ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE DE DIFFÉRENTES SOUCHES AVIAIRES À L'INFECTION ET AU PORTAGE DE *SALMONELLA ENTERIDIS*.

Beaumont Catherine[1], Duchet-Suchaux Marion[2], Berthelot Florence[2], Monpart Florence[2], Protais Jocelyne[3], Colin P.[3], Lantier F.[2], Girard-Santossuosso Odile[2], Lantier Isabelle[2], Guillot J.F.[4], Millet Nicole[1], et Pardon P.[2]

[1] INRA, Station de Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly, France.
[2] INRA, Station de Pathologie Infectieuse et Immunologie, 37380 Nouzilly, France.
[3] CNEVA, Laboratoire Central de Recherches Avicole et Porcine, 22440 Ploufragan, France.
[4] INRA, Station de Pathologie Aviaire et Parasitologie, 37380 Nouzilly, France.

Résumé

Des différences significatives de la résistance de quatre lignées aviaires vis-à-vis de *Salmonella* Enteritidis ont été observées à différents âges à l'inoculation (naissance, 7 jours, avant l'entrée en ponte et au pic de ponte) et dans différents modèles (mortalité de poussins d'un jour, colonisation après inoculation orale de poussins ou de poules). La cinétique de colonisation des principaux organes diffère également selon les lignées. Il existe par ailleurs un polymorphisme de plusieurs marqueurs génétiques putatifs d'un gène de résistance aux salmonelles, analogue au gène murin *Ity* et qui pourrait être conservé chez la Poule. Au vu de l'ensemble de ces résultats, une étude des éventuelles possibilités d'amélioration génétique de cette résistance peut débuter.

Introduction

Les toxi-infections alimentaires liées à l'ingestion d'oeufs, d'ovoproduits ou de produits avicoles contaminés par *Salmonella* Enteritidis (SE) constituent un risque pour le consommateur et affectent l'image de la filière. Une des façons de réduire ce risque serait d'améliorer la résistance des animaux vis-à-vis du portage de cette bactérie, (défini par la persistance de SE par commensalisme et/ou infection dans l'animal plusieurs jours à plusieurs mois après l'infection). Les données concernant les possibilités d'amélioration génétique de ces caractères sont rares. Bumstead et Barrow (1988, 1993) ont montré qu'il existe une variabilité génétique de la résistance des poussins à la mortalité induite par l'inoculation de différents sérotypes de salmonelles. Par contre, aucune étude sur la variabilité génétique du portage ou de l'excrétion de cette bactérie n'avait été réalisée jusqu'à présent.

La résistance à *Salmonella* Enteritidis est un phénomène complexe. Il faut donc considérer chacune des phases pathogéniques de l'infection, dont le déterminisme peut varier avec l'âge et l'état physiologique des animaux. Différents modèles de contamination ont donc été étudiés à plusieurs âges. Dans une première expérience, la résistance a d'abord été mesurée par la dose létale 50 % de poussins inoculés par voie intramusculaire à un jour (Guillot et al., 1995). Cette première mesure a permis de distinguer une lignée aviaire résistante, (de type chair) Y11, une lignée intermédiaire (de type Leghorn), PA12, et deux lignées sensibles de type ponte, (C2 et B13). Dans une seconde expérience menée au pic de ponte, la présence de SE a été recherchée dans les principaux organes. La sensibilité de C2 a été retrouvée mais le classement des autres lignées différait selon les organes (Protais et al., 1995a). Ces résultats montrent l'intérêt d'une cinétique de colonisation des organes pour mieux préciser le protocole de comparaison des 4 lignées. Ceci a été réalisé à trois âges (1 semaine, avant l'entrée en ponte et au pic de ponte).

1/ Cinétique de colonisation chez le poussin

Après inoculation orale de poussins d'une semaine par 5 x 10^4 unités formant colonies d'une souche de SE résistante à la streptomycine et à l'acide nalidixique, les salmonelles ont été dénombrées dans l'ovaire, le foie, la rate et les cæca (Duchet-Suchaux et al. , sous presse). Dix animaux par lignée ont été étudiés une fois par semaine pendant 6 semaines, puis tous les 8 ou 15 jours jusqu'à la 12ème semaine après inoculation. L'expérience a porté sur un total de 100 à 120 poussins par lignée et a été répétée une fois. SE a été détectée dans les foies et les rates jusqu'à la 5ème semaine après l'inoculation. Les niveaux de bactéries dans ces organes

ont peu différé d'une lignée à l'autre. Les cæca ont présenté des SE jusqu'à la 12ème semaine après l'épreuve. Des différences dans les niveaux, les fréquences et les durées de colonisation des cæca ont été observées entre les quatre lignées. Les cinétiques de colonisation des cæca diffèrent d'une expérience à l'autre. Mais les poulets B13 et C2 portaient *Salmonella* dans les cæca en plus grand nombre, plus longtemps et à des fréquences plus grandes que les poulets PA12 et Y11. Les poulets Y11 ont toujours été les plus résistants (Duchet-Suchaux *et al.*, soumis).

2/ Comparaison des taux de portage dans les quatre lignées avant la ponte et au pic de ponte.

Trente-deux poules de chaque lignée (Y11, PA12, C2 et B13) ont été inoculées par voie orale avec environ 10^9 Salmonelles puis élevées en cage individuelle. Une, deux, quatre et six semaines après inoculation, huit animaux par souche ont été sacrifiés et les salmonelles recherchées dans le foie, la rate, les cæca, l'ovaire et l'oviducte. Ce protocole a été appliqué deux fois, sur des animaux au pic de ponte et sur des poulettes en période d'élevage.

Chez les poules testées au pic de ponte, une ou deux semaines après inoculation par SE, les fréquences de contaminations étaient élevés pour les foies, les rates et les cæca (>75 % une et deux semaines après inoculation), sauf pour la lignée PA12 deux semaines après inoculation. Les ovaires étaient moins souvent contaminés. Une diminution de la fréquence des organes positifs est perceptible 4 semaines après inoculation ; cette fréquence devient très faible ou nulle 6 semaines plus tard. 4 semaines après l'inoculation, très peu d'organes sont contaminés chez les B13 (1foie sur 8) et Y11 (1 rate sur 6, 2 cæca sur 6). En revanche, les organes des poules B13 et C2 sont encore fréquemment contaminés quatre ou six semaines après inoculation ; la lignée C2 s'avère la moins résistante. Chez les animaux inoculés avant l'entrée en ponte, des différences analogues ont été observées entre lignées mais les fréquences de contamination sont plus faibles et la persistance moins longue.

3/ Mise en évidence chez le poulet de polymorphismes pour des marqueurs génétiques putatifs d'un gène de résistance aux salmonelles équivalent au gène murin *Ity*.

Chez la Souris, la phase précoce de l'infection à *Salmonella typhimurium* est contrôlée par le gène *Ity* (pour Immunity to *Salmonella typhimurium*). Exprimé dans les macrophages de la rate et du foie, le gène *Ity* contrôle, dans cette espèce, la multiplication de *S. typhimurium* lors de la première semaine de l'infection. Un gène candidat pour les gènes *Bcg/Lsh/Ity* vient d'être cloné (Vidal et al., 1993). Le groupe de liaison correspondant au gène murin *Ity* est conservé chez les Mammifères, notamment l'Homme, les ovins et les bovins, d'où l'hypothèse de la conservation de ce groupe chez les oiseaux.

Des polymorphismes de type RFLP (Restriction fragments length polymorphism) ont été mis en évidence entre Y11, B13 et C2 pour des marqueurs du gène murin *Ity* : sous unité gamma du récepteur à l'acétylcholine, fibronectine, paired box 3 (Pax) entre des animaux des lignées Y11 et B13 ainsi qu'entre des animaux de la lignée C2. Un polymorphisme de restriction enzymatique après amplification génique d'un fragment de la villine de l'intestin de poulet a été observé entre Y11 et B13. La coségrégation de ces marqueurs polymorphes avec la résistance à *S.* Enteritidis sera étudiée sur des descendants F2 issus de croisements entre les lignées Y11 et B13 et entre les lignées Y11 et C2.

Conclusion

Dans les conditions de ces expérimentations la résistance à la Salmonellose diffère dans les quatre lignées de Poule étudiées. Cette différence pourrait être d'origine génétique. En conséquence, il convient d'estimer l'héritabilité des différents critères de sélection étudiés, ainsi que de tester l'effet éventuel d'un gène majeur tel que *Ity* sur ces mêmes critères ; ces études permettront de déterminer si une amélioration génétique de la résistance des poulets à SE peut être envisagée, et, dans l'affirmative, d'en préciser les modalités.

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre de l'Action Incitative Programmée INRA "gènes de résistance aux maladies des plantes et des animaux". Les auteurs remercient tous ceux qui ont rendu ce travail possible.

Références

Bumstead N., Barrow P.A., 1988. Br. Poult. Sci., 29, 521-529.
Bumstead N., Barrow P., 1993. Av. Diseases, 37, 189-193.
Duchet-Suchaux M., Léchopier P., Marly J., Bernardet P., Delaunay R., Pardon P., 1994. Vet. Res. 25, 413 (Abstr.)
Duchet-Suchaux M., Mompart F., Berthelot F., Beaumont C., Léchopier P., Pardon P. Soumis à Vet. Sci.
Guillot J.F., Beaumont C., Bellatif F., Mouline C., Lantier F., Colin P., Protais J., 1995. Vet. Res., 26 (2): sous presse.
Protais J., Colin P., Beaumont C., Guillot J.F., Lantier F., Pardon P., Bennejean G. soumis à Br. Poult. Sci.
Protais J., Colin P., Beaumont C., Millet N., Duchet-Suchaux M., Guillot J.F., Lantier F., Pardon P. Soumis à Vet Res.
Vidal S.M., Malo D., Vogan K., Skamene E., Gros P. 1993. Cell., 73, 469-485.