

RESISTANCE GENETIQUE A L'INFECTION PAR LES SALMONELLES.

Beaumont Catherine¹, Berthelot Florence², Colin Pierre³, Duchet-Suchaux Marion²,
Elsen Jean-Michel⁴, Girard-Santosuosso Odile², Guillot Jean-François⁵, Lantier Frédéric²,
Protais Jocelyne³, et Pardon Pierre².

¹ INRA, Station de Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly, ² Station de Pathologie Infectieuse et Immunologie, 37380 Nouzilly, ³ CNEVA, Zoopôle, 22440 Ploufragan, ⁴ INRA, Station d'Amélioration Génétique des Animaux, 31326 Castanet-Tolosan. ⁵ INRA, Station de Pathologie Aviaire et Parasitologie, 37380 Nouzilly,

Résumé

L'importance de la génétique dans la résistance du Poulet à la mortalité après infection par *Salmonella* Gallinarum Pullorum ou par *Salmonella* Typhimurium a été démontrée il y a plusieurs années. Au moins un gène majeur de résistance serait impliqué, ce qui pourrait faciliter beaucoup la sélection. Mais actuellement il serait très important d'améliorer également la résistance vis-à-vis de l'infection par *Salmonella* Enteritidis, sérotype responsable de nombreuses contaminations humaines. Des résultats récents indiquent que la génétique intervient. Un marqueur ayant un effet significatif sur la résistance à treize semaines vis-à-vis de l'infection systémique a été identifié. De nombreux travaux restent à réaliser avant toute application mais l'ensemble des résultats permettent d'envisager à terme une sélection des animaux pour la résistance vis-à-vis des salmonelles.

Abstract

Genetic resistance to infection by *Salmonella* enteritidis in poultry.

The importance of genetics in resistance of poultry to mortality after infection by *Salmonella* gallinarum pullorum or by *Salmonella* typhimurium has been demonstrated several years ago. At least one major gene of resistance would be involved which could facilitate the selection much. But at the present time, it would also be very important to improve resistance to infection by *Salmonella* enteritidis (which is responsible for human toxoinfections). Recent results indicate that genetics is involved in resistance to systemic infection and to carrier-state. A significant effect of a marker gene on resistance to systemic infection at 13 weeks of age has been evidenced. More work is needed before practical applications but all these results suggest that a selection for increased resistance to *Salmonella* could be envisioned.

Introduction

Les salmonelloses représentent depuis toujours l'une des principales causes de maladies et de mortalité des espèces avicoles, les sérotypes les plus pathogènes étant *Salmonella* Gallinarum Pullorum et *Salmonella* Typhimurium. L'idée d'augmenter la résistance des animaux à la mortalité est donc ancienne. Dès 1941, Hutt et Scholes montrent, d'après les résultats d'expérimentation "naturelle" que certaines souches aviaires présentent un pourcentage de survie plus important. En 1988, Bumstead et Barrow comparent dans différentes lignées aviaires consanguines les taux de mortalité après infection expérimentale de poussins d'un jour par *Salmonella* Typhimurium. Ils notent des différences notables. Mais sélectionner sur la résistance soulève deux principales difficultés. Il faut disposer d'installations expérimentales réservées à l'inoculation de bactéries potentiellement pathogènes. Les animaux infectés pouvant contaminer les autres, il est de plus nécessaire de réaliser une sélection "sur collatéraux" en testant les frères et sœurs des

candidats à la reproduction. La sélection pourrait donc être grandement facilitée si l'existence d'un ou plusieurs gènes majeurs de résistance était démontrée. Dans ce cas il "suffirait" de retenir pour la sélection les animaux porteurs de l'allèle conférant cette résistance. Ceci implique d'avoir identifié la mutation causale responsable de la différence entre animaux sensibles et résistants. A défaut, il serait déjà très utile de disposer d'un marqueur de ce gène, c'est-à-dire d'un locus très proche et présentant un fort polymorphisme. Cela permettrait de suivre la ségrégation des allèles du marqueur et d'en déduire (au taux de recombinaison près) celles des allèles du gène de résistance ; c'est la sélection assistée par marqueur qui réduit voire annule le nombre d'inoculations expérimentales nécessaires. Les croisements entre lignées sensibles et résistantes réalisés par Bumstead et Barrow (1988) suggèrent fortement l'existence d'un tel gène "majeur" de résistance expliquant une grande partie des différences de mortalité observées entre ces lignées.

Mais, depuis la fin des années 80, ce sont les contaminations des volailles par *Salmonella* Enteritidis qui posent les problèmes les plus préoccupants car elles peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires humaines parfois mortelles. Avec ce sérotype l'infection dite "systémique" car propagée par le sang à tout l'organisme ne s'accompagne que rarement de mortalité ; elle reste souvent asymptomatique. Il est donc impossible de confondre mortalité et infection systémique (mise en évidence par la contamination des organes internes). Il faut également considérer les risques de portage de salmonelles dans les caeca. Ce portage peut en effet entraîner non seulement une contamination des carcasses (notamment lors de l'éviscération) mais également des oeufs (par souillure de la coquille) ou, par voie rétrograde, des ovaires. Il peut de plus persister sans contamination systémique (Duchet-Suchaux et al., 1995). Rien ne permet actuellement d'affirmer qu'augmenter la résistance à la mortalité ou à l'infection systémique réduira le portage, d'où l'intérêt de la prise en compte simultanée de ces trois aspects. Plusieurs études conjointes de la résistance aux Salmonelles ont été menées récemment ; cette présentation en fait la synthèse.

1. Résistance à la mortalité de poussins d'un jour.

Les premiers résultats de Bumstead et Barrow (1988) avaient été obtenus en inoculant *Salmonella* typhimurium à des poussins d'un jour appartenant à des lignées consanguines. En 1993, les mêmes auteurs inoculent leurs lignées avec *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum ou *Salmonella* Enteritidis. La sensibilité des lignées varie peu avec le sérovar inoculé ce qui suggère la possibilité d'augmenter la résistance vis-à-vis de l'ensemble de ces Salmonelles. Avec le même test d'inoculation et en utilisant *Salmonella* Enteritidis, Guillot et al. (1995) mettent en évidence des différences de sensibilité entre lignées non consanguines. L'héritabilité de ce caractère, estimée dans la lignée L2, la plus sensible, apparaît très élevée : 0.34 ± 0.1 (Beaumont et al., 1997). Cette forte valeur montre qu'il serait possible d'améliorer, par sélection, la résistance à la mortalité après inoculation de poussins d'un jour. Elle est tout-à-fait compatible avec la présence d'un gène majeur ségrégeant dans cette lignée ; identifier ce gène et ses allèles sensibles et résistants faciliterait beaucoup la sélection.

Or chez la Souris (dont la génétique moléculaire est particulièrement bien connue), plusieurs gènes de résistance aux Salmonelles ont été identifiés et certains clonés. Tel est le cas du gène dit *Ity* car responsable de l'infection à *Salmonella* typhimurium (Plant et Glynn, 1976) qui détermine notamment le nombre de Salmonelles retrouvées dans la rate après une injection intraveineuse. Un gène candidat, dit *Nramp*, a été cloné chez la Souris (Vidal et al., 1993) puis chez le Poulet (Hu et al., 1996). Mais le polymorphisme de ce gène n'explique qu'une faible partie des différences entre lignées observées par

Bumstead et Barrow en 1988 (Barrow et Bumstead, 1996). D'autres gènes doivent intervenir ; ils pourraient être identifiés en testant les différents gènes de résistance identifiés chez la Souris. Une autre voie de recherches consisterait à les localiser sur le croisement réalisé par Bumstead et Barrow (1988) à l'aide des marqueurs déjà identifiés sur la carte génique de la Poule (Burt et al., 1995).

2. Résistance au portage dans les caeca chez le jeune

Duchet-Suchaux et al. (1995a) ont mis au point un modèle d'étude du portage dans les caeca dans lequel ils inoculent oralement des poussins d'une semaine. Duchet-Suchaux et al. (1995b) comparent les fréquences de portage des lignées précédemment étudiées par Guillot et al. (1995). Si les fréquences et niveaux de contamination des rates et foies sont similaires dans les quatre lignées, des différences significatives sont observées au niveau des caeca. Selon ce dernier critère, le classement des lignées est assez comparable à celui obtenu par Guillot et al. (1995). L'héritabilité de la résistance au portage caecal a été estimée dans la lignée L2 ; elle est significativement supérieure à zéro (Berthelot et al., 1997). Ce résultat démontre une origine génétique de ce caractère ainsi que la possibilité de sélectionner pour cette résistance. Ce résultat acquis, il serait maintenant important d'identifier des gènes majeurs et leurs marqueurs. Un protocole de recherche de gènes majeurs a été optimisé dans ce but ; il permettra également de tester l'effet sur le portage des gènes de résistance déjà identifiés chez la Poule.

Par ailleurs, des résultats préliminaires obtenus par Barrow et Bumstead (1996) suggèrent que, dans leurs lignées, les gènes déterminant la résistance au portage caecal diffèrent de ceux responsables de la résistance à la mortalité. Si tel était le cas la sélection pour l'un des caractères n'améliorerait pas le second.

3. Résistance à l'infection systémique de l'adulte.

La sensibilité des adultes diffère également selon les lignées. Lindell et al. (1994) comparent des Leghorn commerciales de quatre origines différentes, les inoculent oralement à 45 semaines et suivent l'infection pendant 10 semaines. Des différences significatives entre croisements commerciaux sont observées pendant les 14 premiers jours pour les pourcentages de contamination des oeufs et pendant les 7 premiers pour les matières fécales. Aucune variation par contre n'est relevée au niveau des ovaires, caeca ou organes systémiques (rate et foie). Protais et al. (1996) comparent les quatre lignées précédemment étudiées par Guillot et al. (1995). Ils inoculent des poulettes au pic de ponte, les abattent quatre semaines plus tard et recherchent les Salmonelles dans les rates, foies, caeca, intestins, ovaires, oviductes et oeufs. Ils observent que la lignée L2 est la plus souvent et la plus fortement contaminée. Dans ce cas aussi l'héritabilité estimée est élevée et supérieure à 0.3 ± 0.2 pour les fréquences de contamination des rates et des caeca (Beaumont et

al., 1997). A nouveau, une sélection est réalisable mais disposer de marqueurs la simplifierait ; les liaisons génétiques avec les sensibilité au portage et à l'infection systémique restent à estimer.

Pour raccourcir la période d'élevage des poulettes et surtout se rapprocher des modèles d'étude du gène *Ity* utilisés chez la Souris, Girard-Santosuosso et al. (1995) inoculent des animaux de treize semaines par voie intra-veineuse (ce qui réduit les variations de résistance liées au passage de la barrière intestinale). En considérant les lignées précédemment étudiées par Guillot et al. (1995), ils observent une différence significative entre lignées pour les niveaux de contamination du foie trois jours après l'inoculation. A nouveau la lignée L2 apparaît sensible. Ils retiennent donc ce modèle d'inoculation et l'appliquent à la lignée L2 ; les niveaux de contamination des rates, foies et ovaires apparaissent héréditaires. De plus Girard-Santosuosso et al. (1996) ont identifié, sur le gène *Villine*, un polymorphisme de restriction après amplification génique. Ce gène, très proche du gène *Ity* (Hu et al, 1995), peut donc servir de marqueur du gène *Ity*. L'effet du polymorphisme sur le nombre de *Salmonelles* retrouvées dans la rate et le foie est significatif : le gène *Nramp* joue donc un rôle sur la résistance mesurée dans ce modèle d'inoculation. Il conviendrait maintenant de déterminer s'il intervient également dans la résistance à la contamination des autres organes et en particulier de l'intestin et des oeufs.

Conclusions

L'ensemble de ces résultats démontrent que la génétique intervient dans la capacité de la Poule à résister à l'infection et au portage de *Salmonelles*. Si ces résultats apparaissent prometteurs, beaucoup reste à faire avant toute application. Il reste à déterminer le sens (favorable ou non) des liaisons génétiques entre les différentes mesures de la résistance afin de préciser quel critère de sélection pourrait être retenu. Il serait enfin nécessaire d'estimer les liaisons entre ce critère et les caractères d'intérêt économique pour prévoir les conséquences de la prise en compte dans la sélection de la résistance aux *Salmonelles* et prévenir tout effet indésirable.

Remerciements

Les auteurs ont bénéficié d'un soutien de la C.E.E. dans le cadre du contrat AIR 3-CT94-2433. Ils tiennent à remercier tous ceux qui ont rendu ce travail possible.

Références

- Barrow P. et Bumstead N., XX Conference WPSA, New Dehli, 2-5 Septembre, 1996.
- Beaumont C., Colin P., Guillot J.F., Protas J., Millet N. et Pardon P., 1997. 2ème Symposium "Salmonella and Salmonellosis", Ploufragan, 20-22 Mai 1997.
- Berthelot F., Beaumont C., Mompert F., Bottreau E., Marly J., Zundel E., Boucard A., Pardon P., Rault P., Millet N. et Duchet-Suchaux M., 1997. 2ème Symposium "Salmonella and Salmonellosis", Ploufragan, 20-22 Mai 1997.
- Bumstead N. and Barrow P., 1988. *Br. Poult. Sci.*, 29, 521-529.
- Bumstead N. and Barrow P., 1993. *Av. Dis.*, 37, 189-193.
- Burt D.W., Bumstead N., Bitgood J.J., Ponce de Leon F.A. et Crittenden L.B., 1995. *Trends in Genetics*, 11, 190-194.
- Duchet-Suchaux M., Lechopier P., Marly J., Bernardet P., Delaunay R. et Pardon P., 1995a, *Av. Dis.*, 39, 796-803.
- Duchet-Suchaux M., Mompert F., Berthelot F., Beaumont C., Lechopier P., et Pardon P., 1995b, 4ème Congrès de la SFM, Tours 2-5 Mai 1995, 1 page.
- Girard-Santosuosso O., Menanteau P., Duchet-Suchaux M., Mompert F., Berthelot F., Beaumont C., Protas J., Guillot J.F. et Lantier F., 1995, 4ème congrès de la SFM, Tours 2-5 Mai 1995, 1 page.
- Girard-Sntier I., Millet N., Mouline C., Guillot J.F., Protas J., Colin P., Beaumont C., et Lantier F., 1996. *Animal Genetics*, 27, 375-576.
- Guillot J.F., Beaumont C., Bellatif F., Mouline C., Lantier F., Colin P. et Protas J., 1995. *Vet. Res.*, 26, 81-86.
- Hu J., Bumstead N., Burke D., Ponce de Leon F. A., Skamene E., Gros P. et Malo D., 1995. *Mamm. Genome*, 6, 809-815.
- Hu J., Bumstead N., Skamene E., Gros P. et Malo D., 1996. *DNA and Cell Biol.*, 15, 113-123.
- Hutt F.B. et Scholes J.C., 1941. *Poult. Sci.*, 20, 342-352.
- Lindell K.A., Saeed A.M., et Mac Cabe G. P. M., 1994. *Poult. Sci.*, 73, 757-762.
- Plant J.E. et Glynn A., 1976. *J. Inf. Dis.*, 133, 72-78.
- Protas J., Colin C., Beaumont C., Guillot J.F., Lantier F., Pardon P. et Bennejean G., 1996. *Br. Poult. Sci.*, 37, 329-339.
- Vidal S., Malo D., Vogan K., Skamene E. et Gros P., 1993. *Cell*, 73, 469-485.