



**HAL**  
open science

## L'approche microbiote : stratégies pour prédire et prévenir les infections à *Salmonella* chez le poulet

Philippe Velge, Florent Kempf, Pierrette Menanteau, Catherine Beaumont,  
Christine Leterrier, Isabelle Virlogeux-Payant

### ► To cite this version:

Philippe Velge, Florent Kempf, Pierrette Menanteau, Catherine Beaumont, Christine Leterrier, et al.. L'approche microbiote : stratégies pour prédire et prévenir les infections à *Salmonella* chez le poulet. *Innovations Agronomiques*, 2018, Prévenir et guérir les maladies infectieuses dans le concept One Health, 66, pp.31-42. 10.15454/1.54080498449746E12 . hal-02738417

**HAL Id: hal-02738417**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02738417>**

Submitted on 2 Jun 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

## L'approche microbiote : stratégies pour prédire et prévenir les infections à *Salmonella* chez le poulet

Velge P.<sup>1</sup>, Kempf F.<sup>1</sup>, Menanteau P.<sup>1</sup>, Beaumont C.<sup>2</sup>, Christine Leterrier C.<sup>3</sup>, Virlogeux-Payant I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UMR ISP, INRA, Université de Tours, F- 37380 Nouzilly

<sup>2</sup> UMR BOA, INRA, Université de Tours, F-37380 Nouzilly

<sup>3</sup> UMR PRC, INRA, CNRS, Université de Tours, F-37380 Nouzilly

**Correspondance** : philippe.velge@inra.fr

### Résumé

La salmonellose est l'une des zoonoses dont le fardeau économique et sanitaire est le plus élevé dans le monde. En fonction de l'hôte et du sérotype, *Salmonella* peut induire un large spectre de maladies qui vont des fièvres typhoïdes aux infections asymptomatiques en passant par les gastroentérites. Les volailles, qui sont majoritairement porteuses asymptomatiques, sont les principales sources de contamination de l'homme et l'un des enjeux majeurs pour l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et le centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC). De nombreuses stratégies de lutte au niveau de l'élevage ont été mises en place pour combattre les infections à *Salmonella*, ce qui a permis de réduire ou au moins stabiliser le nombre d'infections humaines. Pour aller plus loin, de nouvelles stratégies doivent être mises en place, en particulier face à la diminution de l'utilisation des antibiotiques en élevage. Cet article décrit les différentes stratégies de lutte, actuelles et à venir, et en particulier celles liées aux travaux sur le microbiote intestinal du poulet. Il aborde également les conséquences que peuvent avoir les recherches sur les interactions microbiote-hôte-pathogène.

**Mots-clés** : Portage, Salmonellose, Probiotique, Zoonose, Poulet,

### **Abstract** : Microbiota approach: strategies to predict and prevent *Salmonella* infections in chicken

Salmonellosis is one of the most important zoonosis worldwide resulting in a significant loss to agrifood industry as well as a substantial burden on the healthcare system. Depending of the hosts and the serotypes, *Salmonella* induce a wide spectrum of diseases among which typhoid fevers, asymptomatic infections and gastroenteritis. Poultry, which are the main source of human contamination, are mainly asymptomatic carriers. This asymptomatic *Salmonella* carrier state is thus a major issue for the European authority of food safety (EFSA) and the European center of prevention and control of the diseases (ECDC). Numerous strategies have been developed to fight *Salmonella* infections leading to a decrease or at least a stabilisation of the human cases. To go further, novel approaches must be developed in particular in response to the increase and spread of antimicrobial resistance. This article describes the current and future strategies used to fight *Salmonella* infection especially those related to the chicken gut microbiota. We finally address the new avenues opened by studies on host-microbiota-pathogen relationships.

**Keywords**: Carrier state, Salmonellosis, Probiotics, Zoonosis, Poultry

## 1. *Salmonella*

Les bactéries du genre *Salmonella* sont des  $\gamma$ -protéobactéries. Elles appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Le genre *Salmonella* comprend 2 espèces : *S. enterica* et *S. bongori*. L'espèce *bongori* est majoritairement retrouvée chez les animaux à sang froid et dans l'environnement alors que l'espèce *enterica* possède un spectre d'hôtes très large qui concerne les animaux et les plantes. Cette dernière est divisée en 6 sous-espèces sur la base de critères biochimiques : *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica* (Guibourdenche et al., 2010). Parmi chaque sous-espèce, on distingue des sérotypes (ou sérovars) qui se différencient par leur composition en antigènes somatiques O (partie externe du lipopolysaccharide ou LPS), flagellaires H et éventuellement capsulaires (Vi). Les antigènes flagellaires H sont présents sous deux formes différentes (phase). Les salmonelles expriment donc soit les deux formes simultanément (*Salmonella* diphasique), soit la forme d'une seule phase (*Salmonella* monophasique). Afin de faciliter la lecture, les sérotypes sont notés sous forme contractée, par exemple : S. Enteritidis pour *Salmonella enterica* sous-espèce *enterica* sérotype Enteritidis.

## 2. Salmonelloses

Les salmonelloses sont toutes les maladies engendrées par les salmonelles. Chez l'homme, elles sont majoritairement de deux types : les gastroentérites et les fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes. Toutefois, les salmonelles peuvent induire également une infection asymptomatique (ou portage asymptomatique). Une forme invasive due à des souches non typhoïdiques a été décrite récemment.

Dans le monde, on compte plus de 20 millions de cas de fièvre typhoïde par an entraînant plus de 200 000 morts ([www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr)) dont 90 % en Asie. Les pays industrialisés sont peu concernés par les fièvres typhoïdes. Cependant, la maladie n'y a pas disparu et est à déclaration obligatoire en France, tout comme les gastroentérites. Le nombre total de gastroentérites à *Salmonella* est estimé dans le monde à 94 millions par an parmi lesquelles 155 000 décèdent à la suite de ces infections. Elles représentent une des causes principales de mortalité infantile dans les pays en voie de développement. Elles constituent en Europe et aux Etats-Unis la deuxième cause, derrière *Campylobacter*, de toxi-infections alimentaires et la première cause d'hospitalisation et de mortalité d'origine alimentaire (27 % des mortalités humaines d'origine alimentaire sont attribuées en France à *Salmonella*) (Chimalizeni et al., 2010 ; Van Cauteren et al., 2017). Si une diminution en Europe de près de la moitié des cas de salmonelloses humaines a été observée entre 2009 et 2013, le nombre de cas s'est stabilisé depuis. Ainsi, environ 100 000 cas humains sont signalés chaque année dans l'Union Européenne. Un total de 1 168 foyers épidémiologiques de toxi-infections alimentaires à *Salmonella* ont été rapportés dans les pays de l'Union Européenne en 2013, soit 22,5 % du nombre total des foyers épidémiologiques déclarés en Europe (Anonymous, 2013). En France, les sérotypes S. Typhimurium, S. Enteritidis et le variant monophasique de S. Typhimurium représentaient plus de 70 % des sérotypes enregistrés (EFSA et ECDC, 2017). Il est à noter également, une forte émergence de certains sérotypes multi-résistants tels que S. Kentucky (Le Hello et al., 2013). Toutefois, le plus préoccupant est l'émergence des infections invasives dues à des souches particulières de S. Enteritidis et de S. Typhimurium (iNTS), notamment de la souche multi-résistante du « Multilocus sequence type » ST313 (Okoro et al., 2012).

La salmonellose est une zoonose, c'est à dire une infection pouvant se transmettre directement ou indirectement entre les animaux et les humains. Ainsi, *Salmonella* pose un réel problème pour l'industrie alimentaire et l'élevage. En effet, l'homme s'infecte principalement par ingestion d'aliments contaminés qui sont à base d'œufs, de viande de volaille ou de porc. Afin de diminuer la contamination humaine, un effort particulier doit être fait pour diminuer la contamination des animaux de rente (EFSA et ECDC, 2017 ; Callaway et al., 2004). Toutefois la détection et l'éradication des salmonelles chez les animaux est difficile car *Salmonella* induit le plus souvent chez ces derniers une infection asymptomatique (souvent appelée portage asymptomatique). Dans la majorité des cas, celle-ci est associée à une excrétion fécale forte et durable des salmonelles qui peuvent survivre dans

l'environnement d'élevage et infecter les autres animaux. Dans le cas des volailles, elle peut aussi être liée à l'infection de l'appareil reproducteur, ce qui conduit à une contamination des œufs en surface (souvent via les fientes contaminées) ou du blanc voire du jaune (Braden, 2006). Dans cette revue, nous nous focaliserons sur la filière avicole, la principale source de contamination de l'homme (EFSA et ECDC, 2017).

### 3. Les moyens de lutte actuels contre les Salmonelloses

#### 3.1 Vaccination

Les mesures prophylactiques pour contrôler l'infection par *Salmonella* dans les élevages de volailles sont : la surveillance des élevages (conduisant dans certains cas réglementaires à l'abattage des lots de volailles contaminés) et le développement de vaccins à base de bactéries atténuées ou tuées. L'utilisation de ces vaccins est relativement onéreuse. Elle a permis cependant une importante diminution du niveau de contamination des élevages, sans pour autant éliminer les risques d'infection. Un inconvénient majeur de nombreux vaccins anti-*Salmonella* est qu'ils ne protègent que vis-à-vis du sérotype contre lequel ils ont été produits. Par exemple, un vaccin dirigé contre *S. Typhimurium* protège peu ou pas les animaux d'une infection à *S. Enteritidis* et inversement (Foster et al., 2012). Ceci est lié au fait que les antigènes protecteurs majeurs de *Salmonella* sont les antigènes somatiques (antigène O) et flagellaires (antigène H) qui varient entre les sérotypes (Van Immerseel et al., 2005). Actuellement, des vaccins di- ou multivalents dirigés contre plusieurs sérotypes, sont disponibles ou en développement (Tennant et Levine, 2015).

#### 3.2 Prévention

Les bonnes pratiques d'élevage et d'hygiène restent les bases d'un contrôle efficace de l'infection à *Salmonella* dans les élevages de volailles. La prévention vise à empêcher l'entrée des salmonelles dans les élevages *via* les animaux eux-mêmes, l'aliment ou l'environnement (notamment les rongeurs et les oiseaux sauvages). Elle doit également limiter la transmission du pathogène au sein du troupeau en respectant la conduite en bandes et la gestion des locaux en tout plein/tout vide, associée à un vide sanitaire correspondant à un nettoyage et une désinfection des salles entre bandes (Velge et al., 2005). L'utilisation des antibiotiques est, quant à elle, désormais très réglementée. Ils sont notamment interdits en tant que facteurs de croissance, pour réduire l'apparition de nouvelles souches résistantes aux antibiotiques et limiter les niveaux de résistance des souches, mais leur utilisation est autorisée en traitement prophylactique chez les poules pondeuses.

#### 3.3 Résistance génétique des volailles

Afin d'éviter l'utilisation des antibiotiques, de nouvelles approches se développent comme la sélection génétique de lignées de poulets résistants au portage de *Salmonella* (Calenge et al., 2010). Toutefois, il faut être prudent lors des sélections car nous avons montré que la corrélation de la résistance chez l'adulte et chez le jeune est négative (-0.50) ce qui suggère qu'une augmentation de résistance chez l'adulte peut conduire à une augmentation de sensibilité chez le jeune (Beaumont et al., 2009). De plus, la résistance génétique à l'infection aigüe et au portage n'est, en général, pas portée par les mêmes régions génétiques de l'hôte, même si certaines zones sont communes (Tran et al., 2012). De la même façon, des lignées consanguines de poulets, différant sur la résistance à l'infection systémique, ne montrent pas de différences de taux d'infection de l'appareil reproducteur ou de taux d'œufs infectés (Berchieri et al., 2001).

### 3.4 Probiotiques, prébiotiques, additifs chimiques et phages

Enfin, l'utilisation d'écosystèmes microbiens naturels est en plein essor. La possibilité d'agir sur les performances et la santé de l'animal par l'administration de micro-organismes vivants sélectionnés a été mise en œuvre depuis longtemps. Ainsi, en 1908, le savant russe Ilya Metchnikov attribuait l'étonnante longévité des Bulgares aux yaourts qu'ils consommaient. L'idée que les bactéries de certains aliments contribuent à notre santé n'est donc pas neuve. Dans les années 60, cette idée a donné naissance au concept de probiotiques, ces micro-organismes vivants (bactéries, levures) qui, ajoutés comme compléments alimentaires, apportent un bénéfice pour la santé. Au fil des ans, les probiotiques sont devenus de véritables arguments publicitaires pour un bon nombre de produits. Plusieurs mélanges bactériens anti-*Salmonella* ont été développés et sont actuellement sur le marché (Nuotio et al., 1992). Toutefois, ces produits complexes ne sont pas parfaitement caractérisés et afin d'éviter que ces mélanges ne contiennent des souches potentiellement pathogènes, l'Union Européenne demande actuellement que les nouveaux produits soient caractérisés et inoffensifs. De tels mélanges de bactéries bien définies et caractérisées n'ont pour le moment donné que des protections limitées chez la volaille ou le porc (Casey et al., 2007 ; Szabo et al., 2009). Toutefois, la métagénomique a mis en évidence un potentiel considérable des probiotiques, aussi bien dans des modèles de salmonellose murine (Brugiroux et al., 2016 ; Acurcio et al., 2017) qu'aviaire (Hayashi et al., 2018). Les travaux sur le microbiote couplés aux approches de métagénomique devraient permettre à terme, le développement de probiotiques de nouvelle génération.

Plutôt que d'inoculer des souches commensales vivantes, une autre approche pourrait être de faciliter leur croissance dans l'intestin des poussins par l'ajout dans la nourriture de prébiotiques c'est-à-dire de composés (souvent des oligosaccharides) qui servent d'aliment aux bactéries du microbiote et qui favorisent leur croissance. Comme chaque bactérie a ses propres besoins, on peut nourrir de préférence certaines bactéries et favoriser ainsi leur croissance pour obtenir certains avantages comme une inhibition de la colonisation par des pathogènes. Une troisième approche est de modifier l'environnement du microbiote par modification du pH ou l'addition d'acides gras volatils à courtes chaînes (Van Immerseel et al., 2004 ; Revollo et al., 2009). L'addition de chlorate ou d'autres acides dans l'eau de boisson a ainsi permis de protéger en partie de l'infection et est utilisée dans certains élevages (Byrd et al., 2003).

Enfin, une stratégie très différente consiste à utiliser des bactériophages (virus de bactéries) lytiques pour cibler certains pathogènes ou des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (Galtier et al., 2016).

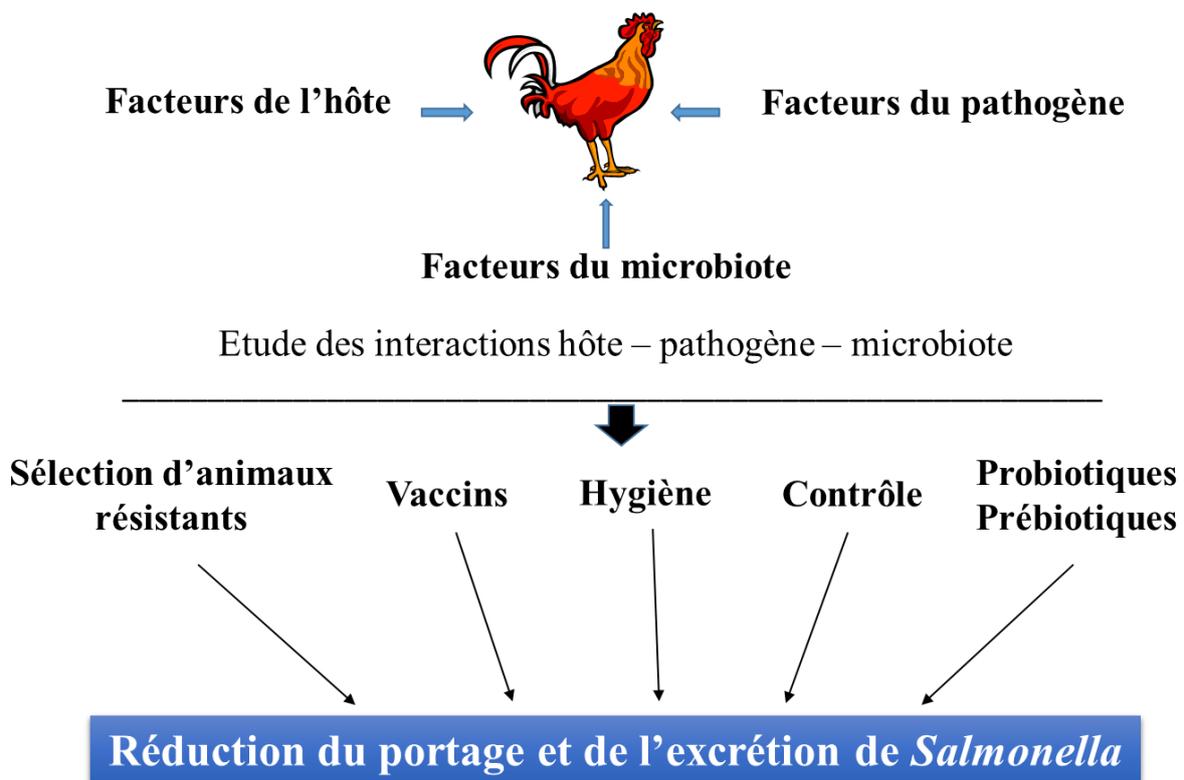
## 4. Le microbiote : un partenaire à prendre en compte

Un microbiote est défini comme une population de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus, parasites...) formant un écosystème complexe. Cet écosystème diffère en fonction de l'hôte et de la localisation sur le corps (Cho et Blaser, 2012). Le microbiote intestinal est celui qui comporte le plus de micro-organismes en quantité et en diversité mais seulement 60 % des espèces bactériennes peuvent être cultivées.

L'étude du microbiote intestinal, chez l'homme puis chez les animaux, a été révolutionnée par l'utilisation de technologies de séquençage d'ADN à haut débit qui a permis le développement des approches de métagénomique, c'est-à-dire l'étude de l'ensemble des génomes microbiens constituant le microbiote intestinal. La métagénomique ciblée sur l'ARN 16S ne permet que l'identification des bactéries du microbiote. La majorité des études ont été consacrées à montrer les relations symbiotiques qui existent entre l'hôte et son microbiote. Ainsi, de nombreuses études ont montré que le microbiote intestinal est impliqué dans la digestion d'aliments non digestibles par l'hôte et plus généralement dans la régulation du métabolisme, le développement du tractus digestif, la mise en place et la régulation de l'immunité, et certains traits du comportement via un effet sur le cerveau. Le microbiote joue également

un rôle primordial dans la résistance à la colonisation par des pathogènes. C'est ce que l'on appelle l'effet barrière qui est responsable de l'augmentation très forte de l'inoculum nécessaire pour infecter un animal conventionnel par rapport à un animal dénué de microbiote. Cet effet barrière est dû : 1- à la captation de nutriments nécessaires à la croissance du pathogène par le réseau métabolique stable établi par la flore résidente, 2- à la production de molécules bactéricides et de systèmes antimicrobiens, et 3- à la compétition pour les récepteurs d'attachement aux cellules de l'hôte (Kamada et al., 2012). Cet effet barrière est modulé par l'âge et l'espèce animale, mais ses fonctions restent les mêmes.

Chez l'oiseau, avant l'éclosion, la majorité des auteurs admettent que le tube digestif de l'embryon est stérile. Après l'éclosion, le tube digestif est colonisé par des milliards de bactéries provenant de l'environnement immédiat du poussin : éclosoir, manipulations humaines, autres poussins, adultes dans certains cas, puis la litière, l'eau et le premier aliment. Ainsi, la composition du microbiote varie beaucoup en fonction de nombreux paramètres. Le premier est l'âge mais d'autres interviennent aussi : type d'élevage, lignée de volaille, alimentation, environnement... Dès le premier jour après l'éclosion, l'iléon et les caeca hébergent  $10^8$  et  $10^{10}$  bactéries par gramme de contenu digestif pour atteindre  $10^9$  à  $10^{11}$  bactéries par gramme dès 3 jours puis rester relativement stable jusqu'à l'âge de 30 jours. Au cours de cette période se produisent aussi, tout au long des différents segments du tube digestif, des changements qualitatifs dans la composition taxonomique du microbiote, et une augmentation générale de la diversité (Danzeisen et al., 2011). Dans la perspective d'applications en élevage, il est clair que la période autour de l'éclosion est un moment privilégié pour tenter de favoriser et de maintenir un microbiote considéré comme favorable. Il a ainsi été démontré que l'implantation d'une flore à la naissance favorise et oriente l'implantation des autres bactéries et donc détermine la composition future du microbiote (Pedroso et al., 2014).



**Figure 1** : Méthodes de lutte contre les infections à *Salmonella* dans les élevages

D'un point de vue anatomique, les sites principaux d'activité bactérienne du tube digestif du poulet sont le jabot, les caeca et, dans une moindre mesure, l'intestin grêle. C'est dans les caeca que la diversité est la plus grande, du fait d'une pression en oxygène faible et du temps de rétention important du contenu, comparativement au reste du tractus digestif. On peut ainsi y détecter entre 4000 et 5000 OTU (Operational Taxonomic Units) contre seulement 400 à 900 dans l'intestin grêle (Neumann et Suen, 2015). La plupart appartiennent aux Firmicutes (notamment l'ordre des *Clostridiales*). Nous retrouvons aussi des Proteobacteria et des Bacteroidetes. En comparaison, le microbiote des fèces a été peu étudié jusqu'à présent, sans doute par crainte de leur manque de représentativité des segments digestifs, avec une perte notamment de bactéries anaérobies. Dans la perspective d'applications en élevage et afin de ne pas tuer les animaux, notamment pour la mise au point de tests diagnostiques basés sur l'observation du microbiote, le prélèvement et l'analyse des fèces paraît incontournable. Toutefois, l'enjeu des recherches actuelles consiste à trouver parmi ces milliers d'espèces bactériennes les marqueurs prédictifs ou à identifier celles qui ont un effet favorable.

Pour améliorer les moyens de lutte contre les Salmonelles (Figure 1), il est donc important de mieux connaître les mécanismes de virulence et de persistance de *Salmonella* chez les animaux d'élevage en prenant en compte la dynamique de l'infection et les interactions qui existent entre l'hôte, le pathogène et leur environnement biotique (le microbiote) et abiotique (l'environnement d'élevage).

## 5. Le portage de *Salmonella* : persistance ou réinfection ?

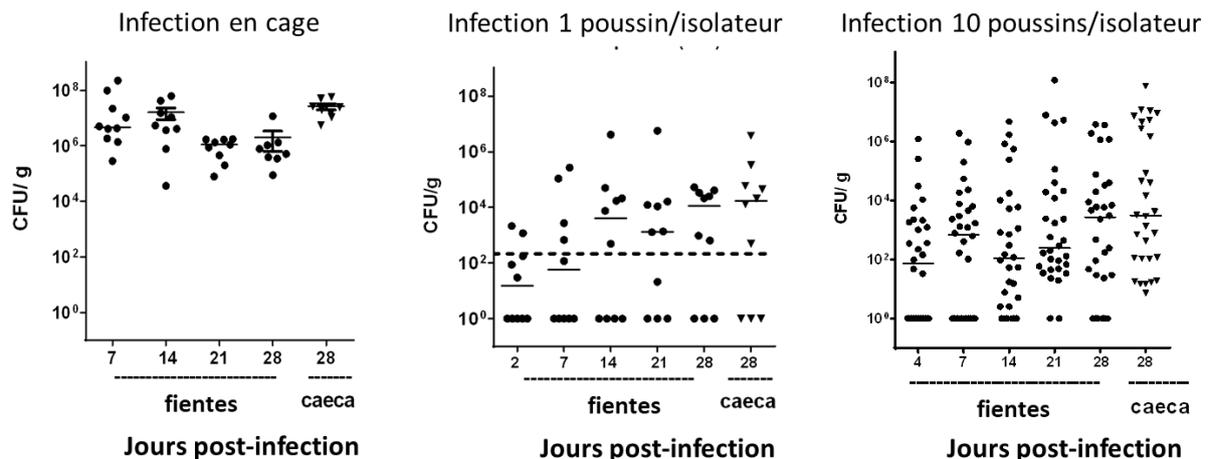
Chez les volailles comme chez d'autres animaux d'élevage comme le porc, *Salmonella* peut induire une infection asymptomatique qui correspond à la colonisation de l'appareil digestif, au passage de la barrière intestinale et à l'induction d'une infection systémique touchant en particulier le foie et la rate. Cette infection systémique est, la plupart du temps, éliminée par la réponse immunitaire en quelques semaines ce qui permet l'élimination de la bactérie de ces organes. Toutefois, la réponse immunitaire induite est incapable d'éliminer la bactérie de l'intestin et en particulier des caeca où la bactérie persiste pendant plusieurs mois. Nous avons montré également que l'infection systémique ne modifie pas le portage de *Salmonella* (Menanteau et al., 2018). Cette infection caecale est en général accompagnée d'une excrétion fécale très forte, sans trouble majeur pour le poulet infecté. Ainsi quand les poussins sont infectés expérimentalement dans un modèle qui mime une infection d'animaux en bande, ils excrètent tous, dès 7 jours après infection, entre  $10^5$  et  $10^8$  *Salmonella*/g de fiente (Sadeyen et al., 2004). Dans ce modèle tous les poussins sont regroupés dans une grande cage où les réinfections et les contaminations croisées sont nombreuses.

Sachant que *Salmonella* peut survivre dans l'environnement d'élevage, et que les quantités excrétées de bactéries sont suffisantes pour infecter un poulet sain, une question majeure restait en suspens : le portage asymptomatique de *Salmonella* correspond-t-il à une réinfection constante des animaux à partir du réservoir environnemental ou à une réelle persistance des salmonelles chez l'animal suite à une première infection ?

Pour répondre à cette question, nous avons conçu un système d'élevage expérimental où les possibilités de réinfection et de transmission entre animaux étaient réduites au maximum. Pour cela, les animaux sont élevés et infectés en isolateur (enceinte utilisée pour empêcher l'entrée de micro-organismes), où l'air est stérilisé, les fientes sont stérilisées en tombant dans un liquide décontaminant et l'eau et les aliments sont placés en hauteur pour limiter leur contamination par les fientes. Dans ces conditions les niveaux d'excrétion se sont avérés très hétérogènes d'un individu hôte à l'autre. Ainsi sur 10 poussins infectés et maintenus isolés les uns des autres (1 poussin/isolateur), seul un petit nombre excrétaient de fortes quantités de salmonelles dans leurs fientes ( $>10^5$ /g fiente), à des taux proches de ce que nous observions en cage. Au contraire, 20 à 50 % des poussins n'excrétaient aucune salmonelle ou à des taux inférieurs à  $10^3$ /g fiente. Des observations similaires ont pu être faites dans les caeca prélevés après autopsie (Figure 2). L'hypothèse d'un effet du stress de l'isolement a par la suite été

écartée en reproduisant ces résultats dans des isolateurs de plus grande taille (10 ou 30 poussins/isolateur).

L'hétérogénéité des niveaux d'excrétion obtenue dans de telles conditions montre l'importance, dans les conditions classique d'élevage, des réinfections et des contaminations croisées entre animaux pour aboutir à ce que tous les animaux excrètent de grandes quantités de salmonelles (Menanteau et al., 2018). Elle nous permet également de suggérer l'existence de deux phénotypes distincts (faible et super-excréteurs), mis en évidence par la limitation des contaminations croisées. La présence, dans ces nouveaux modèles d'infection, de poussins dits super-excréteurs car excrétant de grandes quantités de *Salmonella* pendant 4 semaines montre qu'en l'absence de réinfection et de contaminations croisées *Salmonella* peut coloniser un poussin et persister. Ces animaux super-excréteurs jouent le rôle de réservoir de *Salmonella* et les transmettent en continu aux poussins plus résistants à une première colonisation. L'hypothèse que le portage de *Salmonella* corresponde uniquement à une réinfection continue des poulets n'est donc pas valide au moins pour certains animaux au sein d'un troupeau. Nous avons montré que les animaux « faible-excréteurs », qui ne présentent de hauts niveaux d'excrétion qu'après exposition à de multiples infections croisées, ne possèdent pas une meilleure capacité à éliminer la bactérie une fois infectés, mais plutôt une meilleure capacité à bloquer une première infection par *Salmonella* (Menanteau et al., 2018). Ainsi, si après plusieurs infections dues à la présence des super-excréteurs, ils deviennent à leur tour super-excréteurs, ils le restent même si nous les isolons en isolateur, c'est-à-dire sans possibilité de se contaminer de nouveau.



**Figure 2** : Excrétion de *Salmonella* et colonisation des caeca des poussins en fonction des conditions d'élevage. Les poussins ont été infectés par voie orale avec une faible dose de *Salmonella Enteritidis* ( $5 \times 10^4$  bactéries) à 7 jours d'âge. La différence d'excrétion et d'infection est liée aux conditions d'élevage des poussins. En cage, les animaux peuvent se réinfecter ou infecter leurs congénères contrairement au modèle en isolateur.

Les résultats obtenus dans les modèles en isolateur viennent donc modifier la vision que nous avons quand on infecte les poulets dans des conditions d'élevage classique (i.e. en cage). L'idée, généralement admise était que pour un même fond génétique, la probabilité d'être infecté était égale d'un individu à l'autre. Or la dynamique épidémique semble davantage reposer sur un petit nombre d'individus initialement super-excréteurs, qui vont contaminer d'autres animaux par l'excrétion continue de grandes quantités de *Salmonella*. Une fois contaminés, ceux-ci deviennent à leur tour des super-excréteurs et transmettent l'infection.

## 6. Rôle du microbiote intestinal dans les phénotypes super- et faible-excréteurs

La question actuelle est donc de savoir pourquoi au sein d'un même troupeau, avec un même fond génétique, certains poussins sont plus sensibles à l'infection par *Salmonella* que d'autres.

Sachant que dans notre modèle en isolateur, la génétique de l'hôte et le statut immunitaire des animaux est contrôlé, nous avons regardé le rôle du microbiote intestinal. Les premières études ont montré que : 1- les poussins d'un même troupeau avaient des microbiotes différents ; 2- chez des animaux sans flore, *Salmonella* s'implantait fortement chez tous les poussins et était excrétée en grande quantité ; 3- l'inoculation d'une flore microbienne d'adulte à des poussins, les protégeait tous de l'infection par *Salmonella* ; 4- la modification de la flore par des antibiotiques modifiait le niveau de colonisation et d'excrétion de *Salmonella*. Afin de savoir si la composition du microbiote avant infection déterminait le phénotype super-excréteur/faible-excréteur, nous avons recueilli avant infection les flores d'animaux qui ont été infectés ensuite en isolateur. Après avoir identifié les animaux super-excréteurs et faible-excréteurs, nous avons inoculé à d'autres poussins les flores des animaux devenus super-excréteurs et faible-excréteurs. Nous nous sommes aperçus que tous les poussins ayant reçu les fientes des super-excréteurs étaient devenus eux-mêmes super-excréteurs. Ce résultat démontre que la composition du microbiote détermine les risques qu'un poussin soit infecté par *Salmonella* (Kempf et al. en préparation).

Ce résultat très original ouvre de nouvelles pistes pour identifier des genres bactériens qui prédiront les risques qu'un poussin soit infecté par *Salmonella*. De plus, des études comparatives des flores bactériennes devraient permettre d'identifier les micro-organismes qui facilitent ou inhibent l'implantation de *Salmonella*. L'isolement de ces souches permettra de développer des cocktails de souches commensales capables de bloquer l'implantation de *Salmonella*.

Ce mélange de souches correspondrait à l'ancienne définition des souches probiotiques c'est-à-dire des bactéries qui, ingérées vivantes, ont un effet bénéfique sur la santé.

## 7. Vers une nouvelle définition des probiotiques

Nous l'avons vu, le microbiote intestinal est impliqué dans de nombreuses fonctions de l'hôte comme l'effet barrière vis-à-vis des pathogènes. Il a aussi des effets sur la digestion, la régulation du métabolisme, le développement du tractus digestif et de la réponse immunitaire, la régulation de l'immunité et le comportement (Pan et Yu, 2014). De plus, chez l'homme, du cancer à l'autisme en passant par l'obésité et les maladies inflammatoires, le microbiote semble impliqué dans de nombreuses maladies. Ainsi, la comparaison du microbiote de personnes en bonne santé et de malades a fait émerger la notion de dysbiose qui correspond à un déséquilibre du microbiote (Mondot et al., 2013). Dans ce contexte, notre vision du probiotique doit s'élargir. En effet, l'utilisation de probiotiques capables de modifier le microbiote de l'hôte ou d'avoir un effet direct sur l'hôte peut aboutir à de nombreux effets différents. De plus, si dans l'ancienne définition des probiotiques, ceux-ci étaient considérés comme des additifs alimentaires ou zootechniques, les nouveaux probiotiques ne concerneront pas seulement les personnes en bonne santé, mais aussi les malades avec un objectif de rétablir un équilibre intestinal. Un exemple est *Akkermansia muciniphila*, bactérie du microbiote humain, qui est utilisée comme médicament pour combattre les maladies métaboliques telles que l'obésité et le diabète (Dao et al., 2016).

Dans ce contexte, il est important d'avoir une vision intégrée de l'impact du microbiote sur les pathogènes et sur l'hôte. C'est pourquoi nous étudions le rôle de celui-ci sur :

- Les phénotypes super et faible excréteurs (Kempf en préparation), et sur la colonisation des pathogènes (Han et al., 2017), dans l'objectif de développer des marqueurs prédictifs de la

sensibilité aux salmonelles et de trouver de nouveaux probiotiques ayant un effet barrière ;

- Le développement et la stimulation de la réponse immune du poussin (Volf et al., 2016 ; Kaspers et al., 2017) afin d'identifier des bactéries capables de stimuler la réponse immunitaire des poussins ;
- Le rôle du microbiote sur le comportement des poulets et des cailles (Kraimi et al., 2018) dans l'objectif de trouver des bactéries capables de modifier le stress des poussins, voire de détecter précocement via une modification de leur comportement, l'infection des poussins par des pathogènes. En effet, alors que le portage de *Salmonella* Enteritidis est considéré comme asymptomatique, nos études récentes ont montré qu'une analyse détaillée du comportement permet de percevoir la période où les poussins viennent d'être contaminés et ce avant l'excrétion des salmonelles dans les fientes. Il semble donc qu'en observant le comportement du troupeau de manière spécifique, nous puissions mettre en place des méthodes automatiques de détection précoce des animaux contaminés.

## Conclusion

Pour être efficace, la lutte contre les salmonelles doit être coordonnée et effectuée à tous les stades de la chaîne de production. Si l'hygiène, la vaccination, la résistance génétique de l'hôte et la manipulation du microbiote intestinal ne suffisent pas à elles seules à prévenir les infections, leurs effets coordonnés devraient permettre d'obtenir des élevages sans salmonelles. Par ailleurs, il est important d'envisager les méthodes de lutte dans un esprit de prévention plutôt que curatif, car quand un animal est infecté, il est déjà trop tard compte tenu de la vitesse à laquelle *Salmonella* se transmet d'un animal à un autre (Menanteau et al., 2018). Il est important de considérer cette lutte contre *Salmonella* dans un esprit « OneHealth », c'est-à-dire que les efforts doivent être menés chez l'homme, chez l'animal et dans leur environnement. Ceci est parfaitement démontré par l'émergence de salmonelles multi-résistantes aux antibiotiques dues à un usage irraisonné en médecine humaine et animale. Enfin, il ne faut pas oublier dans cette lutte le contrôle des produits utilisés en alimentation humaine et animale. En effet, nous savons maintenant que les végétaux sont un réel réservoir pour les salmonelles. La plupart du temps, il s'agit d'une contamination de surface ; cependant, des travaux récents montrent que les salmonelles sont capables également d'infecter et de se multiplier dans le mésophile de certains hôtes végétaux comme la plante modèle *Arabidopsis thaliana* ou certaines plantes utilisées pour l'alimentation humaine (salade, la tomate etc.) (Schikora et al., 2012). La contamination des végétaux se produit majoritairement à partir d'une source environnementale ou animale (épandages, fèces d'animaux, insectes, irrigation avec des eaux usées contaminées). Ce risque n'est pas à négliger puisque les salmonelles demeurent toujours virulentes pour les animaux après infection des plantes (Schikora et al., 2011).

En ce qui concerne le poulet, nos études laissent espérer que la caractérisation du microbiote intestinal des poulets « résistants » au portage permettra d'éviter leur contamination par *Salmonella* et ainsi limiter la contamination de l'homme.

## Références bibliographiques

Acurcio L.B., Sandes S.H.C., Bastos R.W., Sant'anna F.M., Pedroso S., Reis D.C., Nunes A.C., Cassali G.D., Souza M.R., Nicoli J.R., 2017. Milk fermented by *Lactobacillus* species from Brazilian artisanal cheese protect germ-free-mice against *Salmonella* Typhimurium infection. *Benef Microbes* 8, 579-588.

Anonymous, 2013. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011 *The EFSA Journal* 11.

- Beaumont C., Chapuis H., Protais J., Sellier N., Menanteau P., Fravallo P., 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.
- Berchieri A. Jr., Wigley P., Page K., Murphy C.K., Barrow P.A., 2001. Further studies on vertical transmission and persistence of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis phage type 4 in chickens. *Avian Pathol* 30, 297-310.
- Braden C.R., 2006. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and eggs: a national epidemic in the United States. *Clin Infect Dis* 43, 512-517.
- Brugiroux S., Beutler M., Pfann C., Garzetti D., Ruscheweyh H.J., Ring D., Diehl M., Herp S., Lotscher Y., Hussain S., Bunk B., Pukall R., Huson D.H., Munch P.C., McHardy A.C., McCoy K.D., Macpherson A.J., Loy A., Clavel T., Berry D., Stecher B., 2016. Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Nat Microbiol* 2, 16215.
- Byrd J.A., Anderson R.C., Callaway T.R., Moore R.W., Knape K.D., Kubena L.F., Ziprin R.L., Nisbet D.J., 2003. Effect of experimental chlorate product administration in the drinking water on *Salmonella* Typhimurium contamination of broilers. *Poult Sci* 82, 1403-1406.
- Calenge F., Kaiser P., Vignal A., Beaumont C., 2010. Genetic control of resistance to salmonellosis and to *Salmonella* carrier-state in fowl: a review. *Genet Sel Evol* 42, 11.
- Callaway T.R., Anderson R.C., Edrington T.S., Genovese K.J., Harvey R.B., Poole, T.L., Nisbet D.J., 2004. Recent pre-harvest supplementation strategies to reduce carriage and shedding of zoonotic enteric bacterial pathogens in food animals. *Anim Health Res Rev* 5, 35-47.
- Casey P.G., Gardiner G.E., Casey G., Bradshaw B., Lawlor P.G., Lynch P.B., Leonard F.C., Stanton C., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Hill C., 2007. A five-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Appl Environ Microbiol* 73, 1858-1863.
- Chimalizeni Y., Kawaza K., Molyneux E., 2010. The epidemiology and management of non typhoidal *Salmonella* infections. *Adv. Exp. Med. Biol.* 659, 33-46.
- Cho I., Blaser M.J., 2012. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* 13, 260-270.
- Danzeisen J.L., Kim H.B., Isaacson R.E., Tu Z.J., Johnson T.J., 2011. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PLoS ONE* 6, e27949.
- Dao M.C., Everard A., Aron-Wisnewsky J., Sokolovska N., Prifti E., Verger E.O., Kayser B.D., Levenez F., Chilloux J., Hoyles L., Consortium M.I.-O., Dumas M.E., Rizkalla S.W., Dore J., Cani, P.D., Clement K., 2016. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* 65, 426-436.
- EFSA, ECDC, ECfDaC, 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal* 15, 5077, 5228 pp.
- Foster N., Berndt A., Lalmanach A.C., Methner U., Pasquali P., Rychlik I., Velge P., Zhou X., Barrow P., 2012. Emergency and therapeutic vaccination--is stimulating innate immunity an option? *Res Vet Sci* 93, 7-12.
- Galtier M., De Sordi L., Maura D., Arachchi H., Volant S., Dillies M.A., Debarbieux L., 2016. Bacteriophages to reduce gut carriage of antibiotic resistant uropathogens with low impact on microbiota composition. *Environmental microbiology* 18, 2237-2245.
- Guibourdenche M., Roggentin P., Mikoleit M., Fields P.I., Bockemuhl J., Grimont P.A., Weill F.X., 2010. Supplement 2003-2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res Microbiol* 161, 26-29.
- Han Z., Willer T., Li L., Pielsticker C., Rychlik I., Velge P., Kaspers B., Rautenschlein S., 2017. Influence of the Gut Microbiota Composition on *Campylobacter jejuni* Colonization in Chickens. *Infect. Immun.* 85.
- Hayashi R.M., Lourenco M.C., Kraieski A.L., Araujo R.B., Gonzalez-Esquerra R., Leonardecz E., da Cunha A.F., Carazzolle M.F., Monzani P.S., Santin E., 2018. Effect of Feeding *Bacillus subtilis* Spores

to Broilers Challenged with *Salmonella enterica* serovar Heidelberg Brazilian Strain UFPR1 on Performance, Immune Response, and Gut Health. *Front Vet Sci* 5, 13.

Kamada N., Kim Y.G., Sham H.P., Vallance B.A., Puente J.L., Martens E.C., Nunez G., 2012. Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota. *Science* 336, 1325-1329.

Kaspers B., Lettmann S., Röhl S., Schouler C., Velge P., 2017. La colonisation bactérienne est essentielle pour le développement du système immunitaire intestinal du poulet. 12<sup>eme</sup> Journées de la Recherche avicole et palmipèdes à foie gras Tours avril 2017

Kraimi N., Calandreau L., Biesse M., Rabot S., Guitton E., Velge P., Leterrier C., 2018. Absence of gut microbiota reduces emotional reactivity in Japanese quails (*Coturnix japonica*). *Frontiers in Physiology* in press.

Le Hello S., Harrois D., Bouchrif B., Sontag L., Elhani D., Guibert V., Zerouali K., Weill F.X., 2013. Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study. *The Lancet infectious diseases*.

Menanteau P., Kempf F., Trotereau J., Virlogeux Payant I., Guitton E., Dalifard J., Gabriel I., Rychlik I., Velge P., 2018. Role of systemic infection, cross contaminations and super-shedders in *Salmonella* carrier state in chicken *Environmental microbiology* in press.

Mondot S., de Wouters T., Dore J., Lepage P., 2013. The human gut microbiome and its dysfunctions. *Dig. Dis.* 31, 278-285.

Neumann A.P., Suen G., 2015. Differences in major bacterial populations in the intestines of mature broilers after feeding virginiamycin or bacitracin methylene disalicylate. *J Appl Microbiol* 119, 1515-1526.

Nuotio L., Schneitz C., Halonen U., Nurmi E., 1992. Use of competitive exclusion to protect newly-hatched chicks against intestinal colonisation and invasion by *Salmonella enteritidis* PT4. *Br Poult Sci* 33, 775-779.

Okoro C.K., Kingsley R.A., Connor T.R., Harris S.R., Parry C.M., Al-Mashhadani M.N., Kariuki S., Msefula C.L., Gordon M.A., de Pinna E., Wain J., Heyderman R.S., Obaro S., Alonzo P.L., Mandomando I., MacLennan C.A., Tapia M.D., Levine M.M., Tennant S.M., Parkhill J., Dougan G., 2012. Intracontinental spread of human invasive *Salmonella* Typhimurium pathovariants in sub-Saharan Africa. *Nat. Genet.* 44, 1215-1221.

Pan D., Yu Z., 2014. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes* 5(1): 108-119.

Pedroso A., Collett S., Hurley-Bacon A., Zedek A., Lee M., 2014. The Potential of Antibiotic Alternatives for Enriching Beneficial Microbiota in Litter. *SOJ Microbiol Infect Dis* 2, 1-11.

Revolledo L., Ferreira C.S., Ferreira A.J., 2009. Prevention of *Salmonella* Typhimurium colonization and organ invasion by combination treatment in broiler chicks. *Poult Sci* 88, 734-743.

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

Schikora A., Garcia A.V., Hirt H., 2012. Plants as alternative hosts for *Salmonella*. *Trends in plant science* 17, 245-249.

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

Szabo I., Wieler L.H., Tedin K., Scharek-Tedin L., Taras D., Hensel A., Appel B., Nockler K., 2009. Influence of a probiotic strain of *Enterococcus faecium* on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 infection in a porcine animal infection model. *Appl Environ Microbiol* 75, 2621-2628. Tennant, S.M., Levine, M.M., 2015. Live attenuated vaccines for invasive *Salmonella* infections. *Vaccine* 33 Suppl 3, C36-41.

Tran T.S., Beaumont C., Salmon N., Fife M., Kaiser P., Duval E., Vignal A., Velge P., Calenge F., 2012. A maximum likelihood QTL analysis reveals common genome regions controlling resistance to *Salmonella* colonization and carrier-state. *BMC genomics* 13, 198.

Van Cauteren D., Le Strat Y., Sommen C., Bruyand M., Tourdjman M., Da Silva N.J., Couturier E., Fournet N., de Valk H., Desenclos J.C., 2017. Estimated Annual Numbers of Foodborne Pathogen-Associated Illnesses, Hospitalizations, and Deaths, France, 2008-2013. *Emerg Infect Dis* 23, 1486-1492.

Van Immerseel F., De Buck J., Boyen F., Bohez L., Pasmans F., Volf J., Sevcik M., Rychlik I., Haesebrouck F., Ducatelle R., 2004. Medium-chain fatty acids decrease colonization and invasion through *hilA* suppression shortly after infection of chickens with *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. *Appl Environ Microbiol* 70, 3582-3587.

Van Immerseel F., Methner U., Rychlik I., Nagy B., Velge P., Martin G., Foster N., Ducatelle R., 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., Cloeckert A., 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.

Volf J., Polansky O., Varmuzova K., Gerzova L., Sekelova Z., Faldynova M., Babak V., Medvecký M., Smith A.L., Kaspers B., Velge P., Rychlik I., 2016. Transient and Prolonged Response of Chicken Cecum Mucosa to Colonization with Different Gut Microbiota. *PLoS ONE* 11, e0163932.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0).



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL ou DOI).