

DEPISTAGE SEROLOGIQUE DES SALMONELLOSES AVIAIRES A *S. ENTERITIDIS*

Proux Karine, Humbert Florence, Guittet Michèle, Bennejean G.

CNEVA, Laboratoire Central de Recherches Avicole et Porcine, Beaucemaine B.P.53, 22440 Ploufragan

Résumé

Dans le cadre de l'application de la Directive Zoonose 92/117/CEE un protocole de surveillance des troupeaux de reproducteurs doit être établi en précisant les contrôles sérologiques et bactériologiques, et à cette fin, la technique ELISA a été retenue pour les contrôles sérologiques. Les essais entrepris par inoculation intramusculaire de *S. Enteritidis* à des poulets EOPS montrent que les individus séropositifs augmentent proportionnellement avec la dose de *Salmonelles* injectées, par contre seuls les animaux ayant reçu la dose la plus forte se sont révélés bactériologiquement positifs à partir des fèces.

Par ailleurs, des reproducteurs EOPS inoculés per os avec 10^9 *S. Enteritidis* ont montré une séroconversion importante, par contre la transmission verticale des anticorps maternels aux poussins apparaît peu élevée.

Introduction

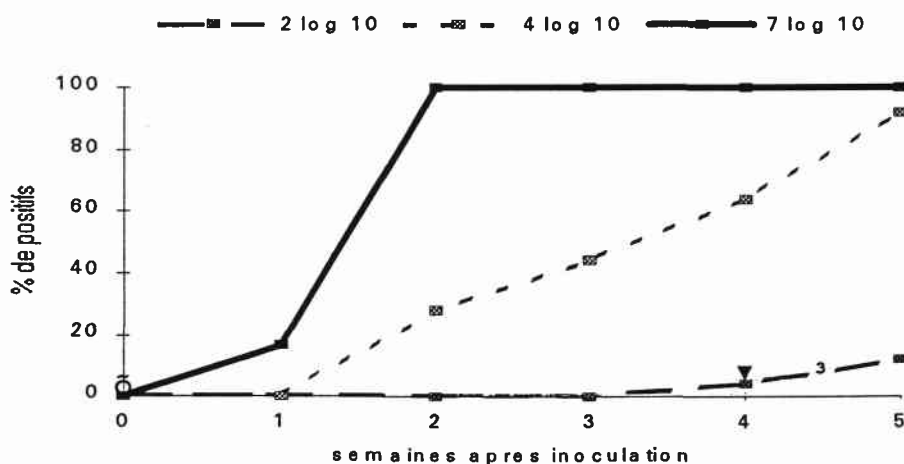
L'augmentation des toxi-infections alimentaires collectives, ces dernières années, est corrélée à la prévalence de l'infection salmonellique dans les troupeaux de volailles. S'agissant des *Salmonelles* dites invasives, sollicitant l'immunité générale, le développement de nouvelles techniques sérologiques s'avère une nécessité. De plus, la Directive 92/117/CEE prévoit l'utilisation de la sérologie pour le dépistage des infections à *Salmonella* Enteritidis et Typhimurium chez les troupeaux de reproducteurs *Gallus gallus* dans la mesure où les contrôles sérologiques offrent des garanties équivalentes aux analyses bactériologiques.

Afin d'assurer cette surveillance, il a été mis au point une technique ELISA dont les résultats ont été comparés aux résultats des analyses bactériologiques. Les essais entrepris pour comparer ces deux techniques ont concerné des poulets EOPS inoculés avec différentes doses de *Salmonelles* et des reproducteurs EOPS en examinant la sérologie et la bactériologie chez les parents et les descendants.

I. Résultats sérologiques et bactériologiques en fonction de la dose de *Salmonelles* inoculées

Trois lots de 25 poulets EOPS âgés de 8 semaines ont été inoculés avec différentes doses (10^2 , 10^4 et 10^7 /ml/sujet) de *Salmonella* Enteritidis phage type 4 par voie intramusculaire. Les réponses sérologiques sont plus élevées lorsque la dose inoculée est plus importante (cf FIGURE 1).

FIGURE 1 : Pourcentage d'animaux sérologiquement positifs après inoculation



100% des animaux sont positifs dès la deuxième semaine après l'inoculation de 10^7 Salmonelles. Avec la dose inoculée de 10^4 : 28% des animaux sont positifs 2 semaines plus tard pour atteindre 92% de positifs après 5 semaines. Par contre, seulement 12% des sujets sont séropositifs 5 semaines après l'inoculation de 10^2 S. Enteritidis.

Des analyses bactériologiques ont été réalisées à partir des prélèvements de fientes, des chiffonnettes passées sur les murs des animaleries, les parois des cages chaque semaine ainsi que des prélèvements d'organes à l'abattage à 5 semaines post-inoculation (foies, rates et caeca). Seuls les animaux ayant reçu 10^7 S. Enteritidis ont présenté chaque semaine des fientes positives et les chiffonnettes de l'animalerie concernée ont été positives. A l'abattage un seul foie s'est révélé positif. Quant aux deux autres lots, inoculés avec des doses plus faibles (10^2 et 10^4), toutes les analyses bactériologiques se sont avérées négatives. Ainsi des Salmonelles introduites par voie intramusculaire jusqu'à la dose 10^4 /animal ne semblent donc pas toujours être ré-excrétées par voie digestive.

II. Transmission verticale des anticorps maternels aux poussins

Des poules reproductrices EOPS ont été inoculées par voie orale, à raison de 10^9 S. Enteritidis phage type 4, à 45 et 47 semaines et mises en contact avec des coqs EOPS non-inoculés. Les résultats des analyses sérologiques et bactériologiques réalisées à partir des fientes et chiffonnettes des poules ainsi que des poussins issus de ces animaux sont présentés dans le tableau ci-après.

TABLEAU 1 : Résultats bactériologiques et sérologiques chez les reproductrices et les poussins.

REPRODUCTRICES (réparties dans 2 cages)				POUSSINS d'1 jour	
Age des sujets (semaine de ponte)	inoculation	bactériologie 2 fientes+1chiffonnette	sérologie % sérums positifs (nbre de +/- nbre de sérums)	bactériologie	sérologie % sérums positifs (nbre de +/- nbre de sérums)
45 (22)	10^9 S. Ent	–	0 (0+/44)	–	0 (0+/20)
46 (23)		fientes positives dans 1 cage	0 (0+/44)	–	0 (0+/8)
47 (24)	10^9 S. Ent	–	95 (42+/44)	–	20 (2+/10)
48 (25)		fientes positives dans l'autre cage	80 (35+/44)	–	15 (3+/20)
49 (26)		–	98 (43+/44)	–	22 (4+/18)
50 (27)		–	95 (42+/44)	–	0 (0+/9)
51 (28)		–	93 (41+/44)	–	42 (8+/19)
52 (29)		–	93 (41+/44)	–	17 (2+/12)
53 (30)		–	84 (37+/44)	–	8 (1+/12)

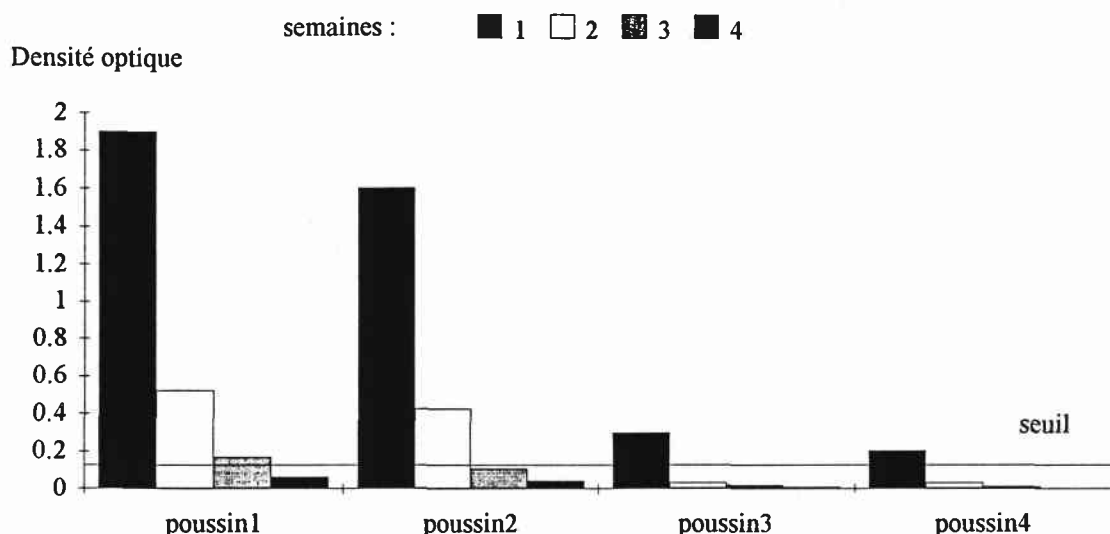
(-) : résultats négatifs

- En ce qui concerne les résultats sérologiques : 95% des poules se sont révélées positives deux semaines après la première inoculation et 98% deux semaines après la seconde inoculation et se sont maintenues à un niveau de plus de 80% 8 semaines après la première inoculation.

Les 7 coqs non inoculés sont demeurés négatifs durant toute la durée de l'essai ; ils n'ont donc pas été contaminés horizontalement par les poules.

Par ailleurs, a été observée une faible séropositivité des poussins d'un jour avec un maximum de 42% des poussins positifs 4 semaines après la seconde inoculation des reproductrices. La transmission des anticorps maternels semblerait partiellement freinée par la barrière ovarienne. Un suivi sérologique effectué sur les poussins, jusqu'à 9 semaines après leur naissance, montre la persistance des anticorps au-dessus du seuil de séropositivité durant 1 à 3 semaines (cf FIGURE 2).

FIGURE 2 : Evolution cinétique des anticorps de 4 poussins séropositifs à 1 jour



- Dans cet essai, les poules inoculées ont excrété rapidement les *Salmonelles* dans leurs fientes (fientes positives une semaine après inoculation) puis elles se sont négativées bactériologiquement et n'ont pas transmis ces germes aux coqs ou aux poussins. Une contamination même massive par *Salmonella Enteritidis* d'animaux âgés ne semble pas provoquer le portage sain durable que l'on observe chez des animaux contaminés très jeunes dans les conditions du terrain (couvoir, premiers jours d'élevage). Les animaux âgés possèdent certainement une flore de barrière qui empêche l'implantation des *Salmonelles* inoculées. D'autre part, les analyses bactériologiques pratiquées sur les fientes de poussins, les chiffonnettes ou les oeufs se sont révélées négatives. Ces résultats confirment les données bibliographiques concernant la très faible contamination des oeufs donc des poussins par voie ovarienne (1 oeuf sur 200 à 1 sur 1000 est ainsi contaminé (Ebel et al., 1992)).
- La transmission verticale des anticorps maternels et des germes aux poussins doit faire l'objet d'un autre essai avec de jeunes reproductrices d'élevage contaminées naturellement et qui seraient porteuses à long terme de *Salmonelles* afin de mieux reproduire les phénomènes complexes d'équilibre hôte-bactérie que l'on constate sur le terrain.

Conclusion

La technique ELISA assure la détection des anticorps anti-salmonelliques même lors d'une faible inoculation intramusculaire au contraire des analyses bactériologiques qui sont alors négatives. Toutefois, la voie intramusculaire n'étant pas naturelle, une faible inoculation par cette voie ne favoriserait peut-être pas le passage des *Salmonelles* dans le tractus digestif donc leur détection bactériologique. Les voies orale et nasale seraient préférables pour reproduire les conditions naturelles de contamination, mais la dose inoculée doit dans ce cas être forte.

Enfin, la transmission des anticorps maternels aux poussins d'un jour doit être précisée à partir de reproductrices naturellement contaminées.

Références

- Ebel E.D., David M.J., Mason J., 1992. Av. Diseases, 36, 646-654.
 Fawcett P.T., Gibney K.M., Rose C.D., Klein J.D., Doughty R.A. , 1991. The Journal of Rheumatology, 18(5), 705-708.
 Kles V., Morin M., Humbert F., Lalande F., Guittet M., Bennejean G., 1993. J. Vet. Med., 40, 305-325.