

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA COLONISATION DU POULET PAR SALMONELLA ENTERITIDIS TYPE PHAGIQUE 4

Bellatif F. ^{1,3}, Mouline C. ¹, Guillot J.-F. ^{1,2}

¹INRA, Station de pathologie aviaire et parasitologie, 37380 Nouzilly

²Université de Tours, 37023 Tours Cedex

³Laboratoire de bromatologie du centre-ouest, 86000 Poitiers

Résumé

L'étude expérimentale comparative de la colonisation de poulets axéniques et gnotoxéniques, après contamination orale avec une souche de Salmonella Enteritidis PT4 responsable de toxi-infections alimentaires humaines, a montré la facilité de colonisation du tube digestif stérile et la nécessité d'un inoculum minimum chez les animaux porteurs d'une microflore digestive.

La contamination orale conduit aussi à l'infection de la rate, du foie et rarement des ovaires dont la contamination n'a été observée que chez les animaux monoxéniques. Le plasmide présent chez Salmonella Enteritidis influe aussi sur la colonisation intestinale.

Ces résultats confirment la sensibilité du poussin à la colonisation salmonellique, l'effet protecteur relatif de la microflore digestive ainsi que l'influence possible de gènes plasmidiques.

Introduction

La filière avicole, filière particulièrement structurée, est une des principales cibles des contaminations salmonelliques. La lutte contre les salmonelles aviaires devient complexe en raison de la fréquence importante du portage sain de Salmonella dans l'intestin des volailles. De plus, les sérovars actuellement dominants, *S. Enteritidis* et *S. Typhimurium*, présentent peu de spécificité d'hôte.

Plusieurs moyens de lutte ont été envisagés, notamment l'antibiothérapie. Mais l'efficacité de tels traitements se trouve actuellement limitée par l'acquisition par Salmonella de gènes plasmidiques de résistance ; ou encore par l'apparition de mutations qui induisent une résistance spécifique à toute une famille d'antibiotiques, ou des résistances croisées à plusieurs familles d'antibiotiques.

Nous nous sommes intéressés dans notre cas, à un autre moyen de lutte préventive : le phénomène d'exclusion compétitive observé par Nurmi et Rantala (1973), dû au rôle protecteur joué par la microflore intestinale du poulet. L'effet de barrière de cette microflore a été étudié, ainsi que l'influence sur la colonisation des gènes plasmidiques chez la salmonelle.

Matériels et Méthodes

Des poulets de la souche Leghorn blanche, axéniques à la naissance et pouvant être assimilés aux poussins nouveau-nés dans les élevages, ont servi de modèle expérimental. Pour étudier la colonisation intestinale, une souche virulente de Salmonella Enteritidis type phagique 4 d'origine humaine et responsable de toxi-infection alimentaire collective, a été inoculée oralement aux animaux axéniques et gnotoxéniques. L'examen des organes internes des poulets contaminés a permis d'étudier l'invasivité de la souche bactérienne.

2 séries de 5 lots de 10 poussins axéniques de la souche Leghorn Blanche, lignée PA 12, ont été répartis dans 5 isolateurs stériles. Une culture pure de 24 heures en bouillon Brain Heart Infusion (BHI) de la souche de Salmonella Enteritidis P+ a été utilisée. Pour chaque série d'animaux, cinq dilutions ont été préparées. 0,5 ml de chaque dilution a été administré par voie orale aux animaux âgés d'une semaine. Les animaux de la première série ont reçu 5×10^2 , 5×10^4 , 5×10^6 ou 5×10^8 ufc/animal. Ceux de la deuxième série ont reçu 25 , $2,5 \times 10^2$, $2,5 \times 10^4$, $2,5 \times 10^6$ ou $2,5 \times 10^8$ ufc/animal. Pour chaque lot de poulets, les fèces de 4 animaux identifiés ont été prélevées puis analysées régulièrement pendant 4 semaines. A six semaines d'âge, les animaux ont été sacrifiés et les organes internes analysés pour la recherche de Salmonella. Les mêmes expériences ont été conduites avec cette fois la souche de Salmonella Enteritidis curée du plasmide qu'elle hébergeait (P-).

Résultats - Discussion

Chez le poulet monoxénique, quel que soit le nombre de bactéries inoculées, Salmonella Enteritidis atteint des tailles de populations élevées (10^7 à 10^9 ufc/g de fèces) rapidement après la contamination (fig. 1). Aucune dose seuil ne semble nécessaire à l'implantation de Salmonella chez le poulet axénique, phénomène déjà observé pour d'autres Entérobactéries (Guillot et al., 1977). En l'absence de toute flore intestinale, Salmonella colonise donc aisément et à haut niveau le tube digestif des volailles, et est constamment retrouvée dans les déjections fécales.

La contamination de deux ovaires sur 24 chez les femelles monoxéniques démontre le caractère invasif du sérovar Enteritidis après contamination orale, déjà invoqué par Barrow en 1991. Le faible nombre d'ovaires contaminés confirme les observations de Protais et Lahellec (1989), selon lesquelles quelques organes seulement sont infectés après inoculation *per os* de fortes doses de Salmonella Enteritidis. L'infection de ces organes est le résultat d'un phénomène de tropisme dès les premières heures après la contamination (Barrow, 1991).

En présence d'une microflore aviaire, un minimum de concentration de l'inoculum, de l'ordre de 10^2 à 10^4 Salmonella Enteritidis par animal est nécessaire pour coloniser le tube digestif du poulet (fig. 2). L'implantation de Salmonella dans le tube digestif dépend donc de la taille de l'inoculum administré au départ. La microflore aviaire est également à l'origine du retard de la colonisation de l'intestin du poulet gnotoxénique par Salmonella Enteritidis, et de l'irrégularité de son excrétion dans les fèces. Ces observations confirment le rôle de barrière joué par la microflore intestinale, rapporté par Nurmi et Rantala (1973).

En comparaison avec la souche sauvage porteuse du plasmide, Salmonella Enteritidis P- colonise l'intestin du poulet gnotoxénique plus rapidement, mais elle persiste ensuite dans le tube digestif à des taux plus faibles (fig. 3). Pour coloniser le tube digestif des poulets hébergeant une microflore aviaire, une concentration minimale, comprise entre 10^3 et 10^5 ufc/par animal, administrée par voie orale est nécessaire pour cette souche, comme pour la souche sauvage. Son implantation dans le tube digestif dépend donc également de la dose inoculée au départ et présente aussi un seuil minimum de contamination.

Dans nos conditions expérimentales, l'infection plus fréquente, avec Salmonella Enteritidis sans plasmide, des rates et des foies des animaux inoculés avec de fortes doses suggère que le plasmide réduirait le pouvoir invasif de la souche (Bellatif, 1994).

Au niveau des caecums, Salmonella Enteritidis sans plasmide est plus fréquemment isolée que dans les fèces, mais les tailles de population atteintes sont similaires. Si l'excrétion de Salmonella Enteritidis PT4 dans les fèces est intermittente, sa présence dans les contenus caecaux est plus régulière.

Conclusion

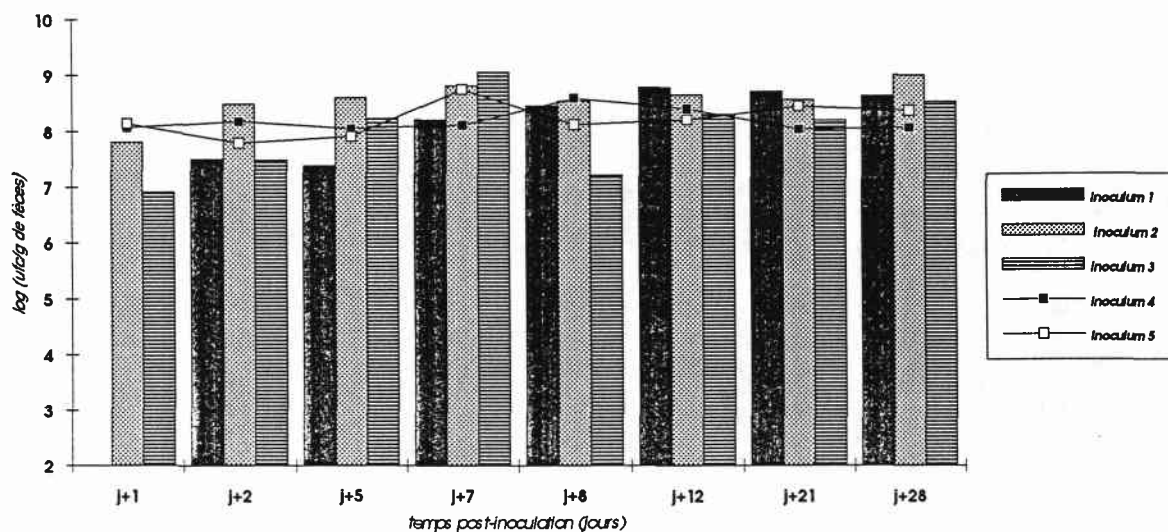
Ces résultats montrent la complexité de la colonisation intestinale du poulet et confirment la sensibilité du poussin à la colonisation salmonellique ainsi que l'effet protecteur relatif de la microflore digestive. Ils suggèrent également que le plasmide joue un rôle dans la virulence de Salmonella Enteritidis, mais contrairement aux résultats obtenus par Barrow en 1991 avec des poulets de chair, il semble réduire le pouvoir invasif de la bactérie pour la lignée de volailles PA 12 utilisée. La résistance intermédiaire de cette lignée à l'infection par Salmonella a par ailleurs été démontrée (Beaumont et al., 1992 ; Guillot et al., 1995). Le rôle précis joué par le plasmide dans la virulence et dans la pathogénie des salmonelles nécessite des études complémentaires.

Références

- Barrow P.A., 1991. *Avi. Path.*, 20, 145-153.
- Beaumont C., Guillot J.-F., Bellatif F., Mouline C., Lantier F., Colin P., Protais J., 1992. in: Salmonella and Salmonellosis. (CNEVA-INRA edit.), 166-167.
- Bellatif F., 1994. Thèse de Doctorat de l'Université, Poitiers, 151 pp.
- Guillot J.-F., Beaumont C., Bellatif F., Mouline C., Lantier F., Colin P., Protais J., 1995. *Vet. Research*, 26,2. Sous presse.
- Guillot J.-F., Chaslus-Dancla E., Lafont J.-P., 1977. *Antimicrob. Ag. Chemo.*, 12, 697-702.
- Nurmi E., Rantala M., 1973. *Nature*, 241, 210-211
- Protais J., Lahellec C., 1989. *Sci. Alim. hors série*, X9, 43-50

Figure 1

Colonisation intestinale du poulet axénique par Salmonella Enteritidis P+

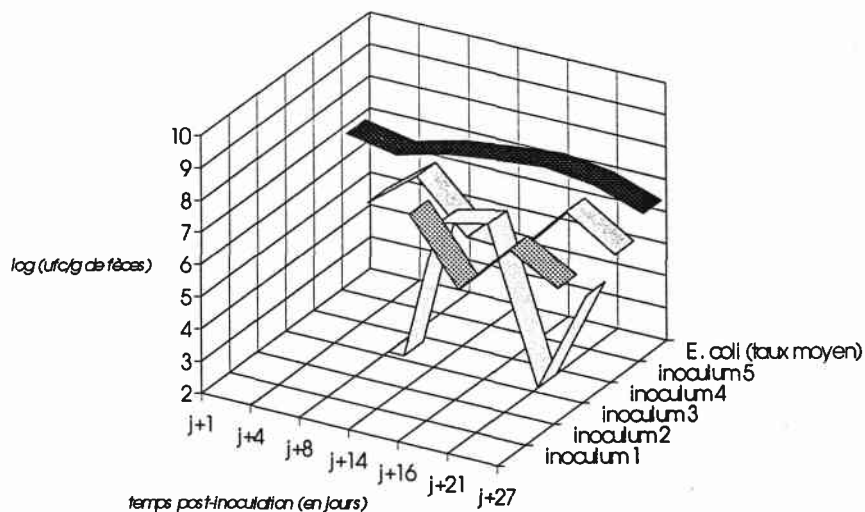


inoculum 1 : 5 SEP+/animal ; inoculum 2 : 5×10^2 SEP+/animal ; inoculum 3 : 5×10^4 SEP+/animal

inoculum 4 : 5×10^6 SEP+/animal ; inoculum 5 : 5×10^8 SEP+/animal

Figure 2

Colonisation intestinale du poulet gnotoxénique par S. Enteritidis P+

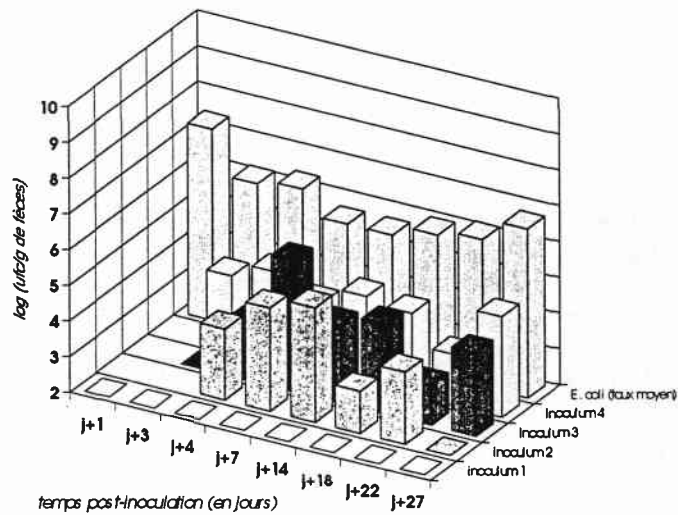


inoculum 1 : 25 SEP+/animal ; inoculum 2 : $2,5 \times 10^2$ SEP+/animal ; inoculum 3 : $2,5 \times 10^4$ SEP+/animal

inoculum 4 : $2,5 \times 10^6$ SEP+/animal ; inoculum 5 : $2,5 \times 10^8$ SEP+/animal

Figure 3

Colonisation intestinale du poulet gnotoxénique par S. Enteritidis P-



inoculum 1 = $1,24 \times 10^3$ SEP-/animal
inoculum 2 = $1,24 \times 10^5$ SEP-/animal
inoculum 3 = $1,24 \times 10^7$ SEP-/animal
inoculum 4 = $1,24 \times 10^9$ SEP-/animal