

## Conseils pratiques en contexte de Salmonelles en élevage :

### Outils analytiques utilisables par le prescripteur

#### Préambule

**Deux cas** de figure sont à différencier :

- Suspicion **clinique** : avortement, diarrhée/septicémie, pneumonies...
- Recherche d'animaux **non cliniques** : porteurs/excréteurs

Différents **outils diagnostiques** sont à disposition du prescripteur pour rechercher les salmonelles :

- Sur animal
- Dans l'environnement

Les méthodes d'analyses permettent soit un **diagnostic indirect** (recherche des anticorps sur sérum ou lait), soit un **diagnostic direct** (mise en évidence de la bactérie par culture bactérienne ou par amplification génique).

Le **choix d'une analyse** dépendra du **contexte**, des **prélèvements** disponibles et des **commémoratifs**. En particulier, selon la méthode d'analyse retenue, il sera particulièrement important de **préciser au laboratoire** si les animaux:

- ont été **vaccinés** : *Interférence avec la sérologie*
- ont reçu une **antibiothérapie** préalablement à la réalisation du prélèvement : *Interférence avec la culture bactérienne pouvant être levée par une étape préliminaire de pré-enrichissement*
- n'ont **aucun signe clinique** : *la recherche de portage nécessite une étape préliminaire de pré-enrichissement*

#### Précisions techniques :

o **L'identification du séovar** est indispensable au moins lors d'un premier isolement dans un cheptel. La vérification régulière du séovar (surtout en cas d'épisodes cliniques sur plusieurs saisons) permet de s'assurer de l'absence de co-infection par un autre séovar

o La réalisation d'un **antibiogramme** sur une souche de salmonelle n'est pas systématique. Dans un contexte de septicémies, diarrhées, etc., l'antibiogramme permet d'apporter des éléments de vigilance indispensables (santé animale et humaine). C'est plutôt rare lors d'avortement à *Salmonella* Dublin. Les souches de Dublin circulant dans le Doubs et le Jura présentent jusqu'à présent peu de résistances, mais une surveillance minimale reste conseillée.

o Les **analyses de mélange** de plusieurs animaux ne présentent pas suffisamment de fiabilité pour pouvoir être raisonnablement proposées. Elles sont à l'origine de baisse de sensibilité ou de défaut de détectabilité. Par contre, en hygiène alimentaire, on pratique couramment le mélange de 4 vaches en première intention pour des surveillances systématiques et des raisons économiques.

Les mélanges de lait de 4 quartiers d'un même animal sont réalisés pour la recherche d'une excrétion mammaire.

## RECHERCHES SUR L'ANIMAL

### CONTEXTE AVORTEMENT

La recherche de salmonelles est entreprise de manière **systematique** (*sauf mention contraire du prescripteur – cf. document de prescription d'analyses ou bon de commande d'analyses avortements*).

La recherche de salmonelles sera faite, selon le protocole GDS, sur houppe cotylédonaire, ou mucus à défaut. Une analyse par **diagnostic direct** sera mise en œuvre par le laboratoire, dans ce cadre.

Hors protocole GDS, il est possible de demander :

- Une **recherche directe** sur avorton : foie/rate, ou contenu stomacal par défaut - *!! privilégier la réalisation du prélèvement en ferme, pour des raisons de coûts, hygiène et sécurité et facilité de transport !!*
- Une **recherche indirecte** (tube sec ou lait individuel de la mère) [*Ne pas prendre de colostrum*] : à répéter éventuellement 15 jours plus tard pour mettre en évidence une éventuelle séroconversion.
- Des recherches directes peuvent être envisagées dans un second temps, préférentiellement sur fèces de congénères

#### PRELEVEMENTS :

- Un cotylédon placentaire dans un pot hermétique
- Un tube de sang sans contact avec le placenta
- La prescription d'analyse (bon de commande ou demande d'analyse)

**Les conditionnements sont délivrés à la demande par le laboratoire destinataire des prélèvements**

### CONTEXTE SEPTICEMIES-DIARRHEES-PNEUMONIES

- Soit une autopsie sera réalisée en laboratoire (*ou en ferme*) avec prélèvements d'organes sains ou lésés : foie, nœuds lymphatiques, poumon, encéphale...
- Soit il s'agit d'un prélèvement sur animal vivant en ferme : fèces en particulier.

La prescription d'une analyse de **diagnostic direct** devra préciser si l'animal a reçu une antibiothérapie préalablement au prélèvement.

(Un sondage sérologique pourra également être réalisé sur un lot d'animaux malades, 2 à 3 semaines après le début d'un épisode clinique, en l'absence d'anticorps post-vaccinaux ou colostraux.)

Une synthèse présentant les avantages, contraintes, délais et coûts d'analyses est jointe *en annexe*

## CONTEXTE DE RECHERCHE D'ANIMAUX PORTEURS / EXCRETEURS

La recherche d'animaux porteurs sains, potentiels excréteurs, est demandée suite à une alerte de la filière agro-alimentaire ou suite à un épisode clinique identifié.

Des recherches sur l'ensemble du troupeau et couplant différentes méthodes d'investigation (méthodes d'analyses, type de prélèvements) se heurtent rapidement à des limites économiques.

La **RECHERCHE DES ANTICORPS O9** sur sérum (tube sec) ou lait individuel est plus économique, mais ne peut être envisagée si le troupeau est déjà vacciné. Il ne s'agit par ailleurs que d'une étape de screening et d'évaluation globale (état des lieux à interpréter en globalité plus qu'à l'animal)

Les tests ELISA Ac ont été développés par le LDA 39 sur lait ou sérum.

- Test indirect sur lait de tank bovin : il met en évidence les Ac dirigés contre les Antigènes somatiques O : 1, 9, 12 de *Salmonella* du groupe D c'est à dire que ce test peut croiser avec *S. Enteritidis*, *S. Panama*, *S. Gallinarum* mais aussi *S. Typhimurim* qui possède l'Ag O12.
- Tests en compétition : il met en évidence les Ac dirigés contre l'Antigène O : 9, beaucoup plus spécifique de *S. Dublin* (croise seulement avec *S. Gallinarum* et *S. Enteritidis*). Ce test est utilisable sur sérums individuels ou laits individuels de bovin, ovin, caprin.

La sérologie permet de cibler les analyses de diagnostic direct à entreprendre préférentiellement sur les animaux séropositifs.

La **RECHERCHE DIRECTE DE SALMONELLES** sur animaux non cliniques sera demandée (PCR préférentiellement dans le Doubs, culture dans le Jura), selon le contexte et les analyses déjà réalisées :

- sur fèces et/ou laits individuels (mélange des 4 quartiers d'une vache)
- éventuellement de manière répétée (*5 traites de suite, par exemple*)

Le recours à des analyses dans ce contexte de dépistage de porteurs/excréteurs nécessite de :

- **prévenir le laboratoire** le plus tôt possible en amont pour gagner en réactivité (type d'analyse demandée, moment de livraison au laboratoire, nombre prévu d'animaux et prélèvements)
- remplir un **document de prescription d'analyses** / bon de commande (modèle joint) et y joindre de préférence un **DAP codes-barres** (à demander au GDS si compatible avec les délais d'intervention, au moins à transmettre au laboratoire)
- disposer du **matériel de prélèvement** adéquat (conditionnements individuels, propres ou stériles). Les prélèvements de laits seront particulièrement soignés en raison d'un risque important de contamination fécale du lait. Pour la sérologie, il est possible d'utiliser un conservateur (bronopol).
- assurer la **traçabilité des prélèvements** : idéalement par étiquette code-barres avec n° national bovin, à défaut par retranscription sur les prélèvements et la demande d'analyses. Bien identifier les prélèvements sur le corps des emballages (et non sur les couvercles)
- **transmettre** les prélèvements dans les meilleurs délais, au laboratoire le plus proche ou le mieux indiqué selon le cas. Pour la sérologie, le lait doit être congelé, si délai > 72h.

**Transit passif** : pas d'implantation dans le tube digestif,  $<10^5$  UFC/g, dure quelques jours seulement : bactériologie fugacement positive dans les fèces, sérologie négative

**Portage actif** : animaux sains ou convalescents qui excrètent une grande quantité de salmonelles  $>10^5$  UFC/g, excrétion longue durée, non continue (faire 3 coprocultures à 15 jours) : bactériologie fortement positive et stable, sérologie positive après délai de séroconversion

**Portage latent** : multiplication et fixation dans les ganglions lymphatiques, pas dans les fèces, réactivation suite à un stress : bactériologie positive ou négative et sérologie souvent positive

## RECHERCHES DANS L'ENVIRONNEMENT

La recherche des salmonelles dans l'environnement des productions d'élevage permet dans le cadre de la visite d'élevage salmonelle, au prescripteur :

- de chercher à décrire les voies d'entrée et de circulation des salmonelles dans l'élevage
- d'identifier les facteurs de risque pour pouvoir proposer des actions correctives et préventives,

Les prélèvements suivants peuvent être conduits à la carte, selon les résultats d'un audit préliminaire :

Famille	Prélèvement type	Matériel à prélèvement	Méthode de prélèvement	LDA
Effluents d'élevage	Lisier, fumier <i>Préciser avant/après traitement</i>	Un ou plusieurs pots à prélèvement stériles, fermés hermétiquement	Pots remplis (100 g par pot). Echantillonner un volume en plusieurs points (représentativité)	LVD25/ LDA39
Eau	Réseau, puits, tonne/citerne	Bouteille/bidon stérile ou bouteille d'eau minérale neuve, vidée juste avant prélèvement	5 L (pour filtration) <i>Salmonelles seulement ou + flore autre</i>	LDA39
	Abreuvoir, mare	Flacon stérile	100 ml (si petits volumes), à multiplier si besoin pour une meilleure représentativité	LVD25/ LDA39
Aliment	Ensilage Aliment sec (foin, farine et concentrés)	Sachet plastique scellé	Environ 100 g Echantillonner un volume en plusieurs points (représentativité)	LDA39
Matériel et salle de traite	Filtre à lait Lavettes Chiffonnettes	Flacon stérile Eau de lavettes Chiffonnettes		LDA39
Nuisibles	Traces, cadavres		Non représentatif	

Les prélèvements doivent être identifiés précisément, réfrigérés dans les meilleurs délais et transmis au laboratoire dans les 24 heures (surtout analyses d'eau). Le Laboratoire destinataire doit être prévenu pour ajuster les prélèvements à la demande : matériel, quantité, délai, ...