

Université de Montréal

Étude de la contamination des carcasses de poulets de chair par  
*Salmonella* aux différentes étapes du procédé d'abattage et dans  
l'environnement de deux abattoirs au Québec

par Selmane Boubendir

Département de pathologie et microbiologie  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires option hygiène vétérinaire et innocuité des aliments

Avril, 2019

© Selmane Boubendir, 2019

## Résumé

*Salmonella* est l'un des agents pathogènes les plus souvent associés aux maladies d'origine alimentaire dans le monde. Les produits animaux, notamment la viande de volaille, sont considérés comme les principales sources de contamination. Chaque étape de la chaîne de production peut avoir un impact sur la prévalence de *Salmonella* dans les produits d'origine avicole, et ce, de la ferme à la table.

De nombreuses stratégies de contrôle ont été mises au point pour réduire la contamination des carcasses de volailles par *Salmonella*, mais jusqu'à présent, il ne semble qu'aucune n'ait permis d'éradiquer la bactérie dans la viande de volaille issue des usines d'abattage. De plus, on possède peu de connaissances en ce qui concerne la distribution, la prévalence et les sources de contamination du produit de viande de volailles par ce pathogène dans les établissements d'abattage de poulets à griller au Canada.

L'objectif de ce projet était de générer des nouvelles connaissances quant à la prévalence et la distribution de *Salmonella* sur les carcasses de poulets de chair et dans l'environnement de deux abattoirs de volailles au Québec. Aussi, nous voulions déterminer, à l'aide d'une caractérisation moléculaire des isolats de *Salmonella* récupérés dans les deux usines, les sources principales de contamination des carcasses de volailles.

Huit visites ont été réalisées dans chaque abattoir au cours des 6 mois de la phase terrain du projet. Un total de 379 rinçages de carcasses ont été récupérés dans ces deux abattoirs à travers 5 grandes étapes critiques du procédé d'abattage. Des lingettes servant à l'échantillonnage de l'environnement des abattoirs ont été également utilisées pour échantillonner sept sites critiques des lieux d'abattage. Une moyenne de 42.3% des carcasses échantillonnées étaient contaminées par *Salmonella*. L'étape de la saignée était significativement l'étape la plus contaminée comparativement aux autres étapes critiques, avec une diminution progressive de la

contamination au fil du processus d'abattage. De plus, la plumeuse et l'éviscérateur étaient les sites d'échantillonnage critiques les plus contaminés pour l'environnement des abattoirs suivis.

Les sérotypes les plus isolés, autant à partir des carcasses que de l'environnement, et ce, pour les deux abattoirs, étaient *S. Heidelberg*, *S. Kentucky* et *S. Schwarzengrund*. Notre étude suggère que les oiseaux arrivant à l'établissement, par leurs statuts positifs, ainsi que l'environnement de l'usine d'abattage représentent les principales sources de contamination des carcasses à l'étape du refroidissement. Aussi, les résultats obtenus par l'analyse des courbes de fusion à haute résolution (HRM) ont montré que si un lot qui entre à l'abattoir est contaminé par le profil HRM *S. Heidelberg* 1-1-1, la probabilité que les carcasses après le refroidissement seront contaminées par le même profil est significativement supérieure. Finalement, le statut des carcasses d'un lot contaminé est significativement associé au statut positif du lot précédent contaminé par ce même profil HRM.

**Mots-clés :** *Salmonella*, poulet, abattoir, rinçage de carcasse, HRM, sources de contamination

## Abstract

*Salmonella* is one of the most common foodborne pathogens associated with human foodborne illnesses worldwide. Animal products, especially poultry meat, are considered the main source of contamination. Each stage of the production chain can have an impact on the prevalence of *Salmonella* in poultry products, from the farm to the table.

Several control strategies have been developed to control the contamination of poultry carcasses by *Salmonella* along the food production chain in order to improve the microbial quality of the final product, but so far, none of them allowed for the complete eradication of the bacteria in poultry meat at slaughter plants. In addition, there is limited knowledge on the distribution, prevalence and sources of contamination of the poultry meat product by this pathogen in Canadian broiler slaughtering establishments.

The objective of this study was to generate new knowledge on the prevalence and distribution of *Salmonella* on broiler chicken carcasses and in the environment of two poultry slaughterhouses in Quebec. Also, we aimed to find, using molecular characterization techniques on the *Salmonella* isolates recovered from the two plants, the main sources of contamination of poultry carcasses.

Eight visits were conducted in each slaughterhouse during the 6 months sampling period. A total of 379 carcass rinsates were collected in two poultry slaughterhouses at 5 critical steps. Samples were also recovered from seven critical sites of the process of the slaughterhouse environment. Overall, 42.3% of carcasses sampled were contaminated with *Salmonella*. The bleeding step was significantly the most contaminated step, with a gradual decrease of the contamination along the slaughtering process. Furthermore, the defeathering device and the evisceration machine were the most contaminated critical sampling sites of the environmental samples analyzed.

The most frequently isolated serotypes, both from carcasses and environmental surfaces, for both slaughterhouses, were *S. Heidelberg*, *S. Kentucky* and *S. Schwarzengrund*. Our study suggests that birds arriving to the establishment, with their positive status as well as the environment of the slaughter plant represent the main sources of carcass contamination. Also, the results obtained by the high resolution melting (HRM) analysis showed that when a flock at the arrival to the slaughter plant is contaminated by the HRM *S. Heidelberg* 1-1-1 profile, the probability that carcasses sampled after chilling will be contaminated by the same profile is significantly higher. Finally, the carcass status of a contaminated flock is also significantly associated with the positive status of the previous flock contaminated by this same HRM profile.

**Keywords:** *Salmonella*, poultry, slaughterhouse, carcass rinsate, HRM, sources of contamination

# Table des matières

Résumé.....	ii
Abstract.....	iv
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des sigles.....	xi
Liste des abréviations.....	xii
Remerciements.....	xv
Introduction.....	1
Recensement de la littérature.....	4
1. <i>Salmonella</i> .....	4
1.1 Découverte et historique.....	4
1.2 Caractéristiques générales.....	4
1.3 Taxonomie du genre <i>Salmonella</i> .....	6
1.4 Importance des infections à <i>Salmonella</i> en santé publique.....	8
1.5 La prévalence de <i>Salmonella</i> dans la chaîne de production de volailles.....	8
1.6 Isolement et culture.....	10
1.7 Les techniques de caractérisation.....	13
1.7.1 Quelques techniques de caractérisation phénotypique.....	14
1.7.1.1 Le sérotypage.....	14
1.7.1.2 Le lysotypage.....	15
1.7.1.3 Le biotypage.....	16
1.7.2 Quelques techniques de caractérisation génotypique.....	16
1.7.2.1 HRM (High Resolution Melting).....	16
1.7.2.2 MLST (Multi-Locus Sequence Typing).....	20
1.7.2.3 PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis).....	21
1.7.2.4 WGS (Whole Genome Sequencing).....	23

2	Production et consommation de viande de volaille .....	24
2.1	Consommation de la viande de volaille .....	24
2.2	La production de poulets au Canada .....	26
3	Épidémiologie de <i>Salmonella</i> .....	27
3.1	La contamination du produit de viande de volaille.....	27
3.2	La prévalence de <i>Salmonella</i> dans la viande de poulet.....	30
4	La dissémination de <i>Salmonella</i> dans la viande de poulet.....	32
4.1	La dissémination de <i>Salmonella</i> dans la ferme.....	32
4.2	La dissémination de <i>Salmonella</i> dans les usines d’abattage et de transformation de poulets de chair .....	34
4.2.1	Portrait global des étapes d'abattage .....	34
4.2.2	L’importance de la ligne d'abattage dans la dissémination de <i>Salmonella</i> .....	36
4.2.3	Les principales méthodes de contrôle de <i>Salmonella</i> dans les établissements d’abattage et de transformation de la volaille au Canada .....	38
	Article en preparation pour le journal de food and protection: <i>Salmonella</i> contamination of broiler carcasses at different slaughter stages and in the environment of two slaughterhouses in Québec .....	41
1	Introduction.....	41
2	Materials and Methods.....	44
2.1	Plants and flock selection.....	44
2.2	Sampling approach.....	44
2.2.1	Carcass sampling .....	44
2.2.2	Environmental sampling .....	45
2.3	Sample treatment and microbiological examinations .....	46
2.4	Preparation of genomic DNA.....	47
2.5	<i>InvA</i> -PCR for <i>Salmonella</i> confirmation .....	47
2.6	Real-time PCR and High-Resolution Melt curve analysis .....	48
2.7	Statistical analysis.....	48
3	Results and discussion .....	50
4	Conclusion .....	68
	Discussion générale .....	70

Conclusion .....	85
Perspectives.....	86
Bibliographies.....	87



## Liste des tableaux

Tableau I.	Number of carcass rinsates and <i>Salmonella</i> prevalence at each critical step of the slaughter process for both surveyed slaughterhouses .....	52
Tableau II.	Surveyed abattoirs' processing characteristics .....	55
Tableau III.	Number of samples collected and prevalence of <i>Salmonella</i> - positive samples in at each critical environmental sampling location for both surveyed slaughterhouses.....	56
Tableau IV.	HRM subtyping results for <i>Salmonella</i> isolates recovered from carcass sampling for both surveyed abattoirs .....	58
Tableau V.	HRM subtyping results for <i>Salmonella</i> isolates recovered from the environmental sampling conducted for both surveyed abattoirs .....	59
Tableau VI.	<i>Salmonella</i> serotypes distribution according to critical steps and to CSLs for both surveyed abattoirs .....	62
Tableau VII.	Distribution of positive samples per HRM profile according to the type of sampling in Abattoir 1 .....	65
Tableau VIII.	Distribution of positive samples per HRM profile according to the type of sampling in Abattoir 2 .....	66
Tableau IX.	Statistical test results of the relation between the flocks contaminated by S. Heidelberg 1-1-1 HRM profile at P4 and P5 (after chilling) and the sampled flock at previous steps of the slaughter process (P1, P2 and P3), the previously slaughtered flocks, and the environmental samples collected at PS on the same sampling visit for the same profile.....	67
Tableau X.	The impact of the slaughter order on the risk of carcass contamination for both surveyed slaughterhouses.....	74

## Liste des figures

- Figure 1. A figure that resume the overall prevalence of Salmonella on broiler chicken carcasses observed at the slaughter plant level in Canada and several countries around the world.....51
- Figure 2. Graphical representation of the HRM analysis of the *CR1*, *CR2* and *yohM* genomic regions of *Salmonella* strains. For each graph, samples of the same HRM profile are represented by the same color for each genomic regions of *Salmonella* strains..... 61

## Liste des sigles

ACIA	Agence Canadienne d'Inspection des Aliments
ASM	American Society of Microbiology
ASPC	Agence de la santé publique du Canada
BAI	Bureau of Animal Industry
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFIA	Canadian Food Inspection Agency
CIPARS	Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Authority
FoodNet	Foodborne Diseases Active Surveillance Network
FPT	Les gouvernements fédéral, provinciaux et territoriaux du Canada
LEP	Laboratory of Enteric Pathogens
MAAARO	Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario
OMAFRA	Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
UE	Union Européenne
USDA-FSIS	United States Department of Agriculture-Food Safety and Inspection Service
WHO	World Health Organization

## Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
ALC	Acide linoléique conjugué
API	Analytical Profile Index
BGS	Brilliant Green Sulfa Agar
BIS	Bismuth Sulphite agar
Bismuth sulfite	Gélose de Wilson-blair modifiée
BPW	Buffered peptone water
CCP	Critical Control Point
CSL	Critical Sampling Location
EPT	Eau peptonée tamponnée
Gélose SS	Gélose Salmonella-Shigella
GFN	Global Foodborne Infections Network
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
HRM	High Resolution Melting
LPS	Lipopolysaccharides
MKTTn	Milieu sous forme de bouillon tétrathionate novobiocine de Müller-Kauffmann
MLEE	Multi-Locus Enzyme Electrophoresis
MLST	MultiLocus Sequence Typing
MSRC	Milieu Modifié Semi-solide de Rappaport-Vassiliadis
PCR	La réaction en chaîne par polymérase

PFGE	Pulsed-field Gel Electrophoresis
PUFA	Ratio de polyinsaturés n-6 à n-3 équilibrés
qPCR	La PCR quantitative
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RVS	Milieu Rappaport Vassiliadis (base de soja)
Salm-Surv	Foodborne Disease Surveillance Network supporté par l'OMS
SIDA	Le syndrome d'immunodéficience acquise
TIA	Toxi-Infections alimentaires
TSI	Triple Sugar Iron
WGS	Whole Genome Sequencing
WHO GSS	WHO Global Salm-Surv
XLD	Xylose Lysine Deoxycholate agar

À mes parents et mes sœurs,  
pour votre amour, encouragement et confiance.

## Remerciements

Je voudrais remercier toutes les personnes qui ont participé ou contribué de près ou de loin à ce projet. Je remercie de façon particulière les personnes suivantes.

Mon directeur de recherche, Dr Sylvain Quessy pour m'avoir acceptée comme étudiant, son encadrement, ses précieux conseils, ses encouragements et sa confiance. Qu'il soit aussi remercié pour sa disponibilité et pour le temps qu'il a généreusement investi dans ma formation.

Ma codirectrice, la Dre Marie-Lou Gaucher pour son appui, sa très grande disponibilité, son encadrement et ses précieux conseils. Merci d'avoir ouvert la porte de ton bureau pour toutes mes interrogations. C'est à tes côtés que j'ai compris ce que rigueur et précision voulaient dire. Merci aussi à Dr Alexandre Thibodeau pour les précieux avis et conseil scientifiques.

Je suis également redevable aux membres de la CRSV pour l'aide technique, les conseils, les commentaires et les suggestions. En particulier à William Thériault, mais aussi au Dr Philippe Fravallo et à Nicole Trottier. Sans vous, évidemment, ce travail n'aurait pu exister.

Aux Membres du Jury, pour l'intérêt porté à ce travail, pour vos recommandations et vos critiques.

Enfin mon grand merci à mes parents, Mohamed Salah et Habiba, mes sœurs, Zohra, Karima, Khadidja et Safa, mes nièces, Abir, Bouchera, Hadia, Nour et Yousra, mon neveu Adlène et à deux personnes très chères à mon cœur, Mohamed Lakhdar khatib et David Garcia Ramos. Merci pour soutenance tout au long de mes études malgré parfois la distance qui nous séparait.

## Introduction

Encore de nos jours, *Salmonella* est l'un des pathogènes d'origine alimentaire le plus incriminés lors de toxi-infections alimentaires (TIAs) dans le monde (Rajan, Shi, and Ricke 2017; Eng et al. 2015). Entre 2006 et 2017, le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) a rapporté que *Salmonella* a contribué à environ 53,4% de toutes les éclosions de maladies d'origine alimentaire aux États-Unis (Liu, Whitehouse, and Li 2018). Les infections d'origine alimentaire causées par cet agent pathogène n'ont pas vu leur nombre diminuer au cours des 15 dernières années (Chen et al. 2017). Aux États-Unis, on estime annuellement qu'environ un million de cas de TIAs, dont 19 000 hospitalisations et 380 décès, sont causés par *Salmonella* (CDC 2018; Batz 2011). Au Canada, les TIAs causées par *Salmonella* viennent au deuxième rang, après *Campylobacter*, comme cause des maladies d'origine alimentaire les plus signalées, avec un nombre estimé de 125 000 cas diagnostiqués chaque année (Services 2016; Thomas et al. 2013). La majorité de ces cas ne sont toutefois pas diagnostiqués ni déclarés puisque souvent la maladie est auto-limitante et se guérit spontanément. L'infection se traduit généralement par de la fièvre, de la diarrhée, des douleurs abdominales, des nausées et parfois des vomissements (Chlebicz and Slizewska 2018). Toutefois, des complications peuvent survenir chez les populations à risque, comme les nourrissons, les personnes âgées et les patients présentant un déficit immunitaire (Turgeon, Murray, and Nesbitt 2017; Cellucci et al. 2010; CDC 2012c; Veeraraghavan Meyyur Aravamudan 2017).

L'humain se contamine quant à lui par contact direct avec des personnes malades, des animaux de compagnie infectés ou par l'ingestion d'aliments contaminés, majoritairement d'origine animale (Braden 2006; Kimura et al. 2004; Zhao et al. 2001; Silva et al. 2011). D'autres denrées, comme les légumes verts, les graines germées et les cantaloups ont aussi été impliquées dans la transmission (Hedberg et al. 1999; Services 2016). Les produits de la volaille sont de loin, parmi toutes les denrées d'origine animale, les plus souvent associés à ces TIAs (Jinu, Singh, and Singh 2015; Anumolu VK 2014; Kornacki 2010; Antunes et al. 2003).



En juillet 2015, la USDA-FSIS (United States Department of Agriculture-Food Safety and Inspection Service) a émis une alerte aux consommateurs concernant des produits de poulet crus panés et congelés, comme des pépites, des bâtonnets ou des burgers de poulet, contaminés par *Salmonella* (FSIS 2015). En 2017, l'agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) a signalé à plusieurs reprises des cas de maladie associés à la consommation des produits de poulet panés, non cuits et surgelés contaminés par *Salmonella* (ACIA 2017b). L'environnement de production contaminé par *Salmonella* est la source principale d'infection des oiseaux en élevage et de contamination des carcasses à l'abattoir. En effet, *Salmonella* peut survivre pendant une longue période dans l'environnement (Pui et al. 2011). Cette dernière source de contamination est la plus importante. Une hygiène impeccable lors de la préparation des repas est donc essentielle pour se prémunir contre la contamination croisée.

Chaque étape de la chaîne de production peut avoir un impact sur la prévalence de *Salmonella* dans les produits d'origine avicole, depuis la ferme jusqu'à la table. L'abattage et la transformation sont toutefois reconnus comme des étapes cruciales dans la préservation de l'innocuité du produit (Althaus, Zweifel, and Stephan 2017; Arsenault 2007; Hue, Le Bouquin, et al. 2011; Rasschaert 2007b; Rasschaert et al. 2008). La contamination des produits de volailles par *Salmonella* dans les usines de transformation des viandes peut être due à la contamination croisée par le contact physique pendant le traitement des carcasses, comme un mauvais nettoyage et désinfection des lignes de productions, et même par un niveau d'hygiène inadéquat des travailleurs (Trampel 2000; Lillard 1990). La bactérie peut toutefois aussi être déjà présente dans l'intestin ou sur l'oiseau qui entre à l'abattoir (Bryan, Ayres, and Kraft 1968; Dougherty 1974). La contribution relative de la contamination par l'environnement de production versus la contamination déjà présente chez l'oiseau demeure toutefois encore inconnue. Plusieurs études ont rapporté que les poulets vivants peuvent introduire *Salmonella* dans l'usine de transformation des viandes (Zhu et al. 2017; Hue, Le Bouquin, et al. 2011; Bryan, Ayres, and Kraft 1968; Rivera-Perez 2014). Ainsi, *Salmonella*, en colonisant le tractus digestif des animaux, peut se retrouver sur la carcasse lorsque celui-ci est endommagé pendant le processus d'abattage (Wray and Wray 2000).

D'autres étapes comme le transport ont aussi un rôle reconnu dans la dissémination de *Salmonella* dans l'usine de transformation des viandes. En effet, Marin et Lainez (2009) ont rapporté que le transport vers l'abattoir augmente les risques de transmission de *Salmonella* en raison de la contamination fécale de la peau et des plumes des oiseaux sains par les oiseaux voisins infectés pendant la livraison (Marin and Lainez 2009). Une telle contamination entraîne une dissémination massive de *Salmonella* sur le long de la ligne de l'abattage et peut contribuer également à la contamination du produit final (Lillard 1990).

Il a été rapporté qu'il existe de nombreuses étapes au cours du processus d'abattage des volailles pouvant conduire à la contamination par *Salmonella*, mais plus particulièrement, les étapes de l'échaudage, de la plumaison, de l'éviscération et du refroidissement sont reconnues comme étant les plus critiques (Rivera-Perez 2014; El-Aziz 2013). Étant donnée la forte prévalence de *Salmonella* dans les troupeaux de volailles (Arsenault 2007), le contrôle de celle-ci au cours du processus d'abattage et de transformation représente un défi de taille pour les transformateurs. Les méthodes actuelles de contrôle des dangers microbiens mises en place en transformation des viandes, les modèles d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques (HACCP), bien qu'en application depuis des décennies, présentent leurs limites et ne parviennent pas à réduire la contamination par *Salmonella*. Ces moyens de contrôle doivent donc être optimisés à la lumière des connaissances nouvelles sur la distribution et les sources de contamination par *Salmonella* dans les établissements d'abattage et de transformation de la viande volaille.

Pour se faire, une étude systématique visant à comprendre la distribution et les sources de contamination de *Salmonella* en utilisant les technologies de caractérisation moléculaire de pointe réalisée à l'intérieur des établissements d'abattage et de transformation canadiens serait un atout de taille, cette information n'étant pas disponible pour le moment. Le présent projet vise donc à générer des connaissances nouvelles en ce qui concerne la prévalence, la distribution et les sources de contamination du produit de viande par *Salmonella* dans deux établissements d'abattage et de transformation de poulets à griller au Québec.

# Recensement de la littérature

## 1. *Salmonella*

### 1.1 Découverte et historique

En 1885, Theobald Smith a découvert le genre *Salmonella* à l'aide du biologiste et vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon (Dawoud et al. 2017; Schultz 2008). Smith et Salmon ont travaillé pour le BAI (Bureau of Animal Industry) sur plusieurs problèmes de santé associés à l'industrie animale, tels que la peste porcine, la péripneumonie contagieuse bovine, la fièvre bovine au Texas et la tuberculose bovine (Schultz 2008).

Au cours de ses deux premières années au BAI, Smith a découvert *Salmonella enterica*, anciennement appelée *Salmonella choleraesuis*, en croyant que c'était la cause de la peste porcine. Plus tard, il a été démontré que le choléra du porc était en fait une infection virale et que le bacille isolé était un nouvel envahisseur (Dawoud et al. 2017; Schultz 2008). En 1900, *Salmonella* a été nommé en l'honneur de Daniel Elmer Salmon (Brown 1935).

### 1.2 Caractéristiques générales

*Salmonella* est un genre appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un bacille à Gram négatif, anaérobie facultatif, oxydase négative, catalase positive et non sporulé (Ryan et al. 2017; Batista et al. 2015). La taille varie entre 2.0 et 5.0 µm de longueur par 0.7 à 1.5 µm de largeur (Karpe et al. 2016). La plupart des espèces de *Salmonella* sont mobiles grâce à des flagelles péritriches, à l'exception de *S. Gallinarum*, *S. Pullorum* et de certains mutants (Bergey

and Holt 1994; Euzeby 1999; Lopes et al. 2016). La température de croissance optimale de *Salmonella* est de 37°C. Cependant, une croissance minimale a été enregistrée entre 2 et 4°C et à une température maximale de 54°C (Adley and Ryan 2016).

Cliniquement les infections causées par *Salmonella* se traduisent généralement par une fièvre, de la diarrhée, une déshydratation, des douleurs abdominales, des nausées, des maux de tête, et parfois des vomissements (Chlebicz and Slizewska 2018). Les salmonelles ne sont pas connues pour la libération de toxines dans les aliments contaminés, mais les bactéries ingérées sont responsables de la maladie en se multipliant dans l'intestin de l'hôte (Sulaiman Rahman 2017). Dans une étude sur des volontaires humains, il a été rapporté que le nombre nécessaire de salmonelles pour produire une infection chez l'humain varie entre  $10^6$  et  $10^8$  bactéries, ce nombre étant plus petit chez les personnes immunodéprimées telles que celles atteintes du SIDA (le syndrome d'immunodéficience acquise) ou d'un cancer (Antunes et al. 2016; Sulaiman Rahman 2017).

Le taux de mortalité est faible, ne dépassant pas 1%. Généralement, l'infection dure de 4 à 7 jours et la plupart des gens se rétablissent sans traitement (Silva et al. 2011; Chlebicz and Slizewska 2018; Turgeon, Murray, and Nesbitt 2017; Sulaiman Rahman 2017; CDC 2007). Cependant des complications peuvent intervenir surtout dans le cas où l'infection traverse la barrière intestinale et gagne la circulation sanguine, l'utilisation des antibiotiques est nécessaire dans ces cas (Eng et al. 2015; Robinson 2019).

*Salmonella* peut survivre longtemps dans l'environnement (White et al. 2006). Dans une étude Norvégienne, il a été rapporté que des souches particulières de *Salmonella* ont pu persister jusqu'à 10 ans dans l'environnement d'une usine de transformation des aliments (Nesse et al. 2003). En 2013, Russo et al. ont rapporté que *S. Agona* était responsable de deux éclosions d'origine alimentaire aux États-Unis (Russo et al. 2013). Dans ce cas, la bactérie aurait persisté pendant 10 ans dans l'environnement d'une usine de transformation des aliments, et ce, malgré les procédures de nettoyage et de désinfection du matériel contaminé (Russo et al. 2013). *S.*

Agona a d'ailleurs également été reliée à plusieurs épidémies d'origine alimentaire récurrentes (Russo et al. 2013; Brouard et al. 2007).

En ce qui concerne les abattoirs, il a été rapporté que *Salmonella* peut rester sur les surfaces et l'équipement utilisés pendant le processus d'abattage et de transformation, et que les moyens de nettoyage et de désinfection pouvaient échouer à éliminer complètement cette contamination (Corcoran et al. 2014). La persistance de *Salmonella* après le nettoyage et la désinfection peut être liée à des procédures inadéquates, même si dans le contexte de procédures bien contrôlées, la résistance à certains désinfectants doit aussi être prise en considération (Corcoran et al. 2014; Mueller-Doblies et al. 2010).

Il a été également démontré que la production de cellulose et la formation de biofilm peuvent contribuer positivement à la survie de *Salmonella* dans l'environnement des usines de transformations des aliments (Rodrigues et al. 2011; Corcoran et al. 2014; Marin et al. 2009). Les biofilms aident à protéger *Salmonella* contre les agressions environnementales comme celles des désinfectants chimiques qui sont généralement incapables d'éliminer la plupart des bactéries associées au biofilm (Marin et al. 2009).

### **1.3 Taxonomie du genre *Salmonella***

Depuis le premier isolement de *Salmonella*, différents systèmes ont été utilisés pour diviser le genre en sous-genres, espèces, sous-espèces, groupes, sous-groupes et sérovars (ou sérotypes) (Brenner et al. 2000). Aujourd'hui, le genre *Salmonella* est divisé en deux espèces: *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori* (Dawoud et al. 2017; Brenner et al. 2000). *Salmonella enterica* est divisée en six sous-espèces: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, and *S. enterica* subsp. *indica* (Issenhuth-Jeanjean et al. 2014).

Chaque sous-espèce est divisée en sérovars selon le schéma de Kauffmann-White-Le Minor. Les termes "sérovar" et "sérotypé" sont généralement considérés comme synonymes (Ryan et al. 2017). L'Institut Pasteur utilise le terme « sérovar », tandis que le CDC et l'ASM (American Society of Microbiology) utilisent le terme « sérotypé », en changeant toutefois progressivement leur appellation vers « sérovar » afin de maintenir la cohérence de la nomenclature internationale.

La classification antigénique de *Salmonella* repose sur la réaction d'anticorps avec trois types d'antigènes de surface: l'antigène O, H et Vi (Su and Chiu 2007; Brenner et al. 2000; Dworkin et al. 2006; Nataro et al. 2011).

- L'antigène O, qui est discriminatoire seulement pour l'identification du sérotype. Il est en effet présent sur toutes les bactéries de la famille. Il est aussi appelé antigène somatique. Il fait partie des lipopolysaccharides (LPS), qui sont les endotoxines bactériennes. L'antigène O est en effet la chaîne latérale de la molécule, composée en plus d'un noyau central oligosaccharidique et du lipide A (Eng et al. 2015).
- L'antigène H, correspond au flagelle dont sont pourvues certaines espèces de bactéries. Dans le cas des *Salmonella*, il est dit diphasique, car on observe 2 antigènes différents selon la phase dans laquelle se trouve la bactérie. L'antigène de phase I est présent chez toutes les bactéries de la sous-espèce, mais reste spécifique, tandis que celui de la phase 2 ne l'est pas, et peut ainsi occasionner des réactions croisées (Eng et al. 2015).
- L'antigène VI, est l'antigène de la capsule. C'est une structure qui entoure parfois la paroi des bactéries, lui donnant une résistance supplémentaire aux mécanismes de défense de l'hôte. L'antigène de surface VI est généralement de nature polysaccharidique et il est découvert dans les sérotypes Typhi et Paratyphi (Eng et al. 2015; Bronze and Greenfield 2005).

Les formules antigéniques de tous les sérotypes connus de *Salmonella* sont enregistrées dans le schéma de Kauffmann-White-Le Minor (Ryan et al. 2017). Actuellement, selon la dernière mise à jour publiée en 2014 (mise à jour de 2010), il existe environ 2659 sérovars dans le genre *Salmonella* (2639 dans *Salmonella enterica* et 20 dans *Salmonella bongori*) (Issenhuth-Jeanjean et al. 2014). Afin d'éviter toutes sortes d'erreurs ou de confusions, seul le centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) de référence et de recherche sur les *Salmonella* a le pouvoir de valider l'identification de nouveaux sérovars (Guibourdenche et al. 2010; Weill 2007).

## **1.4 Importance des infections à *Salmonella* en santé publique**

L'épidémiologie de *Salmonella*, agent causal de la salmonellose, est d'un grand intérêt en ce qui concerne la santé publique. La salmonellose est la deuxième maladie entérique la plus importante mondialement (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Ed 2009). La maladie est à déclaration obligatoire au Québec. Ainsi, lorsqu'un test de laboratoire révèle la présence de *Salmonella* dans un prélèvement, le laboratoire doit en informer les autorités de santé publique de la région (MHSS 2016).

## **1.5 La prévalence de *Salmonella* dans la chaîne de production de volailles**

Les infections alimentaires causées par *Salmonella* sont d'une importance majeure en santé publique. La transmission de *Salmonella* à l'humain se fait le plus souvent par l'ingestion d'aliments contaminés (Braden 2006; Kimura et al. 2004; Zhao et al. 2001; Silva et al. 2011). Les produits de la volaille sont dans les productions animales, les plus souvent associées à la contamination de l'homme (Anumolu VK 2014; Jinu, Singh, and Singh 2015; Kornacki 2010;

Antunes et al. 2003). Painter et al. (2013) ont estimé qu'entre 10% et 29% des *Salmonella* isolées de cas de TIAs aux États-Unis étaient liées à la viande de volaille (John et al. 2013). *Salmonella* s'avère donc une préoccupation majeure en matière de salubrité des aliments dans les milieux d'abattage et de transformation des volailles.

Dans les usines d'abattage, les carcasses de poulet subissent plusieurs étapes de traitement telles que l'insensibilisation, la saignée, l'échaudage, la plumaison, l'éviscération, le refroidissement, et, possiblement, des procédés de transformation secondaires pour produire les différentes coupes et produits offerts sur le marché. Chacune de ces étapes peut avoir un impact sur la prévalence de *Salmonella* dans les produits de viande de volailles (El-Aziz 2013; Rivera-Perez 2014; C. Mead 1995). La contamination par *Salmonella* des produits de viande de volailles à l'abattoir et dans les usines de transformation serait principalement due à la contamination croisée pendant le traitement des carcasses. Cependant, des études ont rapporté que l'abattage des oiseaux positifs à *Salmonella* entraîne une contamination massive de la ligne d'abattage et de traitement des viandes, et les procédures de nettoyage n'arrivent parfois pas à éliminer cette contamination (Berrang et al. 2009; Byrd et al. 2002; Heyndrickx et al. 2002; Rasschaert et al. 2008). Les connaissances actuelles ne nous permettent pas de statuer sur la contribution relative des oiseaux entrant à l'abattoir par rapport au rôle de la contamination de l'environnement d'abattage dans le statut final du produit de viande par rapport à *Salmonella*.

Dans une étude portant sur la prévalence de *Salmonella* dans les troupeaux de poulets et de dindes abattus au Québec, la prévalence de *Salmonella* dans les caeca était de 50% pour les poulets et de 54% pour les dindes, respectivement (Arsenault 2007). À l'échelle canadienne, une étude réalisée entre décembre 2012 et décembre 2013 a démontré que la prévalence de *Salmonella* dans les lots de poulets à griller à l'abattoir était à 25,6 % (ACIA 2016). L'étude a aussi rapporté que la prévalence de la bactérie sur les carcasses entières de poulet et sur les parties de carcasses transformées s'élevait respectivement à 16,9 % et à 29,6 % (ACIA 2016).



D'autres étapes, comme le transport des oiseaux vivants, ont aussi un rôle à jouer dans la dissémination de *Salmonella* tout au long de la chaîne de transformation des viandes. En effet, Marin et Lainez (2009) ont rapporté que durant le transport, il y'a une augmentation de la prévalence de *Salmonella* à cause de la contamination croisée associée aux déjections des oiseaux infectés (Marin and Lainez 2009). Une telle contamination entraîne une dissémination massive de *Salmonella* tout au long de la ligne d'abattage et peut conduire également à la contamination du produit fini (Lillard 1990).

## 1.6 Isolement et culture

L'approche bactériologique classique pour l'identification de la bactérie comprend plusieurs étapes: pré-enrichissement, enrichissement sélectif suivi d'un isolement sur géloses sélectives et de confirmations biochimiques et sérologiques. Une approche moléculaire pour la confirmation est aussi possible (FSIS 2014; Skovgaard 1985; U.Methner 2013; Bell et al. 2016). Le pré-enrichissement apporte les nutriments nécessaires pour la croissance et la multiplication non sélective de toutes les bactéries capables de croître dans le milieu (Andrews 1989; Langlais, Thibodeau, and Fravallo 2019). Il permet à *Salmonella* de se multiplier afin de faciliter sa détection subséquente. Le pré-enrichissement est habituellement réalisé dans de l'eau peptonée tamponnée (Yang et al. 2016; Hoorfar and Baggesen 1998).

L'enrichissement sélectif qui suit cette étape a pour rôle d'inhiber les bactéries compétitrices et de favoriser la croissance de *Salmonella*. Il existe plusieurs milieux d'enrichissements sélectifs tels que le milieu modifié semi-solide de Rappaport-Vassiliadis (MSRV) et le Rappaport-Vassiliadis (base de soja) (RVS). Le MSRV représente une amélioration par rapport aux autres milieux en bouillons d'enrichissement sélectif conventionnels puisqu'il contient des peptones comme source de carbone et d'azote, facilitant ainsi davantage la croissance de la bactérie (Carrique-Mas and Davies 2008). De plus, sa nature semi-solide permet, lors de l'incubation, la formation d'un halo de croissance par les salmonelles s'éloignant du point d'inoculation grâce

à leur mobilité (Smedt and Bolderdijk 1987; Worcman-Barnink et al. 2001). L'ajout de novobiocine au milieu assure une plus grande sélectivité pour *Salmonella* en empêchant la croissance des bactéries à Gram positif. Le milieu MSR/V est facile à utiliser et des résultats négatifs peuvent souvent être conclus par l'absence visuelle du halo de migration (Read et al. 1994; Carrique-Mas and Davies 2008).

Les milieux sélectifs pour *Salmonella* permettent d'isoler des colonies typiques de la bactérie. Il existe plusieurs milieux tels que XLD (Xylose Lysine Deoxycholate agar), BGS (Brilliant Green Sulfa Agar), BIS (Bismuth Sulphite agar), *Salmonella* -Shigella (Gélose SS), et Bismuth sulfite (La gélose de Wilson-blair modifiée) (León-Velarde 2012). Le milieu XLD permet de sélectionner *Salmonella* basé sur sa capacité à fermenter le xylose (production d'énergie) et à décarboxyler la lysine en cadavérine (équilibre du pH du milieu suite à son augmentation par fermentation du xylose). Le milieu BGS quant à lui contient du vert brillant qui est un inhibiteur des bactéries à Gram positif et de la plupart des bacilles à Gram négatifs autres que *Salmonella* (Stokes and Osborne 1955). La gélose contient également du lactose et du saccharose qui représentent une source des glucides pour les bactéries en croissance (Stokes and Osborne 1955). Le milieu a été modifié par l'ajout de sulfate de sodium à la formulation d'origine, et cet ajout a contribué à une augmentation des propriétés sélectives du milieu (Stokes and Osborne 1955).

Les colonies de *Salmonella* sur milieu BGS apparaissent roses (ou incolores), car elles n'utilisent pas les sucres présents, et ne provoquent donc pas d'acidification du milieu. Les contaminants peuvent eux donner des colonies jaune-vert, parfois de couleur très vive. Ils sont également circulaires à périphérie lisse avec un centre blanc, tandis que les colonies de *Salmonella* sur milieu XLD apparaissent de couleur noire sur des colonies roses translucides.

L'étape supplémentaire afin d'arriver à une confirmation de l'identité de la bactérie se fait en utilisant des tests biochimiques et sérologiques. Parmi les principaux tests biochimiques, on retrouve le milieu différentiel TSI (Triple Sugar Iron) et à l'urée de Christensen.

Le TSI correspond à un milieu de Kligler, auquel a été ajouté du saccharose, en plus du glucose et du lactose déjà contenus dans le milieu (Hajna 1945). Ce milieu est basé sur la fermentation des sucres qui est facilement visible grâce à la présence du rouge de phénol. Si les sucres sont utilisés par la bactérie, le milieu va s'acidifier et prendre une coloration jaune. Ce milieu permet aussi la mise en évidence de la production d'H<sub>2</sub>S, et parfois le dégagement de gaz (Hajna 1945). *Salmonella* n'utilisant pas le saccharose ni le lactose, le milieu garde sa teinte rouge dans le culot, mais prend une teinte jaune sur la pente. Cette coloration provient de l'utilisation du glucose. Le culot devient en revanche noir, dû à la production d'H<sub>2</sub>S. Le dégagement de gaz n'est en revanche pas un critère spécifique.

Le test à l'urée permet de mettre en évidence la dégradation de l'urée par le biais d'une uréase. Si l'urée est dégradée par cette uréase, il se forme de l'ammoniaque, qui est alcalin. Le rouge de phénol met en évidence cette augmentation du pH, le milieu prend une teinte rose vif qui n'est pas caractéristique de *Salmonella* toutefois (urée négative) (Christensen 1946). Pour les tests sérologiques de confirmation, des antisérums permettant de détecter les antigènes flagellaires (H) et somatiques (O) sont généralement utilisés (León-Velarde 2012).

Un grand développement dans la détection rapide de *Salmonella* est observé dans le domaine de la biotechnologie moléculaire. La réaction en chaîne par polymérase (PCR) et la PCR quantitative (qPCR) sont principalement utilisées comme méthodes de choix pour la détection des salmonelles. De nombreux protocoles différents ciblant différents gènes ou diverses régions de gènes ont été publiés pour la détection et la confirmation de l'identité de l'isolat (Nucera et al. 2006; Guo et al. 2017; Anumolu VK 2014; Cohen, Mechanda, and Lin 1996; Cheng, Doran, et al. 2015; Postollec et al. 2011; Malorny et al. 2003; Wang et al. 2018). Le gène de virulence *invA* est de loin le plus ciblé pour la détection spécifique des *Salmonella* dans les échantillons d'origine alimentaire et environnementale (Bell et al. 2016; Rahn et al. 1992; Chiu and Ou 1996). Le locus *invA* est présent et fonctionnel dans la plupart des sérotypes de *Salmonella* (Collazo and Galan 1997). Cependant, certaines études ont montré que le gène *invA* était absent

de certaines sérovars de *Salmonella enterica* comme *S.* Saint-Paul, *S.* Litchfield et *S.* Senftenberg (Cohen, Mechanda, and Lin 1996; Malorny et al. 2004; Rahn et al. 1992).

La PCR est une approche simple et rapide, elle est utilisée pour la détection de *Salmonella* dans plusieurs produits alimentaires, tels que les œufs et différentes viandes (O'Regan et al. 2008; Chen et al. 2010; Malorny, Bunge, and Helmuth 2007; McGuinness et al. 2009). Elle présente également certains inconvénients, tels que la nécessité d'un équipement coûteux et d'un personnel qualifié, ainsi que l'utilisation de produits chimiques de nettoyage de l'ADN, ce qui la rend difficile d'accès pour certains laboratoires en milieu alimentaire. De surcroît, le manque de distinction entre les cellules vivantes et mortes fait en sorte qu'une confirmation par des méthodes de culture standard est souvent nécessaire. Finalement, la sensibilité relativement faible de cette approche ( $10^4$  bactéries par millilitre) doit souvent être compensée par des méthodes de concentration de l'ADN comme l'utilisation de billes magnétiques (Wang et al. 2012; Koyuncu, Andersson, and Häggblom 2010; Bell et al. 2016). Dans une étude réalisée par Chen et al. (1997) où le gène *invA* a été choisi comme gène cible dans la PCR TaqMan™, les résultats ont montré que la technique était capable d'avoir une spécificité et sensibilité à 100%, avec un succès de détection à moins de 7 UFC par réaction PCR dans les échantillons d'aliments enrichis (Chen et al. 1997).

## 1.7 Les techniques de caractérisation

Les techniques de caractérisation des isolats ont une importance primordiale lorsque l'on veut comprendre la distribution et l'origine de la contamination dans un contexte agro-alimentaire. En effet, l'identification à l'espèce n'est pas suffisamment discriminante pour pouvoir tirer des conclusions dans un contexte d'épidémiologie en conditions industrielles. Il existe deux types de techniques permettant la caractérisation de *Salmonella*: les techniques phénotypiques et les techniques génotypiques.

Les techniques phénotypiques reposent sur les caractères exprimés par les bactéries. Ils comprennent notamment le sérotypage, le biotypage et le lysotypage (van Belkum et al. 2007; Millemann 1998). Les techniques génotypiques ou moléculaires reposant sur le matériel génétique sont quant à elles basées sur l'analyse de l'ADN plasmidique et de l'ADN chromosomique de la bactérie (Millemann 1998). Plusieurs méthodes ont été proposées comme alternatives potentielles au sérotypage de *Salmonella* puisque cette technique est reconnue pour son faible pouvoir discriminant. Des techniques telles que le HRM (High Resolution Melting), le PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis) et le MLST (MultiLocus Sequence Typing) sont parmi les techniques les plus fréquemment utilisées en remplacement (Zou et al. 2010; Achtman 2012; Bratchikov and Mauricas 2011).

## **1.7.1 Quelques techniques de caractérisation phénotypique**

### **1.7.1.1 Le sérotypage**

Le sérotypage est une méthode conventionnelle basée sur la réaction d'anticorps avec trois antigènes bactériens de surface: les antigènes O, H et Vi (Su and Chiu 2007; Brenner et al. 2000; Dworkin et al. 2006; Nataro et al. 2011; U.Methner 2013). Le schéma utilisé mondialement pour l'identification sérologique de *Salmonella* est le schéma de Kauffmann-White-Le Minor (Ryan et al. 2017).

Le sérotypage a été, pendant plus de 80 ans, la méthode de caractérisation primaire de choix pour *Salmonella* (Wattiau, Boland, and Bertrand 2011). Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, elle présente un certain nombre de limites pratiques (van Belkum et al. 2007). Le sérotypage est laborieux, coûteux, et prend beaucoup de temps, un minimum de trois jours étant nécessaire pour identifier un sérotype (Nashwa 2009). De plus, il dépend de la disponibilité des antisérums et réactifs et aussi de personnel hautement qualifié que la pratique de cette méthode requiert (Alvarez et al. 2004; Cai et al. 2005; Strawn et al. 2014).

Le typage sérologique de *Salmonella enterica* fait appel à plus de 150 antigènes O et H, et plus de 250 antisérums sont requis (Cai et al. 2005; Wattiau et al. 2008). Aussi, les anticorps associés aux antigènes du lipopolysaccharides (LPS) de certains sérotypes de *Salmonella* peuvent réagir avec d'autres genres d'Enterobacteriaceae, en particulier *Escherichia coli*, ce qui peut conduire à des résultats faussement positifs (Rundlöf et al. 1998; Navarro et al. 2007).

### 1.7.1.2 Le lysotypage

Le lysotypage a été utile pendant des décennies pour la caractérisation phénotypique des *Salmonella* (Baggesen et al. 2010). C'est une méthode qui permet de classer les souches d'une même espèce en lysotypes, selon leur susceptibilité aux phages (Le Minor 1988). En Europe, le lysotypage utilisant le système du LEP (Laboratory of Enteric Pathogens), a été largement utilisé pour le sous-typage de *S. enteritidis* (De Lappe et al. 2009). Le schéma obtenu par l'utilisation de cette méthode subdivise *S. enteritidis* en 74 lysotypes basé sur les réactions avec 16 phages (De Lappe et al. 2009). Au Canada, la technique utilisée actuellement par l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) est celle décrite par Anderson et Williams (1956) (ASPC 2010).

Les principaux désavantages du lysotypage sont le manque de standardisation, une faible reproductibilité et la demande d'un personnel bien entraîné (Baggesen et al. 2010). Bien qu'il se soit avéré un bon outil dans les années '90 pour la caractérisation des souches et la surveillance des épidémies, le système recommandé par le WHO (World Health Organization) pour le lysotypage de *Salmonella* est complexe et ne représente plus un outil de premier choix, entre autres, dû à son pouvoir discriminant faible qui peut en faire une méthode problématique lorsqu'elle est utilisée pour la surveillance des agents pathogènes pour l'homme, tels que *Salmonella* (Baggesen et al. 2010; Baggesen and Wegener 1994; Hald, Lo Fo Wong, and Aarestrup 2007).

### **1.7.1.3 Le biotypage**

Cette technique de typage est basée sur les caractères biochimiques des salmonelles. La subdivision de *Salmonella* en espèces et sous-espèces se fait grâce à différents tests biochimiques tels que la fermentation du glucose, la réaction d'uréase (négative), la lysine décarboxylase, le test d'indole (négatif), la production de H<sub>2</sub>S et la fermentation du galactitol (Le Minor 1988; Millemann 1998; Kumar 2009).

La technique de biotypage est généralement facile et peu coûteuse, elle permet à la fois la confirmation de l'espèce et un niveau de caractérisation qui est directement proportionnel au nombre de réactions biochimiques utilisées. Tous les tests peuvent être effectués, même dans un petit laboratoire (van Belkum et al. 2007). En effet, l'utilisation d'une galerie API (analytical profile index) permettant l'identification de micro-organismes par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. L'API est l'une des approches de choix lorsqu'il n'est pas possible d'avoir accès à des méthodes génotypiques plus discriminantes.

D'une manière générale, les techniques phénotypiques sont toutefois considérées relativement peu discriminantes par rapports aux techniques génotypiques, comme nous le verrons maintenant.

## **1.7.2 Quelques techniques de caractérisation génotypique**

### **1.7.2.1 HRM (High Resolution Melting)**

L'analyse des courbes de fusion à haute résolution (HRM), est une méthode basée sur PCR quantitative (ou qPCR), ou PCR en temps réel (Wittwer et al. 2003; Gundry et al. 2003; Erali et

al. 2008). La PCR en temps réel est une technologie capable d'amplifier et de détecter rapidement l'acide nucléique d'organismes spécifiques en une seule réaction ou même plaque (Persing et al. 2011; Espy et al. 2006; Millar et al. 2007). La PCR en temps réel présente de nombreux avantages, notamment par rapport à la PCR traditionnelle. L'un des principaux avantages est que la formation du produit de la PCR peut être surveillé en continu, en particulier au cours des premiers cycles de l'amplification par PCR où la formation du produit est directement liée à la quantité d'ADN de départ. Cela signifie qu'il est possible de quantifier avec précision la quantité d'ADN dans l'échantillon d'origine. De plus, elle est rapide, sensible et spécifique et ne repose pas sur des méthodes post-PCR longues telles que l'électrophorèse sur gel pour l'analyse du résultat (Espy et al. 2006; Wittwer and Hahn 2004; Persing et al. 2011). Un certain nombre de systèmes de PCR en temps réel sont disponibles dans le commerce la majorité sont basés sur la liaison de colorants fluorescents, tel que SYBR-Green I (Persing et al. 2011; Espy et al. 2006; Millar et al. 2007).

Le HRM est une méthode rapide, facile à utiliser et moins coûteuse que d'autres approches comme le séquençage nucléotidique (Bratchikov and Mauricas 2011; Bancercz-Kisiel et al. 2014). En 2012, Tong et Giffard ont étudié les avantages et les inconvénients de l'utilisation du HRM en microbiologie. Leur étude suggère que le HRM possède un potentiel considérable en microbiologie car il ne nécessite aucune procédure compliquée (Tong and Giffard 2012). De plus, aucune sonde spécifique à une espèce n'est requise, il suffit d'un colorant saturant et des amorces ciblant les régions d'intérêt spécifiques (Tong and Giffard 2012). Cependant, la technique nécessite une machine PCR coûteuse à l'achat. On ne peut prendre de machine qPCR standard, il faut avoir l'option HRM qui permet d'avoir une courbe de fusion précise au 0,1°C comparativement à une courbe de fusion à tous les 1°C pour un appareil standard (Tamburro and Ripabelli 2017). De plus, il faut employer du Evergreen et non pas du Sybr Green comme fluorochrome, la fluorescence du Evergreen étant beaucoup plus stable et reproductible (Tamburro and Ripabelli 2017; Persing et al. 2011; Espy et al. 2006; Millar et al. 2007).



Le HRM est capable d'identifier les plus petites différences d'amplicons de PCR et il est donc idéal pour le génotypage de polymorphismes mono-nucléotidiques, l'identification des espèces, l'appariement des séquences et le balayage des mutations, sans nécessiter de séparation supplémentaire, ni de traitement additionnel après la PCR (Reed et al. 2007; Erali et al. 2008).

La technique commence d'abord par une amplification par PCR, suivie par un traitement thermique des amplicons afin de provoquer une fusion de l'ADN double brin amplifié (Erali et al. 2008; Reed et al. 2007). L'analyse HRM consiste à comparer, suite à une normalisation, la forme des courbes de fusion afin de déterminer si deux amplicons contiennent des séquences identiques ou différentes, conférant à cette approche un pouvoir de résolution beaucoup plus élevé que celui de l'analyse classique des courbes de fusion (Wittwer et al. 2003; Bratchikov and Mauricas 2011; Bancercz-Kisiel et al. 2014).

Dans l'analyse par HRM, la différence observée pour les courbes de fusion d'un même gène est expliquée par la température de fusion qui varie d'un amplicon à un autre et qui est attribuable à la longueur et la teneur en bases nucléiques (guanine, cytosine, adénine et thymine) qui peut varier (selon le gène amplifié) d'un sérotype à un autre et même à l'intérieur d'un même sérovar (Reed et al. 2007; Erali et al. 2008; Herrmann et al. 2006). À basse température, l'ADN double brin dans l'échantillon donnera une fluorescence élevée, mais lorsque la température augmente, l'ADN double brin est séparé en un ADN simple brin et la fluorescence diminue. Étant liées par trois liaisons hydrogène, les guanines et les cytosines sont plus stables que les adénines et les thymines qui elles, ne contiennent que deux de ces liaisons. Les séquences d'ADN ayant une teneur élevée en guanine et cytosine ont donc des températures de fusion plus élevées que les séquences d'ADN possédant une plus faible teneur, une caractéristique génétique exploitée par une approche par HRM (Druml and Cichna-Markl 2014).

L'approche par HRM a été appliquée avec succès en diagnostic clinique. Par exemple, Jeng et al. (2012) ont utilisé cette approche en combinaison avec la qPCR pour la détection et l'identification de *Salmonella* lors de bactériémies en utilisant le gène de l'ARNr 16S (Jeng et

al. 2012). Plusieurs autres études récentes ont rapporté que le HRM n'est pas seulement applicable à la recherche clinique et au diagnostic, mais qu'il constitue également un outil efficace dans l'analyse génétique et microbiologique des aliments (Wang, Zijlstra, and Gänzle 2017; Ganopoulos et al. 2012; Druml and Cichna-Markl 2014). Ainsi, en 2011, Ganopoulos et coll ont appliqué l'approche par HRM pour la détection de l'adultération du riz basmati. Cinq marqueurs microsatellites ont été utilisés (RM1, RM72, RM206, RM241, RM287) pour distinguer la différence entre cinq cultivars de riz Basmati et trois cultivars de riz non-Basmati.

Plusieurs études rapportent que le HRM est une bonne alternative qui permet à la fois, avec certaines modalités, le génotypage et le sérotypage des micro-organismes pathogènes les plus souvent associés aux TIAs (Antolinos et al. 2012; Bratchikov and Mauricas 2011; Hashemi et al. 2018; Saeidabadi et al. 2017; Pietzka et al. 2011). Elle présente un bon pouvoir discriminant, tout en étant facile à réaliser.

Le HRM a été appliqué pour la détection et l'identification rapides de plusieurs bactéries tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis*, *Chlamydomytila psittaci*, *Salmonella*, *Listeria*, *Pseudomonas savastanoi*, et aussi pour différencier *Mycobacterium chelonae* de *Mycobacterium abscessus* (Fortini et al. 2007; Mitchell et al. 2009; Jin et al. 2012; Gori, Cerboneschi, and Tegli 2012; D Odell et al. 2005; Jeng et al. 2012; Bratchikov and Mauricas 2011).

En 2012, Ajitkumar et al. ont utilisé le HRM pour identifier neuf agents pathogènes les plus souvent incriminés lors de mammites bovines: *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium bovis* et *Streptococcus dysgalactiae* (Ajitkumar et al. 2012).

En 2011, Bratchikov et Mauricas ont utilisé le HRM pour le sérotypage de *Salmonella*. Sept régions distinctes du génome de *Salmonella* ont été sélectionnées afin de différencier les sérotypes: trois courtes régions distinctes nommées A, I et K; deux courtes répétitions palindromiques groupées et régulièrement espacées (CRISPR1 et CRISPR2), ainsi que les gènes *yohM* et *shdA* qui sont des séquences contenant un nombre variable de répétitions en tandem, ou régions VNTR (Bratčikov and Mauricas 2009; Bratchikov and Mauricas 2011). Un total de 134 souches de *Salmonella* appartenant à la sous-espèce *enterica* ont été différenciées en 45 génotypes uniques. Dans cette même étude, les auteurs ont conclu que les régions associées aux CRISPRs étaient les plus informatives et fournissaient les données de profil les plus complètes (Bratchikov and Mauricas 2011). L'étude a rapporté aussi que la séquence ciblée pour le gène *yohM* a également généré des profils riches. Cependant, celle-ci était moins instructive (Bratchikov and Mauricas 2011).

En 2017, Mohammad Sadegh Saeidabadi et coll. ont aussi fait un essai de sérotypage de *Salmonella* par l'approche HRM, mais en utilisant cette fois-ci une seule région du génome (*hemD*). Les résultats de cette étude ont montré l'impossibilité de différencier des souches de *Salmonella* par une approche HRM n'utilisant qu'un seul gène (Saeidabadi et al. 2017). Ainsi, le HRM présente un pouvoir discriminant intéressant uniquement lorsque plusieurs gènes d'intérêt sont ciblés.

### **1.7.2.2 MLST (Multi-Locus Sequence Typing)**

Le Multi-Locus Sequence Typing (MLST) est une méthode basée sur la sélection et l'amplification de certaines portions des gènes de ménage bactériens, suivi du séquençage du fragment plutôt que de la migration électrophorétique des protéines comme le suggérait son ancêtre, le Multi-Locus Enzyme Electrophoresis (MLEE) (Maiden et al. 1998). Les gènes de ménage sont le plus souvent retenus car ils sont présents dans tous les isolats et ne sont pas soumis à de fortes pressions conduisant à des changements de la séquence (Foley et al. 2007). Aussi, les gènes de ménage évoluent lentement, ce qui permet de les utiliser afin d'étudier la

structure évolutive des populations bactériennes, comme il a déjà été fait pour les salmonelles (Perron et al. 2008). Un autre avantage de l'approche par MLST est le pouvoir communautaire. En effet, puisque les résultats obtenus sont hautement reproductibles et que ceux-ci peuvent facilement être partagés d'un laboratoire à un autre ou même être rendus publiques, cet aspect facilite l'échange et la comparaison de résultats issus de nombreuses banques de données (Foley et al. 2007; Achtman 2012). Actuellement, plus de 222 000 profils alléliques issus de 65 973 souches de *Salmonella* ont été établis et rapportés dans la base de données MLST publiée en ligne et accessible publiquement sur <http://enterobase.warwick.ac.uk/species/senterica/>, <http://pubmlst.org>, ou <http://enterobase.warwick.ac.uk> (Ho et al. 2017).

L'approche par MLST est souvent comparée au PFGE. Bien qu'elle possède un temps d'analyse plus court, elle garantit une précision de prédiction des sérovars plus élevée, ainsi qu'un partage et une comparaison des résultats obtenus facilités (Shi et al. 2015). Par contre, son pouvoir discriminant est nettement moindre que celui du PFGE. De plus, le coût de typage des isolats par MLST est deux fois plus élevé que celui du PFGE (Shi et al. 2015; Singh et al. 2012).

### **1.7.2.3 PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis)**

La méthode de l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) est encore considérée par certains comme le "gold standard" des méthodes de typage moléculaire des isolats dans les enquêtes épidémiologiques. L'approche par PFGE a longtemps été considérée comme la technique la plus discriminante pour la caractérisation moléculaire des pathogènes alimentaires bactériens provenant des aliments (Berge, Adaska, and Sischo 2004; Schlichting et al. 1993; Ribot et al. 2006; Zou et al. 2012; Toshiyuki et al. 1995; Lytsy et al. 2017).

Les nouvelles méthodes de séquençage à haut débit permettent de nos jours d'atteindre un pouvoir discriminant encore supérieur. Le PFGE utilise des champs pulsés pour séparer de gros fragments d'ADN bactériens (Singh et al. 2006; Bohm and Karch 1992; Shomer et al. 2016).

Ainsi, cette approche implique l'utilisation d'une ou de plusieurs enzymes de restriction afin de générer un nombre limité de fragments d'ADN génomique bactérien de haut poids moléculaire. Pour *Salmonella*, l'enzyme de restriction la plus couramment utilisée est *XbaI* qui génère habituellement entre 11 et 17 fragments d'ADN, chacun d'une taille variant de 40 à 800Kb (Tamada et al. 2001; Tenover et al. 1995; Ridley, Threlfall, and Rowe 1998). Particulièrement pour *Salmonella*, le typage par PFGE nécessite généralement l'utilisation de d'autres enzymes, comme *BlnI* et *Ceul* afin d'augmenter le pouvoir discriminant de cette méthode, la rendant ainsi plus fastidieuse (Levin 2009).

Le pouvoir discriminant élevé et la reproductibilité de cette technique sont ses principaux avantages par rapport aux autres méthodes de typage moléculaire telles que le ribotypage (CDC 2010a; Kagambèga et al. 2013; Ross and Heuzenroeder 2005). Le PFGE est une méthode de choix pour la caractérisation moléculaire des sérotypes de *Salmonella* et est largement utilisée par le CDC (Bennett et al. 2003; Irvine et al. 2009; Ho et al. 2017; Threlfall et al. 1996). Cependant, considérant la charge de travail associée à la réalisation de cette approche et considérant l'accessibilité de plus en plus facilitée à des méthodes de typage encore plus discriminantes telles que le séquençage du génome complet, l'intérêt pour le PFGE tend à diminuer.

Un autre inconvénient du PFGE est la difficulté à normaliser les résultats afin de permettre la comparaison intra et inter-laboratoires. Ainsi, une standardisation rigoureuse des protocoles est nécessaire pour assurer la reproductibilité des analyses (Ribot et al. 2006; Kérouanton et al. 2007; Pietzka et al. 2011). La comparaison inter-laboratoires des résultats obtenus par PFGE est actuellement moins difficile grâce à la mise en place du réseau PulseNet. Ce réseau, coordonné par le CDC, repose sur l'utilisation de protocoles standardisés (Wattiau, Boland, and Bertrand 2011; Swaminathan et al. 2001).

#### 1.7.2.4 WGS (Whole Genome Sequencing)

Le séquençage du génome entier (WGS) est l'analyse de la séquence d'ADN génomique complète d'une cellule en une seule fois, fournissant la caractérisation la plus complète du génome (Morgensztern et al. 2018). La technique est de plus en plus adoptée pour plusieurs raisons :

- La capacité de détecter la présence de plusieurs types de gènes tels que les gènes de virulence, les gènes de résistance aux antimicrobiens ou les déterminants de sérotypes (Bennedsen et al. 2011; Gilmour et al. 2013; Inouye et al. 2014).
- Le coût qui est considérablement diminué au cours des dernières années (Wilson 2012).
- La vitesse qui a augmenté avec le temps, passant de plusieurs jours ou semaines à moins de 48 heures pour séquencer un génome microbien (Taylor et al. 2015; Koser et al. 2012).

Bien que les laboratoires utilisant le WGS pour la surveillance et la détection d'épidémies sont en nombre bien limitées, on commence à montrer l'intérêt de cette technique pour le sous typage et la caractérisation des isolats lors d'épidémies à des fins de santé publique (Joensen et al. 2014; Henk et al. 2014; Kwong et al. 2015). Au Canada, le WGS s'est avérée très utile pour circonscrire une éclosion associée au poulet Shawarma, il a été capable d'identifier dix-huit cas de *S. Thompson* (ASPC 2017). De plus, le WGS a montré dans d'autres études un bon pouvoir discriminant pour les salmonelles; il a été capable de distinguer des souches de *S. Newport* isolées en Asie de celles isolées dans les autres régions du monde (Cao et al. 2013), a permis une traçabilité des souches de *S. Bareilly* lors d'une éclosion d'origine alimentaire aux États-Unis jusqu'à des sites situés en Inde (Hoffmann et al. 2015), et une autre traçabilité des souches de *S. Enteritidis* au Chili et d'autres pays du monde (Toro et al. 2016).

Comme toute technique, le WGS présente des inconvénients, plus particulièrement la difficulté de trouver les bons outils de bio-informatique qui permettront d'analyser le grand nombre de données générées par le séquençage (Kwong et al. 2015; Punina et al. 2015; Zankari et al. 2012).

Il existe de nombreuses autres méthodes de caractérisation phénotypique (profils d'antibiorésistance, plasmidiques, Multi-Locus Enzyme Electrophoresis, ...) et génotypique (Restriction Fragments Length Polymorphism-PCR, Multi-Locus Variant analysis, ...). Cependant, la description exhaustive de toutes ces méthodes dépasse le cadre de présent mémoire.

Le choix d'une méthode de caractérisation dépend de différents aspects comme le nombre d'isolats à caractériser, la période de temps couverte par l'échantillonnage de ces isolats, le type de microorganismes et la plasticité de son génome, le pouvoir discriminant de la méthode de typage en regard des objectifs visés par l'étude et du budget disponible. Il n'est pas rare d'employer dans un premier temps, une méthode moins fastidieuse, mais possédant tout de même un bon pouvoir discriminant, pour ensuite utiliser au besoin une méthode plus performante nécessitant et demandant généralement un plus grand investissement en équipement, en temps et en argent (Taboada et al. 2013).

## **2 Production et consommation de viande de volaille**

### **2.1 Consommation de la viande de volaille**

Les changements dans le mode de vie des consommateurs dans les pays développés ont conduit à un marché de la viande de plus en plus orienté vers des produits faciles à manipuler et transformés. La croissance de la consommation mondiale de la viande et des produits carnés est remarquable, non seulement pour son ampleur, mais aussi par la constance de cette croissance sur une longue période (Valceschini 2006). En 2014, la consommation de viande dans le monde

a été estimée à 3 118 millions de tonnes, ce qui représente une moyenne de consommation annuelle de 42,9 kg par habitant (Planetoscope 2015).

La viande est une source primaire d'eau, de gras et de protéines, lesquelles fournissent tous les acides aminés essentiels, du fer, des vitamines telles que les vitamines B6 et la vitamine B12, et des micronutriments (Ferguson 2010). Cependant, dans les dernières années, l'image de la viande a relativement changé en raison des demandes des consommateurs devenus plus consciencieux face à la teneur en graisses, en cholestérol et autres substances pouvant être impliquées dans les maladies les plus répandues à l'échelle mondiale, comme les maladies cardiovasculaires, l'obésité, le diabète et les cancers (Santarelli et al. 2010; Ferguson 2010; Cross et al. 2010; Micha, Wallace, and Mozaffarian 2010). En effet, les données épidémiologiques suggèrent, par exemple, une relation entre la consommation de viande rouge et le risque de cancer du côlon (Cavani et al. 2009; Cross et al. 2010).

En ce qui concerne les aspects nutritionnels, la viande de volaille correspond bien à la demande actuelle des consommateurs pour une viande faible en gras, en sodium et en cholestérol (Barroeta 2007; Givens 2009). Ainsi, la viande de volaille peut également être considérée comme un « aliment fonctionnel » qui apporte des nutriments bénéfiques sur la santé humaine, tels que l'acide linoléique conjugué (ALC), des vitamines, des antioxydants, et un ratio de gras polyinsaturés n-6 à n-3 équilibré (PUFA) (Barroeta 2007; Hernandez, Cesari, and Blasco 2008).

La production et la consommation mondiales de la viande de volaille ont rapidement augmenté et ce, dans de nombreuses parties du monde pour diverses raisons : son prix relativement bas et compétitif par rapport aux autres viandes, l'absence d'obstacles culturels ou religieux, et des propriétés diététiques et nutritionnelles intéressantes (Valceschini 2006; Cavani et al. 2009). Les Chinois sont de grands consommateurs de viande de volaille avec 18,6 millions de tonnes consommées chaque année dans ce pays, suivis de près par les Américains avec 16,3 millions de tonnes annuellement (MAPAQ 2011; Canada 2010). Au Canada, la consommation du poulet est en augmentation, avec une consommation annuelle moyenne qui était de 16.9 kg par habitant



en 1980 et qui se situait à 33.1 kg par habitant en 2017, ce qui représente la plus importante consommation de poulet jamais observée au Canada (AAFC 2018a). En 1999, la viande préférée des Canadiens était le bœuf, mais depuis 2005, la viande de poulet est devenue la plus consommée au Canada, suivie par la viande du bœuf et de porc (MAPAQ 2011; AAFC 2018a).

Cette grande demande a poussé l'industrie de la volaille à faire des investissements importants dans le domaine de la transformation, en augmentant la disponibilité de la volaille dans une grande variété de plats cuisinés (Cavani et al. 2009). Cette demande croissante pour la viande de volaille a fait pression sur les éleveurs et les experts en nutrition animale afin qu'ils augmentent le taux de croissance des oiseaux et misent sur l'efficacité alimentaire. Avec l'amélioration de la génétique des oiseaux, les poulets et dindes d'aujourd'hui sont commercialisés après une durée de vie d'environ la moitié de ce qu'elle était à la fin du siècle dernier, avec un poids corporel près de deux fois supérieur au poids qu'ils présentaient au moment de l'abattage il y a 60 ans (Barbut et al. 2008).

## **2.2 La production de poulets au Canada**

Le Canada est l'un des pays les plus productifs en ce qui concerne la production de volailles dans le monde. En 2017, la production de produits à base de poulet au Canada représentait une industrie de 2.5 milliards de dollars avec 191 entreprises de transformation. On compte au pays 2 836 producteurs déclarés de poulet produisant 1.2 milliard de kilogrammes de viande (poids éviscéré), desquels 60,7% proviennent du Québec et de l'Ontario (AAFC 2018b; Canada 2018). Le Québec et la Colombie-Britannique sont les seules provinces canadiennes à avoir connu une augmentation de leur nombre de producteurs entre 1999 et 2009 (MAPAQ 2011).

Le succès de l'industrie du poulet au Canada peut être attribué à quatre composantes clés: une certaine intégration, des contrats de production, des producteurs spécialisés dans des gammes de poids spécifiques et des fermes relativement petites et spécialisées (Canada 2018).

L'industrie du poulet au Canada est en croissance continue. Actuellement, 160 nouvelles installations de production sont en construction en Ontario (Canada 2018).

La production avicole est exposée à plusieurs risques d'introduction et de propagation des maladies infectieuses, lesquelles présentent un danger pour les troupeaux de volailles ainsi que pour la santé humaine. Des programmes de biosécurité et l'application des bonnes pratiques d'élevage sont nécessaires afin de minimiser les risques de maladies en vue de protéger le cheptel et l'économie canadienne, et ainsi fournir aux consommateurs des produits sains, de qualité et abordables.

### **3 Épidémiologie de *Salmonella***

#### **3.1 La contamination du produit de viande de volaille**

Il est connu que la consommation de viande de poulet contaminée par *Salmonella* peut être associée à des TIAs (Antunes et al. 2016). Environ 93,8 millions de cas de salmonellose provoquant 155 000 décès sont rapportés chaque année dans le monde (Majowicz et al. 2010). D'autres sources de contaminations telles que le contact avec des animaux, avec l'environnement ou avec des personnes contaminées sont possibles même si la salmonellose d'origine alimentaire demeure la plus importante quantitativement avec un impact économique et sanitaire très élevé (Voetsch et al. 2004; Antunes et al. 2016).

Les enquêtes épidémiologiques ont montré que la viande de poulet crue ou insuffisamment cuite contaminée était le principal véhicule de transmission à l'Homme (Sandt et al. 2013; M'Ikanatha N et al. 2010). En juillet 2015, la USDA-FSIS a émis une alerte aux consommateurs de produits de poulets crus panés et congelés, comme des pépites, des bâtonnets ou des burgers contaminés par *Salmonella* (FSIS 2015). En 2017, l'ACIA a signalé plusieurs fois des cas de maladie associés à la consommation des produits de poulet panés, non cuits et surgelés contaminés par

*Salmonella* (ACIA 2017b). Aussi, lors d'une éclosion survenue en 2014 où 59 cas confirmés, dont 16 au Québec, ont été recensés, la source la plus probable de la contamination était le poulet (ACIA 2016). Une autre éclosion en 2016 a été causée par la consommation du poulet Shawarma, avec 18 cas de TIAs. L'Agence de la santé publique du Canada (ASPC) a lancé une enquête afin d'identifier la source de contamination et prendre les mesures de contrôle nécessaires. Les salmonelles ont été identifiées comme cause de l'éclosion avec prédominance du sérotype *S. Thompson* (ASPC 2017).

La distribution des différents sérotypes de *Salmonella* causant la TIA varie d'un endroit à un autre. Au début des années 2000, le sérotype le plus isolé dans le monde selon la base de données fournie par le SalmSurv (le Foodborne Disease Surveillance Network supporté par l'OMS) était *S. Enteritidis*, suivi par *S. Typhimurium* et *S. Newport* (Galanis et al. 2006). *S. Enteritidis* était le sérotype le plus isolé en Asie, en Amérique latine et en Europe, représentant respectivement 38%, 31% et 87% des isolats cliniques (Eng et al. 2015). En Afrique, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium* ont été les plus fréquemment rapportées, ayant été observées respectivement dans 26% et 25% des cas humains de salmonellose (Eng et al. 2015). Aux États-Unis, entre 1996 et 2011, les sérotypes les plus rapportés étaient *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Heidelberg*, et *S. Javiana* (Boore et al. 2015). Aux États Unis et au Canada, plusieurs sérotypes, tels que *S. Heidelberg* et *S. Kentucky* ont émergé comme sérotypes prédominants chez les volailles et ont également été impliqués dans des cas de salmonellose humaine, au-delà de *S. Enteritidis* (Dhanani et al. 2015; Hoffmann et al. 2014; Mazengia et al. 2014; CDC 2014b; Foley et al. 2011; Meschke 2014; Lucie et al. 2010).

Les voies de contamination des carcasses de volailles par *Salmonella* sont très variées et de nombreux facteurs entrent en jeu de la ferme à la table. Les volailles, particulièrement les poulets de chair et les dindons, sont fréquemment colonisées par *Salmonella* et ne présentent généralement pas de signes cliniques détectables. On parle ici d'infections sous-cliniques ou encore d'oiseaux porteurs sains (Barrow et al. 2012; Cosby et al. 2015). Ces porteurs sont considérés comme étant un facteur de risque important pour la transmission des salmonelles à

la viande (Hugas and Beloeil 2014). Ainsi, les salmonelles peuvent être transmises horizontalement à l'intérieur d'un troupeau par l'entremise de ces porteurs asymptomatiques, mais aussi, plus rarement, verticalement à la descendance à partir d'oiseaux reproducteurs infectés (Gast 1997).

La contamination des produits de volailles par *Salmonella* dans les usines d'abattage et de transformation des viandes est notamment due à la contamination croisée par le contact physique des carcasses avec l'environnement contaminé de l'usine pendant le traitement (Trampel 2000; Lillard 1990). En outre, les oiseaux contaminés peuvent jouer un rôle important dans cette contamination, un troupeau positif à *Salmonella* pouvant contaminer l'environnement, ainsi que l'équipement d'abattage, jusqu'aux carcasses d'un troupeau exempt de *Salmonella* (Lillard 1990).

À l'abattage, lors de l'arrivée des oiseaux, le tractus gastro-intestinal peut déjà contenir des salmonelles et peut être endommagé au cours du processus, entraînant la contamination des carcasses (Rasschaert et al. 2008). Une telle contamination entraîne une dissémination massive de *Salmonella* le long de la ligne d'abattage et peut conduire également à la contamination du produit final (Lillard 1990). En Belgique, depuis 1990, les troupeaux exempts de *Salmonella* sont abattus avant les troupeaux positifs. Le statut de *Salmonella* est déterminé par l'analyse des échantillons fécaux collectés dans le poulailler par le vétérinaire ou l'éleveur quelques semaines avant l'abattage. Malgré cette mesure de contrôle via l'abattage sélectif, plusieurs études belges ont démontré que des carcasses de troupeaux exempts de *Salmonella* étaient contaminées après l'abattage (Rasschaert et al. 2008). Ceci laisse à penser que cette contamination peut provenir des cages de transport ou même de la chaîne d'abattage elle-même (Heyndrickx et al. 2002; Rasschaert 2007b).

Le transport peut aussi jouer un rôle dans la dissémination de *Salmonella*. En effet, pendant le transport, les animaux sont soumis à des conditions de stress élevé associé entre autres à l'entassement, aux changements de températures et à la privation d'aliments et d'eau (Rasschaert 2007b; Mainali et al. 2009). Ce stress peut se traduire par une augmentation de la prévalence

d'oiseaux positifs à *Salmonella* en raison de l'excrétion de la bactérie par les oiseaux contaminés et de la contamination fécale subséquente de la peau et des plumes des oiseaux voisins se trouvant à proximité dans les cageots de transport (Marin and Lainez 2009; Klancnik et al. 2013; Lillard 1990). Aussi, les cageots de transport peuvent également intervenir dans la contamination des volailles, plusieurs études ayant mis en évidence qu'ils étaient très souvent contaminés par des souches de *Salmonella* (Slader et al. 2002; Rigby et al. 1980; Corry et al. 2002; Rigby et al. 1982).

Ainsi, le nettoyage et la désinfection inadéquats des cageots qui transportent les poulets peut également être reliée à l'introduction des salmonelles dans les abattoirs (Ridley et al. 2011). Au Canada, Rigby et al. ont effectué des études pour vérifier la présence de *Salmonella* dans les cageots de transport et ils ont constaté que 86.6% de ceux-ci étaient positifs avant même que les oiseaux ne soient chargés, alors qu'un lavage à l'eau froide sous pression ne parvenait pas à abaisser cette prévalence sous 73,5% (Rigby et al. 1980).

En ce qui concerne la chaîne d'abattage, les poulets passent par un processus comportant plusieurs étapes, dont certaines peuvent conduire à la contamination du produit de viande par *Salmonella*. Les étapes de l'échaudage, de la plumaison, de l'éviscération et du refroidissement semblent toutefois être plus critiques en ce sens (El-Aziz 2013; Rivera-Perez 2014).

### **3.2 La prévalence de *Salmonella* dans la viande de poulet**

Il existe plusieurs études portant sur la prévalence de *Salmonella* dans la viande de poulet et les résultats varient en raison de différents paramètres tels que les méthodes d'échantillonnage employées, les techniques d'isolement de la bactérie utilisées, ainsi que les variations géographiques. Ces variations rendent la comparaison de la prévalence entre les pays ou même entre les régions difficiles. Ces dernières années, avec la mise en œuvre de programmes de lutte contre la salmonellose principalement dans la filière avicole (par exemple dans l'Union

européenne, aux États-Unis et au Canada), on a observé des changements de tendances en ce qui a trait aux salmonelloses d'origine alimentaire et les sérotypes associés.

Le FoodNet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network) est un réseau de surveillance active des maladies d'origine alimentaire. Il fournit une base pour la politique de salubrité alimentaire et la prévention des maladies aux États-Unis (CDC 2015). Il mène une surveillance de neuf agents pathogènes bactériens responsables de TIAs bactériennes aux États-Unis (CDC 2015). Son dernier rapport publié en 2017 décrit de grands changements dans l'incidence des sérotypes de *Salmonella* associés dans les TIAs depuis l'année 2006. Il a rapporté une diminution de l'incidence de l'infection par les sérotypes Typhimurium et Heidelberg au cours des 10 dernières années, avec une augmentation de l'incidence des sérotypes *S. Javiana* et *S. Infantis* et *S. Thompson* (Marder et al. 2018). Il a été suggéré que ces résultats sont associés à la diminution de la contamination de la viande de volaille par ces sérovars de *Salmonella* (Marder et al. 2018; Crim et al. 2014).

La viande de poulet est parmi les plus importants vecteurs d'infection à *Salmonella* pour l'humain, de telle sorte que l'évaluation de la prévalence ou de l'incidence de la contamination des carcasses par *Salmonella* est capitale afin de connaître le niveau d'exposition, les tendances et les risques pour la santé publique. Actuellement, peu de données sont disponibles sur la prévalence de *Salmonella* dans les carcasses de poulet abattus au Canada. Entre 1997 et 1999, l'ACIA a rapporté une prévalence de 21,1% (ACIA 2000). Au Québec, Arsenault et coll. ont rapporté une prévalence de 21,2% pour les carcasses de poulet échantillonnées avant la réfrigération dans des abattoirs (Arsenault et al. 2007). Dans une autre étude réalisée par Bohaychuk et al. en Alberta, 37,5% des carcasses à l'abattoir étaient contaminées par *Salmonella* (Bohaychuk et al. 2009). Récemment dans une étude microbiologique de référence nationale sur le poulet à griller au Canada, les gouvernements fédéral, provinciaux et territoriaux du Canada (FPT) ont rapporté une prévalence de *Salmonella* de 16,9 % sur les carcasses entières et de 29,6% sur les parties de carcasses transformées dans des établissements agréés par le gouvernement fédéral entre décembre 2012 et décembre 2013 (ACIA 2016). Dans les autres

pays du monde, différentes études ont rapporté des prévalences qui variaient entre 42,1% en Corée, 41.7% aux États-Unis, 33% en Iran, 17,9% en Espagne, 7,3% en Thaïlande, et 6,67% au Brésil (Brichta-Harhay, Arthur, and Koohmaraie 2008; Dallal et al. 2010; Ta et al. 2012; Bae et al. 2013; Panzenhagen et al. 2016; Chotinun et al. 2014a; Capita, Alonso-Calleja, and Prieto 2007).

Comme discuté précédemment, plusieurs paramètres pourraient influencer la prévalence de *Salmonella* tels que la procédure d'échantillonnage, le nombre d'échantillon, la méthodologie utilisée pour l'isolement et l'identification des bactéries, ainsi que la mise en application de bonnes pratiques d'hygiène dans les abattoirs échantillonnés, sans oublier la mise en place ou non d'un programme HACCP. Tous ces paramètres rendent difficile la comparaison de la prévalence de *Salmonella* entre deux établissements d'abattage et de transformation de poulets à griller (Jørgensen et al. 2002; Bohaychuk et al. 2009; Cunha-Neto et al. 2018; Panzenhagen et al. 2016; Matias et al. 2010).

## **4 La dissémination de *Salmonella* dans la viande de poulet**

### **4.1 La dissémination de *Salmonella* dans la ferme**

Le poulet et les produits à base de poulet sont largement reconnus pour être des réservoirs importants de *Salmonella* dans le monde (Baumler, Hargis, and Tsoilis 2000). Certaines études ont rapporté qu'il y a une grande association entre le statut *Salmonella* des oiseaux vivants et la présence de carcasses contaminées (Cardinale et al. 2005). La contamination des carcasses de volailles peut difficilement être évitée lorsque les poulets sont déjà contaminés à leur arrivée à l'abattoir (Corry et al. 2002).

Au couvoir, la contamination des oiseaux pourra se produire lors de l'éclosion des poussins, la présence de *Salmonella* chez les oiseaux dans les éclosiers étant significativement associée à la contamination du troupeau à la fin de la période d'élevage (Cason, Cox, and Bailey 1994). Il a été rapporté que les poussins sont exposés à plusieurs sources de contamination par *Salmonella* à la ferme d'engraissement: la litière, l'aliment et même les rongeurs et les insectes figurent parmi les sources les plus importantes (Russell 2012; Gast ; Corry et al. 2002; Cox, Bailey, and Berrang 1996).

Lorsqu'un oiseau est infecté par la bactérie, il ne présente généralement pas de signes cliniques de maladie. Une fois que *Salmonella* atteint le caecum du poussin, elle joint l'épithélium où elle se multiplie pour atteindre des nombres élevés, et ce, dans une période relativement courte (Cox, Bailey, and Berrang 1996). Dans ce cas, les poussins deviennent porteurs de la bactérie et pourront l'excréter dans leurs fèces pendant des semaines, voire même des mois selon la catégorie et l'espèce des oiseaux. Ces oiseaux peuvent ainsi servir de voie de transmission de salmonelles de la ferme jusqu'à l'abattoir en contaminant en premier lieu l'environnement du poulailler (Cox, Bailey, and Berrang 1996; Russell 2012; Pui et al. 2011; U.Methner 2013; Marin and Lainez 2009; CDC 2012a).

Il a été suggéré que cette contamination des carcasses à l'abattoir pourrait être réduite avec des pratiques de gestion qui peuvent être mises en œuvre à l'échelle de la ferme et du transport (Fries 2002; Rasschaert 2007a; Dincer and Baysal 2004). À la ferme par exemple, plusieurs pratiques spécifiques sont recommandées par l'FSIS-USDA afin de diminuer la contamination des oiseaux par *Salmonella* telles que la mise en place de mesures de biosécurité rigoureuses, le contrôle de l'humidité de la litière, l'utilisation d'acides organiques dans l'eau d'abreuvement pendant le retrait des aliments et l'application de programmes de vaccination (USDA 2010). La contamination par *Salmonella* pourra aussi survenir lors du processus d'abattage et de transformation. C'est ce que nous allons développer dans la section suivante.



## **4.2 La dissémination de *Salmonella* dans les usines d'abattage et de transformation de poulets de chair**

### **4.2.1 Portrait global des étapes d'abattage**

Au Canada, vers l'âge de 5 semaines, les poulets de chair sont transportés vers les usines d'abattage et de transformation (Letstalkchicken 2018). Ils sont d'abord attrapés manuellement à la ferme et placés dans des cageots, pour ensuite être chargés dans des camions de transport. La procédure a généralement lieu la nuit ou tôt le matin, et il est pratique courante que les poulets soient privés de nourriture pendant huit à dix heures avant l'abattage (Smith 2014; Kettlewell and Turner 1985). Le retrait de l'alimentation est important pour réduire la quantité de matériel contenu dans le tractus gastro-intestinal des oiseaux et ainsi diminuer le risque de contamination pendant le processus d'abattage (Smith 2014).

Le processus d'abattage des poulets de chair comporte plusieurs étapes subséquentes, la première consistant à rendre les oiseaux inconscients et insensibles à la douleur, sauf lorsque des considérations religieuses sont en jeu (Gerritzen et al. 2013; Barbut 2002). En effet, il existe plusieurs types de systèmes d'insensibilisation, tel que l'insensibilisation par électronarcose (Berg and Raj 2015). L'insensibilisation par électronarcose au cours de laquelle les oiseaux sont suspendus vivants par les pattes et où la tête est entraînée à travers un bain d'eau électrifiée est la forme d'insensibilisation la plus fréquemment utilisée pour les poulets de chair au Canada (ACIA 2018b; Francois 2009).

Un tel système crée non seulement une perte de conscience chez les oiseaux, mais induit également un arrêt cardiaque lorsqu'il est utilisé avec des paramètres électriques appropriés, ce qui présente plusieurs avantages pour le bien-être des oiseaux. Ce système permet aussi de détendre les muscles du cou pour un positionnement approprié des têtes facilitant la saignée (Lambooj et al. 2008). Au cours de celle-ci, les artères carotides et les veines jugulaires des

animaux sont tranchées par le biais d'une ou de deux lames rotatives (Barbut 2015; ACIA 2018a).

Les carcasses sont par la suite soumises à l'étape d'échaudage qui consiste en un rinçage des carcasses dans un bassin à l'eau chaude afin de faciliter la plumaison, cette dernière se faisant mécaniquement grâce à une machine s'appuyant sur l'action mécanique de plusieurs doigts en caoutchouc (Barbut 2015). L'étape qui suit la plumaison est l'éviscération qui est généralement faite de manière automatique à l'aide d'un bras en forme de cuillère. Cette étape consiste à extérioriser l'ensemble des organes internes des oiseaux.

Finalement, les carcasses sont rincées et ensuite transférées à la phase de refroidissement ayant pour objectif d'abaisser la température des carcasses sous les 4 °C et de maintenir la température à ce niveau pendant un minimum de 4 heures, en évitant la congélation (ACIA 2018c). Il existe en fait deux méthodes de refroidissement, le refroidissement par immersion en eau froide et le refroidissement à sec utilisant de l'air froid (Berrang et al. 2008). La méthode de refroidissement à l'eau fait appel à de gros bassins remplis d'eau et de glace dans lesquels les carcasses séjourneront pendant plusieurs minutes. Plus de 95% des établissements d'abattage américains utilisent le refroidissement par immersion dans l'eau, et certains d'entre eux utilisent en surplus un plus petit réservoir servant à mettre en contact les carcasses avec un agent antimicrobien (Smith 2014). Pour ce qui est du refroidissement à l'air, les carcasses circulent suspendues à des crochets dans une chambre où est poussé de l'air froid et où l'utilisation des pulvérisateurs en nombre limité permet de prévenir la déshydratation de la peau (ACIA 2018c). Cette technique est peu utilisée par les usines américaines mais elle est pratiquée dans les usines européennes (Smith 2014). La température à cœur exigée pour le refroidissement à l'air est aussi de 4 °C , et il n'y a aucune durée d'exposition minimale à respecter pour l'atteindre (ACIA 2018c). De longs séjour dans cette chambre sont possibles à condition que la température de l'air soit maintenue à 4 °C ou moins (ACIA 2018c). Après refroidissement, les poulets sont calibrés, puis transférés vers les chaînes de découpe, emballage et étiquetage (Guerin et al. 2010; Rivera-Perez 2014).

## 4.2.2 L'importance de la ligne d'abattage dans la dissémination de *Salmonella*

Le contrôle de *Salmonella* tout au long du procédé d'abattage des volailles a fait l'objet de quelques travaux de recherche. Il a été suggéré que les étapes de l'abattage dont l'échaudage et la plumaison, mais aussi l'éviscération et le refroidissement représentaient des étapes critiques pour la contamination par *Salmonella* des produits de viande de volailles (Rivera-Perez 2014; Althaus, Zweifel, and Stephan 2017). Ces étapes peuvent ainsi potentiellement être associées à une augmentation de la prévalence globale de *Salmonella* dans l'abattoir, ainsi qu'à une augmentation du nombre de micro-organismes sur la surface des carcasses (El-Aziz 2013; Rivera-Perez 2014; Althaus, Zweifel, and Stephan 2017).

La saignée représente pratiquement le début de la chaîne d'abattage des oiseaux et certaines études ont rapporté que les oiseaux entrants pouvaient contenir une charge importante de salmonelles à leur arrivée à l'abattoir (Bryan, Ayres, and Kraft 1968; Dougherty 1974). Une telle contamination peut entraîner une dissémination massive de *Salmonella* tout au long de la ligne d'abattage, jusqu'au produit fini (Lillard 1990).

L'échaudage représente un site majeur de contamination croisée des carcasses par *Salmonella* (Buhr et al. 2005). Il a été rapporté que l'eau d'échaudage, même si elle réduit le nombre total des bactéries sur la peau, peut aussi servir de vecteur pour la contamination des carcasses par les salmonelles (Rouger, Tresse, and Zagorec 2017; Reiter et al. 2007; Russell 2008). La chaleur de l'eau lors du passage des oiseaux dans le bassin rend la peau plus tendre et provoque la dilatation des follicules plumeux, facilitant la fixation des bactéries sur la peau des oiseaux (Rouger, Tresse, and Zagorec 2017). Une eau d'échaudage de piètre qualité dû à l'accumulation de matières organiques et de fèces représente alors une source importante de contamination des carcasses par *Salmonella* (Jun J et al. 1997; Li et al. 2013; Choi et al. 2014). Slavik et coll. (1995) ont rapporté que *Salmonella* n'a pas été significativement réduite après un échaudage

dans des conditions de température d'échaudage recommandées (Slavik, Kim, and Walker 1995). Adams et al. (2013) ont quant à eux expliqué que la persistance de la bactérie dans l'eau d'échaudage pouvait être reliée à la protection des salmonelles par les particules fécales, les plumes (Adams et al. 2013).

L'étape de la plumaison est également considérée comme un point important de contamination des carcasses par *Salmonella* (Hue, Allain, et al. 2011). Pendant la plumaison, les doigts de caoutchouc de la plumeuse appliquent une pression sur les carcasses, ce qui peut provoquer une évacuation de la matière fécale à partir du cloaque. Les salmonelles, lorsque présentes chez ces oiseaux, peuvent ainsi se retrouver sur les surfaces extérieures et intérieures des doigts de caoutchouc et ainsi servir de source de contamination pour les oiseaux ou mêmes les lots subséquents (Arnold and Yates 2009; Duffy et al. 2014; Veluz, Pitchiah, and Alvarado 2012). Dans un tel cas, lors de la plumaison suivante, les bactéries résiduelles seront transférées des doigts de caoutchouc de la plumeuse aux carcasses du nouveau lot abattu, engendrant une contamination croisée (Ellerbroek, Lienau, and Klein 2010).

Au cours du procédé d'abattage, toutes les étapes présentent un risque de contamination croisée, mais l'étape de l'éviscération est sans aucun doute celle représentant le plus grand risque. Des études ont rapporté que le processus d'éviscération peut conduire à une augmentation considérable de la contamination croisée par *Salmonella* (Reiter et al. 2007; Santos et al. 2011; Carrasco, Morales-Rueda, and García-Gimeno 2012). Rivera-Pérez et al. (2014) ont rapporté que le processus d'éviscération et le lavage par pulvérisation représentaient un grand risque de contamination croisée des carcasses de poulet par les salmonelles. Cette même étude a aussi rapporté que le jeûne adéquat des oiseaux avant l'abattage, ainsi que l'ajustement des équipements permettent de réduire le risque de contamination à cette étape (Rivera-Perez 2014).

Le refroidissement est un processus visant à diminuer la température interne des carcasses de poulets de chair afin d'inhiber la multiplication des bactéries (Carrasco, Morales-Rueda, and García-Gimeno 2012; James et al. 2006). Le refroidissement par immersion est le plus utilisé

aux États-Unis, tandis que le refroidissement par air est le plus utilisé en Europe, au Brésil et au Canada (Owens, Sams, and Alvarado 2000). Cependant, cette étape présente un risque potentiellement élevé de contamination croisée, surtout lors du refroidissement par immersion dans l'eau (Munther et al. 2016). Cette contamination peut être expliquée par la libération de matières organiques et de microorganismes des carcasses dans l'eau du refroidisseur (Munther et al. 2016). Des études ont rapporté que ce processus augmentait le risque de contamination croisée considérant le nombre de carcasses partageant le même bain d'eau glacée (Goksoy, Kirkan, and Kok 2004; Smith, Cason, and Berrang 2005; James et al. 1992; Possas et al. 2017). Cependant, dans le procédé de refroidissement à l'air, bien qu'il y ait moins de contact entre les carcasses, la possibilité d'une contamination croisée microbienne peut également se produire suite aux éclaboussures pouvant être causées par l'utilisation de pulvérisateurs d'eau lors le processus de refroidissement (Mead et al. 2000).

#### **4.2.3 Les principales méthodes de contrôle de *Salmonella* dans les établissements d'abattage et de transformation de la volaille au Canada**

La salubrité alimentaire est l'un des enjeux les plus importants dans la commercialisation de tout type d'aliment; la viande de volaille ne fait pas exception. Jusqu'à présent, les gouvernements et les industries canadiennes ont choisies l'application de systèmes de gestion de la qualité telle que le système HACCP pour tenter de diminuer la prévalence des agents pathogènes comme *Salmonella* dans les établissements d'abattage et de transformation. Avant d'élaborer des plans HACCP, l'établissement doit élaborer et mettre en œuvre des programmes préalables afin de limiter l'introduction possible de dangers pour la salubrité des aliments produits et qui pourraient être attribuables à l'environnement de l'usine ou aux différentes pratiques opérationnelles. Plusieurs pays ont rendu obligatoire l'utilisation du système HACCP, tandis que d'autres en ont recommandé la mise en œuvre à l'inspection (Barbut 2002).

Par la suite, d'autres mesures plus ciblées ont été mise en place, telles que l'ajout de produits désinfectants aux douches ou à l'eau du refroidisseur. Dans le refroidisseur à l'eau par exemple, des substances telles que des composés chlorés, ammoniums quaternaires, du sulfate de méthyle ou de l'acide peracétique (acide peroxyacétique) sont ajoutées aux réservoirs d'eau afin de réduire la contamination microbienne des carcasses qui y séjournent (Guastalli et al. 2016; Holah et al. 2002). Au Canada, entre 2014 et 2015, le ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario (MAAARO) a fait des essais quant à l'emploi du chlore et de l'acide peracétique comme agents antimicrobiens utilisés dans les refroidisseurs d'un certain nombre d'abattoirs de volailles situés en Ontario. L'acide peracétique s'est révélé nettement supérieur au chlore dans les systèmes de refroidissement, quelle que soit la taille de ceux-ci. Ce produit a permis de réduire considérablement les populations de microorganismes responsables de la détérioration des aliments, ainsi que plusieurs agents pathogènes, y compris *Salmonella* (The Ontario Ministry of Agriculture 2016).

Jusqu'à présent, aucune méthode n'a permis d'éradiquer *Salmonella* dans les carcasses de volailles. De plus, l'amélioration de la qualité microbiologique des carcasses de poulets dans les usines d'abattage et de transformations à ses limites. Par ailleurs, si le contrôle était mieux intégré dans la filière de production et se rendait jusqu'à la ferme, la contamination croisée pourrait être considérablement minimisée rendue à l'étape de l'abattage. Néanmoins, il est important d'optimiser les moyens de contrôle actuels à la lumière des connaissances nouvelles sur la distribution et les sources de contamination par *Salmonella* dans les établissements d'abattage et de transformation de la viande volaille. Pour se faire, une étude systématique visant à comprendre la distribution et les sources de contamination de *Salmonella* à l'intérieur des établissements d'abattage et de transformation canadiens serait un atout de taille.

Le présent projet vise donc à générer des nouvelles connaissances quant à la prévalence et la distribution de *Salmonella* sur les carcasses de poulets de chair et dans l'environnement de deux abattoirs de volailles au Québec. Aussi, de déterminer, à l'aide d'une caractérisation moléculaire des isolats de *Salmonella* récupérés, les sources principales de contamination des carcasses de

volailles. En d'autres mots, il s'agit de savoir si c'est l'environnement de l'usine d'abattage ou bien les oiseaux entrants, par leur statut positif, qui sont responsables du statut final des carcasses.

**Article en preparation pour le journal de food and  
protection: *Salmonella* contamination of broiler carcasses  
at different slaughter stages and in the environment of two  
slaughterhouses in Québec**

Selmane Boubendir, Sylvain Quessy, Alexandre Thibodeau, William Thériault,  
Philippe Fravallo and Marie-Lou Gaucher

## **1 Introduction**

*Salmonella* is an important zoonotic pathogen having a significant economic and health impact on animals and humans worldwide (Voetsch et al. 2004; Kirk et al. 2015). *Salmonella* is a Gram-negative facultative anaerobic non-spore forming bacteria, and members of this species are predominantly motile microorganisms belonging to the *Enterobacteriaceae* family. The *Salmonella* genus contains two species, namely enterica and bongori. *Salmonella* enterica is divided into six, each divided into serovars (Bergey and Holt 1994; Euzeby 1999; Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Ed 2009; Coburn, Grassl, and Finlay 2007). According to the latest update published in 2014, there are approximately 2659 serovars in the genus *Salmonella* (2639 for *Salmonella* enterica and 20 for *Salmonella* bongori)(Issenhuth-Jeanjean et al. 2014).

In the early 2000s, the most frequently isolated serotypes in the world, according to the database provided by World Health Organization (WHO) Global Foodborne Infections Network (GFN)



(formerly WHO Global Salm-Surv (WHO GSS)), were *S. Enteritidis*, followed by *S. Typhimurium* and *S. Newport* (Galanis et al. 2006; Hendriksen et al. 2011). In the United States, between 1996 and 2011, the most frequently reported serotypes were *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport*, *S. Heidelberg* and, *S. Javiana* (Boore et al. 2015). With the exception of this latter serotype which was linked to the contact with amphibians, the others are frequently isolated from food products (Boore et al. 2015). Moreover, in the United States and in Canada, serotypes such as *S. Heidelberg* and *S. Kentucky* have emerged as the predominant serotypes in poultry and have also been incriminated in cases of human salmonellosis, beyond *S. Enteritidis* (CDC 2014b; Foley et al. 2011; Lucie et al. 2010; Mazengia et al. 2014; Hoffmann et al. 2014; Dhanani et al. 2015).

In humans, the foodborne *Salmonella* infection typically translates into a range of clinical symptoms, usually characterized by fever, abdominal pain, nausea, and sometimes by vomiting (Chlebicz and Slizewska 2018). In some cases, human salmonellosis may be associated with a dramatically more severe systemic disease, particularly in the immunocompromised population (Gordon 2008). In Canada, *Salmonella* ranks as the third bacterial leading cause of domestically acquired food-borne illness, after *Clostridium perfringens* and *Campylobacter*, accounting for 125,000 human disease cases each year (Thomas et al. 2013; Services 2016).

The pathogen transmission to humans is most often occurring through the ingestion of contaminated food, where meat, eggs, dairy products, and vegetables are identified as the main contributing vehicles (Silva et al. 2011; Braden 2006; Kimura et al. 2004; Zhao et al. 2001). Among animal protein sources, poultry meat is considered as a major source of the pathogen for human food poisoning (Sulaiman Rahman 2017). Due to the high prevalence of *Salmonella* in poultry flocks, its control during the slaughter and processing activities is a major challenge for the poultry industry (Arsenault et al. 2007). Several studies have reported that live birds can introduce *Salmonella* in the meat processing plant (Bryan, Ayres, and Kraft 1968; Hue, Le Bouquin, et al. 2011; Zhu et al. 2017; Rivera-Perez 2014). Indeed, as *Salmonella* colonizes the digestive tract of the animals, any damage to the gut associated with the slaughter activities that results in a leakage of the intestinal content is a risk for the contamination of poultry meat (Rivera-Perez 2014; Mead 1993). The identification of critical control points (CCPs) to manage

this risk is a key approach in chicken slaughterhouses (Rivera-Perez 2014). As a CCP is defined as a step at which control measures can be applied to prevent or to eliminate a food safety hazard, food processors have largely relied on the application of this preventive approach in their production processes (ACIA 2018d). In a poultry slaughterhouse, for example, several methods are available to identify CCP. The whole carcass rinse approach is one of the sampling methods used for establishing the *Salmonella* status of a carcass (Cox et al. 2010). Several attempts have been made at refining and improving the sensitivity of the method (Lillard 1989; Henry et al. 2013; Cox et al. 2010; Rivera-Perez 2014).

Though the recent advances in molecular diagnostic methods have made the detection of foodborne pathogens more accurate and convenient, rapid detection and differentiation of *Salmonella* serotypes could still be a challenge for the food industry. The choice of a typing method depends on various factors such as the number of samples, the period covered, the type of microorganisms including the genome plasticity and the desired discriminatory power according to the objectives of the study. For *Salmonella*, it is relatively common to use a first method of characterization that is less tedious to complete a first sorting step and then use, on a limited number of isolates, a more discriminant method which is usually more expensive.

From an industrial perspective, a molecular characterization approach must be easy to perform, fast, allows for the treatment of many samples, and should not be too expensive. Many techniques for the differentiation of *Salmonella* based on the genome typing are proposed (Bratchikov and Mauricas 2011; Bancercz-Kisiel et al. 2014; Tamada et al. 2001; Yachison et al. 2017). Recent studies indicate that High Resolution Melting (HRM) analysis can be applied to both clinical research and diagnostic purposes, as well as for food analysis (Wang, Zijlstra, and Gänzle 2017; Ganopoulos et al. 2012; Druml and Cichna-Markl 2014). The HRM-based *Salmonella* genotyping method is a novel, interesting approach which is very rapid, robust, easy to interpret, and affordable when compared to other techniques such as whole genome sequencing (Bratchikov and Mauricas 2011; Bancercz-Kisiel et al. 2014). Thus, the amount of information this approach generates can be valuable in the agri-food sector. Until now, no systematic study using modern molecular characterization technologies and aiming at

understanding the sources of contamination of broiler chicken carcasses by *Salmonella* and the distribution of this pathogen in commercial poultry processing plants have been conducted.

The objective of the current study was then to generate new knowledge regarding the distribution, the prevalence and the sources of contamination of broiler chicken carcasses by *Salmonella* in two commercial poultry slaughter establishments in Québec, Canada.

## 2 Materials and Methods

### 2.1 Plants and flock selection

Sampling for this study was carried out in two different commercial poultry processing plants in the province of Québec, Canada, between the months of February and July of 2017. Surveyed abattoirs characteristics are shown in table II. For both slaughter plants, sampling visits were scheduled according to the number of flocks slaughtered per day, with a minimum number of five different broiler chicken flocks that needed to be available for a sampling visit to be conducted. During each visit, five different flocks were sampled.

### 2.2 Sampling approach

#### 2.2.1 Carcass sampling

Carcass sampling was carried out at five critical steps of the processing line: P1: after bleeding, with the feathers still attached to the carcass; P2: at time of transfer between the live-receiving and the evisceration departments, before evisceration; P3: before chilling, P4: after water-immersion chilling and P5: after dry-air chilling (Rivera-Perez 2014). A total of 5 birds were sampled randomly and were chosen from the last one-third of each sampled flock. For each

sampled flock, one carcass was sampled at each critical step of the processing line. However, only four birds were sampled for flocks from which air-chilled carcasses were not available.

Each sampled carcass was placed in a sterile plastic bag (Fisher Scientific, Ottawa, Nasco Poultry Rinse Sample Bag), and a 550 ml volume of buffered peptone water (BPW) (Biokar diagnostic, Beauvais, France) was added. The carcass was vigorously shaken for 1 min before being removed aseptically from the bag. The full 550 ml volume of rinsate was recovered, placed on ice, transported back to the laboratory and stored overnight at 4°C. Samples were individually processed the morning after.

### **2.2.2 Environmental sampling**

Both slaughtering plants were also investigated through environmental samplings that were carried out at seven critical sampling locations (CSLs). According to Luning et al., CSLs were defined as surfaces on which contamination, growth and survival of microorganisms can occur due to the type of operations performed, or to the risk of the applied prevention strategies not being fully effective in controlling contamination (Luning et al. 2011). CSLs were defined as follows: CSL1: the feather-plucking rubber fingers; CSL2: the conveyor belt between the live-receiving and the evisceration department; CSL3: the evisceration machine; CSL4: the floor surface in the evisceration department; CSL5: the conveyor belt before chilling; CSL6: the conveyor belt after chilling; CSL7: a stainless-steel equipment surface in contact with the meat products located in the packaging department. Samplings were conducted after the sanitation procedures, prior to the slaughter activities (PS), as well as at the end of the work shift (OP). A total of 14 samples were collected during each visit conducted in both slaughter plants. Both abattoirs were visited 8 times.

Sterile gauze moistened in a 10 mL neutralizing buffer volume (DE Neutralising Broth, LabM, Ltd. UK) were used to rub a 10 cm X 10 cm surface on each CSL. After sampling, swabs were put back into their respective sterile bags, placed on ice and transported back to the laboratory where further analysis was performed within the same working day.

### 2.3 Sample treatment and microbiological examinations

From each carcass rinsate, a 200 ml volume was centrifuged for 20 minutes at 15 000 g. The supernatant was removed, a volume of 4 ml of BPW was added to the pellet and vortexed until complete suspension of the pellet. For each sample, a 1 ml volume of this suspension was distributed into 9 ml of sterile BPW and was homogenized. The tubes were incubated at 37 °C for 24h. Three equidistant drops of 100 µl each, from the pre-enriched culture were inoculated onto the surface of Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis Agar (MSRV) plates (Lab M, Heywood, United Kingdom). Plates were incubated at 42°C for 24 h and then examined for bacterial growth, which could be interpreted by the development of a white migration zone. When no growth or migration was observed, plates were re-incubated for an additional 24h and re-assessed. Typical migrations on MSRV medium were sub-cultured on both Brilliant Green Sulfa Agar (BGS) (BD Difco, Franklin Lakes, NJ, United States) and Xylose lysine deoxycholate agar (XLD) (Biokar Diagnostics, France, ISO 6579), and were incubated at 37°C for 24h. For BGS agar plates, an additional 24h incubation period was added to confirm *Salmonella* growth. Suspect colonies on BGS and XLD were confirmed as *Salmonella* using triple sugar iron agar (Lab M, Heywood, United Kingdom) and urea agar (Lab M, Heywood, United Kingdom), followed by sero-agglutination using *Salmonella* O antiserum Poly A-I C Vi (Statens Serum Institute, Denmark). Positive cultures were subcultured on Blood Agar plates (Oxoid, Nepean, ON, Canada) and stored at -80°C in Brucella agar freezing media (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, United States) containing 25% glycerol (Fisher Scientific, Bridgewater, NJ, United States).

For environmental samples, a volume of 20 ml of BPW was added to each gauze-containing bag. Bags were homogenized for 1 min and incubated at 37 °C for 24h. The same *Salmonella* detection protocol as the one applied to carcass rinsates was also carried out for environmental samples.

## 2.4 Preparation of genomic DNA

The DNA extraction protocol using a 10% Chelex 100 (Bio-Rad Laboratories, Mississauga, Ontario) solution in water was applied (Malorny et al. 2004) (Levin 2009). Briefly, three to five colonies of each suspected *Salmonella* isolate were suspended in 1 ml of sterile water, vortexed and centrifuged at 12 000 g for three minutes. After removal of the supernatant, 200 µL of the 10% Chelex 100 solution were added to the bacterial pellet, vortexed and then boiled at 100°C for 20 minutes. A volume of 125 µL of the supernatant was recovered after a second centrifugation at 12 000 g for three minutes, transferred into sterile eppendorfs and stored at -20°C until used for molecular analysis.

## 2.5 *InvA*-PCR for *Salmonella* confirmation

All recovered isolates were confirmed as *Salmonella* using an *invA*-based PCR approach (Rahn et al. 1992; Brichta-Harhay, Arthur, and Koohmaraie 2008). PCR amplifications were performed using a TProfessional Basic 96 thermocycler (Biometra GmbH, Germany). The reaction mixture contained 1 µL of each primer (10 nmol/µL) (Bhatta et al. 2007), 3 µL of extracted genomic DNA, 2.5 µL of reaction buffer (10X ThermoPol Reaction Buffer, NEB, Canada), 2 µL of dNTPs (10 mM) (Bio Basic Inc. Ontario, Canada), 0.5 µL of Taq DNA Polymerase (NEB, Canada) and 15 µL of sterile water.

Reaction conditions were conducted according to the protocol published by Chiu and Ou (Chiu and Ou 1996). The PCR program was as follows: an initial denaturation step at 94°C for 1 min, followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing at 54.2°C for 30 s, extension at 72°C for 2 min, and final extension step at 72°C for 10 min.

The PCR amplified products were visualized and photographed under UV illumination following electrophoresis on a 1% agarose gel containing 0.01% SYBR Safe DNA gel stain

(Invitrogen, Ontario, Canada). A 100 bp ladder (Track It, Invitrogen, Ontario, Canada) was used as a molecular weight marker.

## 2.6 Real-time PCR and High-Resolution Melt curve analysis

HRM-based genotypic characterization was performed on all PCR confirmed *Salmonella* strains. DNA templates used for the conduct of the approach were 1:10 dilutions of the DNA products obtained using the DNA extraction protocol. Each 20 $\mu$ L reaction volume contained 12.4 $\mu$ L of sterile water, 0,8 $\mu$ L of each primer, 4 $\mu$ L of EvaGreen mastermix (Montréal Biotech, Montréal, QC, Canada), and 2 $\mu$ L of genomic DNA.

Primers used and linear normalization regions were selected according to the protocol published by Bratchikov and Mauricas (Bratchikov and Mauricas 2011). Real-time PCR and HRM curve analysis were performed using a LightCycler 96 real timePCR thermocycler (Roche diagnostics, Mannheim, Germany). Based on the work published by Bratchikov and Mauricas, three genomic regions were chosen: two CRISPRs (*CR1* and *CR2*), and one VNTR region (*YohM*).

For each HRM-typed strain, the combined analysis of the three curves generated by the amplification and denaturation of the three selected genes was associated with an HRM type. HRM-typed isolates were grouped according to their HRM type and representative isolates of each HRM type identified were serotyped by the Laboratoire d'épidémiologie-surveillance du Québec (Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec).

## 2.7 Statistical analysis

Data collected from all samples were analyzed descriptively and tabulated using Excel office 365. A multivariable logistic regression was used to model the overall *Salmonella* contamination according to the slaughter plant (1 vs. 2), with standard errors adjusted for clustering within

flocks. Each analysis was performed separately for carcasses, environmental samples at PS and environmental samples at OP.

A multivariable logistic regression analysis was used to model positive carcasses according to critical steps and slaughtering order, and it was conducted separately for each slaughterhouse. A Tukey-Cramer adjustment for post-hoc multiple comparisons was applied. The *Salmonella*-positive carcass status was established according to the result obtained on either one or both culture media (BGS and XLD) (i.e. positive if positive status to either of the two-culture media) used. The P5 critical step was excluded because of a too low number of positive samples to be considered for the model to converge.

A second logistic regression analysis was used to model *Salmonella* environmental samples status, according to the slaughter plant (1 v. 2), to the CSL and to the sampling period (PS v. OP) with adjusting for aggregation by plant visit. A conditional logistic regression analysis (unit = culture medium) considering the matching by sample was used to model the status of the carcass (positive or negative) by culture medium. The same model was used to model the most common serovar *Salmonella* status (i.e. positive / negative for *S. Heidelberg*, positive / negative for *S. Kentucky*, positive / negative for *S. Schwarzengrund*, positive / negative in other handsets). The same analyzes were used for environmental samples.

Finally, a logistic regression to predict the flock status after chilling (presence of a specific genotype (HRM profile) on the carcass sampled at P4 or P5) according to the status of the flock in the previous steps, the status of the previous flock and the status of the recovered environmental samples at PS. A model adjustment was applied for aggregation by slaughter visit. An alpha value of 0.05 was used to determine statistical significance. All statistical analyses were conducted in SAS 9.4.

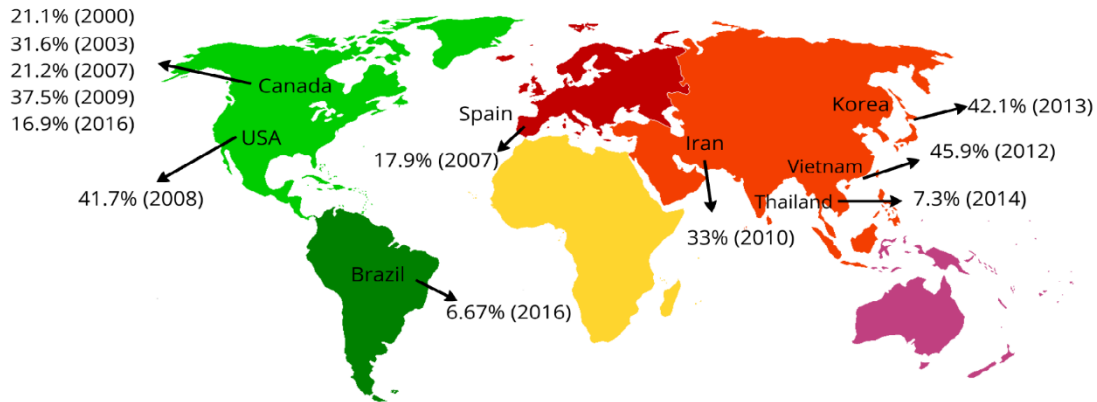


### 3 Results and discussion

Important research gaps remain to be filled in order to better understand the sources of contamination and the distribution of *Salmonella* in Canadian commercial poultry slaughterhouses. Therefore, the aims of the current study were to generate new knowledge on the prevalence of *Salmonella* serovars at five critical steps of the slaughter process using molecular characterization techniques, to compare the proportion of broiler chicken carcasses positive for *Salmonella* at each step of the slaughter process. Also, to investigate the presence of the pathogen in the environment of two poultry slaughter plants in Québec, Canada, and to establish the contributing role of both the abattoir's environment and the incoming birds in the prevalence and distribution of serovar-specific positive broiler chicken carcasses at critical steps of the slaughter process.

A total of 379 broiler chicken carcasses were sampled between February and July 2017 in the two surveyed slaughter plants. Both abattoirs were visited 8 times each and 79 flocks were sampled. Globally, 46% and 38.6% of all carcasses sampled at various steps of the slaughter process were positive for *Salmonella* in Abattoir 1 and 2, respectively (table I).

In Canada, very few studies investigating the prevalence of *Salmonella* on broiler chicken carcasses have been conducted at the slaughter plant level. Despite that, the overall prevalence of *Salmonella* contamination of broiler chicken carcasses observed in the current study is similar to the 37.5% prevalence reported by Bohaychuk et al. in Alberta (Bohaychuk et al. 2009), and to the 31.6% prevalence found in the Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (OMAFRA) baseline study (Johnson P 2003). It is however higher than the 21.1% prevalence reported by the Canadian Food Inspection Agency (CFIA) in the baseline survey conducted between 1997 and 1998 (ACIA 2000). It's also higher than the 16.9% prevalence found by the federal, provincial and territorial (FPT) governments in a study conducted in Canada (ACIA 2016), and than the 21.2% prevalence reported from the broiler chicken carcasses sampled prior to chilling in three commercial abattoirs in Quebec, Canada (Arsenault et al. 2007).( figure 1)



(ACIA 2000; Johnson P 2003; Arsenault et al. 2007; Bohaychuk et al. 2009; ACIA 2016) (Brichta-Harhay, Arthur, and Koohmaraie 2008; Dallal et al. 2010; Ta et al. 2012; Bae et al. 2013; Panzenhagen et al. 2016; Chotinun et al. 2014a; Capita, Alonso-Calleja, and Prieto 2007).

Figure 1. A figure that resume the overall prevalence of *Salmonella* on broiler chicken carcasses observed at the slaughter plant level in Canada and several countries around the world

The global prevalence of *Salmonella* observed in the current study (46% and 38.6%) is close to the prevalence observed in other countries, including the United States (41.7) (Brichta-Harhay, Arthur, and Koohmaraie 2008), Iran (33%) (Dallal et al. 2010), Vietnam (45.9%) (Ta et al. 2012), and Korea (42.1%) (Bae et al. 2013), but is also higher than the one observed in Brazil (6.67 %) (Panzenhagen et al. 2016), Thailand (7.3%) (Chotinun et al. 2014a) and Spain (17.9%) (Capita, Alonso-Calleja, and Prieto 2007). However, factors such as the use of different sampling procedures, sample sizes, bacterial isolation and identification methods, as well as the implementation of programs such as employee training and Good Manufacturing Practices and Hazard Analysis and Critical Control Points by surveyed slaughter plants could all impact the prevalence of *Salmonella* reported by these abovementioned studies and represent a limit for making any comparison (Jørgensen et al. 2002; Bohaychuk et al. 2009; Cunha-Neto et al. 2018; Panzenhagen et al. 2016; Matias et al. 2010). (figure 1)

The *Salmonella* prevalence at each critical step of the slaughter process for both surveyed slaughterhouses are presented in Table I.

Critical step	Abattoir 1		Abattoir 2	
	No. samples	No. positive (%)	No. samples	No. positive (%)
P1	40	37 (92.5)	39	35 (89.7)
P2	40	21 (52.5)	39	17 (43.6)
P3	40	15 (37.5)	39	15 (38.5)
P4	40	18 (45.0)	39	2 (5.1)
P5	40	1 (2.5)	23	0 (0.0)
Total	200	92 (46)	179	69 (38.6)

P1: After bleeding, P2: Before evisceration, P3: Before chilling, P4: After immersion water chilling, P5: After dry-air chilling.

Tableau I. Number of carcass rinsates and *Salmonella* prevalence at each critical step of the slaughter process for both surveyed slaughterhouses

For both slaughterhouses, the critical step that was the most frequently detected as positive for the presence of *Salmonella* was P1, with nearly 91.1% of the carcasses sampled at this step identified as positive. This percentage was higher than the one found in a study conducted by Walter Rivera Perez et al. in Costa Rica in 2014 (60%), and in the study conducted by Hernandez et al. in Colombia in 2017 (14.4%) (Rivera-Perez 2014; Sánchez-Plata 2017). However, this prevalence is similar to what was reported by Yamatogi and al. (100%) in 2016 and Mellor and al. (98.9%) in 2010 (Mellor et al. 2010; Yamatogui et al. 2016).

Results of the current study suggest that most of the birds were already contaminated by the pathogen before their arrival to the slaughter plant, this contamination probably occurring at earlier steps of the production system such as on the farm or during transport. When birds

become infected on the farm, *Salmonella* is normally carried out asymptotically in their digestive tract (Rasschaert 2007b; Mainali et al. 2009; Chotinun et al. 2014b; Cason et al. 2004). Thus, during transport to the abattoir, the close proximity of birds and the stress induced by those conditions may significantly increase the prevalence of positive birds detected upon their arrival to the slaughter plant (Rasschaert 2007b; Mainali et al. 2009; Klancnik et al. 2013). This may result in a massive dissemination of *Salmonella* among the birds, and subsequently, along the slaughter line to the final meat product (Lillard 1990; Buncic and Sofos 2012). However, it cannot be ruled out that some of the observed *Salmonella* contamination may originate from the very first steps of the slaughter process, such as via the contaminated hands of workers, the knife used for bleeding, or even from the shackles on which birds are hung (Fletcher 2002; Lillard 1990).

In the current study, *Salmonella* was detected at every sampling point of the processing line identified as critical, except for P5, (air chilling) in Abattoir 2. Similarly, only one positive sample was found at this step in the Abattoir 1 (table I). Based on these results, it could be argued that, air chilling shows a good ability to reduce carcass contamination by *Salmonella*. For Abattoir 1, the contamination level of the carcasses sampled decreased from 37.5% after evisceration to 2.5% after air chilling. Similarly, for Abattoir 2, the prevalence of *Salmonella*-positive carcasses decreased from 38.5% after evisceration to 0% after air chilling. Previous studies have explained this trend by the fact that poultry carcasses submitted to air chilling are less in contact as they are suspended individually, which reduces the risk of cross-contamination (Doyle 1995). In contrast, James et al. in a review published in 2006 reported that the air chilling process was associated with little or even no significant reduction of several bacterial agents present on broiler chicken carcasses, including *Salmonella* (James et al. 2006). Similarly, in the study conducted by Huezo et al. (2007) no significant difference was observed for *Salmonella* count on chicken carcasses after air chilling (Huezo et al., 2007).

Although an increase in the prevalence of pathogens has been observed after carcass evisceration in some research work (Park et al. 2015; Figueroa et al. 2009; Hue et al. 2010; Rivera-Perez 2014; Matias et al. 2010), results of the current study showed no significant change in *Salmonella* prevalence at this step of the slaughter process. The observed *Salmonella*

prevalence after evisceration (37.5% and 38.5%) was however slightly higher than the prevalence reported by Arsenault et al. in Quebec in 2007 (21.2%), and by Hernandez et al. in Colombia in 2017 (12.5%) (Arsenault et al. 2007; Sánchez-Plata 2017). Findings of the current study are however similar (40%) to those published by Rivera and Zamora in 2014 in Costa Rica (Rivera-Perez 2014).

Interestingly, when comparing the contamination level at the various steps of the slaughter process between the two slaughterhouses, two different pictures can be drawn. Abattoir 2 performed well at reducing *Salmonella* contamination level between the live-receiving and the evisceration departments, also both of after the water immersion and air chilling steps. However, for Abattoir 1, there was also reduction of *Salmonella* contamination level between the live-receiving and the evisceration departments and only after the air chilling step. Nearly half of the sampled carcasses at immersion chilling step in Abattoir 1 were found to be positive for the presence of *Salmonella*.

It was reported that the efficacy of the chilling process is highly variable and depends upon several factors like the initial bacterial load and the type of system used (Demirok et al. 2013). We suggest that some differences in the water-immersion chilling systems featuring the surveyed plants can explain the observed differences in the prevalence of *Salmonella*-positive carcasses. The carcass chilling step was more efficient at reducing *Salmonella* for Abattoir 2 than for Abattoir 1 despite similar chilling water temperatures (1°C – 3°C) and immersion times (between 90 and 110 minutes) (Table II). However as opposed to Abattoir 1, Abattoir 2 was relying on a counter-flow chiller for which the water turnover was nearly four times higher compared to the water change rate for the chiller of Abattoir 1. Also, the addition of peracetic acid to the cooling water in Abattoir 2 and the absence of such processing aid in the cooling system of Abattoir 1 might also have contributed to the observed differences. (table II)

Processing description	Abattoirs	
	Abattoir 1	Abattoir 2
Line speed	225 birds / min	230 birds / min
No. of scalding tanks	3	2
Minimum scalding temperature	53.33°C	50°C
Maximum scalding temperature	57.22°C	61.7°C
Scalding time	1min 30sec	1min 20sec
Plucking time	35sec	26sec
Carcass sanitizer	N/A	Peracetic acid
Type of immersion water chiller	Not counter-flow	Counter-flow
Immersion water chiller tank temperature	1°C – 3°C	1°C
Time in immersion water chiller	1h 30min	1h 50min
Air temperature in dry-air chilling room	-3°C – 2°C	0.6°C
Time in dry-air chilling room	1h 30min	1h 47min
Water turnover	35 L / min	110 L / min

Tableau II. Surveyed abattoirs' processing characteristics

The reduction in *Salmonella* positive carcasses after the water-immersion chilling step observed in Abattoir 2 is in line with what has previously been reported by other authors (Northcutt et al. 2003; Rivera-Perez 2014; Yamatogui et al. 2016). The significant decrease, from 38.5% to 5.1%, in the prevalence of broiler chicken carcasses positive for *Salmonella* between the transfer and chilling steps observed in Abattoir 2 supports the critical role of chilling in the control of *Salmonella* along the slaughter process. Previous research work has shown that immersion chilling relying on an appropriate water renewal rate and on the use of an effective carcass sanitizing treatment can be efficient at reducing carcass bacterial loads and preventing bacterial multiplication, as well as controlling the microbiological status of the cooling water (Northcutt et al. 2006; James et al. 2006). One can foresee that the implementation of those measures in Abattoir 1 could generate similar results. Indeed, the chilling system have been changed since this project and preliminary results suggest improvement on the contamination level.

Both processing plants were also investigated through environmental samplings that were conducted after the sanitation procedures, prior to the slaughter activities (PS), as well as at the end of the work shift (OP). Results are shown in Table III.

CSLs	Abattoir 1		Abattoir 2	
	No. samples	No. positive (%)	No. samples	No. positive (%)
PS				
CSL1	8	6 (75)	8	5 (63)
CSL2	8	1 (13)	8	0 (0)
CSL3	8	1 (13)	8	0 (0)
CSL4	8	3 (38)	8	0 (0)
CSL5	8	1 (13)	8	0 (0)
CSL6	8	0 (0)	8	0 (0)
CSL7	8	0 (0)	8	0 (0)
Total	56	12 (21)	56	5 (9)
OP				
CSL1	8	8 (100)	8	7 (88)
CSL2	8	4 (50)	8	4 (50)
CSL3	8	1 (13)	8	6 (75)
CSL4	8	6 (75)	8	7 (88)
CSL5	8	3 (38)	8	5 (63)
CSL6	8	3 (38)	8	0 (0)
CSL7	8	3 (38)	8	0 (0)
Total	56	28 (50)	56	29 (52)

CSL1: feather-plucking rubber fingers, CSL2: conveyor belt: live receiving to evisceration, CSL3: evisceration machine, CSL4: floor surface evisceration, CSL5: conveyor belt before chilling, CSL6: conveyor belt after chilling, CSL7: stainless steel cut-up room, PS: environmental sampling-post-sanitation, OP: environmental sampling-operations.

Tableau III. Number of samples collected and prevalence of *Salmonella*-positive samples in at each critical environmental sampling location for both surveyed slaughterhouses

A total of 224 environmental surfaces were sampled in the two surveyed slaughter plants. For both plants, samplings that were conducted after the slaughter activities (OP) showed a significantly higher *Salmonella* prevalence than the one that was observed for samples collected after the sanitation procedures (PS) ( $p < 0.001$ ).

In both surveyed plants, the defeathering device (CSL1) was the most contaminated CSL, both at PS and OP, an observation correlating with many other studies reporting the defeathering machine as a critical point for microbial cross contamination (Nde et al. 2007; Ono and Yamamoto 1999; Allen et al. 2003). The high contamination rates observed for the incoming birds, as well as the ineffectiveness of the cleaning and disinfection procedures at eliminating the pathogen could explain those findings. Also, the high *Salmonella* prevalence observed for CSL4 in this study supports a role of the evisceration step in the cross contamination of the carcasses (Rivera-Perez 2014; Reiter et al. 2007; Santos et al. 2011; Carrasco, Morales-Rueda, and García-Gimeno 2012).

A total of 432 *Salmonella* isolates (302 recovered from the carcass sampling and 130 recovered from the environment sampling) confirmed using an *invA*-based PCR protocol were typed using an HRM approach. Each typed isolate was attributed a 3-digit number corresponding to the HRM profile obtained following analysis of the fusion curves for *CR1*, *CR2* and *yohM* genes. Typing results are presented in the tables IV and V.

<i>Salmonella</i> serotype	Number of strains isolated		Genotypes			Number of samples per genotype	
			<i>CR1</i>	<i>CR2</i>	<i>yohM</i>	Abattoir	
	1	2				1	2
<i>S. Heidelberg</i>	75	43	1	1	1	73	40
			9	1	1	2	3
<i>S. Schwarzengrund</i>	34	22	5	5	5	34	20
			4	5	1	-	1
			5	5	13	-	1



<i>S. Kentucky</i>	34	34	6	6	1	34	34
<i>S. Mbandaka</i>	14	6	X	8	2	13	-
			1	11	2	1	-
			X	24	2	-	2
			X	23	2	-	1
			26	24	2	-	2
			1	24	2	-	1
<i>S. Enteritidis</i>	8	11	7	4	4	8	11
<i>S. Hadar</i>	-	6	28	27	24	-	4
			28	28	5	-	1
			29	1	25	-	1
<i>S. Senftenberg</i>	2	-	12	12	10	2	-
<i>S. Thompson</i>	6	-	2	2	2	6	-
<i>S. Fresno</i>	-	1	31	1	26	-	1
<i>S. Agona</i>	1	-	11	10	8	1	-
<i>S. Brandenburg</i>	-	2	6	26	23	-	2
<i>S. Worthington</i>	-	2	X	29	1	-	2
O:4 H:i H:-	1	-	3	17	5	1	-
<i>Total</i>	175	127					

X: results that did not correspond to the CT cut-off.

Tableau IV. HRM subtyping results for *Salmonella* isolates recovered from carcass sampling for both surveyed abattoirs

<i>Salmonella</i> serotype	Number of strains isolated				Genotypes			Number of samples per genotype			
					<i>CR1</i>	<i>CR2</i>	<i>YohM</i>				
	Abattoir										
	1		2								
PS	OP	PS	OP	PS	OP	PS	OP	PS	OP		
<i>S. Heidelberg</i>	13	12	8	16	1	1	1	13	12	1	13
					23	1	1	-	-	4	3
					23	1	16	-	-	1	-
					1	22	1	-	-	2	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	7	11	-	11	5	5	5	5	11	-	4
					4	5	1	2	-	-	4
					4	5	14	-	-	-	2
					3	21	15	-	-	-	1
<i>S. Kentucky</i>	-	12	1	16	6	6	1	-	9	-	6

					6	15	1	-	3	-	-
					6	6	18	-	-	1	4
					1	1	19	-	-	-	1
					6	6	19	-	-	-	4
					24	6	19	-	-	-	1
<i>S. Mbandaka</i>	1	3	-	2	X	8	2	1	-	-	-
					X	X	2	-	3	-	-
					X	25	2	-	-	-	2
<i>S. Enteritidis</i>	-	3	-	6	7	4	4	-	3	-	6
<i>S. Thompson</i>	1	-	-	-	14	13	5	1	-	-	-
<i>S. Fresno</i>	-	2	-	-	15	4	1	-	2	-	-
<i>S. Infantis</i>	-	-	-	1	32	30	27	-	-	-	1
7:k:-	-	4	-	-	16	16	5	-	4	-	-
Total	22	47	9	52							

PS: environmental sampling-post-sanitation, OP: environmental sampling-operations, X: results that did not correspond to the CT cut-off.

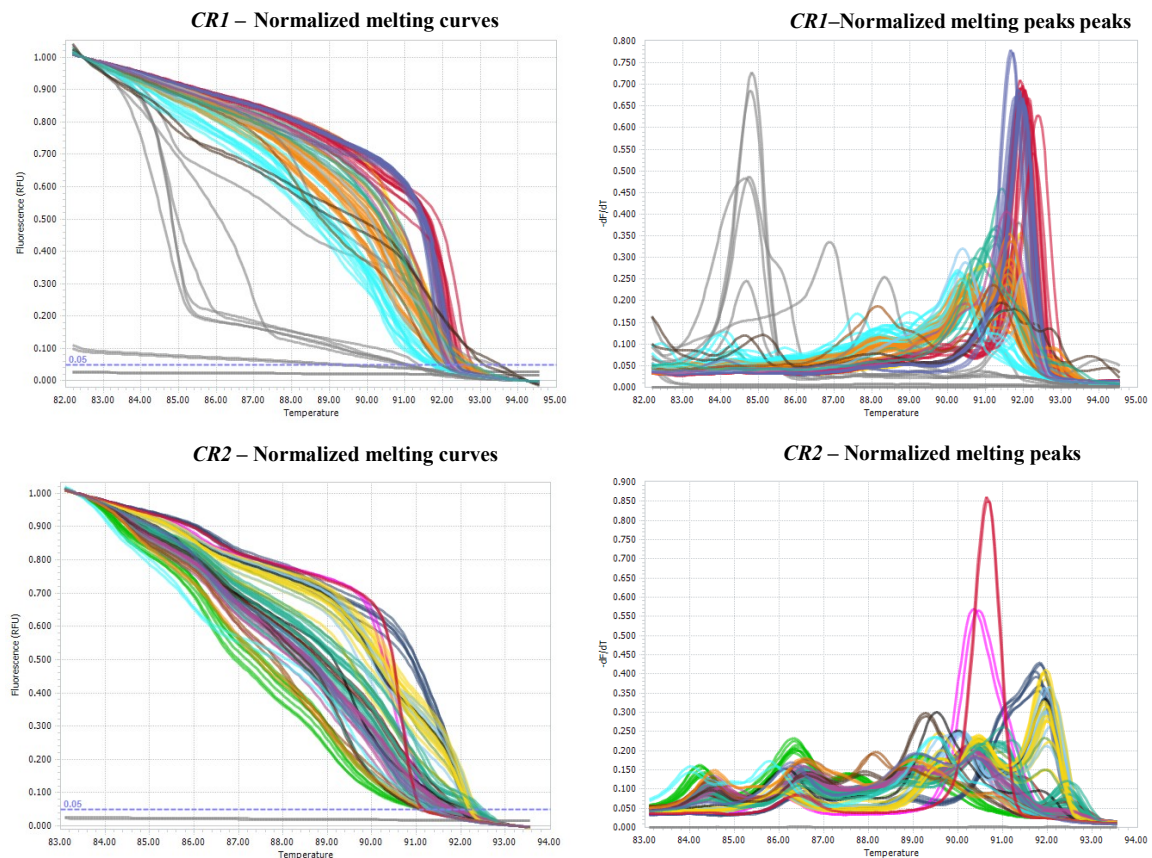
Tableau V. HRM subtyping results for *Salmonella* isolates recovered from the environmental sampling conducted for both surveyed abattoirs

*S. Heidelberg*, *S. Schwarzengrund* and *S. Kentucky* were among the most frequently isolated serovars from the carcass and environmental samplings conducted in both surveyed plants. In the United States and in Canada, *S. Heidelberg* and *S. Kentucky* have emerged as predominant serotypes in poultry and have also been involved in human salmonellosis, beyond *S. Enteritidis* (CDC 2014a; E.Mazengia et al. 2014; USDA 2014; CDC 2010b; Hoffmann et al. 2014; Dhanani et al. 2015; Foley et al. 2011).

There is limited data available on the most frequently isolated *Salmonella* serotypes in Canadian poultry slaughterhouses. According to the Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS), the most isolated *Salmonella* serotypes in Canadian slaughterhouses were *S. Heidelberg* (55%) and *S. Kentucky* (18%) in 2003, and *S. Kentucky* (40%), *S. Enteritidis* (19%) and *S. Heidelberg* (14%) in 2008 (PICRA 2008, 2003b, 2003a). Up to 2006, the prevalence of *S. Heidelberg* was higher than prevalence of *S. Kentucky*, after which *S. Kentucky* was predominant until a re-emergence of *S. Heidelberg* in 2014 (ASPC 2015).

Since 2015, *S. Kentucky* is the most frequently reported serovar in Canada, with *S. Heidelberg* now ranking as the fourth poultry-associated serovar (ASPC 2015). Results of the current study are thus in line with what is observed at the national level. Our data are however reporting the emergence of the *Salmonella* Schwarzengrund serotype, which appears to be a trend observed at the provincial level only (ASPC 2015).

HRM has been described as a rapid and less expensive alternative for the genotyping and serotyping of pathogenic microorganisms most often associated with foodborne illness (Antolinos et al. 2012; Bratchikov and Mauricas 2011; Hashemi et al. 2018; Saeidabadi et al. 2017; Pietzka et al. 2011). This study is the first using a HRM approach, as a genotyping method, to investigate the distribution of *Salmonella* serovars in commercial poultry processing plants. As shown in Figure 1, each typed isolate has genotype-specific fusion curves for the three genomic regions analyzed. These data illustrate the genotypic diversity of *Salmonella* strains isolated in this study.



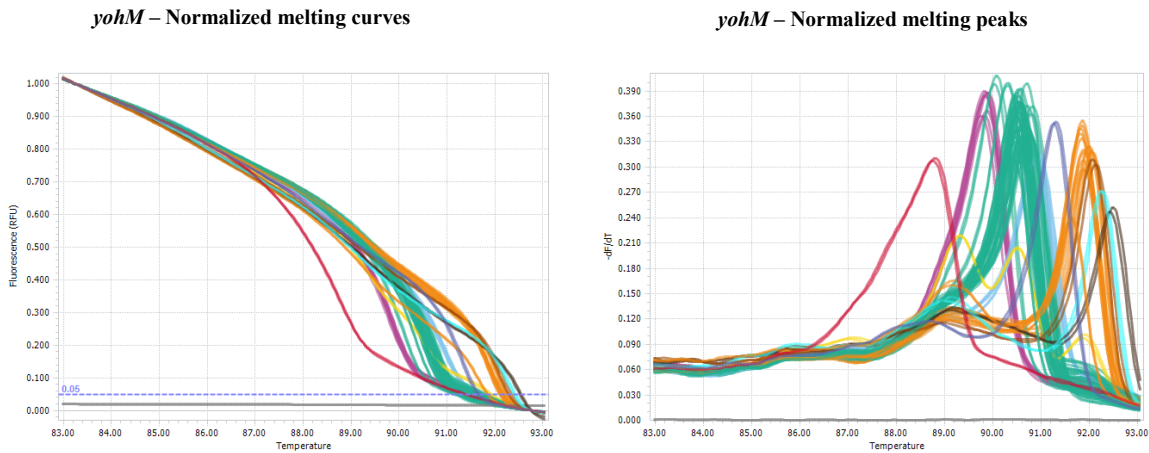


Figure 2. Graphical representation of the HRM analysis of the *CR1*, *CR2* and *yohM* genomic regions of *Salmonella* strains. For each graph, samples of the same HRM profile are represented by the same color for each genomic regions of *Salmonella* strains.

Using a slightly modified version of the approach described by Bratchikov et al., only one HRM profile was identified for most of the serotypes, except for few serotypes such as *S. Heidelberg*, *S. Schwarzengrund*, *S. Mbandaka* and *S. Hadar*, for which more than 1 HRM profile could be identified among the recovered *Salmonella* isolates.

A total of 40 different HRM profiles were identified among all the *Salmonella* isolates recovered from both carcass and environmental samples collected in the two abattoirs. Among these HRM profiles, 17 were only present in the environmental samples, 17 were recovered from the carcasses solely, and 6 were found on both types of samples. Similarly, 22 HRM profiles were found only in Abattoir 1, 12 were unique to Abattoir 2, and 6 were common to the two plants. In most cases, when two isolates of a same serotype were isolated from the same sample, the same HRM profile was present (115/118 for carcasses, 44/48 for environmental samples). *Salmonella* serotype distribution according to critical steps and to CSLs are shown in table VI.

Serotype	Carcasses					Environmental samples														
	P1	P2	P3	P4	P5	PS							OP							
						CSL1	CSL4	CSL3	CSL2	CSL5	CSL6	CSL7	CSL1	CSL4	CSL3	CSL2	CSL5	CSL6	CSL7	
<b>Abattoir 1</b>																				
<i>S. Agona</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	1	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-
<i>S. Fresno</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	16	9	7	11	1	1	2	1	1	1	-	-	2	2	1	2	1	-	1	-
<i>S. Kentucky</i>	2	7	6	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	3	1	2	1	-
<i>S. Mbandaka</i>	9	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
O:4 H:i H:-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	15	2	2	-	-	4	1	-	-	-	-	-	4	2	-	-	-	-	-	-
<i>S. Senftenberg</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Thompson</i>	-	2	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7:k-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<b>Abattoir 2</b>																				
<i>S. Brandenburg</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	3	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-
<i>S. Fresno</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Hadar</i>	1	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	18	4	4	-	-	5	-	-	-	-	-	-	2	1	2	3	2	-	-	-
<i>S. Infantis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	9	8	5	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	3	3	2	1	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	4	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	8	2	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1	-	2	-	-	-
<i>S. Worthington</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

P1: After bleeding, P2: Before evisceration, P3: Before chilling, P4: After immersion water chilling, P5: After dry-air chilling, CSL1: feather-plucking rubber fingers, CSL2: conveyor belt: live receiving to evisceration, CSL3: evisceration machine, CSL4: floor surface evisceration, CSL5: conveyor belt before chilling, CSL6: conveyor belt after chilling, CSL7: stainless steel cut-up room, PS: environmental sampling-post-sanitation, OP: environmental sampling-operations.

Tableau VI. *Salmonella* serotypes distribution according to critical steps and to CSLs for both surveyed abattoirs

In the current study, *S. Heidelberg* was the only serotype isolated from the carcasses sampled after air chilling. According to FoodNet Canada Annual Report (2013), *S. Heidelberg* consistently ranks as one of the top three most prevalent causes of Canadian human salmonellosis (PHAC 2013). Also, *S. Heidelberg* was associated with a more invasive human disease and a higher *Salmonella*-related deaths when compared with the other nontyphoidal *Salmonella* serotypes (PHAC 2018b; Crump et al. 2011; Jones et al. 2008). In 2017, *S. Heidelberg* was responsible for 9 cases of foodborne illness in six Canadian provinces and territories, and frozen raw breaded chicken products were identified as the source of this outbreak (PHAC 2018b). Even though *S. Kentucky* appears to cause relatively fewer human illnesses, the number of cases is increasing in the United States, from an annual average of 66 cases between 2002 and 2005 to 99 during the 2006 to 2012 period (CDC 2012b). Cheng et al. suggested that *S. Kentucky* prevalence in poultry could be associated with its metabolic adaptation to the chicken cecum (Cheng, Pedroso, et al. 2015). The paucity of data on *Salmonella* serotypes distribution along the critical steps of the poultry slaughter process unfortunately makes difficult any comparison of the results obtained in the current study.

For the isolates recovered from the environmental sampling, *S. Heidelberg*, *S. Schwarzengrund*, *S. Kentucky* and *S. Mbandaka* were the only serotypes isolated at OP. They were isolated mostly at CLS1 and CLS4 in Abattoir 1 and at CLS1 for Abattoir 2. *S. Heidelberg* was isolated from all environmental surfaces sampled, except for CSL6. *S. Schwarzengrund* was isolated at PS for Abattoir 1, but not in Abattoir 2. This serovar was not isolated from the environmental surfaces sampled after the immersion water chilling for both slaughterhouses.

Several previous studies have shown that *Salmonella* can persist for many years in the food processing environment despite intensive cleaning procedures and disinfection of contaminated equipment and surfaces (Russo et al. 2013; Vestby et al. 2009; Nesse et al. 2003). The way *Salmonella* survives and persists in the slaughterhouse environment in the face of extreme conditions outside of its host remains poorly understood. Also, there are few studies investigating and comparing the factors involved in this persistence between *Salmonella* strains. Although it has been shown that biofilm formation is important for the persistence of *Salmonella*

in the environment (Joseph et al. 2001; Jones and Bradshaw 1996; Humphrey et al. 1995; Vestby et al. 2009), this is clearly not the only contributing factor. Other elements may be associated with the persistence of some strains on the carcasses or in the slaughter environment.

One of the objectives of the current study was to better describe the sources of contamination of poultry carcasses along the slaughter process and contributing to the *Salmonella* status of the final meat product. In order to achieve this objective, a logistic regression model was applied to predict the status of the flock (presence of a HRM profile on carcasses sampled at P4 and P5) according to three different criteria: the *Salmonella*-status of the sampled flock at previous steps of the slaughter process, the *Salmonella* status of the previously slaughtered flocks and the *Salmonella*-status of the environmental samples collected at PS on the same sampling visit. The distribution of HRM profiles according to the type of sampling and to the abattoir are presented in Table VII and VIII.

Serotype	HRM profile ( <i>CR1- CR2- YohM</i> )	Carcasses					Environnemental samples														
		P1	P2	P3	P4	P5	PS							OP							
							CSL1	CSL4	CSL3	CSL2	CSL5	CSL6	CSL7	CSL1	CSL4	CSL3	CSL2	CSL5	CSL6	CSL7	
Abattoir 1																					
<i>S. Agona</i>	11-10-8	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	7-7-4	1	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-
<i>S. Fresno</i>	15-14-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	1-1-1	16	8	7	11	1	1	2	1	1	1	-	-	2	2	1	2	-	-	-	1
<i>S. Heidelberg</i>	1-2-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	9-1-1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	6-15-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	1	-
<i>S. Kentucky</i>	6-6-1	2	7	6	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	1	1	1	1
<i>S. Mbandaka</i>	1-11-2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	X-8-2	8	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	X-X-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
O:4 H:i H:-	3-17-5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	4-5-1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	5-5-5	15	2	2	-	-	4	-	-	-	-	-	-	4	2	-	-	-	-	-	-
<i>S. Senftenberg</i>	12-12-10	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Thompson</i>	14-13-5	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Thompson</i>	2-2-2	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7:k-	16-16-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1

P1: After bleeding, P2: Before evisceration, P3: Before chilling, P4: After immersion water chilling, P5: After dry-air chilling, CSL1: feather-plucking rubber fingers, CSL2: conveyor belt: live receiving to evisceration, CSL3: evisceration machine, CSL4: floor surface evisceration, CSL5: conveyor belt before chilling, CSL6: conveyor belt after chilling, CSL7: stainless steel cut-up room, PS: environmental sampling-post-sanitation, OP: environmental sampling-operations, X: results that did not correspond to the CT cut-off.

Tableau VII. Distribution of positive samples per HRM profile according to the type of sampling in Abattoir 1



Serotype	HRM profile ( <i>CR1- CR2- YohM</i> )	Carcasses					Environnemental samples														
		P1	P		P4	P5	PS							OP							
			2	3			1	4	3	2	5	6	7	1	4	3	2	5	6	7	
<i>S. Brandenbur</i>	6-26-23	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	7-7-4	3	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-
<i>S. Fresno</i>	31-1-26	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Hadar</i>	28-27-24	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Hadar</i>	28-28-5	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Hadar</i>	29-1-25	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	1-1-1	16	4	4	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	2	3	2	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	1-22-1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	23-1-1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	23-1-16	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Heidelberg</i>	9-1-1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Infantis</i>	32-30-27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	1-1-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	24-6-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	6-6-1	9	8	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	1	-	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	6-6-18	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-
<i>S. Kentucky</i>	6-6-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	1-24-2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	26-24-2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	X-23-2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	X-24-2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Mbandaka</i>	X-25-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	3-21-15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	4-5-1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	4-5-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	5-5-13	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. Schwarzengrund</i>	5-5-5	7	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	-
<i>S. Worthington</i>	X-29-1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

P1: After bleeding, P2: Before evisceration, P3: Before chilling, P4: After immersion water chilling, P5: After dry-air chilling, CSL1: feather-plucking rubber fingers, CSL2: conveyor belt: live receiving to evisceration, CSL3: evisceration machine, CSL4: floor surface evisceration, CSL5: conveyor belt before chilling, CSL6: conveyor belt after chilling, CSL7: stainless steel cut-up room, PS: environmental sampling-post-sanitation, OP: environmental sampling-operations, X: results that did not correspond to the CT cut-off

Tableau VIII. Distribution of positive samples per HRM profile according to the type of sampling in Abattoir 2

The model allowed for the analysis only for Abattoir 1 considering the low number of *Salmonella*-positive carcasses at P4 and P5 in Abattoir 2. The three predominant HRM profiles identified (*S. Heidelberg* 1-1-1, *S. Kentucky* 6-6-1, *S. Enteritidis* 7-7-4) from the typing of the *Salmonella* strains isolated from the carcass rinse samples recovered after cooling in Abattoir 1 were analyzed separately. The model converged only for *S. Heidelberg* 1-1-1 HRM profile. Results of the analysis are presented in Table IX.

Flock status for <i>S. Heidelberg</i> 1-1-1 according to the critical step	No. flocks	No. (%) flocks with <i>S. Heidelberg</i> 1-1-1 detected on carcasses after water-immersion and air chilling	Odds ratio		
			Odd ratio estimate	95% CL	P-value
P1					
Positive	16	43.8	3.0	1.1-7.9	0.03
Negative	24	20.8			
P2					
Positive	8	87.5	37.8	2.9-367.9	<0.01
Negative	32	15.6			
P3					
Positive	7	71.4	9.3	1.1-78.2	0.04
Negative	33	21.2			
Previous flock (carcasses)					
Positive	20	45.0	4.6	1.0-20.9	0.05
Negative	20	15.0			
PS status – zone 1 <sup>a</sup>					
Positive	5	0.0	No tested		
Negative	35	34.3			
PS status – zone 2 <sup>a</sup>					
Positive	15	60.0	11.0	0.6-190.0	0.09
Negative	25	12.0			
PS status – zone 3 <sup>a</sup>					
Positive	0	-	No tested		
Negative	40	30.0			

<sup>a</sup>Zone 1 : CSL1, Zone 2 : CSL2, CSL3, CSL4, CSL5, Zone 3 : CSL6, P1: After bleeding, P2: Before evisceration, P3: Before chilling, CSL1: feather-plucking rubber fingers, CSL2: conveyor belt: live receiving to evisceration, CSL3: evisceration machine, CSL4: floor surface evisceration, CSL5: conveyor belt before chilling, CSL6: conveyor belt after chilling, PS: environmental sampling-post-sanitation.

Tableau IX. Statistical test results of the relation between the flocks contaminated by *S. Heidelberg* 1-1-1 HRM profile at P4 and P5 (after chilling) and the sampled flock at previous steps of the slaughter process (P1, P2 and P3), the previously slaughtered flocks, and the environmental samples collected at PS on the same sampling visit for the same profile

Results showed that the carcass positive status of a flock at both bleeding, transfer and evisceration stages are a significant predictor of the final carcass status of the same flock sampled after chilling. Also, a trend was observed from the *Salmonella* status of the environmental surfaces sampled at PS for Zone 2 (the set of wipes sampled at CSL1 CSL2, CSL3, CSL4, and CSL5). The results therefore suggest that the status of birds entering the slaughterhouse has a significant influence on the carcass status at chilling for some HRM profiles. The present study also demonstrated that the carcass status of the previous flock (all stages combined) is also a significant predictor for carcass contamination of a subsequent flock by the *S. Heidelberg* 1-1-1 profile. In fact, slaughtering birds of a lot contaminated with this profile significantly the likelihood of contamination of the carcasses of the next flock on the slaughter line, possibly pointing that HRM type has a particular resistance of the slaughter process.

## 4 Conclusion

Overall, the results obtained confirm the importance of the *Salmonella* status of the incoming birds on the contamination of the final product. Moreover, our results support that some genotypes would be more likely to persist along the slaughter process. The current study also illustrates the importance of the chilling step in the control of *Salmonella* on broiler carcasses. Indeed, a significant reduction of the carcass *Salmonella* contamination after air chilling was observed for both abattoirs, whereas water-immersion chilling was proven efficient only for Abattoir 2. It underlines the importance of the design and features of the water-immersion chilling process in the final carcass *Salmonella* status. One can foresee that the implementation of measures in Abattoir 1 in chilling system could generate improvement of *Salmonella* contamination. Indeed, the chilling system have been changed since this project and preliminary results suggest improvement on the contamination level.

Finally, given the obvious differences observed in the contamination patterns of the various steps in these two slaughterhouses, this study highlights the importance of adopting an

appropriate sampling design when investigating the sources of contamination and considering the application of control measures for *Salmonella* at the slaughter plant level. In our hand HRM has been found very useful in that regard.

## Discussion générale

*Salmonella* est un agent pathogène zoonotique ayant un impact économique et sanitaire important sur les animaux et les humains dans le monde entier (Voetsch et al. 2004; Kirk et al. 2015; Kate et al. 2015). Entre 2006 et 2017, le CDC a rapporté que *Salmonella* a contribué à environ 53,4% de toutes les infections d'origine alimentaire au États-Unis (Liu, Whitehouse, and Li 2018). *Salmonella* se classait au deuxième rang des 31 principaux agents pathogènes acquis aux États-Unis (Scallan et al. 2011). Au Canada, *Salmonella* est le troisième agent pathogène pour les maladies bactérienne d'origine alimentaire, après *Clostridium perfringens* et *Campylobacter*, et est responsable d'environ 125 000 cas humains de maladie chaque année (Thomas et al. 2013; Services 2016; PHAC 2018a).

La transmission de *Salmonella* à l'homme se fait le plus souvent par l'ingestion d'aliments contaminés (Braden 2006; Kimura et al. 2004; Zhao et al. 2001; Silva et al. 2011). Les produits animaux, notamment la viande de volaille, sont considérés comme les principales sources de contamination (Braden 2006; Foley et al. 2011). La USDA-FSIS et l'ACIA ont signalé plusieurs cas de maladie associés à la consommation des produits de poulets panés, crus ou congelés, comme des pépites, des bâtonnets ou des burgers, contaminés par la bactérie au cours des dernières années (ACIA 2017b; USDA-FSIS 2018; ACIA 2017c).

Chaque étape de la chaîne de la production des viandes peut avoir un impact sur la qualité microbiologique du produit fini. Il a été rapporté dans plusieurs études que le processus d'abattage et de transformation peut avoir un effet important sur la contamination des produits de viande de volailles par *Salmonella* (El-Aziz 2013; Rivera-Perez 2014; Althaus, Zweifel, and Stephan 2017). Certaines étapes du procédé d'abattage, dont l'échaudage et la plumaison, mais aussi l'éviscération et le refroidissement, représentent des étapes critiques pour cette contamination (Rivera-Perez 2014; Althaus, Zweifel, and Stephan 2017). La présente étude

s'intéresse à la contribution de toutes ces étapes dans la contamination du produit de viande. Ainsi, des échantillons de rinçage de carcasses de volailles ont été récoltés à la saignée, au transfert, après l'éviscération et à la suite du refroidissement. Des échantillons de l'environnement d'abattage et de certains équipements, tels que la plumeuse et l'éviscérateur ont aussi été récoltés.

De nombreuses méthodes d'action ont été mises au point pour mieux gérer la contamination des carcasses par *Salmonella*, mais jusqu'à présent, il ne semble qu'aucune n'ait permis d'éradiquer la bactérie dans la viande de volaille et l'amélioration de la qualité microbiologique des carcasses de poulets dans les usines d'abattage et de transformation a ses limites. Il est donc important d'identifier les points de contrôle critiques spécifiques à la contamination du produit de viande par *Salmonella* et de développer de nouvelles méthodes de contrôle adaptées aux différentes usines de transformation de viande de volailles.

Cette étude est la première du genre. En effet, à notre connaissance, aucune étude systématique visant à étudier les sources de contamination et la distribution de *Salmonella* en utilisant les technologies de caractérisation moléculaire de pointe n'a été réalisée à l'intérieur d'établissements d'abattage et de transformation de volailles canadiens. Nous avons, dans ce projet étudié la prévalence et la distribution des différents sérovars de *Salmonella* sur les carcasses de poulets de chair, mais aussi dans l'environnement de deux abattoirs de volailles au Québec. Un second objectif était aussi de déterminer le principal facteur à l'origine de la contamination des carcasses, à savoir l'environnement de l'usine de transformation, ou le poulet lui-même, et ainsi identifier l'élément contribuant au statut final de la carcasse à la fin du procédé.

L'échantillonnage pour la présente étude était fait dans deux abattoirs de poulets de chair dans la province de Québec au Canada. Ces abattoirs ont été choisis de concert avec le partenaire industriel impliqué dans ce projet. Malgré le fait que ces abattoirs aient des techniques d'abattage et d'éviscération typiques de ce qui est retrouvé au Québec, les résultats obtenus dans la présente étude ne nous permettent toutefois pas de faire inférence à l'ensemble des abattoirs

de volailles canadiens, considérant la présence de particularités propres à chacun des plans d'abattage suivis, et le rôle de facteurs intrinsèques à chacun des établissements. D'ailleurs, comme nous le verrons, la situation quant à la distribution de la contamination par *Salmonella* varie nettement d'un abattoir à un autre, ce qui tend à supporter le fait que les caractéristiques propres à un abattoir sont au moins aussi importantes que les principes généraux de ceux-ci en ce qui a trait au contrôle de *Salmonella*.

Un total de 379 carcasses a été échantillonnées dans ces deux abattoirs à travers 5 grandes étapes critiques du procédé (Gaucher et al. 2018; Rivera-Perez 2014). La méthode d'échantillonnage utilisée dans ce projet est le rinçage des carcasses avec de l'eau peptonée tamponnée (EPT), à l'inverse de certaines autres études utilisant des méthodes telles que l'excision de la peau du cou des volailles ou même l'écouvillonnage (Capita, Prieto, and Alonso-Calleja 2004; Cox et al. 2010). L'EPT est un bouillon de pré-enrichissement couramment utilisé pour la récupération des agents pathogènes dans les aliments (Baylis, MacPhee, and Betts 2000). Aussi, l'EPT est l'un des bouillons les plus souvent utilisés pour la détection de *Salmonella* dans une vaste gamme d'aliments (Baylis, MacPhee, and Betts 2000). Nous avons choisi cette technique de rinçage de carcasses pour différentes raisons. Tout d'abord, elle figure parmi les techniques les plus souvent utilisées jusqu'à présent dans les différentes études scientifiques, ce qui rend la comparaison avec les résultats d'autres études plus faciles (Capita, Prieto, and Alonso-Calleja 2004; Sánchez-Plata 2017; Handley et al. 2018; Rivera-Perez 2014; Cox et al. 2010). D'autre part, elle est aussi utilisée à des fins réglementaires, ce qui permet donc de s'ajuster à ce que le partenaire industriel doit faire pour respecter ces exigences (ACIA 2017a). Aussi, la technique permet d'échantillonner l'ensemble de la surface de la carcasse (extérieur et intérieur) et de garder celle-ci intacte, ce qui entraîne moins de pertes. Finalement, cette approche est plus sécuritaire et bien adaptée à la détection des bactéries à faible incidence et à répartition inégale sur la carcasse (Capita, Prieto, and Alonso-Calleja 2004; Cox et al. 2010).

Il est intéressant de noter que depuis peu, il est recommandé d'ajouter un agent neutralisant à l'EPT afin de réduire l'effet des agents antimicrobiens qui peuvent être présents dans les liquides de rinçage des carcasses suite à l'exposition de celles-ci à ces agents lors du processus de refroidissement. Cet aspect n'a pas été considéré lors de l'échantillonnage conduit dans la

présente étude, cette nouvelle réglementation étant entrée en vigueur après le démarrage de la phase d'échantillonnage (Berrang et al. 2018; USDA-FSIS 2016). Ceci ne semble pas avoir affecté significativement notre capacité à trouver des échantillons positifs étant donné les fortes prévalences obtenues et le grand nombre d'isolats de *Salmonella* récupérés. Par contre, comme il était attendu que des agents antimicrobiens pouvaient être présents dans les échantillons prélevés de l'environnement des abattoirs suite à la présence de résidus associés aux procédures de lavage et de désinfection, particulièrement pour les échantillons prélevés immédiatement après la conduite de ces procédures, nous avons utilisé un milieu tamponné neutralisant pour la récupération et le transport de ce type d'échantillons vers le laboratoire.

En ce qui concerne l'enrichissement sélectif, nous avons choisi le milieu MSR/V pour plusieurs raisons. Premièrement, c'est un milieu qui représente une amélioration par rapport aux autres bouillons d'enrichissement sélectif conventionnels dû à la présence de peptones comme source de carbone et d'azote pour la croissance bactérienne (Carrique-Mas and Davies 2008). Aussi, il a été montré dans plusieurs études que l'efficacité du milieu MSR/V est équivalente ou supérieure à celle des autres milieux d'enrichissement sélectifs (Smedt and Bolderdijk 1990; De Zutter et al. 1991; De Smedt et al. 1991; Worcman-Barnink et al. 2001). Finalement, ce milieu est avantageux pour la facilité de la lecture des résultats, des résultats négatifs pouvant souvent être obtenus par l'absence visuelle du halo de migration de la bactérie.

Afin d'augmenter la sensibilité de détection des salmonelles, deux milieux d'isolement (BGS et XLD) ont été utilisés. Nous voulions évaluer l'impact respectif de chacun de ces deux milieux sur la prévalence d'échantillons positifs globalement identifiés, mais aussi pour chaque étape critique, sur le nombre et la diversité des sérotypes identifiés. Les résultats statistiques ont montré que le milieu de culture n'influence pas globalement la probabilité que l'échantillon de carcasse soit trouvé positif ( $p=0.30$ ). En réalisant l'analyse par étape, la même conclusion est obtenue pour l'étape « P1 » ( $p=0.74$ ), « P2 » ( $p=0.48$ ) et « P3 » ( $p=1.00$ ). En ce qui a trait aux autres étapes, la distribution des données n'a pas permis la réalisation de cette analyse. En combinant toutes les étapes, le milieu de culture n'influence pas la probabilité que l'échantillon de carcasse soit trouvé positif à *S. Heidelberg* ( $p=0.67$ ), à *S. Kentucky* ( $p=1.00$ ), à *S. Schwarzengrund* ( $p=1.00$ ), ou à tous les autres sérotypes identifiés et combinés ( $p=0.44$ ). De la



même manière, pour les échantillons provenant de l’environnement, le milieu de culture n’influence pas globalement la probabilité que l’échantillon de lingette soit positif ( $p=1.00$ ). En combinant toutes les surfaces échantillonnées, le milieu de culture n’influence pas la probabilité que l’échantillon de lingette soit trouvé positif à *S. Heidelberg* ( $p=0.67$ ), à *S. Kentucky* ( $p=0.74$ ), à *S. Schwarzengrund* ( $p=0.71$ ) ou aux autres sérotypes identifiés et combinés ( $p=0.66$ ). Ces résultats nous laissent croire que l’utilisation d’un seul milieu sélectif pour l’isolement est possible et n’influence pas les résultats obtenus. De surcroît, la préférence d’utiliser le milieu XLD se justifie par la facilité de lecture des résultats lui étant associés par rapport au milieu BGS.

Un des objectifs de la présente étude était aussi de vérifier si l’ordre d’abattage influence la contamination croisée des carcasses. Une analyse de régression logistique multiple modélisant le statut des carcasses contaminés par *Salmonella* selon l’ordre d’abattage a été réalisé. Les résultats de l’analyse statistiques ont montré que la contamination du 5e lot abattu est significativement plus élevée que celle du 3e ( $p=0.01$ ) et le 4e ( $p=0.01$ ), uniquement pour l’Abattoir 2 toutefois, les résultats n’étant pas significatifs pour l’Abattoir 1 ( $p=0.52$ , 4 d.f.) (Table X).

	Abattoir 1		Abattoir 2	
	Nb samples	Nb positifs (%)	Nb samples	Nb positifs (%)
Ordre d’abattage				
1	40	21 (52.5)	37	18 (48.7)
2	40	17 (42.5)	38	14 (36.8)
3	40	17 (42.5)	38	10 (26.3)
4	40	17 (42.5)	36	10 (27.8)
5	40	20 (50.0)	30	17 (56.7)

Tableau X. The impact of the slaughter order on the risk of carcass contamination for both surveyed slaughterhouses

Cette observation va dans le même sens que les études qui suggèrent que l'abattage logistique est une stratégie qui aide à diminuer de la prévalence de *Salmonella* sur les carcasses de poulets. En effet, basé sur ces observations, l'abattage des lots contaminés par *Salmonella* en fin de quart de production permettrait ainsi de réduire l'impact de la contamination croisée sur le statut des lots subséquents, tel que nous l'avons observé dans la présente étude.

Actuellement, il n'existe quelques études canadiennes qui ont été menées afin d'évaluer la prévalence de *Salmonella* dans les abattoirs de poulets de chair. La prévalence globale observée dans la présente étude et qui est de l'ordre 46% pour l'Abattoir 1 et de 38,6% pour Abattoir 2, est similaire à ce qui a été rapporté par Bohachyk et al. en Alberta en 2009 (37.5%), le Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales de l'Ontario (MAAARO) en 2003 (31.6%) (Bohaychuk et al. 2009; Johnson P 2003). Cependant, la prévalence globale obtenue est légèrement supérieure à ce qui a été rapporté par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) entre 1997 et 1998 (21.1%) (ACIA 2000).

Dans la présente étude, l'étape de la saignée (P1) était significativement plus contaminée que les autres étapes critiques, et ce, pour les deux abattoirs. Plus de 92.5% et 89.7% des carcasses de l'Abattoir 1 et 2, respectivement, étaient contaminées à cette étape par *Salmonella*. Ce taux élevé de contamination au début du processus d'abattage peut présenter un risque pour la transmission de *Salmonella* tout au long de la ligne d'abattage, jusqu'au produit final. Le taux de contamination à la saignée (P1) observé dans la présente étude est supérieur à la prévalence nationale rapportée pour *Salmonella* dans les lots de poulets à griller élevés sur des fermes canadiennes et abattus dans les établissements agréés par le gouvernement fédéral du Canada en 2013 (25,6%) (28.9% pour la province du Québec). Cette prévalence est aussi plus élevée que celle observée dans l'étude réalisée par Rivera et Zamora en 2014 au Costa Rica (60%) et par Hernandez et al. en Colombie en 2017 (14.4%) (Mellor et al. 2010; Rivera-Perez 2014; Sánchez-Plata 2017; ACIA 2016). Elle est cependant similaire ce qui a été rapporté par Yamatogi et al. en 2016 au Brésil (100%) et par Mellor et al. en 2010 en Australie (98.9%) (Yamatogi et al. 2016; Mellor et al. 2010).

Nos résultats suggèrent que les oiseaux étaient déjà contaminés avant l'arrivée aux abattoirs et qu'ils s'étaient potentiellement contaminés à la ferme ou pendant le transport. Cependant, on ne peut exclure qu'une partie de la contamination puisse provenir d'une contamination croisée au moment de l'accrochage des oiseaux sur la chaîne d'abattage, via les mains des travailleurs de l'usine, ou le couteau / la lame utilisés pour la saignée (Fletcher 2002). Toutefois, puisque plusieurs études rapportent que les oiseaux entrants pourraient introduire *Salmonella* dans l'usine d'abattage et de transformation des viandes, l'hypothèse d'une contamination préalable à l'arrivée de ceux-ci à l'établissement d'abattage est fort probable (Bryan, Ayres, and Kraft 1968; Dougherty 1974; Zhu et al. 2017; Hue, Le Bouquin, et al. 2011; Rivera-Perez 2014). Des études supplémentaires sont nécessaires afin de connaître les réservoirs principaux et les voies majeures de transmission de *Salmonella* sur les oiseaux entrants dans les établissements d'abattage et de transformation des poulets à griller au Canada.

Certains éléments ont été identifiés comme étant liés à la contamination des oiseaux par *Salmonella* à la ferme, notamment l'alimentation, litière, le contact avec des oiseaux ou les résidus d'éclosion (duvet, coquille) au couvoir et le retrait des aliments avant l'abattage (Corry et al. 2002; Corrier et al. 1999; Ramirez et al. 1997; Rigby et al. 1980). De plus amples informations sur le rôle de la ferme et du transport dans la dissémination de *Salmonella* dans les usines de transformation des viandes de volailles sont mentionnées dans le chapitre de la recension de littérature.

Le transport de la ferme à l'abattoir est aussi considéré comme une source de contamination des volailles par *Salmonella*. Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans cette contamination, notamment le contact avec de la matière fécale contaminée des oiseaux se retrouvant en grande proximité lors du transport, les caisses de transport contaminées par du matériel résiduel, les longs temps de transport, les temps d'attente une fois à l'usine et les conditions de stress élevé engendré par l'entassement des oiseaux dans les cageots de transport, les changements de températures et la privation d'aliments et d'eau (Rasschaert 2007b; Mainali et al. 2009; Marin and Lainez 2009; Klančnik et al. 2013; Lillard 1990; Heyndrickx et al. 2007; Heyndrickx et al. 2002; Slader et al. 2002; Corry et al. 2002; Rigby et al. 1980; Rigby et al. 1982; Mulder 1995).

Dans la présente étude, *Salmonella* a été détectée à toutes les étapes critiques du procédé, à l'exception de l'étape P5 (après le refroidissement à l'air) pour l'Abattoir 2. Le refroidissement à l'air dans cette étude a démontré une bonne capacité à réduire la contamination des carcasses par *Salmonella*. Dans l'Abattoir 1, la contamination des carcasses échantillonnées est passée de 37.5 % après l'éviscération à 2.5 % après le refroidissement à l'air. Similairement, dans l'Abattoir 2, la contamination a diminué de 38.5 % à 0% entre les étapes de l'éviscération et du refroidissement à l'air. Nos résultats peuvent être expliqués par le fait que les carcasses, lors du refroidissement à l'air, sont moins en contact les unes avec les autres compte tenu qu'elles sont suspendues individuellement sur une chaîne, ce qui réduit les risques de contamination croisée (Doyle 1995). Aussi, l'air froid, à l'inverse de l'eau qui est utilisée lors du refroidissement par immersion, ne représente pas un véhicule important de transport des bactéries et conséquemment, pas une source importante de contamination pouvant être responsable de la contamination croisée des carcasses (Doyle 1995; Sanchez et al. 2002). Aussi, dans le cas qui nous concerne, les chambres de refroidissement à l'air des deux usines offraient des températures ne favorisant pas la croissance des salmonelles sur les carcasses de poulets (-2°C à -3°C pour l'Abattoir 1 et 0.6°C pour l'Abattoir 2). En effet, la température minimale de croissance de *Salmonella* est de 5° C (James et al. 2006; Bailey 1987; Rouger, Tresse, and Zagorec 2017). Le système de refroidissement à l'air est couramment utilisé en Europe, bien qu'il commence à être de plus en plus présent en Amérique du Nord, au Brésil et au Canada depuis le début des années 2000 (Owens, Sams, and Alvarado 2000).

Certains transformateurs affirment que le refroidissement à l'air est la méthode de choix pour optimiser la qualité microbiologique du produit de viande (Fletcher 2002). En revanche, James et al., dans une revue de la littérature (2006), ont rapporté que le refroidissement à l'air générerait peu ou pas de réduction significative pour plusieurs agents bactériens, y compris *Salmonella* (James et al. 2006). De même, dans l'étude réalisée par Huezo et al., aucune différence significative n'a été observée pour les concentrations de *Salmonella* sur les carcasses de poulet après le refroidissement à l'air (Huezo et al. 2007).

D'autre part, plusieurs études ont rapporté une augmentation de la contamination après l'éviscération (Park et al. 2015; Rivera-Perez 2014; Figueroa et al. 2009; Hue et al. 2010; Matias

et al. 2010). Dans notre étude, une augmentation significative de la contamination des carcasses après l'éviscération n'a toutefois pas été notée, et ce, pour les deux abattoirs. Il faut souligner qu'avec des taux de contamination initiaux d'environ 85%, ceci rendait plus difficile l'observation d'une augmentation.

D'une manière générale, si l'on compare les prévalences de *Salmonella* à travers les différentes étapes critiques dans les deux abattoirs, le portrait apparaît très différent. Pour l'Abattoir 1, le taux de contamination a significativement diminué entre les étapes de la saignée et du transfert, mais la prévalence de carcasses positives pour *Salmonella* est par la suite demeurée stable tout au long de la ligne d'abattage. Ce n'est uniquement qu'après le refroidissement à l'air où une diminution significative de la prévalence a pu être observée. Cette tendance a aussi été observée pour l'Abattoir 2, et de façon intéressante, cette diminution de la prévalence s'est montrée significative autant pour l'étape du refroidissement à l'air que celle du refroidissement à l'eau.

Il peut être suggéré que la réduction significative de la prévalence de *Salmonella* à l'étape du transfert (après l'étape de l'abattage, échaudage et plumaison des oiseaux mais avant éviscération) pour les deux abattoirs pourrait être reliée au traitement thermique des carcasses dû à leur passage dans le bassin d'échaudage. En effet, il a été rapporté que l'eau chaude réduit la contamination par *Salmonella* (Buncic and Sofos 2012; Yang, Li, and Johnson 2001). Yang et al. (2001) ont aussi abondé dans le même sens et ont souligné l'importance d'une température d'échaudage adéquate afin d'obtenir l'effet escompté quant à la maîtrise du pathogène (Yang, Li, and Johnson 2001).

La diminution significative de la contamination après le refroidissement à l'eau n'a été observée que pour l'Abattoir 2. Cette observation nous laisse penser que le refroidisseur de l'Abattoir 2 présente des caractéristiques, soit de conception ou en lien avec ses modalités d'utilisation, le rendant plus efficace que celui de l'Abattoir 1 pour maîtriser la contamination du produit de viande. Ainsi, ces caractéristiques intrinsèques, combinées aux divers produits chimiques utilisés à l'intérieur de ces deux refroidisseurs dans le but d'assurer un contrôle antimicrobien des carcasses sont fort probablement les responsables des différents résultats observés à cette étape (tableau II).

Étant donné les résultats obtenus, il est important de souligner que lors de la présente étude, aucun produit de désinfection n'a été ajouté au refroidisseur de l'Abattoir 1, tandis que pour l'Abattoir 2, de l'acide peracétique a été ajouté. Par surcroît, le type de refroidisseur à immersion utilisé dans chacune des deux usines était aussi très différent, celui-ci étant à contre-courant pour l'Abattoir 2, alors que ce n'était pas le cas pour l'Abattoir 1. Autre facteur à considérer, la durée de refroidissement et le taux de renouvellement d'eau ont été différents pour les systèmes des deux abattoirs. La durée moyenne de refroidissement était de 90 minutes et de 60 minutes pour l'Abattoir 1 et 2, respectivement. Finalement le taux de renouvellement d'eau était plus important dans le système de refroidissement de l'Abattoir 2 avec 110L/minute, alors qu'il n'était que de 35L /minute pour l'Abattoir 1.

Ainsi, il serait logique de penser que la présence d'acide peracétique dans le refroidisseur de l'Abattoir 2 pourrait avoir une influence sur les résultats obtenus et sur les différences marquées observées entre les deux établissements d'abattage. La présence résiduelle de cet acide dans les liquides de rinçage des carcasses pourrait aussi voir contribué à ces différences compte tenu de l'absence d'agent neutralisant dans le milieu d'échantillonnage utilisé.

Au cours de la présente étude, l'environnement des deux usines a également été étudié. Des lingettes servant à l'échantillonnage de l'environnement des abattoirs en post-lavage et désinfection, mais aussi en cours de production ont été utilisées pour sept sites critiques. Selon Luning et al. (2011), un site critique est un endroit où la contamination, la croissance et / ou la survie d'un micro-organisme peut survenir si les stratégies de prévention appliquées ne sont pas totalement efficaces pour contrôler la contamination (Luning et al. 2011). Les surfaces environnementales échantillonnées dans la présente étude ont donc été choisies en fonction de cette définition.

Une analyse de régression logistique multiple modélisant le statut des surfaces contaminés par *Salmonella* selon la période d'échantillonnage (PS vs. OP) a montré que les échantillons prélevés à la fin des opérations étaient significativement plus contaminés que ceux récupérés suite aux procédures de nettoyage et désinfection ( $p < 0,001$ ) pour les deux abattoirs. Généralement, avant l'abattage, l'environnement de l'Abattoir 2 était moins contaminé que celui

de l'Abattoir 1. Pour les lingettes récupérées après les procédures de nettoyage et désinfection, *Salmonella* a été isolée seulement à partir de la plumeuse de l'Abattoir 2. À l'inverse, pour l'Abattoir 1, la bactérie a été isolée à partir de toutes les surfaces échantillonnées, mise à part le convoyeur situé après le refroidissement à l'eau et sur la surface d'acier inoxydable investiguée au département d'emballage et de découpe. Ces résultats suggèrent que les procédures de nettoyage et désinfection conduites dans l'Abattoir 2 étaient plus efficaces pour maîtriser la contamination résiduelle par *Salmonella* que celle réalisées dans l'Abattoir 1.

En ce qui concerne les échantillons d'environnement récupérés pendant la production, *Salmonella* a été isolée à partir de toutes les CSLs, à l'exception des structures échantillonnées après le refroidissement à l'eau et à l'air, mais aussi de la surface d'acier inoxydable située au département d'emballage de l'Abattoir 2. Encore une fois ici, on a observé que l'Abattoir 2 gérait globalement mieux la contamination environnementale à *Salmonella* pendant la production que ce que l'Abattoir 1 était en mesure de faire. Il a été suggéré que la différence des résultats pourrait être reliée à la nature de l'assainisseur utilisé dans chaque abattoir. Des désinfectant au peroxyde d'hydrogène, des acides organiques et des acides inorganiques ont été utilisés pour l'Abattoir 1, tandis que des ammoniums quaternaires ont été utilisés pour l'Abattoir 2.

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que la plumeuse et l'éviscérateur étaient les sites d'échantillonnage critiques les plus contaminés pour les deux abattoirs. Plusieurs études ont rapporté que la plumeuse représentait un facteur de risque important pour la contamination croisée des carcasses (Nde et al. 2007; Ono and Yamamoto 1999; Allen et al. 2003). Il est possible de suggérer que la prévalence élevée de *Salmonella* à la plumeuse serait reliée à la contamination élevée des carcasses à la saignée, mais aussi que les procédures de nettoyage et de désinfection ne seraient pas pleinement efficaces pour éliminer cette contamination résiduelle au niveau de la plumeuse des deux abattoirs (75% et 62% des lingettes récupérées à la plumeuse en post-lavage et désinfection aux Abattoir 1 et 2, respectivement, ont été trouvées positives pour la présence de *Salmonella*). En ce qui a trait à la contamination élevée de l'éviscérateur, nos résultats sont en accord avec ce qui a été rapporté dans des études précédentes (Rivera-Perez

2014; Reiter et al. 2007; Santos et al. 2011; Carrasco, Morales-Rueda, and García-Gimeno 2012).

En plus de s'intéresser à la prévalence et à la distribution de *Salmonella* sur les carcasses de poulet de chair et dans l'environnement de l'abattoir, la présente étude visait à étudier les différents sérotypes isolés des échantillons de rinçage de carcasses et des lingettes ayant servi à échantillonner l'environnement des deux abattoirs. Un total de 432 isolats ont été typés (302 isolats issus des carcasses et 130 isolats issus des lingettes). L'approche utilisée pour la caractérisation en est une par HRM, accompagnée d'un sérotypage servant à confirmer le serotype des souches contrôles. La méthode par HRM a été retenue pour plusieurs raisons, telles que sa facilité d'exécution, son faible coût et surtout pour sa capacité à caractériser rapidement un nombre élevé d'isolats comme c'est le cas pour la présente étude. Chaque isolat caractérisé par l'approche HRM est présenté par un génotype codé par trois chiffres selon les profils de courbes de fusion obtenues pour les 3 gènes retenus : *CRI*, *CR2* et *yohM* (Tableaux IV et V). Un total de 40 génotypes différents ont été identifiés parmi tous les isolats typés, incluant les isolats issus des carcasses et des lingettes. Parmi ces 40 génotypes, 17 ont été retrouvés uniquement sur les lingettes, 17 ont été retrouvés uniquement sur les carcasses, et 6 génotypes ont été identifiés sur les deux types d'échantillons. De même, 22 génotypes ont été retrouvés uniquement dans l'Abattoir 2, 12 ont été retrouvés uniquement pour l'Abattoir 1, et 6 génotypes étaient communs aux deux abattoirs. Dans la majorité des cas, lorsque deux isolats d'un même sérotype étaient récupérés d'un même échantillon, le même génotype était aussi retrouvé (115/118 pour les carcasses, 44/48 pour les lingettes).

Les sérotypes les plus isolés au cours de la présente étude, autant à partir des carcasses que des lingettes, et ce, pour les deux abattoirs étaient *S. Heidelberg*, *S. Kentucky* et *S. Schwarzengrund*. Il existe actuellement peu de données sur les différents sérotypes de *Salmonella* les plus retrouvés dans les abattoirs canadiens, mais selon le Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PICRA), les deux principaux sérotypes détectés dans les abattoirs canadiens étaient *S. Heidelberg* (55%) et *S. Kentucky* (18%) en 2003 et *S. Kentucky* (40 %), *S. Enteritidis* (19 %) et *S. Heidelberg* (14 %) en 2008 (PICRA 2008, 2003b, 2003a).



Le dernier objectif du présent projet visait à déterminer, à l'aide d'une caractérisation moléculaire des isolats de *Salmonella* récupérés, les sources principales de contamination des carcasses de volailles. Plus précisément, le but était de pouvoir établir si l'environnement de l'usine d'abattage ou si les oiseaux entrants, par leur statut positif, contribuaient majoritairement au statut final des carcasses. Pour ce faire, à l'aide des tests statistiques, nous avons tenté d'établir un lien entre le statut final d'une carcasse (à la fin du refroidissement à l'air et/ou à l'eau) et le statut des carcasses issues de ce même lot, mais à des étapes précédentes du procédé d'abattage (P1, P2 et P3), et ce, pour des génotypes HRM spécifiques.

Une régression logistique, avec un ajustement pour l'agrégation par journée d'abattage, a été utilisée afin de prédire le statut du lot au refroidissement (présence d'un génotype sur la carcasse échantillonnée au refroidissement à l'air et/ou à l'eau) selon le statut du lot aux étapes précédentes, mais aussi selon le statut du lot abattu précédemment et selon le statut des lingettes ayant servi à échantillonner l'environnement de l'abattoir suite aux procédures de lavage et de désinfection. Le modèle statistique choisi a permis d'effectuer l'analyse uniquement pour l'Abattoir 1 étant donné le faible nombre de carcasses positives au refroidissement pour l'Abattoir 2. Les trois génotypes les plus fréquemment isolés des carcasses au refroidissement pour l'Abattoir 1 ont été analysés de façon séparée (*S. Heidelberg* 1-1-1; *S. Kentucky* 6-6-1; *S. Enteritidis* 7-7-4). Toutefois, le modèle statistique convergait seulement pour *S. Heidelberg* 1-1-1.

Les résultats ont montré que le statut de la carcasse d'un lot autant à l'étape de la saignée, du transfert que de l'éviscération est un prédicteur significatif du statut d'une carcasse de ce même lot échantillonnée après le refroidissement (tableau IX). Aussi, une tendance a été observée avec le statut des lingettes échantillonnées en post-lavage à la zone 2 (CSL2, CSL4, CSL3, CSL5) (Tableau IX). Ces résultats suggèrent donc que le statut des oiseaux entrants a une influence significative sur le statut des carcasses au refroidissement pour certains génotypes obtenus par la caractérisation par HRM et associés à des sérotypes spécifiques de *Salmonella*.

La façon dont *Salmonella* survit et persiste dans l'environnement d'abattoir face aux conditions extrêmes rencontrées en dehors de son hôte reste mal comprise et il n'existe malheureusement

que peu d'études comparant les facteurs reliés à la persistance entre les différentes souches de *Salmonella*. Plusieurs études antérieures ont montré que les salmonelles peuvent persister pendant plusieurs années dans l'environnement des usines de transformation des aliments, et ce, malgré les procédures de nettoyage intensif et de désinfection des surfaces et équipements contaminés (Russo et al. 2013; Vestby et al. 2009; Nesse et al. 2003). La formation de biofilms par *Salmonella* est un des moyens utilisés par la bactérie afin d'assurer sa persistance dans l'environnement (Joseph et al. 2001; Jones and Bradshaw 1996; Humphrey et al. 1995). Plusieurs études ont rapporté que les salmonelles sont capables de former un biofilm sur différentes surfaces telles que le verre, le plastique et l'acier (Hood and Zottola 1997; Joseph et al. 2001; Solano et al. 1998; Woodward et al. 2000; Stepanović et al. 2004), tout comme sur des surfaces organiques comme le persil (Lapidot, Romling, and Yaron 2006). Dans une étude menée dans une usine de fabrication de farine de poisson et d'aliments pour animaux, Vestby et al. (2009) ont rapporté que la capacité de formation de biofilm est un facteur important de persistance des souches de *Salmonella* dans l'environnement des usines. Les sérotypes fortement persistants (*S. Agona* et *S. Montevideo*) dans cette même étude ont été reconnus comme étant de bons producteurs de biofilms, alors que le sérotype Typhimurium, qui ne démontrait pas de persistance, avait des capacités de formation de biofilm plus faibles (Vestby et al. 2009). Même s'il a été démontré que la formation de biofilms est importante pour la persistance de *Salmonella* dans l'environnement, ce n'est clairement pas le seul facteur contributif. D'autres caractéristiques pourraient être associées à la persistance favorisée de certaines souches sur la carcasse ou dans l'environnement d'abattage.

La présente étude a également permis de démontrer que le statut des carcasses du lot précédent (toutes les étapes confondues) est également une variable prédictive significative pour le statut de contamination par *Salmonella* des carcasses d'un lot subséquent par le profil *S. Heidelberg* 1-1-1 obtenu par HRM. En effet, le fait d'abattre des oiseaux d'un lot contaminé par ce profil augmente significativement les chances de contamination des carcasses du lot suivant sur la ligne d'abattage. Cette observation, combinée avec les résultats précédents démontrant que l'ordre d'abattage intervient dans la contamination croisée des carcasses (la contamination du 5e lot abattu est significativement plus élevée que le 3e ( $p=0.01$ ) et le 4e ( $p=0.01$ )) suggère que

le milieu d'abattage (environnement de l'usine) peut intervenir dans la contamination des carcasses pendant le processus d'abattage.

Il est donc possible de conclure, pour ce dernier objectif, que l'environnement de l'usine d'abattage, tout comme les oiseaux entrants, sont des éléments intervenant dans la contamination des carcasses dans les usines d'abattage de poulet de chair examinées par la présente étude. Cependant, cette étude démontre aussi que la réduction des taux de contaminations élevés par *Salmonella* observés en début de procédé d'abattage est possible grâce à un processus de refroidissement efficace (refroidissement à l'eau dans l'Abattoir 2).

La présente étude comporte toutefois certaines limites. En effet, les deux abattoirs suivis étaient intéressés de connaître leur statut quant à *Salmonella*. On ne peut exclure que cet intérêt puisse être relié à des problèmes dans la gestion de ce micro-organisme. De plus, bien que ce soit 2 abattoirs typiques de ce qu'on retrouve au Québec comme abattoirs sous juridiction fédérale, les possibilités d'inférences avec les autres abattoirs Québécois sont limitées. En effet, il est difficile d'extrapoler à l'ensemble des abattoirs québécois ou même canadiens nos trouvailles puisque les 2 abattoirs appartiennent à un même intégrateur et qu'ils présentent des profils bien différents.

Dans la même ligne de pensée, même si les lots abattus provenaient de l'ensemble du territoire québécois, le design de l'étude fait en sorte que ceux-ci ne sont pas nécessairement représentatifs de la situation globale du Québec en ce qui a trait au niveau de contamination des élevages par *Salmonella*.

## Conclusion

Ce projet a permis de mettre en évidence de nouvelles connaissances quant à la prévalence et la distribution de *Salmonella* sur les carcasses de poulets de chair et dans l'environnement de deux abattoirs de volailles au Québec.

Cette étude est la première du genre au Canada, et grâce à une caractérisation moléculaire des isolats de *Salmonella* récupérés dans les deux usines, il a été possible d'identifier les principales sources de contamination des carcasses.

De manière plus spécifique, voici les conclusions que l'on peut tirer de notre étude :

- 1- Les principales sources de contamination des carcasses après refroidissement identifiées dans cette étude ont été les oiseaux entrants à l'établissement par leur statut positif, puis secondairement l'environnement de l'usine d'abattage.
- 2- Dans les deux abattoirs étudiés, l'étape de la saignée était l'étape la plus contaminée, avec une diminution progressive de la contamination au fil du processus d'abattage.
- 3- Dans les deux abattoirs étudiés, la plumeuse et l'éviscérateur étaient les sites d'échantillonnage critiques les plus contaminés pour les échantillons d'environnement.
- 4- Une gestion des taux de contamination élevés par *Salmonella* sur les oiseaux entrants est possible grâce à un processus de refroidissement efficace.
- 5- Si un lot entrant est contaminé par *S. Heidelberg* 1-1-1, la probabilité que les carcasses après le refroidissement soient contaminées par ce profil HRM est significativement supérieure.
- 6- La contamination initiale par *S. Heidelberg* 1-1-1 engendre une plus grande probabilité de contamination aux étapes d'abattage suivantes.
- 7- Le statut des carcasses d'un lot contaminé par *S. Heidelberg* 1-1-1 est significativement associé au statut positif du lot précédent, cette observation est combinée par l'intervention de l'ordre d'abattage dans la contamination croisée des carcasses.

- 8- La distribution et les niveaux de contamination de *Salmonella* dans un établissement d'abattage peuvent varier significativement d'un abattoir à un autre.

## Perspectives

Les résultats de la présente étude pavent la voie à de futures études sur l'épidémiologie de *Salmonella* en filière avicole, sur l'identification des points critiques pour l'introduction et la dissémination de la bactérie dans la chaîne de production. Par ailleurs, d'autres études sur les mécanismes de résistance aux conditions rencontrées dans les établissements d'abattage et de persistance pour certains génotypes de *S. Heidelberg* sont à envisager. Aussi, il serait intéressant de regarder si les souches émergentes comme *S. Schwarzengrund* observées sur les carcasses échantillonnées lors de la présente étude seront reliées, au cours des mois ou des années à venir, à des cas humains de salmonellose. En effet, il est reconnu que lorsqu'un sérotype particulier émerge à l'abattoir ou à la ferme, il est possible de le retrouver chez l'humain ultérieurement.

## Bibliographies

- AAFC. 2018a. 'Agriculture and Agri-Food Canada / Per capita disappearance', *Statistic Canada*.  
———. 2018b. 'Canada's chicken industry'.
- Achtman, M. Wain, J. Weill, F. X. Nair, S. Zhou, Z. Sangal, V. Krauland, M. G. Hale, J. L. Harbottle, H. Uesbeck, A. Dougan, G. Harrison, L. H. Brisse, S. 2012. 'Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*', *PLoS Pathog*, 8: e1002776.
- ACIA. 2000. 'Canadian Microbiological Baseline Survey of Chicken Broiler and Young Turkey Carcasses June 1997 - May 1998'. <http://publications.gc.ca/collections/Collection/A62-53-2000E.pdf>.
- . 2016. 'National Microbiological Baseline Study in Broiler Chicken December 2012 – December 2013'. <http://www.inspection.gc.ca/food/chemical-residues-microbiology/food-safety-testing-bulletins/2016-08-17/december-2012-december-2013/eng/1471358115567/1471358175297?chap=3>.
- . 2017a. 'Annex U: USDA Performance Standards for *Salmonella*'. <http://www.inspection.gc.ca/food/meat-and-poultry-products/manual-of-procedures/chapter-11/united-states-of-america/annex-u/eng/1371663720505/1371663913885>.
- . 2017b. 'Avis de rappel d'aliments - Rappel des produits de poulet panés, non cuits et surgelés de marque Janes en raison de la bactérie *Salmonella*'. <http://www.inspection.gc.ca/au-sujet-de-l-acia/salle-de-nouvelles/avis-de-rappel-d-aliments/liste-complete/2017-10-17/fra/1508297726363/1508297729858>.
- . 2017c. "List of recalls of frozen raw breaded chicken products due to *Salmonella*: from July 2017 to present " In.
- . 2018a. 'Food Animal Humane Handling and Slaughter – Animal Welfare Requirements '. <http://www.inspection.gc.ca/>.
- . 2018b. 'Meat Hygiene Manual of Procedures'. <http://www.inspection.gc.ca/>.
- . 2018c. 'Poultry Chilling and Freezing Procedures'. <http://www.inspection.gc.ca/food/meat-and-poultry-products/eng/1300124955992/1300125034322>.
- . 2018d. 'Preventive control plan (PCP)'.
- Adams, D. R., W. R. Stensland, C. H. Wang, A. M. O'Connor, D. W. Trampel, K. M. Harmon, E. L. Strait, and T. S. Frana. 2013. 'Detection of *Salmonella enteritidis* in pooled poultry environmental samples using a serotype-specific real-time-polymerase chain reaction assay', *Avian Dis*, 57: 22-8.
- Adley, C. C., and M. P. Ryan. 2016. 'Chapter 1 - The Nature and Extent of Foodborne Disease A2 - Barros-Velázquez, Jorge.' in, *Antimicrobial Food Packaging* (Academic Press: San Diego).
- Ajitkumar, P., H. W. Barkema, J. De Buck, and J. De Buck. 2012. 'Rapid identification of bovine mastitis pathogens by high-resolution melt analysis of 16S rDNA sequences', *Vet Microbiol*, 155: 332-40.

- Allen, V. M., M. H. Hinton, D. B. Tinker, C. Gibson, G. C. Mead, and C. M. Wathes. 2003. 'Microbial cross-contamination by airborne dispersion and contagion during defeathering of poultry', *Br Poult Sci*, 44: 567-76.
- Althaus, Denise, Claudio Zweifel, and Roger Stephan. 2017. 'Analysis of a poultry slaughter process: Influence of process stages on the microbiological contamination of broiler carcasses', *Italian Journal of Food Safety*, 6: 7097.
- Alvarez, J., M. Sota, Abé Vivanco, I. Perales, Ró Cisterna, A. Rementeria, and J. Garaizar. 2004. 'Development of a Multiplex PCR Technique for Detection and Epidemiological Typing of Salmonella in Human Clinical Samples', *J Clin Microbiol*, 42: 1734-8.
- Andrews, W.H. 1989. 'Methods for recovering injured "classical" enteric pathogenic bacteria (Salmonella, Shigella, and enteropathogenic Escherichia coli) from foods [1989]'.  
 Antolinos, Vera, Pablo S. Fernández, María Ros-Chumillas, Paula M. Periago, and Julia Weiss. 2012. 'Development of a High-Resolution Melting–Based Approach for Efficient Differentiation Among Bacillus cereus Group Isolates', *Foodborne Pathogens and Disease*, 9: 777-85.
- Antunes, P., J. Mourão, J. Campos, and L. Peixe. 2016. 'Salmonellosis: the role of poultry meat', *Clinical Microbiology and Infection*, 22: 110-21.
- Antunes, P., C. Réu, J. C. Sousa, L. Peixe, and N. Pestana. 2003. 'Incidence of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents', *International Journal of Food Microbiology*, 82: 97-103.
- Anumolu VK, Lakkineni VR. 2014. 'Screening of poultry samples for Salmonella Typhimurium by PCR assay.', *Veterinary World*.
- Arnold, J. W., and I. E. Yates. 2009. 'Interventions for control of Salmonella: clearance of microbial growth from rubber picker fingers', *Poult Sci*, 88: 1292-8.
- Arsenault, J., A. Letellier, S. Quessy, and M. Boulianne. 2007. 'Prevalence and risk factors for Salmonella and Campylobacter spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada', *J Food Prot*, 70: 1820-8.
- Arsenault, J. Letellier, A. Quessy, S. Normand, V. Boulianne, M. 2007. 'Prevalence and risk factors for Salmonella spp. and Campylobacter spp. caecal colonization in broiler chicken and turkey flocks slaughtered in Quebec, Canada', *Prev Vet Med*, 81: 250-64.
- ASPC. 2010. 'National Integrated Enteric Disease Surveillance Program'.  
 ———. 2015. 'Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance 2014 Report, Chapter 1. Design and methods '. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/surveillance/canadian-integrated-program-antimicrobial-resistance-surveillance-cipars/cipars-reports.html>.  
 ———. 2017. 'Salmonella Thompson outbreak associated with consumption of chicken shawarma and the usefulness of genome sequencing in the investigation'. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/reports-publications/canada-communicable-disease-report-ccdr/monthly-issue/2017-43/ccdr-volume-43-9-september-7-2017/salmonella-thompson-outbreak.html>.
- Bae, Dong Hwa, Hirut Kidie Dessie, Ho Jeong Baek, Seong Guk Kim, Hee Soo Lee, and Young Ju Lee. 2013. 'Prevalence and Characteristics of Salmonella spp. Isolated from Poultry Slaughterhouses in Korea', *Journal of Veterinary Medical Science*, 75: 1193-200.

- Baggesen, D. L., G. Sorensen, E. M. Nielsen, and H. C. Wegener. 2010. 'Phage typing of Salmonella Typhimurium - is it still a useful tool for surveillance and outbreak investigation?', *Euro Surveill*, 15: 19471.
- Baggesen, D. L., and H. C. Wegener. 1994. 'Phage types of Salmonella enterica ssp. enterica serovar typhimurium isolated from production animals and humans in Denmark', *Acta Vet Scand*, 35: 349-54.
- Bailey, J. S., J. E. Thomson, and N. A. Cox. 1987. *Contamination of poultry during processing* (The microbiology of poultry meat products. Academic Press: New-York).
- Bancerz-Kisiel, Agata, Karolina Lipczyńska, Anna Szczerba-Turek, Eugenia Gospodarek, Aleksandra Platt-Samoraj, and Wojciech Szweda. 2014. 'The use of the HRM method for identifying possible mutations in the ymoA gene region and evaluating their influence on the enterotoxic properties of Y. enterocolitica strains', *BMC Veterinary Research*, 10: 207.
- Barbut, S, AA Sosnicki, SM Lonergan, T Knapp, DC Ciobanu, LJ Gatcliffe, E Huff-Lonergan, and EW Wilson. 2008. 'Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat', *Meat Sci*, 79: 46-63.
- Barbut, Shai. 2002. *Poultry products processing: an industry guide* (CRC press).
- . 2015. 'The science of poultry and meat processing / Shai Barbut, PhD'.
- Barroeta, AC. 2007. 'Nutritive value of poultry meat: relationship between vitamin E and PUFA', *World's Poultry Science Journal*, 63: 277-84.
- Barrow, P. A., M. A. Jones, A. L. Smith, and P. Wigley. 2012. 'The long view: Salmonella - the last forty years', *Avian Pathology*, 41: 413-20.
- Batista, D. F. A., O. C. Freitas Neto, P. A. Barrow, M. T. de Oliveira, A. M. Almeida, A. S. Ferraudo, and A. Berchieri, Jr. 2015. 'Identification and characterization of regions of difference between the Salmonella Gallinarum biovar Gallinarum and the Salmonella Gallinarum biovar Pullorum genomes', *Infect Genet Evol*, 30: 74-81.
- Batz, Michael. Hoffmann, Sandra. Glenn, J. 2011. *Ranking the Risks: The 10 PaThogen-Food CombinaTions WiTh The greaTesT burden on PubliC healTh*.
- Baumler, A. J., B. M. Hargis, and R. M. Tsois. 2000. 'Tracing the origins of Salmonella outbreaks', *Science*, 287: 50-2.
- Baylis, C. L., S. MacPhee, and R. P. Betts. 2000. 'Comparison of two commercial preparations of buffered peptone water for the recovery and growth of Salmonella bacteria from foods', *J Appl Microbiol*, 89: 501-10.
- Bell, R. L., K. G. Jarvis, A. R. Ottesen, M. A. McFarland, and E. W. Brown. 2016. 'Recent and emerging innovations in Salmonella detection: a food and environmental perspective', *Microb Biotechnol*, 9: 279-92.
- Bennedsen, M., B. Stuer-Lauridsen, M. Danielsen, and E. Johansen. 2011. 'Screening for antimicrobial resistance genes and virulence factors via genome sequencing', *Appl Environ Microbiol*, 77: 2785-7.
- Bennett, C. M., C. Dalton, M. Beers-Deeble, A. Milazzo, E. Kraa, D. Davos, M. Puech, A. Tan, and M. W. Heuzenroeder. 2003. 'Fresh garlic: a possible vehicle for Salmonella Virchow', *Epidemiol Infect*, 131: 1041-8.
- Berg, Charlotte, and Mohan Raj. 2015. 'A Review of Different Stunning Methods for Poultry—Animal Welfare Aspects (Stunning Methods for Poultry)', *Animals : an Open Access Journal from MDPI*, 5: 1207-19.



- Berge, A. C., J. M. Adaska, and W. M. Sischo. 2004. 'Use of antibiotic susceptibility patterns and pulsed-field gel electrophoresis to compare historic and contemporary isolates of multi-drug-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Newport', *Appl Environ Microbiol*, 70: 318-23.
- Bergey, D. H., and John G. Holt. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*.
- Berrang, M. E., J. S. Bailey, S. F. Altekruze, W. K. Shaw, Jr., B. L. Patel, R. J. Meinersmann, and P. J. Fedorka-Cray. 2009. 'Prevalence, serotype, and antimicrobial resistance of *Salmonella* on broiler carcasses postpick and postchill in 20 U.S. processing plants', *J Food Prot*, 72: 1610-5.
- Berrang, M. E., G. R. Gamble, Jr A. Hinton, and J. J. Johnston. 2018. 'Neutralization of residual antimicrobial processing chemicals in broiler carcass rinse for improved detection of *Campylobacter*!', *The Journal of Applied Poultry Research*, 27: 299-303.
- Berrang, M. E., R. J. Meinersmann, D. P. Smith, and H. Zhuang. 2008. 'The effect of chilling in cold air or ice water on the microbiological quality of broiler carcasses and the population of *Campylobacter*', *Poultry Science*, 87: 992-8.
- Bhatta, D. R., A. Bangtrakulnonth, P. Tishyadhigama, S. D. Saroj, J. R. Bandekar, R. S. Hendriksen, and B. P. Kapadnis. 2007. 'Serotyping, PCR, phage-typing and antibiotic sensitivity testing of *Salmonella* serovars isolated from urban drinking water supply systems of Nepal', *Lett Appl Microbiol*, 44: 588-94.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Ed.* 2009. (U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention National Institutes of Health).
- Bohaychuk, Valerie M., Sylvia L. Checkley, Gary E. Gensler, and Pablo Romero Barrios. 2009. 'Microbiological baseline study of poultry slaughtered in provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada', *The Canadian Veterinary Journal*, 50: 173-78.
- Bohm, H., and H. Karch. 1992. 'DNA fingerprinting of *Escherichia coli* O157:H7 strains by pulsed-field gel electrophoresis', *J Clin Microbiol*, 30: 2169-72.
- Boore, Amy L., R. Michael Hoekstra, Martha Iwamoto, Patricia I. Fields, Richard D. Bishop, and David L. Swerdlow. 2015. 'Salmonella enterica Infections in the United States and Assessment of Coefficients of Variation: A Novel Approach to Identify Epidemiologic Characteristics of Individual Serotypes, 1996–2011', *PLoS One*, 10: e0145416.
- Braden, Christopher R. 2006. 'Salmonella enterica serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States', *Clinical Infectious Diseases*, 43: 512-17.
- Bratchikov, Maksim, and Mykolas Mauricas. 2011. 'Development of a multiple-run high-resolution melting assay for *Salmonella* spp. genotyping: HRM application for *Salmonella* spp. subtyping', *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 71: 192-200.
- Bratčikov, Maksim, and Mykolas Mauricas. 2009. *The use of high-resolution melting analysis for Salmonella spp. CRISPR sequence genotyping*.
- Brenner, F. W., R. G. Villar, F. J. Angulo, R. Tauxe, and B. Swaminathan. 2000. 'Salmonella nomenclature', *J Clin Microbiol*, 38: 2465-7.
- Brichta-Harhay, D. M., T. M. Arthur, and M. Koohmaraie. 2008. 'Enumeration of *Salmonella* from poultry carcass rinses via direct plating methods', *Lett Appl Microbiol*, 46: 186-91.

- Bronze, Michael S, and Ronald A Greenfield. 2005. *Biodefense: principles and pathogens* (Horizon Bioscience Norfolk (UK)).
- Brouard, C., E. Espie, F. X. Weill, A. Kerouanton, A. Brisabois, A. M. Forgue, V. Vaillant, and H. de Valk. 2007. 'Two consecutive large outbreaks of Salmonella enterica serotype Agona infections in infants linked to the consumption of powdered infant formula', *Pediatr Infect Dis J*, 26: 148-52.
- Brown, J. Howard. 1935. 'Theobald Smith 1859-1934', *Journal of Bacteriology*, 30: 1-3.
- Bryan, F. L., J. C. Ayres, and A. A. Kraft. 1968. 'Contributory sources of Salmonellae on turkey products', *Am J Epidemiol*, 87: 578-91.
- Buhr, R. J., D. V. Bourassa, J. K. Northcutt, A. Hinton, Jr., K. D. Ingram, and J. A. Cason. 2005. 'Bacteria recovery from genetically feathered and featherless broiler carcasses after immersion chilling', *Poult Sci*, 84: 1499-504.
- Buncic, S, and J Sofos. 2012. 'Interventions to control Salmonella contamination during poultry, cattle and pig slaughter', *Food Research International*, 45: 641-55.
- Byrd, J. A., B. M. Hargis, D. E. Corrier, R. L. Brewer, D. J. Caldwell, R. H. Bailey, J. L. McReynolds, K. L. Herron, and L. H. Stanker. 2002. 'Fluorescent marker for the detection of crop and upper gastrointestinal leakage in poultry processing plants', *Poult Sci*, 81: 70-4.
- C. Mead, G. 1995. *Hygiene Problems and Control of Process Contamination*.
- Cai, H. Y., L. Lu, C. A. Muckle, J. F. Prescott, and S. Chen. 2005. 'Development of a Novel Protein Microarray Method for Serotyping Salmonella enterica Strains', *J Clin Microbiol*, 43: 3427-30.
- Canada, Statistique. 2010. 'Statistiques sur les aliments 2009 (catalogue 21-020-X)'.  
 Canada, website of chicken farmers of. 2018. "Les Producteurs de poulet du Canada." In.
- Cao, G., J. Meng, E. Strain, R. Stones, J. Pettengill, S. Zhao, P. McDermott, E. Brown, and M. Allard. 2013. 'Phylogenetics and differentiation of Salmonella Newport lineages by whole genome sequencing', *PLoS One*, 8: e55687.
- Capita, R., C. Alonso-Calleja, and M. Prieto. 2007. 'Prevalence of Salmonella enterica serovars and genovars from chicken carcasses in slaughterhouses in Spain', *J Appl Microbiol*, 103: 1366-75.
- Capita, Rosa, Miguel Prieto, and Carlos Alonso-Calleja. 2004. 'Sampling Methods for Microbiological Analysis of Red Meat and Poultry Carcasses', *Journal of Food Protection*, 67: 1303-08.
- Cardinale, E., F. Tall, M. Cisse, E. F. Gueye, G. Salvat, and G. Mead. 2005. 'Risk factors associated with Salmonella enterica subsp. enterica contamination of chicken carcasses in Senegal', *Br Poult Sci*, 46: 293-9.
- Carrasco, Elena, Andrés Morales-Rueda, and Rosa María García-Gimeno. 2012. 'Cross-contamination and recontamination by Salmonella in foods: A review', *Food Research International*, 45: 545-56.
- Carrique-Mas, J. J., and R. H. Davies. 2008. 'Sampling and bacteriological detection of Salmonella in poultry and poultry premises: a review', *Rev Sci Tech*, 27: 665-77.
- Cason, J. A., M. E. Berrang, R. J. Buhr, and N. A. Cox. 2004. 'Effect of prechill fecal contamination on numbers of bacteria recovered from broiler chicken carcasses before and after immersion chilling', *J Food Prot*, 67: 1829-33.
- Cason, J. A., N. A. Cox, and J. S. Bailey. 1994. 'Transmission of Salmonella typhimurium during hatching of broiler chicks', *Avian Dis*, 38: 583-8.

- Cavani, Claudio, Massimiliano Petracchi, Angela Trocino, and Gerolamo Xiccato. 2009. 'Advances in research on poultry and rabbit meat quality', *Italian Journal of Animal Science*, 8: 741-50.
- CDC. 2007. 'Turtle-associated salmonellosis in humans—United States, 2006–2007. Morbidity and mortality weekly report (MMWR)'.  
 ———. 2010a. <https://www.cdc.gov/pulsenet/whatis.htm#pfge>.  
 ———. 2010b. 'Ceftiofur Resistance in Salmonella enterica Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada'.  
 ———. 2012a. 'Keeping Backyard Chickens and Other Poultry'.  
 ———. 2012b. "Laboratory–confirmed Salmonella infections reported to CDC, by serotype and year, 2002–2012. National Disease Surveillance: Salmonella Annual Report 2012." In.  
 ———. 2012c. 'Suspecting Foodborne Illnesses in Special Populations: Quick Facts for Providers', *U.S. Department of Health and Human Services*.  
 ———. 2014a. 'National Enteric Disease Surveillance: Salmonella Annual Report, 2012'. <https://www.cdc.gov/ncezid/dfwed/pdfs/salmonella-annual-report-2012-508c.pdf>.  
 ———. 2014b. 'National Enteric Disease Surveillance: Salmonella Annual Report, 2012'.  
 ———. 2015. 'Foodborne Diseases Active Surveillance Network—2 Decades of Achievements, 1996–2015'.  
 ———. 2018. 'Salmonella'. <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>.
- Cellucci, Tania, Jamie A. Seabrook, Yasmine Chagla, Susan L. Bannister, and Marina I. Salvadori. 2010. 'A 10-year retrospective review of Salmonella infections at the Children's Hospital in London, Ontario', *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology*, 21: 78-82.
- Chen, I. Hsuan, Shin Horikawa, Kayla Bryant, Rebecca Riggs, Bryan A. Chin, and James M. Barbaree. 2017. 'Bacterial assessment of phage magnetoelastic sensors for Salmonella enterica Typhimurium detection in chicken meat', *Food Control*, 71: 273-78.
- Chen, Jing, Lida Zhang, George C. Paoli, Chunlei Shi, Shu- I. Tu, and Xianming Shi. 2010. 'A real-time PCR method for the detection of Salmonella enterica from food using a target sequence identified by comparative genomic analysis', *International Journal of Food Microbiology*, 137: 168-74.
- Chen, S., A. Yee, M. Griffiths, C. Larkin, C. T. Yamashiro, R. Behari, C. Paszko-Kolva, K. Rahn, and S. A. De Grandis. 1997. 'The evaluation of a fluorogenic polymerase chain reaction assay for the detection of Salmonella species in food commodities', *Int J Food Microbiol*, 35: 239-50.
- Cheng, C. M., T. Doran, W. Lin, K. S. Chen, D. Williams-Hill, and R. Pamboukian. 2015. 'Interlaboratory Validation for a Real-Time PCR Salmonella Detection Method Using the ABI 7500 FAST Real-Time PCR System', *J Food Prot*, 78: 1119-24.
- Cheng, Y., A. A. Pedroso, S. Porwollik, M. McClelland, M. D. Lee, T. Kwan, K. Zamperini, V. Soni, H. S. Sellers, S. M. Russell, and J. J. Maurer. 2015. 'rpoS-Regulated core genes involved in the competitive fitness of Salmonella enterica Serovar Kentucky in the intestines of chickens', *Appl Environ Microbiol*, 81: 502-14.
- Chiu, C. H., and J. T. Ou. 1996. 'Rapid identification of Salmonella serovars in feces by specific detection of virulence genes, invA and spvC, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assay', *Journal of Clinical Microbiology*, 34: 2619-22.

- Chlebicz, A., and K. Slizewska. 2018. 'Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review', *Int J Environ Res Public Health*, 15.
- Choi, S. W., J. S. Ha, B. Y. Kim, D. H. Lee, J. K. Park, H. N. Youn, Y. H. Hong, S. B. Lee, J. B. Lee, S. Y. Park, I. S. Choi, and C. S. Song. 2014. 'Prevalence and characterization of Salmonella species in entire steps of a single integrated broiler supply chain in Korea', *Poult Sci*, 93: 1251-7.
- Chotinun, S., S. Rojanasthien, F. Unger, P. Tadee, and P. Patchanee. 2014a. 'Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from carcasses, processing facilities and the environment surrounding small scale poultry slaughterhouses in Thailand', *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 45: 1392-400.
- . 2014b. 'Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from carcasses, processing facilities and the environment surrounding small scale poultry slaughterhouses in Thailand', *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 45: 1392-400.
- Christensen, W. Blake. 1946. 'Urea Decomposition as a Means of Differentiating Proteus and Paracolon Cultures from Each Other and from Salmonella and Shigella Types', *Journal of Bacteriology*, 52: 461-66.
- Coburn, B., G. A. Grassl, and B. B. Finlay. 2007. 'Salmonella, the host and disease: a brief review', *Immunol Cell Biol*, 85: 112-8.
- Cohen, H. J., S. M. Mechanda, and W. Lin. 1996. 'PCR amplification of the fimA gene sequence of Salmonella typhimurium, a specific method for detection of Salmonella spp', *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 4303-08.
- Collazo, C. M., and J. E. Galan. 1997. 'The invasion-associated type-III protein secretion system in Salmonella--a review', *Gene*, 192: 51-9.
- Corcoran, M., D. Morris, N. De Lappe, J. O'Connor, P. Lalor, P. Dockery, and M. Cormican. 2014. 'Commonly Used Disinfectants Fail To Eradicate Salmonella enterica Biofilms from Food Contact Surface Materials', *Applied and Environmental Microbiology*, 80: 1507-14.
- Corrier, D. E., J. A. Byrd, B. M. Hargis, M. E. Hume, R. H. Bailey, and L. H. Stanker. 1999. 'Presence of Salmonella in the crop and ceca of broiler chickens before and after preslaughter feed withdrawal', *Poult Sci*, 78: 45-9.
- Corry, J. E., V. M. Allen, W. R. Hudson, M. F. Breslin, and R. H. Davies. 2002. 'Sources of Salmonella on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control', *J Appl Microbiol*, 92: 424-32.
- Cosby, D. E., N. A. Cox, M. A. Harrison, J. L. Wilson, R. Jeff Buhr, and P. J. Fedorka-Cray. 2015. 'Salmonella and antimicrobial resistance in broilers: A review', *Journal of Applied Poultry Research*, 24: 408-26.
- Cox, N. A., J. S. Bailey, and M. E. Berrang. 1996. 'Alternative Routes for Salmonella Intestinal Tract Colonization of Chicks', *The Journal of Applied Poultry Research*, 5: 282-88.
- Cox, N. A., L. J. Richardson, J. A. Cason, R. J. Buhr, Y. Vizzier-Thaxton, D. P. Smith, P. J. Fedorka-Cray, C. P. Romanenghi, L. V. Pereira, and M. P. Doyle. 2010. 'Comparison of neck skin excision and whole carcass rinse sampling methods for microbiological evaluation of broiler carcasses before and after immersion chilling', *J Food Prot*, 73: 976-80.
- Crim, Stacy M., Martha Iwamoto, Jennifer Y. Huang, Patricia M. Griffin, Debra Gilliss, Alicia B. Cronquist, Matthew Cartter, Melissa Tobin-D'Angelo, David Blythe, Kirk Smith,

- Sarah Lathrop, Shelley Zansky, Paul R. Cieslak, John Dunn, Kristin G. Holt, Susan Lance, Robert Tauxe, Olga L. Henao, Control Centers for Disease, and Prevention. 2014. 'Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food--Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. sites, 2006-2013', *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 63: 328-32.
- Cross, Amanda J, Leah M Ferrucci, Adam Risch, Barry I Graubard, Mary H Ward, Yikyung Park, Albert R Hollenbeck, Arthur Schatzkin, and Rashmi Sinha. 2010. 'A large prospective study of meat consumption and colorectal cancer risk: an investigation of potential mechanisms underlying this association', *Cancer research*: 0008-5472. CAN-09-3929.
- Crump, J. A., F. M. Medalla, K. W. Joyce, A. L. Krueger, R. M. Hoekstra, J. M. Whichard, and E. J. Barzilay. 2011. 'Antimicrobial resistance among invasive nontyphoidal Salmonella enterica isolates in the United States: National Antimicrobial Resistance Monitoring System, 1996 to 2007', *Antimicrob Agents Chemother*, 55: 1148-54.
- Cunha-Neto, Adelino da, Larrayane Albuês Carvalho, Ricardo César Tavares Carvalho, Dália dos Prazeres Rodrigues, Sergio Borges Mano, Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo, and Carlos Adam Conte-Junior. 2018. 'Salmonella isolated from chicken carcasses from a slaughterhouse in the state of Mato Grosso, Brazil: antibiotic resistance profile, serotyping, and characterization by repetitive sequence-based PCR system', *Poultry Science*, 97: 1373-81.
- D Odell, Ian, Joann Cloud, Michael Seipp, and Carl Wittwer. 2005. *Rapid Species Identification Within the Mycobacterium chelonae-abscessus Group by High-Resolution Melting Analysis of hsp65 PCR Products*.
- Dallal, Mohammad M. Soltan, Michael P. Doyle, Maryam Rezadehbashi, Hossein Dabiri, Maryam Sanaei, Shabnam Modarresi, Rounak Bakhtiari, Kazem Sharifiy, Mahnaz Taremi, Mohammad R. Zali, and M. K. Sharifi-Yazdi. 2010. 'Prevalence and antimicrobial resistance profiles of Salmonella serotypes, Campylobacter and Yersinia spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran', *Food Control*, 21: 388-92.
- Dawoud, Turki M., Zhaohao Shi, Young Min Kwon, and Steven C. Ricke. 2017. 'Chapter 7 - Overview of Salmonellosis and Food-borne Salmonella: Historical and Current Perspectives.' in, *Producing Safe Eggs* (Academic Press: San Diego).
- De Lappe, N., G. Doran, J. O'Connor, C. O'Hare, and M. Cormican. 2009. 'Characterization of bacteriophages used in the Salmonella enterica serovar Enteritidis phage-typing scheme', *J Med Microbiol*, 58: 86-93.
- De Smedt, J. M., S. Chartron, J. L. Cordier, E. Graff, H. Hoekstra, J. P. Lecoupeau, M. Lindblom, J. Milas, R. M. Morgan, R. Nowacki, D. O'Donoghue, G. Van Gestel, and M. Varmedal. 1991. 'Collaborative study of the international office of cocoa, chocolate and sugar confectionery on Salmonella detection from cocoa and chocolate processing environmental samples', *International Journal of Food Microbiology*, 13: 301-08.
- De Zutter, L., J. M. De Smedt, R. Abrams, H. Beckers, M. Catteau, J. de Borchgrave, J. Debevere, J. Hoekstra, F. Jonkers, J. Lenges, S. Notermans, L. van Damme, R. Vandermeersch, R. Verbraeken, and G. Waes. 1991. 'Collaborative study on the use of motility enrichment on modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium for the detection of Salmonella from foods', *International Journal of Food Microbiology*, 13: 11-20.

- Demirok, E., G. Veluz, W. V. Stuyvenberg, M. P. Castaneda, A. Byrd, and C. Z. Alvarado. 2013. 'Quality and safety of broiler meat in various chilling systems', *Poult Sci*, 92: 1117-26.
- Dhanani, Akhilesh S., Glenn Block, Ken Dewar, Vincenzo Forgetta, Edward Topp, Robert G. Beiko, and Moussa S. Diarra. 2015. 'Genomic Comparison of Non-Typhoidal Salmonella enterica Serovars Typhimurium, Enteritidis, Heidelberg, Hadar and Kentucky Isolates from Broiler Chickens', *PLoS One*, 10: e0128773.
- Dincer, A. H., and T. Baysal. 2004. 'Decontamination techniques of pathogen bacteria in meat and poultry', *Crit Rev Microbiol*, 30: 197-204.
- Dougherty, T. J. 1974. 'Salmonella contamination in a commercial poultry (broiler) processing operation', *Poult Sci*, 53: 814-21.
- Doyle, Frank L. Brayan. Michael P. 1995. 'Health Risks and Consequences of Salmonella and Campylobacter jejuni in Raw Poultry', *Journal of Food Protection*, 58: 326-44.
- Druml, B., and M. Cichna-Markl. 2014. 'High resolution melting (HRM) analysis of DNA--its role and potential in food analysis', *Food Chem*, 158: 245-54.
- Duffy, L. L., P. J. Blackall, R. N. Cobbold, and N. Fegan. 2014. 'Quantitative effects of in-line operations on Campylobacter and Escherichia coli through two Australian broiler processing plants', *Int J Food Microbiol*, 188: 128-34.
- Dworkin, Martin, Stanley Falkow, Eugene Rosenberg, Karl-Heinz Schleifer, and Erko Stackebrandt. 2006. *The Prokaryotes* (Springer-Verlag New York).
- E.Mazengia, M. Samadpour, H.W. Hill, K. Greeson, K. Tenney, G. Liao, X. Huang, and J.S. Meschke. 2014. 'Prevalence, Concentrations, and Antibiotic Sensitivities of Salmonella Serovars in Poultry from Retail Establishments in Seattle, Washington', *Journal of Food Protection*, 77: 885-93.
- El-Aziz, D. M. 2013. 'Detection of Salmonella typhimurium in retail chicken meat and chicken giblets', *Asian Pac J Trop Biomed*, 3: 678-81.
- Ellerbroek, L. I., J. A. Lienau, and G. Klein. 2010. 'Campylobacter spp. in broiler flocks at farm level and the potential for cross-contamination during slaughter', *Zoonoses Public Health*, 57: e81-8.
- Eng, Shu-Kee, Priyia Pusparajah, Nurul-Syakima Ab Mutalib, Hooi-Leng Ser, Kok-Gan Chan, and Learn-Han Lee. 2015. 'Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance', *Frontiers in Life Science*, 8: 284-93.
- Erali, M., K. V. Voelkerding, C. T. Wittwer, and C. T. Wittwer. 2008. 'High resolution melting applications for clinical laboratory medicine', *Exp Mol Pathol*, 85: 50-8.
- Espy, M. J., J. R. Uhl, L. M. Sloan, S. P. Buckwalter, M. F. Jones, E. A. Vetter, J. D. Yao, N. L. Wengenack, J. E. Rosenblatt, F. R. Cockerill, 3rd, and T. F. Smith. 2006. 'Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing', *Clin Microbiol Rev*, 19: 165-256.
- Euzeby, J. P. 1999. 'Revised Salmonella nomenclature: designation of Salmonella enterica (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nov., nom. rev. as the neotype species of the genus Salmonella Lignieres 1900 (approved lists 1980), rejection of the 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 Pt 2: 927-30.
- Ferguson, L. R. 2010. 'Meat and cancer', *Meat Sci*, 84: 308-13.

- Figueroa, G., M. Troncoso, C. Lopez, P. Rivas, and M. Toro. 2009. 'Occurrence and enumeration of *Campylobacter* spp. during the processing of Chilean broilers', *BMC Microbiol*, 9: 94.
- Fletcher, DL. 2002. 'Poultry meat quality', *World's Poultry Science Journal*, 58: 131-45.
- Foley, S. L., R. Nayak, I. B. Hanning, T. J. Johnson, J. Han, and S. C. Ricke. 2011. 'Population dynamics of *Salmonella enterica* serotypes in commercial egg and poultry production', *Appl Environ Microbiol*, 77: 4273-9.
- Foley, S. L., S. Zhao, R. D. Walker, and R. D. Walker. 2007. 'Comparison of molecular typing methods for the differentiation of *Salmonella* foodborne pathogens', *Foodborne Pathog Dis*, 4: 253-76.
- Fortini, D., A. Ciammaruconi, R. De Santis, A. Fasanella, A. Battisti, R. D'Amelio, F. Lista, A. Cassone, and A. Carattoli. 2007. 'Optimization of high-resolution melting analysis for low-cost and rapid screening of allelic variants of *Bacillus anthracis* by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis', *Clin Chem*, 53: 1377-80.
- Francois, Twyla. 2009. 'The Breakdown of Animal Protection in the Transportation and Slaughter of Meat Poultry in Canada'.
- Fries, R. 2002. 'Reducing *Salmonella* transfer during industrial poultry meat production', *World's Poultry Science Journal*, 58: 527-40.
- FSIS. 2015. 'Salmonella Enteritidis Illness Outbreaks Associated with Raw, Frozen, Stuffed Chicken Products, 2015'.
- FSIS, USDA. 2014. 'Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and catfish products and carcass and environmental sponges', *In MLG 4.08 United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service*.
- Galanis, E., D. M. Lo Fo Wong, M. E. Patrick, N. Binsztein, A. Cieslik, T. Chalermchikit, A. Aidara-Kane, A. Ellis, F. J. Angulo, and H. C. Wegener. 2006. 'Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000-2002', *Emerg Infect Dis*, 12: 381-8.
- Ganopoulos, I., P. Madesis, N. Darzentas, A. Argiriou, and A. Tsiftaris. 2012. 'Barcode High Resolution Melting (Bar-HRM) analysis for detection and quantification of PDO "Fava Santorinis" (*Lathyrus clymenum*) adulterants', *Food Chem*, 133: 505-12.
- Gast, R. K. 1997. 'Detecting infections of chickens with recent *Salmonella pullorum* isolates using standard serological methods', *Poult Sci*, 76: 17-23.
- Gast, R.K. 'bacterial diseases salmonella infection ', *paratyphoid infections. in diseases of poultry*.
- Gaucher, Marie-Lou, Alexandre Thibodeau, Philippe Fravallo, Marie Archambault, Julie Arsenault, Sylvain Fournaise, Ann Letellier, and Sylvain Quessy. 2018. *Broiler chicken carcasses and their associated abattoirs as a source of enterotoxigenic Clostridium perfringens: Prevalence and critical steps for contamination*.
- Gerritzen, M. A., H. G. Reimert, V. A. Hindle, M. T. Verhoeven, and W. B. Veerkamp. 2013. 'Multistage carbon dioxide gas stunning of broilers', *Poult Sci*, 92: 41-50.
- Gilmour, M. W., M. Graham, A. Reimer, and G. Van Domselaar. 2013. 'Public health genomics and the new molecular epidemiology of bacterial pathogens', *Public Health Genomics*, 16: 25-30.
- Givens, Ian. 2009. 'Animal nutrition and lipids in animal products and their contribution to human intake and health', *Nutrients*, 1: 71-82.
- Goksoy, E. O., S. Kirkan, and F. Kok. 2004. 'Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey', *Poult Sci*, 83: 1427-32.

- Gordon, Melita A. 2008. 'Salmonella infections in immunocompromised adults', *Journal of Infection*, 56: 413-22.
- Gori, Andrea, Matteo Cerboneschi, and Stefania Tegli. 2012. 'High-Resolution Melting Analysis as a Powerful Tool to Discriminate and Genotype *Pseudomonas savastanoi* Pathovars and Strains', *PLoS One*, 7: e30199.
- Guastalli, BHL, DFA Batista, AIS Souza, EAL Guastalli, PD Lopes, AM Almeida, N Prette, FO Barbosa, DT Stipp, and OC Freitas Neto. 2016. 'Evaluation of Disinfectants Used in Pre-Chilling water Tanks of Poultry Processing Plants', *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18: 217-24.
- Guerin, M. T., C. Sir, J. M. Sargeant, L. Waddell, A. M. O'Connor, R. W. Wills, R. H. Bailey, and J. A. Byrd. 2010. 'The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: a systematic review', *Poult Sci*, 89: 1070-84.
- Guibourdenche, M., P. Roggentin, M. Mikoleit, P. I. Fields, J. Bockemuhl, P. A. Grimont, and F. X. Weill. 2010. 'Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme', *Res Microbiol*, 161: 26-9.
- Gundry, C. N., J. G. Vandersteen, G. H. Reed, R. J. Pryor, J. Chen, and C. T. Wittwer. 2003. 'Amplicon melting analysis with labeled primers: A closed-tube method for differentiating homozygotes and heterozygotes', *Clinical Chemistry*, 49: 396-406.
- Guo, Jiubiao, Edward W. C. Chan, Sheng Chen, and Zhenling Zeng. 2017. 'Development of a Novel Quantum Dots and Graphene Oxide Based FRET Assay for Rapid Detection of invA Gene of Salmonella', *Frontiers in Microbiology*, 8: 8.
- Hajna, A. A. 1945. 'Triple-Sugar Iron Agar Medium for the Identification of the Intestinal Group of Bacteria', *Journal of Bacteriology*, 49: 516-17.
- Hald, T., D. M. Lo Fo Wong, and F. M. Aarestrup. 2007. 'The attribution of human infections with antimicrobial resistant Salmonella bacteria in Denmark to sources of animal origin', *Foodborne Pathog Dis*, 4: 313-26.
- Handley, John A., Si Hong Park, Sun Ae Kim, and Steven C. Ricke. 2018. 'Microbiome Profiles of Commercial Broilers Through Evisceration and Immersion Chilling During Poultry Slaughter and the Identification of Potential Indicator Microorganisms', *Frontiers in Microbiology*, 9.
- Hashemi, S., M. Mahzounieh, N. Sheikhi, and A. Ebrahimi. 2018. 'Application of high-resolution melting-curve analysis on *pvpA* gene for detection and classification of *Mycoplasma gallisepticum* strains', *Microb Pathog*.
- Hedberg, C. W., F. J. Angulo, K. E. White, C. W. Langkop, W. L. Schell, M. G. Stobierski, A. Schuchat, J. M. Besser, S. Dietrich, L. Helsen, P. M. Griffin, J. W. McFarland, M. T. Osterholm, D. Swerdlow, R. Tauxe, J. Townes, J. Hospedales, L. Wilson, R. Kingdon, R. Roy, J. Feldman, R. Marrs, J. Scharmann, S. Bohm, K. J. Kuo, R. Martin, P. McDonnell, K. Michalak, K. Pannaralla, M. Schwartz, W. Hall, C. Klammer, T. Masso, K. MacDonald, J. Soler, L. Gabriel, R. Danila, J. Forfang, J. Korlath, J. Clare, E. Anderson, J. Mariotti, T. Ristinen, F. Mitchell, C. Schneider, M. Miller, G. Killiam, J. Tucker, E. Smyth, M. Proctor, and J. Davis. 1999. 'Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes: Implications for public health', *Epidemiology and Infection*, 122: 385-93.
- Hendriksen, Rene S., Antonio R. Vieira, Susanne Karlslose, Danilo M.A. Lo Fo Wong, Arne B. Jensen, Henrik C. Wegener, and Frank M. Aarestrup. 2011. 'Global Monitoring of Salmonella Serovar Distribution from the World Health Organization Global Foodborne



- Infections Network Country Data Bank: Results of Quality Assured Laboratories from 2001 to 2007', *Foodborne Pathogens and Disease*, 8: 887-900.
- Henk, C. den Bakker, W. Allard Marc, Bopp Dianna, W. Brown Eric, Fontana John, Iqbal Zamin, Kinney Aristeia, Limberger Ronald, A. Musser Kimberlee, Shudt Matthew, Strain Errol, Wiedmann Martin, and J. Wolfgang William. 2014. 'Rapid Whole-Genome Sequencing for Surveillance of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis', *Emerging Infectious Disease journal*, 20: 1306.
- Henry, I., S. Granier, C. Courtillon, F. Lalande, M. Chemaly, G. Salvat, and E. Cardinale. 2013. 'Salmonella enterica subsp. enterica isolated from chicken carcasses and environment at slaughter in Reunion Island: prevalence, genetic characterization and antibiotic susceptibility', *Trop Anim Health Prod*, 45: 317-26.
- Hernandez, P., V. Cesari, and A. Blasco. 2008. 'Effect of genetic rabbit lines on lipid content, lipolytic activities and fatty acid composition of hind leg meat and perirenal fat', *Meat Sci*, 78: 485-91.
- Herrmann, M. G., J. D. Durtschi, L. K. Bromley, C. T. Wittwer, and K. V. Voelkerding. 2006. 'Amplicon DNA melting analysis for mutation scanning and genotyping: cross-platform comparison of instruments and dyes', *Clin Chem*, 52: 494-503.
- Heyndrickx, M., L. Herman, L. Vlaes, J. P. Butzler, C. Wildemauwe, C. Godard, and L. De Zutter. 2007. 'Multiple typing for the epidemiological study of the contamination of broilers with Salmonella from the hatchery to the slaughterhouse', *J Food Prot*, 70: 323-34.
- Heyndrickx, M., D. Vandekerchove, L. Herman, I. Rollier, K. Grijspeerdt, and L. De Zutter. 2002. 'Routes for salmonella contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse', *Epidemiol Infect*, 129: 253-65.
- Ho, Ying-Ning, Ming-Yuan Chou, Hsin-Chi Tsai, Tung-Yi Huang, Cheng-Wei Fan, and Bing-Mu Hsu. 2017. 'Empirical testing of modified Salmonella MLST in aquatic environmental samples by in silico analysis', *Science of The Total Environment*, 581-582: 378-85.
- Hoffmann, Maria, Yan Luo, Steven R Monday, Narjol Gonzalez-Escalona, Andrea R Ottesen, Tim Muruvanda, Charles Wang, George Kastanis, Christine Keys, and Daniel Janies. 2015. 'Tracing origins of the Salmonella Bareilly strain causing a food-borne outbreak in the United States', *The Journal of Infectious Diseases*, 213: 502-08.
- Hoffmann, Maria, Shaohua Zhao, James Pettengill, Yan Luo, Steven R. Monday, Jason Abbott, Sherry L. Ayers, Hediye N. Cinar, Tim Muruvanda, Cong Li, Marc W. Allard, Jean Whichard, Jianghong Meng, Eric W. Brown, and Patrick F. McDermott. 2014. 'Comparative Genomic Analysis and Virulence Differences in Closely Related Salmonella enterica Serotype Heidelberg Isolates from Humans, Retail Meats, and Animals', *Genome Biology and Evolution*, 6: 1046-68.
- Holah, J. T., J. H. Taylor, D. J. Dawson, and K. E. Hall. 2002. 'Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of Listeria monocytogenes and Escherichia coli', *J Appl Microbiol*, 92 Suppl: 111s-20s.
- Hood, S. K., and E. A. Zottola. 1997. 'Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems', *Int J Food Microbiol*, 37: 145-53.
- Hoorfar, J., and D. L. Baggesen. 1998. 'Importance of pre-enrichment media for isolation of Salmonella spp. from swine and poultry', *FEMS Microbiology Letters*, 169: 125-30.

- Hue, O., V. Allain, M. J. Laisney, S. Le Bouquin, F. Lalande, I. Petetin, S. Rouxel, S. Quesne, P. Y. Gloaguen, M. Picherot, J. Santolini, S. Bougeard, G. Salvat, and M. Chemaly. 2011. 'Campylobacter contamination of broiler caeca and carcasses at the slaughterhouse and correlation with Salmonella contamination', *Food Microbiol*, 28: 862-8.
- Hue, O., S. Le Bouquin, M. J. Laisney, V. Allain, F. Lalande, I. Petetin, S. Rouxel, S. Quesne, P. Y. Gloaguen, M. Picherot, J. Santolini, G. Salvat, S. Bougeard, and M. Chemaly. 2010. 'Prevalence of and risk factors for Campylobacter spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse', *Food Microbiol*, 27: 992-9.
- Hue, Olivier, Sophie Le Bouquin, Françoise Lalande, Virginie Allain, Sandra Rouxel, Isabelle Petetin, Ségolène Quesne, Marie-José Laisney, Pierre-Yves Gloaguen, Mélanie Picherot, Gilles Salvat, Stéphanie Bougeard, and Marianne Chemaly. 2011. 'Prevalence of Salmonella spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008', *Food Control*, 22: 1158-64.
- Huezo, R., J. K. Northcutt, D. P. Smith, D. L Fletcher, and K. D. Ingram. 2007. 'Effect of Dry Air or Immersion Chilling on Recovery of Bacteria from Broiler Carcasses', *Journal of Food Protection*, 70: 1829-34.
- Hugas, M., and P. Beloeil. 2014. 'Controlling Salmonella along the food chain in the European Union - progress over the last ten years', *Euro Surveill*, 19.
- Humphrey, Tom J, Eleanor Slater, Kate McAlpine, Robin J Rowbury, and Richard J Gilbert. 1995. 'Salmonella enteritidis phage type 4 isolates more tolerant of heat, acid, or hydrogen peroxide also survive longer on surfaces', *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 3161-64.
- Inouye, M., H. Dashnow, L. A. Raven, M. B. Schultz, B. J. Pope, T. Tomita, J. Zobel, and K. E. Holt. 2014. 'SRST2: Rapid genomic surveillance for public health and hospital microbiology labs', *Genome Med*, 6: 90.
- Irvine, W. N., I. A. Gillespie, F. B. Smyth, P. J. Rooney, A. McClenaghan, M. J. Devine, and V. K. Tohani. 2009. 'Investigation of an outbreak of Salmonella enterica serovar Newport infection', *Epidemiol Infect*, 137: 1449-56.
- Issenhuth-Jeanjean, Sylvie, Peter Roggentin, Matthew Mikoleit, Martine Guibourdenche, Elizabeth de Pinna, Satheesh Nair, Patricia I. Fields, and François-Xavier Weill. 2014. 'Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White–Kauffmann–Le Minor scheme', *Research in Microbiology*, 165: 526-30.
- James, C., C. Vincent, T. I. de Andrade Lima, and S. J. James. 2006. 'The primary chilling of poultry carcasses - a review', *International Journal of Refrigeration*, 29: 847-62.
- James, W. O., J. C. Prucha, R. L. Brewer, W. O. Williams, Jr., W. A. Christensen, A. M. Thaler, and A. T. Hogue. 1992. 'Effects of countercurrent scalding and postscald spray on the bacteriologic profile of raw chicken carcasses', *J Am Vet Med Assoc*, 201: 705-8.
- Jeng, Kevin, Samuel Yang, Helen Won, Charlotte A. Gaydos, Yu-Hsiang Hsieh, Alex Kecojevic, Karen C. Carroll, Justin Hardick, and Richard E. Rothman. 2012. 'Application of a 16S rRNA PCR–High-Resolution Melt Analysis Assay for Rapid Detection of Salmonella Bacteremia', *Journal of Clinical Microbiology*, 50: 1122-24.
- Jin, D., Y. Luo, Z. Zhang, W. Fang, J. Ye, F. Wu, and G. Ding. 2012. 'Rapid molecular identification of Listeria species by use of real-time PCR and high-resolution melting analysis', *FEMS Microbiol Lett*, 330: 72-80.

- Jinu, Manoj, M. K. Singh, and Y. P. Singh. 2015. 'The role of poultry in food borne salmonellosis and its public health importance', *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3: 485-90.
- Joensen, K. G., F. Scheutz, O. Lund, H. Hasman, R. S. Kaas, E. M. Nielsen, and F. M. Aarestrup. 2014. 'Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*', *J Clin Microbiol*, 52: 1501-10.
- John, A. Painter, M. Hoekstra Robert, Ayers Tracy, V. Tauxe Robert, R. Braden Christopher, J. Angulo Frederick, and M. Griffin Patricia. 2013. 'Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998–2008', *Emerging Infectious Disease journal*, 19: 407.
- Johnson P, Mahdi A, Baker T, Odumeru J. 2003. 'Microbiological analysis of raw chicken carcasses in Ontario abattoirs — A summary report. Guelph, Ontario: Food Inspection Branch, Ontario Ministry of Agriculture and Food'.
- Jones, K, and SB Bradshaw. 1996. 'Biofilm formation by the Enterobacteriaceae: a comparison between *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and a nitrogen-fixing strain of *Klebsiella pneumoniae*', *Journal of Applied Bacteriology*, 80: 458-64.
- Jones, T. F., L. A. Ingram, P. R. Cieslak, D. J. Vugia, M. Tobin-D'Angelo, S. Hurd, C. Medus, A. Cronquist, and F. J. Angulo. 2008. 'Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype', *J Infect Dis*, 198: 109-14.
- Jørgensen, F., R. Bailey, S. Williams, P. Henderson, D. R. A. Wareing, F. J. Bolton, J. A. Frost, L. Ward, and T. J. Humphrey. 2002. 'Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods', *International Journal of Food Microbiology*, 76: 151-64.
- Joseph, B., S. K. Otta, Indrani Karunasagar, and I. Karunasagar. 2001. 'Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers', *International Journal of Food Microbiology*, 64: 367-72.
- Jun J, Carraminana, Javier Yanguela, Domingo Blanco, Carmina Rota, Ana I. Agustin, Agustin Arino, and Antonio Herrera. 1997. 'Salmonella Incidence and Distribution of Serotypes throughout Processing in a Spanish Poultry Slaughterhouse', *Journal of Food Protection*, 60: 1312-17.
- Kagambèga, Assèta, Taru Lienemann, Laura Aulu, Alfred S. Traoré, Nicolas Barro, Anja Siitonen, and Kaisa Haukka. 2013. 'Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates', *BMC Microbiol*, 13: 253-53.
- Karpe, Y. A., G. D. Kanade, K. D. Pingale, V. A. Arankalle, and K. Banerjee. 2016. 'Genomic characterization of *Salmonella* bacteriophages isolated from India', *Virus Genes*, 52: 117-26.
- Kate, Thomas M., Murray Regan, Flockhart Logan, Pintar Katarina, Fazil Aamir, Nesbitt Andrea, Marshall Barbara, Tataryn Joanne, and Pollari Frank. 2015. 'Estimates of Foodborne Illness–Related Hospitalizations and Deaths in Canada for 30 Specified Pathogens and Unspecified Agents', *Foodborne Pathogens and Disease*, 12: 820-27.
- Kérouanton, Annaëlle, Muriel Marault, Renaud Lailier, François-Xavier Weill, Carole Feurer, Emmanuelle Espié, and Anne Brisabois. 2007. 'Pulsed-Field Gel Electrophoresis Subtyping Database for Foodborne *Salmonella enterica* Serotype Discrimination', *Foodborne Pathogens and Disease*, 4: 293-303.

- Kettlewell, P. J., and M. J. B. Turner. 1985. 'A review of broiler chicken catching and transport systems', *Journal of Agricultural Engineering Research*, 31: 93-114.
- Kimura, A. C., V. Reddy, R. Marcus, P. R. Cieslak, J. C. Mohle-Boetani, H. D. Kassenborg, S. D. Segler, F. P. Hardnett, T. Barrett, and D. L. Swerdlow. 2004. 'Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic Salmonella enterica serotype enteritidis infections in the United States: A case-control study in FoodNet sites', *Clinical Infectious Diseases*, 38: S244-S52.
- Kirk, Martyn D., Sara M. Pires, Robert E. Black, Marisa Caipo, John A. Crump, Brecht Devleeschauwer, Dörte Döpfer, Aamir Fazil, Christa L. Fischer-Walker, Tine Hald, Aron J. Hall, Karen H. Keddy, Robin J. Lake, Claudio F. Lanata, Paul R. Torgerson, Arie H. Havelaar, and Frederick J. Angulo. 2015. 'World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis', *PLOS Medicine*, 12: e1001921.
- Klancnik, A., D. Vuckovic, M. Plankl, M. Abram, and S. Smole Mozina. 2013. 'In vivo modulation of Campylobacter jejuni virulence in response to environmental stress', *Foodborne Pathog Dis*, 10: 566-72.
- Kornacki, Jeffrey L. 2010. *principales of Microbiological Troubleshooting the industrial food Processing Environment*
- Koser, C. U., M. J. Ellington, E. J. Cartwright, S. H. Gillespie, N. M. Brown, M. Farrington, M. T. Holden, G. Dougan, S. D. Bentley, J. Parkhill, and S. J. Peacock. 2012. 'Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology', *PLoS Pathog*, 8: e1002824.
- Koyuncu, Sevinc, M. Gunnar Andersson, and Per Häggblom. 2010. 'Accuracy and Sensitivity of Commercial PCR-Based Methods for Detection of Salmonella enterica in Feed', *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 2815-22.
- Kumar, Rakesh. 2009. 'Biochemical and molecular investigations on Salmonella serovars from seafood'.
- Kwong, J. C., N. McCallum, V. Sintchenko, and B. P. Howden. 2015. 'Whole genome sequencing in clinical and public health microbiology', *Pathology*, 47: 199-210.
- Lambooi, E., H. Reimert, J. W. van de Vis, and M. A. Gerritzen. 2008. 'Head-to-cloaca electrical stunning of broilers', *Poult Sci*, 87: 2160-5.
- Langlais, Mélodie, Alexandre Thibodeau, and Philippe Fravallo. 2019. 'A metagenomic analysis of the pre-enrichment step for the isolation of Salmonella spp. from pig feces', *Journal of microbiological methods*, 157: 43-46.
- Lapidot, Anat, Ute Romling, and Sima Yaron. 2006. 'Biofilm formation and the survival of Salmonella Typhimurium on parsley', *International Journal of Food Microbiology*, 109: 229-33.
- Le Minor, L. 1988. 'Typing of Salmonella species', *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 7: 214-8.
- León-Velarde, Joseph A. Odumeru; Carlos G. 2012. 'Salmonella Detection Methods for Food and Food Ingredients '.
- Letstalkchicken. 2018. 'You've got Q's, we've got A's'. <https://letstalkchicken.ca/>.
- Levin, Robert E. 2009. *Rapid Detection and Characterization of Foodborne Pathogens by Molecular Techniques*.
- Li, R., J. Lai, Y. Wang, S. Liu, Y. Li, K. Liu, J. Shen, and C. Wu. 2013. 'Prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China', *Int J Food Microbiol*, 163: 14-8.

- Lillard, H. S. 1989. 'Incidence and Recovery of Salmonellae and Other Bacteria from Commercially Processed Poultry Carcasses at Selected Pre- and Post-Evisceration Steps', *Journal of Food Protection*, 52: 88-91.
- . 1990. 'The Impact of Commercial Processing Procedures on the Bacterial Contamination and Cross-Contamination of Broiler Carcasses', *Journal of Food Protection*, 53: 202-04.
- Liu, Huanli, Chris A. Whitehouse, and Baoguang Li. 2018. 'Presence and Persistence of Salmonella in Water: The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety', *Frontiers in Public Health*, 6: 159.
- Lopes, P. D., O. C. Freitas Neto, D. F. A. Batista, J. Denadai, M. F. F. Alarcon, A. M. Almeida, R. O. Vasconcelos, A. Setta, P. A. Barrow, and A. Berchieri. 2016. 'Experimental infection of chickens by a flagellated motile strain of Salmonella enterica serovar Gallinarum biovar Gallinarum', *The Veterinary Journal*, 214: 40-46.
- Lucie, Dutil, J. Irwin Rebecca, Finley Rita, Ng Lai King, P. Avery Brent, Boerlin Patrick, Bourgault Anne-Marie, Cole Linda, Daignault Danielle, Desruisseau Andrea, Demczuk Walter, Hoang Linda, B. Horsman Greg, Ismail Johanne, B. Jamieson Frances, Maki Anne, Pacagnella Ana, and R. Pillai Dylan. 2010. 'Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada', *Emerging Infectious Disease journal*, 16: 48.
- Luning, P. A., L. Jacxsens, J. Rovira, S. M. Osés, M. Uyttendaele, and W. J. Marcelis. 2011. 'A concurrent diagnosis of microbiological food safety output and food safety management system performance: Cases from meat processing industries', *Food Control*, 22: 555-65.
- Lytsy, B., L. Engstrand, A. Gustafsson, and R. Kaden. 2017. 'Time to review the gold standard for genotyping vancomycin-resistant enterococci in epidemiology: Comparing whole-genome sequencing with PFGE and MLST in three suspected outbreaks in Sweden during 2013-2015', *Infect Genet Evol*, 54: 74-80.
- M'Ikanatha N, M., C. H. Sandt, A. R. Localio, D. Tewari, S. C. Rankin, J. M. Whichard, S. F. Altekruse, E. Lautenbach, J. P. Folster, A. Russo, T. M. Chiller, S. M. Reynolds, and P. F. McDermott. 2010. 'Multidrug-resistant Salmonella isolates from retail chicken meat compared with human clinical isolates', *Foodborne Pathog Dis*, 7: 929-34.
- Maiden, M. C., J. A. Bygraves, E. Feil, G. Morelli, J. E. Russell, R. Urwin, Q. Zhang, J. Zhou, K. Zurth, D. A. Caugant, I. M. Feavers, M. Achtman, and B. G. Spratt. 1998. 'Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95: 3140-5.
- Mainali, C., G. Gensler, M. McFall, R. King, R. Irwin, and A. Senthilselvan. 2009. 'Evaluation of associations between feed withdrawal and other management factors with Salmonella contamination of broiler chickens at slaughter in Alberta', *J Food Prot*, 72: 2202-7.
- Majowicz, S. E., J. Musto, E. Scallan, F. J. Angulo, M. Kirk, S. J. O'Brien, T. F. Jones, A. Fazil, and R. M. Hoekstra. 2010. 'The global burden of nontyphoidal Salmonella gastroenteritis', *Clin Infect Dis*, 50: 882-9.
- Malorny, B., E. Paccassoni, P. Fach, C. Bunge, A. Martin, and R. Helmuth. 2004. 'Diagnostic real-time PCR for detection of Salmonella in food', *Appl Environ Microbiol*, 70: 7046-52.
- Malorny, Burkhard, Cornelia Bunge, and Reiner Helmuth. 2007. 'A real-time PCR for the detection of Salmonella Enteritidis in poultry meat and consumption eggs', *Journal of microbiological methods*, 70: 245-51.

- Malorny, Burkhard, Jeffrey Hoorfar, Cornelia Bunge, and Reiner Helmuth. 2003. 'Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of *Salmonella* PCR: towards an International Standard', *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 290-96.
- MAPAQ. 2011. 'Monographie de l'industrie de la volaille au Québec'.
- Marder, M. P. H. Ellyn P., Patricia M. Griffin, Paul R. Cieslak, John Dunn, Sharon Hurd, Rachel Jervis, Sarah Lathrop, Alison Muse, Patricia Ryan, Kirk Smith, Melissa Tobin-D'Angelo, Duc J. Vugia, Kristin G. Holt, Beverly J. Wolpert, Robert Tauxe, and Aimee L. Geissler. 2018. 'Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006–2017', *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 67: 324-28.
- Marin, C., A. Hernandez, M. Lainez, and M. Lainez. 2009. 'Biofilm development capacity of *Salmonella* strains isolated in poultry risk factors and their resistance against disinfectants', *Poultry Science*, 88: 424-31.
- Marin, C., and M. Lainez. 2009. 'Salmonella detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse', *Poult Sci*, 88: 1999-2005.
- Matias, Beatriz Garbelotti, Paulo Sérgio de Arruda Pinto, Marcus Vinícius Coutinho Cossi, and Luís Augusto Nero. 2010. 'Salmonella spp. and Hygiene Indicator Microorganisms in Chicken Carcasses Obtained at Different Processing Stages in Two Slaughterhouses', *Foodborne Pathogens and Disease*, 7: 313-18.
- Mazengia, E., M. Samadpour, H. W. Hill, K. Tenney, G. Liao, X. Huang, and J.S. Meschke. 2014. 'Prevalence, Concentrations, and Antibiotic Sensitivities of *Salmonella* Serovars in Poultry from Retail Establishments in Seattle, Washington', *Journal of Food Protection*, 77: 885-93.
- McGuinness, S., E. McCabe, E. O'Regan, A. Dolan, G. Duffy, C. Burgess, S. Fanning, T. Barry, and J. O'Grady. 2009. 'Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat', *Meat Sci*, 83: 555-62.
- Mead, G. C. 1993. 'Problems of producing safe poultry: Discussion paper', *Journal of the Royal Society of Medicine*, 86: 39-42.
- Mead, G. C., V. M. Allen, C. H. Burton, and J. E. Corry. 2000. 'Microbial cross-contamination during air chilling of poultry', *Br Poult Sci*, 41: 158-62.
- Mellor, G. E., L. L. Duffy, G. A. Dykes, and N. Fegan. 2010. 'Relative prevalence of *Salmonella* Sofia on broiler chickens pre- and postprocessing in Australia', *Poultry Science*, 89: 1544-48.
- Meschke, E. Mazengia; M. Samadpour; H. W. Hill; K. Greeson; K. Tenney; G. Liao; X. Huang; J. S. 2014. 'Prevalence, Concentrations, and Antibiotic Sensitivities of *Salmonella* Serovars in Poultry from Retail Establishments in Seattle, Washington', *Journal of Food Protection*, 77: 885-93.
- MHSS. 2016. 'Salmonellosis', Accessed 26-06-2018. <http://www.msss.gouv.qc.ca>.
- Micha, R., S. K. Wallace, and D. Mozaffarian. 2010. 'Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis', *Circulation*, 121: 2271-83.
- Millar, B. C., J. Xu, J. E. Moore, and J. E. Moore. 2007. 'Molecular diagnostics of medically important bacterial infections', *Curr Issues Mol Biol*, 9: 21-39.
- Millemann, Yves. 1998. 'Les marqueurs épidémiologiques des salmonelles', *Veterinary Research*, 29: 3-19.

- Mitchell, S. L., B. J. Wolff, W. L. Thacker, P. G. Ciembor, C. R. Gregory, K. D. Everett, B. W. Ritchie, and J. M. Winchell. 2009. 'Genotyping of *Chlamydomytila psittaci* by real-time PCR and high-resolution melt analysis', *J Clin Microbiol*, 47: 175-81.
- Morgensztern, Daniel, Siddhartha Devarakonda, Tetsuya Mitsudomi, Christopher Maher, and Ramaswamy Govindan. 2018. '11 - Mutational Events in Lung Cancer: Present and Developing Technologies.' in Harvey I. Pass, David Ball and Giorgio V. Scagliotti (eds.), *IASLC Thoracic Oncology (Second Edition)* (Content Repository Only!: Philadelphia).
- Mueller-Doblies, D., J.J. Carrique-Mas, A.R. Sayers, and R.H. Davies. 2010. 'A comparison of the efficacy of different disinfection methods in eliminating *Salmonella* contamination from turkey houses', *J Appl Microbiol*, 109: 471-79.
- Mulder, R.W.A.W. 1995. 'Impact of transport and related stresses on the incidence and extent of human pathogens in pigmeat and poultry ', *Journal of Food Safety*, 15: 239-46.
- Munther, Daniel, Xiaodan Sun, Yanni Xiao, Sanyi Tang, Helio Shimozako, Jianhong Wu, Ben A. Smith, and Aamir Fazil. 2016. 'Modeling cross-contamination during poultry processing: Dynamics in the chiller tank', *Food Control*, 59: 271-81.
- Nashwa, M. Helmy; Mahmoud, A. H.; Sami, S. Adawy. 2009. 'Application of Multiplex Polymerase Chain Reaction (MPCR) for Identification and Characterization of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella Typhimurium*', *Journal of Applied Sciences Research; Dec 2009, Vol. 5 Issue 12, p2343*.
- Nataro, James P., Cheryl A. Bopp, Patricia I. Fields, James B. Kaper, and Nancy A. Strockbine. 2011. '*Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*.' in, *Manual of Clinical Microbiology, 10th Edition* (American Society of Microbiology).
- Navarro, A., C. Eslava, G. G. De La Torre, L. A. León, D. Licona, L. León, L. A. Zarco, and A. Cravioto. 2007. 'Common epitopes in LPS of different Enterobacteriaceae are associated with an immune response against *Escherichia coli* O157 in bovine serum samples', *J Med Microbiol*, 56: 1447-54.
- Nde, C. W., J. M. McEvoy, J. S. Sherwood, and C. M. Logue. 2007. 'Cross Contamination of Turkey Carcasses by *Salmonella* Species During Defeathering', *Poultry Science*, 86: 162-67.
- Nesse, Live L., Kerstin Nordby, Even Heir, Bjarne Bergsjoe, Traute Vardund, Halvor Nygaard, and Gudmund Holstad. 2003. 'Molecular Analyses of *Salmonella enterica* Isolates from Fish Feed Factories and Fish Feed Ingredients', *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1075-81.
- Northcutt, J. K., M. E. Berrang, J. A. Dickens, D. L. Fletcher, and N. A. Cox. 2003. 'Effect of broiler age, feed withdrawal, and transportation on levels of coliforms, *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* on carcasses before and after immersion chilling', *Poult Sci*, 82: 169-73.
- Northcutt, J. K., J. A. Cason, D. P. Smith, R. J. Buhr, and D. L. Fletcher. 2006. 'Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either a low or high volume of water', *Poult Sci*, 85: 1802-6.
- Nucera, Daniele M., Carol W. Maddox, Patricia Hoiem-Dalen, and Ronald M. Weigel. 2006. 'Comparison of API 20E and *invA* PCR for Identification of *Salmonella enterica* Isolates from Swine Production Units', *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 3388-90.

- O'Regan, E., E. McCabe, C. Burgess, S. McGuinness, T. Barry, G. Duffy, P. Whyte, and S. Fanning. 2008. 'Development of a real-time multiplex PCR assay for the detection of multiple Salmonella serotypes in chicken samples', *BMC Microbiol*, 8: 156.
- Ono, K., and K. Yamamoto. 1999. 'Contamination of meat with Campylobacter jejuni in Saitama, Japan', *Int J Food Microbiol*, 47: 211-9.
- Owens, Casey M, Alan R Sams, and Christine Alvarado. 2000. *Poultry meat processing* (CRC Press).
- Panzenhagen, Pedro Henrique Nunes, Waldemir Silva Aguiar, Beatriz da Silva Frasão, Virginia Léo de Almeida Pereira, Dayse Lima da Costa Abreu, Dalia dos Prazeres Rodrigues, Elmiro Rosendo do Nascimento, and Maria Helena Cosendey de Aquino. 2016. 'Prevalence and fluoroquinolones resistance of Campylobacter and Salmonella isolates from poultry carcasses in Rio de Janeiro, Brazil', *Food Control*, 61: 243-47.
- Park, H. J., J. W. Chon, J. S. Lim, K. H. Seo, Y. J. Kim, E. J. Heo, S. H. Wee, K. Sung, and J. S. Moon. 2015. 'Prevalence Analysis and Molecular Characterization of Salmonella at Different Processing Steps in Broiler Slaughter Plants in South Korea', *J Food Sci*, 80: M2822-6.
- Perron, Gabriel G., Sylvain Quessy, Graham Bell, and .. 2008. 'A Reservoir of Drug-Resistant Pathogenic Bacteria in Asymptomatic Hosts', *PLoS One*, 3: e3749.
- Persing, David H, Fred C Tenover, Yi-Wei Tang, Frederick S Nolte, Randall T Hayden, and A van Belkum. 2011. *Molecular microbiology: diagnostic principles and practice* (ASM press).
- PHAC. 2013. 'FoodNet Canada Annual Report 2013'. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/food-nutrition/2013-foodnet-canada-annual-report.html>
- . 2018a. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/maladies/salmonellose-salmonella.html>.
- . 2018b. 'Public Health Notice - Outbreaks of Salmonella infections linked to raw chicken, including frozen raw breaded chicken products'. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/public-health-notices/2018/outbreaks-salmonella-infections-linked-raw-chicken-including-frozen-raw-breaded-chicken-products.html>.
- PICRA. 2003a.
- . 2003b. 'Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PICRA) '. <http://publications.gc.ca/collections/Collection/H39-1-3-2003F.pdf>.
- . 2008. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/surveillance/programme-integre-canadien-surveillance-resistance-antimicrobiens-picra/rapports-publications-picra.html>.
- Pietzka, Ariane T., Anna Stöger, Steliana Huhulescu, Franz Allerberger, and Werner Ruppitsch. 2011. 'Gene Scanning of an Internalin B Gene Fragment Using High-Resolution Melting Curve Analysis as a Tool for Rapid Typing of Listeria monocytogenes', *The Journal of Molecular Diagnostics*, 13: 57-63.
- Planetoscope. 2015. 'Consommation mondiale de viande '.
- Possas, Arícia, Elena Carrasco, R. M. García-Gimeno, and Antonio Valero. 2017. 'Models of microbial cross-contamination dynamics', *Current Opinion in Food Science*, 14: 43-49.
- Postollec, F., H. Falentin, S. Pavan, J. Combrisson, and D. Sohier. 2011. 'Recent advances in quantitative PCR (qPCR) applications in food microbiology', *Food Microbiol*, 28: 848-61.



- Pui, C. F., 1, W. C. Wong, 1, L. C. Chai, 1, R. Tunung, 1, P. Jeyaletchumi, 1, M. S. Noor Hidayah, 1, A. Ubong, 1, M. G. Farinazleen, 2, Y. Cheah, and R. K. and 1\*Son. 2011. 'Review Article  
Salmonella: A foodborne pathogen', *International Food Research Journal*.
- Punina, N. V., N. M. Makridakis, M. A. Remnev, and A. F. Topunov. 2015. 'Whole-genome sequencing targets drug-resistant bacterial infections', *Hum Genomics*, 9: 19.
- Rahn, K., S. A. De Grandis, R. C. Clarke, S. A. McEwen, J. E. Galan, C. Ginocchio, R. Curtiss, 3rd, and C. L. Gyles. 1992. 'Amplification of an invA gene sequence of Salmonella typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of Salmonella', *Mol Cell Probes*, 6: 271-9.
- Rajan, Kalavathy, Zhaohao Shi, and Steven C. Ricke. 2017. 'Current aspects of Salmonella contamination in the US poultry production chain and the potential application of risk strategies in understanding emerging hazards', *Critical Reviews in Microbiology*, 43: 370-92.
- Ramirez, G. A., L. L. Sarlin, D. J. Caldwell, C. R. Yezak, Jr., M. E. Hume, D. E. Corrier, J. R. Deloach, and B. M. Hargis. 1997. 'Effect of feed withdrawal on the incidence of Salmonella in the crops and ceca of market age broiler chickens', *Poult Sci*, 76: 654-6.
- Rasschaert, G. 2007a. *Molecular epidemiology of Salmonella and Campylobacter contamination of poultry during transport and slaughter*.
- Rasschaert, G. Houf, K. De Zutter, L. 2007b. 'Impact of the slaughter line contamination on the presence of Salmonella on broiler carcasses', *J Appl Microbiol*, 103: 333-41.
- Rasschaert, G., K. Houf, C. Godard, C. Wildemaewe, M. Pastuszczak-Frak, and L. De Zutter. 2008. 'Contamination of carcasses with Salmonella during poultry slaughter', *J Food Prot*, 71: 146-52.
- Read, S. C., R. J. Irwin, C. Poppe, and J. Harris. 1994. 'A comparison of two methods for isolation of Salmonella from poultry litter samples', *Poult Sci*, 73: 1617-21.
- Reed, G. H., J. O. Kent, C. T. Wittwer, and C. T. Wittwer. 2007. 'High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics', *Pharmacogenomics*, 8: 597-608.
- Reiter, M. G., M. L. Fiorese, G. Moretto, M. C. Lopez, and R. Jordano. 2007. 'Prevalence of Salmonella in a poultry slaughterhouse', *J Food Prot*, 70: 1723-5.
- Ribot, E. M., M. A. Fair, R. Gautom, D. N. Cameron, S. B. Hunter, B. Swaminathan, and T. J. Barrett. 2006. 'Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of Escherichia coli O157:H7, Salmonella, and Shigella for PulseNet', *Foodborne Pathog Dis*, 3: 59-67.
- Ridley, A. M., E. J. Threlfall, and B. Rowe. 1998. 'Genotypic characterization of Salmonella enteritidis phage types by plasmid analysis, ribotyping, and pulsed-field gel electrophoresis', *J Clin Microbiol*, 36: 2314-21.
- Ridley, A., V. Morris, J. Gittins, S. Cawthraw, J. Harris, S. Edge, and V. Allen. 2011. 'Potential sources of Campylobacter infection on chicken farms: contamination and control of broiler-harvesting equipment, vehicles and personnel', *J Appl Microbiol*, 111: 233-44.
- Rigby, C. E., J. R. Pettit, M. F. Baker, A. H. Bentley, M. O. Salomons, and H. Lior. 1980. 'Flock infection and transport as sources of salmonellae in broiler chickens and carcasses', *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 44: 328-37.
- Rigby, C. E., J. R. Pettit, A. H. Bentley, J. L. Spencer, M. O. Salomons, and H. Lior. 1982. 'The relationships of salmonellae from infected broiler flocks, transport crates or processing

- plants to contamination of eviscerated carcasses', *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 46: 272-78.
- Rivera-Perez, W. Barquero-Calvo, E. Zamora-Sanabria, R. 2014. 'Salmonella contamination risk points in broiler carcasses during slaughter line processing', *J Food Prot*, 77: 2031-4.
- Robinson, Joan L. 2019. 'Salmonella infections in Canadian children', *Paediatrics & child health*, 24: 50-50.
- Rodrigues, D., P. Teixeira, R. Oliveira, and J. Azeredo. 2011. 'Salmonella enterica Enteritidis biofilm formation and viability on regular and triclosan-impregnated bench cover materials', *J Food Prot*, 74: 32-7.
- Ross, I. L., and M. W. Heuzenroeder. 2005. 'Use of AFLP and PFGE to discriminate between Salmonella enterica serovar Typhimurium DT126 isolates from separate food-related outbreaks in Australia', *Epidemiol Infect*, 133: 635-44.
- Rouger, Amélie, Odile Tresse, and Monique Zagorec. 2017. 'Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics', *Microorganisms*, 5: 50.
- Rundlöf, T., A. Weintraub, G. Widmalm, and G. Widmalm. 1998. 'Structural determination of the o-antigenic polysaccharide from Escherichia coli O35 and cross-reactivity to Salmonella arizonae O62', *European Journal of Biochemistry*, 258: 139-43.
- Russell, S. M. 2008. 'The effect of an acidic, copper sulfate-based commercial sanitizer on indicator, pathogenic, and spoilage bacteria associated with broiler chicken carcasses when applied at various intervention points during poultry processing', *Poult Sci*, 87: 1435-40.
- Russell, Scott. 2012. *Controlling Salmonella in Poultry Production and Processing*.
- Russo, E. T., G. Biggerstaff, R. M. Hoekstra, S. Meyer, N. Patel, B. Miller, and R. Quick. 2013. 'A recurrent, multistate outbreak of salmonella serotype agona infections associated with dry, unsweetened cereal consumption, United States, 2008', *J Food Prot*, 76: 227-30.
- Ryan, Michael P., Jean O'Dwyer, Catherine C. Adley, and Catherine C. Adley. 2017. 'Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen Salmonella', *BioMed Research International*, 2017: 3782182.
- Saeidabadi, M. S., H. Nili, H. Dadras, H. Sharifiyazdi, J. Connolly, M. Valcanis, S. Raidal, and S. A. Ghorashi. 2017. 'Evaluation of PCR and high-resolution melt curve analysis for differentiation of Salmonella isolates', *Avian Pathol*, 46: 319-31.
- Sánchez-Plata, Alejandra Ramírez-Hernández. Andrea Varón-García. Marcos X. 2017. 'Microbiological Profile of Three Commercial Poultry Processing Plants in Colombia', *Journal of Food Protection*, 80: 1980-86.
- Sanchez, Marcos X., Wade M. Fluckey, Mindy M. Brashears, and Shelly R. Mckee. 2002. 'Microbial Profile and Antibiotic Susceptibility of Campylobacter spp. and Salmonella spp. in Broilers Processed in Air-Chilled and Immersion-Chilled Environments', *Journal of Food Protection*, 65: 948-56.
- Sandt, C. H., P. J. Fedorka-Cray, D. Tewari, S. Ostroff, K. Joyce, and M. M'Ikanatha N. 2013. 'A comparison of non-typhoidal Salmonella from humans and food animals using pulsed-field gel electrophoresis and antimicrobial susceptibility patterns', *PLoS One*, 8: e77836.
- Santarelli, Raphaëlle L, Jean-Luc Vendevre, Nathalie Naud, Sylviane Taché, Françoise Guéraud, Michelle Viau, Claude Genot, Denis E Corpet, and Fabrice HF Pierre. 2010. 'Meat processing and colon carcinogenesis: cooked, nitrite-treated, and oxidized high-

- heme cured meat promotes mucin-depleted foci in rats', *Cancer Prevention Research: 1940-6207*. CAPR-09-0160.
- Santos, F. F., M. H. Aquino, E. R. Nascimento, D. L. Abreu, R. Gouvea, D. P. Rodrigues, E. M. Reis, M. S. Araujo, and V. L. Pereira. 2011. 'Chicken feet bacteriological quality at 4 steps of technological processing', *Poult Sci*, 90: 2864-8.
- Scallan, E., R. M. Hoekstra, F. J. Angulo, R. V. Tauxe, M. A. Widdowson, S. L. Roy, J. L. Jones, and P. M. Griffin. 2011. 'Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens', *Emerging Infectious Diseases*, 17: 7-15.
- Schlichting, C., C. Branger, J. M. Fournier, W. Witte, A. Boutonnier, C. Wolz, P. Gouillet, and G. Döring. 1993. 'Typing of *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis, zymotyping, capsular typing, and phage typing: resolution of clonal relationships', *J Clin Microbiol*, 31: 227-32.
- Schultz, Myron. 2008. 'Theobald Smith', *Emerging Infectious Diseases*, 14: 1940-42.
- Services, Ministry of Health and Social. 2016. 'Salmonellose'. <http://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/document-000374/>.
- Shi, Chunlei, Pranjal Singh, Matthew Louis Ranieri, Martin Wiedmann, and Andrea Isabel Moreno Switt. 2015. 'Molecular methods for serovar determination of *Salmonella*', *Critical Reviews in Microbiology*, 41: 309-25.
- Shomer, I., A. Avisar, P. Desai, S. Azriel, G. Smollan, N. Belausov, N. Keller, D. Glikman, Y. Maor, A. Peretz, M. McClelland, G. Rahav, and O. Gal-Mor. 2016. 'Genetic and Phenotypic Characterization of a *Salmonella enterica* serovar Enteritidis Emerging Strain with Superior Intra-macrophage Replication Phenotype', *Front Microbiol*, 7: 1468.
- Silva, Joana, Daniela Leite, Mariana Fernandes, Cristina Mena, Paul Gibbs, and Paula Teixeira. 2011. 'Campylobacter spp. as a Foodborne Pathogen: A Review', *Frontiers in Microbiology*, 2.
- Singh, Aparajita, Richard V. Goering, Shabbir Simjee, Steven L. Foley, and Marcus J. Zervos. 2006. 'Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection', *Clinical Microbiology Reviews*, 19: 512-30.
- Singh, P., S. L. Foley, R. Nayak, and Y. M. Kwon. 2012. 'Multilocus sequence typing of *Salmonella* strains by high-throughput sequencing of selectively amplified target genes', *J Microbiol Methods*, 88: 127-33.
- Skovgaard, N., Christensen, S. G., Culistani, A. W. 1985. *Salmonella in Danish pigs: A comparison of three isolation methods*.
- Slader, J., G. Domingue, F. Jørgensen, K. McAlpine, R. J. Owen, F. J. Bolton, and T. J. Humphrey. 2002. 'Impact of Transport Crate Reuse and of Catching and Processing on *Campylobacter* and *Salmonella* Contamination of Broiler Chickens', *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 713-19.
- Slavik, Michael F., Jeong-Weon Kim, and Joel T. Walker. 1995. 'Reduction of *Salmonella* and *Campylobacter* on Chicken Carcasses by Changing Scalding Temperature', *Journal of Food Protection*, 58: 689-91.
- Smedt, J. M. DE, and R. Bolderdijk. 1990. 'Collaborative Study of the International Office of Cocoa, Chocolate, and Sugar Confectionery on the Use of Motility Enrichment for *Salmonella* Detection in Cocoa and Chocolate', *Journal of Food Protection*, 53: 659-64.

- Smedt, Jozef M. De, and Robert F. Bolderdijk. 1987. 'Dynamics of Salmonella Isolation with Modified Semi-Solid Rappaport-Vassiliadis Medium', *Journal of Food Protection*, 50: 658-61.
- Smith, D. P., J. A. Cason, and M. E. Berrang. 2005. 'Effect of fecal contamination and cross-contamination on numbers of coliform, Escherichia coli, Campylobacter, and Salmonella on immersion-chilled broiler carcasses', *J Food Prot*, 68: 1340-5.
- Smith, Douglas P. 2014. 'Poultry Processing and Products.' in, *Food Processing*.
- Solano, Cristina, Begoña Sesma, Miguel Alvarez, TJ Humphrey, CJ Thorns, and Carlos Gamazo. 1998. 'Discrimination of strains of Salmonella enteritidis with differing levels of virulence by an in vitro glass adherence test', *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 674-78.
- Stepanović, S., I. Ćirković, L. Ranin, and M. Suvabić-Vlahović. 2004. 'Biofilm formation by Salmonella spp. and Listeria monocytogenes on plastic surface', *Letters in Applied Microbiology*, 38: 428-32.
- Stokes, J. L., and W. W. Osborne. 1955. 'A Selenite Brilliant Green Medium for the Isolation of Salmonella', *Applied Microbiology*, 3: 217-20.
- Strawn, L. K., M. D. Danyluk, R. W. Worobo, and M. Wiedmann. 2014. 'Distributions of Salmonella Subtypes Differ between Two U.S. Produce-Growing Regions', *Appl Environ Microbiol*, 80: 3982-91.
- Su, L. H., and C. H. Chiu. 2007. 'Salmonella: clinical importance and evolution of nomenclature', *Chang Gung Med J*, 30: 210-9.
- Sulaiman Rahman, Heshu. 2017. *Salmonella Infection: The Common Cause of Human Food Poisoning*.
- Swaminathan, B., T. J. Barrett, S. B. Hunter, and R. V. Tauxe. 2001. 'PulseNet: the molecular subtyping network for foodborne bacterial disease surveillance, United States', *Emerg Infect Dis*, 7: 382-9.
- Ta, Yen T., Trung Thanh Nguyen, Phuong Bich To, Da Xuan Pham, Hao Thi Hong Le, Walid Q. Alali, Isabell Walls, Danilo M. A. Lo Fo Wong, and Michael P. Doyle. 2012. 'Prevalence of Salmonella on Chicken Carcasses from Retail Markets in Vietnam', *Journal of Food Protection*, 75: 1851-54.
- Taboada, E. N., C. G. Clark, E. L. Sproston, and C. D. Carrillo. 2013. 'Current methods for molecular typing of Campylobacter species', *Journal of Microbiological Methods*, 95: 24-31.
- Tamada, Y., Y. Nakaoka, K. Nishimori, A. Doi, T. Kumaki, N. Uemura, K. Tanaka, S. I. Makino, T. Sameshima, M. Akiba, M. Nakazawa, and I. Uchida. 2001. 'Molecular typing and epidemiological study of Salmonella enterica serotype Typhimurium isolates from cattle by fluorescent amplified-fragment length polymorphism fingerprinting and pulsed-field gel electrophoresis', *J Clin Microbiol*, 39: 1057-66.
- Tamburro, M., and G. Ripabelli. 2017. 'High Resolution Melting as a rapid, reliable, accurate and cost-effective emerging tool for genotyping pathogenic bacteria and enhancing molecular epidemiological surveillance: a comprehensive review of the literature', *Ann Ig*, 29: 293-316.
- Taylor, Angela J., Victoria Lappi, William J. Wolfgang, Pascal Lapierre, Michael J. Palumbo, Carlota Medus, and David Boxrud. 2015. 'Characterization of Foodborne Outbreaks of Salmonella enterica Serovar Enteritidis with Whole-Genome Sequencing Single

- Nucleotide Polymorphism-Based Analysis for Surveillance and Outbreak Detection', *Journal of Clinical Microbiology*, 53: 3334-40.
- Tenover, F. C., R. D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing, and B. Swaminathan. 1995. 'Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing', *J Clin Microbiol*, 33: 2233-9.
- The Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs 2016. 'Poultry and Microbial Contamination in Provincially-Licensed Plants'.
- Thomas, M. Kate, Regan Murray, Logan Flockhart, Katarina Pintar, Frank Pollari, Aamir Fazil, Andrea Nesbitt, and Barbara Marshall. 2013. 'Estimates of the Burden of Foodborne Illness in Canada for 30 Specified Pathogens and Unspecified Agents, Circa 2006', *Foodborne Pathogens and Disease*, 10: 639-48.
- Threlfall, E. J., M. D. Hampton, L. R. Ward, and B. Rowe. 1996. 'Application of pulsed-field gel electrophoresis to an international outbreak of *Salmonella agona*', *Emerg Infect Dis*, 2: 130-2.
- Tong, Steven Y. C., and Philip M. Giffard. 2012. 'Microbiological Applications of High-Resolution Melting Analysis', *Journal of Clinical Microbiology*, 50: 3418-21.
- Toro, Magaly, Patricio Retamal, Sherry Ayers, Marlen Barreto, Marc Allard, Eric W. Brown, and Narjol Gonzalez-Escalona. 2016. 'Whole-Genome Sequencing Analysis of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Isolates in Chile Provides Insights into Possible Transmission between Gulls, Poultry, and Humans', *Applied and Environmental Microbiology*, 82: 6223-32.
- Toshiyuki, Murase, Okitsu Tadayuki, Suzuki Rieko, Morozumi Hirotooshi, Matsushima Akiyoshi, Nakamura Akiko, and Yamai Shiro. 1995. 'Evaluation of DNA Fingerprinting by PFGE as an Epidemiologic Tool for *Salmonella* Infections', *Microbiology and Immunology*, 39: 673-76.
- Trampel, D.W., Hasiak, R.J., Hoffman, L.J., and DeBey, M.C. 2000. 'Recovery of *Salmonella* from water, equipment, and carcasses in turkey processing plants', *J Appl Poult Res* 9:9-34.
- Turgeon, P., R. Murray, and A. Nesbitt. 2017. 'Hospitalizations associated with salmonellosis among seniors in Canada, 2000-2010', *Epidemiol Infect*, 145: 1527-34.
- U.Methner, Paul A. Barrow. 2013. *Salmonella in Domestic animals*
- USDA-FSIS. 2016. "New neutralizing buffered preptone water to replace current buffered peptone water for poultry verification sampling." In.
- . 2018. "FSIS Issues Public Health Alert For Poultry Products due to Possible *Salmonella* Contamination." In.
- USDA. 2010. 'United States Department of Agriculture -Compliance guideline for controlling *Salmonella* and *Campylobacter* in poultry, 3rd ed Food Safety and Inspection Service, US Department of Agriculture, Washington, DC '.
- . 2014. 'Progress Report on *Salmonella* and *Campylobacter* Testing of Raw Meat and Poultry Products, 1998-2013'.
- Valceschini, E. 2006. "Poultry meat trends and consumer attitudes." In *Proceedings of the XII European Poultry Conference*, 1-10.
- van Belkum, A., P. T. Tassios, L. Dijkshoorn, S. Haeggman, B. Cookson, N. K. Fry, V. Fussing, J. Green, E. Feil, P. Gerner-Smidt, S. Brisse, and M. Struelens. 2007. 'Guidelines for the

- validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology', *Clin Microbiol Infect*, 13 Suppl 3: 1-46.
- Veeraraghavan Meyyur Aravamudan, Phang Kee Fong, Pavel Singh, Jong Sze Chin, Yang Shiyao Sam, and P. A. Tambyah. 2017. 'Extraintestinal Salmonellosis in the Immunocompromised: An Unusual Case of Pyomyositis, Case Reports in Medicine'.
- Veluz, G. A., S. Pitchiah, and C. Z. Alvarado. 2012. 'Attachment of Salmonella serovars and Listeria monocytogenes to stainless steel and plastic conveyor belts', *Poult Sci*, 91: 2004-10.
- Vestby, Lene K., Trond Møretrø, Solveig Langsrud, Even Heir, and Live L. Nesse. 2009. 'Biofilm forming abilities of Salmonella are correlated with persistence in fish meal- and feed factories', *BMC Veterinary Research*, 5: 20.
- Voetsch, Andrew C., Thomas J. Van Gilder, Frederick J. Angulo, Monica M. Farley, Sue Shallow, Ruthanne Marcus, Paul R. Cieslak, Valerie C. Deneen, Robert V. Tauxe, and Group for the Emerging Infections Program FoodNet Working. 2004. 'FoodNet Estimate of the Burden of Illness Caused by Nontyphoidal Salmonella Infections in the United States', *Clinical Infectious Diseases*, 38: S127-S34.
- Wang, Jiashun, Yi Li, Jia Chen, Deping Hua, Hui Deng, Ying Li, Zhixuan Liang, and Jinhai Huang. 2018. 'Rapid detection of food-borne Salmonella contamination using IMBs-qPCR method based on pagC gene', *Brazilian Journal of Microbiology*, 49: 320-28.
- Wang, L., C. S. Wu, X. Fan, and A. Mustapha. 2012. 'Detection of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella in ground beef by a bead-free quantum dot-facilitated isolation method', *Int J Food Microbiol*, 156: 83-7.
- Wang, Weilan, Ruurd T. Zijlstra, and Michael G. Gänzle. 2017. 'Identification and quantification of virulence factors of enterotoxigenic Escherichia coli by high-resolution melting curve quantitative PCR', *BMC Microbiology*, 17: 114.
- Wattiau, P., C. Boland, and S. Bertrand. 2011. 'Methodologies for Salmonella enterica subsp. enterica subtyping: gold standards and alternatives', *Appl Environ Microbiol*, 77: 7877-85.
- Wattiau, P., T. Weijers, P. Andreoli, C. Schliker, H. V. Veken, H. M. Maas, A. J. Verbruggen, M. E. Heck, W. J. Wannet, H. Imberechts, and P. Vos. 2008. 'Evaluation of the Premi Test Salmonella, a commercial low-density DNA microarray system intended for routine identification and typing of Salmonella enterica', *Int J Food Microbiol*, 123: 293-8.
- Weill, Patrick A.D Grimont; François-Xavier. 2007. 'Antigenic formulae of the Salmonella serovars', *WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, institut pasteur*, 9th edition.
- White, A. P., D. L. Gibson, W. Kim, W. W. Kay, and M. G. Surette. 2006. 'Thin aggregative fimbriae and cellulose enhance long-term survival and persistence of Salmonella', *J Bacteriol*, 188: 3219-27.
- Wilson, Daniel J. 2012. 'Insights from genomics into bacterial pathogen populations', *PLoS Pathog*, 8: e1002874-e74.
- Wittwer, C. T., G. H. Reed, C. N. Gundry, J. G. Vandersteen, and R. J. Pryor. 2003. 'High-resolution genotyping by amplicon melting analysis using LCGreen', *Clinical Chemistry*, 49: 853-60.
- Wittwer, Carl, and Meinhard Hahn. 2004. *Rapid Cycle Real Time PCR: Methods and Applications; Quantification; with 108 Tables* (Springer Science & Business Media).

- Woodward, Martin J, Marcjanna Sojka, Katherine A Sprigings, and Tom J Humphrey. 2000. 'The role of SEF14 and SEF17 fimbriae in the adherence of Salmonella enterica serotype Enteritidis to inanimate surfaces', *J Med Microbiol*, 49: 481-87.
- Worcman-Barnink, D., M. T. Destro, S. A. Fernandes, and M. Landgraf. 2001. 'Evaluation of motility enrichment on modified semi-solid Rappaport-Vassiladis medium (MSRV) for the detection of Salmonella in foods', *Int J Food Microbiol*, 64: 387-93.
- Wray, Clifford, and A Wray. 2000. *Salmonella in domestic animals* (Cabi).
- Yachison, C. A., C. Yoshida, J. Robertson, J. H. E. Nash, P. Kruczkiewicz, E. N. Taboada, M. Walker, A. Reimer, S. Christianson, A. Nichani, and C. Nadon. 2017. 'The Validation and Implications of Using Whole Genome Sequencing as a Replacement for Traditional Serotyping for a National Salmonella Reference Laboratory', *Front Microbiol*, 8: 1044.
- Yamatogui, R. S., H. C. Oliveira, F. S. Possebon, J. C. F. Pabtoja, J. G. F. Jowquim, J. P. A. N. Pinto, and Jr . J. P. Araujo. 2016. 'Qualitative and Quantitative Determination and Resistance Patterns of Salmonella from Poultry Carcasses', *Journal of Food Protection*, 79: 950-55.
- Yang, Hong, Yanbin Li, and Michael G. Johnson. 2001. 'Survival and Death of Salmonella Typhimurium and Campylobacter jejuni in Processing Water and on Chicken Skin during Poultry Scalding and Chilling', *Journal of Food Protection*, 64: 770-76.
- Yang, Qianru, Kelly J. Domesle, Fei Wang, and Beilei Ge. 2016. 'Rapid detection of Salmonella in food and feed by coupling loop-mediated isothermal amplification with bioluminescent assay in real-time', *BMC Microbiology*, 16: 112.
- Zankari, E., H. Hasman, S. Cosentino, M. Vestergaard, S. Rasmussen, O. Lund, F. M. Aarestrup, and M. V. Larsen. 2012. 'Identification of acquired antimicrobial resistance genes', *J Antimicrob Chemother*, 67: 2640-4.
- Zhao, C., B. Ge, J. De Villena, R. Sudler, E. Yeh, S. Zhao, D. G. White, D. Wagner, and J. Meng. 2001. 'Prevalence of Campylobacter spp., Escherichia coli, and Salmonella Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area', *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 5431-36.
- Zhu, Yuanting, Haimei Lai, Likou Zou, Sheng Yin, Chengtao Wang, Xinfeng Han, Xiaolong Xia, Kaidi Hu, Li He, Kang Zhou, Shujuan Chen, Xiaolin Ao, and Shuliang Liu. 2017. 'Antimicrobial resistance and resistance genes in Salmonella strains isolated from broiler chickens along the slaughtering process in China', *International Journal of Food Microbiology*, 259: 43-51.
- Zou, W., W. J. Lin, K. B. Hise, H. C. Chen, C. Keys, and J. J. Chen. 2012. 'Prediction system for rapid identification of Salmonella serotypes based on pulsed-field gel electrophoresis fingerprints', *J Clin Microbiol*, 50: 1524-32.
- Zou, Wen, Wei-Jiun Lin, Steven L. Foley, Chun-Houh Chen, Rajesh Nayak, and James J. Chen. 2010. 'Evaluation of Pulsed-Field Gel Electrophoresis Profiles for Identification of Salmonella Serotypes', *Journal of Clinical Microbiology*, 48: 3122-26.