HAL open science

Salmonella, de la plante au tube digestif : des recherches pour élaborer des stratégies de lutte

Isabelle Virlogeux-Payant, Anne-Christine Lalmanach, Catherine C. Beaumont, Heribert Hirt, Philippe Velge

To cite this version:

Isabelle Virlogeux-Payant, Anne-Christine Lalmanach, Catherine C. Beaumont, Heribert Hirt, Philippe Velge. Salmonella, de la plante au tube digestif : des recherches pour élaborer des stratégies de lutte. Innovations Agronomiques, 2012, 24, pp.35-48. hal-02653128

HAL Id: hal-02653128

https://hal.inrae.fr/hal-02653128

Submitted on 29 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Innovations Agronomiques 24 (2012), 35-48

Salmonella, de la plante au tube digestif : Des recherches pour élaborer des stratégies de lutte

I. Virlogeux-Payant [1], A.C. Lalmanach [1], C. Beaumont [2], H. Hirt [3], P. Velge [1]

[1] UMR 1282 Infectiologie Santé Publique, INRA, F-37380 Nouzilly
[2] UMR 83 Unité de Recherches Avicoles, INRA, F-37380 Nouzilly
[3] Unité de Recherche en Génomique Végétale, INRA - CNRS - Université d'Evry Val d'Essonne, Evry, France

Correspondance : ipayant@tours.inra.fr

Résumé

Les salmonelles sont des bactéries pathogènes responsables des fièvres typhoïde et paratyphoïde et de gastroentérites qui constituent un problème très important en santé publique dans le monde. Alors que dans les pays en voie de développement, l'eau est la principale source de contamination, dans les pays industrialisés, les aliments consommés crus ou peu cuits, en particulier les produits d'origine aviaire, constituent la source majeure de contamination humaine. Récemment, des végétaux ont également été incriminés. C'est grâce aux avancées réalisées sur la compréhension des mécanismes d'interaction entre les bactéries et leurs hôtes, notamment l'interaction des salmonelles avec les végétaux ou avec l'intestin des animaux que des méthodes peuvent être proposées pour lutter contre les infections à salmonelles. Ces interactions sont complexes et impliquent à la fois des facteurs de la bactérie et des facteurs de l'hôte. Les recherches menées chez les volailles permettent de proposer des méthodes de prophylaxie qui reposent sur la définition de mesures d'hygiène, le développement de vaccins ou de flores intestinales compétitives, mais aussi sur la sélection de lignées de volailles résistantes à l'infection ou au portage des salmonelles. Toutes ces approches visent à réduire la contamination des volailles afin de diminuer la contamination humaine.

Mots-clés : salmonelles, vaccins, flore compétitive, résistance génétique, hygiène, nouvelles cibles thérapeutiques, virulence, portage asymptomatique

Abstract : Researches developed to control *Salmonella* colonization in plants and chickens

Salmonella are the bacterial pathogens responsible for typhoid diseases and gastroenteritis which are of public health concern worldwide. Contaminated water is the main source of contamination in developing countries while raw or undercooked foods, especially those of avian origin, are mainly incriminated in industrialized countries. Recently, contaminated plants have also been involved. Thanks to scientific advances in the understanding of the bacterial/host interactions, in particular the interaction of *Salmonella* with the animal intestine or with plants, methods can be proposed to fight *Salmonella* infections. These bacterial/host interactions are complex, involving both bacterial and host factors. Studies that have been performed in poultry have helped to establish prophylactic methods based on hygiene measures, the development of vaccine or competitive flora, or the selection of lines resistant to *Salmonella* infection or carrier state. All of these approaches contribute to the reduction of the colonisation of poultry by *Salmonella* in order to reduce human contamination.

Keywords: *Salmonella*, vaccine, competitive flora, genetic resistance, hygiene, new therapeutic targets, virulence, asymptomatic carrier state

1. Les salmonelloses humaines

Les salmonelloses représentent toutes les maladies engendrées par les salmonelles. Chez l'homme, elles sont majoritairement de deux types : les gastro-entérites et les fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes. Les sérovars de *Salmonella* responsables de ces infections appartiennent très majoritairement à la sous-espèce *Salmonella enterica* subsp. *enterica.* Au sein de la sous-espèce *enterica,* on distingue des sérovars ubiquistes, tels que *Salmonella* Typhimurium (*S.* Typhimurium) ou *Salmonella* Enteritidis (*S.* Enteritidis), c'est-à-dire capables d'infecter un large spectre d'hôtes dont l'homme, et des sérotypes spécifiques strictement adaptés à un hôte, tel que *Salmonella* Typhi (*S.* Typhi) qui est strictement adapté à l'homme. Ces sérovars spécifiques d'hôtes sont souvent responsables d'infections systémiques généralement mortelles, alors que les sérovars ubiquistes sont responsables d'infections diverses en fonction de l'hôte. *S.* Enteritidis, et *S.* Typhimurium sont par exemple responsables de gastroentérites chez l'homme, d'une infection ressemblant à une fièvre typhoïde chez les rongeurs et d'une infection asymptomatique chez les volailles.

La fièvre typhoïde, due à une infection par *S.* Typhi, touche selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 21 millions de personnes chaque année. Les pays industrialisés sont peu concernés alors que la fièvre typhoïde est très répandue dans les pays en voie de développement en raison de mesures d'hygiène très insuffisantes, la maladie se transmettant par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés par les urines ou les selles de personnes infectées. Cette maladie est la forme la plus grave des salmonelloses. Elle se traduit par une septicémie (infection généralisée) en l'absence de traitement. Les symptômes incluent une forte fièvre, des maux de tête, une constipation ou une diarrhée et une hépatosplénomégalie. Le taux de létalité moyen est estimé à 10% même s'il peut atteindre 30% dans les régions endémiques comme c'est le cas en Asie par exemple. Grâce à une antibiothérapie adéquate, ce taux de létalité peut être réduit à 1%. L'émergence de souches résistantes voire multi-résistantes aux antibiotiques complique le traitement et augmente ainsi la gravité de la maladie et l'incidence des fièvres typhoïdes. Au Vietnam par exemple, 90% des souches de *S.* Typhi isolées de patients atteints de fièvre typhoïde sont résistantes à plusieurs antibiotiques. Les fièvres paratyphoïdes causées par les sérotypes *Salmonella* Paratyphi A, Paratyphi B ou Paratyphi C sont caractérisées par des symptômes similaires à ceux de la fièvre typhoïde mais moins sévères et un taux de mortalité plus faible. Les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont à déclaration obligatoire en France (Pang *et al*., 1998).

Chez l'homme, les gastroentérites à *Salmonella* sont, quant à elles, présentes partout dans le monde. Elles représentent une des causes principales de mortalité infantile dans les pays en voie de développement et constituent la 2ème cause derrière *Campylobacter,* de toxi-infections alimentaires en Europe et la première cause d'hospitalisation et de mortalité d'origine alimentaire (Anonymous, 2010). Le nombre total de gastroentérites à *Salmonella* est estimé dans le monde à 1,3 milliards parmi lesquelles 3 millions de personnes décèdent suite à l'infection (http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/salmonella-ent-eng.php). Ces salmonelloses ont un impact économique très important puisque l'Economic Research Service de l'United States Departement of Agriculture a estimé à 2,7 milliards de dollars le coût des salmonelloses aux Etats-Unis en 2010 pour un nombre de personnes infectées estimé à 1,4 million par les Centers for Disease Control and Prevention (http://webarchives.cdlib.org/sw1rf5mh0k/http://www.ers.usda.gov/Data/FoodbornelIlness/salm_Intro.asp). La contamination humaine se fait par la consommation d'aliments contaminés d'origine animale ou végétale.

Les principaux symptômes sont la fièvre, des douleurs abdominales, des nausées et une diarrhée parfois accompagnée de vomissements. Dans la plupart des cas, la maladie dure 3 à 7 jours et la plupart des malades guérissent sans traitement. Cependant, chez les personnes les plus sensibles comme les personnes âgées, les nourrissons et dans les cas où la bactérie rejoint la circulation sanguine, ne se limitant plus à une infection intestinale, une antibiothérapie peut être requise. Les

sérovars *S.* Typhimurium et *S.* Enteritidis sont les plus fréquemment incriminés. Ils représentent à eux seuls près de 80% des sérovars isolés de l'homme en Europe (Figure 1). Cependant, on assiste depuis quelques années à l'émergence d'autres sérovars tel que *Salmonella* Infantis dont l'incidence annuelle a augmenté d'un facteur 15 entre 2001 et 2009 et qui est désormais le sérotype le plus fréquemment isolé en Israël (Gal-Mor *et al*., 2010). Comme dans le cas des fièvres typhoïde et paratyphoïde, l'existence de souches multi-résistantes aux antibiotiques responsables de gastro-entérites aggrave le problème de santé publique que constituent les salmonelloses. En France, les salmonelloses, en tant que Toxi-Infection Alimentaire Collective (TIAC), sont à déclaration obligatoire.

Les salmonelloses constituent donc un problème très important en santé publique.

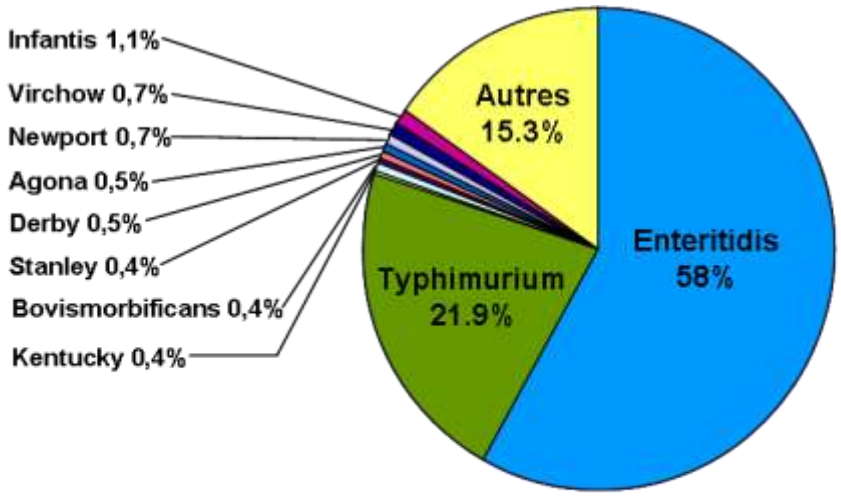

Figure 1 : Répartition des 10 sérovars les plus fréquemment isolés chez l'homme en Europe en 2008
D'après (1)

2. Les aliments sources de contamination

La contamination de l'homme se fait principalement par voie orale suite à l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Si dans les pays en voie de développement l'eau est une source majeure de contamination en raison des mesures d'hygiène très insuffisantes, les aliments consommés crus ou peu cuits sont la source majeure de contamination dans les pays industrialisés. En Europe, les œufs, les produits à base d'œufs (ex : mayonnaise) et les viandes de volailles contaminés par *S.* Enteritidis sont les aliments les plus souvent incriminés lors de TIAC à *Salmonella.* La viande de porc contaminée par le sérovar *S.* Typhimurium arrive en 2ème position (Anonymous, 2010). A noter également que l'émergence de *S.* Infantis en Israel dans des cas d'infections humaines depuis 2007 est corrélée à une fréquence plus élevée d'isolement de ce sérovar chez les volailles dans ce pays depuis 2006, espèce pour laquelle il est devenu depuis 2007 le sérovar le plus fréquemment isolé (Gal-Mor *et al.,* 2010). A l'heure où les procédés de désinfection des ateliers de transformation sont de plus en plus performants, les animaux porteurs asymptomatiques, c'est-à-dire infectés par des salmonelles mais ne présentant aucun symptôme, sont une des principales sources de contamination microbienne des aliments. L'intestin est, chez ces animaux, le lieu privilégié de colonisation et de persistance des salmonelles. Ces infections sont communes chez les animaux, notamment les volailles et les porcs qui peuvent excréter les bactéries dans l'environnement d'élevage, favorisant ainsi la contamination des animaux sains, mais aussi des abattoirs et des ateliers agroalimentaires. La détection de ces animaux est d'autant plus

difficile qu'ils ne présentent aucun symptôme et que cette détection se fait en aval de l'élevage soit au niveau de la chaîne de production/transformation soit après commercialisation du produit entraînant des pertes économiques importantes. Réduire la contamination des animaux et notamment des volailles qui constituent la première source de contamination humaine par les salmonelles est donc essentielle.

Récemment, les salmonelles ont été impliquées dans plusieurs épidémies à travers le monde et dans des cas sporadiques de salmonellose suite à la consommation de légumes, de fruits, d'herbes, d'épices ou de condiments crus. On peut citer notamment une épidémie à *Salmonella* Saint-Paul qui a rendu malade au moins 1442 personnes dans 43 états aux Etats-Unis et au Canada dont 286 ont été hospitalisées et qui a fait 2 morts entre avril et août 2008. Les aliments incriminés étaient des poivrons et des tomates (Jungk *et al.,* 2008; Taylor *et al.,* 2010).
Des épidémies ont également été rapportées en Australie et en Finlande suite à la consommation de melons cantaloups et de laitues respectivement (Munnoch *et al*., 2009; Takkinen *et al*., 2005). Si un nombre croissant d'épidémies associées à des végétaux sont rapportées ces dernières années, très peu de fruits et légumes commercialisés semblent contaminés (Lahuerta *et al.,* 2011).
La contamination des végétaux se fait à partir d'une source environnementale (épandages, ruissellements), animale (fèces d'animaux de rente ou domestiques, insectes) ou humaine (employés excréteurs) au moment de la culture, de la récolte ou de la manipulation des végétaux avant leur consommation (Beuchat et Ryu, 1997). Lors de la culture, c'est souvent pendant la fertilisation du sol avec des engrais d'origine animale ou l'irrigation avec des eaux usées contaminées que les bactéries entrent en contact avec la plante. La plupart du temps, il s'agit d'une contamination de surface. Cependant, des travaux récents montrent que les salmonelles sont capables d'infecter et de se multiplier dans le mésophylle de certains végétaux comme la plante modèle *Arabidopsis thaliana* ou encore la salade (Kroupitski *et al*., 2009 ; Schikora et al., 2008).
Ces résultats changent notre perception des risques liés à *Salmonella* et pourraient avoir des conséquences importantes sur les pratiques agricoles et la sécurité sanitaire des aliments dans les années à venir, d'autant plus que les salmonelles demeurent toujours virulentes pour les animaux après infection des plantes (Schikora *et al*., 2011).

3. Comprendre pour mieux lutter

La maîtrise des risques de contamination humaine requiert des recherches à la fois fondamentales et appliquées. Les recherches fondamentales permettent de comprendre les moyens de défense de l'hôte (animal ou plante) et les facteurs de virulence bactériens impliqués dans l'infection de l'hôte.

De très nombreux travaux ont contribué à la compréhension des mécanismes d'interaction des salmonelles avec leurs hôtes animaux. Sont présentés dans ce chapitre uniquement les travaux réalisés pour comprendre les mécanismes du portage asymptomatique des salmonelles chez les volailles qui constituent la 1ère source de contamination humaine. C'est sur la base de ces données qu'ont pu être développés des vaccins, des traitements ou la sélection d'animaux résistants (Figure 2 ; *cf* Les méthodes de prévention).

En contrepartie, peu de travaux décrivent à l'heure actuelle les mécanismes d'interaction salmonelle/plantes. Un bilan des connaissances est présenté.

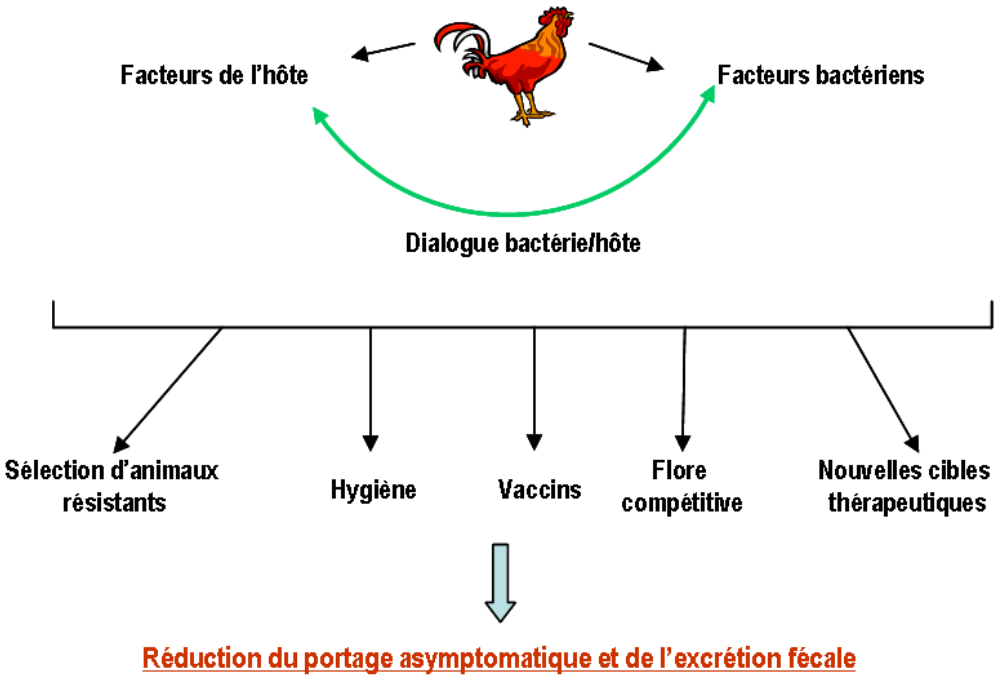

Figure 2 : Stratégies de recherche visant à lutter contre le portage asymptomatique des salmonelles chez les volailles
La compréhension des mécanismes de virulence et de portage asymptomatique chez les volailles permet de développer ensuite des méthodes de prévention adaptées à la réduction du portage et de l'excrétion fécale des bactéries

3.1. Compréhension des mécanismes d'interaction salmonelles/volailles

3.1.1. Développement de modèles expérimentaux pertinents

Dans les élevages, les volailles s'infectent par voie orale et l'intestin est le lieu privilégié de colonisation puis de persistance des salmonelles. On assiste également à une colonisation transitoire d'organes systémiques comme la rate et le foie. Dans l'intestin et plus particulièrement les caeca qui sont deux « sacs » présents dans la partie la plus distale de l'intestin grêle, les bactéries vont pouvoir persister pendant plusieurs semaines à un niveau très élevé. Cette persistance caecale est accompagnée dans la majorité des cas d'une excrétion forte des bactéries dans l'environnement via les fientes contaminées.

Pour étudier les mécanismes du portage asymptomatique et développer des méthodes de prévention de l'infection des volailles, des modèles expérimentaux ont été développés chez le poussin car c'est très jeune que les animaux sont le plus souvent contaminés dans les élevages. La très grande majorité des travaux réalisés à l'INRA utilisent un modèle dans lequel les animaux sont inoculés à une semaine d'âge par voie orale qui reproduit l'infection observée dans les élevages. Aucune mortalité ni aucun symptôme ne sont observés et les bactéries persistent dans les caeca pendant plusieurs semaines, persistance accompagnée d'une forte excrétion fécale voisine d'un million de bactéries par gramme de fiente (Duchet-Suchaux *et al*., 1995; Duchet-Suchaux *et al*., 1997). Des modèles expérimentaux ont également été développés pour reproduire l'infection observée chez les poules pondeuses. Dans ce modèle, les poules sont inoculées au pic de ponte par voie orale et le niveau de colonisation de l'intestin et des organes systémiques par les bactéries peut être évalué. Ce modèle a l'avantage de permettre l'étude des mécanismes de colonisation de l'appareil génital des volailles par les salmonelles (Protais *et al.,* 1996).

3.1.2. Les facteurs de l'hôte

Identifier les facteurs de l'hôte importants pour contrer le portage asymptomatique des salmonelles notamment ceux de la réponse immunitaire innée, sollicitée en première défense par l'hôte, est essentielle pour connaître les cibles immunitaires à stimuler lorsqu'on développe des vaccins ou pour proposer de nouvelles approches pour lutter contre les salmonelles. Les cellules de l'immunité impliquées dans la réponse à une infection par les salmonelles sont les macrophages, les neutrophiles et les cellules productrices d'anticorps principalement.

De nombreux travaux ont eu pour but de caractériser le répertoire des molécules de l'immunité innée chez le poulet - ce répertoire n'étant pas totalement identique à celui des mammifères - et d'étudier son évolution au cours de la réponse immune à l'infection de poulets par les salmonelles (Boyd *et al*., 2007; Gibson *et al.,* 2012a; Gibson *et al.,* 2012b; Setta *et al*., 2012a; Setta *et al.,* 2012b; Swaggerty *et al.,* 2006; Wigley *et al*., 2006). Nos travaux se sont focalisés sur la comparaison de lignées de poulet résistante ou sensible au portage. Nous avons ainsi observé que la résistance au portage est corrélée avec un taux de lymphocytes plus élevé avant infection ainsi qu'une meilleure capacité à synthétiser certaines chimiokines produites par les cellules de l'intestin, cytokines pro-inflammatoires, ou peptides antimicrobiens comme les β-défensines 1 et 2 (Chausse *et al.,* 2011 ; Sadeyen *et al*., 2006 ; Sadeyen *et al*., 2004). On peut citer notamment l''IFN-γ qui est une molécule stimulant l'activité bactéricide des cellules phagocytaires qui est plus fortement exprimé chez des poussins résistants au portage que chez des poussins sensibles (Sadeyen *et al*., 2004). Les β-défensines 1 et 2 quant à elles, sont des peptides qui ont une activité anti-microbienne et qui peuvent être produites par les cellules immunitaires et les cellules épithéliales intestinales aviaires (Derache *et al.,* 2009). Leur expression est accrue chez les poules adultes qui présentent une colonisation bactérienne réduite dans l'intestin (Sadeyen *et al*., 2006). L'expression de ces molécules de l'immunité innée chez les animaux résistants est soit induite par les salmonelles au cours de l'infection soit présente indépendamment de toute infection. Si la réponse immunitaire innée semble pouvoir être corrélée à la résistance au portage des salmonelles, au moins pour certaines molécules, la réponse immunitaire adaptative (anticorps) est cependant reliée au nombre de bactéries colonisant l'intestin des poussins. Ceci montre ainsi qu'une réponse immunitaire importante n'est pas obligatoirement une réponse efficace pour contrôler les infections à salmonelles (Beal *et al.,* 2006; Beal and Smith, 2007; Berthelot-Hérault *et al*., 2003).

3.1.3. Les facteurs bactériens

L'étude des facteurs bactériens impliqués dans le portage asymptomatique chez les volailles est compliquée du fait de l'absence de modèles cellulaires adaptés. Il a néanmoins été possible d'identifier un certain nombre de facteurs bactériens qui jouent un rôle dans ce portage en utilisant les modèles expérimentaux disponibles. Ont ainsi pu être mis en évidence le rôle dans la colonisation intestinale du lipopolysaccharide (LPS), qui est un des constituants majeur de la paroi des bactéries, des flagelles qui confèrent la mobilité à *Salmonella*, et du T3SS-2, un appareil de sécrétion bactérien essentiel à la virulence des salmonelles et notamment à leur multiplication intracellulaire (Allen-Vercoe et al., 1999; Allen-Vercoe and Woodward, 1999; Bohez *et al.,* 2007; Morgan *et al.,* 2004; Turner *et al*., 1998). Nous avons également montré que des gènes présents sur le plasmide de virulence sont importants pour la persistance des bactéries dans les caeca et que la protéine TolC qui est requise in vitro pour permettre l'entrée optimale des bactéries dans les cellules joue un rôle dans la colonisation intestinale des poussins (Baucheron *et al*., 2005; Virlogeux-Payant *et al*., 2008; Virlogeux-Payant *et al*., 2003). De même, des gènes impliqués dans l'adhérence aux cellules, dans la mobilité et dans le maintien de l'intégrité de la paroi des bactéries sont également importants pour la colonisation de l'appareil reproducteur des poules et la contamination des oeufs (Gantois *et al.,* 2008). L'ensemble de ces travaux suggère que de nombreux facteurs bactériens sont importants pour la colonisation et la

persistance des salmonelles chez les volailles. Certains de ces facteurs pourront dans l'avenir devenir des cibles pour lutter contre le portage.

A côté de ces travaux réalisés chez les volailles, des études sur des modèles animaux dans lesquels les salmonelles sont pathogènes, tels que les modèles murins, ont permis de caractériser les facteurs bactériens cruciaux pour la virulence des salmonelles. Parmi ceux-là, on peut citer le LPS et le T3SS-2 qui sont également importants pour l'établissement d'un portage chez les volailles, comme nous l'avons vu précédemment, mais aussi le T3SS-1 qui est impliqué dans l'entrée dans les cellules. De plus, nous avons montré le rôle capital de la protéine BamB dans la virulence de la bactérie puisqu'elle est impliquée dans la construction de sa paroi qui lui sert à se protéger, et dans le contrôle des facteurs de virulence majeurs : deux fonctions essentielles pour une bactérie pathogène (Bayston and Cohen, 1990; Fardini *et al*., 2007; Fardini *et al.,* 2009 ; Shea *et al*., 1996). Ainsi, des salmonelles mutées devenues incapables d'exprimer ces facteurs sont très atténuées pour leur virulence et sont donc des candidats pour le développement de vaccins puisqu'il est important que les vaccins développés soient le moins virulents possible pour l'homme et les animaux.

Jusqu'à très récemment, on pensait que les salmonelles utilisaient uniquement l'appareil de sécrétion, le T3SS-1, pour entrer dans les cellules de l'hôte. De nouveaux mécanismes d'entrée ont été toutefois été identifiés et les salmonelles semblent utiliser des mécanismes différents selon le type de cellules (épithéliales intestinales ou hépatiques, fibroblastes, …) et selon l'origine animale de ces cellules (Rosselin *et al*., 2010 ; Rosselin *et al*., 2011 ; Velge *et al*., 2012). Ces découvertes ouvrent de nouvelles pistes pour identifier des cibles pour lutter contre les infections à salmonelles tels que la recherche d'antagonistes de récepteurs de ces mécanismes d'entrée.

3.2. Compréhension des mécanismes d'interaction salmonelles/plantes

Les capacités des salmonelles à coloniser les plantes varient en fonction des sérovars, de l'espèce végétale infectée et de l'époque de l'année (Berger *et al*., 2011; Golberg *et al.,* 2011). Les serovars *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium et *S.* Senftenberg adhèrent fortement aux feuilles tandis que les sérotypes *S.* Arizona, ou *S.* Heidelberg n'adhèrent pas.

Parmi les végétaux testés, les laitues semblent particulièrement sensibles et l'été est la période la plus favorable à la colonisation des végétaux par les salmonelles. Lors de l'infection des plantes, l'adhérence des bactéries aux feuilles implique plusieurs structures présentes à la surface des bactéries : certains fimbriae, le LPS ou encore les flagelles (Barak *et al.,* 2005; Barak *et al*., 2007). Les bactéries sont également capables de pénétrer et de se multiplier dans les plantes. L'entrée se produit en présence de lumière et se fait au niveau des stomates (Golberg *et al*., 2011; Kroupitski *et al.,* 2009). Des bactéries mortes ou immobiles en sont incapables, démontrant ainsi le rôle important de facteurs bactériens dans ce processus. Une fois la paroi des végétaux franchie, les bactéries se retrouvent alors dans l'espace situé entre cette paroi et les cellules végétales où elles vont pouvoir se multiplier (Kroupitski *et al*., 2009; Schikora *et al*., 2008). Toutefois, deux études décrivent une localisation intracellulaire possible des salmonelles (Schikora *et al.,* 2008; Shirron and Yaron, 2011). Chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana* infectée au niveau des feuilles, on observe l'apparition d'un flétrissement, d'une chlorose, voir la mort de la feuille (Schikora *et al.,* 2008).

Une infection à partir des racines est également possible. Elle peut alors se transmettre à la plante entière (Cooley *et al.,* 2003; Schikora *et al.,* 2008). En réponse à l'infection, les plantes mettent en place une réponse immunitaire innée que les salmonelles semblent capables d'inhiber en utilisant leurs appareils de sécrétion, les T3SS (Schikora *et al*., 2011). En retour, la plante développe une réponse basée sur des protéines de résistance capables de reconnaitre les protéines sécrétées par ces T3SS (Schikora *et al.,* 2011; Shirron and Yaron, 2011; Ustun *et al*., 2012).

4. Les méthodes de prévention des contaminations chez les volailles

La prévention efficace des risques de contamination humaine par des aliments d'origine aviaire contaminés par les salmonelles repose sur la mise en place de moyens de lutte à différents niveaux. C'est la combinaison de plusieurs de ces mesures qui permettra d'envisager une éradication des salmonelloses dans les élevages. L'application de règles d'hygiène tout au long de la filière, de l'élevage à la commercialisation et jusqu'au consommateur, est primordiale. De plus, une désinfection chimique des carcasses n'étant pas autorisée au sein de l'Union européenne, il est primordial que les animaux arrivant à l'abattoir soient indemnes de salmonelles. Une lutte contre les salmonelles chez le poulet doit dès lors être impérativement mise en place dès l'élevage. Les retombées des travaux de recherche fondamentaux réalisés, notamment à l'INRA, ont permis ou permettront le développement de vaccins, l'utilisation de flores intestinales bloquant l'implantation des salmonelles, et la sélection d'animaux résistants (Figure 3).

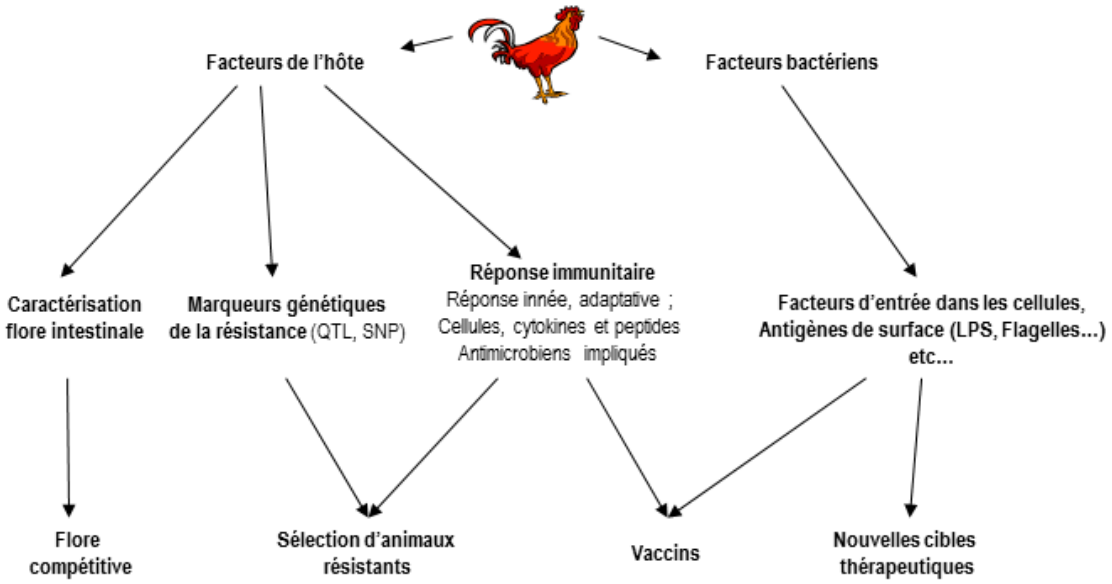

Figure 3 : Avancées en recherche pour lutter contre le portage asymptomatique des salmonelles chez les volailles

4.1. Les mesures d'hygiène

La réduction de la prévalence des infections humaines repose sur la mise en place de mesures d'hygiène visant à empêcher l'entrée des salmonelles dans les élevages via les animaux eux-mêmes, l'aliment ou l'environnement de l'élevage notamment les rongeurs et les oiseaux sauvages, puis à limiter leur transmission au sein du troupeau en respectant la conduite en bandes et la conduite des locaux en tout plein/tout vide associées à un nettoyage et une désinfection des salles entre bandes (Velge *et al.,* 2005). L'utilisation des antibiotiques est par contre désormais très réglementée. Elle est notamment interdite en tant que facteurs de croissance. L'objectif de telles mesures étant de réduire l'apparition de nouvelles résistances aux antibiotiques et l'augmentation des niveaux de résistances des souches (Anonymous, 2006).

Ces mesures de prophylaxie, associant l'élimination des sources de contamination et le dépistage des salmonelles à une approche vaccinale parfois mais aussi à l'abattage des lots de volailles contaminés, ont été particulièrement efficaces en Europe. En effet, une diminution très nette de la contamination des

élevages et en conséquence du nombre de cas humains dus aux sérovars majeurs a été observée depuis les années 2000 dans les pays appliquant les mesures d'hygiène et de contrôle avec rigueur. C'est notamment le cas des pays scandinaves qui comptaient en 2008 moins de 1% d'élevages de poulets de chair infectés. Dans d'autres pays européens où ces mesures n'ont pas été prises en compte de manière aussi rigoureuse, les taux d'infection sont nettement supérieurs comme en Espagne (14,9%) et en Hongrie (85%). Des pays comme la Thaïlande qui ont développé très rapidement le secteur avicole reconnaissent l'importance du problème des infections par *Salmonella* et sont en train de développer des stratégies de surveillance et de contrôle de *Salmonella* et *Campylobacter,* les deux pathogènes majeurs en santé publique isolés chez les volailles (Barrow et al., 2012).

4.2. La sélection d'animaux résistants

La sélection d'animaux résistants a débuté dans les années 30, lorsque les salmonelloses étaient responsables de pertes animales importantes dans les élevages suite à la contamination notamment de poules pondeuses par *Salmonella* Gallinarum ou *Salmonella* Pullorum. Après la maîtrise des maladies causées par ces sérovars, c'est la recrudescence des cas humains de salmonelloses dans les années 80 qui a relancé l'intérêt porté à la sélection d'animaux résistants, c'est-à-dire moins susceptibles à une infection par les salmonelles et capables d'éliminer ces bactéries le plus rapidement possible.

Des différences de résistance entre lignées de poulets ont tout d'abord été démontrées en terme de mortalité et de portage intestinal des salmonelles chez le poussin et chez l'adulte (Bumstead and Barrow, 1988; Duchet-Suchaux *et al*., 1997; Protais *et al*., 1996) : l'héritabilité de la résistance au portage, c'est-à-dire le paramètre qui permet d'évaluer si une sélection d'animaux est possible ou non, a été estimée à 0,20 chez les poussins et à plus de 0,35 chez la poule pondeuse (Beaumont *et al.,* 1999; Berthelot *et al*., 1998). Ces valeurs d'héritabilité sont modérées mais classiquement retrouvées lorsqu'on évalue les capacités de résistance à une maladie ; elles permettent d'envisager une sélection d'animaux résistants. Suite à ces résultats prometteurs, une sélection divergente, à partir d'une lignée commerciale, sur le niveau de portage des salmonelles chez le poussin et chez l'adulte a été mise en place en collaboration entre l'INRA et l'ANSES. Ces travaux ont confirmé la possibilité d'améliorer la résistance aux salmonelles de lignées commerciales. Toutefois cette méthode de sélection reste très lourde puisqu'elle nécessite l'abattage des animaux testés et la sélection sur les animaux apparentés. Afin de réaliser une sélection directe assistée par marqueurs pour obtenir des animaux résistants aux salmonelles, nous avons recherché des zones génétiques (ou QTL (Quantitative Trait Loci)) liées à la résistance au portage ou testé le rôle de gènes candidats. Des analyses croisées entre les modèles de portage et d'infection aigüe montrent que certains QTL contrôleraient la résistance aux *Salmonella* dans ces deux modèles (Thanh-Son *et al*., 2012). A l'inverse, d'autres QTL auraient un effet inverse entre le jeune et l'adulte puisque l'expérience montre que la sélection d'animaux résistants chez la poule pourrait réduire la résistance des poussins (Beaumont *et al*., 2009).

4.3. Les vaccins

Le vaccin idéal pour réduire le portage asymptomatique des salmonelles chez les volailles doit assurer une protection efficace contre la colonisation intestinale et systémique des volailles et contre l'infection des œufs. Il doit également permettre de réduire l'excrétion des salmonelles via les fèces dans l'environnement et pouvoir être différencié des souches de salmonelles virulentes susceptibles d'infecter les troupeaux. Enfin, il doit être le moins pathogène possible pour l'homme et les animaux et avoir un bon rapport coût/efficacité. De plus, il est souhaitable qu'il protège contre plusieurs sérovars.

Différents vaccins ont été testés en recherche : des vaccins tués, des vaccins vivants atténués et des vaccins sous-unités. Dans la plupart des cas, une protection des volailles a été observée mais le niveau de protection est variable, les vaccins vivants atténués conférant une protection supérieure aux vaccins

tués. En effet, en plus de leur capacité à induire une réponse immunitaire protectrice, ils colonisent l'intestin des poussins empêchant ainsi la colonisation d'une souche de salmonelle virulente présente dans l'environnement de l'élevage : cette propriété est appelée l'inhibition de colonisation ou effet de barrière (Mastroeni *et al*., 2001). Un inconvénient majeur de tous les vaccins actuels est qu'ils ne protègent généralement que contre le sérovar à partir duquel ils ont été produits et ne protègent pas contre les autres sérovars de salmonelles. Par exemple, un vaccin dirigé contre *S.* Enteritidis protège peu ou pas les animaux d'une infection à *S.* Typhimurium (Van Immerseel *et al*., 2005). Ceci est lié au fait que les antigènes protecteurs majeurs de *Salmonella* sont les antigènes liés à la paroi (antigène O) et au flagelle (antigène H) qui diffèrent entre les sérovars de *Salmonella*.

Certains vaccins sont commercialisés dont un vaccin combiné dirigé vis-à-vis de *S.* Enteritidis et *S.* Typhimurium (vaccin tué) et des vaccins atténués dont la survie requiert la présence de certains métabolites (*web.oie.int/.../Chapitre%20final05%202.10.3_Salmonelloses)*. Ils sont utilisés dans la filière ponte et dans la filière reproducteurs. Leur utilisation n'est pas pertinente dans le cas des poulets de chair en raison des cycles de production courts ne permettant pas l'acquisition d'une immunité active. Ces vaccins ont permis de réduire le portage des salmonelles chez les volailles et ont contribué, avec les mesures d'hygiène, à la réduction de l'incidence des salmonelloses chez l'homme.

4.4. Les flores compétitives

L'inhibition de colonisation n'est pas une propriété retrouvée exclusivement avec les vaccins vivants atténués. L'administration par voie orale d'une flore intestinale d'un animal adulte à des poussins les protège des infections par des bactéries pathogènes telles que les salmonelles. En effet, l'absence de flore intestinale à la naissance les rend plus sensibles aux infections (Lafont *et al*., 1983; Nurmi and Rantala, 1973). Cependant, la composition de ces flores qui contiennent plusieurs centaines de genres bactériens différents n'est pas définie et leur utilisation est donc interdite par de nombreux pays en raison des difficultés à contrôler la qualité de ces flores.

Les tentatives de développer des flores de composition définie n'ont pas été très concluantes, les niveaux de protection étant plus faibles (Impey *et al*., 1982; Mead, 2000). Néanmoins, certains mélanges définis de bactéries aérobies et/ou anaérobies sont disponibles sur le marché. L'avènement des techniques de génétique à haut débit ouvre la possibilité de comparer la composition de la flore intestinale de volailles résistantes ou sensibles au portage des salmonelles et permettra donc peut-être dans les années à venir de développer des flores de composition définie protectrices. Une autre voie d'exploration est le développement de probiotiques (des microorganismes pouvant exercer une activité bénéfique sur la santé de l'hôte) doués de capacités d'inhibition de colonisation et capables de stimuler la réponse immunitaire innée (Castillo *et al*., 2011).

Conclusion

Les recherches développées depuis un demi-siècle ont largement contribué à réduire la contamination humaine par les salmonelles (Figure 3). Ainsi grâce aux mesures prises en Europe et surtout dans la filière avicole, le nombre de cas humains a presque diminué de moitié sur une période de cinq ans (de 196 000 en 2004 à 108 000 en 2009). Néanmoins, le nombre de cas de fièvres typhoïde ou paratyphoïde et de gastroentérites à salmonelles demeure toujours très élevé et induit des pertes économiques très importantes chaque année dans le monde. Il est donc nécessaire de poursuivre ces recherches. Dans le cas des fièvres typhoïde et paratyphoïde, l'avenir est au développement de nouveaux vaccins chez l'homme, plus efficaces que ceux commercialisés à l'heure actuelle et peu coûteux pour une utilisation dans les pays en voie de développement, qu'il faudra continuer à associer à la mise en place de mesures d'hygiène collective. Dans les pays industrialisés, réduire la contamination des animaux porteurs asymptomatiques qui sont la source principale de contamination humaine est

essentiel en combinant les différentes stratégies de prévention que sont les mesures d'hygiène, la vaccination, la sélection d'animaux résistants et l'utilisation de flores compétitives, aucune de ces stratégies n'étant suffisante à elle seule. L'une des stratégies de choix sera basée sur l'utilisation combinée de flores définies ayant des propriétés de stimulation de la réponse immunitaire innée de manière aspécifique et de vaccins atténués conférant une protection spécifique contre les salmonelles chez des animaux présentant une résistance à l'infection. Les recherches futures doivent donc se focaliser sur l'identification de marqueurs pour faciliter la sélection d'animaux, la caractérisation de flores intestinales de volailles, l'identification et la caractérisation de facteurs bactériens d'intérêt vaccinal et l'étude de leurs propriétés immuno-modulatrices et protectrices.

Références bibliographiques

Anonymous, 2006. Commission Regulation (EC) No 1177/2006 of 1 August 2006 implementing Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council as regards requirements for the use of specific control methods in the framework of the national programmes for the control of *Salmonella* in poultry (Text with EEA relevance). Journal officiel de l'Union européenne L212, 3-5.

Anonymous, 2010. EFSA, The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008. The EFSA Journal 1496.

Allen-Vercoe E., Sayers A.R. and Woodward, M.J., 1999. Virulence of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis aflagellate and afimbriate mutants in a day-old chick model. Epidemiol Infect 122, 395-402.

Allen-Vercoe E. and Woodward M.J., 1999. The role of flagella, but not fimbriae, in the adherence of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis to chick gut explant. J Med Microbiol 48, 771-780.

Barak J.D., Gorski L., Naraghi-Arani P. and Charkowski A.O., 2005. *Salmonella enterica* virulence genes are required for bacterial attachment to plant tissue. Appl Environ Microbiol 71, 5685-5691.

Barak J.D., Jahn C.E., Gibson D.L. and Charkowski A.O., 2007. The role of cellulose and O-antigen capsule in the colonization of plants by *Salmonella enterica*. Mol Plant Microbe Interact 20, 1083-1091.

Barrow P., Jones M.A., Smith A.L. and Wigley P., 2012. The long view: *Salmonella* - the last forty years. Avian Pathol 41, 413-420.

Baucheron S., Mouline C., Praud K., Chaslus-Dancla E. and Cloeckaert A., 2005. TolC but not AcrB is essential for multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium colonization of chicks. J Antimicrob Chemother 55, 707-712.

Bayston K.F. and Cohen J., 1990. Bacterial endotoxin and current concepts in the diagnosis and treatment of endotoxaemia. J Med Microbiol 31, 73-83.

Beal R.K., Powers C., Davison T.F., Barrow P.A. and Smith A.L., 2006. Clearance of enteric *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in chickens is independent of B-cell function. Infect Immun 74, 1442-1444.

Beal R.K. and Smith, A.L., 2007. Antibody response to *Salmonella*: its induction and role in protection against avian enteric salmonellosis. Expert Rev Anti Infect Ther 5, 873-881.

Beaumont C., Chapuis H., Protais J., Sellier N., Menanteau P., Fravalo P. and Velge P., 2009. Resistance to Salmonella carrier state: selection may be efficient but response depends on animal's age. Genet Res (Camb) 91, 161-169.

Beaumont C., Protais J., Guillot J.F., Colin P. and Proux K.,1999. Genetic resistance to mortality of day-old chicks and carrier-state of hens after inoculation with *Salmonella* Enteritidis. Avian Pathol 28, 131-135.

Berger C.N., Brown D.J., Shaw R.K., Minuzzi F., Feys B. and Frankel G., 2011. *Salmonella enterica* strains belonging to O serogroup 1,3,19 induce chlorosis and wilting of *Arabidopsis thaliana* leaves. Environ Microbiol 13, 1299-1308.

Berthelot-Hérault F., Mompart F., Zygmunt M.S., Dubray G. and Duchet-Suchaux M., 2003. Antibody responses in the serum and gut of chicken lines differing in cecal carriage of *Salmonella* Enteritidis. Vet Immunol Immunopathol 96, 43-52.

Berthelot F., Beaumont C., Mompart F., Girard-Santosuosso O., Pardon P. and Duchet-Suchaux M., 1998. Estimated heritability of the resistance to cecal carrier state of *Salmonella* Enteritidis in chickens. Poult Sci 77, 797-801.

Beuchat L.R.and Ryu J.H., 1997. Produce handling and processing practices. Emerg Infect Dis 3, 459-465.

Bohez L., Ducatelle R., Pasmans F., Haesebrouck F. and Van Immerseel F., 2007. Long-term colonisation-inhibition studies to protect broilers against colonisation with *Salmonella* Enteritidis, using *Salmonella* Pathogenicity Island 1 and 2 mutants. Vaccine 25, 4235-4243.

Boyd A., Philbin V.J. and Smith A.L., 2007. Conserved and distinct aspects of the avian Toll-like receptor (TLR) system: implications for transmission and control of bird-borne zoonoses. Biochem Soc Trans 35, 1504-1507.

Bumstead N. and Barrow P.A., 1988. Genetics of resistance to *Salmonella* Typhimurium in newly hatched chicks. Br Poult Sci 29, 521-529.

Castillo N., Perdigon G. and de Moreno de Leblanc A., 2011. Oral administration of a probiotic *Lactobacillus* modulates cytokine production and TLR expression improving the immune response against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in mice. BMC Microbiol 3, 177.

Chausse A.M., Grepinet O., Bottreau E., Le Vern Y., Menanteau P., Trotereau J., Robert V., Wu Z., Kerboeuf D., Beaumont C.*, et al.*, 2011. Expression of Toll-like receptor 4 and downstream effectors in selected cecal cell subpopulations of chicks resistant or susceptible to *Salmonella* carrier state. Infect Immun 79, 3445-3454.

Cooley M.B., Miller W.G. and Mandrell R.E., 2003. Colonization of Arabidopsis thaliana with *Salmonella enterica* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and competition by *Enterobacter asburiae*. Appl Environ Microbiol 69, 4915-4926.

Derache C., Esnault E., Bonsergent C., Le Vern Y., Quere P. and Lalmanach A.C., 2009. Differential modulation of beta-defensin gene expression by *Salmonella* Enteritidis in intestinal epithelial cells from resistant and susceptible chicken inbred lines. Dev Comp Immunol 33, 959-966.

Duchet-Suchaux M., Lechopier P., Marly J., Bernardet P., Delaunay R. and Pardon P., 1995. Quantification of experimental *Salmonella* Enteritidis carrier state in B13 leghorn chicks. Avian Dis 39, 796-803.

Duchet-Suchaux M., Mompart F., Berthelot F., Beaumont C., Lechopier P. and Pardon P., 1997. Differences in frequency, level, and duration of cecal carriage between four outbred chicken lines infected orally with *Salmonella* Enteritidis. Avian Dis 41, 559-567.

Fardini Y., Chettab K., Grepinet O., Rochereau S., Trotereau J., Harvey P., Amy M., Bottreau E., Bumstead N., Barrow P.A. *et al.*, 2007. The YfgL lipoprotein is essential for Type III secretion system expression and virulence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. Infect Immun 75, 358-370.

Fardini Y., Trotereau J., Bottreau E., Souchard C., Velge P. and Virlogeux-Payant I., 2009. Investigation of the role of the BAM complex and SurA chaperone in outer-membrane protein biogenesis and type III secretion system expression in *Salmonella*. Microbiology 155, 1613-1622.

Gal-Mor O., Valinsky L., Weinberger M., Guy S., Jaffe J., Schorr Y.I., Raisfeld A., Agmon V. and Nissan I., 2010. Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Infantis, Israel. Emerg Infect Dis [serial on the Internet] *http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/16/11/10-0100.htm*.

Gantois I., Ducatelle R., Pasmans F., Haesebrouck F. and Van Immerseel F., 2008. Salmonella enterica serovar Enteritidis genes induced during oviduct colonization and egg contamination in laying hens. Appl Environ Microbiol 74, 6616-6622.

Gibson M.S., Fife M., Bird S., Salmon N. and Kaiser P., 2012a. Identification, cloning, and functional characterization of the IL-1 receptor antagonist in the chicken reveal important differences between the chicken and mammals. J Immunol 189, 539-550.

Gibson M.S., Salmon N., Bird S., Kaiser P. and Fife M., 2012b. Identification, cloning and characterisation of interleukin-1F5 (IL-36RN) in the chicken. Dev Comp Immunol 38, 136-147.

Golberg D., Kroupitski Y., Belausov E., Pinto R. and Sela S., 2011. *Salmonella* Typhimurium internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. Int J Food Microbiol 145, 250-257.

Impey C.S., Mead G.C. and George S.M., 1982. Competitive exclusion of *Salmonellas* from the chick caecum using a defined mixture of bacterial isolates from the caecal microflora of an adult bird. J Hyg (Lond) 89, 479-490.

Jungk J., Baumbach J. and al., 2008. Outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections associated with multiple raw produce items - United States, 2008. Morbidity and Mortality Weekly Report 57, 929-934.

Kroupitski Y., Golberg D., Belausov E., Pinto R., Swartzberg D., Granot D. and Sela, S., 2009. Internalization of Salmonella enterica in leaves is induced by light and involves chemotaxis and penetration through open stomata. Appl Environ Microbiol 75, 6076-6086.

Lafont J.P., Bree A., Naciri M., Yvore P., Guillot J.F. and Chaslus-Dancla E., 1983. Experimental study of some factors limiting 'competitive exclusion' of *Salmonella* in chickens. Res Vet Sci 34, 16-20.

Lahuerta A., Westrell T., Takkinen J., Boelaert F., Rizzi V., Helwigh B., Borck B., Korsgaard H., Ammon A. and Makela P., 2011. Zoonoses in the European Union: origin, distribution and dynamics - the EFSA-ECDC summary report 2009. Euro Surveill 16.

Mastroeni P., Chabalgoity J.A., Dunstan S.J., Maskell D.J. and Dougan G., 2001. *Salmonella*: immune responses and vaccines. Vet J 161, 132-164.

Mead G.C., 2000. Prospects for 'competitive exclusion' treatment to control *Salmonellas* and other foodborne pathogens in poultry. Vet J 159, 111-123.

Morgan E., Campbell J.D., Rowe S.C., Bispham J., Stevens M.P., Bowen A.J., Barrow P.A., Maskell D.J. and Wallis T.S., 2004. Identification of host-specific colonization factors of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Mol Microbiol 54, 994-1010.

Munnoch S.A., Ward K., Sheridan S., Fitzsimmons G.J., Shadbolt C.T., Piispanen J.P., Wang Q., Ward T.J., Worgan T.L., Oxenford C. *et al.,* 2009. A multi-state outbreak of *Salmonella* Saintpaul in Australia associated with cantaloupe consumption. Epidemiol Infect 137, 367-374.

Nurmi E. and Rantala M., 1973. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. Nature 241, 210-211.

Pang T., Levine M.M., Ivanoff B., Wain J. and Finlay B.B., 1998. Typhoid fever--important issues still remain. Trends Microbiol 6, 131-133.

Protais J., Colin P., Beaumont C., Guillot J.F., Lantier F., Pardon P. and Bennejean G., 1996. Line differences in resistance to *Salmonella* Enteritidis PT4 infection. Br Poult Sci 37, 329-339.

Rosselin M., Abed N., Virlogeux-Payant I., Bottreau E., Sizaret P.Y., Velge P. and Wiedemann A., 2011. Heterogeneity of T3SS-1-independent entry mechanisms used by *Salmonella* Enteritidis to invade different cell types. Microbiology 157, 839-847.

Rosselin M., Virlogeux-Payant I., Roy C., Bottreau E., Sizaret P.-Y., Mijouin L., Germon P., Caron E., Velge P. and Wiedemann A., 2010. Rck of *Salmonella enterica*, subspecies *enterica* serovar Enteritidis, mediates Zipper-like internalization. Cell Res 20, 647-664.

Sadeyen J.-R., Trotereau J., Protais J., Beaumont C., Sellier N., Salvat G., Velge P. and Lalmanach A.-C., 2006. Salmonella carrier-state in hens: study of host resistance by a gene expression approach. Microbes and Infection 8, 1308-1314.

Sadeyen J.-R., Trotereau J., Velge P., Marly J., Beaumont C., Barrow P.A., Bumstead N. and Lalmanach A.-C., 2004. Salmonella carrier state in chicken: comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. Microbes and Infection 6, 1278-1286.

Schikora A., Carreri A., Charpentier E. and Hirt H., 2008. The dark side of the salad: *Salmonella* Typhimurium overcomes the innate immune response of *Arabidopsis thaliana* and shows an endopathogenic lifestyle. PLoS ONE 3, e2279.

Schikora A., Virlogeux-Payant I., Bueso E., Garcia A.V., Nilau T., Charrier A., Pelletier S., Menanteau P., Baccarini M., Velge P. *et al.,* 2011. Conservation of *Salmonella* infection mechanisms in plants and animals. PLoS One 6, e24112.

Setta A., Barrow P.A., Kaiser P. and Jones M.A., 2012a. Immune dynamics following infection of avian macrophages and epithelial cells with typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars; bacterial invasion and persistence, nitric oxide and oxygen production, differential host gene expression, NF-kappaB signalling and cell cytotoxicity. Vet Immunol Immunopathol 146, 212-224.

Setta A.M., Barrow P.A., Kaiser P. and Jones M.A., 2012b. Early immune dynamics following infection with *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Infantis, Pullorum and Gallinarum: cytokine and chemokine gene expression profile and cellular changes of chicken cecal tonsils. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 35, 397-410.

Shea J.E., Hensel M., Gleeson C. and Holden D.W., 1996. Identification of a virulence locus encoding a second type III secretion system in Salmonella Typhimurium. Proc Natl Acad Sci U S A 93, 2593-2597.

Shirron N. and Yaron S., 2011. Active suppression of early immune response in tobacco by the human pathogen *Salmonella* Typhimurium. PLoS ONE 6, e18855.

Swaggerty C.L., Kaiser P., Rothwell L., Pevzner I.Y. and Kogut M.H., 2006. Heterophil cytokine mRNA profiles from genetically distinct lines of chickens with differential heterophil-mediated innate immune responses. Avian Pathol 35, 102-108.

Takkinen J., Nakari U.M., Johansson T., Niskanen T., Siitonen A. and Kuusi M., 2005. A nationwide outbreak of multiresistant *Salmonella* Typhimurium in Finland due to contaminated lettuce from Spain, May 2005. Euro Surveill 10, E050630 050631.

Taylor E., Kastner J. and Renter D., 2010. Challenges involved in the *Salmonella* Saintpaul outbreak and lessons learned. Journal of Public Health Management and Practice 16, 221-231.

Thanh-Son T., Catherine B., Nigel S., Mark F., Pete K., Elisabeth le B.D., Alain V., Philippe V., and Fanny C., 2012. A maximum likelihood QTL analysis reveals common genome regions controlling resistance to *Salmonella* colonization and carrier-state. BMC Genomics 13, 198.

Turner A.K., Lovell M.A., Hulme S.D., Zhang-Barber L. and Barrow P.A., 1998. Identification of *Salmonella* Typhimurium genes required for colonization of the chicken alimentary tract and for virulence in newly hatched chicks. Infect Immun 66, 2099-2106.

Ustun S., Muller P., Palmisano R., Hensel M. and Bornke F., 2012. SseF, a type III effector protein from the mammalian pathogen *Salmonella enterica*, requires resistance-gene-mediated signalling to activate cell death in the model plant *Nicotiana benthamiana*. New Phytol 194, 1046-1060.

Van Immerseel F., Methner U., Rychlik I., Nagy B., Velge P., Martin G., Foster N., Ducatelle R. and Barrow P.A., 2005. Vaccination and early protection against non-host-specific Salmonella serotypes in poultry: exploitation of innate immunity and microbial activity. Epidemiol Infect 133, 959-978.

Velge P., Cloeckaert A. and Barrow P., 2005. Emergence of *Salmonella* epidemics: the problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. Vet Res 36, 267-288.

Velge P., Wiedemann A., Rosselin M., Abed N., Boumart Z., Chaussé A.M., Grépinet O., Namdari F., Roche S.M., Rossignol A.*, et al.,* 2012. Multiplicity of *Salmonella* entry mechanisms, a new paradigm for *Salmonella* pathogenesis. MicrobiologyOpen 1, 243-258.

Virlogeux-Payant I., Baucheron S., Pelet J., Trotereau J., Bottreau E., Velge P. and Cloeckaert A., 2008. TolC, but not AcrB, is involved in the invasiveness of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by increasing type III secretion system-1 expression. Int J Med Microbiol 298, 561-569.

Virlogeux-Payant I., Mompart F., Velge P., Bottreau E. and Pardon P., 2003. Low persistence of a large-plasmid-cured variant of *Salmonella* Enteritidis in ceca of chicks. Avian Dis 47, 163-168.

Wigley P., Hulme S., Rothwell L., Bumstead N., Kaiser P. and Barrow P., 2006. Macrophages isolated from chickens genetically resistant or susceptible to systemic salmonellosis show magnitudinal and temporal differential expression of cytokines and chemokines following *Salmonella enterica* challenge. Infect Immun 74, 1425-1430.