

SENSIBILITE DU POUSSIN A *SALMONELLA* : ROLE DU MICROBIOTE ET DE *CAMPYLOBACTER*

GUYARD-NICODEME Muriel¹, VELGE Philippe²

¹Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité Hygiène et Qualité des Produits
Avicoles et Porcins- BP53- 22440 Ploufragan,

²ISP, INRAE, Université de Tours, F-37380, Nouzilly, France
Philippe.velge@inrae.fr

RÉSUMÉ

Les salmonelles sont la deuxième cause de maladie d'origine alimentaire chez l'homme et la volaille est une des sources principales de contamination. Dans la plupart des cas, le portage des animaux est asymptomatique, mais les animaux continuent d'excréter la bactérie et sont donc source de recontamination entre animaux. Pour développer des stratégies de contrôle efficaces, une meilleure compréhension de la dynamique de l'infection au sein des populations hôtes est nécessaires. Différents modèles *in vivo* ont ainsi été utilisés pour reproduire et étudier la contamination par *Salmonella* des volailles en élevage. Ces études ont par exemple montré le rôle crucial du microbiote du poussin avant l'infection sur l'implantation de *Salmonella*. Elles ont également montré que lors d'une co-infection de poussins avec *Salmonella* et *Campylobacter*, le niveau de contamination de ces deux bactéries était plus élevé que lors d'une infection par l'une ou l'autre.

ABSTRACT

Susceptibility of chicks to *Salmonella*: The role of Microbiota and *Campylobacter*

Salmonella is the second most common cause of foodborne illness in humans, and poultry is a major source of contamination. In most cases, animals are asymptomatic carriers, but they continue to shed the bacteria, making them a source of cross-contamination between animals. To develop effective control strategies, a better understanding of infection dynamics within host populations is required. Various *in vivo* models have been used to reproduce and study the contamination of poultry with *Salmonella*. These studies have demonstrated, for example, the critical role of the chick microbiota before infection in *Salmonella* implantation. They have also shown that when chicks are co-infected with *Salmonella* and *Campylobacter*, the level of contamination by these two bacteria is higher than when they are infected with one or the other.

INTRODUCTION

La salmonellose est particulièrement préoccupante en raison des pertes économiques subies par le secteur de l'élevage et des menaces qu'elle fait peser sur la santé humaine dans le monde entier. Les salmonelles sont la deuxième cause de maladie d'origine alimentaire chez l'homme, entraînant une mortalité et des pertes économiques considérables (EFSA and ECDC, 2023). En fonction de l'hôte et du sérotype, *Salmonella* a la capacité de provoquer un large éventail de maladies, y compris des infections systémiques mortelles et des infections asymptomatiques. La plupart des sérotypes peuvent provoquer une gastro-entérite chez l'homme, qui est souvent sans complication et ne nécessite pas de traitement, mais la maladie peut être grave chez les jeunes, les personnes âgées et les patients dont l'immunité est affaiblie.

La contamination de l'homme se fait principalement par la consommation de viande de porc et de poulet contaminée. Chez les porcs et les poulets, les sérotypes de *Salmonella* non typhoïdiques peuvent induire une infection systémique chez les jeunes animaux, pouvant entraîner la mort, mais ils sont plus souvent responsables d'une infection asymptomatique à long terme, souvent appelée portage asymptomatique. Les animaux porteurs de salmonelles constituent un problème sérieux, car ils excrètent souvent des niveaux élevés de bactéries dans leurs fèces et peuvent donc contaminer leurs congénères, mais aussi les produits à base de viande lors de l'abattage. La prévention de la salmonellose humaine non typhoïdique repose donc sur la diminution de la prévalence des infections chez les animaux en identifiant et intervenant sur les principales voies de transmission de la bactérie en élevage. Toutefois, des stratégies de contrôle efficaces nécessitent une meilleure compréhension de la dynamique de l'infection au sein des populations hôtes.

Campylobacter, quant à elle, est la bactérie responsable de la première cause de zoonose en Europe et la volaille est source principale de contamination humaine (EFSA and ECDC, 2023). *Campylobacter* est naturellement présent dans le tube digestif des volailles avec un portage majoritairement asymptomatique. Un règlement européen impose une surveillance de *Salmonella* et *Campylobacter* chez le poulet de chair à l'abattoir, mais peu d'études sont menées pour les étudier de façon concomitantes. Ainsi, une récente opinion de l'EFSA recommande ces études dans le but de mieux comprendre leurs comportements et pour un meilleur contrôle de ces bactéries dans les élevages (EFSA et al., 2019).

1. ROLE DU MICROBIOTE DANS LA SENSIBILITE DU POUSSIN A *SALMONELLA*

Pour analyser l'infection asymptomatique du poulet par *S. Enteritidis*, le sérovar le plus fréquemment isolé chez les volailles, nous avons développé un premier modèle expérimental au sol ou en cage où les réinfections et les recontaminations entre animaux sont importantes (Velge et al., 2022). L'inoculation, par voie orale, de 5×10^4 ufc/poulet à 1 semaine d'âge n'induit pas de mortalité, ni aucune lésion organique. Dans ce modèle nous observons chez tous les poussins après 5-7 jours : une infection systémique pendant trois à quatre semaines, une persistance caecale pendant environ 10 semaines, en fonction de la génétique de l'hôte (Sadeyen et al., 2004) (Calenge et al., 2010) et une excrétion fécale à des niveaux élevés. Ce premier modèle reproduit bien la contamination observée chez les volailles élevées en troupeaux. Cependant, il ne permet pas d'élucider facilement les mécanismes d'interaction entre *Salmonella* et les poulets, car les agents pathogènes sont transmis entre les oiseaux par des particules d'air contaminées et des matières fécales hautement contaminées (Menanteau et al., 2018). Pour déterminer si le portage de *Salmonella* correspondait à une persistance dans les caeca ou était dû à une recontamination constante des poulets, nous avons développé un deuxième modèle d'infection de poussins dans des isolateurs dans lesquels la réinfection des animaux et la transmission d'hôte à hôte sont fortement réduites (Velge et al., 2022).

La caractéristique du "modèle au sol" est le niveau élevé de colonisation caecale observé chez tous les poussins pendant plusieurs semaines, avec une variabilité inter-animale assez faible, ainsi que le niveau élevé d'excrétion dans des fientes fraîches. La caractéristique de l'infection par *Salmonella* dans le "modèle de l'isolateur" est une hétérogénéité de l'infection, caractérisée par la présence de certains poussins dits "faible-excréteurs" car ils n'excrètent pas ou peu de bactéries dans leurs fèces et ont un faible niveau de colonisation caecale. En revanche, d'autres poussins, appelés "super- excréteurs", ont une forte colonisation caecale et excrètent des niveaux élevés de *Salmonella*, qui sont proches des niveaux observés dans le "modèle au sol". D'autres poussins ont un phénotype intermédiaire. Cette hétérogénéité de la colonisation a été observée à la fois lorsqu'un seul poussin par isolateur était infecté et lorsque 30 poussins étaient infectés dans un grand isolateur (Menanteau et al., 2018). La présence de super- excréteurs, dans des conditions de faible transmission d'hôte à hôte de salmonelles ou de réinfection, montre qu'une réinfection constante n'est pas nécessaire pour induire un portage au niveau de l'animal. La comparaison des deux modèles d'infection montre que l'homogénéité de la colonisation et de l'excrétion de *Salmonella*, observée dans les cages ou au sol, est liée à la présence des super- excréteurs, qui disséminent constamment

Salmonella aux poussins notamment les faible-excréteurs.

Une analyse fine des causes liées à l'apparition des phénotypes " faible-excréteurs " ou "super- excréteurs " a montré que l'hétérogénéité de l'infection est un phénomène multifactoriel. Toutefois, chez des animaux ayant un même fond génétique, nous avons montré que le microbiote intestinal joue un rôle déterminant dans la possibilité de *Salmonella* de s'implanter et de persister dans les caeca (Kempf et al., 2020). Ainsi, les poussins axéniques (dépourvus de bactéries) ou traités aux antibiotiques sont plus enclins à devenir des super- excréteurs tandis que des animaux recevant un microbiote d'adulte deviennent résistants à l'infection à *Salmonella* ou faibles excréteurs. De même, le phénotype super-excréteurs peut être acquis par transfert de microbiote d'animaux qui deviendront super-excréteurs après infection (Kempf et al., 2020). Ainsi, plusieurs taxa bactériens peuvent prédire si les poussins développeront un phénotype super ou faible-excréteurs après une infection par *Salmonella* dans un isolateur. Ceci démontre que la composition du microbiote caecal, avant infection, détermine si le poussin va devenir faible ou super-excréteur, après infection. Ces études permettent donc d'envisager de moduler le microbiote des poussins afin d'augmenter leur résistance aux salmonelles. Ainsi, l'inoculation à la naissance de 4 bactéries commensales diminue la colonisation de *Salmonella* à 7 jours et l'inoculation d'un microbiote d'adulte bloque toute infection (Kempf et al., 2020).

2. QUAND CAMPYLOBACTER ET SALMONELLA S'ASSOCIENT POUR COLONISER LE POULET DE CHAIR

Pour aller dans le sens des recommandations de l'EFSA (2019), nous avons réalisé une étude *in vitro* qui a montré que la présence de *Salmonella* pouvait avoir un impact positif sur la survie de *Campylobacter* en condition aérobie (Anis et al., 2022). Par la suite, nous avons mené une étude pilote au cours de laquelle nous avons utilisé un modèle d'infection expérimental de poulet de chair conventionnel. Des lots de poussins de 1 jour ont été inoculés oralement, soit par une souche de *Salmonella* Typhimurium, soit par une souche de *Campylobacter jejuni* ou par les deux bactéries et ont été suivis en parallèle d'un lot non inoculé pendant 35 jours d'élevage. Des analyses du microbiote caecal et des prélèvements sanguins pour étudier les métabolites produits dans le sérum ont été réalisés sur les différents lots, chaque semaine pendant toute la période d'élevage. Les lots de poulets infectés à la fois avec *Salmonella* et *Campylobacter* présentaient un niveau élevé de contamination caecale pour ces deux bactéries, une semaine après l'infection et sur toute la durée de l'essai. Au contraire, les poulets de chair contaminés uniquement par l'une ou l'autre de

ces deux bactéries présentaient une diminution de leur taux de contamination par chacune de celles-ci à la fin de la période d'élevage. Une différence de composition du microbiote caecal a été observée entre les différents lots tout au long de l'essai. Certains taxons spécifiques de la présence *Salmonella*, de *Campylobacter* ou des deux bactéries ont été identifiés. Une variation de la composition globale du métabolome sérique a également été observée entre les lots. Des signaux métaboliques permettant de discriminer les groupes infectés des groupes témoins dès la première semaine et l'association entre la présence de certains taxons du microbiote caecal et la variation de certains signaux métaboliques ont aussi pu être mise en évidence.

CONCLUSION

Ces travaux nous amèneront à proposer des hypothèses expliquant comment l'holobionte (l'hôte et ses microbiotes) est capable d'inhiber la colonisation de certaines bactéries et comment *Salmonella* lève cet effet barrière pour induire le phénotype super-excréteur (Winter et al., 2010) (Kempf et al., 2023). Par ailleurs, en plus d'approfondir nos connaissances sur l'effet individuel de *Salmonella* et *Campylobacter* sur la colonisation du poulet de chair, les études menées ont permis de mettre en lumière les caractéristiques uniques liées à la co-infection et l'impact réciproque de *Salmonella* et *Campylobacter* lors de la colonisation du poulet de chair. Ces travaux mettent également l'accent sur la nécessité d'étudier quel peut-être l'impact d'une telle co-infection au niveau de l'élevage et sur les moyens de lutte mis en œuvre contre ces deux bactéries. Il semble par exemple crucial de déterminer si les bactéries (et les fonctions qu'elles portent) impliquées dans l'effet barrière sont les mêmes pour *Salmonella* et *Campylobacter*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anis, N., Bonifait, L., Quesne, S., Bauge, L., Yassine, W., Guyard-Nicodeme, M., Chemaly, M., 2022. Survival of *Campylobacter jejuni* Co-Cultured with *Salmonella* spp. in Aerobic Conditions. Pathogens 11.
- 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.
- EFSA, ECDC, 2023. The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. EFSA Journal 21 :e8442. .
- EFSA, P.o.B.H., Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Dewulf, J., Hald, T., Michel, V., Niskanen, T., Ricci, A., Snary, E., Boelaert, F., Messens, W., Davies, R., 2019. *Salmonella* control in poultry flocks and its public health impact. Efsa J 17, e05596.
- Kempf, F., Cordoni, G., Chausse, A.M., Drumo, R., Brown, H., Horton, D.L., Paboeuf, F., Denis, M., Velge, P., La Ragione, R., Kerouanton, A., 2023. Inflammatory Responses Induced by the Monophasic Variant of *Salmonella* Typhimurium in Pigs Play a Role in the High Shedder Phenotype and Fecal Microbiota Composition. mSystems, e0085222.
- Kempf, F., Menanteau, P., Rychlik, I., Kubasova, T., Trotureau, J., Virlogeux-Payant, I., Schaeffer, S., Schouler, C., Drumo, R., Guitton, E., Velge, P., 2020. Gut microbiota composition before infection determines the *Salmonella* super- and low-shedder phenotypes in chicken. Microb Biotechnol 13, 1611-1630.
- Menanteau, P., Kempf, F., Trotureau, J., Virlogeux-Payant, I., Gitton, 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 20, 3246-3260.
- Sadeyen, J.R., Trotureau, 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.
- Velge, P., Menanteau, P., Chaumeil, T., Barilleau, E., Trotureau, J., Virlogeux-Payant, I., 2022. Two In Vivo Models to Study *Salmonella* Asymptomatic Carrier State in Chicks. Methods Mol. Biol. 2427, 249-264.
- Winter, S.E., Thiennimitr, P., Winter, M.G., Butler, B.P., Huseby, D.L., Crawford, R.W., Russell, J.M., Bevins, C.L., Adams, L.G., Tsois, R.M., Roth, J.R., Baumler, A.J., 2010. Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*. Nature 467, 426-429.