

PRÉVALENCE ET GÈNES DE VIRULENCE DES SALMONELLA ISOLÉES DES EAUX SUPERFICIELLES DE L'OUED KHOUMANE, MAROC

A. Ben moussa, A. Chahlaoui, E. Rour, M. Chahboune, A. Aboukacem ¹,
B. Karraouan ² et B. Bouchrif ²

Équipe de gestion et valorisation des ressources naturelles, laboratoire de l'environnement et santé, université Moulay Ismail, département de biologie, faculté des sciences de Meknès, B.P. 11 201 Zitoune Meknès, Maroc

¹Laboratoire régional de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu, Meknès

²Laboratoire de microbiologie des aliments, Institut Pasteur, 1 place Abou El Kacem Ez-Zahraoui, B.P. 120, Casablanca, Maroc
alidoctorant@gmail.com

(Received 23 November 2012 - Accepted 2 August 2013)

RÉSUMÉ

Une étude a été menée pour estimer la prévalence, la sensibilité aux antibiotiques et la distribution des sérotypes et des gènes de virulence de Salmonella, dans les eaux superficielles de l'oued Khoumane Meknès, Maroc. Au total, 84 échantillons d'eaux analysés durant douze mois (Août 2010 - Juillet 2011), à raison d'un prélèvement / mois/ station. Sur les 84 échantillons examinés, Salmonella a été isolée dans deux de ces échantillons (2,38 %). Ces deux souches ont été identifiées Salmonella butantan par sérotypage. Les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques ont montré que ces deux Salmonella sont sensibles aux C3G et aux quinolones et présentent une résistance à l'amoxicilline et aux sulfonamides. Ces deux souches de Salmonella étudiées étaient positives pour le gène d'invasion invA et le gène de virulence spvC porté par un plasmide de taille d'environ 54 Kb. Ces Salmonella peuvent être transmises aux populations humaines de la région par l'utilisation de ces eaux contaminées de l'oued khoumane, engendrant ainsi un problème de santé publique au Maroc.

Mots-clés: *Salmonella*, oued Khoumane, sensibilité aux antibiotiques, plasmide, gènes de virulence

ABSTRACT

This study was conducted in order to shed some light on the prevalence and serotype distribution of Salmonella in the surface waters of Khoumane river, city of Meknes, Morocco. The serotypes as well as antibiotic-resistance patterns and gene virulence of the Salmonella isolates were determined. A total of 84 water samples were tested during July and August 2010. Only two samples (2,38 %) were positive for Salmonella. All strains were identified by serotyping Salmonella butantan. The results of antibiotic susceptibility tests

showed that both *Salmonella* isolates were sensitive to C3G and quinolones and were resistant to amoxicillin and sulfonamides, and positive for the invasion gene *invA* and the virulence gene *spvC* carried by a plasmid of about 54 Kb in size. These *Salmonella* isolates can be transmitted to human populations of the region through the use of contaminated water from the river Khoumane, thus generating a public health problem in Morocco.

Keywords: *Salmonella*, river Khoumane, antibiotic sensitivity, plasmid, virulence genes

INTRODUCTION

L'eau constitue à l'heure actuelle la source naturelle la plus indispensable mais aussi la plus menacée par les activités humaines (Afri-Mehennaoui *et al.*, 2009). Les Salmonelles sont des agents étiologiques de la salmonellose humaine d'origine alimentaire, et pourtant, certains sérotypes sont les agents de maladies graves comme la fièvre typhoïde et paratyphoïde (Levantesi *et al.*, 2012).

Les eaux de surface sont particulièrement exposées à la pollution due aux effluents industriels, urbains et agricoles. Ces effluents contiennent généralement un mélange de bactéries non pathogènes et pathogènes et sont responsables de plusieurs maladies humaines (Mansilh *et al.*, 2010).

Au Maroc, comme dans les pays en voie de développement les maladies d'origine hydrique sont à l'origine d'un taux de mortalité très élevé des populations (Bou Saab *et al.*, 2007).

Au Maroc, des études sur l'évaluation de la sensibilité des germes aux antibiotiques ont montré des taux de résistance très élevés aux quinolones chez *Salmonella* sérovar *Kentucky* (Bouchrif *et al.*, 2008) et des *Salmonella* sérovar *typhimurium* DT104 résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (Ait mhand *et al.*, 2002; Bouchrif *et al.*, 2009).

Les salmonelles peuvent être responsables de la contamination des eaux industrielles, agricoles, domestiques, eaux douces, eaux potables, nappes phréatiques et l'eau de mer (Rodier *et al.*, 2009). Leur transmission à l'homme se fait principalement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec 2011; Bouchrif *et al.*, 2009).

Au Maroc, 7118 cas de toxi-infections alimentaires ont été rapportés entre 2000 et 2004 dont plus de 86 % sont d'origine bactérienne (Cohen *et al.*, 2006), et 1160 cas d'intoxication alimentaire ont été enregistrés en 2008 (selon le centre antipoison et pharmacovigilance, Maroc).

Auparavant, aucun travail n'a été réalisé sur l'évaluation microbiologique de la qualité des eaux de l'oued Khoumane. L'objectif du présent travail est, d'une part, la recherche des germes pathogènes et surtout les salmonelles contaminant l'oued, et d'autre part, l'étude de la sensibilité de ces *Salmonella* aux antibiotiques et les gènes de virulence par des techniques microbiologiques et moléculaires.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Description de l'oued Khoumane

La ville de Moulay Idriss Zerhoune qui abrite le sanctuaire du fondateur de la dynastie des idrissides, Idriss Premier, est située à 25 km de Meknès. Bâtie sur le piton rocheux dominant la vallée de l'oued Khoumane et la plaine de l'ancienne ville Romaine de Volubilis (qui porte aussi le nom berbère de Qualili qui désigne la fleur colorée du liseron, plante volubile abondante dans la région). La ville de Moulay Idriss Zerhoune connaît annuellement un pèlerinage qui donne lieu à un grand rassemblement (Moussem) de nombreuses tribus.

L'oued Khoumane traverse du sud-est à l'ouest la ville de Moulay Idriss Zerhoune caractérisée par un climat semi-aride type continental chaud en été et froid en hiver et par une pluviométrie au cours des dix dernières années qui varie de 412 mm en 2000 à 782 mm en 2010 (station de Moulay Idriss Zerhoune (DPA C.Y N° 23 06 de Bni Ammar)).

Ce cours d'eau constitue le drain le plus menacé dans la région de Moulay Idriss Zerhoune. Il coule de l'amont vers la ville en recevant les apports des petits oueds, surtout en hiver, en provenance des montagnes et des terrains environnants, et des apports d'un nombre considérable de source naturelle, dont la plus importante est la source thermale Ain Hamma Moulay Idriss (température moyenne $(30,90 \pm 1,57^\circ\text{C})$ et salinité moyenne de l'ordre de $2228,25 \pm 159,27$ mg/l (Ben moussa *et al.*, 2012)). Au cours de son passage au voisinage de la ville de Moulay Idriss Zerhoune, il reçoit de plus en plus de polluants menaçant sa qualité: eaux domestiques de la ville, effluents de l'abattoir, margines, lixiviats des décharges sauvages, déchets solides de différentes natures, effluents des élevages et agricoles, *etc....*

L'oued khoumane joue le rôle d'évacuateur des eaux rejetées par un réseau d'assainissement défaillant de la ville. Il constitue donc un risque permanent et inquiétant pour l'environnement et la santé des populations environnantes. En effet, ses eaux polluées sont utilisées dans l'abreuvement du cheptel, l'irrigation des cultures, la baignade et dans les autres activités de la population. De plus, les eaux de l'oued pourraient s'infiltrer et contaminer les eaux de la nappe souterraine.

Échantillonnage

Pour mettre en évidence l'influence du milieu extérieur et des activités anthropiques sur la qualité bactériologique de l'eau de l'oued Khoumane, on a effectué une prospection le long de l'oued dans le sens d'écoulement de l'oued amont-aval. On a retenu un site de référence moins exposé à la pollution et des sites exposés aux éventuels risques de pollution (tels que les décharges publiques, les rejets des eaux usées, les rejets agricoles et industriels, *etc....*).

Au total, sept stations ont été choisies pour effectuer l'échantillonnage. Ces points de prélèvement sont de l'amont vers l'aval (Figure 1):

* **S1** : se situe plus en amont et juste en aval immédiat du ruisseau provenant de la borne fontaine Ain Chench. Ce point est considéré comme station de référence, peu touchée par les nuisances anthropogéniques comparativement aux sites en aval.

* **S2** : se situe en amont immédiat de la zone de confluence de l'oued avec les eaux thermales de la source Ain Hamma Moulay Idriss. Ce site est censé renseigner sur la qualité des eaux de l'oued avant qu'elles reçoivent les rejets thermaux minéralisées de la source Ain Hamma Moulay Idriss.

* **S3** : située en aval immédiat de la zone de confluence de l'oued avec les eaux thermales de la source Ain Hamma Moulay Idriss. On a choisi cette station afin de rechercher les salmonelles dans les eaux de l'oued après leur mélange avec les eaux thermales de la source Ain Hamma Moulay Idriss et avant leur mélange avec les rejets des eaux usées de la ville et les autres effluents polluants.

* **S4** : ce site reçoit d'une part les eaux résiduaires rejetées par un premier exutoire important et d'autre part, les lixiviats et les déchets d'une décharge publique non contrôlée et installée sur le lit de l'oued. Cette station a été choisie pour étudier l'influence de ces rejets sur la qualité de l'eau.

* **S5** : les eaux de ce site reçoivent en plus des eaux usées domestiques, les effluents d'élevage. Ces derniers pourraient contenir des germes pathogènes modifiant la qualité des eaux de l'oued déjà menacée par les égouts.

* **S6** : se situe juste en aval du dernier exutoire important des eaux usées (aval de la ville). Ces eaux reçoivent donc la totalité des rejets polluants accumulés depuis l'amont.

* **S7** : se situe plus en aval de l'oued et de la ville historique Volubilis. Ce site est censé fournir des renseignements sur la qualité des eaux en s'éloignant de la ville de Moulay Idriss Zerhoun.



Figure 1. Situation de la zone d'étude et des stations d'échantillonnage.

Analyse bactériologique

Durant la période d'étude, les échantillons d'eau sont recueillis mensuellement dans des flacons stériles. Ces prélèvements sont transportés au laboratoire dans une glacière

isotherme, et analysés dans les deux heures qui suivent le prélèvement. L'étude a été réalisée sur une période de douze mois (août 2010 - juillet 2011) à raison d'un prélèvement par mois et par station (84 échantillons) pour isoler, identifier et collecter les souches de *Salmonella*.

L'analyse microbiologique de ces échantillons d'eau est réalisée selon la Norme Marocaine (NM) 03.7.050 fixant la méthode de la mise en évidence des salmonelles dans l'eau turbide : on procède à l'enrichissement sur deux milieux sélectifs à double concentration (Sélénite de sodium et bouillon au tetrathionate). Après incubation à 37 °C et 43°C pendant 24 à 48h, l'isolement et l'identification biochimique sont réalisés sur des milieux gélosés et liquides. Les tests de l'oxydase et de l'uréase sont réalisés pour toutes les colonies suspectées suivies d'une identification par des systèmes API 20E (Bio-Mérieux). La confirmation moléculaire des *Salmonella* isolées est réalisée par la technique d'amplification génique (PCR) nichée d'un fragment d'ADN de 275Kb du gène InvA du chromosome (N° M90846.1 de la *Salmonella typhimurium*) spécifique aux Salmonelles utilisant les amorces : sens F-5'tatcgccacgttcgggcaa3' et anti-sens R-5'tcgaccgtcaaaggaacc3' en utilisant le programme suivant : une dénaturation initiale d'une minute à 95°C suivie de 30 cycles, une dénaturation de 45 s. à 95°C, hybridation de 30 s. à 58°C, élongation de 72°C à 45 s. et extension finale à 72°C pendant 10 min. Le produit de PCR est analysé par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 %.

Sérotypage

Les sérotypes ont été déterminés par les tests d'agglutination sur lame avec les immuns sérums de groupe et des immuns sérums spécifiques dirigés contre les antigènes O, H et Vi des *Salmonella* (Bio-Rad). La lecture des résultats a été faite selon le tableau de Kauffmann White (Grimont & Weill, 2007).

Résistance aux antibiotiques

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton de disques d'antibiotiques (Bio-Rad). L'interprétation des résultats a été faite selon les règles et les recommandations du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). Les antibiotiques suivants ont été testés : amoxicilline, l'association amoxicilline et acide clavulanique, céfalotine, céfoxitine, céftriaxone, céftazidime gentamicine, kanamycine, acide nalidixique, ciprofloxacine, sulfamides, tétracycline, streptomycine et chloramphénicol.

Extraction plasmidique

L'extraction de l'ADN plasmidique est réalisée par la méthode rapide de Kado et Liu modifiée (Kado et Liu, 1981), de toutes les souches de *Salmonella* isolées, à partir des cultures fraîches sur gélose nutritive TCS. Les plasmides ont été résolus par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 0,75 % dans le tampon TBE 0,5x (10 mM Tris-Cl, 0,4 mM acide borique et 1,0 mM EDTA [pH8]), à 50 mA (120 Volts) pendant 2 heures à température ambiante, puis visualisés par une coloration au bromure d'éthidium à 0,4 µg/mL et photographiés par le système GelDoc1000 (Bio-Rad). Pour l'estimation de la taille moléculaire, la souche de référence *Escherichia coli* VA517 hébergeant 8 plasmides (53.7, 7.2, 5.6, 5.1, 3.9, 3.0, 2.7 et 2.1 kbp) est utilisée comme marqueur de poids moléculaire (Karraouan *et al.*, 2010).

Recherche du gène virulence *spvC*

Toutes les souches de *Salmonella* recueillies dans la présente étude ont été testées pour la recherche du gène de virulence *spvC* en utilisant les amorces: sens F-5'cggaataccatcaata3' et anti-sens R-5'cccaaaccatactactctg3', décrit par Nayak *et al.* (2004) et Abouzeed *et al.* (2000). L'ADN est extrait par la méthode rapide, adaptée à des petits volumes: les colonies prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 heures sur gélose nutritive TCS sont mises en suspension dans 500 µl d'eau biologie moléculaire, lysées par action thermique dans une eau bouillante pendant 10 minutes, suivi d'une centrifugation à 12000 rpm pendant 5 minutes. On récupère le surnageant qu'on stocke à -20 °C jusqu'à l'utilisation. 2,5 µl d'ADN sont utilisés pour les réactions d'amplifications effectuées avec des amorces spécifiques permettant la recherche et l'identification du gène *spvC* en utilisant le programme suivant : une dénaturation initiale d'une minute à 95°C suivie de 30 cycles, une dénaturation de 45 s. à 95°C, hybridation de 30 s. à 58°C , élongation de 72°C à 45 s. et extension finale à 72°C pendant 10 min. Les produits PCR sont visualisés par coloration au bromure d'éthidium après migration par électrophorèse en gel d'agarose à 1,5%. *Salmonella typhimurium* penta-résistante type (ACTeStSul) est utilisée comme contrôle positif et *Escherichia coli* V517 comme témoin négatif.

RÉSULTATS

Confirmation génotypique du genre *Salmonella* non typhi par PCR

Les deux souches isolées sont négatives pour les caractères suivants (lactose, uréase et oxydase). Elles ont été testées par le système API 20E et amplifiées par une PCR en utilisant les amorces spécifiques déjà décrites. Les résultats montrent que toutes ces souches possèdent une bande commune avec la souche de contrôle testée *Salmonella typhimurium* pentarésistant type (ACTeStSul) d'une taille d'environ 275 pb (Figure 2). Les deux isolats ont été sérotypés en utilisant le schéma de Kauffmann-White et identifiés comme *Salmonella enterica butantan* (3, 10,15 : b : 1,5).

Gènes d'invasion et de virulence

Les résultats de l'amplification par PCR utilisant les amorces spécifiques ont généré des produits de la taille prévue. Le gène de virulence *spvC* présente une taille d'environ 669 pb tel que déterminé par électrophorèse sur gel d'agarose (Figure 2). Toutes les souches de *Salmonella* étudiées étaient positives pour le gène de virulence *spvC*.

Plasmides

Les résultats de l'analyse du contenu plasmidique utilisant la méthode rapide de Kado et Liu (1981) déjà décrite, ont montré que ces deux souches hébergent deux plasmides de taille de 2 et 54 kb respectivement. Les résultats sont rapportés dans la Figure 3.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

La détermination du phénotype de résistance a été obtenue par la méthode de diffusion vis-à-vis des antibiotiques testés, selon les recommandations du CA-SFM. Les

résultats ont montré qu'il s'agit des souches présentant un phénotype sauvage aux bêta-lactamines et aux quinolones et sont résistantes aux sulfonamides.

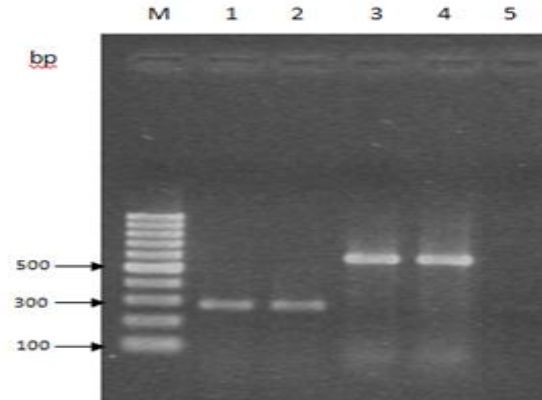


Figure 2. Électrophorèse sur gel d'agarose des amplicons générés par des PCR simples de *Salmonella butantan* utilisant des amorces spécifiques des gènes de virulence. M : 100-bp DNA ladder ; ligne 1, 2 : gène *InvA* (275-bp); ligne 3 et 4 : gène *spvC* (669-bp); ligne 5 : témoin négatif.

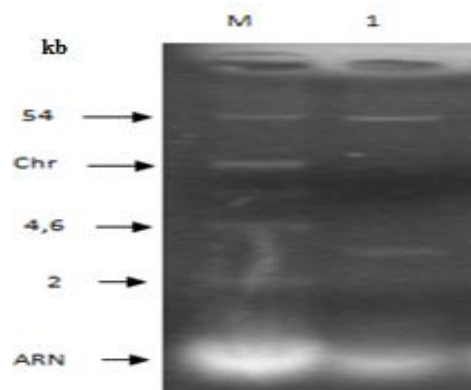


Figure 3. Profil plasmidique des *Salmonella butantan* obtenu par la méthode de Kado et Liu. M : marqueur de taille (*Escherichia coli* VA517); ligne 1 : profil plasmidique des *Salmonella butantan*.

DISCUSSION

L'objectif de ce travail consiste à une évaluation du degré de contamination de l'oued Khoumane par *Salmonella*, les sérotypes circulant et la prévalence des gènes d'invasion et de virulence. *Salmonella* est un agent pathogène entérique, hébergé dans le tractus digestif de certains animaux domestiques utilisés en élevage industriel. Les eaux de rejets (industriels et urbains) peuvent contaminer les eaux des rivières et pourraient être à

l'origine des problèmes de santé des populations environnantes. La plupart des *Salmonella* sont des agents pathogènes pour l'homme et sont le plus souvent utilisés comme marqueurs de risque biologique (Jacob *et al.*, 2002). Les résultats de cette étude ont montré qu'environ 2,38 % des échantillons analysés ont été détectés positifs pour la présence de *Salmonella*.

Le résultat obtenu de l'analyse du sérotypage a montré que l'oued Khoumane est contaminé seulement par le sérotype de *Salmonella butantan*. L'homogénéité de l'isolement de ce sérotype peut s'expliquer probablement par une récente contamination de l'oued Khoumane par les eaux de rejets d'origine urbaine, agricole et/ou industrielle de la région.

Salmonella butantan a été isolée récemment chez deux enfants hospitalisés au département de pédiatrie de Tikur Anbessa en Éthiopie (Beyene *et al.*, 2011). En Éthiopie *Salmonella butantan* constitue le deuxième sérotype après *Salmonella infantis* dépistés chez les ovins et les chèvres (Woldemariam *et al.*, 2005). Au Maroc, aucune étude n'a étudié ce sérotype.

Les résultats de la sensibilité aux antibiotiques obtenus ont montré qu'il s'agit des souches présentant un phénotype sauvage aux bêta-lactamines et aux quinolones. Ces deux souches étudiées ne sont résistantes qu'aux sulfonamides, l'antibiotique largement utilisé en élevage industriel.

Au Maroc, beaucoup d'études ont été réalisées sur la résistance des *Salmonella* non typhi. En 1998, une bêta-lactamase à spectre étendu type TEM-3 a été isolée chez *Salmonella typhimurium* au centre hospitalier Ibn Rochd à Casablanca (Aitmand *et al.*, 2002). En 2008, les résistances aux quinolones, surtout à la ciprofloxacine, l'antibiotique de première intention dans les traitements des salmonelloses chez les adultes, ont été mises en évidence chez le sérotype *Kentucky*. En 2009, des résistances aux céphalosporines de 3^{ème} génération type BLSE SHV-12 ont été signalées. Ces gènes de résistances sont portés par un plasmide conjugatif d'environ 60 kb réplicon IncI et *Cmy-2* portés par un plasmide de taille environ 210-kb non conjugatif réplicon IncA/C respectivement chez *Salmonella typhimurium* et *Salmonella newport* (Bouchrif *et al.*, 2009).

L'examen par la réaction d'amplification génique en chaîne (PCR) réalisée sur les deux *Salmonella* isolées a indiqué la présence du gène de virulence *invA* ainsi que le gène *spvC* porté par un plasmide de taille environ 54 kb. Au Maroc, seul le sérotype *Gallinarum* isolé des viandes de dinde, positif pour le gène de virulence *spvC*, porte un plasmide de taille environ 54 kb (Karraouan *et al.*, 2010).

La présence des salmonelles dans les eaux de l'oued Khoumane pourrait constituer donc un risque potentiel de morbidité chez les populations environnantes. L'épuration des eaux usées avant leur rejet dans l'oued Khoumane constitue une urgence afin de protéger les populations des toxi-infections à *Salmonella* et de protéger aussi les eaux superficielles et souterraines de la région contre les contaminations à *Salmonella*.

CONCLUSION

Dans la présente étude, *Salmonella* spp. a été isolée à partir de 2,38% des eaux analysées. Ces salmonelles correspondent au sérotype *Salmonella butantan*. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont montré que ces souches présentent un phénotype sauvage aux

bêta-lactamines et aux quinolones et sont résistantes aux sulfonamides. Les souches de *Salmonella* étudiées étaient positives pour le gène d'invasion *invA* et le gène de virulence *spvC*.

La forte pression engendrée par les rejets des eaux domestiques de la ville de Moulay Idriss Zerhoun ainsi que les autres rejets infectés (effluents d'élevage) pourraient être à l'origine de cette contamination. De même, les ressources en eaux régionales (nappe, sources et puits) pourraient être contaminées par les infiltrations des eaux de l'oued, ce qui pourrait exposer les populations de la région de Meknès à des intoxications à *Salmonella*.

RÉFÉRENCES

- Abouzeed, Y.M., Hariharana, H., Poppeb, C., Kibengea, F.S.B. 2000. Characterization of *Salmonella* isolates from beef cattle, broiler chickens and human sources on Prince Edward Island. *Comparative Immunology, Microb. Infect. Dis.*, 23: 253-266.
- Afri-Mehennaoui, F.Z., Sahli, L., Mehennaoui, S. 2009. Évaluation de la contamination par le cadmium, le plomb et le zinc de l'eau, des sédiments de l'oued Rhumel et son affluent le Boumerzoug, et leur transfert vers une plante semi-aquatique : *Rorippa nasturtium-aquaticum* (L.). *Sciences & Technologie*, C- (29): 45-55.
- Aitmhand, R., Soukri, A., Moustouai, N., Amarouch, H., Elmdaghri, N., Sirot, D., Benbachir, M. 2002. Plasmid-mediated TEM-3 extended-spectrum beta-lactamase production in *Salmonella typhimurium* in Casablanca. *J. Antimicrob. Chemother.*, 49: 169-72.
- Ben moussa, A., Chahlaoui, A., Rour, E.H., Chahboune, M., Aboukacem, A. 2012. Étude du changement de l'état des eaux de l'oued Khoumane à la confluence avec les eaux thermales de la source Ain Hamma Moulay Idriss, Maroc. *Larhyss Journal*, 11: 17-36.
- Beyene, G., Nair, S., Asrat, D., Mengistu, Y., Engers, H., Wain, J. 2011. Multidrug resistant *Salmonella concord* is a major cause of salmonellosis in children in Ethiopia. *J. Infect. Dev. Ctries*, 5(1): 23-33.
- Bouchrif, B., Karraouan, B., Ennaji, M.M., Timinouni, M. 2008. Quinolones-résistants *Salmonella spp.* in Casablanca, Morocco. *Med. Mal. Infect.*, 38: 615-6.
- Bouchrif, B., Le hello, S., Pardos, M., Karraouan, B., Perrier, J.D.G.C., Ennaji, M.M., Timinouni, M., Weill, F.X. 2009. Ceftazidime-resistant *Salmonella enterica*, Morocco. *Emerging Inf. Dis.*, 15: 1693-1694.
- Bou Saab, H., Nassif, N., El Samrani, A.G., Daoud, R., Medawar, S., Ouaiini, N. 2007. Suivi de la qualité bactériologique des eaux de surface (rivière Nahr Ibrahim, Liban). *Revue des Sciences de l'Eau*, 20(4): 341-352.
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec 2011. Recherche des salmonelles: méthode présence/absence, MA. 700 – Sal-PA 1.0, Rév. 2, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 25 p.
- Cohen, N., Ennaji, H., Hassar, M., Karib, H. 2006. The bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). *Mol. Nutr. Food Res.*, 50(6): 557-62.
- Grimont, P.A.D., Weill, F.X. 2007. *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, 9th edition.
- Jacob, B., Korsak, N., Grooven, B., Flament, E., Daube, G. 2002. Incidence d'une station d'épuration biologique sur le niveau de contamination en salmonelles des eaux et des boues résiduaires. *Ann. Méd. Vét.*, 146: 303-310.
- Kado, C.I., Liu, S.T. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.*, 145: 1365-73.

- Karraouan, B., Fassouane, A., El ossmani, H., Cohen, N., Charafeddine, O., Bouchrif, B. 2010. Prévalence et gènes de virulence des *Salmonella* isolées des viandes hachées crues de dinde à Casablanca (Maroc). *Revue Méd. Vét.*, 161(3): 127-132.
- Levantesi, C., Bonadonna, L., Briancesco, R., Grohmann, E., Toze, S., Tandoi, V. 2012. *Salmonella* in surface and drinking water; occurrence and water-mediated transmission. *Food Research International*, 45(2): 587-602.
- Mansilh, C.R., Coelho, C.A., Reinas, A., Moutinho, A., Ferreira, S., Pizarro, C., Tavares, A. 2010. *Salmonella*: the forgotten pathogen: health hazards of compliance with European Bathing Water Legislation. *Marine Pollution Bulletin*, 60: 819–826.
- Nayak, R., Stewart, R., Wang, T., Lin, R.F., Cerniglia, J., Kenney, C.E. 2004. Genetic diversity and virulence gene determinants of antibiotic-resistant *Salmonella* isolated from preharvest turkey production sources. *Int. J. Food Microbiol.*, 91: 51-62.
- Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., Brunet, R. 2009. *L'analyse de l'eau*. Dunod, 9ème édition, ISBN 978-2-10-054179-9.
- Woldemariam, E., Molla, B., Alemayehu, D., Muckle, C. 2005. Prevalence and distribution of *Salmonella* in apparently healthy slaughtered sheep and goats in Debre Zeit, Ethiopia. *Small Ruminant Research*, 58(1): 19-24.