

Mise au point d'une technique ELISA visant la recherche des anticorps anti-salmonelles sur le porc charcutier

Karine PROUX (1), Catherine HOUDAYER (1), P. FRAVALO (1), P.A. BELOEIL (1), Florence HUMBERT (1), R. CARIOLET (1), É. EVENO (1), Valérie ROSE (1), F. MADEC (1)

(1) AFSSA, Laboratoire Central de Recherches Avicoles et Porcines
BP 53, 22440 Ploufragan

Mise au point d'une technique ELISA visant la recherche des anticorps anti-salmonelles sur le porc charcutier

Les salmonelles contaminant la viande de porc peuvent être à l'origine d'intoxications alimentaires aussi de nombreux pays ont mis en place des plans de surveillance des porcs charcutiers souvent axés sur la sérologie. En France, l'ELISA basée sur les lipopolysaccharides de *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis, Anatum, Hadar et Infantis permet de dépister, en théorie, 100% des sérovars isolés antérieurement.

Soixante-dix lots de porcs charcutiers ont été utilisés pour mettre au point un système de classification sérologique des élevages en 3 classes : faiblement ou non contaminés, les intermédiaires et les fortement contaminés. Dans les élevages des classes extrêmes, sérologie et bactériologie sont associées, alors que les résultats sont plus mitigés dans les élevages de la classe intermédiaire. Néanmoins, cette corrélation entre sérologie et bactériologie existe sur l'ensemble des lots car le coefficient de corrélation est élevé entre la DOC moyenne des 20 sérums testés et le pourcentage de chiffonnettes positives.

Par ailleurs, l'étude cinétique des immunoglobulines G sur les porcs permet de mettre en évidence la transmission par le colostrum des anticorps maternels aux nouveau-nés, leur disparition à 8 semaines, et l'apparition concomitante des immunoglobulines produites par le porcelet suite à sa contamination.

Ces résultats peuvent être exploités pour rechercher les facteurs de risques favorisant la contamination salmonellique des élevages de la classe 3 fortement séropositifs. D'autre part, les résultats sur la cinétique des anticorps, du sevrage à l'abattage, doivent être confirmés et complétés afin de déterminer la période la plus propice aux contaminations et l'origine des salmonelles.

Development of an ELISA to test immunity against *Salmonella* in pigs

As *Salmonella* contaminated pig meat may induce food poisoning in humans, surveillance systems, often based on serology, have been implemented in finishing pig herds in several countries. In France, an ELISA with lipopolysaccharides from *Salmonella* Typhimurium, Enteritidis, Anatum, Hadar and Infantis allow us to detect theoretically 100% of serovars previously isolated.

A serological classification system has been developed based on 70 groups of finishing pigs, 3 levels of classification have been designated : weak or no contamination, intermediate and high contamination. For the herds classed in the two extreme classes, serology and bacteriology were associated whereas the results were not so clear for herds in the intermediate class. Nevertheless, these two methods of analysis were highly correlated according to the correlation coefficient between mean COD on 20 tested sera and percentage of positive environmental swabs.

In addition, the study of the serological kinetics of pigs show the transmission of maternal antibodies by the colostrum to the piglets, these antibodies decrease at 8 weeks of age, and at the same time the contaminated piglets produce their own antibodies.

These results may be used to look for epidemiological risk factors promoting *Salmonella* contamination in class 3, strongly seropositive, herds. The results from antibody kinetics in post-weaning to finishing pigs must be confirmed and studied further in order to determine the most dangerous period of contamination and the origin of the *Salmonella*.

INTRODUCTION

Bien que la volaille soit la principale source de salmonelles pour l'homme, le porc peut également être responsable d'intoxications alimentaires. Des programmes de surveillance ont été mis en place dans différents pays : en Suède dès 1961, au Danemark en 1995, en Allemagne et au Canada depuis 1998, en Belgique et en Autriche début 1999. Ces plans de surveillance s'appuient fréquemment sur des techniques de dépistage sérologique ELISA qui sont peu coûteuses, rapides, automatisables et qui permettent de tester un nombre élevé de sérums ou de jus de viande. La technique ELISA danoise, basée sur des antigènes somatiques (notés O) les lipopolysaccharides (LPS) de *Salmonella* Typhimurium (ST) O : 1, 4, 5, 12 et Choleraesuis (SC) O : 6, 7, permet de dépister 95 % des sérovars présents au Danemark (NIELSEN et al, 1995 ; BAGER et al, 1995). Cette méthode a été reprise par de nombreux pays et le kit SALMOTYPE dérivé de la technique danoise est maintenant produit en Allemagne (GABERT et al, 1999).

En France, nous avons développé une technique ELISA basée sur les LPS de *Salmonella* Typhimurium mais aussi Hadar (SH - O : 6, 8), Anatum (SA - O : 3, 10) et Infantis (SI - O : 6, 7), principaux sérovars isolés lors de nos études préliminaires sur les porcs charcutiers. De plus, des LPS de *S. Enteritidis* (SE - O : 1, 9, 12) ont été ajoutés au mélange afin de dépister l'antigène somatique O : 9 propre aux salmonelles du groupe D. Cette méthode assure en théorie un dépistage de 100% des contaminations salmonelliques (PROUX et al, 1999).

L'objectif de ce travail concernant le dépistage sérologique des salmonelles était double. La première étude avait pour but de mettre au point l'ELISA : de la comparer à la bactériologie utilisée comme méthode de référence, et de l'utiliser pour classer les élevages suivant leur niveau de contamination. Dans une seconde étude, les analyses sérologiques ont permis de faire une cinétique des anticorps du sevrage à l'abattage des porcs afin de préciser la durée de persistance des anticorps maternels protecteurs potentiels des porcelets les premières semaines de vie, et de déterminer la période à laquelle les porcs se contaminent et produisent leurs propres anticorps.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Préparation des LPS

Les LPS de ST et SE sont produits par SIGMA (références L2262 et L2012). Les LPS de SA, SH et SI sont préparés suivant la méthode de HANCOCK et POXTON (1988). Les souches isolées sur porcs charcutiers sont cultivées sur 50ml d'eau peptonée 1 nuit et centrifugées 1/2 heure à 10000 rpm, puis le culot est suspendu dans l'eau ultrapure (dilution à 5% poids / volume). La suspension bactérienne, préchauffée à 67°C, 15 minutes, est mélangée à du phénol (à 90%, chauffé à 45°C) volume à volume dans des tubes de polypropylène. Après agitation douce à 67°C, 15 minutes, les tubes sont refroidis dans la glace jusqu'à séparation en deux phases. Puis les tubes sont centrifugés à 10000 rpm

pendant 15 minutes. Le surnageant contenant les LPS est prélevé et dialysé 18 heures contre l'eau courante.

1.2. Méthode ELISA

La méthode ELISA est basée sur les LPS commerciaux de SE et ST et les LPS préparés au laboratoire de SA, SH et SI. Les microplaques (COSTAR) sont sensibilisées pour la moitié des cupules avec le mélange des LPS des 5 salmonelles susvisées dit " antigène positif " alors que l'autre moitié des cupules reçoit un antigène dit " négatif " qui correspond au témoin de préparation des LPS contenant le milieu de culture sans les salmonelles. Puis ces microplaques sont incubées 2 heures à 37°C. Les microplaques sont ensuite lavées, comme entre chaque étape ultérieure, 3 fois sous agitation d'une minute. Les microplaques sont saturées avec une solution de PBS-tween contenant 5% de lait en poudre (incubation 1/2 heure à 37°C). Puis les sérums dilués au 1/400ème sont distribués chacun dans deux cupules, l'une contenant l'antigène positif et l'autre l'antigène négatif (incubation 45 minutes à 37°C). La différence de lecture entre les deux cupules permet d'éliminer des bruits de fond dus aux fixations non-spécifiques. Le sérum de lapin anti-immunoglobulines G de porc conjugué à la peroxydase (DAKO), dilué à 1/1000ème est ajouté (incubation 1 heure à 37°C), et enfin l'ortho-phénylène diamine (SIGMA) est utilisé comme substrat (incubation 1/2 heure à température ambiante, à l'abri de la lumière). La réaction est stoppée avec de l'acide sulfurique 0,5M (PROLABO). La coloration est lue au spectrophotomètre DYNATECH MR 5000 (filtres : 490nm - 630nm). La différence entre les densités optiques avec antigènes positif et négatif est directement réalisée et les résultats sont calibrés par rapport aux sérums positifs et négatifs de contrôle. Le calcul suivant est donc effectué :

DOC = Densité optique calibrée

$$= (DOE-DON / DOPp-DON) \times (DOPmoy / DOPp)$$

DOE = DO de l'échantillon

DON = DO du sérum négatif de contrôle

DOPp = DO du sérum positif de la plaque

DOPmoy = DO du sérum positif moyenne sur 50 plaques

Concernant la calibration de l'ELISA, la sensibilité a été testée sur 65 sérums récoltés sur porcs SPF de 14 à 23 semaines, inoculés à 12 semaines avec 10^8 UFC ou 10^{10} UFC ST. La sensibilité qui correspond à la capacité de dépister les animaux positifs parmi les animaux contaminés expérimentalement s'élève à 96,9%. La spécificité et le seuil de positivité ont été évalués sur 82 porcs charcutiers conventionnels indemnes de salmonelles. La spécificité qui correspond à la capacité de trouver négatifs les animaux conventionnels non contaminés par les salmonelles est égale à 96,3%. Le seuil de positivité de 0,400 a été calculé avec la formule suivante :

$$DOC \text{ moyenne} + 1,99 \text{ écart-type} \quad (p = 0,975).$$

1.3. Bactériologie

Les chiffonnettes ont été pré-enrichies dans l'eau peptonée et incubées 16 à 20 heures à 37°C. L'enrichissement a été réalisé sur un milieu semi-solide de Rappaport-Vassiliadis incubé à 41,5°C et les colonies ont été isolées sur une gélose

Rambach. 2 colonies par boîte ont été sérotypées après étude de leurs caractères biochimiques.

1.4. Animaux

1.4.1. Première étude : classification de 70 lots de porcs charcutiers

Soixante dix lots de porcs charcutiers ont été échantillonnés, à raison de 20 sérums et 14 chiffonnettes par lot. Les sérums ont été subdivisés en 4 groupes d'effectifs équivalents en fonction de leur DOC lors du test ELISA (tableau 1). Un troupeau est donc caractérisé par : le pourcentage de sérums dans chaque groupe, la valeur moyenne des DOC des 20 sérums et le pourcentage de chiffonnettes positives.

1.4.2. Deuxième étude : cinétique des anticorps dans 2 élevages

Cette étude portait sur les analyses sérologiques dans 2 élevages de porcs charcutiers.

Dans le premier élevage 4 truies et leurs portées ont été testées au moyen de la technique ELISA. Pour deux d'entre elles 10 porcelets ont été suivis de 2 à 11 semaines, alors que, pour les 2 autres, les résultats d'1 seul porcelet prélevé de 3 à 11 semaines sont présentés ici en raison de l'apparition des anticorps post-infection.

Dans le second élevage des prélèvements de sérums ont été effectués au même moment sur 7 lots de 5 porcs âgés de 1, 4, 7, 10, 13, 19 ou 25 semaines.

1.5. Analyses statistiques

Pour la première étude une analyse factorielle des correspondances multiples et une classification ascendante hiérarchique ont été réalisées sur le logiciel SPAD. Pour la seconde étude de simples moyennes, écart-type et pourcentages ont été calculés.

2. RÉSULTATS

2.1. Première étude

2.1.1. Classification des élevages en 3 classes

Chaque élevage est caractérisé par le pourcentage de sérums dans les 4 groupes DOC1 à DOC4, et grâce à l'analyse factorielle les troupeaux ont été répartis en 3 classes : les négatifs ou faiblement positifs comprenant un maximum de sérums du groupe DOC1, les intermédiaires, ou les fortement positifs contenant un maximum de sérums du groupe DOC4 (tableau 2).

De même, les troupeaux sont répartis en 3 groupes C1 à C3 en fonction du pourcentage de chiffonnettes positives (tableau 3). En fait, si les résultats sont projetés sur une figure tridimensionnelle avec les analyses bactériologiques comme variables illustratives, les troupeaux de la classe 1 ont un pourcentage élevé de sérums avec une faible DOC (% sérums DOC1 = 86%) et des bactériologies négatives (groupe C1). A l'opposé les élevages de la classe 3 montre un fort pourcentage de sérums avec une forte DOC (% sérums DOC4 = 79,43%) et au moins 6 chiffonnettes positives sur 14 (groupe C3). Mais pour les élevages intermédiaires de la classe 2 les résultats sérologiques sont plus mitigés (% de sérums faibles DOC1 = 44,54% - et % de sérums forts DOC4 = 27,03%), et 1 à 5 chiffonnettes sont positives sur les 14 testées.

2.1.2. Corrélation entre la sérologie et la bactériologie

Le coefficient de corrélation de Spearman entre les moyennes des DOC (tableau 4) et le pourcentage de chiffonnettes positives (tableau 3) est élevé ($r = 0,5400 > 0,3799$, $\alpha = 1^0/00$).

Tableau 1 - Classification des sérums en fonction de la densité optique calibrée (DOC)

Groupe de sérum	DOC 1	DOC 2	DOC 3	DOC 4
DOC	$\leq 0,3$	$0,3 < \leq 0,4$	$0,4 < \geq 0,6$	$> 0,6$

Tableau 2 - Classification des lots de porcs charcutiers en fonction du pourcentage de sérums dans chaque groupe DOC1 à DOC4

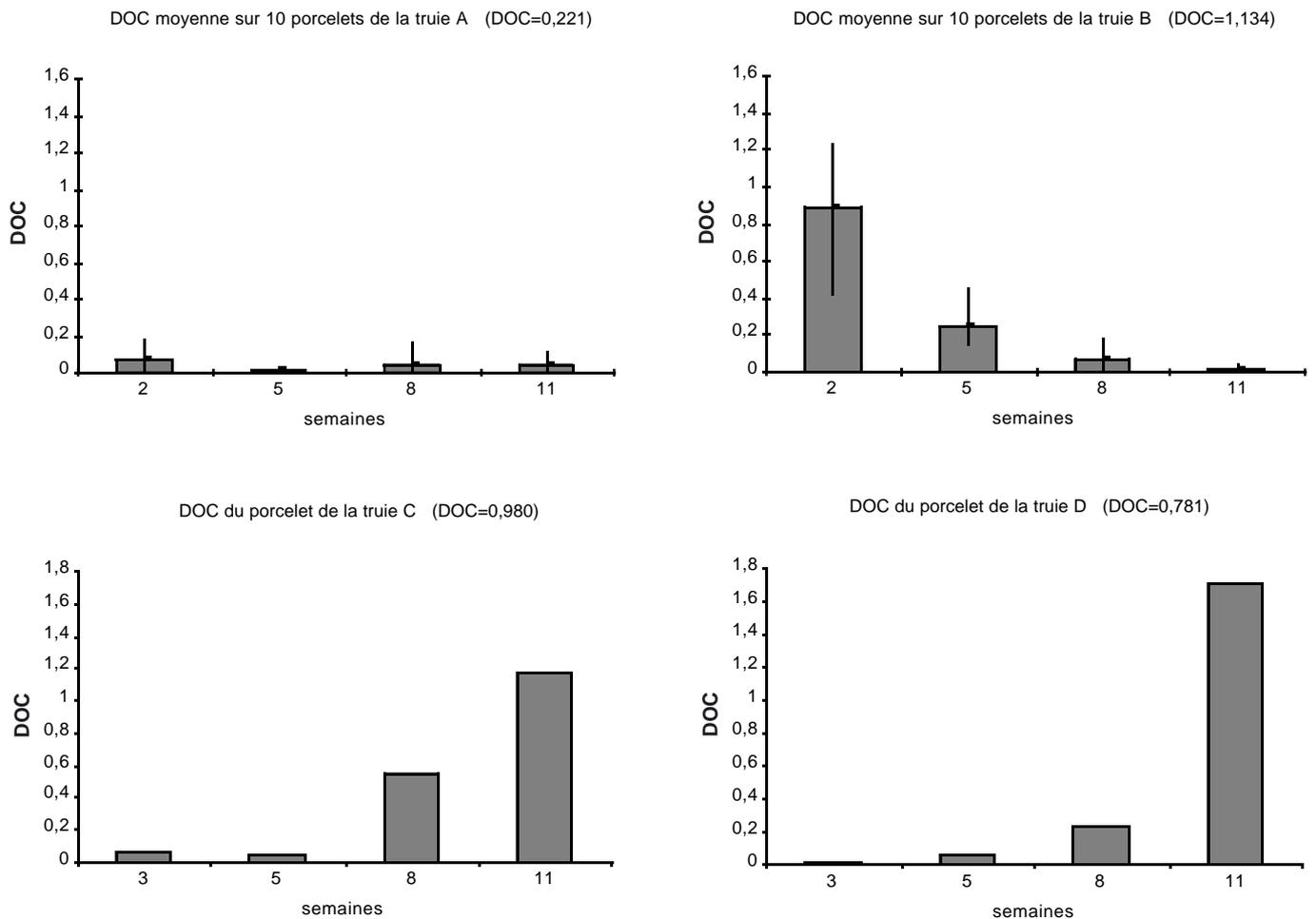
Classe	1	2	3
% de sérums du groupe DOC1	86,00	44,54	10,00
% de sérums du groupe DOC2	6,41	11,73	1,71
% de sérums du groupe DOC3	3,66	16,71	8,86
% de sérums du groupe DOC4	3,94	27,03	79,43
Nombre de lots de la classe	32	31	7

Tableau 3 - Classification des lots en fonction du pourcentage de chiffonnettes positives

Groupe	1	2	3
Chiffonnettes + / testées	0 / 14	1 / 14 à 5 / 14	≥ 6 / 14
Nombre de lots	39	23	8

Tableau 4 - Classification des lots en fonction de la DOC moyenne

Groupe	M1	M2	M3	M4
DOC moyenne	0 à 0,3	0,3 à 1,5	1,5 à 2,5	> 2,5
Nombre de lots	34	32	2	2

Figure 1 - Cinétique des immunoglobulines G des porcelets issus de 4 truies.

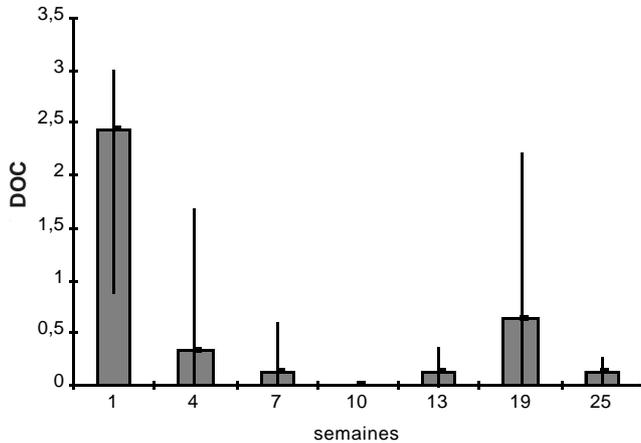
2.2. Deuxième étude : cinétique des anticorps dans 2 élevages

Pour le premier élevage les résultats sérologiques obtenus sur les truies et leurs porcelets sont présentés sur la figure 1. La première portée issue de la truie A séronégative (DOC = 0,221) demeure négative de 2 à 11 semaines. La truie B présente une forte positivité (DOC = 1,134) et cer-

tains de ses porcelets sont encore séropositifs à 5 semaines. Les 2 autres porcelets issus des truies C et D sont séronégatifs jusqu'à 5 ou 8 semaines bien que les truies soient positives (DOC = 0,980 et 0,781 pour les truies C et D). Puis les anticorps augmentent sur ces deux porcelets, les DOC devenant séropositives à 8 semaines pour le porcelet de la truie C ou 11 semaines pour le porcelet de la truie D. Dans le second élevage des porcelets sont séropositifs jus-

qu'à 7 semaines, tous négatifs à 10 semaines, puis les anticorps amorcent une ascension dès 13 semaines, et la moyenne des DOC des 5 individus testés est positive à 19 semaines (figure 2).

Figure 2 - Étude sérologique transversale de 7 lots de 5 porcs du même élevage



3. DISCUSSION

3.1. Première étude : classification des élevages

La sérologie et la bactériologie sont corrélées dans les élevages extrêmes : négatifs ou fortement positifs, mais les résultats ne sont pas aussi faciles à interpréter dans les élevages intermédiaires ou coexistent des animaux faiblement et fortement contaminés. En fait, des discordances entre sérologie et bactériologie sont possibles car ces deux méthodes d'analyses n'ont pas la même signification. Les analyses bactériologiques sur des chiffonnettes sont plus utiles pour évaluer la dissémination des salmonelles et signent une infection récente, alors que la sérologie s'appuie sur des résultats individuels et met en évidence une infection qui date de 8 à 10 jours. Ainsi, la sérologie peut être négative et la bactériologie positive si l'infection est trop récente, et à l'inverse la sérologie peut être positive et la bactériologie négative en raison de l'excrétion intermittente lors des infections chroniques. Néanmoins le coefficient de corrélation entre la DOC moyenne et le pourcentage de chiffonnettes positives est élevé dans notre étude, ce qui corrobore les résultats obtenus par STEGE et al (1997).

3.2. Deuxième étude : des anticorps maternels aux anticorps post-infection

En fait, les immunoglobulines (Ig) ne passent pas au travers du placenta épithélio-chorial étanche de la truie mais sont transmis via le colostrum. Le colostrum est, en effet, un concentré d'immunoglobulines sériques qui transsudent à partir du sérum maternel et qui s'accumulent dans la mamelle à la fin de la gestation. Les IgG dominent dans le colostrum qui en contient 3 à 10 fois plus que le sérum maternel. Ensuite, dans les 24 heures suivant la naissance, 10 à 30% des Ig colostrales gagnent la circulation sanguine du jeune qui possède une concentration sérique en Ig voisine de celle de l'adulte (NEWBY et al, 1982). De plus, ces IgG

d'origine maternelle peuvent potentiellement protéger les porcelets durant leurs premières semaines de vie.

Dans le premier élevage, la truie A séronégative n'a pas pu fournir d'anticorps à ses 10 porcelets. Par contre, les anticorps maternels sont transmis à la descendance de la truie B présentant elle-même une forte DOC et ces anticorps maternels persistent jusqu'à 5 semaines sur certains porcelets. Ces résultats se rapprochent de ceux de NIELSEN et al (1997) qui rapporte que, bien que la séroprévalence des truies ne prédétermine pas la séroprévalence des porcelets, dans un troupeau où les truies ont de fortes DOC la séroprévalence des porcelets de 3 semaines est également élevée. Les porcelets sont donc éventuellement protégés jusqu'à 5 semaines, puis tous les animaux deviennent séronégatifs à 8 semaines et le demeurent à 11 semaines. Cela signifie que les porcs n'ont pas encore été contaminés par les salmonelles présentes dans l'élevage ou que les anticorps ne sont pas déjà décelables car l'infection est trop récente.

Pour les 2 autres truies C et D du même élevage, plus faiblement séropositives, les porcelets sont séronégatifs à 3 semaines. Deux hypothèses peuvent alors être émises : les IgG ont déjà pu être éliminées à cette date car aucune sérologie n'a été effectuée auparavant et deuxième éventualité, le colostrum n'a pas été correctement pris par les porcelets. Plusieurs explications ayant pour origine la truie, les porcelets ou l'environnement sont alors données : tétines inaccessibles ou non fonctionnelles, la trop grande taille des portées, la petite taille des porcelets moins compétitifs pour l'accès à la mamelle, la mauvaise conception des cages empêchant l'accès aux tétines, la température ambiante fraîche entraînant une léthargie des nouveaux-nés (ENGLISH, 1999). Par contre, ces porcelets deviennent séropositifs à partir de 8 semaines pour le porcelet issu de la truie C, ou 11 semaines pour celui issu de la truie D. Cette présence d'IgG signe un passage des salmonelles 8-10 jours auparavant, ce qui correspond au délai de production des anticorps endogènes après leur contamination.

Dans le second élevage, les porcelets reçoivent une forte quantité d'anticorps maternels mais ils semblent se contaminer entre 10 et 13 semaines donc plus tard que dans le premier élevage. Ces résultats sont à peu près équivalents à ceux enregistrés par NIELSEN et al (1997) qui a trouvé quelques séroconversions à partir de 7 semaines mais la plupart d'entre elles sont plus tardives. La séronégativité des porcs à 25 semaines peut s'expliquer par le fait que cette étude transversale est réalisée sur des lots de porcs différents d'un âge à l'autre. Or nous avons déjà constaté que les résultats sérologiques et bactériologiques sont très hétérogènes d'une bande à l'autre, une bande pouvant être positive et la suivante négative (FRAVALO et al, 1999). En effet, chaque bande possède une histoire qui lui est propre, en élevage elle rencontre des maladies et facteurs variés pouvant favoriser une complication salmonellaire, lors du transport les animaux peuvent subir un stress quelconque, dans les salles d'attente ou lors de l'abattage des contacts peuvent avoir lieu entre différentes bandes. L'importance respective de chacun de ces facteurs est en cours d'évaluation au Danemark grâce à une modélisation informatique basée sur l'ensemble des données disponibles (STARK et al, 1999).

CONCLUSION

Les deux systèmes de classification sérologiques, basés sur les pourcentages de sérums dans 4 catégories ou plus simplement la moyenne des DOC, nous permettront de classer les élevages, afin de rechercher les facteurs de risques associés aux élevages fortement positifs.

Ces résultats obtenus sur les porcelets sont utiles pour deux raisons. D'une part, ils peuvent nous permettre d'évaluer les risques de transmission verticale des salmonelles, en effet, si une truie transmet ses anticorps elle peut aussi excréter ses salmonelles et les transmettre aux porcelets. D'autre part, l'apparition des anticorps endogènes signe la contamination possible des porcelets entre 5 et 8 semaines, période à laquelle les animaux ne sont plus protégés par les anticorps maternels.

Dans nos études ultérieures les études cinétiques sur les anticorps seront poursuivies sur un plus grand nombre d'individus et les prises de sang seront plus rapprochées afin de confirmer la période de contamination la plus fréquente. De plus, une enquête sera réalisée, ainsi que des analyses bac-

tériologiques sur les fèces des truies et porcs, et sur les prélèvements d'environnement afin de préciser l'origine de cette contamination : verticale par les truies, horizontale par contact avec les autres porcs, le matériel, le bâtiment ou l'aliment. D'après DAHL et al (1997), la transmission verticale des salmonelles des truies à leur descendance est peu fréquente dans les troupeaux infectés sub-cliniques. Par contre, BERENDS et al (1996) assure l'importance de la contamination horizontale par les bâtiments contaminés et la probabilité de 90% de passage des salmonelles d'une case contaminée aux autres cases situées à proximité.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce aux subventions du Fond Européen d'Orientation et de Garantie Agricole dans le cadre de l'étude d'épidémiologie descriptive des salmonelles sur les porcs et de mise au point d'une méthode de dépistage sérologique.

Les auteurs remercient le personnel des animaleries pour les soins apportés aux animaux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAGER F., EMBORG H.D., SORENSEN L.L., HALGAARD C., JENSEN P.T., 1995. *Fleischwirtschaft*, 75-8, 1000-1001.
- BERENDS B.R., URLINGS H.A.P., SNIJDERS J.M.A., Van KNAPEN F., 1996. *Intern. J. of Food Microbiol.*, 30, 37-53.
- DAHL J., WINGSTRAND A., BAGGESEN D.L., NIELSEN B., 1997. *Vet. Record*, 140, 679-681.
- ENGLISH P.R., 1999. In " De J-2 à J+2 autour de la mise bas ". 59-71. 2èmes Rencontres Porcines Schering-Plough Vétérinaire éd., Levallois-Perret, 74 p.
- FRAVALO P., PROUX K., ÉVENO É. et al, 1999. In " Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork ". 33-36. BAHNSON P.B. éd., Urbana-Champaign, 381 p.
- GABERT J., SCHALCH B., GREIL B., SPERNER B., 1999. In " Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork ". 37-41. BAHNSON P.B. éd., Urbana-Champaign, 381 p.
- HANCOCK I.C., POXTON I.R., 1988. In " Bacterial cell surface techniques ". 91. Wiley-Interscience Publication éd., Great Britain.
- NEWBY T.J., STOKES C.R., BOURNE F.J., 1982. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 3, 67-94.
- NIELSEN B., BAGGESEN D.L., BAGER F., HAUGEGAARD J., LIND P., 1995. *Vet. Microbiol.*, 47, 205-218.
- NIELSEN J.P., ANDREASEN M., CARSTENSEN B., 1997. In " Proceedings of the 2nd International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork ". 251-253. NIELSEN S.B. et NIELSEN J.P. éd., Copenhagen, 288 p.
- PROUX K., FRAVALO P., BELOEIL P.A. et al, 1999. In " Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork ". 83-85. BAHNSON P.B. éd., Urbana-Champaign, 381 p.
- STARK K.D.C., DAHL J., DALSGAARD B. et al, 1999. In " Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork ". 375-378. BAHNSON P.B. éd., Urbana-Champaign, 381 p.
- STEGE H., CARSTENSEN B., CHRISTENSEN J. et al, 1997. In " Proceedings of the 2nd International Symposium on Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork ". 114-118. NIELSEN S.B. et NIELSEN J.P. éd., Copenhagen, 288 p.