans les produits crus devraient être également efficaces contre d'autres agents pathogènes (CFIA, 2002).

Lors du plan d'échantillonnage, les résultats individuels sont évalués comme étant positifs ou négatifs à la présence de *Salmonella* spp., peu importe le nombre réel de bactéries détectées. Lorsque le nombre de résultats positifs dépasse la limite maximale permise pour les carcasses de porc pour trois séries de tests consécutifs (soit, 6 tests positifs sur 55 échantillons analysés par série de tests), ce résultat est considéré comme une lacune grave (CFIA, 2002). Ces normes de rendement reposent sur des études microbiologiques menées aux États-Unis, où un taux de référence de 8.7% a été établi pour les carcasses de porc (USDA, 1996).

Également, selon la réglementation américaine, en plus de *Salmonella* spp., l'industrie alimentaire a sélectionné *Escherichia coli* (*E. coli*), (biotype 1) type générique, comme microorganisme indicateur servant à évaluer les normes de rendement dans un établissement donné. Les exigences relatives au dépistage d'*E. coli* générique sont fondées sur des critères de vérification du processus propre à l'établissement. Le dépistage de *E. coli*, type générique, permet la mise en place de données statistiques permettant d'évaluer la maîtrise du processus à l'abattoir (CFIA, 2005b).

2.9.2 Techniques de décontamination des carcasses

Selon les exigences réglementaires, toute contamination visible sur la carcasse doit être enlevée à l'abattoir afin de réduire les risques à un niveau acceptable. Certaines techniques de décontamination des carcasses telles que: le parage des carcasses, le lavage à l'eau chaude, l'utilisation d'un traitement antimicrobien combinée à l'eau de lavage, des techniques chimiques de décontamination (acide lactique, l'eau chlorée) et la pasteurisation ont été évaluées pour leur efficacité dans la réduction de la contamination des carcasses (Castelo *et al.*, 2001). En ce qui à trait aux carcasses de porc, peu de données sont disponibles dans la littérature et plusieurs de ces expérimentations ont été réalisées dans des conditions de laboratoire.

Le parage des tissus contaminés, tel qu'appliqué en industrie, représente une perte économique considérable (Castillo *et al.*, 1998). Certains auteurs ont rapporté qu'une élimination de la contamination visible sur les carcasses de boeuf, après parage, ne concordait pas nécessairement avec la qualité microbiologique de la viande (Prasai *et al.*, 1995). De plus, il a été observé qu'une contamination croisée par le couteau lors de l'exécution de la procédure pouvait survenir (Hardin *et al.*, 1995). Sous des conditions optimales en laboratoire, il est rapporté que le parage pourrait réduire la charge des bactéries aérobies totales sur les carcasses de boeuf variant de 1.3 à 3 log₁₀ (Prasai *et al.*, 1995; Reagan *et al.*, 1996). L'utilisation de la décontamination à l'eau chaude seule (Gill *et al.*, 1995), ou combinée avec des acides organiques (Dickson, 1988) a entraîné

des résultats positifs face à la réduction de la charge bactérienne des carcasses de porc. Plusieurs autres techniques, telles que l'utilisation de l'eau chlorée et la pasteurisation, semblent donner des résultats prometteurs (Sofos et Smith, 1998; Corantin *et al.*, 2005). Par contre, il est important de poursuivre les recherches afin d'assurer la sécurité du produit, d'évaluer l'efficacité de la technique utilisée et la faisabilité de l'implantation du moyen de contrôle.

CHAPITRE 3.

Characterization of *Salmonella* isolates from swine and chicken broilers and from sporadic cases of human salmonellosis

Manuscrit en préparation, 2008

Characterization of *Salmonella* isolates from swine and chicken broilers and from sporadic cases of human salmonellosis

Nancy Rheault⁽¹⁾, Julie Paré⁽²⁾ and Sylvain Quessy^{(1)*}

¹Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, C. P. 5000, St. Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7C6

²Canadian Food Inspection Agency, 3200 Sicotte St., Room 1102-2, C. P. 5000, St. Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7C6

* Author for correspondence. Tel : (514) 343-6111 #8398; Fax: (450) 778-8113;

E-mail: 

RÉSUMÉ

Cette étude a consisté en une caractérisation, par des méthodes d'analyse phénotypique et génotypique, de souches de *Salmonella* spp. isolées d'origine humaine (fèces), animale (porc et poulet à griller; fèces) et alimentaire (porc; carcasses). L'objectif était d'étudier les sérotypes, phagotypes et la résistance antimicrobienne parmi les souches de *Salmonella* spp. retrouvées; et, d'évaluer le lien génétique entre les souches d'origine animale à celles retrouvées dans les cas sporadiques de salmonellose humaine au Québec. Un total de 1505 et de 2175 échantillons de matériel caecal provenant de porcs et de poulets à griller, de même que 793 carcasses de porc ont été prélevés à l'abattage pendant la même période et à l'intérieur d'une région limitée. Chez l'humain, 1754 échantillons de patients souffrant de diarrhée ont été étudiés. *Salmonella* spp. a été isolée dans, respectivement, 20.9%, 6.6%, 13.4% et 2.8% des échantillons de porcs (provenant de fèces et de carcasses), de poulets à griller et d'humain. Des niveaux plus élevés de résistance antimicrobienne ont été observés dans les isolats de *Salmonella* spp. d'origine animale. Une résistance multiple aux antimicrobiens a été observée chez 53.7% des isolats de *Salmonella* spp. Des profils génétiques ont été obtenus par l'électrophorèse en champs pulsés en utilisant *Xba*I et *Spe*I comme enzymes de restriction. Dans cette étude, il a été possible de démontrer la présence de liens génétiques entre les isolats d'origine animale et humaine de *S. Typhimurium* ainsi qu'entre les souches de *S. Derby* multirésistantes, possédant les mêmes profils de résistance aux antimicrobiens. Ces données ont permis de mettre en évidence l'importance du rôle du porc et du poulet à griller comme réservoirs potentiels de souches de *Salmonella* spp. multirésistantes impliquées dans les cas sporadiques de la salmonellose chez l'homme.

ABSTRACT

In this study, a characterization, by phenotypic and genotypic typing methods, of *Salmonella* spp. isolates recovered from animals (pig and broiler chicken; feces), food source (pig carcasses) and diarrheic patients (feces) was done. The objective was to provide insight into the occurrence of serotypes, phagetypes and antimicrobial resistance among *Salmonella* spp. strains isolated. Additionally, the genetic relatedness of *Salmonella* spp. isolates from animal origin and sporadic cases of human salmonellosis in Québec area has been evaluated. A total of 1505 and 2175 samples of caecal material from swine and broiler chickens, and 793 pork carcasses were sampled at slaughter during the same period and within a limited geographic area. In humans, 1754 samples were collected from patients with diarrhea. *Salmonella* spp. was found in, respectively, 20.9%, 6.6%, 13.4% and 2.8% of swine (from feces and pork carcasses), broiler chicken and human samples. Higher occurrence of antimicrobial resistance was observed for *Salmonella* spp. isolates of animal origin than that of isolates from diarrheic patients. Multiple resistances to antimicrobial agents have been observed in 53.7% of *Salmonella* spp. isolates. Genetic profiles were obtained by pulse-field gel electrophoresis technique using *Xba*I and *Spe*I as restriction enzymes. It was possible to demonstrate genetic links between multiresistant *S. Typhimurium* and *S. Derby* isolates from animal origin and diarrheic patients, which also expressed the same antimicrobial patterns. This study indicated that swine and broiler chickens may be considered as reservoirs for multiresistant *Salmonella* spp. strains involved in sporadic cases of human salmonellosis.

INTRODUCTION

Salmonella infection is an important public health concern worldwide (1, 2). In the United States, there are approximately 1.4 million cases of *Salmonella* infections per year, resulting in 17 000 hospitalizations and 585 deaths annually (3). Currently, about 5500 cases are reported in Canada each year, but it is estimated that only 1% of all infections are ever clinically recognized (4, 5). The predominant types reported as the cause of human illness in Canada are *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* although over 2000 serotypes of *Salmonella* spp. are known (5). Human salmonellosis is most often attributed to the consumption of contaminated foods. A wide range of foods has been implicated in foodborne illness due to *Salmonella* with poultry as a principal source (1, 3, 6). In industrialized countries, between 5 and 30% of all cases of foodborne salmonellosis have pork as the actual source of contamination (7, 8, 9).

In epidemiological studies, an increased antimicrobial resistance has been observed in several *Salmonella enterica* serovars (10, 11, 12). The emergence of multi-drug resistant phenotypes among *Salmonella* spp. is an increasing public health concern (13, 14). *S. Typhimurium* phage type 104 (PT104) characterized by a chromosomal gene cluster that codes for multiresistance to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides and tetracycline (ACSSuT) has been one of the leading causes of animal and human salmonellosis over the past 10 years (15, 16, 17). The *S. Typhimurium* PT104 epidemic is now worldwide with a considerable number of outbreaks since 1996 in the United States and Canada (10, 18). Epidemiological studies indicated that this serovar might be associated with increased illness and higher death rates in humans (14, 19). Multidrug-resistant *S. Typhimurium* PT104 was primarily associated with cattle but it has spread to a range of food animals, including pigs and poultry, which may carry the organism without showing any clinical sign of illness (7, 20, 21).

In Denmark, the first case of pig to human transmission of this organism via the food chain was reported in 1999 (22). Human infections with multidrug-resistant PT104 isolates have also been associated with the consumption of chicken, beef, pork, sausages and meat paste in epidemiological studies using a standardized questionnaire to assess recent food consumption or exposures (23).

The importance of this organism as cause of worldwide outbreaks and as an antibiotic resistance carrier to humans has led to surveillance of *Salmonella* spp. recovered from contaminated food (10, 24). In 2002, a Canadian systematic monitoring program has been developed federally (Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance; CIPARS) and in some provinces (11, 25). However, most data gathered so far on sources of contamination in humans comes from epidemiological studies from outbreaks. Very few studies could establish a direct link between food animals and human strains by genetic characterization of strains from sporadic cases of salmonellosis. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. isolates recovered from humans, animals (pigs and broiler chickens) and food source (pig carcasses) is needed to refine public health risk associated with the presence of *Salmonella* spp.

In this study, a characterization, by phenotypic and genotypic typing methods, of *Salmonella* spp. isolates recovered from animals, food source and diarrheic patients was done. Specifically, the objectives were (i) to provide insight into the occurrence of serotypes, phagetypes and antimicrobial resistance among *Salmonella* spp. strains isolated from animals (swine, broiler chickens), food source (pig carcasses) and humans; and (ii) to evaluate the relationship between *Salmonella* spp. isolates from animal origin (feces and carcasses) and sporadic cases of human salmonellosis in a defined geographical region.

MATERIALS AND METHODS

Pig samples. *Slaughterhouses selection.* The four largest federally registered Québec pork slaughterhouses were included in the study. Carcasses were processed at a speed of 460 to 480 carcasses per h depending on the slaughterhouse. *Carcass samples.* A simple random sample was conducted within a six month period, in a limited geographical area. A total of 793 randomly selected carcasses were sampled after chilling, which is the end point for the slaughter and dressing procedures. Methodology used for sampling of carcasses was in accordance with the United States Department of Agriculture (USDA) manual on HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) procedures (26). Carcass samples were collected by hydrating a sterile sponge (Nasco, Whirl-Pak, Fisher, Ottawa, Ontario) with 10 mL of buffered peptone water (BPW) (Oxoid, Hampshire, England), which was used to swab three areas (10 × 10 cm, as defined by a sterile plastic template): the belly, ham, and jowl, resulting in a composite sample of 300 cm². Sponging of each carcass site consisted of 10 vertical and 10 horizontal passages. Swabbing with sponges was done aseptically using sterile latex gloves. *Caecal samples.* All samples were obtained from finishing pigs slaughtered during the same period of time, in three abattoirs among the ones aforementioned. A total of 1505 samples were randomly selected from healthy pigs originating from 203 producers in the Québec area. Immediately after evisceration and inspection, a small incision was made in the mid-third of the caecum, using a disinfected scalpel, and 1 g samples of caecal content were collected from each animal. Samples were immediately placed in nutrient broth (Difco Laboratories, Detroit, Michigan). All samples were placed in an icebox packed with ice packs and examined within 6 h.

Broiler chicken samples. *Slaughterhouses selection.* Sampling was conducted in two abattoirs receiving broiler chickens from all regions of the province of Québec (Canada). The average number of broiler chickens by lot was approximately 6000. These plants process approximately 1 million chickens each week, which represent approximately one-third of the chickens slaughtered per year in the province

of Québec. Generally, one or two lots were sampled per week ($n = 87$ lots). Twenty-five chickens from each lot were randomly sampled for a total of 2175 broiler chickens. *Intestinal examination.* Intestines of each selected carcass were placed into individually identified sterile plastic bags, and stored on ice for 2–4 h until being processed in the laboratory. An incision was made with a sterile scalpel, and approximately 1 g of the caecal content was sampled with a sterile cotton swab, put in a sterile stomacher bag and gently manually homogenized.

Human samples. The sampling was conducted at five hospitals, located in the province of Québec area, during the same time and in the same restricted geographic area that the food animals sampling were done. To increase the chances of establishing links, information has been obtained to confirm that the abattoirs involved in this study delivered chicken and pork products to supermarkets of the area studied. Every week, all fecal samples (1 g) from sporadic cases of diarrheic patients ($n = 1754$) were analyzed in our laboratory to detect the presence of *Salmonella* spp.

Isolation and identification of *Salmonella* spp. *Swine carcasses.* As defined in the HACCP methodology (27), an additional 50 mL of BPW (Oxoid) was added to ensure that the sponge was completely immersed; bringing the total volume to 60 mL, and the sample was stomached in the original bag for 2 min. According with this method, samples were pre-enriched in BPW (Oxoid) at 36°C for 20–24 h, and selective enrichments were conducted in both Tetrathionate broth (TT-Hajna) (Becton Dickinson and Company, Sparks, Maryland) and Rappaport-Vassiliadis broth (Oxoid) incubated at 42°C for 22–24 h. Each broth was then streaked onto double-modified lysine iron agar (DMLIA) and brilliant green sulfa (BGS) agar plates (Sigma Chemical Co., Oakville, Ontario), which were incubated at 36°C for 22–24 h. Suspected *Salmonella* spp. colonies were selected and confirmed with biochemical testing procedures. *Fecal samples.* One gram of caecal contents or feces was immediately added to a tub containing 9 mL of nutrient broth (Difco) and incubated for 18–24 h at 37°C. Following this pre-enrichment step, a 1 mL aliquot of nutrient broth (Difco) was inoculated into 9 mL of Tetrathionate Brilliant Green broth (TBG) (BBL Microbiology

Systems, Cockeysville, Maryland) and incubated at 42°C for 18–24 h. A loopful was streaked on BGS agar plates containing 20 µg/mL of novobiocin, and incubated at 37°C for 18–24 h (28). Lactose-negative colonies were submitted to biochemical testing on Christensen's urea and triple sugar iron media (Difco). Colonies suspected of being *Salmonella* spp. were further tested by O and H agglutination tests (Poly A1-Vi, Difco). Those isolates giving atypical TSI results and/or negative serological tests were subjected to biochemical confirmation, API 20E tests (BioMerieux, Hazelwood, Missouri). Three controls were used: negative control, *S. Typhimurium* and *S. Seftenberg*.

All *Salmonella* spp. isolates (total of 49 isolates from diarrheic patients and 657 isolates recovered from animal origin) were serotyped and phagetyped at the Health Canada Laboratory in Guelph (Ontario). Human and animal isolates belonging to the same serovars were further examined. All *Salmonella* spp. human strains sharing serovars common to animals ($n = 44$ isolates), and more than 45% of randomly selected animal strains sharing serovars with humans (e.g. strains from serovars: Typhimurium, Thompson, Heidelberg, Derby, Enteritidis and Agona) ($n = 198$ isolates of *Salmonella* spp.) were analyzed for pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and for antimicrobial susceptibility profiles. A 95% confidence interval was computed around proportions, assuming a normal distribution.

PFGE analysis. Pulse-field gel electrophoresis was carried out to compare the DNA profiles of *Salmonella* spp. strains isolated from pigs, broiler chickens and diarrheic patients. Genomic DNA was isolated by a modified version of the method of Kaufmann and Pitt (29). Briefly, the bacterium suspension, prepared from a 48 h bacterial culture on Mueller-Hinton agar (Quelab Laboratories, Montréal, Québec) containing 6% sheep blood, was adjusted to an optical density of 1.5–1.8 at 540 nm in sodium chloride-EDTA buffer (75 mM NaCl and 25 mM EDTA, pH 7.5). Each bacterial suspension was heated to 56°C and 250 µL was then mixed with an equal volume of 2.0% wt/vol low-gelling-temperature agarose (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri) dispensed in a plug mold (Bio-Rad Laboratories, Richmond,

California), and allowed to solidify at 4°C. Based on a methodology described by Caya *et al.* (30) and Letellier *et al.* (31), the DNA was extracted and digested with macrorestriction enzymes *Xba*I and *Spe*I. DNA fragments were separated by PFGE in a 1.2% wt/vol high-gelling-temperature agarose (Sigma) at 200 V and 14°C, with a linear ramp switch time of 5 to 25 s for 20 h (*Xba*I) or 18 h (*Spe*I) with a Gene Navigator apparatus (Pharmacia, Uppsala, Sweden). A λ DNA ladder (Bio-Rad) was used as the molecular weight markers. Following criteria established by Tenover *et al.* (32), isolates were identified as genetically indistinguishable if their macrorestriction profiles had the same number of bands and if the corresponding bands had the same apparent size, and they were identified as genetically closely related if their profiles differed by less than three bands.

Antimicrobial susceptibility testing. Antibiotic susceptibility testing was performed using the disk diffusion method, Kirby-Bauer technique (33) on Mueller-Hinton agar plates (Quelab Laboratories), based on guidelines established by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (34). A total of twelve selected antibiotic disks (BBL, Sensi-Disc; Becton Dickinson and Company; Oxoid) were used (diffusible amount and abbreviation): amoxicillin-clavulanic acid (AMC; 20 and 10 μ g, respectively), ampicillin (A; 10 μ g), chloramphenicol (C; 30 μ g), ceftiofur (XNL; 30 μ g), enrofloxacin (ENR; 5 μ g), gentamicin (G; 10 μ g), neomycin (N; 30 μ g), spectinomycin (Sh; 100 μ g), streptomycin (S; 10 μ g), sulfisoxazole (Su; 250 μ g), tetracycline (T; 30 μ g), and trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT; 23.5/1.25 μ g, respectively). Controls were done using *Escherichia coli* (ATCC 25922; American Type Culture Collection [ATCC], Manassas, Virginia). The interpretation was made according to NCCLS charts (34), except for ceftiofur and neomycin (manufacturers' standards). In data analysis, isolates with intermediate susceptibility to the tested antimicrobials were considered susceptible for descriptive analysis (35, 36).

RESULTS

Prevalence, serotype and phagetype distribution of *Salmonella* spp. in pigs, broiler chickens and in sporadic cases of human diarrhea. The observed prevalence of *Salmonella* spp. was 20.9% in finishing pigs, 6.6% in pork carcasses, 13.4% in chicken broilers and 2.8% in diarrheic patients. These isolates belonged to 26 different serovars (Table I). Three serovars identified were common from all sources: Typhimurium, Heidelberg and Agona. In humans, the three most frequent serovars were Typhimurium (30.6%), Thompson (24.5%) and Heidelberg (18.4%). In pig samples (including isolates from feces and carcasses), the most frequently isolated serovars were Typhimurium (24.9%), Derby (24.9%) and Brandenburg (11.7%). In comparison, *S. Heidelberg* was the most frequent serovar (34.0%) recovered in chicken samples, followed by *S. Thompson* (25.1%) and *S. Hadar* (11.3%).

Among *S. Typhimurium* (including *S. Typhimurium* var. Copenhagen) identified, PT104 was the most frequent (48/120 isolates; 40.0%), followed by PT193 (25/120 isolates; 20.8%) and PT108 (9/120 isolates; 7.5%). *S. Typhimurium* PT104 was recovered from chickens (57.1%), pigs (40.6%) and humans (20.0%). For *S. Heidelberg*, PT6 (74/137 isolates; 54.0%) was the most predominant type isolated and the only phagetype recovered from all sources. *S. Enteritidis* serovars PT4, PT8, PT13a were isolated from humans (8.2%) while PT28 was the only phagetype recovered from chicken isolates (3.4%) (Table II).

Antimicrobial resistance phenotypes. According to 95% confidence interval, significantly higher frequencies of resistance were observed for *Salmonella* spp. isolates of animal origin (141/198 isolates; 71.2%; 95% confidence interval [CI], 64.9–77.5) than that of isolates from humans (12/44 isolates; 27.2%; 95% [CI], 14.1–40.4). In addition, the prevalence of resistance and multiple resistance in isolates of *Salmonella* spp. from pig samples was significantly higher (92.4 % (95% [CI], 87.6–97.2) than that of isolates from broiler chickens (40.0%; 95% [CI], 29.3–50.7). Among pig samples, 91 of the 96 isolates tested from feces (94.8%; 95% [CI], 90.3–99.2) were

resistant to at least one antibiotic tested, compared to 18 of the 22 isolates tested (81.8%; 95% [CI], 65.7–97.9) from pork carcasses. From carcass isolates, 61.1% (11/18 isolates) of *Salmonella* spp. resistant strains shared the same antimicrobial resistance profiles with isolates recovered from feces.

Among 242 *Salmonella* spp. isolates tested, 89 (36.8%) were susceptible to all 12 antimicrobials. Thus, 153 of the 242 (63.2%) *Salmonella* spp. isolates were resistant to at least one antimicrobial, while 130 isolates (53.7%) displayed resistance to multiple antimicrobial agents. The distribution of *Salmonella* spp. resistance by serovar to 12 antimicrobials is described in Table III. Resistance to more than one antimicrobial was predominantly found among serovars Agona (90.9%), Derby (88.2%) and Typhimurium (70.3%). Multiple resistance to at least four antimicrobial agents of *S. Typhimurium* isolates were found in 26.7% of the human strains, 72.2% of pig isolates and 71.4% isolates from broiler chickens. One strain of *S. Typhimurium* PT45 isolated from pig (feces) was resistant to ≥ 10 antimicrobials. For other serovars, the prevalence of multiresistant (resistant to ≥ 4 antimicrobials) isolates was 13.8% in humans, 91.3% in pigs and 15.2% in chickens. All *S. Enteritidis* and *S. Thompson* recovered from chicken broiler isolates were susceptible to the full panel of 12 antimicrobials.

The ACSSuT pattern (resistant to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfisoxazol and tetracycline) was the most frequent antimicrobial profile identified among pigs, chickens and human origin *Salmonella* spp. isolates, specifically in *S. Typhimurium* PT104. In this study, a common pattern of antimicrobial resistance, ACSSuT-Sh-N (resistant to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfisoxazol, tetracycline, spectinomycin and neomycin) was observed in 29.7% of isolates tested from diarrheic patients, pigs and chickens *S. Typhimurium* PT104 isolates. Complete antimicrobial resistance patterns of the *Salmonella* spp. isolates tested are shown in Table IV. All *Salmonella* spp. isolates from humans were susceptible to ceftiofur, enrofloxacin and sulfa-trimethoprim. In comparison, two isolates of *S. Heidelberg* recovered from broiler chickens were resistant to ceftiofur and one isolate of *S. Derby* recovered from pigs showed resistance to enrofloxacin.

In human isolates, eight different antimicrobial resistance patterns were identified. The highest level of resistance observed was to streptomycin (18.2%), sulfisoxazol (18.2%), spectinomycin (18.2%), tetracycline (18.2%), followed by, ampicillin (9.1%). In broiler chicken samples, the highest level of resistance was to streptomycin (40.0%), sulfisoxazol (31.2%), spectinomycin (30.0%), followed by tetracycline (21.2%) and ampicillin (17.5%). In comparison, thirty-one different antimicrobial resistance patterns were identified from pig isolates among the 109 isolates resistant to at least one antibiotic tested. The highest levels of resistance were to tetracycline (81.4%), spectinomycin (80.5%), sulfisoxazol (77.1%), streptomycin (76.3%) and ampicillin (46.7%).

Genetic relatedness of *Salmonella* spp. from pigs, broiler chickens and human isolates. Various patterns, varying from 13 to 17 bands, were observed for the human and animal origin isolates (data not shown). *SpeI* gave the highest discriminatory index among *Salmonella* spp. as evidenced by the variety of the PFGE patterns obtained. The PFGE profiles of *S. Agona* and *S. Thompson* from all animal source isolates differed by more than three bands from those of the human isolates. However, two human *S. Derby* multiresistant strains appeared closely related (two or three bands difference) with *S. Derby* recovered from pigs previously with the same antimicrobial pattern (ShSSu-T) expressed.

To determine whether there is genetic relationship within and between *S. Typhimurium* isolates of porcine (from feces and carcasses), chicken broilers and human origin, particularly the multiresistant strains PT104, a total of 24 isolates were analyzed by PFGE. Upon visualization of the PFGE results for the strains of *S. Typhimurium* PT104 digested with *XbaI* and *SpeI*, PFGE grouped the isolates into three major genetic patterns (X1aS1a, X1bS1a, X1aS1b). The most predominant PFGE pattern observed was designated X1aS1a (20/24 isolates); the X1aS1a profile of human isolates was undistinguishable from animal origins (Figure 4.1a and 4.1b).

Among *S. Typhimurium* serovar PT104, a specific genetic cluster was recovered from humans, pigs (feces and carcasses) and chickens with the same antimicrobial pattern (ACSSuT-Sh-N) expressed.

DISCUSSION

This study showed that approximately 20.9% of the finishing pigs and 13.4% of broiler chickens entering abattoirs in Québec were *Salmonella*-positive. The prevalence of *Salmonella* spp. in caecal material from healthy finishing swine was relatively high when compared to results of similar studies in pork-packing plants in Canada (37, 38). However, despite this *Salmonella* spp. prevalence in pigs, the overall prevalence on pork carcasses was comparable or less than the results obtained in the other studies (39, 40). *S. Typhimurium* and *S. Heidelberg* were the predominant serovars recovered from pigs and broiler chickens as also observed by others (5, 11). In this study, *S. Typhimurium* continues to be an important cause of human foodborne disease in Canada, agreeing with the results reported by Khakhria and Lior. (41, 42).

This study has utilized a combination of phenotypic and genotypic typing methods to examine the relationship among strains of *Salmonella* spp. isolated from human, food, and animal origin in a restricted area belonging to the same serovars. The prevalence of antimicrobial resistance and multiple resistances of *Salmonella* spp. isolates from pig samples was significantly higher (92.4% (95% [CI], 87.6–97.2) than that of isolates from broiler chickens (40.0%; 95% [CI], 29.3–50.7). Higher antimicrobial resistance from pig *Salmonella* spp. isolates compared to broiler chickens strains was also observed previously (20, 43), probably reflecting the higher use of antimicrobial in pigs than in poultry. In the literature, it has been proposed that the use of antibiotics in animals may lead to an increase in the proportion of resistant strains among human pathogen (44). Among pig samples, same patterns of resistance were observed from feces (94.8%; 95% [CI], 90.3–99.2) and pork carcasses (81.8%; 95% [CI], 65.7–97.9). As proposed by Cruchage *et al.* (43), this finding might suggest fecal contamination on pork carcasses.

According to a 95% confidence interval, significantly higher percentages of resistance were observed for *Salmonella* spp. isolates from swine origin (92.4% (95% [CI], 87.6–97.2) than that of isolates from humans (12/44 isolates; 27.2%; 95% [CI],

14.1–40.4). However, the overall difference observed between resistance patterns of isolates from swine and humans would suggest that transmission of resistant strains from pigs to humans is not likely to occur to a large extent. It was considered important to further characterize the isolates to better assess the relationship between *Salmonella* spp. isolates from animal origin (feces and carcasses) and sporadic cases of human salmonellosis in a defined geographical region.

By phenotypic characterization, a high level of drug resistance among serovars Agona (90.9%), Derby (88.2%) and Typhimurium (including *S. Typhimurium* var. Copenhagen strains) (70.3%) was observed, as also reported by CIPARS (11). *S. enterica* serotype Typhimurium PT104 has emerged as one of the most important multiresistant isolates of human and animal origin, in accordance with other studies (11, 14). A typical *S. Typhimurium* PT104 multi-drug resistance phenotype ACSSuT (11, 14) was the most frequently observed in *S. Typhimurium* PT104 isolates. Antimicrobial resistance profiles observed highlighted the wide distribution of multiresistant (ACSSuT-Sh-N) *S. Typhimurium* PT104 strains in animals (pigs and broiler chickens), food source (pig carcasses) and humans. This high proportion of multidrug-resistant PT104 observed among apparently healthy pigs and broiler chickens has indicated the importance of food animals as reservoirs of *Salmonella* spp. serovars and potential vectors of antimicrobial resistance (21). It was noted that multiresistance patterns were also observed in a significant number of isolates belonging to phagetypes other than PT104 and to other serovars, as presented in Table III.

Decreased susceptibility was mainly observed for streptomycin, sulfisoxazol, spectinomycin and tetracycline. In addition, two isolates of *S. Heidelberg* recovered from chickens were resistant to ceftiofur and one isolate of *S. Derby* recovered from pigs presented resistance to enrofloxacin. Studies have demonstrated a significant association between the ceftiofur use in food animals and isolation of bacteria with reduced susceptibility to ceftriaxone, the drug of choice for treatment of severe salmonellosis in humans (45, 46). This observation has raised concerns regarding the use of ceftiofur in food animals as a potential selective agent responsible for the emergence and

dissemination of ceftriaxone-resistant enteric pathogens such as *Salmonella* spp. (47, 48, 49). Furthermore, the resistance to enrofloxacin found in *S. Derby* may have clinical implications, as there have been reports of treatment failures with *Salmonella* spp. isolates exhibiting decreased susceptibility to fluoroquinolones (50, 51). On the basis of PFGE fingerprinting, despite the broad genetic and phenotypic diversity observed among the diarrheic patients and animal *Salmonella* spp. isolates, two human multiresistant strains of *S. Derby* appeared closely related (two or three bands difference) with the same antimicrobial profile (ShSSu-T) of *S. Derby* recovered previously from pigs. According to Valdezate *et al.* (51), a clone of *S. Derby* in pork-derived products and subsequently in humans has also been reported by the higher frequency of *S. Derby* isolates, which emerged on several swine farms in Spain.

In this study, the sources of *Salmonella* spp. isolates from swine, chickens and humans were epidemiologically related, from similar geographical locations during similar time periods. The PFGE pattern designated as X1aS1a of human isolates was undistinguishable from animal origins. These isolates appeared to be genetically identical and possessed the same antibiotic resistance pattern as strains found in ill patients. In Europe, other studies have also identified common PFGE profiles of *Salmonella* spp. from food, animal sources, and human isolates (52, 53). The detection of undistinguishable isolates from pigs, broiler chickens and humans suggests that swine and chickens may be considered as reservoirs of multiresistant *Salmonella* spp. strains involved in sporadic cases of human salmonellosis.

Transfer from animals to humans via food is the most likely route of this transmission as a result of contaminated carcasses, since all animal samples were collected from slaughter plants. In addition, animal samples harboring genetically related strains were collected before the recovery of human strains (data not shown). The combination of genetic relationship between isolates and the high prevalence of multidrug resistant *Salmonella* spp. in healthy finishing pigs and broiler chickens represents potential source of hazard for humans. Our results emphasize the need for the

implementation of an effective epidemiological surveillance and control strategy in Canada to avoid exposure of *Salmonella* spp. in humans by food products.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Kathie Roseberry, Louise Lessard, Louise Beausoleil, Julie Légaré, Annie Desrosiers and Éric Nadeau for their technical assistance and collaboration on this project. We especially thank Health Canada authorities at the Food and Veterinary Hygiene Laboratory of Saint-Hyacinthe for their collaboration and for access to their facilities. We also acknowledge financial support from the FCAR (Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche).

REFERENCES

1. **Bean, N. H., Goulding, J. S., Lao, C., Angulo, F. J.** 1996. Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 1988–1992. *CDC Surveillance Summaries Morbid. Mortal. Weekly Rep.* 45:1–65.
2. **Tirado, C., Schmidt, K.** 2001. WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. *World Health Organization. J. Infect.* 43:80–4.
3. **Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., Tauxe, R. V.** 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* Sep-Oct; 5(5):607–25.
4. **PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2003. Human Salmonellosis cases. Ottawa: CCDR; 29S1. [On line], http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/03vol29/29s1/29s1_2e.html (accessed on December 20, 2005).
5. **PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2005. Notifiable diseases on-line. [On line], http://dsol-smed.phac-aspc.gc.ca/dsol-smed/ndis/diseases/salm_e.html (accessed on August 15, 2005).
6. **Bryan, F.L., Doyle, M.P.** 1995. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Prot.*, 58(3):326–344.
7. **Berends, B. R., Van Knapen, F., Mossel, D. A., Burt, S. A., Snijders, J. M.** 1998. *Salmonella* spp. on pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. *Int. J. Food Microbiol.* 44(3):207–17.
8. **Bryan, F. L.** 1980. Foodborne disease in the United States associated with meat and poultry. *J. Food Prot.* 43:140–150.

9. **Bryan, F. L.** 1988. Risks associated with vehicles of foodborne pathogens and toxins. *J. Food Prot.* 51:498–508.
10. **Poppe, C., Ayroud, M., Ollis, G., Chirino-Trejo, M., Smart, N., Quessy, S., Michel, P.** 2001. Trends in antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from animals, foods of animal origin, and the environment of animal production in Canada, 1994–1997. *Microb. Drug Resist.* 7(2): 197–212.
11. **PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2003. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS). 119 p. [On line], http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/pdf/cipars-picra-2003_e.pdf (accessed on December 20, 2005).
12. **NARMS (National Antimicrobial Resistance Monitoring System).** 2001. Enteric bacteria. 2000 Annual report. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. [On line], http://www.cdc.gov/narms/annual/2000/NARMS_final_report_2000.pdf (accessed on December 20, 2005)
13. **Threlfall, E. J., Ward, L. R., Frost, J. A., Willshaw, G. A.** 2000. The emergence and spread of antibiotic resistance in foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 62 (1-2):1–5.
14. **Glynn, M. K., Bopp, C., Dewitt, W., Dabney, P., Mokhtar, M., Angulo, F.J.** 1998. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella* enterica serotype Typhimurium DT104 infections in the United States. *N. Engl. J. Med.* 338: 1333–1338.

15. **Briggs, C. E., Fratamico, P. M.** 1999. Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella* Typhimurium DT104. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:846–849.
16. **Gebreyes, W. A., Thakur, S., Davies, P. R., Funk, J. A., Altier, C.** 2004. Trends in antimicrobial resistance, phage types and integrons among *Salmonella* serotypes from pigs, 1997–2000. *J. Antimicrob. Chemother.* 53(6):997–1003.
17. **Sandvang, D., Aarestrup, F. M., Jensen, L. B.** 1998. Characterisation of integrons and antibiotic resistance genes in Danish multiresistant *Salmonella enterica* Typhimurium DT104. *FEMS Microbiol. Lett.* 160:37–41.
18. **Poppe, C., Smart, N., Khakhria, R., Johnson, W., Spika, J., Prescott, J.** 1998. *Salmonella* Typhimurium DT104: A virulent and drug-resistant pathogen. *Can. Vet. J.* 39(9):559–65.
19. **Travers, K., Barza, M.** 2002. Morbidity of infections caused by antimicrobial resistant bacteria. *Clin. Inf. Dis.* 34:S131–S134.
20. **Seyfarth, A. M., Wegener, H. C., Frimodt-Møller, N.** 1997. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium from humans and production animals. *J. Antimicrob. Chemother.* Jul; 40(1):67–75.
21. **Perron, G. G., Quessy, S., Letellier, A., Bell, G.** 2007. Genotypic diversity and antimicrobial resistance in asymptomatic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 *Infect Genet Evol.* Mar; 7(2):223-8. Epub 2006 Oct 16.
22. **Molbak, K., Baggesen, D. L., Aarestrup, F. M., Ebbesen, J. M., Engberg, J., Frydendahl, K., Gerner-Smidt, P., Petersen, A. M., Wegener, H. C.** 1999. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. *N. Engl. J. Med.* 341:1420–1425.

23. **Wall, P. G., Morgan, D., Lamden, K., Ryan, M., Griffin, M., Threlfall, E. J., Ward, L. R., Rowe. B.** 1994. A case control study of infection with an epidemic strain of multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in England and Wales. *Commun. Dis. Rep. CDR Rev.* Oct 14; 4(11):R130-5.
24. **WHO (World Health Organization).** 2005. Drug-resistant *Salmonella*. 5 p. [On line], <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/print.html> (accessed on December 20, 2005).
25. **ACAUIR (Advisory Committee on Animal Uses of Antimicrobials and Impact on Resistance and Human Health).** 2002. Uses of antimicrobials in animals in Canada: impact on resistance and human health. Veterinary Drugs Directorate, Health Canada, Ottawa.
26. **USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service.** 2002. Progress report on *Salmonella* testing of raw meat and poultry products, 1998-2002. [On line], <http://www.fsis.usda.gov/OPHS/haccp/salm5year.htm> (accessed on November 20, 2005)
27. **CFIA (Canadian Food Inspection Agency).** 2002. Normes de rendement du USDA relatives à *Salmonella*. Réduction du nombre de pathogènes et systèmes HACCP. Chapitre 11. Annexe U. [On line], <http://www.inspection.gc.ca/francais/anima/meavia/mmopmmhv/chap11/us-eu/annexuf.shtml> (accessed on November 30, 2005).
28. **Champagne, M. J., Ravel, A., Daignault, D.** 2005. A comparison of sample weight and culture methods for the detection of *Salmonella* in pig feces. *J. Food Prot.* 68 (5):1073–6.

29. **Kaufmann, M. E., Pitt, T. L.** 1994. Pulsed-field gel electrophoresis bacterial DNA, chapter 8. In H. Chart (ed.), *Methods in practical laboratory bacteriology*. CRC Press, London, UK.
30. **Caya, F., Fairbrother, J. M., Lessard, L., Quessy, S.** 1999. Characterization of the risk to human health of pathogenic *Escherichia coli* isolates from chicken carcasses. *J. Food Prot.* 62 (7):741–746.
31. **Letellier, A., Messier, S., Paré, J., Menard, J., Quessy, S.** 1999. Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. *Vet. Microbiol.* 67(4):299–306.
32. **Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H., Swaminathan, B.** 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33(9):2233–9.
33. **Lennette, E. H., Balows, A., Hausler Jr., W. J., Shadomy, H. J.** 1985. (ed.) *Manual of clinical microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
34. **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).** 1977. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; tentative standard (document M31-T), vol. 17. NCCLS, Wayne, PA.
35. **Baggesen, D. L., Sandvang, D., Aarestrup, F. M.** 2000. Characterization of *Salmonella* enterica serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *J. Clin. Microbiol.* 38(4):1581–6.

36. **Casals, J. B., Pringler, N.** 1991. Antibacterial sensitivity testing using Neo-Sensitabs. Rosco Diagnostica, Taastrup, Denmark.
37. **Mafu, A., Higgins, R., Nadeau, M., Cousineau, G.** 1989. The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment. *J. Food Protect.* 52:642–645.
38. **Letellier, A., Quessy, S., Messier, S.** 1999. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. *J. Food Protect.* 62:22–5.
39. **Lammerding, A. M., Gracia, M. M., Mann, E. D., Robinson, Y., Dorward, W. J., Truscott, R. B., Tittiger, F.** 1988. Prevalence of *Salmonella*, and thermophilic *Campylobacter* in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. *J. Food Prot.* 51:47–52.
40. **Eblen, D. R., Levine, P., Rose, B. E., Saini, P., Mageau, R., Hill, W. E.** 2005. Nationwide microbiological baseline data collected by sponge sampling during 1997 and 1998 for cattle, swine, turkeys, and geese. *J. Food Prot.* 68(9):1848–52.
41. **Khakhria, R., Woodward, D., Johnson, W. M., Poppe, C.** 1997. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1983–92. *Epidemiol. Infect.* 119:15–23.
42. **Khakhria, R., Lior, H.** 1980. Distribution of phagovars of *Salmonella* Typhimurium in Canada (1969–1976). *Zentralbl. Bakteriol. [A]* 248, pp. 60–63.
43. **Cruchaga, S., Echeita, A., Aladuena, A., Garcia-Pena, J., Frias, N., Usera, M. A.** 2001. Antimicrobial resistance in salmonellae from humans, food and animals in Spain in 1998. *J. Antimicrob. Chemother.* 47(3):315–21.

44. **Van den Bogaard, A. E., Stobberingh, E. E.** 1999. Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. *Drugs* 58:589–607.
45. **White, D. G., Zhao, S., Sudler, R., Ayers, S., Friedman, S., Chen, S., McDermott, P. F., McDermott, S., Wagner, D. D., Meng, J.** 2001. The isolation of antibiotic-resistant *Salmonella* from retail ground meats. *N. Engl. J. Med.* 345 (18):1147–1154.
46. **Zhao, S., White, D. G., McDermott, P. F., Friedman, S., English, L., Ayers, S., Meng, J., Maurer, J. J., Holland, R., Walker, R. D.** 2001. *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and ground meat. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:3647–3650.
47. **Crump, J. A., Barrett, T. J., Nelson, J. T., Angulo, F. J.** 2003. Reevaluating fluoroquinolone breakpoints for *Salmonella enterica* serotype Typhi and for non-Typhi *salmonellae*. *Clin. Infect. Dis.* 37:75–81.
48. **Slinger, R., Desjardins, M., McCarthy, A. E., Ramotar, K., Jessamine, P., Guibord, C., Toye B.** 2004. Suboptimal clinical response to ciprofloxacin in patients with enteric fever due to *Salmonella* spp. with reduced fluoroquinolone susceptibility: a case series. *BMC Infectious Diseases.* 4:36.
49. **Zhao, S., Fedorka-Cray, P. J., Friedman, S., McDermott, P. F., Walker, R. D., Qaiyumi, S., Foley, S. L., Hubert, S. K., Ayers, S., English, L., Dargatz, D. A., Salamone, B., White, D. G.** 2005. Characterization of *Salmonella* Typhimurium of animal origin obtained from the National Antimicrobial Resistance Monitoring System. *Foodborne Pathog. Dis.* 2:169–81.
50. **Threlfall, E. J., Angulo, F. J., Wall, P. G.** 1998. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104. *Vet Rec.* 142:225.

51. **Valdezate, S., Vidal, A., Herrera-Leon, S., Pozo, J., Rubio, P., Usera, M. A., Carvajal, A., Echeita, M. A.** 2005. *Salmonella* Derby clonal spread from pork. *Emerg. Infect. Dis.* 11(5):694–8.
52. **Nógrády, N., Tóth, A., Kostyák, A., Pászti, J., Nagy, B.** 2007. Emergence of multidrug-resistant clones of *Salmonella* *Infantis* in broiler chickens and humans in Hungary. *J. Antimicrob. Chemother.* Sep; 60(3): 645–8. Epub 2007 Jul 6.
53. **Gorman, R., Adley, C. C.** 2004. Characterization of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from human, food, and animal sources in the Republic of Ireland. *J. Clin. Microbiol.* May; 42(5):2314–6.

Table I. *Salmonella* serovars from human, swine and broiler chicken isolates

Serovars	Human (<i>n</i> = 1754) (%)	Swine		Broiler chickens (<i>n</i> = 2175) (%)
		Feces (<i>n</i> = 1505) (%)	Carcasses (<i>n</i> = 793) (%)	
<i>S. Agona</i>	1 (2.0)	14 (4.4)	1 (1.9)	11 (3.8)
<i>S. Albany</i>	—	—	—	13 (4.5)
<i>S. Anatum</i>	—	1 (0.3)	4 (7.7)	1 (0.3)
<i>S. Bovismorbificans</i>	—	1 (0.3)	—	—
<i>S. Brandenburg</i>	—	42 (13.4)	1 (1.9)	—
<i>S. Derby</i>	3 (6.1)	82 (26.1)	9 (17.3)	—
<i>S. Eko</i>	—	—	1 (1.9)	—
<i>S. Enteritidis</i>	4 (8.2)	—	—	10 (3.4)
<i>S. Give</i>	—	3 (1.0)	1 (1.9)	—
<i>S. Hadar</i>	—	1 (0.3)	—	33 (11.3)
<i>S. Havana</i>	—	—	1 (1.9)	—
<i>S. Heidelberg</i>	9 (18.4)	28 (8.9)	1 (1.9)	99 (34.0)
<i>S. Infantis</i>	—	6 (1.9)	—	15 (5.2)
<i>S. Kentucky</i>	—	—	—	4 (1.4)
<i>S. London</i>	—	—	3 (5.8)	—
<i>S. Mbadaka</i>	—	—	—	8 (2.7)
<i>S. Muenster</i>	—	2 (0.6)	—	—
<i>S. Newport</i>	1 (2.0)	—	—	—
<i>S. Ohio</i>	—	40 (12.7)	1 (1.9)	2 (0.7)
<i>S. Senftenberg</i>	—	6 (1.9)	—	—
<i>S. Tennessee</i>	—	1 (0.3)	—	2 (0.7)
<i>S. Thompson</i>	12 (24.5)	—	—	73 (25.1)
<i>S. Typhimurium</i>	15 (30.6)	76 (24.2)	15 (28.8)	14 (4.8)
<i>S. I:10,15:1,v:-</i>	—	4 (1.3)	—	—
<i>S. I:4,5,12:i:(-)</i>	3 (6.1)	—	—	—
<i>S. I:Rough-O:i:1,2</i>	1 (2.0)	7 (2.2)	14 (26.9)	6 (2.1)
Number of isolates	49 (2.8)	314 (20.9)	52 (6.6)	291 (13.4)
95 % confidence interval (%)	(2.1–3.8)	(18.9–23.0)	(5.0–8.6)	(12.0–14.9)

Note:

Typhimurium includes var. 5- (Formerly var. Copenhagen)

Table II. *Salmonella* phagetypes from human, porcine and broiler chicken isolates

Phage types (# of isolates)	Human (<i>n</i>)	Porcine (<i>n</i>)		Broiler chickens (<i>n</i>)
		Feces	Carcasses	
<i>S. Enteritidis</i>	4	0	0	10
PT 4 (2)	2	—	—	—
PT 8 (1)	1	—	—	—
PT 13a (1)	1	—	—	—
PT 28 (10)	0	—	—	10
<i>S. Hadar</i>	0	1	0	33
PT 2 (5)	—	—	—	5
PT 5 (3)	—	—	—	3
PT 17 (1)	—	1	—	—
No phage type identified (25)	—	—	—	25
<i>S. Heidelberg</i>	9	28	1	99
PT 4 (27)	—	17	—	10
PT 6 (74)	6	8	1	59
PT 7 (3)	3	—	—	—
PT 8 (3)	—	1	—	2
PT 17 (15)	—	—	—	15
PT 19 (2)	—	—	—	2
PT 26 (1)	—	—	—	1
PT 36 (1)	—	—	—	1
PT 47 (3)	—	—	—	3
PT untypeable (8)	—	2	—	6
<i>S. Typhimurium</i>	15	76	15	14
PT 29 (1)	—	1	—	—
PT 45 (2)	—	2	—	—
PT 66 (6)	—	6	—	—
PT 104 (38)	3	29	5	1
PT 108 (7)	1	5	1	—
PT 109 (1)	—	1	—	—
PT 122 (1)	1	—	—	—
PT 193 (22)	—	17	5	—
PT 208 (1)	1	—	—	—
PT untypeable (20)	9	7	4	—
var. Copenhagen PT 104 (10)	—	3	—	7
var. Copenhagen PT 108 (2)	—	2	—	—
var. Copenhagen PT 193 (3)	—	2	—	1
var. Copenhagen PT 208 (1)	—	—	—	1
var. Copenhagen PT untypeable (5)	—	1	—	4

Table III. Number of resistant, fully susceptible and multidrug-resistant *Salmonella* ssp. isolates from humans, swine and broiler chickens, distributed by serovars

Resistance phenotype	No. of resistant isolates by serovar (%)														
	Agona			Derby		Enteritidis		Heidelberg			Thompson		Typhimurium		
	n = 11			n = 34		n = 9		n = 52			n = 35		n = 101		
	Humans	Pigs	Poultry	Humans	Pigs	Humans	Poultry	Humans	Pigs	Poultry	Humans	Poultry	Humans	Pigs	Poultry
(1) ^a	(5)	(5)	(3)	(31)	(4)	(5)	(9)	(10)	(33)	(12)	(23)	(15)	(72)	(14)	
Ampicillin	0	0	1 (20.0) ^b	0	0	0	0	0	10 (100)	5 (15.1)	0	0	4 (26.7)	45 (62.3)	8 (57.1)
Amoxicillin- Clavulanic acid	0	0	1 (20.0)	0	0	1 (25.0)	0	0	6 (60.0)	3 (9.1)	1 (8.3)	0	0	7 (9.7)	1 (7.1)
Chloramphenicol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (0.1)	1 (8.3)	0	2	35 (48.6)	10 (71.4)
Ceftiofur	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (0.1)	0	0	0	0	0
Enrofloxacin	0	0	0	0	1 (3.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gentamicin	0	0	2 (40.0)	0	0	0	0	1 (11.1)	4 (40.0)	3 (9.1)	0	0	1 (6.7)	14 (19.4)	2 (14.3)
Neomycin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 (20.0)	40 (55.6)	8 (57.1)
Spectinomycin	1 (100)	4 (80.0)	5 (100)	2 (66.7)	28 (90.3)	0	0	1 (11.1)	7 (70.0)	5 (15.1)	0	0	4 (26.7)	56 (77.8)	14 (100)
Streptomycin	1 (100)	4 (80.0)	5 (100)	2 (66.7)	29 (93.5)	0	0	1 (11.1)	10 (100)	13 (39.4)	0	0	4 (26.7)	47 (65.3)	14 (100)
Sulfa-trimethoprim	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 (4.2)	0
Sulfisoxazol	1 (100)	4 (80.0)	5 (100)	2 (66.7)	28 (90.3)	0	0	1 (11.1)	7 (70.0)	6 (18.2)	0	0	4 (26.7)	52 (72.2)	14 (100)
Tetracycline	1 (100)	4 (80.0)	5 (100)	2 (66.7)	28 (90.3)	0	0	1 (11.1)	7 (70.0)	3 (9.1)	0	0	4 (26.7)	57 (79.2)	9 (64.3)
Susceptible	0	1 (20.0)	0	1 (33.3)	1 (3.2)	3 (75.0)	5 (100)	7 (77.8)	0	20 (60.1)	10 (83.3)	23 (100)	11 (73.3)	7 (9.7)	0
Multiresistant ^c	1 (100)	4 (80.0)	5 (100)	2 (66.7)	28 (90.3)	0	0	1 (11.1)	10 (100)	8 (24.2)	0	0	4 (28.6)	53 (73.6)	14 (100)

^a The values in parentheses are the total number of isolates tested

^b n (% n)

^c Resistant to more than one antibiotic

Table IV. Antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* spp. isolated from swine, poultry and human sources

Scrovars	Sources	Antimicrobial resistance profiles (no. of isolates)	
Agona	Human, pig (carcasses, feces), poultry	ShSSu-T (8)	
	Pig (feces)	Sensitive (1)	
	Poultry	AShSSuT-AMC-G (1), ShSSuT-G (1)	
Derby	Human, pig (carcasses, feces)	ShSSu-T (30)	
	Human, pig (feces)	Sensitive (2)	
	Pig (feces)	ShSSuT-ENR (1), S (1)	
Enteritidis	Human	AMC (1)	
	Poultry	T (1)	
	Human, poultry	Sensitive (7)	
Heidelberg	Human, poultry	ShSSu-G (2), Sensitive (27)	
	Pig (feces), poultry	A-ShSSu-G (2)	
	Human	T (1)	
	Pig (carcass)	A-ShSSu-G (1)	
	Pig (feces)	A-ShSSu-G-AMC (1), AShSSuT-G (1), AShSSuT-AMC (2), AShSSuT (1), A-S-T-AMC (3)	
	Poultry	ShSSu-T-G (1), ACSSuT-AMC-XNL (2), ShSSu (1), A-Sh-S (1), A-S-AMC (1), S (5)	
Thompson	Human	AMC (1), C (1)	
	Human, Poultry	Sensitive (33)	
Typhimurium	PT 29	Pig (feces)	Sh-T (1)
		Pig (feces)	ACSSuT-Sh-AMC-G-N-SXT (1)
	PT 45	Human, pig (carcasses, feces), poultry	ACSSuT-Sh-N (30)
		Human, pig (feces)	ASSuT-Sh-N (2)
	PT 104	Pig (feces), poultry	ACSSuT-Sh-AMC-N (6)
		Human	ACSSuT-Sh-G (1),
		Pig (feces)	ACSSuT-Sh (3)
	PT 108	Poultry	ACSSuT-Sh-G-N (1)
		Human	Sensitive (1)
		Pig (carcass)	S (1)
	PT 109	Pig (feces)	A-S-Su-T-Sh-N (2), ACSSuT-Sb-AMC (1), ACSSuT-Sh-N (1), Sh-Su-T-N (2)
		Poultry	ShSSu-G (1)
	PT 122	Pig (feces)	ACSSuT-Sh-G-N (1)
	PT 193	Human	Sensitive (1)
		Pig (carcass)	A-T-N (1), T-N (1), S-Su-T (1), Sensitive (2)
	PT untypeable	Pig (feces)	A-T-Sh (1), A-T-Sh-N (1), ShSSu-G (1), ShSSuT-G (7), Sh-S-T-G (1), S (1), A-T (1), A-S-Su-T-Sh-G-SXT (2)
		Poultry	ShSSu (1)
		Human	Sensitive (1)
		Human, pigs (carcasses, feces)	Sensitive (13)
		Human	A-S-Su-T-Sh-N (1)
PT untypeable	Pig (carcass)	Su-T-N (1), S (1)	
	Pig (feces)	Sh (2), ACSSuT-Sh-N (1)	
	Poultry	ShSSu (3), ShSSu-T (1)	

Note: AMC=Resistant to Amoxicillin-clavulanic acid; XNL=Resistant to Ceftriaxone; ENR=Resistant to Enrofloxacin; G=Resistant to Gentamicin; N=Resistant to Neomycin; S=Resistant to Streptomycin; Sh=Resistant to Spectinomycin; SXT=Resistant to Sulfa-trimethoprim; T=Resistant to Tetracycline; ShSSu=Resistant to Spectinomycin, Streptomycin and Sulfisoxazol; AShSSuT=Resistant to Ampicillin, Spectinomycin, Streptomycin, Sulfisoxazol and Tetracycline; ACSSuT=Resistant to Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfisoxazol and Tetracycline

Figures 4a and 4b. Pulse-field gel electrophoresis of multi-drug resistant *S. Typhimurium* PT104 with restriction enzymes *Xba*I and *Spe*I strains isolated from swine, poultry and human sources.

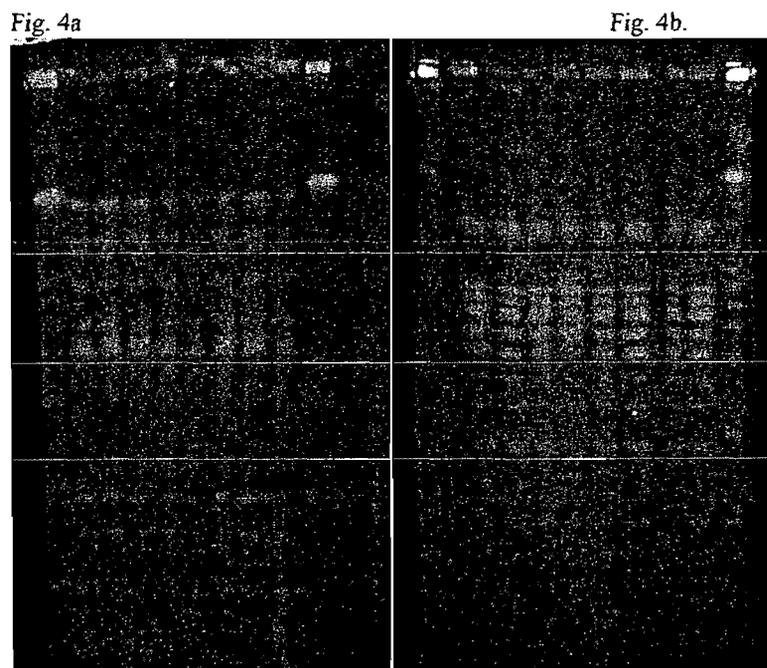


Fig. 4a. X1a PFGE profiles of multidrug-resistant *S. Typhimurium* PT104 with restriction enzyme *Xba*I. Fig. 4b. S1a PFGE profiles of multi-drug resistant *S. Typhimurium* PT104 with restriction enzyme *Spe*I. Lanes 1 and 10: λ markers; lane 2: human isolate; lane 3: broiler chicken isolate; lanes 4, 5, 6: swine isolates (carcass); lanes 7, 8, 9: swine isolates (feces)

CHAPITRE 4.

Distribution and prevalence of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and coliform bacteria on pork carcasses in Québec slaughterhouse environment

Manuscrit en préparation, 2005

Distribution and prevalence of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and coliform bacteria on pork carcasses in Québec slaughterhouse environment

Nancy Rheault⁽¹⁾, Julie Paré⁽²⁾ and Sylvain Quessy^{(2)*}

¹Faculty of Veterinary Medicine, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, C. P. 5000, St.Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7C6

²Canadian Food Inspection Agency, 3200 Sicotte St., Room 1102-2, C. P. 5000, St. Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7C6

* Author for correspondence. Tel: (514) 343-6111 #8398; Fax: (450) 778-8113;
E-mail [REDACTED]

RÉSUMÉ

L'objectif global de cette étude était de recueillir des données microbiologiques chez le porc à l'abattoir, afin d'évaluer la contamination microbienne des carcasses de porc par *Salmonella* spp., *Escherichia coli* et les coliformes totaux. La prévalence d'animaux porteurs sains de *Salmonella* spp. dans les abattoirs étudiés a été estimée à 20.9%; dans l'environnement, 4.0% des sites analysés étaient positifs à *Salmonella* spp. *Salmonella* spp. a été isolée dans des proportions variant de 1.5%–12.9% sur les surfaces des carcasses de porc réfrigérées, avec une moyenne de 6.6% (5.0–8.6%). Les sérovars Derby et Typhimurium ont été les plus fréquemment retrouvés tant au niveau des fèces que dans l'environnement et sur les carcasses réfrigérées. Des contaminations par *Salmonella* spp. et *E. coli* ont été trouvées le plus fréquemment sur les pelles et les planchers ainsi que sur les sites ayant un contact direct avec les viscères et/ou les matières fécales, comme les tabliers et les gants. D'autre part, l'équipement régulièrement stérilisé, comme les scies ou les couteaux, présentait de faibles niveaux de contamination microbienne. Cette étude a permis de mettre en évidence l'importance de l'étape de l'enlèvement des intestins et de souligner l'impact des animaux porteurs sains sur la contamination bactérienne des carcasses de porc pendant le processus d'abattage.

ABSTRACT

The overall objective of this study was to gather microbiological data during swine processing in order to assess sources of microbial contamination of pork carcasses with *Salmonella* spp., *Escherichia coli* and total coliforms. *Salmonella* spp. prevalence of slaughtered pigs was estimated at 20.9% of caecal samples, and; 4.0% of slaughterhouse environment sites analyzed were *Salmonella*-positive. *Salmonella* spp. was isolated from 1.5%–12.9% on chilled pork carcasses, with a mean of 6.6% (5.0–8.6%). Serovars Derby and Typhimurium were the most frequent serovars isolated either in feces, the environment or on pork carcasses. *Salmonella* spp. and *E. coli* were isolated mostly from shovels and floors, and on sites with direct contact with viscera and/or feces such as aprons and gloves. On the other hand, very low levels of microbial contamination were observed on equipment regularly sterilized such as saws or knives. This study emphasized the importance of closely monitoring a particular operation of the evisceration step (consisting of the removal of intestinal tracts) and the status of incoming animals in order to achieve a better control of bacterial contamination during the slaughter process of pork carcasses.

INTRODUCTION

Pork meat and pork meat-based products have been associated with the transmission to human of several pathogenic microorganisms (1). It is estimated that between 5-30% of human salmonellosis will have pork as the actual source of contamination (2, 3). Healthy pigs are often infected with *Salmonella* spp. without showing any symptom of disease. *Salmonella* spp. prevalence in slaughter pigs in Canada has been investigated earlier. Finlay *et al.* (4) isolated *Salmonella* spp. from 2% of muscle samples and 3.7% of faecal samples of pigs; Letellier *et al.* (5) isolated *Salmonella* spp. from 5.2% of caecal samples; and Lammerding *et al.* (6) found *Salmonella* spp. in the mesenterial lymphnodes of 14.2% of slaughtered pigs in Canada.

Salmonella-positive animals represent a concern regarding the possible direct or indirect contamination of carcasses (7, 8). It has been reported that major sources of pork meat contamination are animals (feces, pharynx and stomach) and environment (contact surfaces and handling by workers) (9). Thus, many biological food safety hazards originate from the evisceration process at slaughterhouse. It is reported that 55–90% of the fecal contamination of carcasses occurred during inadequate procedures at the evisceration operations (10).

During the past decade, the safety of meat products has emerged as a major public health issue. As a result, many governments have taken a new approach to ensuring the safety of the food supply by making mandatory the use of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) system in food industries. HACCP is widely recognized in the food industry as an effective prevention-oriented approach based on risk assessment (11, 12). HACCP systems establish process control through identifying points in the production process that are most critical to monitor and control, as referred to critical control points (CCPs). In 1996, the United States Department of Agriculture (USDA) published its final rule on Pathogen Reduction (PR)/HACCP, which established new requirements for all meat and poultry products to improve food safety (12). To monitor the effectiveness of HACCP systems in controlling contamination of raw

product with harmful bacteria, the rule sets pathogen reduction performance standards for *Salmonella* spp. For market hogs, that performance standard for slaughter plants and plants that produce raw ground products is 8.7%. In addition, generic *Escherichia coli* has been selected as an indicator organism for measuring processing sanitation against a national baseline level (12, 13).

However, effective HACCP systems must be based on accurate baseline data on the types and levels of contamination at each stage of production, and on adequate evaluation of the risks to food safety posed by each element of the production process (14, 15). There are very few data gathered from Canadian slaughterhouses, particularly from the province of Québec. Most of HACCP models and identification of CCPs were based on expert advices or on studies done in Europe, where slaughter practices and technologies may differ significantly. In addition, there is little knowledge of the particular steps during the evisceration process that may significantly affect the microbiological status of swine carcasses; as a result, currently available HACCP models grouped these steps into one operation, such as evisceration. In order to further refine HACCP concepts and their application in the context of Québec, it was found necessary to characterize microbial hazard during swine processing.

The overall objective of this study was to gather microbiological data during swine processing in order to identify sources of microbial contamination of pork carcasses with *Salmonella* spp. and indicator microorganisms, such as *E. coli* and total coliforms. More specifically, we were interested (i) to evaluate *Salmonella* spp. prevalence in selected slaughterhouses pigs and assess genetic relatedness of *Salmonella* spp. from pigs and pork carcasses; (ii) to monitor the distribution of the contamination within the immediate carcass environment; (iii) to evaluate the impact of selected evisceration procedures on the microbial load on swine carcasses in the context of HACCP models, and; (iv) to estimated the prevalence of *Salmonella* spp. and *E. coli* on chilled pork carcasses in these slaughterhouses.

MATERIAL AND METHODS

The carcass dressing processes

The carcass dressing processes at four largest federally registered Québec slaughterhouses, denoted as A, B, C and D, were examined. Pork packing plant A had received official recognition of its HACCP plan by the Canadian Food Inspection Agency (CFIA). Each of the four participating slaughterhouses was visited between 6 and 36 times, during normal slaughter operations. Carcasses were processed at a speed of 460 to 480 carcasses per h depending on the slaughterhouse.

Briefly, carcasses were subjected to scalding, dehairing, singeing and polishing before being raised to the processing rail. At the first work stand, the carcass was shaved of the remaining hair. Then operations on the head and throat were performed. After the opening the sternum procedure, the carcass was then moved to a 2nd stand for evisceration operations, to a 3rd for splitting, and to a 4th stand for trimming. The sides were then graded, weighed and washed before transferred to a chiller. In plant A, carcasses were sprayed with water during the first few hours of the cooling process. The dressed carcasses were, in plants B, C and D, blasted with air of about -20°C, for about 1 h during passage through a tunnel before entering a chiller.

Sampling methods

In plants A and B, the slaughterhouse environment was sampled intensively, as well as chilled carcass swab samples and caecal content from slaughter pigs. For a logistical reason, in plant C, only samples from caecal material and pork carcasses were gathered, while in plant D, sampling was done on final product only.

Caecal samples. As described previously by Rheault *et al.* (16), a total of 1505 samples were randomly selected from finishing pigs originating from 203 producers in the Québec area for *Salmonella* spp. analyses. Approximately 25 fecal samples were collected per visit. Immediately after the 2nd stand for evisceration operations, a small incision was made in the mid-third of the caecum using a disinfected

scalpel, and approximately 1 g samples of caecal content were collected from each animal. Samples were immediately placed in nutrient broth (Difco Laboratories, Detroit, Michigan). All samples were placed in an icebox packed with ice packs and examined within 6 h.

Environmental samples. Environmental samples were taken at different places in slaughterhouses A and B. Samples were collected for *Salmonella* spp. ($n = 550$), and for *E. coli* and total coliforms ($n = 500$) analyses. Approximately 25 samples were collected per visit, during the normal slaughter process, by swabbing the immediate carcass environment (e.g., samples of equipment, instruments and tracksuits of work, surfaces of work, evisceration floor, shovels, containers, wall and others such as condensation and water). A 100 cm² surface was analyzed (except for knives, where composite samples were collected from the blade and handle of 3 knives) by using a moistened sterile cotton swab (Difco) and placed in a sterile tube containing a transportation medium, for further analyses. All samples were placed in an icebox packed with ice packs and further processed within 6 h.

Evaluation of selected evisceration procedures on the microbial load of pork carcasses. This evaluation was based on visual examinations, by observing carcasses for fecal contamination, and on sequential sampling of pig carcasses at selected evisceration procedures. (i) *Visual examinations.* During normal slaughter operations, in plants A and B, two trained evaluators performed visual examinations of the thoracic and abdominal cavities and of the external surfaces of 4213 randomly selected carcasses immediately following evisceration operations. The presence and the distribution of fecal contamination were noted on a schematic plan of swine carcasses. (ii) *Sequential sampling of pig carcasses at selected evisceration procedures in the slaughter line.* Total aerobic bacterial counts, *E. coli* and total coliform counts were evaluated by sequential sampling of 32 pig carcasses (5 visits) in plant B, as an indicator of hygienic performance. The sample size was based on Gill CO *et al.* (17). Carcasses were followed during the normal slaughter process after three selected operations: opening the sternum, opening the abdomen and removal of the intestinal tract, and after

the final wash with high-pressure water (13–15°C). A simple random sample was conducted and each swine carcass followed was marked after the step of ‘opening the sternum’. Carcass sampling was done by using moistened sterile sponge (Nasco) on randomly selected sites, located on the three external areas (belly, ham and jowl) for a total sampling surface of 300 cm².

Chill pork carcass samples. Randomly selected carcasses were sampled after chilling, which is the end point for the slaughter and dressing procedures. Approximately 10 chilled carcasses were collected per visit. Methodology used for sampling of carcasses was in accordance with the United States Department of Agriculture (USDA) manual on HACCP procedures for *Salmonella* spp. ($n = 793$ samples) and *E. coli* analyses ($n = 660$ samples of chilled carcasses) (12). Swine carcass samples were collected with a moistened sterile sponge (Nasco, Whirl-Pak, Fisher, Ottawa, Ontario), which was used to swab three areas (10 × 10 cm, as defined by a sterile plastic template): the belly, ham and jowl, resulting in a composite sample of 300 cm² (16).

***Salmonella* isolation method**

Caecal and Environmental samples. As previously described by Rheault *et al.* (16), swabs were incubated for 18–24 h at 37°C. Following this pre-enrichment step, a 1 mL aliquot of nutrient broth (Difco) was inoculated into 9 mL of Tetrathionate Brilliant Green broth (TBG) (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, Maryland) and incubated at 42°C for 18–24 h. All *Salmonella* spp. isolates (total of 388 isolates from chilled swine carcasses, feces and from slaughterhouse environment) were serotyped and phagetyped at the Health Canada Laboratory in Guelph (Ontario). Based on the methodology used formerly by Rheault *et al.* (16), more than 45% of randomly selected *Salmonella* spp. strains from serovars: Typhimurium, Heidelberg, Derby and Agona isolated from pig caecal material ($n = 96$) and chilled pork carcasses ($n = 22$) were analyzed for antimicrobial susceptibility profiles and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to assess genetic relatedness of *Salmonella* spp. strains.

***E. coli*, total coliforms and total aerobic bacterial enumeration**

In accordance with the PR/HACCP regulation (12), generic *E. coli* and total coliform bacteria were selected as indicators of fecal contamination for the hygienic performance. Samples were processed using the Petrifilm™ count plate method (3M Canada, London, Ontario) (Association of Official Analytical Chemists accredited). Petrifilm™ *E. coli* and Coliform, and Aerobic count plates were used. After homogenization, 1 mL of each sample was inoculated onto three Petrifilm™ plates: one undiluted, 1:10 and 1:100 dilution. The microbial count was done after 48 h ± 3 h of incubation at 35°C ± 1°C.

Statistical analysis

Microbial counts were reported on colony-forming units as log CFU/cm² for all of the experiments. Based on Gill *et al.* study (17), when bacteria of one type were recovered from 20 or more of the 32 sequential samples, the geometric mean of those bacteria on the population of carcasses undergoing processing was computed, assuming that the set of counts was normally distributed. Values that differ by no more than 0.5 log units were considered similar (18). Also, a reduction or increase of 10% of bacterial counts was considered as significant, based on the reported coefficient of variability of the Petrifilm™ method (19, 20). McNemar's Chi-square was used to compare proportion of the fecal contamination distribution on carcasses visually assessed either internally or externally, and to compare *Salmonella* spp. and *E. coli* prevalence in plants A and B.

RESULTS

Prevalence, serotype, phagetype distributions and characterization of Salmonella spp. in Québec slaughterhouses. *Salmonella* spp. prevalence of slaughtered pigs, in slaughterhouse environment and on chilled swine carcasses is presented in Table I. In entering finishing pigs, a prevalence of 20.9% (95% [CI], 18.9–23.0) was estimated while 4.0% (95% [CI], 2.6–6.1) samples were found positive in slaughterhouse environments. High variations of *Salmonella* spp. prevalence on surfaces of chilled pork carcasses were observed between the different abattoirs (ranging from 1.5% at A to 12.9% at C), with a mean of 6.6% (95% confidence interval [CI], 5.0–8.6). As showed in Table I, *Salmonella* spp. samples from plant A, with a recognized HACCP system, presented a significantly lower isolation rate on chilled carcasses ($p = 0.0004$) and in the environment ($p = 0.0003$), in comparison with plant B.

These isolates belonged to 20 different *Salmonella* spp. serovars and untypable isolates (Table II). *Salmonella* Typhimurium and *S. Derby* were ranked among the most frequent serovars either in feces, environment or chilled carcasses. Among *S. Typhimurium* (including *S. Typhimurium* var. Copenhagen) identified, *S. Typhimurium* phagetype (PT) 104 was the predominant type recovered from feces and on pork carcasses. In the current study, *Salmonella* spp. isolates from feces and pork carcasses had previously been analyzed for antimicrobial susceptibility profiles and characterized by PFGE (16). As presented in previous study, characterization of *Salmonella* spp. strains by PFGE and antimicrobial resistance indicated undistinguishable profiles among strains of serovar Typhimurium PT104, and also among strains of serovar Derby found in feces and on pork carcasses.

The distributions of microbial contamination of environmental sites in two slaughterhouses (A, B) during operations are presented in Table III. *Salmonella* spp. was mostly recovered from shovels (23.5%) and floors (12.1%), and from instruments and tracksuits of work, such aprons (10.2%) and gloves (5.1%).

Bacterial counts of environmental and chilled pork carcass samples. During the slaughter process, 20.6% (95% confidence interval [CI], 19.2–26.8) and 43.4% (95% [CI], 44.1–53.1) of environmental sites were contaminated by *E. coli* and total coliforms, as distribution shown in Table III. In plant A, 56 sites out of 300 (18.7%; 95% [CI], 14.5–23.6) environmental samples were *E. coli* positive in comparison to 57 out of 200 (28.5%; 95% [CI], 22.5–35.4) in plant B.

Sponge swab samples yielded mean total coliform counts and *E. coli* counts on chilled pork carcasses of 2.43 log cfu/2500 cm² and 1.85 log cfu/2500 cm², respectively. The *E. coli* counts on cooled carcasses were substantially higher at two of the plants; in plant B, 4 out of 396 (1.0%) of the samples, and in plant C, 22 out of 52 (42.3%) chilled carcasses presented *E. coli* counts higher than 10 CFU/cm², established as acceptable results (marginal limit "m") in swine slaughter under the HACCP standard.

Evaluation of selected evisceration procedures on the microbial load of pork carcasses. Based on visual examinations, the estimated prevalence of fecal contamination on random pork carcasses after the evisceration operations was 6.1% (95% [IC], 5.5–6.7; $n = 257$). In addition, it was evaluated that fecal contamination occurred significantly ($p = 0.0002$) more often on internal sites (161 out of 257; 62.6%) than on external surfaces of carcasses (100 out of 257 contaminated carcasses; 38.9%). Four carcasses were contaminated on both internally and externally. The external fecal contamination was mainly located on the lowest parts, the forelegs, while the internal contamination was located mostly on the brisket of pork carcasses.

The total aerobic bacterial counts, *E. coli* and total coliform counts on pork carcasses at various evisceration procedures are presented in Table IV. In this study, no significant difference was observed on the total aerobic counts between opening the sternum and opening the abdomen steps. Total coliform bacteria and *E. coli* were recovered from too few samples on fresh carcasses for estimation of their log mean numbers after the abdomen step. However, after removal of the intestinal tract, a significant increase (> 0.5 log units) in the total aerobic bacterial counts, as well as for

total coliforms and *E. coli* counts was observed. Interestingly, total coliform bacteria counts were only detected in 7 carcasses sampled after opening of the abdomen, while they were recovered from all 32 carcasses following removal of the intestinal tract. Furthermore, *E. coli* was only identified in 7 carcasses sampled after opening of the abdomen, while it was recovered from 29 out of 32 carcasses following removal of the intestinal tract. After the final wash at the end of the slaughter process, significant reductions (> 0.5 log units) in the *E. coli* and total coliform counts were observed; 26 (81.2%) and 29 (90.6%) out of the 32 pork carcasses sequentially sampled presented a decrease in *E. coli* and total coliform bacterial counts.

DISCUSSION

This observational study was undertaken to provide microbiological data to refine actual HACCP models and their application in microbial hazards management at slaughter level, with respect to pork carcass contamination. Our results presented a high overall prevalence of *Salmonella* spp. in caecal material from healthy finishing swine when compared to results of similar studies in pork packing plants in Québec (5, 21). Variations in *Salmonella* spp. prevalence of slaughtered pigs may be caused by several factors including, but not limited to, the origin of animals and stress during transport (7). However, despite this significant proportion of swine carrying *Salmonella* spp. at the beginning of the slaughter process, the total prevalence on carcasses was comparable or less to the results obtained in other studies (5, 6), and was under the limit of 8.7% expected in the pathogen reduction rule of the USDA (12).

This study clearly showed that the prevalence of *Salmonella* spp. pork carcasses varied considerably between slaughterhouses. Interestingly, at slaughter plants B and C, the higher isolation rate of *Salmonella* spp. observed on chilled carcasses was associated with a higher isolation rate of *E. coli*, as indicator microorganism. It was reported that variations in *Salmonella* spp. prevalence on chilled carcasses might be attributed to several factors including: initial numbers of live animal *Salmonella* spp. carriers, slaughterhouse sanitation, speed chain and inappropriate manipulations (2, 22). In addition, according to the HACCP models, chilling process is considered as a CCP. This critical step has to be controlled in order to prevent the proliferation of bacteria on warm carcass surfaces. As reported by Bolton *et al.* (23), differences in chilling parameters, such as: air speed, air flow, relative humidity, temperature profiles for individual carcasses, carcass spacing, etc., may significantly modulate the impact of chilling on the numbers and metabolic status of bacteria on chilled carcasses.

Good control of prerequisite programs may be of importance in the control of microbial contamination in the slaughterhouse environment. In this study, we observed a statistical significant lower prevalence of *Salmonella* spp. in the environment

($p = 0.0003$) and on carcasses ($p = 0.0004$); as well as a lower level of positive *E. coli* contaminated sites in the slaughterhouse environment that had already received the HACCP recognition at the time of sampling in comparison with the plan B. Although further studies in many establishments would be necessary to definitively assess the efficiency of HACCP systems, these observations were in accordance with recent results published from the USDA indicating that the implementation of HACCP with hygienic standards in processing facilities has reduced the incidence of *Salmonella* spp. on hog carcasses (24, 25).

In slaughterhouse environment, the sites most often contaminated by *Salmonella* spp. were shovels and floors, followed by those with direct contact with viscera and/or feces such as aprons and gloves, suggesting that hygienic measures concerning these pieces of garment are of importance in reducing possible cross contamination with *Salmonella* spp. It was also observed that environmental samples identified as *Salmonella* spp. positive were also the most *E. coli* positive sites, such as shovels, aprons and gloves, underlining the usefulness of this indicator microorganism to assess possible *Salmonella* contamination sources. On the other hand, the prevalence of *Salmonella* spp. on equipment that is regularly disinfected, such as saws or knives, was very low.

In this study, removal of the intestinal tract was the step, among the ones evaluated, having the greatest impact on the microbial load on swine carcasses. Our findings are in accordance with those of Rivas *et al.* (24). From the beginning (after opening the sternum) to the end of the slaughter process (after the final wash), the microbial load of the total aerobic bacterial on pork carcasses was significantly increased (> 0.5 log units). The significant increase (> 0.5 log units) in the total coliform and *E. coli* counts observed immediately after removal of the intestinal tract suggested direct contamination by fecal material. According to Childers *et al.* (26), faulty evisceration and hygiene practices were identified as the most important risk factors for bacterial contamination of carcasses. This may result in cross contamination of knives, cutters and other tools/equipment and may lead to propagation of pathogenic

microorganisms to other carcasses (27, 28). Some authors recommend knife decontamination between each carcass to reduce cross contamination (26, 27). These findings emphasize the importance of closely monitoring the removal of intestinal tracts in achieving a better control of bacterial contamination during the evisceration process of swine carcasses. It is proposed that the common CCP identified in the HACCP models, as evisceration step, should be redefined as removal of intestine step in order to better reflect the important risk of microbial contamination at this point in the process.

When the intestines are removed, there is a risk of intestinal perforation that can lead to the spread of fecal content on the carcass (9). According to the estimated prevalence of fecal contamination of 6.1% (95% [IC], 5.5–6.7) on pork carcasses, as visually observed in this study, the brisket was considered as the most suitable site to visually detect internal contamination on pork carcasses after the evisceration process, compared to the forelegs for external surfaces on pork carcasses, as also reported by others (27, 29, 30). By genetically characterizing *Salmonella* spp. strains, it was possible to match genetic profiles and antimicrobial resistance among strains of *S. Typhimurium* PT104 and among strains of *S. Derby* isolated from feces and carcasses in one pork packing plant. These results suggest that particular attention should be paid to the status of incoming animals in order to better control *Salmonella* spp. on pork carcasses at the slaughter level. In addition, *S. Typhimurium* PT104, identified as the most common phagetype isolated, has intensified the need to control *Salmonella* spp. contamination of the food supply (31, 32).

In this study, the final wash procedure did not provide any significant reduction in total aerobic bacterial numbers on postevisceration-washed pig carcasses. Studies of the effects of washing beef carcasses in both experimental and commercial circumstances have shown that, generally, few bacteria are removed by washing, although they may be redistributed from specific, heavily contaminated sites to other parts of the carcass (33, 34). According to Gill and Landers (34), washing reduced numbers of bacteria on beef carcasses when numbers were relatively high but not when they were low.

Recognizing the limited contribution of cold water washing, a number of experimental studies have been undertaken in order to investigate alternative or adjunct treatments for reducing the numbers of bacteria on dressed carcasses (35, 36, 37). However, further examination in commercial processes would be necessary to determine if those treatments could enhance food safety control and contribute to a more effective HACCP system in pork slaughter operations.

ACNOWLEDGMENTS

The authors thank Kathie Roseberry for her technical assistance and collaboration to this project. We especially thank Health Canada authorities at the Food and Veterinary Hygiene Laboratory of St.Hyacinthe for their collaboration and for access to their facilities. We also acknowledge financial support from the FCAR (Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche).

REFERENCES

1. **Bryan, F. L.** 1980. Foodborne disease in the United States associated with meat and poultry. *J. Food Prot.* 43:140–150.
2. **Berends, B. R., Van Knapen, F., Mossel, D. A., Burt, S. A., Snijders, J. M.** 1998. *Salmonella* spp. on pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. *Int. J. Food Microbiol.* 44(3):207–17.
3. **Bryan, F. L.** 1988. Risks associated with vehicles of foodborne pathogens and toxins. *J. Food Prot.* 51:498–508.
4. **Finlay, R. C., Mann, E., Horning, J.** 1986. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination in Manitoba swine carcasses. *Can. Vet. J.* 27: 185–187.
5. **Letellier, A., Quessy, S., Messier, S.** 1999. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. *J. Food Protect.* 62: 22–5.
6. **Lammerding, A. M., Garcia, M. M., Mann, E. D., Robinson, Y., Dorward, W. J., Truscott, R. B., Tittiger, F.** 1988. Prevalence of *Salmonella* and thermophilic *Campylobacter* in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. *J. Food Prot.* 51(1):47–52.
7. **Swanenburg, M., van der Wolf, P. J., Urlings, H. A., Snijders, J. M., van Knapen, F.** 2001. *Salmonella* in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of *Salmonella* in pork. *Int. J. Food Microbiol.* 70(3):231–42.

8. **Letellier, A., Guevremont, E., Beauchamp, G, D'Allaire, S., Fournaise, S., Poppe, C., Sanderson, T., Quessy, S.** 2005. Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada. 6th International Symposium on the epidemiology and control of foodborne pathogens in pork. Safepork. 31–34.
9. **Borch, E., Nesbkken, T., Christensen, H.** 1996. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 30:9–25.
10. **Gill, C. O., Bryant, J.** 1993. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. *Food Microbiol.* 10:337–344.
11. **Hogue, A. T., White, P. L., Heminover, J. A.** 1998. Pathogen Reduction and Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) systems for meat and poultry. *USDA. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 14(1):151–64.
12. **USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service.** 1996. Pathogen reduction; hazard analysis and critical control point (HACCP) system: final rule. *Fed. Regist.* 61:38805–989.
13. **USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service (FSIS).** 1999. Generic HACCP Model for Pork Slaughter. HACCP-14. Washington D.C. [On line], <http://www.fsis.usda.gov/index.htm> (accessed on December 15, 2005).
14. **Pearce, R. A., Bolton, D. J., Sheridan, J. J., McDowell, D. A., Blair, I. S., Harrington, D.** 2004. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. *Int. J. Food Microbiol.* Feb 1; 90(3):331–9.

15. **Gill, C. O., Jones, T.** 1997. Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food Microbiol.* 14: 81–91.
16. **Rheault, N., Paré, J., Quessy, Q.** Characterization of *Salmonella* isolates from swine and chicken broilers and from sporadic cases of human salmonellosis (Unpublished manuscript; Chapter 3).
17. **Gill, C. O., Delandes, B., Rahn, K., Houde, A., Bryant, J.** 1998. Evaluation of the hygienic performances of the processes for beef carcass dressing at 10 packing plants. *J. Appl. Bacteriol.* 84:1050–1058.
18. **Jarvis, B.** 1989. *Statistical aspects of the microbiological analysis of foods*, Amsterdam, Elsevier.
19. **Curiale, M. S., Sons, T., McAllister, J. S., Halsey, B., Fox, T. L.** 1990. Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:242–248.
20. **McGoldrick, K. F., Fox, L. T., McAllister, J. S.** 1986. Evaluation of a dry medium for detecting contamination on surfaces. *Food Tech.* 40:77–80.
21. **Mafu, A. A., Higgins, R., Nadeau, M., Cousineau, G.** 1989. The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment. *J. Food Prot.* 52:642–645.
22. **Swanenburg M., Berends B. R., Urlings H. A., Snijders J. M., van Knapen F.** 2001. Epidemiological investigations into the sources of *Salmonella* contamination of pork. *Berl. Munch Tierarztl. Wochenschr.* 114(9-10): 356–9.

23. **Bolton, D. J., Pearce, R. A., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A., Harrington, D.** 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *J. Appl. Microbiol.* 92(5):893-902.
24. **Rivas T., Vizcaino, J. A., Herrera, F. J.** 2000. Microbial contamination of carcasses and equipment from an Iberian pig slaughterhouse. *J Food Prot.* 63(12):1670-5.
25. **USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service.** 1999. HACCP Implementation: First Year *Salmonella* Test Results January 26, 1998 to January 25. [On line], <http://www.fsis.usda.gov/OPHS/salmdata.htm> (accessed on November 30, 2005).
26. **Childers, A. B., Keahey, E. E., Kotula, A. W.** 1977. Reduction of *Salmonella* and fecal contamination of pork during swine slaughter. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171(11):1161-1164.
27. **Desmarchelier P. M., Higgs, G. M., Mills, L., Sullivan, A. M., Vanderlinde, P. B.** 1999. Incidence of coagulase positive *Staphylococcus* on beef carcasses in three Australian abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* 47(3):221-229.
28. **Berends, B. R., Van Knapen, F., Snijders, J. M. A., Mossel, D. A. A.** 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 36:199-206.
29. **Untermann F., Stepahn, R., Dura, U., Hofer, M., Heimann, P.** 1997. Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control program of abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* 34(1):67-77.

30. **Gill, C. O.** 1998. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs, p. 118–157. *In* A.R. Davies and R.G. Board (ed.), *The Microbiology of Meat and Poultry*. Blackie Academic, London.
31. **PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2003. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS). 119 p. [On line], http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/pdf/cipars-picra-2003_e.pdf (accessed on December 20, 2005).
32. **Poppe, C., Smart, N., Khakhria, R., Johnson, W., Spika, J., Prescott, J.** 1998. *Salmonella* Typhimurium DT104: a virulent and drug-resistant pathogen. *Can. Vet. J.* 39(9):559–565.
33. **Bolton D. J., Doherty, A. M., Sheridan, J. J.** 2001. Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *Int. J. Food Microbiol.* May 21; 66(1-2):119–29.
34. **Gill, C. O., Landers, C.** 2003. Microbiological effects of carcass decontaminating treatments at four beef packing plants. *Meat Science.* 63:1005–1011.
35. **Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W., Acuff, G. R.** 1998. Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. *J. Food Prot.* 61:823–828.
36. **Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W., Acuff, G. R.** 1999. Decontamination of beef carcass surface tissue by steam vacuuming alone and combined with hot water and lactic acid sprays. *J. Food. Prot.* 62:146–151.

37. **Bacon, R. T., Belk, K. E., Sofos, J. N., Clayton, R. P., Reagan, J. O., Smith, G. C.** 2000. Microbial populations on animal hide and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *J. Food Prot.* 63:1080–1086.

TABLE I. *Salmonella* spp. recovered from chilled swine carcasses, fecal material and in slaughterhouse environment at four pork-packing plants.

Types of sampling	Abattoirs (%)				Total Prevalence (%)
	A	B	C	D	
Carcasses	1.5 (0.2–3.8)	8.0 (5.6–10.7)	12.9 (6.4–23.5)	4.8 (0.8–17.4)	6.6 (5.0–8.6)
Fecal material	10.0 (1.8–33.1)	21.7 (19.6–24.0)	15.2 (9.2–23.9)	N/a	20.9 (18.9–23.0)
Environment	1.1 (0.4–3.5)	7.1 (4.7–11.9)	N/a	N/a	4.0 (2.6–6.1)

N/a: Not available. For logistical reasons, no analysis was done.

(): 95% confidence interval

TABLE II. Distribution of *Salmonella* spp. serotypes and phage types recovered from chilled swine carcasses, feces and from slaughterhouse environment at four Québec pork-packing plants.

Serovars and phage types	Slaughterhouse environment (n = 550) (%)	Swine	
		Feces (n = 1505) (%)	Carcasses (n = 793) (%)
<i>S. Agona</i>	—	14 (4.4)	1 (1.9)
<i>S. Anatum</i>	—	1 (0.3)	4 (7.7)
<i>S. Bovismorbificans</i>	—	1 (0.3)	—
<i>S. Brandenburg</i>	—	42 (13.4)	1 (1.9)
<i>S. Derby</i>	5 (22.7)	82 (26.1)	9 (17.3)
<i>S. Eko</i>	—	—	1 (1.9)
<i>S. Give</i>	1 (4.5)	3 (1.0)	1 (1.9)
<i>S. Hadar</i> PT 17	—	1 (0.3)	—
<i>S. Havana</i>	1 (4.5)	—	1 (1.9)
<i>S. Heidelberg</i> PT 4	—	17 (5.4)	—
<i>S. Heidelberg</i> PT 6	—	8 (2.5)	1 (1.9)
<i>S. Heidelberg</i> PT 8	—	1 (0.3)	—
<i>S. Heidelberg</i> PT untypeable	—	2 (0.6)	—
<i>S. Infantis</i>	1 (4.5)	6 (1.9)	—
<i>S. London</i>	—	—	3 (5.8)
<i>S. Muenster</i>	—	2 (0.6)	—
<i>S. Ohio</i>	8 (36.4)	40 (12.7)	1 (1.9)
<i>S. Panama</i>	1 (4.5)	—	—
<i>S. Senftenberg</i>	—	6 (1.9)	—
<i>S. Tennessee</i>	—	1 (0.3)	—
<i>S. Typhimurium</i> PT 29	—	1 (0.3)	—
<i>S. Typhimurium</i> PT 45	—	2 (0.6)	—
<i>S. Typhimurium</i> PT 66	—	6 (1.9)	—
<i>S. Typhimurium</i> PT 104	—	32 (10.2)	5 (9.6)
<i>S. Typhimurium</i> PT 108	2 (9.1)	7 (2.2)	1 (1.9)
<i>S. Typhimurium</i> PT 109	—	1 (0.3)	—
<i>S. Typhimurium</i> PT 193	1 (4.5)	19 (6.1)	5 (9.6)
<i>S. Typhimurium</i> PT untypeable	1 (4.5)	8 (2.5)	4 (7.7)
<i>S. 1:10,15:1,v:-</i>	—	4 (1.3)	—
<i>S. I:Rough-O:i:1,2</i>	1 (4.5)	7 (2.2)	14 (26.9)
Number of isolates	22 (4.0)	314 (20.9)	52 (6.6)
95% confidence interval (%)	(2.6-6.1)	(18.9-23.0)	(5.0-8.6)

Note:

Typhimurium includes var. 5- (Formerly var. Copenhagen)

TABLE III. Distribution of microbial contamination of environmental sites in two slaughterhouses (A, B) during operations.

Sites	Indicator microorganisms				Salmonella spp.	
	n = 500	<i>E. coli</i>	Total coliforms		n = 550	n positive (%)
			(>10cfu/cm ²)			
		n positive site contaminated (%)				
Instruments and tracksuits of work						
Aprons	32	16 (50.0)	26 (81.2)	2 (6.2)	39	4 (10.2)
Gloves	57	28 (49.1)	48 (84.2)	1 (1.8)	79	4 (5.1)
Knives	35	7 (20.0)	11 (31.4)	2 (5.7)	63	0
Working surfaces	208	21 (10.1)	79 (38.0)	3 (1.4)	176	5 (2.8) ^a
Equipment ^b						
Floor	29	9 (31.0)	14 (48.3)	8 (27.6)	33	4 (12.1)
Shovels	14	8 (57.1)	11 (78.6)	2 (14.3)	17	4 (23.5)
Containers ^c	7	2 (28.6)	4 (57.1)	2 (28.6)	26	1 (3.8)
Wall	8	1 (12.5)	1 (12.5)	—	15	0
Others ^d	25	1 (4.0)	2 (8.0)	—	20	0

Note:

^a Positive sites: 4 trays and one conveyer

^b Equipment: depilators, jarvis, scalding, hooks and saws

^c Non comestible

^d Others: condensation, water, sprinklers

Table IV. Microbial counts recovered after sequential sampling of 32 swine carcasses at various evisceration steps in slaughterhouse during operations.

Stage of processing	Log total numbers		
	Total aerobic counts	<i>E. coli</i>	Coliforms
	(log cfu/cm ²)	(log cfu/2500 cm ²)	
Opening the sternum	1.64 ^a	2.36 ^a	2.47 ^a
Opening the abdomen	1.43 ^a	–	–
Removal of intestinal tracts	2.76	3.27	4.04
Final shower	2.34	2.51 ^a	3.18 ^a

Note:

^a: Values significantly different (> 0.5 log units) from that of removal of intestinal tracts

–: *E. coli* and total coliforms were recovered from too few samples from carcasses for estimation of their log mean numbers

CHAPITRE 5

**Évaluation de la contamination microbienne des plaies de saignée
lors du processus d'abattage des porcs**

Manuscrit publié dans Canadian Veterinary Journal

1999 Apr; 40 : 261-264

Évaluation de la contamination microbienne des plaies de saignée lors du processus d'abattage des porcs

Nancy Rheault et Sylvain Quessy^{(1)*}

¹Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, C. P. 5000, St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7C6

*Responsable de la correspondance : Courriel : [REDACTED] Tél. : (450) 773-8521 #8398; Fax : (450) 778-8113

RÉSUMÉ

Cette étude a été réalisée dans deux abattoirs du Québec afin d'évaluer la contamination du site de la plaie de saignée des carcasses de porcs par *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, les coliformes fécaux et pour l'évaluation du comptage bactérien total en aérobiose, ainsi que pour évaluer l'efficacité du parage de la plaie de saignée. Une culture bactériologique a été effectuée sur un total de 276 plaies de saignée. Avant le parage, 0.9% des sites se sont avérés contaminés par *Salmonella* spp., 40.6% présentait une contamination par des coliformes fécaux et 27.7% des sites par *E. coli*. Après le parage, 1.1% des sites étaient contaminés par *Salmonella* spp., 34.1% des sites par des coliformes fécaux et 26.2% par *E. coli*. Cette étude suggère que le parage de la plaie de saignée amène une diminution significative du compte bactérien total présent aux sites analysés et, qu'en comparaison, la charge bactérienne présente à ce niveau est inférieure à celle retrouvée à la surface interne du poitrail.

ABSTRACT

Monitoring of microbial contamination of stick wound in swine carcasses. This study was done to evaluate the microbial contamination by *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, fecal coliforms and total aerobic count of the stick wounds of swine carcasses. In two Quebec slaughterhouses, the effectiveness of trimming the stick wound was evaluated. A bacteriological analysis was done on 276 stick wounds. Results indicated that, before trimming, 0.9% of stick wounds were contaminated by *Salmonella* spp. Contamination by fecal coliforms was observed in 40.6% of samples, and 27.7% were positive for *E. coli*. After trimming the stick wounds, 1.1% were contaminated by *Salmonella* spp., 34.1% were contaminated by coliforms and 26.2% were positive for *E. coli*. The results showed that trimming contributes to reduce significantly the bacterial total count at the site and that the bacterial load at this site was less important than that found on the brisket.

INTRODUCTION

L'analyse du risque est une partie importante de l'élaboration des modèles HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) (1-4). La première étape du processus, l'évaluation du risque, nécessite l'obtention de données épidémiologiques sur la prévalence de la contamination microbienne par des microorganismes pathogènes. Ce modèle d'assurance qualité exige un contrôle de la contamination durant les opérations d'abattage. Selon le modèle HACCP générique développé dans le cadre du programme d'amélioration de la salubrité des aliments de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA), l'étape de la saignée constitue un point critique où un contrôle doit être exercé. Or, dans la littérature très peu de données existent quant à la contamination bactérienne associée à cette étape (5). Puisque les entreprises d'abattage et de transformation qui exportent aux États-Unis doivent respecter des seuils limites quant à la présence de bactéries pathogènes, telles *Salmonella* spp. et *Escherichia coli* (6) dans la viande, il est apparu important d'évaluer dans quelle mesure l'étape de la saignée pouvait contribuer à la contamination des carcasses par ces bactéries potentiellement pathogènes.

Ainsi, l'étude avait comme objectifs d'évaluer l'importance de la contamination microbienne par certains microorganismes pathogènes lors de la saignée, ainsi que d'évaluer l'efficacité de l'enlèvement de la plaie de saignée, soit le parage, afin de réduire les risques de contamination bactérienne.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les analyses ont été effectuées durant la période du 12 février au 27 mai 1997 dans deux abattoirs du Québec. Les prélèvements ont été faits au poste du parage de la plaie de saignée lors des opérations normales d'abattage. Le site a été échantillonné sur une surface de 5 x 5 cm à l'aide d'écouvillons stériles, ayant comme centre la plaie de saignée. Pour évaluer la contamination des plaies de saignée par *E. coli*, les coliformes fécaux ainsi que la charge bactérienne en aérobiose totale, 227 analyses au site de la plaie de saignée ont été effectuées, soit 101 prélèvements avant et 126 après le parage. Parmi les 227 plaies analysées, un sous-groupe de 99 carcasses ont été suivies avant et après le parage de la plaie de saignée afin d'évaluer l'évolution de la contamination microbienne sur une même carcasse, au même endroit. De plus, 201 analyses ont été effectuées pour déterminer l'importance de la contamination des plaies de saignée par *Salmonella* spp. soit 111 analyses avant et 90 après le parage. Parmi ces 201 analyses, 44 carcasses ont également été suivies de façon aléatoire avant et après le parage pour observer l'évolution de la contamination par *Salmonella* spp. Au total, 276 plaies de saignée différentes ont été échantillonnées, soit 111 analyses avant et 165 après le parage. Ceci implique que certains sites ont servi à la fois à la recherche d'*E. coli*, des coliformes fécaux, au comptage bactérien ainsi qu'à la recherche de *Salmonella* spp. Pour fins de comparaison, 50 échantillons ont également été prélevés à la surface interne du poitrail de façon analogue pour la recherche des coliformes fécaux, d'*E. coli* et de la charge bactérienne en aérobiose totale.

Les échantillons ont été placés dans 6 mL de bouillon nutritif. Pour le dénombrement des bactéries aérobies totales, d'*E. coli* et des coliformes fécaux, les plaques de dénombrement Pétrifilm^{MD} *E. coli* (3M Canada, Inc., London, Ontario) et Pétrifilm^{MD} flore totale aérobie (3M Canada, Inc.) ont été employées. Les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} ont été nécessaires. Les résultats ont été rapportés en unité formatrice de colonies (ufc) par cm^2 . Lors de l'interprétation des résultats, les comptages bactériens ont été soumis à une transformation logarithmique naturelle avant l'analyse. Les moyennes géométriques des comptages bactériens totaux avant et après le parage ont été

comparées par un test de t pairé (7). Les médianes d'*E. coli* et des coliformes fécaux avant et après le parage ont été comparées par un test de Wilcoxon (7). De plus, un chi-carré de McNemar a été utilisé pour comparer la présence d'*E. coli* et du taux des coliformes fécaux avant et après l'opération du parage de la plaie de saignée (8).

Pour l'isolement de *Salmonella* spp., les écouvillons ont été incubés pendant 24 heures à 36°C dans 6 mL de bouillon nutritif. Ensuite, 1 mL de la solution a été inoculé dans 9 mL de bouillon de tétrathionate vert brillant (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA), puis incubé à 36°C pendant 24 heures. Après ce délai, 10 µL ont été ensemencés sur gélose sélective au vert brillant (Laboratoires Quelab, Montréal, Québec), additionnée de novobiocine. Une lecture a été réalisée après 48 heures. Les colonies suspectes ont été testées par inoculation en tube TSI (triple sugar iron) (Laboratoires Quelab) et production d'uréase (Difco Laboratories). Les colonies sélectionnées ont été testées sérologiquement à l'aide d'anti-sérums commerciaux (Difco Laboratories). Lorsqu'une réaction d'agglutination négative était observée avec des colonies présentant les caractéristiques morphologiques et biochimiques de *Salmonella* spp., une identification sur galerie API-20E (BioMérieux Vitek, Montana, États-Unis) a été réalisée. Les isolats de *Salmonella* spp. ont été envoyés au Laboratoire de Guelph, DGPS, Santé Canada, pour effectuer la sérotypie.

RÉSULTATS

La recherche de *Salmonella* spp. s'est révélée positive dans 2 des 201 (1.0%) sites des plaies de saignées analysées (Tableau I). *Salmonella* Ohio var. 14+ et *Salmonella* GIVE ont été retrouvées avant et après le parage de la plaie de saignée, sur des carcasses différentes. Aucun isolement de *Salmonella* spp. n'a été obtenu chez les 44 carcasses suivies avant et après le parage.

Une contamination par des coliformes fécaux aux sites de la plaie de saignée a été retrouvée dans 36.5% (83 sur 227) des plaies analysées et 26.9% (61 sur 227) étaient contaminées par *E. coli*, présentant des comptages entre 0 et 60 ufc/cm². Seulement trois plaies de saignée présentaient des comptes bactériens d'*E. coli* supérieurs à 10 ufc/cm² (Tableau I). L'analyse des résultats lors du suivi des carcasses a permis d'observer une diminution significative ($p < 0.0001$) des comptes des bactéries aérobies totales aux sites échantillonnés, avec une moyenne de 77.5 ufc/cm² avant et de 36.7 ufc/cm² après le parage du site de la saignée sur une même carcasse (Tableau II). En comparaison, la surface interne du poitrail a montré un comptage bactérien en aérobiose total moyen de 351.5 ufc/cm². La médiane évaluée pour *E. coli* et les coliformes fécaux au site du poitrail a été de 0.5 ufc/cm² (avec un minimum de 0 ufc/cm² et un maximum de 26.0 ufc/cm²) et de 1.0 ufc/cm² (avec un minimum de 0 ufc/cm² et un maximum de 26.0 ufc/cm²).

De plus, lors du suivi des 99 carcasses au site de la plaie de saignée, on a observé que 59 sites sur 99 (59.6%) se sont révélés négatifs à la culture d'*E. coli* avant et après le parage de la plaie de saignée (Tableau III). Quoique sur 21 sites une diminution des comptages d'*E. coli* a été notée, aucune différence significative ($p = 0.7281$) n'a été observée avant et après l'opération du parage. De même, 45.5% (45 sur 99) des sites échantillonnés n'ont révélé aucune contamination par les coliformes fécaux, autant avant qu'après le parage (Tableau IV). Trente et une plaies contaminées présentaient une diminution des comptages des coliformes fécaux; cependant, aucune différence significative ($p = 0.2552$) n'a été observée lors du suivi des plaies de saignée.

DISCUSSION

Les résultats ont permis de conclure que les plaies de saignées présentaient un faible taux de contamination par *Salmonella* spp. Ainsi, il semble que le site de la saignée ne représente pas une source importante de contamination microbienne par *Salmonella* spp. Les taux de prévalence retrouvés de *Salmonella* spp. chez l'espèce porcine au Québec (9-13) jumelé au flot de sang, favorisant l'expulsion des bactéries lors de l'opération, pourraient expliquer ces résultats.

De plus, la charge bactérienne aérobie totale déterminée au site de la plaie de saignée est, en général, inférieure à celle observée au niveau du poitrail (sternum) des carcasses fraîches. Lors du parage, une diminution significative des comptes des bactéries aérobies totales au site de la plaie de saignée sur une même carcasse a été observée; sans toutefois qu'il y ait une réduction significative des taux de coliformes fécaux et d'*E. coli* présents aux sites analysés. Ainsi, on remarque qu'une diminution significative de la charge des bactéries aérobies totales n'entraîne pas nécessairement une diminution proportionnelle des comptes d'*E. coli* ainsi que des taux de coliformes fécaux présents. Cependant, une forte proportion des sites analysés n'a présenté aucune contamination par les coliformes fécaux, dont *E. coli*, avant et après le parage. Par conséquent, selon les résultats obtenus, il semble que les plaies de saignée ne représentent pas une source importante de contamination par *E. coli*.

Lors de cette étude, aucune différence significative n'a été observée concernant le nombre de plaies de saignée contaminées avant et après l'opération. Ainsi, on évalue qu'il y a autant de sites contaminés qui deviennent sans contamination détectable après l'opération du parage que de sites sans contamination détectable au départ, qui deviennent contaminés après la procédure de l'employé. Ceci souligne l'importance d'observer des pratiques telles que: le lavage des mains, la stérilisation régulière du couteau ainsi qu'une manipulation appropriée du tissu contaminé lors de l'opération du parage de la plaie de saignée.

Selon nos observations sur le terrain, l'efficacité de l'opération du parage de la plaie de saignée dépend de certains facteurs. À titre d'exemple, le personnel et la technique utilisée, la vitesse d'abattage, la fréquence de stérilisation du couteau, la température de l'eau du stérilisateur sont tous des points pouvant faire varier la contamination des sites de la plaie de saignée et dont il faut tenir compte pour optimiser les résultats de cette opération. Ainsi, dans cette étude, malgré le faible taux de contamination des plaies de saignée observé, on ne peut exclure, dans certaines circonstances, propres à chaque établissement, le site des plaies de saignée comme source de risque biologique. Une étude plus exhaustive réalisée dans plusieurs établissements pourrait permettre de vérifier la variabilité d'un établissement à l'autre.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mme Kathie Roseberry pour son excellent travail technique et la Dre Julie Paré pour sa collaboration dans l'analyse des données. De plus, nous désirons remercier la Société en Commandite Olymel et l'Agence canadienne d'inspection des aliments pour leur support financier.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Borch, E., Nesbakken, T., Christensen, H.** 1996. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 30: 9–25.
2. **Tompkin, R. B.** 1990. The use of HACCP in the production of meat and poultry products. *J. Food Protect.* 53:795–803.
3. **Harris, K. B., Pfeiffer, M. L., Cross, H. R.** 1995. La Méthode HACCP dans l'industrie américaine de la viande. *Viandes Prod. Carnés.* 16: 187–192.
4. **Nesbakken, T., Skjerve, E.** 1996. Interruption of microbial cycles in farm animals from farm to table. *Meat Sci.* 43:S47–S57.
5. **Finlay, R. C., Mann, E., Horning, J.** 1986. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination in Manitoba swine carcasses. *Can. Vet. J.* 27: 185–187.
6. **FSIS (Food Safety and Inspection Service), United States Department of Agriculture.** 1996. *Pathogen reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point Systems*, 9 CFR, partie 304. 81: 149-152.
7. **Daniel, W. W.** 1991. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*, 5^e éd., New York, Wiley, p. 188–271 et 586–589.
8. **Fleiss, J. L.** 1981. *Statistical Methods for Rates and Proportions*, 2^e éd., New York, Wiley, p. 113–119.

9. **Letellier, A., Quessy, S., Messier, S.** 1996. Prévalence de *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* et *Escherichia coli* vérotoxiginène chez le porc, Journée de Recherche et Colloque en Zootechnie, CPAQ, p. 244.
10. **Mafu, A., Higgins, R., Nadeau, M., Cousineau, G.** 1989. The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment. *J. Food Prot.* 52:642–645.
11. **Gill, C. O., Bryant, J.** 1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 16:51–62.
12. **Jaime, J., Saide, A.** 1995. Contamination of pork carcasses during slaughter fabrication, and chilled storage. *J. Food Prot.* 58:993–997.
13. **Letellier, A., Quessy, S., Messier, S.** 1999. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. *J. Food Protect.* 62:22–5.

Tableau I. Contamination des plaies de saignée par des bactéries pathogènes avant et après le parage

	<i>Salmonella</i> spp. ^a		<i>Escherichia coli</i> ^b	
	Avant (<i>n</i> = 111)	Après (<i>n</i> = 90)	Avant (<i>n</i> = 101)	Après (<i>n</i> = 126)
Cas positifs (prévalence)	1 (0.9%)	1 (1.1%)	28 (27.7%)	33 (26.2%)
95% I.C. ^c prévalence	0.0-5.6%	0.1-6.9%	19.5-37.7%	19.0-34.9%

^a 44 échantillons pairés

^b 99 échantillons pairés

^c I. C. : Intervalle de confiance

Tableau II. Suivi de la moyenne géométrique du compte bactérien et de la médiane *Escherichia coli* et des coliformes fécaux, avec le minimum et le maximum des valeurs, de 99 plaies de saignée pairées échantillonnées avant et après le parage

	ufc /cm ²		P
	Avant	Après	
Compte total (\bar{x})	77.5	36.7	0,0001 ^a
<i>E. coli</i>	0 (0-10.32)	0 (0-60.0)	0.7281 ^b
Coliformes fécaux	0 (0-10.32)	0 (0-60.0)	0.2552 ^b

^a Le logarithme naturel (ln) des comptes totaux a été utilisé pour effectuer le test de *t* pairé

^b Test de Wilcoxon

Tableau III. Suivi de la contamination par *Escherichia coli* de 99 carcasses avant et après le parage de la plaie de saignée

Avant	Après	
	Contaminées	Non contaminées
Contaminées	14	14
Non contaminées	12	59

Test McNemar

$p = 0.845$

Tableau IV. Suivi de la contamination par des coliformes fécaux chez 99 carcasses avant et après le parage de la plaie de saignée

Avant	Après	
	Contaminées	Non contaminées
Contaminées	18	23
Non contaminées	13	45

Test McNemar

$p = 0.134$

CHAPITRE 6

**Comparaison de l'effet du parage et du lavage à l'eau chaude des carcasses de porc
afin de réduire le niveau de la contamination microbienne**

Manuscrit publié dans Canadian Veterinary Journal

1999 Nov; 40 :792-5

**Comparaison de l'effet du parage et du lavage à l'eau chaude des carcasses de porc
afin de réduire le niveau de la contamination microbienne**

Nancy Rheault et Sylvain Quesy^{(1)*}

¹Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, C. P. 5000,
St-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 7C6

*Responsable de la correspondance : Courriel : [REDACTED] Tél. :
(450) 773-8521 #8398; Fax : (450) 778-8113

RÉSUMÉ

Cette étude avait comme objectifs de comparer les techniques du parage et du lavage à l'eau chaude (55°C) des carcasses de porc comme réducteur de la charge microbienne, ainsi que d'évaluer la contamination microbienne des carcasses de porc tombées au sol lors du processus d'abattage. Au total, deux groupes de 40 carcasses tombées au sol ont été analysés avant et après l'utilisation des deux techniques de décontamination, ainsi qu'un groupe contrôle de 10 carcasses. Les résultats ont révélé une augmentation significative ($p = 0.01$) de la charge des bactéries aérobies totales sur les carcasses tombées, comparativement à celle observée sur les carcasses contrôles. Par contre, aucune différence significative ($p = 0.76$) n'a pu être détectée entre le taux des coliformes fécaux présents sur les carcasses contaminées et celui du groupe contrôle étudié. Aucune différence significative sur la charge des bactéries aérobies totales, des coliformes fécaux et des *Escherichia coli* présents sur les carcasses contaminées n'a été observée entre avant et après le parage ou le lavage des carcasses. Selon l'étude, aucune différence significative ($p = 0.37$) n'est apparue entre les deux techniques de décontamination en ce qui concerne leur effet sur la diminution de la charge bactérienne totale aérobie ainsi que des coliformes fécaux sur les carcasses ($p = 0.65$).

ABSTRACT

Comparison of hot water wash and trimming of pork carcass techniques for reducing the level of bacterial contamination. This study was carried out to evaluate the microbial contamination on pork carcasses after they had fallen on the floor in the cooler and also to evaluate the effectiveness of trimming and hot, high-pressure, water washing (55°C). A bacteriological analysis was done on two groups of 40 carcasses before and after trimming or washing, along with a group of 10 control carcasses. Results showed that the bacterial total count was higher ($p = 0.01$) on carcasses after they had fallen, but, in this study, no significant difference ($p = 0.76$) was found for total coliform contamination. Also, no significant difference was observed between total count for aerobic bacteria, total coliforms and *Escherichia coli* before and after decontamination, no matter which technique was used. Neither trimming nor washing carcasses showed, in this study, a significant difference ($p = 0.37$) in the reduction of the total aerobic bacterial count on the pork carcasses analyzed ($p = 0.65$).

INTRODUCTION

La contamination de la viande de porc par des bactéries pathogènes survient le plus souvent lors du processus d'abattage, par le biais d'une contamination directe ou croisée à partir des matières fécales. Afin d'effectuer un contrôle sur les risques microbiens associés à la production des viandes, un système de gestion des risques de type HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) a été mis en place dans l'industrie, suite à des réglementations adoptées par certains pays importateurs (1).

Selon les normes américaines du USDA (United States Department of Agriculture) et de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA), la contamination visible présente sur les carcasses lors de l'éviscération ou à la fin du processus d'abattage, à l'entreposage, doit être enlevée afin de réduire les risques biologiques. Le parage des tissus contaminés, tel qu'appliqué en industrie, représente actuellement une perte économique considérable (2). Lors d'expérimentation, Prasai *et al.* (1995) ont observé qu'une élimination de la contamination visible sur les carcasses de boeuf, après parage, ne correspondait pas nécessairement avec la qualité microbiologique de la viande (3). D'autres auteurs ont également démontré que le parage contribuait à étendre la contamination non détectable visuellement à d'autres régions sur la carcasse (4). Par contre, dans la littérature, une efficacité supérieure de la technique de parage par rapport à celle du lavage des carcasses de bœuf a été rapportée (3, 4).

L'objectif de cette étude était d'abord de comparer l'effet du parage à l'effet du lavage à l'eau chaude (55°C), sous forte pression, sur les carcasses de porc contaminées, tombées au sol lors des transferts dans les réfrigérateurs, puis d'évaluer l'évolution de la contamination microbienne des carcasses de porc avant et après chacune des techniques employées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude s'est déroulée dans un établissement d'abattage de porcs au Québec durant la période s'étendant du 30 juin au 2 novembre 1998. Toutes les carcasses réfrigérées et tombées au sol au cours des 16 visites à l'abattoir ont été échantillonnées, selon la technique d'analyse modifiée de Gill et Jones (5), sur une surface totale de 500 cm², soit 5 sites de 100 cm². Le choix des sites analysés a été déterminé aléatoirement selon une grille de référence, avec laquelle l'ensemble d'un côté de la carcasse est divisé en 83 sites de prélèvements de 100 cm² chacun et qui sont subdivisés en 5 grandes régions sur la carcasse: cuisse, flanc, longe, épaule et tête. Cette subdivision en 5 régions permet de tenir compte des différents niveaux de risques de contamination pour chacune des régions spécifiques sur une carcasse. Un prélèvement dans chacune des ces régions a été réalisé. Lors de la chute au sol, les deux côtés de la carcasse sont généralement en contact avec le sol. Toutefois, la décision d'utiliser le côté droit ou le côté gauche de la carcasse dépendait de l'accessibilité du site lors de l'échantillonnage.

Au total, 80 carcasses contaminées, soit deux groupes de 40 carcasses tombées au sol sélectionnées aléatoirement ont été analysées, et 10 carcasses contrôles non tombées ont également été évaluées pour fin de comparaison. Pour un groupe, le travail consistait à évaluer la contamination microbienne avant et après le parage habituel et pour l'autre groupe, cette évaluation était faite avant et après le lavage à l'eau chaude à (55°C), sous forte pression. Le prélèvement a été fait à l'aide d'une gaze stérile, sans agent bactériostatique (10 × 10 cm, 4 épaisseurs, Kendall Canada Inc., Peterborough, Ontario), humectée préalablement avec de l'eau peptonée 0.1% (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA). Suite à l'échantillonnage, la gaze a été placée dans 25 mL d'eau peptonée 0.1% afin qu'elle soit immergée totalement.

Après homogénéisation, 1 mL de la solution a été transféré sur des plaques de dénombrement Pétrifilm^{MD} *Escherichia coli* et sur Pétrifilm^{MD} flore totale aérobie (3M Canada, London, Ontario), selon une méthode reconnue par l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists) internationale. Le dénombrement des colonies a été

réalisé après 48 h d'incubation à 37°C en aérobic. Les résultats ont été rapportés en unité formatrice de colonies (ufc) par cm².

La comparaison entre les moyennes des comptes des bactéries aérobies totales, présentant une distribution statistique normale, évaluées sur les carcasses contaminées et celles du groupe contrôle, a été analysée par un test de *t* (6). Pour chaque technique, le suivi des moyennes des comptes des bactéries aérobies totales, avant et après décontamination, a été comparé par un test de *t* pairé (6). La comparaison des médianes entre les coliformes fécaux des carcasses du groupe contrôle et des carcasses tombées au sol a été réalisée par un test non-paramétrique de Wilcoxon (6). Les comptes de *E. coli* et des coliformes fécaux provenant de carcasses contaminées avant chacun des traitements ont été comparés avec le test de Wilcoxon. La proportion des carcasses contaminées qui présentait une diminution de la charge des bactéries aérobies totales et des coliformes fécaux après le parage ou le lavage a été évaluée à l'aide d'un test de chi-carré (7).

Pour les deux techniques de décontamination étudiées, étant donné la méthodologie utilisée, le coefficient de variation a été fixé à 10% (8, 9). Ainsi, une réduction arbitraire de 10% de la charge bactérienne était requise pour que cette réduction soit considérée comme significative. De plus, un seuil de 0.05 a été déterminé comme étant significatif pour toutes les analyses.

RÉSULTAT

Avant le traitement des carcasses, l'évaluation moyenne de la charge bactérienne totale aérobie des 80 carcasses tombées au sol a été de 286.1 ufc/cm². En comparaison, la charge totale des bactéries aérobies sur les carcasses contrôles, n'ayant pas tombé au sol, a été évaluée en moyenne à 168.0 ufc/cm². Ainsi, une augmentation significative ($p = 0.01$) de la charge bactérienne totale aérobie des carcasses tombées au sol a été observée comparativement aux carcasses contrôles. Par contre, aucune différence significative n'a pu être observée concernant les niveaux de contamination par les coliformes fécaux ($p = 0.76$) et *E. coli* ($p = 0.97$) évalués sur les carcasses tombées au sol comparativement au groupe contrôle.

Une contamination par des coliformes fécaux a été constatée chez 75.0% (60 sur 80) des carcasses ayant tombé au sol, présentant une médiane de 0.3 ufc/cm² avec des valeurs minimale et maximale de 0.1 ufc/cm² et 2.4 ufc/cm², avant les traitements de décontamination; de même, 31.2% (25 sur 80) des carcasses étaient contaminées par *E. coli* présentant des comptages entre 0.1 et 0.7 ufc/cm², ayant comme valeur médiane 0.1 ufc/cm². Pour fins de comparaison, 60.0% (6 sur 10) des carcasses du groupe contrôle ont présenté une contamination par des coliformes fécaux. La médiane des coliformes fécaux, évaluée chez le groupe contrôle, se situait à 0.2 ufc/cm², avec des valeurs minimale et maximale de 0.1 ufc/cm² et 1.6 ufc/cm², respectivement. De même, 40.0% (4 sur 10) des carcasses contrôles présentaient une contamination par *E. coli* avec des comptages entre 0.1 ufc/cm² et 0.2 ufc/cm².

Le suivi de la contamination microbienne évalué chez 40 carcasses, tombées au sol, avant et après le parage n'a permis d'observer aucune différence significative ($p = 0.32$) sur les comptes bactériens totaux évalués. Également, aucune diminution significative du compte bactérien total aérobie ($p = 0.18$) n'a été notée lors du suivi de la contamination avant et après le lavage des carcasses échantillonnées. De même, une absence de différence significative a été observée entre les médianes des *E. coli* et des coliformes fécaux présents sur les carcasses avant et après le parage ou le lavage à l'eau

chaude (Tableau I).

Les deux techniques utilisées ont présenté une efficacité comparable comme moyen de réduire la charge bactérienne totale aérobie, avant et après le parage ou le lavage des carcasses. Chez les carcasses contaminées, même si une réduction ($\geq 10\%$) du compte bactérien total a été observée chez 50.0% des carcasses parées (20 sur 40 carcasses) et chez 40.0% (16 sur 40 carcasses) des carcasses lavées, aucune différence statistiquement significative ($p = 0.37$) entre l'une ou l'autre des deux techniques destinées à diminuer la charge bactérienne aérobie total n'a été mise en évidence (Tableau II). De même, aucune différence significative ($p = 0.65$) n'a été notée entre les 2 techniques de décontamination en ce qui concerne leur effet sur la diminution des coliformes fécaux sur les carcasses. Cependant, une diminution ($\geq 10\%$) des coliformes fécaux a été observée chez 44.1% (15 sur 34) des carcasses parées et chez 50.0% (13 sur 26) des carcasses lavées qui présentaient une contamination par des coliformes fécaux avant les traitements de décontamination ($n = 60$) (Tableau III).

DISCUSSION

Selon les résultats obtenus, la charge bactérienne aérobie totale évaluée sur les carcasses tombées au sol est apparue significativement supérieure à celle observée sur les carcasses contrôles. Par contre, les comptages obtenus quant au niveau de contamination par les coliformes fécaux sur les carcasses contaminées semblent être comparables à ceux obtenus avec le groupe contrôle des carcasses n'ayant pas tombé au sol. Par une technique d'échantillonnage et d'analyse modifiée par rapport à celle exigée pour le modèle HACCP (1), il a été possible de remarquer que les carcasses tombées au sol dans cet établissement ne présentaient pas un niveau de contamination par *E. coli* dépassant la norme exigée, soit de 10 ufc/cm², dans le cadre de la réglementation américaine (1).

De plus, lors du suivi des carcasses contaminées, aucune différence significative quant à la charge bactérienne totale aérobie et aux coliformes fécaux présents avant et après le parage ou le lavage à l'eau chaude n'a pu être évaluée. Ces données sur la technique du lavage sont en accord avec l'étude réalisée par Jericho *et al.* (1995) concluant qu'aucun changement majeur quant au niveau de la contamination bactérienne ne se produisait lors du processus de lavage des carcasses de boeuf (10).

Les techniques de décontamination étudiées soit, le parage et le lavage à l'eau chaude des carcasses de porc, dans un établissement d'abattage au Québec pendant les opérations normales, se sont avérées comparables quant à leur efficacité à réduire la contamination microbienne des carcasses. En comparaison, ni la technique du parage ou du lavage à l'eau chaude des carcasses n'a démontré une efficacité supérieure sur la diminution significative de la contamination microbienne des carcasses. Cependant, des diminutions des comptes des bactéries aérobies totales et des taux de coliformes fécaux chez plus de 40% des carcasses contaminées ont été observées lors de l'utilisation de l'une ou l'autre des techniques. Les résultats de cette étude ne correspondent pas aux conclusions rapportées par certains auteurs où, sous conditions optimales de laboratoire, une efficacité supérieure de la technique de parage par rapport à celle du lavage a été

notée quant à la contamination sur les carcasses de boeuf (3, 4, 11). Néanmoins, il faut souligner que ces expérimentations ont été réalisées dans des conditions de laboratoire pouvant mener à une optimisation des réductions bactériennes obtenues en comparaison avec la présente étude réalisée à l'abattoir même.

Il y a donc lieu d'approfondir les recherches afin de trouver une technique de décontamination qui assurerait une réduction significative de la charge bactérienne. Chez le boeuf, il a été démontré que la combinaison de traitements, par exemple le lavage et le parage, suivis d'un traitement à l'eau chaude (95°C) ou à l'acide lactique, permettrait d'obtenir une réduction plus importante de la charge bactérienne (2). Certaines techniques plus coûteuses, comme le traitement à la vapeur (12, 13) ou l'utilisation d'eau chlorée, qui n'est actuellement pas autorisée au Canada (14), semblent également donner des résultats prometteurs. Il conviendrait donc d'explorer d'autres possibilités.

Cependant, l'ampleur de la réduction de la charge bactérienne, par les différents moyens de décontamination des carcasses, dépend de plusieurs facteurs qui doivent être adaptés selon les conditions propres à chaque établissement tels que: la température de l'eau, la distance entre le jet d'eau et la carcasse, la pression du jet d'eau et son volume. Il est important de poursuivre les recherches sur les différents moyens d'assurer la sécurité du produit ou sur les techniques pouvant être utilisées afin d'assurer la faisabilité de l'implantation de moyens de contrôle.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mme Kathie Roseberry pour son excellent travail technique et la D^{re} Julie Paré pour sa collaboration dans l'analyse des données. De plus, nous désirons remercier la Société en Commandite Olymel ainsi que l'Agence canadienne d'inspection des aliments pour leur support financier.

BIBLIOGRAPHIE

1. **FSIS (Food Safety and Inspection Service), United States Department of Agriculture.** 1996. *Pathogen reduction; Hazard analysis and critical control point systems*, 9 CFR Part 304. 81:149–152.
2. **Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W., Acuff, G. R.** 1998. Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. *J. Food Prot.* 61:823–828.
3. **Prasai, R. K., Phebus, R. K., Garcia Zepeda, C. M., Kastner, C. L., Boyle, A. E., Fung, D. Y. C.** 1995. Effectiveness of trimming and/or washing on microbiological quality of beef carcasses. *J. Food Prot.* 58:1114–117.
4. **Hardin M. D., Acuff G. R., Lucia L. M., Oman J. S., Savell J. W.** 1995. Comparison of methods for contamination removal from beef carcass surfaces. *J. Food Prot.* 58:368–374.
5. **Gill, C. O., Jones, T.** 1997. Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food Microbiol.* 14:81–91.
6. **Daniel W. W.** 1991. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*, 5th éd. New York: Wiley. p. 188–271, 586–589.
7. **Fleiss J. L.** 1981. *Statistical Methods for Rates and Proportions*, 2nd éd. New York: Wiley, p. 113–119.

8. **Curiale, M. S., Sons, T., McAllister, J. S., Halsey, B., Fox, T. L.** 1990. Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:242–248.
9. **McGoldrick, K. F., Fox, T. L., McAllister, J. S.** 1986. Evaluation of a dry medium for detecting contamination on surfaces. *Food Technology.* 40:77–80.
10. **Jericho, K. W., Bradley, J. A., Kozub, G. C.** 1995. Microbiologic evaluation of carcasses before and after washing in beef slaughter plant. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206:452–455.
11. **Gorman, B. M., Morgan, J. B., Sofos, J. N., Smith, G. C.** 1995. Microbiological and visual effects of trimming and/or spray washing for removal of fecal material from beef. *J. Food Prot.* 58:984–989.
12. **Nutsch, A. L., Phebus, R. K., Riemann, M. J., Kotrola, J. S., Wilson, R. C., Boyer, J. E. Jr., Brown, T. L.** 1998. Steam pasteurization of commercially slaughtered beef carcasses: evaluation of bacterial populations at five anatomical locations. *J. Food Prot.* 61:571–577.
13. **Dorsa, W. J., Cutter, C. N., Siragusa, G. R.** 1996. Effectiveness of steam-vacuum sanitizer for reducing *Escherichia coli* O157:H7 inoculated to beef carcass surface tissue. *Lett. Appl. Microbiol.* 23:61–63.
14. **Sofos, J. N., Smith, G. C.** 1998. Nonacid meat decontamination technologies: model studies and commercial applications. *Int. J. Food Microbiol.* 44:171–188.

Tableau I. Moyenne du compte bactérien et de la médiane (minimum, maximum) d'*Escherichia coli* et des coliformes fécaux avant et après le parage et le lavage à l'eau chaude de deux groupes de carcasses de porc présentant une contamination avant les traitements

	Parage			Lavage		
	Avant	Après	<i>p</i>	Avant	Après	<i>p</i>
Compte total, (\bar{x})	321.3	321.8	0.32 ^a	250.8	234.8	0.18 ^a
<i>E. coli</i>	0.1 (0.1–0.4) ^c	0 (0.0–0.4)	0.05 ^b	0.1 (0.1–0.7) ^e	0 (0.0–4.8)	0.94 ^b
Coliformes fécaux	0.4 (0.1–2.4) ^d	0.3 (0.1–5.3)	0.64 ^b	0.2 (0.1–1.4) ^f	0 (0.0–4.8)	0.52 ^b

ufc: unité formatrice de colonies

^atest de *t* pairé ($p < 0.05$)

^btest de Wilcoxon ($p < 0.05$)

^c*n* = 15 carcasses positives avant les traitements de décontamination

^d*n* = 34 carcasses positives avant les traitements de décontamination

^e*n* = 10 carcasses positives avant les traitements de décontamination

^f*n* = 26 carcasses positives avant les traitements de décontamination

Tableau II. Évolution des comptes des bactéries aérobies totales sur deux groupes de 40 carcasses de porc soumis à deux techniques de décontamination

	Présence d'une diminution ($\geq 10\%$) du compte total	
	Oui	Non
Parage	20	20
Lavage	16	24

Test de chi-carré, $\chi^2 = 0.81$; $p = 0.37$

Tableau III. Évolution des coliformes fécaux évalués chez deux groupes de carcasses de porc contaminées avant les traitements et soumis à deux techniques de décontamination

	Présence d'une diminution ($\geq 10\%$) des coliformes fécaux	
	Oui	Non
Parage	15	19
Lavage	13	13

Test de chi-carré, $\chi^2 = 0.20$; $p = 0.65$

CHAPITRE 7.

Discussion générale

La salmonellose est l'une des toxi-infections alimentaires parmi les plus courantes et les plus répandues. Elle représente un souci important pour la santé publique et un coût considérable pour la société de nombreux pays. Les coûts engendrés reliés à la salmonellose humaine au Canada ont été estimés à 846 millions de dollar (Todd, 1989). De plus, face à l'émergence de souches de *Salmonella* spp. multirésistantes et aux échecs thérapeutiques de plus en plus fréquents en médecine, le contrôle des salmonelles est considéré prioritaire en santé publique.

Bien que, dans la majorité des cas, la volaille ou ses sous produits aient été associés aux cas humains, la portion des infections liée à la viande de porc demeure préoccupante. Une étude sur l'évaluation et la gestion du risque associé à la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir s'est avérée nécessaire afin d'optimiser le contrôle des infections à *Salmonella* spp. chez l'homme. Dans cette étude, il a été convenu d'utiliser les principes reconnus en analyse du risque et de les appliquer chez le porc à l'abattoir dans le contexte québécois.

Tout d'abord, il a été jugé primordial d'effectuer une étude de comparaison de la diversité génotypique et phénotypique des isolats de *Salmonella* spp. d'origine humaine, animale (le porc et, à titre comparatif, le poulet à griller) et alimentaire (carcasses de porc). La caractérisation des souches de *Salmonella* spp. avait deux principaux objectifs: premièrement, celui d'évaluer le lien génétique des souches de *Salmonella* spp. d'origine animale à celles retrouvées dans les cas sporadiques de salmonellose humaine, et; deuxièmement, celui d'évaluer et de comparer la diversité des profils d'antibiorésistance (Chapitre 3). Tous les isolats de *Salmonella* spp. dans cette étude ont été échantillonnés durant la même période et dans la même région. Ainsi, une estimation qualitative du risque associé à la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir et le poulet à griller dans les cas sporadiques de salmonellose humaine a pu être réalisée.

Dans la littérature, les études rapportées sur l'évaluation de l'exposition des souches de *Salmonella* spp. multirésistantes d'origine animale dans les cas de salmonellose chez l'homme sont très limitées. Actuellement, plusieurs scientifiques sont en accord pour affirmer qu'il existe un risque théorique de transmission de la résistance bactérienne présente chez les populations animales à l'humain; par contre, cette hypothèse n'est pas solidement supportée par la littérature scientifique. L'amélioration des connaissances mettant en relief un lien potentiel entre les souches de salmonelles multirésistantes d'origine animale, alimentaire et de cas sporadiques de salmonellose humaine était un pré-requis afin d'accentuer l'importance de développer des mesures de contrôle possible lors du processus d'abattage.

Toutefois, la problématique associée au contrôle des salmonelles chez le porc à l'abattoir apparaît assez complexe, puisque lors des opérations d'abattage plusieurs sources de contamination sont possibles. La mise en évidence des animaux porteurs de salmonelles ainsi que l'identification des sources de contamination par ce microorganisme à l'abattoir sont des étapes très importantes afin de contrôler et de réduire conséquemment le taux de contamination des carcasses de porc à l'abattoir.

La seconde partie du projet visait donc à recueillir des données microbiologiques à l'abattoir afin d'évaluer l'exposition des carcasses de porc à la contamination microbienne par *Salmonella* spp. et *E. coli*. Pour ce faire, des études portant sur la prévalence de *Salmonella* spp. ainsi que sur la distribution des microorganismes indicateurs chez le porc, au niveau des carcasses et dans l'environnement à l'abattoir, ont été réalisées (chapitre 4). Également, il est apparu important de valider certaines procédures d'abattage considérées critiques afin de préciser leur impact sur la charge microbienne des carcasses de porc (chapitres 4 et 5). Ces résultats ont généré des données permettant d'optimiser l'évaluation du risque associé à la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir dans le contexte québécois.

Puisque les carcasses de porc ont été identifiées comme une source non négligeable d'introduire des salmonelles multirésistantes chez l'homme, la dernière partie du projet visait à évaluer certaines techniques de décontamination appliquées à l'abattoir dans la gestion du risque. Une évaluation portant sur les procédures de parage et de lavage à l'eau chaude (55°C) appliquée aux carcasses de porc à l'abattoir a été réalisée dans le but de peaufiner les évaluations du risque (chapitre 6). L'obtention de ces données épidémiologiques est une étape primordiale pour l'élaboration éventuelle de stratégie de contrôle des salmonelles dans l'industrie porcine au Québec.

7.1 Caractérisation phénotypique et génotypique des souches de *Salmonella* spp. d'origine animale, alimentaire et humaine

Cette étude est la première réalisée au Canada portant sur la caractérisation des souches de *Salmonella* spp. d'origine animale (porc et poulet à griller), alimentaire (carcasses de porc) et humaine afin d'établir un lien d'exposition. L'objectif spécifique était de caractériser de manière qualitative le risque face à l'homme associé à la présence de *Salmonella* spp. dans les produits de viande porcine et, pour fins de comparaison, chez les poulets à griller.

Cette étude a démontré que, respectivement, 15.9% et 13.4% des échantillons de porcs (à partir d'échantillons de fèces et de carcasses) et de poulet à griller (contenu caecal) étaient contaminés par *Salmonella* spp. à l'abattoir. Les sérovars Typhimurium, Heidelberg et Agona ont été communs chez toutes les espèces. Cependant, les principaux sérovars présentant de la résistance aux antimicrobiens ont été Derby, Agona et Typhimurium. Également, tel qu'observé dans le cadre du Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PHAC, 2003, 2005b), *S. Typhimurium* PT104 a été le lysotype le plus fréquemment isolé parmi ceux retrouvés chez *S. Typhimurium* caractérisé par le profil de multirésistance ACSSuT.

Des niveaux de résistance et de multirésistance significativement plus élevés aux agents antimicrobiens ont été présents chez les isolats de *Salmonella* spp. d'origine animale (71.2%; 95% intervalle de confiance [IC], 64.3–77.3) comparativement aux isolats d'origine humaine (27.2%; 95% [IC], 15.5–43.0). Les résultats obtenus en ce qui concerne les sérovars et la résistance antimicrobienne des isolats de *Salmonella* spp. d'origine humaine et animale sont similaires à ceux reportés dans la littérature canadienne (PHAC, 2003, 2005b). Cependant, la grande variété des profils de résistance observés entre les isolats des deux populations étudiées suggère que la transmission des gènes de résistance d'origine animale aux humains par des souches multirésistantes demeure relativement rare.

De par les méthodes de caractérisation phénotypique (biotypie, sérologie, lysotypie et détection de la sensibilité antimicrobienne) et l'utilisation d'une technique de typage génotypique (électrophorèse en champs pulsés), il a été observé, qu'en général, les souches isolées de *S.* Typhimurium et certaines souches de *S.* Derby provenant du porc et/ou des poulets à griller possédaient des liens génétiques de parenté probables (entre 2–3 bandes de différences dans les profils PFGE) avec les souches de *Salmonella* spp. isolées à partir des patients souffrant de salmonellose humaine.

Dans l'analyse des résultats, une interprétation visuelle des profils PFGE, basée sur les critères de Tenover *et al.* (1995), a été jugée adéquate afin de répondre aux objectifs de cette étude. Par contre, une analyse des différents profils au moyen de logiciels informatiques aurait également pu être utilisée afin d'obtenir un coefficient de similitude entre les souches testées (DICE > 80%). Cependant, pour le genre *Salmonella* spp., d'excellentes concordances ont été démontrées entre l'utilisation de critères d'interprétation visuelle et les différents logiciels d'analyse (Rementeria *et al.*, 2001).

De plus, il a été intéressant de noter que certaines souches de *S.* Typhimurium PT104 multirésistantes (ACSSuT-Sh-N) isolées à partir d'animaux de production (porcs et poulets à griller), de carcasses de porc et des cas de salmonellose cliniques chez l'homme ont présenté des caractéristiques identiques tant au niveau

phénotypique que génotypique. Ces données permettent de suggérer que le porc et les poulets à griller sont des réservoirs potentiels de souches de *Salmonella* spp. multirésistantes impliquées dans les cas sporadiques de la salmonellose humaine. Cette affirmation peut être appuyée par le fait que chronologiquement les cas cliniques de salmonellose chez l'homme ont été identifiés suite à l'isolement des souches animales provenant des fèces (porc et poulet à griller) et de la viande porcine. Ces conclusions sont en accord avec certaines études où des liens de causalité ont pu être établis par la caractérisation des souches de *S. Typhimurium* isolées chez l'homme et le porc (Nastasi *et al.*, 1993; Murase *et al.*, 2000; Antunes *et al.*, 2004).

Les résistances antimicrobiennes observées chez l'animal peuvent être transmises à plus grande échelle dans la population animale et conduire à une transmission accrue à l'être humain (Molbak, 2004). Face aux résistances antimicrobiennes, les conséquences peuvent être divisées en deux catégories: (1) la présence d'infections qui le cas échéant ne seraient pas apparues, et (2) l'augmentation de la fréquence des échecs thérapeutiques et de la gravité des infections. Aux États-Unis, on a estimé que la résistance des salmonelles aux antimicrobiens pouvait être à l'origine de quelques 30 000 salmonelloses supplémentaires, entraînant environ 300 hospitalisations et une dizaine de décès (OMS, 2005).

7.2 Données microbiologiques relatives à *Salmonella* spp. et *E. coli* chez le porc à l'abattoir

7.2.1 Prévalence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir

Ce sous-objectif visait à préciser la prévalence d'animaux porteurs sains de salmonelles à l'abattoir et à évaluer la distribution des différents sérovars. Des données épidémiologiques ont été obtenues par un échantillonnage de matières caecales pour la recherche de *Salmonella* spp. prélevés dans trois abattoirs sous juridiction fédérale dans la province de Québec (chapitre 4). Cette étude a permis une meilleure évaluation des dangers microbiens associés à la présence d'animaux porteurs sains de *Salmonella* spp. lors du processus d'abattage.

La prévalence totale d'animaux porteurs sains de *Salmonella* spp. à l'abattoir a été relativement élevée, 20.9%, comparativement aux prévalences rapportées précédemment dans la littérature québécoise chez le porc à l'abattoir (Mafu *et al.*, 1989; Letellier *et al.*, 1999b). Les sérovars les plus souvent isolés dans cette étude ont été Typhimurium et Derby. Malgré le fait que certaines variations existent dans la prévalence des différents sérovars dans la population, *S. Typhimurium* demeure un sérovar très souvent associé à des salmonelloses humaines (DiGuardo *et al.*, 1992). Dans les échantillons de fèces porcines, la proportion estimée de Typhimurium PT104 a été supérieure (38.9%) comparativement à ce qui est rapporté dans la littérature canadienne, soit 17.3% et 14.0% (Poppe *et al.*, 2002; Côté *et al.*, 2004). Cette augmentation de la prévalence de *Salmonella* spp. multirésistante isolée chez les porcs cliniquement sains à l'abattoir pourrait être expliquée, en partie, par l'observation d'une augmentation des cas porcins de salmonellose clinique rapportés entre 1999 et 2002 au Québec (MAPAQ, 2003).

De plus, en accord avec la littérature, l'étude a permis d'observer des liens génétiques entre des souches de salmonelles retrouvées au niveau des fèces des animaux porteurs sains et celles sur les carcasses contaminées. Il n'y a aucun doute que les

animaux porteurs sains à l'abattoir peuvent être considérés comme un facteur important pouvant augmenter l'incidence de la contamination des carcasses de porc à l'abattoir (Berends *et al.*, 1997; Letellier *et al.*, 2005). Il est estimé que les animaux porteurs de *Salmonella* spp. seraient de 3 à 5 fois plus susceptibles de générer des carcasses contaminées par ce microorganisme que les animaux exempts de salmonelles (Berends *et al.*, 1997).

De part ces résultats, il y a donc lieu de suggérer qu'une attention particulière du statut des animaux à la ferme demeure primordiale afin de baisser la pression d'infection à l'abattoir et ainsi, mieux contrôler la contamination des carcasses de porc par *Salmonella* spp. Également, les prévalences élevées de *S. Typhimurium* PT104, caractérisé par sa multirésistance aux antimicrobiens, chez les animaux porteurs sains et dans les produits de viande soulèvent l'importance d'identifier les sources de contamination microbienne lors du processus d'abattage afin de raffiner les évaluations du risque et d'optimiser le contrôle des infections à *Salmonella* spp. multirésistante chez l'homme.

7.2.2 Identification des sources de contamination présentes dans l'environnement lors du processus d'abattage de porcs

Lors du processus d'abattage de porcs, différentes sources de contamination de la viande par des bactéries pathogènes sont présentes. Afin de pouvoir établir des mesures de contrôle efficaces, plusieurs sites environnementaux à l'abattoir ont été analysés (chapitre 4). Lors de cette étude, des échantillons, représentant plusieurs procédures à l'abattoir, ont été prélevés au cours des opérations normales d'abattage dans deux établissements, dont un possédant l'accréditation HACCP.

Parmi les échantillons environnementaux, les sites les plus contaminés par *Salmonella* spp. et *E. coli* ont été les pelles utilisées et les planchers, suivi des sites ayant un contact direct avec les viscères et/ou les matières fécales, comme les tabliers des travailleurs et les gants. D'autre part, les équipements régulièrement stérilisés,

comme les scies et les couteaux, présentaient de faibles niveaux de contamination microbienne.

De part la méthodologie utilisée, nous ne pouvons conclure que les sites positifs étaient associés à la contamination des carcasses de porc à l'abattoir. Cependant, il n'y a aucun doute qu'une forte pression de la contamination par *Salmonella* spp. et *E. coli* dans l'environnement à l'abattoir peut être impliquée dans les contaminations croisées des carcasses si des mesures d'hygiène strictes et adéquates ne sont pas appliquées (Berends *et al.*, 1997). De plus, il a été intéressant d'observer une prévalence significativement plus faible ($p = 0.0003$) de *Salmonella* spp. pour les sites environnementaux analysés dans l'établissement possédant l'accréditation HACCP, comparativement au deuxième établissement évalué. Même si nous ne pouvons conclure à l'efficacité des modèles HACCP dans cette étude, il n'en demeure pas moins qu'une prévention des dangers à chacune des étapes de l'abattage, tel qu'appliqué dans les systèmes de gestion des risques, peut être associée à une prévention de la contamination de l'environnement lors du processus de l'abattage (Gill et Bryant, 1992; Borch *et al.*, 1996; Gill *et al.*, 2000; Berends *et al.*, 1997). Ainsi, tel qu'il a été suggéré par le USDA (1999), les résultats obtenus dans cette étude tendent à supporter l'efficacité des systèmes de gestion du risque de type HACCP dans la prévention de la contamination de l'environnement par des bactéries pathogènes lors du processus de l'abattage.

En vue de réduire les niveaux de contamination environnementale, des recommandations générales en matière d'hygiène seraient de nettoyer fréquemment l'équipement lors du processus d'abattage et de donner à l'hygiène personnelle une grande attention. Un système d'assurance qualité alimentaire, comme le système HACCP, comprend un programme éducatif pour les employés permettant d'accroître le niveau de sensibilisation en ce qui concerne l'hygiène des denrées alimentaires dans les abattoirs.

7.2.3 Prévalence de *Salmonella* spp. et *E. coli* sur les carcasses de porc réfrigérées

Afin de mieux caractériser le risque pour l'homme, ce sous-objectif visait à évaluer les prévalences de *Salmonella* spp. et *E. coli* sur les carcasses réfrigérées pour plus de 12 heures, selon la méthodologie du HACCP (USDA, 1996). Tous les échantillons prélevés sur les carcasses provenaient de quatre abattoirs du Québec, sous la juridiction fédérale (chapitre 4).

Cette étude a démontré des variations marquées des prévalences de *Salmonella* spp. sur les carcasses réfrigérées d'un établissement à l'autre, les prévalences variant entre 1.5–12.9%. Cependant, la prévalence totale de carcasses positives à *Salmonella* spp. à l'abattoir a été évaluée à 6.6% (95% intervalle de confiance [IC], 5.0–8.6); ce qui est comparable aux résultats rapportés par d'autres, et sous la limite de 8.7% tel que définie par le HACCP (Lammerding *et al.*, 1988; USDA, 1996; Korsak *et al.*, 1998; Letellier *et al.*, 1999b; Côté *et al.*, 2004). Ces variations au niveau des prévalences associées à la contamination des carcasses à l'abattoir peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, incluant: la prévalence des animaux porteurs sains, l'efficacité du processus de désinfection, la vitesse d'abattage et les manipulations inappropriées lors du processus d'abattage (Berends *et al.*, 1998; Swanenburg *et al.*, 2001a,b).

S. Typhimurium (28.8%) et *S. Derby* (17.3%) ont été les sérovars les plus fréquemment isolés dans cette étude. Bien que les prévalences rapportées soient variables selon les pays, ces résultats correspondent à ce qui est observé dans la littérature. Chez le porc, les sérovars Typhimurium et Derby sont parmi les plus prévalents rapportés au Québec, au Canada, et internationalement, aux États-Unis, en Europe, au Japon, au Pays-Bas, au Danemark et en Irlande (Dahl *et al.*, 1997; Davies *et al.*, 1998; Broes, 2001; Swanenburg *et al.*, 2001a; PHAC, 2003; Côté *et al.*, 2004). *S. Typhimurium* PT104 (33.3%) et PT193 (33.3%) ont été les types phagiques les plus retrouvés sur les carcasses de porc.

De plus, à titre comparatif, il est intéressant de noter qu'à l'abattoir A, accrédité HACCP, la prévalence de *Salmonella* spp. sur les carcasses a été significativement inférieure ($p = 0.0004$) comparativement aux prévalences évaluées dans les autres établissements. Comme mentionné précédemment, même si la méthodologie utilisée dans cette étude ne nous permet pas d'émettre des conclusions concernant l'efficacité des modèles HACCP à l'abattoir, une bonne maîtrise des points critiques à l'abattoir pourrait être associée à une prévention de la contamination des carcasses et ainsi amener une réduction de l'incidence de *Salmonella* spp. sur le produit fini (USDA, 1999).

Selon la méthodologie du HACCP, une étude sur la prévalence de *E. coli* biotype 1, type générique, comme microorganisme indicateur, a été réalisée sur les carcasses de porc réfrigérées afin d'évaluer les normes de rendement dans un établissement donné. Les comptages totaux moyens de *E. coli* sur les carcasses refroidies ont été de $1.85 \log \text{ cfu}/2500 \text{ cm}^2$. Ces résultats sont en accord avec une étude canadienne réalisée antérieurement dans sept abattoirs (Gill *et al.*, 2000).

Tel qu'observé pour *Salmonella* spp., des variations dans les prévalences d'*E. coli* sur les carcasses de porc réfrigérées d'un établissement à l'autre ont été remarquées. Dans deux établissements visités (abattoirs B et C), des comptes de *E. coli* sur les carcasses réfrigérées ont été observés à des niveaux dépassant la limite acceptable (limite marginale "m") par le HACCP, soit $>10 \text{ CFU}/\text{cm}^2$; à l'usine B, 4 sur 396 (1.0%) et à l'usine C, 22 sur 52 (42.3%) des échantillons de carcasses réfrigérées ont été considérés en dehors de la limite acceptable. De plus, il est intéressant d'observer que la présence de taux élevés de *E. coli* présents sur les carcasses réfrigérées dans les deux abattoirs mentionnés ont également été associés à des prévalences de *Salmonella* spp. plus élevées ($> 8.7\%$) sur les carcasses.

7.3.1 Étape du parage de la plaie de saignée

L'étude avait comme objectifs d'évaluer l'importance de la contamination microbienne par certains microorganismes pathogènes lors de la saignée, ainsi que d'évaluer l'efficacité de l'enlèvement (le parage) de la plaie de saignée comme point de contrôle du point critique.

Les résultats ont permis de conclure que les plaies de saignée présentaient un faible taux de contamination par *Salmonella* spp. (0.9%). Cette observation peut être expliquée, en partie, par l'action du flot sanguin pouvant favoriser l'expulsion des bactéries lors de l'opération. Similairement, une forte proportion des sites analysés n'a présenté aucune contamination par les coliformes fécaux, dont *E. coli*, avant et après le parage et qu'en comparaison, la charge bactérienne présente à ce niveau est inférieure à celle retrouvée à la surface interne du poitrail des carcasses fraîche, un site visuellement considéré comme indicateur de la contamination fécale des carcasses (Chapitre 4). Dans la présente étude, nous pouvons conclure que lors de l'abattage, les plaies de saignée ne représentent pas une source importante de contamination microbienne par *Salmonella* spp. et *E. coli*. L'étape de la saignée ne devrait donc pas être considérée comme un point critique systématique dans les modèles génériques HACCP.

Le parage des plaies de saignée a permis de réduire le niveau de la charge bactérienne en aérobiose présent aux sites analysés. Une diminution significative des comptes des bactéries aérobies totales au site de la plaie de saignée sur une même carcasse a été observée; sans toutefois qu'il y ait une réduction significative des taux de coliformes fécaux et d'*E. coli* présents aux sites analysés. Par contre, l'absence de différence significative observée pourrait s'expliquer en partie par le faible dénombrement de *E. coli* et coliformes fécaux présents aux sites de la plaies de saignée. Ainsi, le faible taux de contamination des plaies de saignée par *E. coli* et les coliformes fécaux a pu rendre difficile la mise en évidence de l'efficacité du parage appliqué auprès de ces microorganismes indicateurs.

Suite au parage de la plaie de saignée, aucune différence significative n'a été observée concernant le nombre de plaies de saignée contaminées avant et après l'opération. Ainsi, on évalue qu'il y a autant de sites contaminés qui deviennent sans contamination détectable après l'opération du parage que de sites sans contamination détectable au départ, qui deviennent contaminés après la procédure de l'employé.

Ces observations soulignent l'importance de respecter des manipulations appropriées, telles que: le lavage des mains et la stérilisation régulière du couteau lors de l'opération du parage de la plaie de saignée dans le but de réduire l'incidence de la contamination du site de la plaies de saignée. Cependant, dépendamment des techniques et des conditions d'abattages utilisées, les points critiques préalablement identifiés peuvent être propres à chaque établissement.

Par conséquent, l'extrapolation des ces résultats à d'autres établissements doit tenir compte de certains facteurs. À titre d'exemple, les facteurs suivants: le personnel et la technique utilisée, la vitesse d'abattage, la fréquence de stérilisation du couteau, la température de l'eau du stérilisateur, etc. sont tous des points pouvant faire varier la contamination des sites de la plaie de saignée et dont il faut tenir compte afin d'optimiser les résultats de cette opération. Une étude plus exhaustive réalisée dans plusieurs établissements pourrait permettre de vérifier la variabilité d'un établissement à l'autre.

7.3.2 Étapes de l'éviscération

Dans cette étude, une augmentation significative ($> 0,5$ log) des comptes des bactéries aérobies totales, des coliformes fécaux et des *E. coli* a été observée après l'étape de l'enlèvement des intestins. Il est intéressant d'observer que, suite à cette étape spécifique de l'éviscération, toutes les carcasses ont présenté une contamination par des coliformes fécaux, de même qu'une contamination par *E. coli* a été identifiée chez 29 des 32 carcasses.

Selon la méthodologie du HACCP, les coliformes fécaux et *E. coli* ont été choisis comme microorganismes indicateurs de la contamination fécale lors de l'évaluation des normes de rendement à l'abattoir. L'hypothèse justifiant cette méthodologie était que la majorité des agents pathogènes associés à la contamination des carcasses soient principalement d'origine fécale. Cette augmentation significative de la charge microbienne des microorganismes indicateurs observée sur les carcasses de porc immédiatement après l'enlèvement des intestins a permis de suggérer qu'une contamination directe par les matières fécales était importante. Par conséquent, lors de l'enlèvement des intestins, un risque de perforation intestinale peut survenir et causer le déversement de contenu fécal sur la carcasse. Ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par Rivas *et al.* (2000). Une décontamination du couteau entre chaque carcasse est recommandée par certains auteurs afin de réduire la contamination croisée (Childers *et al.*, 1977; Desmarchelier *et al.*, 1999).

Dans l'étude qui nous concerne, lors de l'éviscération, l'étape de l'enlèvement des intestins a été celle ayant le plus grand impact sur la charge microbienne des carcasses de porc. Cette étude a donc permis d'accentuer l'importance de contrôler l'étape de l'enlèvement des intestins afin d'amener un meilleur contrôle de la contamination bactérienne lors du processus d'éviscération. Il est donc proposé que le terme "éviscération" utilisé pour désigner le point critique dans les modèles de HACCP, soit redéfini et spécifique à l'étape de l'enlèvement des intestins afin de mieux refléter le risque de contamination microbienne lors de cette procédure.

La prévalence de la contamination fécale détectée visuellement sur les carcasses de porc suite à l'éviscération a été estimée à 6.1% (95% [IC], 5.4–6.9%). De plus, il a été observé que la contamination fécale survenait de façon significative ($p = 0.0002$) plus fréquemment sur les sites intérieurs comparativement aux surfaces externes des carcasses. Les parties basses des pattes avant ont été les sites les plus fréquemment contaminés lors de contamination fécale externe et, qu'en comparaison, la surface de la poitrine a été le site de prédilection lors de contamination interne de la carcasse.

Ces observations, concernant la distribution de la contamination fécale, correspondent à ce qui est rapporté dans la littérature par d'autres chercheurs (Borch *et al.*, 1996; Untermann *et al.*, 1997; Gill *et al.*, 1998). Ainsi, lors de la manipulation des carcasses, une contamination croisée causant une propagation de la contamination fécale à d'autres carcasses et dans l'environnement peut survenir lors du processus (Desmarchelier *et al.*, 1999). Tel que mentionné précédemment, la gestion des risques passe avant tout par de bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication. Une formation des employés donnant lieu à une meilleure connaissance des points critiques lors du processus d'abattage est un élément important afin de limiter le plus possible les contaminations croisées.

7.3.3 Suivi microbien des carcasses de porc à l'étape de la douche finale

Dans les modèles génériques HACCP, l'étape de la douche finale est considérée comme un moyen permettant de contrôler la contamination des carcasses de porc à la fin du processus d'abattage. Dans l'étude qui nous concerne, suite à l'étape de la douche finale, une réduction significative de la charge microbienne associée à *E. coli* et aux coliformes fécaux sur les surfaces externes échantillonnées des carcasses de porc a été observée. Ces résultats tendent à supporter certaines études réalisées indiquant que l'étape de la douche finale pouvait amener une réduction générale de la contamination fécale sur des régions étudiées à la surface des carcasses (Hardin *et al.*, 1995; Prasai *et al.*, 1995). Par contre, à cause des eaux d'écoulement, il a également été mentionné que l'étape de la douche finale pouvait provoquer une propagation de la contamination

microbienne retrouvée au niveau des carcasses de porc (Hardin *et al.*, 1995; Prasai *et al.*, 1995). Ce fait pourrait expliquer, en partie, l'absence de différence significative observée concernant la charge bactérienne totale.

Également, il a été intéressant de noter qu'à la fin du processus de l'abattage, les carcasses ont présenté un compte des bactéries en aérobies totales significativement plus élevée ($> 0.5 \log$) comparativement aux comptes observés en début du processus d'abattage. Cette étude permet de conclure que, dans l'établissement étudié, la charge bactérienne au niveau de la surface des carcasses augmentent tout au long du processus de l'abattage. Malgré l'étape de la douche finale, les comptes des bactéries aérobies totales sont significativement plus élevés comparativement à ceux au début du processus de l'abattage.

Ainsi, malgré d'appréciables efforts afin d'améliorer le processus d'abattage et de limiter la contamination des viandes par des bactéries pathogènes pour l'homme, on observe qu'un nombre significatif de carcasses de porc possèdent une charge bactérienne relativement élevée à la fin du processus de l'abattage. Certaines mesures de contrôle appliquées directement sur les carcasses à l'abattoir a donc été étudiées afin d'évaluer leur efficacité à assurer une réduction de la contamination microbienne sur le produit final.

7.4 Techniques de décontamination appliquées à l'abattoir

L'objectif de cette étude était d'abord de comparer et d'évaluer les techniques de parage et du lavage à l'eau chaude (55°C), sous forte pression, appliquées à l'abattoir sur les carcasses contaminées, puis d'analyser l'évolution de la contamination microbienne des carcasses de porc avant et après chacune des techniques employées. Au total, deux groupes de 40 carcasses tombées au sol ont été analysés avant et après l'utilisation des deux techniques de décontamination, ainsi qu'un groupe contrôle de 10 carcasses.

Les résultats ont permis d'observer que les carcasses tombées au sol lors des transferts dans les réfrigérateurs présentaient une augmentation significative ($p = 0.01$) de la charge bactérienne en aérobiose comparativement à celle observée sur les carcasses contrôles. Par contre, aucune différence significative ($p = 0.76$) n'a pu être détectée entre le taux des coliformes fécaux présents sur les carcasses contaminées et celui du groupe contrôle étudié.

De plus, dans le cadre de cette étude, les techniques du parage et du lavage à l'eau chaude appliquées sur des carcasses de porc contaminées dans un établissement d'abattage au Québec, pendant les opérations normales, se sont avérées comparables quant à leur efficacité à réduire la contamination microbienne des carcasses. Malgré des diminutions des comptes des bactéries aérobies totales et des taux de coliformes fécaux observées chez plus de 40% des carcasses contaminées lors de l'utilisation de l'une ou l'autre des techniques, ni les techniques de parage ou de lavage des carcasses n'ont démontré une efficacité supérieure quant à la diminution de la contamination microbienne des carcasses. Par contre, puisqu'une tendance à la réduction bactérienne a été observée chez plus de 40% des carcasses analysées dans cette étude, on ne peut exclure que les deux facteurs suivants aient pu influencer l'interprétation des résultats: le faible taux de la charge microbienne retrouvées sur les carcasses de porc contaminées et la taille de l'échantillonnage réalisé.

Dans la littérature, plusieurs conclusions différentes sont rapportées concernant l'efficacité de la technique du lavage ou du parage des carcasses. Selon Jericho *et al.* (1995), aucun changement majeur n'a pu être observé quant au niveau de la contamination bactérienne suite au processus de lavage des carcasses de bœuf. Par contre, lors d'expérimentations, la technique du parage a démontré une efficacité supérieure par rapport à celle du lavage quant à la contamination sur les carcasses de boeuf (Prasai *et al.*, 1995, Hardin *et al.*, 1995, Gorman *et al.*, 1995). Néanmoins, il faut souligner que ces expérimentations ont été réalisées dans des conditions de laboratoire pouvant mener à une optimisation des réductions bactériennes obtenues en comparaison avec la présente étude réalisée à l'abattoir.

De plus, des facteurs propres à chaque établissement peuvent mener à des variations de l'efficacité des techniques étudiées tels que: la température de l'eau, la distance entre le jet d'eau et la carcasse, la pression du jet d'eau et son volume. Il y a donc lieu d'approfondir les recherches afin de trouver une technique de décontamination fiable à l'abattoir qui assurerait une réduction significative de la charge bactérienne.

CHAPITRE 8.

Conclusion

Les études effectuées dans le cadre de ce projet ont permis d'accroître les connaissances en ce qui a trait à l'évaluation qualitative du risque associé à la présence de *Salmonella* spp. chez le porc à l'abattoir dans le contexte Québécois. Ce projet a également contribué à l'accroissement des connaissances concernant les étapes considérées critiques lors de l'abattage et sur l'évaluation de certaines mesures de contrôle actuellement appliquées en industrie. Cette étude offre à l'industrie porcine des données microbiologiques afin de peaufiner les évaluations du risque dans le but d'optimiser le contrôle des infections à *Salmonella* spp. face à l'homme. Plus précisément, les conclusions de ce projet sont :

- Le porc est un réservoir significatif de *Salmonella* spp. et représente une source de contamination de la viande par les matières fécales lors de l'éviscération des carcasses à l'abattoir. La présence prédominante chez le porc du sérovar Typhimurium type phagique 104, caractérisé par sa multirésistance aux antimicrobiens, intensifie le besoin de contrôler la contamination microbienne des carcasses.
- La présence de liens génétiques observés entre les souches de *S. Typhimurium* PT104 d'origine animale et humaine met en évidence l'importance du rôle du porc et du poulet à griller à titre de réservoirs potentiels de souches de *Salmonella* spp. multirésistantes impliquées dans les cas sporadiques de la salmonellose chez l'homme.
- Les isolats de *Salmonella* spp. d'origine animale (porc et poulet à griller) présentent des taux significativement plus élevés de résistance antimicrobienne (71.2%; 95% intervalle de confiance [CI], 64.9–77.5) comparativement aux isolats d'origine humaine (27.2%; 95% [CI], 14.1–40.4).

- La prévalence de la contamination fécale détectée visuellement sur les carcasses de porc suite à l'éviscération a été estimée à 6.1% (95% [IC], 5.4–6.9%).
- Lors de contamination fécale externe, les parties basses des pattes avant sont les sites les plus fréquemment contaminés et, en comparaison, la surface de la poitrine est le site de prédilection lors de contamination interne de la carcasse.
- Les tabliers, les gants des employés et les surfaces de travail sont parmi les sites les plus fréquemment contaminés lors des opérations normales d'abattage; et peuvent être impliqués dans la contamination croisée des carcasses de porc par des bactéries pathogènes.
- Par une analyse comparative dans deux abattoirs, des réductions significatives des prévalences estimées de *Salmonella* spp. dans l'environnement ($p = 0.0003$) et sur les carcasses réfrigérées ($p = 0.0004$) ont été observées à l'abattoir certifié HACCP, caractérisé par la mise en place de standards hygiéniques élevés.
- L'étape de la saignée n'est pas considérée comme un point critique (CCP) tel qu'il a été suggéré dans les modèles génériques HACCP; les plaies de saignée ne représentent pas une source importante de contamination par des microorganismes, tels que *Salmonella* spp. et *E. coli*.
- L'étape de l'enlèvement des intestins est une étape à risque élevé de contamination des carcasses. Il est proposé que le CCP identifié comme "éviscération", dans les modèles HACCP, soit redéfini par l'étape de "l'enlèvement des intestins" afin de mieux refléter l'importance du risque de contamination microbienne à cette étape.
- Aucune diminution significative de la charge des bactéries aérobies totales présente sur les carcasses de porc n'a pu être démontrée suite à l'étape de la douche finale à la fin du processus d'abattage.

- Les techniques de décontamination des carcasses étudiées, soit le parage ou le lavage à l'eau chaude (55°C), appliquées chez le porc à l'abattoir n'ont démontré aucune efficacité supérieure quant à la diminution significative de la contamination microbienne des carcasses de porc; aucune différence significative ($p = 0.37$) concernant la contamination microbienne n'a été observée entre avant et après le parage ou le lavage à l'eau chaude (55°C) des carcasses.

Grâce à cette étude, plusieurs avenues d'investigations futures peuvent être indiquées. Ces travaux de recherche mettent en relief la nécessité de développer une surveillance intégrée des souches multirésistantes de *Salmonella* spp. retrouvées tant en productions animales que chez l'humain afin d'obtenir un meilleur contrôle au Canada.

Des études supplémentaires concernant l'épidémiologie de la transmission de gènes de résistance retrouvés chez les isolats d'origine animale et humaine seraient une avenue de recherche très intéressante. L'évaluation quantitative du risque nécessite une bonne connaissance des mécanismes de transfert de l'antibiorésistance des animaux vers l'humain. Pour la plupart des antibiotiques, ces connaissances seraient encore trop partielles et incomplètes pour obtenir des évaluations de risques valides et crédibles. Une meilleure compréhension de la relation entre l'usage des antibiotiques en production animale et l'antibiorésistance chez les humains serait bénéfique afin de développer une stratégie visant à limiter la propagation de la résistance antimicrobienne et à optimiser le choix des antimicrobiens lors d'usage thérapeutique.

Le développement et l'application de méthodes de détection rapide, en temps réel, précises, peu coûteuses et applicables à l'abattoir dans le domaine de la microbiologie alimentaire permettraient un meilleur suivi de la contamination des carcasses et des bactéries pathogènes alimentaires. Des études complémentaires sur des techniques génotypiques ou biochimiques rapides, tels le PCR (polymerase chain reaction) ou la bioluminescence, applicables à l'abattoir pourraient être profitables dans l'évaluation rapide des niveaux de la contamination microbienne des carcasses et/ou de l'environnement lors du processus d'abattage dans le contexte des modèles HACCP.

De plus, afin d'optimiser la réduction de la contamination microbienne des carcasses de porc à la fin du processus d'abattage, le développement des techniques de décontamination applicables sur les carcasses de porc serait nécessaire; notamment la pasteurisation ou l'utilisation de techniques de décontamination multiples (telles que le parage suivi d'un lavage des carcasses).

Finalement, cette étude soulève un point important en ce qui a trait à l'intégration de l'analyse du risque dans une perspective de la ferme à la table. La mondialisation en production alimentaire, la transformation, la distribution et la préparation des aliments amènent une demande de plus en plus croissante dans le domaine de la recherche en sécurité alimentaire. Une évaluation du risque intégrée permettrait d'assurer une gestion et une communication du risque efficace auprès du consommateur. Des études plus poussées sur les facteurs de risques associés à la présence de *Salmonella* spp. à tous les niveaux de la production seraient souhaitables. Ces données permettraient de peaufiner les évaluations du risque afin d'optimiser les mesures de contrôle dans la prévention des toxi-infections liées à la présence de *Salmonella* spp. dans la viande porcine. Également, cette démarche pourrait être appliquée à d'autres types d'industrie agro-alimentaire, telle l'industrie de la production laitière.

BIBLIOGRAPHIE

- ACAUIR (Advisory Committee on Animal Uses of Antimicrobials and Impact on Resistance and Human Health).** 2002. Uses of antimicrobials in animals in Canada: impact on resistance and human health. Veterinary Drugs Directorate, Health Canada, Ottawa.
- Anderson, E. S., Ward, L. R., Saxe, M. J., de Sa J. D.** 1977. Bacteriophage-typing designations of *Salmonella* Typhimurium. *J. Hyg.*, 78:297-300.
- Anderson, E. S., Williams, R. E.** 1956. Bacteriophage typing of enteric pathogens and staphylococci and its use in epidemiology. *J. Clin. Pathol.* 9(2):94-127.
- Antunes, P., Machado, J., Sousa, J. C., Peixe, L.** 2004. Dissemination amongst humans and food products of animal origin of a *Salmonella* Typhimurium clone expressing an integron-borne OXA-30 beta-lactamase. *J. Antimicrob. Chemother.* 54(2): 429-34.
- Bacon, R. T., Belk, K. E., Sofos, J. N., Clayton, R. P., Reagan, J. O., Smith, G. C.** 2000. Microbial populations on animal hide and beef carcasses at different stages of slaughter in plants employing multiple-sequential interventions for decontamination. *J. Food Prot.* 63: 1080-1086.
- Baggesen, D. L., Sandvang, D., Aarestrup, F. M.** 2000. Characterization of *Salmonella* enterica serovar typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *J. Clin. Microbiol.* 38(4): 1581-1586.
- Baggesen, D. L., Sorensen, L. L., Krause, M., Gerner-Smidt, P.** 1997. The occurrence of *Salmonella* enterica serotypes in animal, feed, pig, pork and man. In Proceedings of the Second International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in pork. Denmark. pp.56-59.

- Bauerfeind, R., Barth, S., Weiss, R., Baljer, G.** 2001. Prevalence of the *Salmonella* plasmid virulence gene "spvD" in *Salmonella* strains from animals. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 108(6): 243–5.
- Bäumler, A. J., Hargis, B. M., Tsolis, R. M.** 2000. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. Science. 287(5450): 50-2.
- Bäumler, A. J., Tsolis, R. M., Heffron, F.** 1997. Fimbrial adhesins of *Salmonella* Typhimurium. Role in bacterial interactions with epithelial cells. Adv. Exp. Med. Biol. 412: 149–158.
- Bean, N. H., Goulding, J. S., Lao, C., Angulo, F. J.** 1996. Surveillance for foodborne disease outbreaks—United States, 1988–1992. CDC Surveillance Summaries Morbid. Mortal Weekly Rep. 45:1–65.
- Bean, N. H., Griffin, P. M.** 1992. *Salmonella* surveillance, annual summary. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga.
- Beloil, P. A., Chauvin, C., Proux, K., Madec, F., Fravalo, P., Alioum, A.** 2004. Impact of the *Salmonella* status of market-age pigs and the pre-slaughter process on *Salmonella* caecal contamination at slaughter. Vet. Res. 35(5):513-30.
- Benjamin, W. H., Turnbough, C. L., Posey, B. S., Briles, D. E.** 1985. The ability of *Salmonella* Typhimurium to produce the siderophore enterobactin is not a virulence factor in mouse typhoid. Infect. Immun. 50:392–97.
- Berends, B. R., Urlings, H. A. P., Snijders, J. M. A., Van Knapen, F.** 1996. Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. Int. J. Food Microbiol. 30:37–53.

- Berends, B. R., Van Knapen, F., Mossel, D. A., Burt, S. A., Snijders, J. M.** 1998. *Salmonella* spp. on pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. *Int. J. Food Microbiol.* 44(3): 207–17.
- Berends, B. R., Van Knapen, F., Snijders, J. M., Mossel, D. A.** 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 36:199–206.
- Blaha T.** 1997. Public health and pork: pre-harvest food safety and slaughter perspectives. *Rev Sci Tech.* Aug;16(2): 489-95.
- Blanc, D. S., Siegrist, H. H.** 1995. Typage bactérien: méthodes et valeur épidémiologique. *Infections nosocomiales et hygiène hospitalière: aspects actuels.* 2(1). 8 p. [En ligne]. <http://www.chuv.ch/swiss-noso/cf21a3.htm> (Page consultée le 28 novembre 2005).
- Bolton D. J., Doherty, A. M., Sheridan, J. J.** 2001. Beef HACCP: intervention and non-intervention systems. *Int. J. Food Microbiol.* May 21; 66(1-2):119–29.
- Bolton, D. J., Pearce, R. A., Sheridan, J. J., Blair, I. S., McDowell, D. A., Harrington, D.** 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *J. Appl. Microbiol.* 92(5):893-902.
- Borch, E., Nesbakken, T., Christensen, H.** 1996. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 30:9–25.
- Botteldoorn, N., Heyndrickx, M., Rijpens, N., Grijspeerdt, K., Herman, L.** 2003. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *J. Appl. Microbiol.* 95(5):891-903.

- Brenner, F. W., McWhorter-Murlin, A. C.** 1998. Identification and serotyping of *Salmonella*. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga.
- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., Swaminathan, B.** 2000. *Salmonella* nomenclature. *J. Clin. Microbiol.* 38(7): 2465–7.
- Briggs, C. E., Fratamico, P. M.** 1999. Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *salmonella* Typhimurium DT104. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:846–849.
- Brisabois A.** 2001. Intérêt et limites des techniques de caractérisation des *Salmonella*. *Epidémiol. Et santé anim.* 39: 31-42.
- Broes, A.** 2001. Agents de toxi-infections. Centre de développement du porc du Québec inc. *Rapport.* 7(3): 2.
- Brown, M. H., Gill, C. O., Hollingsworth, J., Nickelson, R. 2nd, Seward, S., Sheridan, J. J., Stevenson, T., Sumner, J. L., Theno, D. M., Osborne, W. R., Zink, D.** 2000. The role of microbiological testing in systems for assuring the safety of beef. *Int J. Food Microbiol.* Dec 5;62(1-2): 7-16.
- Bryan, F. L.** 1980. Foodborne disease in the United States associated with meat and poultry. *J. Food Prot.* 43, pp. 140–150.
- Bryan, F. L.** 1988. Risks associated with vehicles for foodborne pathogens and toxins. *J. Food Prot.* 51: 498–508.
- Bryan, F. L.** 1998. Foods of animal origin and risks for the consumer. *Proc. World Congress on Food Hygiene.* pp. K23-K37.

- Bryan, F.L., Doyle, M.P.** 1995. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *Journal of Food Protection*, 58(3): 326–344.
- Bryant, J., Brereton, D. A., Gill, C. O.** 2003. Implementation of a validated HACCP system for the control of microbiological contamination of pig carcasses at a small abattoir. *Can. Vet. J.* 44(1):51-5.
- Buchanan, R. L., Whiting, R. C.** 1998. Risk assessment: a means for linking HACCP plans and public health. *J. Food Prot.* 61(11): 1531–4.
- Busani, L., Graziani, C., Battisti, A., Franco, A., Ricci, A., Vio, D., Digiannatale, E., Paterlini, F., D'Incau, M., Owczarek, S., Caprioli, A., Luzzi, I.** 2004. Antibiotic resistance in *salmonella enterica* serotypes Typhimurium, Enteritidis and Infantis from human infections, foodstuffs and farm animals in Italy. *Epidemiol Infect.* 132(2):245-51.
- Buzby, J. C., Roberts, T.** 1996. ERS Updates U.S. Foodborne Disease Costs for Seven Pathogens. *FoodReview.* 19: 20–25.
- Carlson, S. A., McCuddin, Z. P., Wu, M. T.** 2005. SlyA regulates the collagenase-mediated cytopathic phenotype in multiresistant *Salmonella*. *Microb. Pathog.* 38(4): 181–7.
- Carlson, S. A., Stoffregen, W. C., Bolin, S. R.** 2002. Abomasitis associated with multiple antibiotic resistant *salmonella enterica* serotype Typhimurium phagetype DT104. *Vet. Microbiol.* 85(3):233–40.
- Casals, J. B., Pringler, N.** 1991. Antibacterial sensitivity testing using Neo-Sensitabs. Rosco Diagnostica, Taastrup, Denmark.

- Castelo, M. M., Kang, D. H., Siragusa, G. R., Koohmaraie, M., Berry, E. D.** 2001. Evaluation of combination treatment processes for the microbial decontamination of pork trim. *J. Food Prot.* 64(3):335-42.
- Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W., Acuff, G. R.** 1998. Comparison of water wash, trimming, and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. *J. Food Prot.* 61: 823-828.
- Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W., Acuff, G. R.** 1999. Decontamination of beef carcass surface tissue by steam vacuuming alone and combined with hot water and lactic acid sprays. *J. Food Prot.* 62:146-151.
- Caya, F., Fairbrother, J. M., Lessard, L., Quessy, S.** 1999. Characterization of the risk to human health of pathogenic *Escherichia coli* isolates from chicken carcasses. *J. Food Prot.* 62 (7):741-746.
- CFIA (Canadian Food Inspection Agency).** 2002. Normes de rendement du USDA relatives à *Salmonella*. Réduction du nombre de pathogènes et systèmes HACCP. Chapitre 11. Annexe U. [En ligne].
<http://www.inspection.gc.ca/francais/anima/meavia/mmopmmhv/chap11/us-eu/annexuf.shtml> (Page consultée le 28 novembre 2005).
- CFIA (Canadian Food Inspection Agency).** 2005a. Le Programme d'amélioration de la salubrité des aliments, Modèles génériques HACCP. [En ligne].
<http://www.inspection.gc.ca/francais/fssa/polstrat/haccp/modelf.shtml> (Page consultée le 28 novembre 2005).

- CFIA (Canadian Food Inspection Agency).** 2005b. Dépistage d'*Escherichia coli* (*E. coli*) dans les abattoirs. Réduction du nombre de pathogènes et systèmes HACCP. Chapitre 11. Annexe T. [En ligne].
<http://www.inspection.gc.ca/francais/anima/meavia/mmopmmhv/chap11/us-eu/annextf.shtml> (Page consultée le 28 novembre 2005).
- Champagne, M. J., Ravel, A., Daignault, D.** 2005. A comparison of sample weight and culture methods for the detection of *Salmonella* in pig feces. *J. Food Prot.* 68 (5):1073–6.
- Childers, A. B., Keahey, E. E., Kotula, A. W.** 1977. Reduction of *Salmonella* and fecal contamination of pork during swine slaughter. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171(11):1161–1164.
- Clarke, R. C., Gyles, C. L.** 1993. *Salmonella*. In Pathogenesis of bacterial infections in animals, 2nd edition. Gyles, C. L., and Thoen, C. O. eds. Iowa State University Press, pp. 133–153.
- Codex (Codex Alimentarius Commission).** 1999. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment, CAC/GL-30. Food and Agriculture Organization, Rome, 6 p. [En ligne].
ftp://ftp.fao.org/codex/standard/Booklets/Hygiene/Fh_fr.pdf (Page consultée le 28 novembre 2005).
- Cohen, N. D., Neibergs, H. L., Wallis, D. E., Simpson, R. B.** 1994. Genus-specific detection of *salmonellae* in equine feces by use of the polymerase chain reaction. *Am. J. Vet. Res.* 55: 1049–1054.
- Corantin, H., Quessy, S., Gaucher, M. L., Lessard, L., Leblanc, D., Houde, A.** 2005. Effectiveness of steam pasteurization in controlling microbiological hazards of cull cow carcasses in a commercial plant. *Can. J. Vet. Res.* 69(3): 200-7.

- Corrégé, I.** 2001. La problématique salmonelles en filière porcine. *Techni Porc.* 24(2): 25-31.
- Côté, S.** 2003. Étude de la distribution de *Salmonella* spp. dans les tissus chez le porc suite à une infection naturelle et expérimentale. Mémoire de maîtrise. Université de Montréal, Faculté des études supérieures. 90 p.
- Côté, S., Letellier, A., Lessard, L., Quessy, S.** 2004. Distribution of *Salmonella* in tissues following natural and experimental infection in pigs. *Can. J. Vet. Res.* 68(4): 241-8.
- Cruchaga, S., Echeita, A., Aladuenza, A., Garcia-Pena, J., Frias, N., Usera, M. A.** 2001. Antimicrobial resistance in *salmonellae* from humans, food and animals in Spain in 1998. *J. Antimicrob. Chemother.* 47(3):315-21.
- Crump, J. A., Barrett, T. J., Nelson, J. T., Angulo, F. J.** 2003. Reevaluating Fluoroquinolone Breakpoints for *Salmonella* enterica Serotype Typhi and for Non-Typhi Salmonellae. *Clin. Infect. Dis.* 37:75-81.
- Curiale, M. S., Sons, T., McAllister, J. S., Halsey, B., Fox, T.L.** 1990. Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 73:242-248.
- D'Aoust, J. Y., Sewell, A. M., Warburton, D. W.** 1992. A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella*. *Int. J. Food Microbiol.* 16(1):41-50.
- Dahl, J., Wingstrand, A., Nielsen, B., Baggesen, D. L.** 1997. Elimination of *Salmonella* Typhimurium infection by the strategic movement of pigs. *Vet Rec.* 28: 140(26): 679-81.

- Daniel, W. W.** 1991. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*, 5^e éd., New York, Wiley, p. 188–271 et 586–589.
- Davies, P. R., Bovee, F. G., Funk, J. A., Morrow, W. E., Jones, F. T., Deen, J.** 1998. Isolation of *Salmonella* serotypes from feces of pigs raised in a multiple-site production system. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 15; 212(12): 1925–9.
- Davies, R. H., McLaren, I. M., Bedford, S.** 1999. Distribution of *Salmonella* contamination in two pig abattoirs. In *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork* pp, Washington DC, USA: 267–272.
- Desmarchelier P. M., Higgs, G. M., Mills, L., Sullivan, A. M., Vanderlinde, P. B.** 1999. Incidence of coagulase positive *Staphylococcus* on beef carcasses in three Australian abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* 47(3): 221–229.
- Dibb-Fuller, M. P., Allen-Vercoe, E., Thorns, C. J., Woodward, M. J.** 1999. Fimbriae and flagella mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by *salmonella* Enteritidis. *Microbiology.* 145 (Pt 5):1023–31.
- Dickson, J. S.** 1988. Reduction of bacteria attached to meat surfaces by washing with selected compounds. *J. Food Prot.* 51: 869
- Di Guardo, G., Fontanelli, G., Panfili, G., Condoleo, R., De Grossi, L., Brozzi, A.M., Bozzano, A.I.** 1992. Occurrence of *Salmonella* in swine in the latium region (central Italy) from 1980 to 1989: A retrospective study. *Veterniray Quarterly* 14:62-65.

- Dore, K., Buxton, J., Henry, B., Pollari, F., Middleton, D., Fyfe, M., Ahmed, R., Michel, P., King, A., Tinga, C., Wilson, J. B.** 2004. Multi-Provincial *salmonella* Typhimurium Case-Control Study Steering Committee. Risk factors for *salmonella* Typhimurium DT104 and non-DT104 infection: a Canadian multi-provincial case-control study. *Epidemiol. Infect.* 132(3):485–93.
- Dorsa, W. J., Cutter, C. N., Siragusa, G. R.** 1996. Effectiveness of steam-vacuum sanitizer for reducing *Escherichia coli* O157:H7 inoculated to beef carcass surface tissue. *Lett. Appl. Microbiol.* 23:61–63.
- Doublet, B., Boyd, D., Mulvey, M. R., Cloeckert, A.** 2005. The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Mol. Microbiol.* 55(6):1911–24.
- Eblen, D. R., Levine, P., Rose, B. E., Saini, P., Mageau, R., Hill, W. E.** 2005. Nationwide microbiological baseline data collected by sponge sampling during 1997 and 1998 for cattle, swine, turkeys, and geese. *J. Food Prot.* 68(9):1848–52.
- Euzéby, J. P.** 1999. Revised *Salmonella* nomenclature: designation of *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards, 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nom., nom. rev. as the neotype species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 (approved lists 1980), rejection name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (approved lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (approved lists 1980). Request for an opinion. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49:927-930.
- Euzéby, J. P.** 2004. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. Lipopolysaccharides (antigènes O et endotoxines). École nationale vétérinaire de Toulouse. [En ligne]. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bacteriogene/lipopolysaccharide.html> (Page consultée le 28 décembre 2005).

- Euzéby, J. P.** 2005. Dictionnaire de bactériologie vétérinaire. [En ligne].
<http://www.bacdico.net> (Page consultée le 20 avril 2005).
- Falkow, S., Mekalanos, J.** 1990. The enteric bacilli and vibrios in Microbiology. Davis, B., Dulbecco, R., Eisen, H., Ginsberg, H. eds. 4th edition. pp. 576–579.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), WHO (World Health Organization).** 1995. Application of risk analysis to food standards issues. Report of the joint FAO/WHO expert consultation. Geneva, Switzerland 13–17 March. WHO, Geneva.
- Fedorka-Cray, P. J., Kelly, L. C., Stabel, T. J., Gray, J. T., Laufer, J. A.** 1995. Alternate routes may affect the pathogenesis of *Salmonella* Typhimurium in swine. Infect. Immun. 63:2658–2664.
- Ferris, K., Frerichs, W.** 1996. Summary of *Salmonella* isolated from swine. Ames, Iowa: Nat. Vet. Services Laboratories.
- Finlay, B. B., Brumell, J. H.** 2000. *Salmonella* interactions with host cells: *in vitro* to *in vivo*. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 355: 623–631.
- Finlay, R. C., Mann, E. D., Horning, J. L.** 1986. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination in Manitoba swine carcasses. Can. Vet. J. 27:185–187.
- Fleiss, J. L.** 1981. *Statistical Methods for Rates and Proportions*, 2^e éd., New York, Wiley, p. 113–119.
- Flensburg J.** 1999. Control program to eradicate *Salmonella* in animal production in Denmark. Acta. Vet. Scand. Suppl. 91:51–8.

Frigon, M. 2005. Rapport annuel 2004 — Maladies à déclaration obligatoire — Région de la Capitale nationale, Beauport, Agence de développement de réseaux locaux de services de santé et de services sociaux de la Capitale nationale, Direction régionale de santé publique de la Capitale nationale, p. 70.

FSIS (Food Safety and Inspection Service), United States Department of Agriculture. 1996. *Pathogen reduction; Hazard analysis and critical control point systems*, 9 CFR Part 304. 81:149–152.

Gebreyes, W. A., Davies, P.R., Turkson, P. K., Morrow, W. E., Funk, J. A., Altier, C., Thakur, S. 2004a. Characterization of antimicrobial-resistant phenotypes and genotypes among *Salmonella enterica* recovered from pigs on farms, from transport trucks, and from pigs after slaughter. *J. Food Prot.* 67(4): 698-705.

Gebreyes, W. A., Thakur, S. 2005. Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Muenchen from pigs and humans and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(2): 503-11.

Gebreyes, W. A., Thakur, S., Davies, P. R., Funk, J. A., Altier, C. 2004b. Trends in antimicrobial resistance, phage types and integrons among *Salmonella* serotypes from pigs, 1997-2000. *J. Antimicrob. Chemother.* 53(6) : 997–1003.

Gerats, G. E. C. 1990. Working towards quality. Aspects of quality control and hygiene in the meat industry. Thesis, Utrecht University, Utrecht. The Netherlands.

Gill, C.O. 1998. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs, p. 118-157. *In* A.R. Davies and R.G. Board (ed.), *The Microbiology of meat and poultry*. Blackie Academic, London.

- Gill, C. O., Bryant, J.** 1992. The contamination of pork with spoilage bacteria during commercial dressing, chilling and cutting of pig carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 16: 51–62.
- Gill, C. O., Bryant, J.** 1993. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. *Food Microbiol.* 10:337–344.
- Gill, C. O., Delandes, B., Rahn, K., Houde, A., Bryant, J.** 1998. Evaluation of the hygienic performances of the processes for beef carcass dressing at 10 packing plants. *J. Appl. Bacteriol.* 51:345–54.
- Gill, C. O., Dussault, F., Holley, R. A., Houde, A., Jones, T., Rheault, N., Rosales, A., Quessy, S.** 2000. Evaluation of the hygienic performances of the processes for cleaning, dressing and cooling pig carcasses at eight packing plants. *Int. J. Food Microbiol.* 30: 58(1-2) : 65-72.
- Gill, C. O., Jones, T.** 1997. Assessment of the hygienic characteristics of a process for dressing pasteurized pig carcasses. *Food Microbiol.* 14:81–91.
- Gill, C. O., Landers, C.** 2003. Microbiological effects of carcass decontaminating treatments at four beef packing plants. *Meat Science.* 63: 1005–1011.
- Gill, C. O., McGinnis, D. S., Bryant, J., Chabot, B.** 1995. Decontamination of commercial, polished pig carcasses with hot water, *Food Microbiology.* 12(2): 143–149.
- Glynn, M. K., Bopp, C., Dewitt, W., Dabney, P., Mokhtar, M., Angulo, F. J.** 1998. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 infections in the United States. *N. Engl. J. Med.* 338:1333–1338.

- Gorman, B. M., Morgan, J. B., Sofos, J. N., Smith, G. C.** 1995. Microbiological and visual effects of trimming and/or spray washing for removal of fecal material from beef. *J. Food Prot.* 58: 984–989.
- Gorman, R., Adley, C. C.** 2004. Characterization of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from human, food, and animal sources in the Republic of Ireland. *J. Clin. Microbiol.* May; 42(5):2314–6.
- Gray, J. T., Fedorka-Cray, P. J.** 1996. Salmonellosis in swine; a review of significant areas affecting the carrier state. First international symposium. Ecology of *Salmonella* in pork production. Ames, Iowa. March 11–13.
- Gray, J. T., Fedorka-Cray, P. J.** 2001. Survival and infectivity of *Salmonella choleraesuis* in swine feces. *J Food Prot.* 64(7): 945–9.
- Gray, J. T., Fedorka-Cray, P. J., Stabel, T. J., Kramer, T. T.** 1995. Transmission of *Salmonella Choleraesuis* in swine. *Applied Environ. Microbiol.* 62:141–146.
- Grimont P. A. D., Grimont F., Bouvet P.** 2000. Taxonomy of the genus *Salmonella*. In C. Wray (ed.), *Salmonella* in domestic animals. CABI Publishing, CAB International, New York, U.S.A.
- Groisman, E. A., Blanc-Potard, A. B., Uchiya, K.** 1999. Pathogenicity Islands and the Evolution of *Salmonella* Virulence. pp. 127–150. In Pathogenicity Islands and Other Mobile Virulence Elements. Kaper, J. B., and Hacker, J. eds. ASM Press. Washington D. C.
- Groisman, E. A., Fields, P. I., Heffron, F.** 1990. Molecular biology of *Salmonella* pathogenesis. In Sokatch J.R., Nicholas O.L. (eds): *The Bacteria: A Treatise on structure and function.* San Diego, Academic Press. 251–271.

- Guilloteau, L. A., Wallis, T. S., Gautier, A. V., MacIntyre, S., Platt, D. J., Lax, A. J.** 1996. The *Salmonella* virulence plasmid enhances *Salmonella*-induced lysis of macrophages and influences inflammatory responses. *Infect. Immun.* 64:3385–3393.
- Hald, T., Wegener, H. C.** 1999. Quantitative assessment of the sources of human salmonellosis attributable to pork. Proc. of the 3rd International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, 4–7 Aug, Washington, D.C. Urbana-Champaign (IL): University of Illinois. p. 200–5.
- Hald, T., Wingstrand, A., Swanenburg, M., von Altrock, A., Thorberg, B. M.** 2003. The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. *Epidemiol Infect.* 131(3):1187–203.
- Hall, H. K., Foster, J. W.** 1996. The role of fur in the acid tolerance response of *salmonella* Typhimurium is physiologically and genetically separable from its role in iron acquisition. *J. Bacteriol.* 178(19):5683–91.
- Hanes, D.** 2003. Nonotyphoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier, J. (Eds.) International Handbook of Foodborne Pathogens, Marcel Dekker: New York, 137–149.
- Hardin, M. D., Acuff G. R., Lucia L. M., Oman J. S., Savell J. W.** 1995. Comparison of methods for contamination removal from beef carcass surfaces. *J. Food Prot.* 58:368–374.
- Hardman, P. M., Wathes C. M., Wray, C.** 1991. Transmission of *Salmonellae* among calves penned individually. *Vet. Rec.* 129:327–329.
- Harris, K. B., Pfeiffer, M.L. et Cross, H.R.** 1995. La Méthode HACCP dans l'industrie américaine de la viande. *Viandes Prod. Carnés.* 16:187–192.

- Hendriksen, S. W., Orsel, K., Wagenaar, J. A., Miko, A., van Duijkeren, E.** 2004. Animal-to-human transmission of *Salmonella* Typhimurium DT104A variant. *Emerg Infect Dis.* Dec;10(12):2225-7.
- Hogue, A. T., Akkina, J., Angulo, F., Johnson, R., Petersen, K., Sainsi, P., Schlosser, W.** 1997. Situation assessment: *Salmonella* Typhimurium DT104. Washington, DC: Food Safety and Inspection Service, U.S. Department of Agriculture.
- Hogue, A. T., White, P. L., Heminover, J. A.** 1998. Pathogen Reduction and Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) systems for meat and poultry. USDA. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 14(1):151-64.
- Hu, L., Kopecko, D.** 2003. Typhoid *Salmonella*. In: Miliotis N., Bier J. (Eds.), *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Marcel Dekker: New York, pp. 151-165.
- Hueck, C. J.** 1998. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62(2): 379-433.
- Hurd, H. S., Gailey, J. K., McKean, J. D., Griffith, R. W.** 2005. Variable abattoir conditions affect *Salmonella enterica* prevalence and meat quality in swine and pork. *Foodborne Pathog Dis.* 2(1) : 77-81.
- Hurd, H. S., Gailey, J. K., McKean, J. D., Rostagno, M. H.** 2001a. Experimental rapid infection in market swine following exposure to *Salmonella* contaminated environment. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 114(9-10):382-384.
- Hurd, H. S., Gailey, J. K., McKean, J. D., Rostagno, M. H.** 2001b. Rapid infection in market-weight swine following exposure to a *Salmonella* Typhimurium-contaminated environment. *Am. J. Vet. Res.* 62(8): 1194-1197.

- Hurd, H. S., McKean, J. D., Wesley, I. V., Karriker, L. A.** 2001c. The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. *J. Food Prot.* 64(7):939–44.
- ICMSF (International Commission on microbiological specification for foods).** 1996. *Salmonellae*. In: ICMSF (Ed.), *Microorganisms in Foods 5. Characteristics of Microbial Pathogens*. Blackie Academic & Professional: London: 217–264.
- Isaacson R. E., Weigel, R. M., Firkins, L.D., Bahnson, P.** 1999. The effect of feed withdrawal on the shedding of *Salmonella* Typhimurium by swine. In *Proceedings 3th International Symposium on Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington, D.C. pp.296-298.
- Jaime, J., Saide, A.** 1995. Contamination of pork carcasses during slaughter fabrication, and chilled storage. *J. Food Protect.* 58:993–997.
- Jarvis, B.** 1989. *Statistical aspects of the microbiological analysis of foods*, Amsterdam, Elsevier.
- Jericho, K. W., Bradley, J. A., Kozub, G. C.** 1995. Microbiologic evaluation of carcasses before and after washing in beef slaughter plant. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206: 452–455.
- Jones, B. D., Falkow, S.** 1996. Salmonellosis: Host immune responses and bacterial virulence determinants. *Annu. Rev. Immunol.* 14: 533–561.
- Kaufmann, M. E., Pitt, T. L.** 1994. Pulsed-field gel electrophoresis bacterial DNA, chapter 8. In H. Chart (ed.), *Methods in practical laboratory bacteriology*. CRC Press, London, UK.

- Keenlside, J., Gensler, G., King, R., McFall, M. E., Goonewardene, L.** 2005. Prevalence and relatedness of *Salmonella* spp. in a Canadian abattoir. Proceedings of the 6th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork, California, USA, 38-41.
- Khakhria, R., Lior, H.** 1980. Distribution of phagovars of *Salmonella* Typhimurium in Canada (1969–1976). Zentralbl. Bakteriologie. [A] 248, pp. 60–63.
- Khakhria, R., Mulvey, M., Ahmed, R., Woodward, D., Johnson, W.** 1998. Emergence of multi-resistant strain of *Salmonella* Typhimurium phage type 104 (DT104) in Canada. 19th International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, Georgia. ICEID Poster P22-19.
- Khakhria, R., Woodward, D., Johnson, W. M., Poppe, C.** 1997. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1983–92. Epidemiol. Infect. 119(1): 15–23.
- Korsak, N., Clinquart, A., Daube, G.** 2004a. *Salmonella* spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale: Un réel problème de santé publique? Ann. Méd. Vét. 148: 174–193.
- Korsak, N., Daube, G., Ghafir, Y., Chahed, A., Jolly, S., Vindevogel, H.** 1998. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. J. Food Prot. 61(5): 535–41.
- Korsak, N., Degeye, J. N., Etienne, G., China, B., Daube, G.** 2004b. Comparison of four different methods for *Salmonella* detection in fecal samples of porcine origin. J. Food Prot. 67(10): 2158–64.

- Korsak, N., Jacob, B., Groven, B., Etienne, G., China B., Ghafir Y., Daube G.** 2003. *Salmonella* contamination of pigs and pork in an integrated pig production system. *J. Food Prot.* 66, 1126-1133.
- Lailier, R., Grimont, F., Jones, Y., Sanders, P., Brisabois, A.** 2002. Subtyping of *Salmonella* Typhimurium by pulsed-field gel electrophoresis and comparisons with phage types and resistance types. *Pathologie Biologie*, 50(6): 361-368.
- Lalmanach, A. C., Lanthier, F.** 1999. Host cytokine response and resistance to *Salmonella* infection. *Microb. Infect.* 1: 719-726.
- Lammerding, A. M., Gracia, M. M., Mann, E. D., Robinson, Y., Dorward, W. J., Truscott, R. B., Tittiger, F.** 1988. Prevalence of *Salmonella*, and thermophilic *Campylobacter* in fresh pork, beef, veal and poultry in Canada. *J. Food Prot.* 51: 47-52.
- Larsen, S. T, McKean, J. D., Hurd, H. S., Rostagno, M. H, Griffith, R. W., Wesley. IV.** 2003. Impact of commercial preharvest transportation and holding on the prevalence of *Salmonella enterica* in cull sows. *J Food Prot.* 66(7): 1134-8.
- Laval, A., Morva, H., Desperez, G., Corbion, B.** 1991. La Salmonellose du porc. *Rec. Med. Vet.* 167 (9): 835-848.
- LeMinor, L.** 1984. Facultative anaerobic gram-negative rods. *In* Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. Krieg, N.R., Holt, J.G. eds., Williams & Wilkins, Baltimore. pp. 427-457.
- LeMinor, L.** 1988. Typing of *Salmonella* Species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 7: 214-218.

- LeMinor, L., Popoff, M.Y.** 1987. Request for an Opinion. Designation of *Salmonella* Enterica sp. Nov. nom. rev, as the type and only species of the genus *Salmonella*. Int. J. Syst. Bacteriol. 37, 465-468.
- Lennette, E. H., Balows, A., Hausler Jr., W. J., Shadomy, H. J.** 1985. (ed.) Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- Letellier, A., Guevremont, E., Beauchamp, G, D'Allaire, S., Fournaise, S., Poppe, C., Sanderson, T., Quessy, S.** 2005. Risk factors at slaughter associated with presence of *Salmonella* on hog carcasses in Canada. 6th International Symposium on the epidemiology and control of foodborne pathogens in pork. Safepork. 31-34.
- Letellier, A., Messier, S., Pare, J., Menard, J., Quessy, S.** 1999a. Distribution of *Salmonella* in swine herds in Quebec. Vet. Microbiol. 67 (4): 299-306.
- Letellier, A., Quessy, S., Messier, S.** 1996. Prévalence de *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* et *Escherichia coli* vérotoxiginène chez le porc, Journée de Recherche et Colloque en Zootechnie, CPAQ, p. 244.
- Letellier, A., Quessy, S., Messier, S.** 1999b. Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoirs. J. Food Protect. 62: 22-5.
- Libby, S. J., Lesnick, M., Hasegawa, P., Weidenhammer, E., Guiney, D. G.** 2000. The *Salmonella* virulence plasmid spv genes are required for cytopathology in human monocyte-derived macrophages. Cell Microbiol. 2(1): 49-58.
- Limpitakis, N., Genigeorgis, C., Abraham, A., Leontides, L., Grafanakis, S., Iosifidou, E.** 1999. Post-harvest epidemiology of *Salmonella enterica* in pork: Prevalence in the environment, carcasses and by-products in two slaughterhouses in

Greece (1996-1998). Proceedings of the 3rd International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, 4-7. Washington, USA, p. 141-150.

Louchini, R., Douville-Fradet, M. 2001. Surveillance des maladies infectieuses et des intoxications chimiques à déclaration obligatoire au Québec, de 1990 à 1999. Ministère de la Santé et Services Sociaux, p. 268.

Lucas, R. L., Lee, C. A. 2000. Unravelling the mysteries of virulence gene regulation in *Salmonella* Typhimurium. *Mol. Microbiol.* 36: 1024–1033.

Mafu, A., Higgins, R., Nadeau, M., Cousineau, G. 1989. The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment. *J. Food Protect.* 52: 642–645.

Malorny, B., Schroeter, A., Bunge, C., Hoog, B., Steinbeck, A., Helmuth, R. 2001. Evaluation of molecular typing methods for *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 isolated in Germany from healthy pigs. *Vet. Res.* 32(2): 119-129.

MAPAQ (Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec). 2003. Bilan 2002. Réseau d'alerte et d'information zoosanitaire (RAIZO). 50 p.

MAPAQ (Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec). 2005. Bilan 2004. Réseau d'alerte et d'information zoosanitaire (RAIZO). 60 p.

Marcus, S. L., Brumell, J. H., Pfeifer, C. G., Finlay, B. B. 2000. *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microb. Infect.* 2: 145–156.

- Marg, H., Scholz, H. C., Arnold, T., Rosler, U., Hensel, A.** 2001. Influence of long-time transportation stress on re-activation of *Salmonella* Typhimurium DT104 in experimentally infected pigs. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 14(9-10): 385-388.
- McGoldrick, K. F., Fox, T. L., McAllister, J. S.** 1986. Evaluation of a dry medium for detecting contamination on surfaces. *Food Technology.* 40: 77-80.
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., Tauxe, R. V.** 1999. Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* Sep-Oct; 5(5): 607-25.
- Miller, S. I., Kukral, A. M.** 1989. A two-component regulatory system (phoP phoQ) controls *Salmonella* Typhimurium virulence. *Proc. Natl. Acad. USA.* 93: 9833-9838.
- Molbak, K.** 2004. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans--the public health consequences. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* 51(8-9):364-9.
- Molbak, K., Baggesen, D. L., Aarestrup, F. M., Ebbesen, J. M., Engberg, J., Frydendahl, K., Gerner-Smidt, P., Petersen, A. M., Wegener, H. C.** 1999. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella* enterica serotype Typhimurium DT104. *N. Engl. J. Med.* 341: 1420-1425.
- Monack, D. M., Raupach, B., Hromockyj, A. E., Falkow, S.** 1996. *Salmonella* Typhimurium invasion induces apoptosis in infected macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93(18): 9833-8.
- Monin, G.** 2003. Abattage des porcs et qualités des carcasses et des viandes. *INRA Prod. Anim.* 16: 251-262.

- Morgan, I. R., Krautil, F. L., Craven, J. A.** 1987. Effect of time in lairage on caecal and carcass *Salmonella* contamination of slaughter pigs. *Epidemiol. Infect.* 98: 323-330.
- Morrow, W. E. M., Davies, P. R., See, T., Eisemann, J., Zering, K., Kihlstrom, S., Karli, K.** 1999. Prevalence of *Salmonella* spp. in the feces on farm and ceca at slaughter for a cohort of finishing pigs. In: *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork*. Washington, DC., p.155-157.
- Mousing, J., Thode Jensen, P., Bager, F., Feld, N., Nielsen, B., Nielsen, J. P., Bech-Nielsen, S.** 1997. Nation-wide *Salmonella enterica* surveillance and control in Danish slaughter swine herds. *Prev. Vet. Med.* 29: 247-261.
- Murase, T., Yamada, M., Muto, T., Matsushima, A., Yamai, S.** 2000. Fecal excretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium following a foodborne outbreak. *J. Clin. Microbiol.* 38(9): 3495-7.
- Nadeau, M., Côté, G., Higgins, R.** 2000. Surveillance de l'antibiorésistance chez des bactéries d'origine aviaire et porcine de 1993 à 1999 au Québec. *Méd Vet Québec.* 30:195-9.
- NARMS (National Antimicrobial Resistance Monitoring System).** 2001. Enteric bacteria. 2000 Annual report. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. [En line], http://www.cdc.gov/narms/annual/2000/NARMS_final_report_2000.pdf (Page consultée le 20 décembre 20, 2005)
- Nastasi, A., Mammina, C., Villafrate, M. R.** 1993. Epidemiology of *Salmonella* Typhimurium: ribosomal DNA analysis of strains from human and animal sources. *Epidemiol. Infect.* 110(3):553-565.

- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).** 1977. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; tentative standard (document M31-T), vol. 17. NCCLS, Wayne, Pa.
- Neidhart, F. C.** 1996. *Escherichia coli* and *Salmonella*, cellular and molecular biology. Vol. 2. ASM Press. Washington D.C. pp. 2691, 2699-2700.
- Nesbakken, T., Skjerve, E.** 1996. Interruption of microbial cycles in farm animals from farm to table. *Meat Sci.* 43: S47-S57.
- Nielsen, B., Alban, L., Stege, H., Sorensen, L. L., Mogelmose, V., Bagger, J., Dahl, J., Baggesen, D. L.** 2001. A new *Salmonella* surveillance and control programme in Danish pig herds and slaughterhouses. *Berl. Munch Tierarztl. Wochenschr.* 114 (9-10) : 323-6.
- Nikaio, H., Vaara, M.** 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Rev.* 49: 1-32.
- Nógrády, N., Tóth, A., Kostyák, A., Pászti, J., Nagy, B.** 2007. Emergence of multidrug-resistant clones of *Salmonella* Infantis in broiler chickens and humans in Hungary. *J. Antimicrob. Chemother.* Sep; 60(3): 645-8. Epub 2007 Jul 6.
- Nutsch, A. L., Phebus, R. K., Riemann, M. J., Kotrola, J. S., Wilson, R. C., Boyer, J. E. Jr., Brown, T. L.** 1998. Steam pasteurization of commercially slaughtered beef carcasses: evaluation of bacterial populations at five anatomical locations. *J. Food Prot.* 61: 571-577.
- Ochman, H., Groisman, E. A.** 1996. Distribution of pathogenicity islands in *Salmonella* spp. *Infect. Immun.* 64: 5410-5412.

- OMS (Organisation mondiale de la santé).** 1988. Lutte contre les salmonelloses : le rôle de l'hygiène appliquée aux animaux et aux produits—Rapport d'un comité d'experts de l'OMS, Genève, O.M.S. pp. 774.
- OMS (Organisation mondiale de la santé).** 2005. Salmonelles multirésistantes. [En ligne]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/fr/> (Page consultée le 28 novembre 2005).
- Oosterom, J., Dekker, R., de Wilde, G. J., van Kempen-de Troye, F., Engels, G. B.** 1985. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* during pig slaughtering. *Vet. Q.* 7(1):31-4.
- Pearce, R. A., Bolton, D. J., Sheridan, J. J., McDowell, D. A., Blair, I. S., Harrington, D.** 2004. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. *Int. J. Food Microbiol.* 90(3) : 331-9.
- Perron, G. G., Quessy, S., Letellier, A., Bell, G.** 2007. Genotypic diversity and antimicrobial resistance in asymptomatic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 *Infect Genet Evol.* Mar; 7(2):223-8. Epub 2006 Oct 16.
- PHAC (Public Health Agency of Canada)** 2003a. Rapport sur la surveillance canadienne intégrée. *Salmonella, Campylobacter, E. coli* pathogène et *Shigella*, de 1996 à 1999. 41 p.
- PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2003b. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS). 119 p. [En ligne], http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/pdf/cipars-picra-2003_e.pdf (Page consultée le 23 décembre 2005).

- PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2003c. Human Salmonellosis cases. Ottawa: CCDR; 29S1. [En ligne], http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/03vol29/29s1/29s1_2e.html (Page consultée le 20 décembre 2005).
- PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2005a. Notifiable diseases on-line. [En ligne], http://dsol-smed.phac-aspc.gc.ca/dsol-smed/ndis/diseases/salm_e.html (Page consultée le 15 august 2005).
- PHAC (Public Health Agency of Canada).** 2005b. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS). 148 p. [En ligne], <http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/2005-eng.php> (Page consultée le 25 novembre 2008).
- Poppe, C., Ayroud, M., Ollis, G., Chirino-Trejo, M., Smart, N., Quessy, S., Michel, P.** 2001. Trends in antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from animals, foods of animal origin, and the environment of animal production in Canada, 1994-1997. *Microb. Drug Resist.* 7(2): 197-212.
- Poppe, C., Smart, N., Khakhria, R., Johnson, W., Spika, J., Prescott, J.** 1998. *Salmonella* Typhimurium DT104: A virulent and drug-resistant pathogen. *Can. Vet. J.* 39(9): 559-65.
- Poppe, C., Ziebell K., Martin, L., Allen, K.** 2002. Diversity in antimicrobial resistance and other characteristics among *Salmonella typhimurium* DT104 isolates. *Microb. Drug Resist.* 8(2): 107-22
- Prasai, R. K., Phebus, R. K., Garcia Zepeda, C. M., Kastner, C. L., Boyle, A. E., Fung., D. Y. C.** 1995. Effectiveness of trimming and/or washing on microbiological quality of beef carcasses. *J. Food Prot.* 58: 1114-117.

- Prescott, L., Harley, J. P., Klein, D. A.** 1995. Microbiologie. DeBoeck Université. Bruxelles. pp. 54–55, 76, 293, 406, 410–412, 579, 583–584, 586–588, 595, 599–600, 659–661, 692.
- Proescholdt, T., Turkson, P., McKean, J., Davies, P., Funk, J., Hurd, S., Beran, G.** 1999. *Salmonella* in commercial swine from weaning through slaughter. In: Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork. Washington, DC., p.161-164.
- Quirke, A. M., Leonard, N., Kelly, G., Egan, J., Lynch, P. B., Rowe, T., Quinn, P. J.** 2001. Prevalence of *Salmonella* serotypes on pig carcasses from high- and low-risk herds slaughtered in three abattoirs. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 114 (9–10): 360–2.
- Rajic, A., Keenliside, J., McFall, M. E., Deckert, A. E., Muckle, A. C., O'Connor, B. P., Manninen, K., Dewey, C. E., McEwen, S. A.** 2005. Longitudinal study of *Salmonella* species in 90 Alberta swine finishing farms. Vet. Microbiol. 105(1): 47–56.
- Reagan, J. O., Acuff, G. R., Buege, D. R., Buyck, M. J., Dickson, J. S., Kastner, C. L., Marsden, J. L., Morgan, J. B., Nickelson II, R., Smith, G. C., Sofos, J. N.** 1996. Trimming and washing of beef carcasses as a method of improving the microbiological quality of meat. J Food Prot. 59: 751–756.
- Reeves, M. W., Evins, G. M., Heiba, A. A., Plikaytis, B. D., Farmer III, J. J.** 1989. Clonal nature of *Salmonella* Typhi and its genetic relatedness to other *Salmonella* as shown by multilocus enzyme electrophoresis and proposal of *Salmonella bongori* comb. J. Clin. Microbiol. 27:313-320.

- Rementeria, A., Gallego, L., Quindos, G., Garaizar, J.** 2001. Comparative evaluation of three commercial software packages for analysis of DNA polymorphism patterns. *Clin. Microbiol. Infect.* 7(6): 331–6.
- Rheault, N., Paré, J., Quessy, Q.** Characterization of *Salmonella* isolates recovered from swine, poultry and sporadic cases of salmonellosis in humans, within a limited geographical area (Unpublished manuscript).
- Rivas T., Vizcaino, J. A., Herrera, F. J.** 2000. Microbial contamination of carcasses and equipment from an Iberian pig slaughterhouse. *J Food Prot.* 63(12): 1670–5.
- Robbins, J. B, Chu, C., Schneerson, R.** 1992. Hypothesis for vaccine development: protective immunity to enteric diseases caused by nontyphoidal *Salmonellae* and *Shigellae* may be conferred by serum IgG antibodies to the O-specific polysaccharide of their lipopolysaccharides. *Clin. Infect. Dis.* 15(2): 346–61.
- Roof, M. B., Kramer, T. T., Roth, J. A., Minion, F. C.** 1992. Characterization of a *Salmonella* Choleraesuis isolate after repeated neutrophil exposure. *Am. J. Vet. Res.* 53: 1328–1332.
- Rostagno, M.H., Hurd, H. S., McKean, J. D., Ziemer, C. J., Gailey, J. K., Leite, R. C.** 2003. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(8): 4489-94
- Rycroft, A.** 2000. Structure, function and synthesis of surface polysaccharides in *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing: Oxon, 19–33.

- Saïde-Albornoz, J. J., Knipe, C. L., Murano, E. A., Beran, G. W.** 1995. Contamination of pork carcasses during slaughter, fabrication and chilled storage. *J. Food Protect.* 58: 993–997.
- Salyers, A. A., Whitt, D. D.** 1994. Bacterial pathogenesis, a molecular approach. ASM Press. Washington D. C. 229–243.
- Sandvang, D., Aarestrup, F. M., Jensen, L. B.** 1998. Characterisation of integrons and antibiotic resistance genes in Danish multiresistant *Salmonella enterica* Typhimurium DT104. *FEMS Microbiol. Lett.* 160: 37–41.
- Santé Canada.** 2005. Prévention de la salmonellose. [En ligne]. http://www.hc-sc.gc.ca/iyh-vsv/alt_formats/cmcd-dcmc/pdf/salmonella_f.pdf (Page consultée le 21 décembre 2005).
- Saxen, H., Reima, I., Makela, P. H.** 1987. Alternative complement pathway activation by *Salmonella* O polysaccharide as a virulence determinant in the mouse. *Microbial Pathog.* 2: 15–28.
- Scherer, C. A., Miller, S. I.** 2001. Molecular Pathogenesis of *Salmonellae*. In Principles of Bacterial Pathogenesis. Groisman, E. A. ed., Academic Press, San Diego, p. 265–333.
- Schlundt, J., Toyofuku, H., Jansen, J., Herbst, S. A.** 2004. Emerging food-borne zoonoses. *Rev. Sci. Tech.* 23 (2): 513–33.
- Schwartz, K. J.** 1999. Salmonellosis. In Diseases of swine. Leman, A.D., Straw, B.E., Mengeling, W.E., D’Allaire S., Taylor D.J. eds 8th ed. Ames, Iowa State University Press. pp. 535–551.

- Selander, R. K., Li, J., Nelson, K. 1996. Evolutionary genetics of *Salmonella enterica*. In: *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium: Cellular and molecular biology (F.C. Neidhardt, R.I. Curtiss, J.L. Ingraham, E.C.C. Lin, K.B. Low, B. Magasanik, W.S. Reznikoff, M. Schaechter, and E.H. Umbarger, ed.), ASM Press, Washington D.C., p. 2691–2707.
- Seyfarth, A. M., Wegener, H. C., Frimodt-Møller, N. 1997. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium from humans and production animals. *J. Antimicrob. Chemother.* Jul; 40(1):67–75.
- Shelobolina, E. S., Sullivan, S. A., O'Neill, K. R., Nevin, K. P., Lovley, D. R. 2004. 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. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:2959-2965.
- Sirard, J. C., Niedergang, F., Kraehenbuhl, J. P. 1999. Live attenuated *Salmonella*: a paradigm of mucosal vaccines. *Immunol. Rev.* 171: 5–26.
- Skovgaard, N., Christensen, S. G., Culistani, A. W. 1985. *Salmonella* in Danish pigs: A comparison of three isolation methods. *J. Hyg. (Lond)* 95: 69–75.
- Slavik, M. F., Kim, W. J., Walker, J. T. 1995. Reduction of *Salmonella* and *Campylobacter* on chicken carcasses by changing scalding temperature. *J Food Prot.* 58:689–691.
- Slinger, R., Desjardins, M., McCarthy, A. E., Ramotar, K., Jessamine, P., Guibord, C., Toye B. 2004. Suboptimal clinical response to ciprofloxacin in patients with enteric fever due to *Salmonella* spp. with reduced fluoroquinolone susceptibility: a case series. *BMC Infectious Diseases.* 4:36.

- Sofos, J. N., Smith, G. C.** 1998. Nonacid meat decontamination technologies: model studies and commercial applications. *Int. J. Food Microbiol.* 44: 171–188.
- Sukhan, A.** 2000. The invasion-associated type III secretion system of *Salmonella* Typhimurium: common and unique features. *Cell. Mol. Life Sci.* 57(7): 1033–49.
- Swanenburg, M., Berends, B. R., Urlings, H. A., Snijders, J. M., van Knapen, F.** 2001a. Epidemiological investigations into the sources of *Salmonella* contamination of pork. *Berl. Munch Tierarztl. Wochenschr.* 114(9-10): 356–9.
- Swanenburg, M., Urlings, H. A., Snijders, J. M., Keuzenkamp, D. A., van Knapen, F.** 2001b. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. *Int. J. Food Microbiol.* 70(3): 243–54.
- Swanenburg, M., van der Wolf, P. J., Urlings, H. A., Snijders, J. M., van Knapen, F.** 2001c. *Salmonella* in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of *Salmonella* in pork. *Int. J. Food Microbiol.* 70(3): 231–42.
- Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H. and Swaminathan B.** 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33: 2233–2239.
- Threlfall, E. J.** 2000a. Epidemic salmonella typhimurium DT 104—A truly international multiresistant clone. *J. Antimicrob. Chemother.* 46(1): 7-10.
- Threlfall, E. J., Angulo, F. J., Wall, P. G.** 1998. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104. *Vet Rec.* 142: 225.

- Threlfall, E. J., Ward, L. R., Frost, J. A., Willshaw, G. A.** 2000b. The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 62 (1-2): 1-5.
- Thrusfield, M.** 1986. *Veterinary Epidemiology.* Butterworth and Co. Ltd, Boston, pp. 55.
- Tirado, C., Schmidt, K.** 2001. WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. World Health Organization. *J. Infect.* 43:80-4.
- Todd, E. C.** 1989. Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. *J. Food Prot.* 52:595-601.
- Todd, E. C.** 1997. Epidemiology of foodborne diseases: a worldwide review. *World Health Stat. Q.* 50: 30-50.
- Tompkin, R. B.** 1990. The use of HACCP in the production of meat and poultry products. *J. Food Protect.* 53: 795-803.
- Travers, K., Barza, M.** 2002. Morbidity of infections caused by antimicrobial resistant bacteria. *Clin. Inf. Dis.* 34, pp. S131-S134.
- Untermann F., Stepahn, R., Dura, U., Hofer, M., Heimann, P.** 1997. Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control program of abattoirs. *Int. J. Food Microbiol.* 34(1); 67-77.
- USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service.** 1996. Pathogen reduction; hazard analysis and critical control point (HACCP) system: final rule. *Fed. Regist.* 61: 38805-989.

USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service (FSIS). 1999a. Generic HACCP Model for Pork Slaughter. HACCP-14. Washington D.C. [En ligne]. <http://www.fsis.usda.gov/index.htm> (Page consultée le 23 décembre 2005).

USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service. 1999b. HACCP Implementation: First Year *Salmonella* Test Results January 26, 1998 to January 25. [En ligne]. <http://www.fsis.usda.gov/OPHS/salmdata.htm> (Page consultée le 30 novembre 2005).

USDA (United States Department of Agriculture), Food Safety and Inspection Service). 2002. Progress report on *Salmonella* testing of raw meat and poultry products, 1998–2002. [En ligne]. <http://www.fsis.usda.gov/OPHS/haccp/salm5year.htm> (Page consultée le 30 novembre 2005).

Valdezate, S., Vidal, A., Herrera-Leon, S., Pozo, J., Rubio, P., Usera, M. A., Carvajal, A., Echeita, M. A. 2005. *Salmonella* Derby clonal spread from pork. *Emerg. Infect. Dis.* 11(5): 694–8.

Van den Bogaard, A. E., Stobberingh, E. E. 1999. Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. *Drugs* 58:589–607.

Varnam, A. H., Evans, M. G. 1991. *Foodborne Pathogens*. Wolfe Publishing Ltd.

Vassiliadis, P., Mavromati, C., Trichopoulos, D., Kalapothaki, V., Papadakis, J. 1987. Comparison of procedures based upon Rappaport-Vassiliadis medium with those using Muller-Kauffmann medium containing Teepol for the isolation of *Salmonella* spp. *Epidemiol. Infect.* 99 : 143–147.

- Vimal, D. B., Khullar, M., Gupta, S., Ganguly, N. K.** 2000. Intestinal mucins: the binding sites for *Salmonella* Typhimurium. *Mol. Cell. Biochem.* 204(1–2): 107–17.
- Wall, P. G., Morgan, D., Lamden, K., Ryan, M., Griffin, M., Threlfall, E. J., Ward, L. R., Rowe. B.** 1994. A case control study of infection with an epidemic strain of multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in England and Wales. *Commun. Dis. Rep. CDR Rev.* Oct 14; 4(11):R130-5.
- Wallis, T. S., Strakey, W. G., Stephen, J., Haddon, S. J., Osborne, M. P., Candy, D. C.** 1986. The nature and role of mucosal damage in relation to *Salmonella* Typhimurium-induced fluid secretion in the rabbit ileum. *J. Med. Microbiol.* 22: 39–49.
- Waltman, W.** 2000. Methods for the cultural isolation of *Salmonella*. In: Wray C., Wray A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CABI Publishing: Oxon, 355–372.
- Warriner, K., Aldsworth, T. G., Kaur, S., Dodd, C. E.** 2002. Cross-contamination of carcasses and equipment during pork processing. *J. Appl. Microbiol.* 93(1) : 169–77.
- Warriss, P. D.** 2004. Optimal lairage times and conditions for slaughter pigs: a review. *Vet. Rec.* 9 ; 153(6) : 170-6.
- White, D. G., Zhao, S., Sudler, R., Ayers, S., Friedman, S., Chen, S., McDermott, P. F., McDermott, S., Wagner, D. D., Meng, J.** 2001. *Salmonella* from retail ground meats. *N. Engl. J. Med.* 345: 1147–1154.

- WHO (World Health Organization).** 2005. Drug-resistant *Salmonella*. 5p. [En ligne].
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/print.html>
(Page consultée le 20 décembre 2005).
- Wilcock, B. P., Olander, H. J.** 1978. Influence of oral antibiotic feeding on the duration and severity of clinical disease, growth performance and pattern of shedding in swine inoculated with *Salmonella* Typhimurium. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172: 472–477.
- Wonderling, L., Pearce, R., Wallace, F. M., Call, J. E., Feder, I., Tamplin, M., Luchansky, J. B.** 2003. Use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize the heterogeneity and clonality of salmonella isolates obtained from the carcasses and feces of swine at slaughter. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(7): 4177–82.
- Wood, M. W., Jones, M. A., Watson, P. R., Hedges, S., Wallis, T. S., Galyov, E. E.** 1998. Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* enteropathogenicity. *Mol. Microbiol.* 29: 883–891.
- Wood, R. L., Pospischil, A., Rose, R.** 1989. Distribution of persistent *Salmonella* Typhimurium infection in internal organs of swine. *Am. J. Vet. Res.* 50: 1015–1021.
- Wray, C.** 2001. Review of research into *Salmonella* infection in pigs. Commissioned by the Meat & Livestock Commission. [En ligne].
<http://www.bpex.org/technical/researchArticles/pdf/SalmonellaReview.pdf>
(Page consultée le 20 novembre 2005).
- Zhang, X., McEwen, B., Mann, E., Martin, W.** 2005. Detection of clusters of *Salmonella* in animals in Ontario from 1991 to 2001. *Can. Vet. J.* 46(6): 517–523.

Zhao, S., Fedorka-Cray, P. J., Friedman, S., McDermott, P. F., Walker, R. D., Qaiyumi, S., Foley, S. L., Hubert, S. K., Ayers, S., English, L., Dargatz, D. A., Salamone, B., White, D. G. 2005. Characterization of *Salmonella* Typhimurium of animal origin obtained from the National Antimicrobial Resistance Monitoring System. *Foodborne Pathog. Dis.* 2: 169–81.

Zhao, S., White, D. G., McDermott, P. F., Friedman, S., English, L., Ayers, S., Meng, J., Maurer, J. J., Holland, R., Walker, R. D. 2001. *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and ground meat. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 3647–3650.

ACCORD ET PERMISSION DES COAUTEURS D'UN ARTICLE¹

IDENTIFICATION DE L'ÉTUDIANT

Nom de l'étudiant Rheault, Nancy		Code permanent [REDACTED]
Sigle du programme Ph.D.	Titre du programme Doctorat en Sciences vétérinaires	Option Sciences vétérinaires

DESCRIPTION DES ARTICLES

Auteurs N. Rheault, J. Paré et S. Quessy	
Titre Distribution and prevalence of <i>Salmonella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> and coliform bacteria on pork carcasses in the Québec slaughterhouse environment	
Revue	État Manuscrit en préparation à être soumis pour publication

Auteurs N. Rheault et S. Quessy	
Titre Évaluation de la contamination microbienne des plaies de saignée lors du processus d'abattage des porcs.	
Revue Canadian Veterinary Journal, 1999 Apr; 40 (4): 261-4	État Publié

Auteurs N. Rheault et S. Quessy	
Titre Comparaison de l'effet du parage et du lavage à l'eau chaude des carcasses de porcs afin de réduire le niveau de la contamination microbienne.	
Revue Canadian Veterinary Journal, 1999 Nov; 40 (11): 792-5.	État Publié

¹Annexe II du Guide de présentation et d'évaluation des mémoires de maîtrise et des thèses de doctorat, mars 2001